

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE
TECNOLOGIA EM ALIMENTOS

BIANCA SÜFFERT

**AVALIAÇÃO DE MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DA
PELÍCULA PRATEADA DO CAFÉ**

Porto Alegre

2025

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE

BIANCA SÜFFERT

**AVALIAÇÃO DE MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DA
PELÍCULA PRATEADA DO CAFÉ**

Trabalho apresentado à banca examinadora da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre como requisito para a obtenção do título de tecnólogo em alimentos, sob a orientação das professoras Manuela Poletto Klein e co-orientação de Vivian Caetano Bochi.

PORTO ALEGRE

2025

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço às minhas orientadoras, Manuela Poletto Klein e Vivian Caetano Bochi, pela orientação incansável, pelo apoio constante e pela paciência. Sua expertise, dedicação e disponibilidade foram fundamentais para o desenvolvimento e a concretização deste projeto. Sou imensamente grata pela confiança e pelo aprendizado que tive sob sua supervisão.

Agradeço também aos professores e coordenadores do curso, por compartilharem seu conhecimento e por proporcionarem um ambiente acadêmico tão enriquecedor. As aulas, debates e orientações contribuíram significativamente para minha formação e para o sucesso deste trabalho.

Sou grata à minha família, pelo apoio emocional e pela paciência durante todo o percurso da graduação. A minha mãe, Michelle Süffert, meu pai, Gerson Süffert, que sempre estiveram ao meu lado, incentivando-me a continuar, mesmo nos momentos difíceis. O amor e a confiança que recebi de vocês foram imprescindíveis para que eu chegasse até aqui.

Aos meus amigos e colegas de curso, especialmente Gabriel, Giovanna e Laís, agradeço pela companhia, pelas trocas de ideias, pelos momentos de descontração e pelo apoio em cada etapa desse processo. O convívio com vocês tornou a jornada mais leve e prazerosa.

Agradeço ao meu namorado pelo companheirismo, pela paciência e por estar ao meu lado durante toda essa jornada. Sua parceria nas longas horas de estudo, seu apoio nos momentos difíceis e sua presença constante foram fundamentais para que eu conseguisse chegar até aqui. Sou muito grata por todo o carinho, incentivo e por acreditar em mim mesmo nos dias mais desafiadores.

Por fim, agradeço a todos que, de alguma forma, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, seja com palavras de incentivo, com sugestões ou com o simples fato de estarem presentes durante essa caminhada.

RESUMO

A crescente preocupação com os impactos ambientais das atividades agroindustriais tem estimulado o aproveitamento de resíduos como estratégia para agregar valor e promover a sustentabilidade. Neste contexto, a película prateada do café, subproduto gerado durante o processo de torrefação dos grãos, representa uma matéria-prima promissora devido ao seu elevado teor de fibras e compostos fenólicos com reconhecida atividade antioxidante. Apesar de seu potencial, a película prateada é amplamente descartada ou subutilizada. Esse trabalho teve como objetivo estudar diferentes processos extrativos visando a remoção de compostos bioativos com potencial para o desenvolvimento de aplicações na área de alimentos. Os extratos obtidos foram submetidos à caracterização por meio das análises de compostos fenólicos totais e específicos por HPLC-DAD e UHPLC-MS/MS, bem como da capacidade antioxidante pelos métodos DPPH e ABTS. Os resultados de HPLC-DAD indicaram a presença de ácido clorogênico ($t_r \approx 11,7$ min) e cafeína ($t_r \approx 12,5$ min) em todas as amostras, com boa linearidade ($R^2 > 0,99$). A quantidade de cafeína extraída não apresentou diferenças significativas entre os diferentes métodos de extração, enquanto a quantidade de ácido clorogênico variou consideravelmente, sendo mais elevada na extração enzimática. Adicionalmente, a extração enzimática apresentou o maior número de compostos detectados nas análises cromatográficas (14), indicando maior eficiência na liberação e diversidade de polifenóis. A análise por UHPLC-MS/MS confirmou a presença de metilxantinas, principalmente a cafeína, além de ácidos fenólicos, como cafeico, ferúlico, p-cumárico e derivados clorogênicos, sendo o 5-CQA o principal composto identificado. Os resultados demonstram o potencial da película prateada de café como fonte sustentável de compostos bioativos, reforçando sua viabilidade para aplicação em produtos alimentícios e contribuindo para a redução do impacto ambiental associado ao descarte desse resíduo.

Palavras-chave: película prateada do café; compostos bioativos; extração enzimática.

ABSTRACT

The growing concern about the environmental impacts of agro-industrial activities has stimulated the use of residues as a strategy to add value and promote sustainability. In this context, the silver skin of coffee, a by-product generated during the roasting process, represents a promising raw material due to its high content of fibers and phenolic compounds with recognized antioxidant activity. Despite its potential, coffee silver skin is largely discarded or underutilized. This study aimed to investigate different extraction processes to recover bioactive compounds with potential applications in the food sector. The obtained extracts were characterized by total and specific phenolic compound analyses using HPLC-DAD and UHPLC-MS/MS, as well as by antioxidant capacity evaluated through DPPH and ABTS assays. HPLC-DAD results indicated the presence of chlorogenic acid ($t_r \approx 11.7$ min) and caffeine ($t_r \approx 12.5$ min) in all samples, with good linearity ($R^2 > 0.99$). The amount of caffeine extracted did not differ significantly among the different extraction methods, whereas the concentration of chlorogenic acid varied considerably, being higher in the enzymatic extraction. Additionally, enzymatic extraction yielded the highest number of compounds detected in chromatographic analyses (14), indicating greater efficiency in the release and diversity of polyphenols. UHPLC-MS/MS analysis confirmed the presence of methylxanthines, mainly caffeine, as well as phenolic acids such as caffeic, ferulic, p-coumaric, and chlorogenic derivatives, with 5-CQA identified as the predominant compound. These results demonstrate the potential of coffee silver skin as a sustainable source of bioactive compounds, highlighting its feasibility for application in food products and contributing to the reduction of the environmental impact associated with the disposal of this residue.

Keywords: coffee silverskin; bioactive compounds; enzymatic extraction.

SUMÁRIO

RESUMO	4
1 INTRODUÇÃO	3
2 OBJETIVOS	5
2.1 Objetivo geral	5
2.2 Objetivos específicos	5
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	6
3.1 Café	6
3.2 Produção e processamento do café	7
3.3 Película prateada do café	9
3.4 Métodos de extrações de compostos fenólicos	11
3.5 Enzimas e sua aplicação	13
3.5.1 Carboidrases e a celulase	13
3.5.2 Complexo celulolítico	14
3.5.3 Características das celulases	14
3.5 Compostos bioativos	16
3.5.1 Ácido clorogênico	16
3.5.2 Cafeína	19
3.5.3 Ácido cafeico	20
3.5.4 Ácido ferúlico	21
3.5.5 Ácido p-cumárico	22
4 METODOLOGIA	23
4.1 Obtenção e preparo da película prateada do café	23
4.2 Extração em água aquecida a 80°C (EA)	24
4.3 Extração em água acidificada (EAa)	24
4.4 Extração assistida por ultrassom (EU)	24
4.5 Extração enzimática assistida por ultrassom (EE)	25
4.6 Análise de compostos fenólicos totais por HPLC-DAD	25
4.7 Análise de compostos bioativos por UHPLC-MS/MS	26
4.8 Análise da atividade antioxidante utilizando DPPH	27
4.9 Análise da atividade antioxidante utilizando ABTS	27
4.10 Análise de dados	28
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
5.1 Análise dos compostos bioativos	29
5.1.1 Quantificação de cafeína e ácido clorogênico na película prateada do café por HPLC-DAD	29
5.2.1 Identificação de compostos bioativos da película prateada de café por UHPLC-MS/MS nas diferentes condições de extração	38
5.2 Análise da atividade antioxidante	42
6 CONCLUSÃO	47
REFERÊNCIAS	50

1 INTRODUÇÃO

O café é uma das bebidas mais consumidas mundialmente, amplamente reconhecida por seu sabor característico e por seu efeito estimulante, atribuído principalmente à cafeína (ROMUALDO et al., 2019; INÁCIO et al., 2022). O Brasil, ao lado do Vietnã e da Colômbia, figura entre os principais produtores globais, sendo responsável por uma produção de aproximadamente 3,4 milhões de toneladas em 2023 (EMBRAPA, 2024). Apesar de sua expressiva importância econômica e social, a cadeia produtiva do café é marcada pela geração de grandes volumes de resíduos sólidos. Segundo o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), estima-se que, para cada tonelada de café processada, mais de 600 kg de resíduos sejam gerados, o que totaliza mais de 2 milhões de toneladas apenas na produção brasileira de 2023.

Dentre os subprodutos obtidos ao longo do processamento, destaca-se a película prateada, uma fina camada aderida ao grão de café que se desprende durante a torrefação (FRANCA; OLIVEIRA, 2016). A quantidade de película prateada gerada é estimada entre 7,5 e 8,3 kg por tonelada de café torrado (GEMECHU, 2020). Embora frequentemente descartada ou utilizada para compostagem e combustão (MENÉNDEZ et al., 2007), a película prateada apresenta uma composição química rica em fibras alimentares e compostos bioativos, como cafeína, ácidos fenólicos e melanoidinas, que conferem a esse resíduo um significativo potencial antioxidante (BORRELLI et al., 2004; NARIRA; INOUE, 2012; BRESCIANI et al., 2014).

Entre os compostos fenólicos presentes, destaca-se o ácido clorogênico, conhecido por sua capacidade antioxidante e propriedades benéficas à saúde, como a modulação do metabolismo da glicose e efeitos anti-inflamatórios (FENNEMA et al., 2019; MANACH et al., 2004). Estudos demonstram que extratos da película prateada apresentam potencial antioxidante comparável ao de frutas frescas (NARIRA; INOUE, 2012), e que a extração desses compostos pode ser

potencializada por técnicas alternativas, como a extração enzimática, considerada uma abordagem "verde" e eficiente (PINELO; ARNOUS; MEYER, 2006).

O crescente interesse da indústria de alimentos por ingredientes funcionais e o apelo por práticas sustentáveis têm impulsionado a valorização de subprodutos agroindustriais. Diversas aplicações já foram investigadas para a película prateada, incluindo sua utilização na fabricação de pães (POURFARZAD et al., 2013), embalagens biodegradáveis, cosméticos (STRUB, 2021) e bebidas funcionais (RIBEIRO et al., 2014; MARTÍNEZ-SÁEZ et al., 2014).

Diversos métodos de extração têm sido estudados para a recuperação de compostos bioativos da película prateada do café, cada um com características e eficiências distintas. No presente trabalho, terão quatro abordagens principais: extração em água aquecida (EA), extração em água acidificada (EAa), extração assistida por ultrassom (EU) e extração enzimática assistida por ultrassom (EE). A extração em meio aquoso é amplamente empregada devido à sua simplicidade e segurança, sendo considerada uma técnica de fácil aplicação em escala industrial. A utilização de água quente favorece os processos difusionais e de transferência de massa, aumentando o rendimento de extração (ROMERO, 2017). Já a extração em água acidificada apresenta como vantagem a melhoria na extração e estabilidade de determinados compostos fenólicos, além de favorecer a separação analítica (BASILLIO et al., 2018). Por sua vez, a extração assistida por ultrassom é considerada uma técnica sustentável, eficiente e economicamente viável, oferecendo alto rendimento de extração quando comparada a métodos que exigem grandes investimentos em equipamentos especializados, como a extração supercrítica (NZEKOUÉ et al., 2020). Por fim, a extração enzimática desponta como uma estratégia altamente promissora para a recuperação de compostos bioativos da película prateada do café (INÁCIO et al., 2022), destacando-se por sua eficiência e caráter sustentável. Esse método utiliza enzimas específicas, como as celulases, que atuam na quebra das estruturas complexas da parede celular vegetal — ricas em celulose e lignina — promovendo uma liberação mais seletiva e eficaz de compostos fenólicos. Por operar em condições brandas, sem uso de solventes tóxicos, a extração enzimática também atende aos princípios da “química verde”, sendo uma alternativa tecnicamente viável, ecologicamente correta e com alto potencial de aplicação em alimentos funcionais, cosméticos e nutracêuticos.

Dessa forma, o diferencial deste estudo está tanto na quantidade de métodos de extração avaliados quanto na utilização da enzima Celluclast, que até o momento tem sido pouco explorada para este tipo de matriz.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar diferentes métodos de extração na obtenção de compostos bioativos da película prateada do café, por meio de análises químicas e antioxidantes dos extratos.

2.2 Objetivos específicos

Estabelecem-se os seguintes objetivos específicos:

1. Estudar diferentes métodos de extração de compostos bioativos presentes na película prateada do café;
2. Quantificar e identificar os compostos bioativos majoritários nos extratos por meio das técnicas analíticas HPLC-DAD e UHPLC-MS/MS;
3. Determinar a atividade antioxidante dos extratos obtidos, utilizando os ensaios DPPH e ABTS;
4. Comparar os diferentes métodos de extração com base no perfil químico e na capacidade antioxidante dos extratos obtidos.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

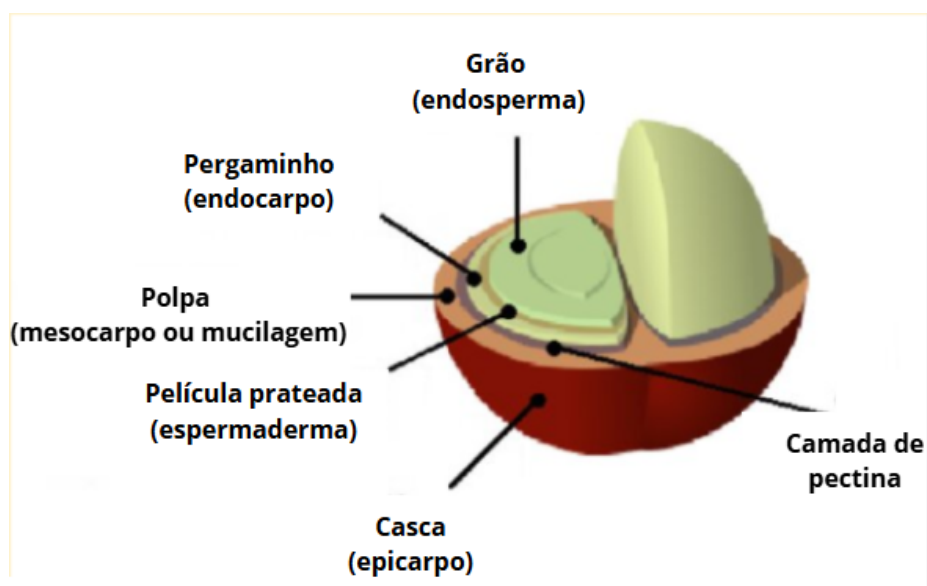
3.1 Café

O café é uma das bebidas mais consumidas mundialmente, sendo amplamente reconhecido por seu sabor característico e pelo efeito estimulante, atribuído principalmente à cafeína (ROMUALDO et al., 2019; INÁCIO et al., 2022). A planta do café pertence à família *Rubiaceae* (BAGYARAJ et al., 2015), sendo originária do continente africano, especificamente da Etiópia (WANG E HO, 2009). Posteriormente, o cultivo do café expandiu-se para a Arábia, o Iêmen e o Egito, onde passou a ser incorporado à rotina das populações locais (WANG E HO, 2009). Acredita-se que foram os muçulmanos os primeiros responsáveis por introduzir o café na Europa, ao passo que os franceses disseminaram a cultura cafeeira nas Américas durante o período colonial, estabelecendo plantações em diversos territórios (WANG E HO, 2009).

O produto é obtido a partir dos grãos da planta *Coffea*, sendo as espécies *Coffea arabica* (arábica) e *Coffea canephora* (robusta) as mais cultivadas comercialmente (FARINHOTO, 2012; BAGYARAJ et al., 2015). O café arábica é geralmente mais valorizado no mercado por apresentar melhor qualidade sensorial, enquanto o café robusta, ou conilon, é preferencialmente utilizado na composição de *blends* e na produção de café solúvel, em função de seu menor custo e maior produtividade (FERNANDES, 2003).

O fruto do cafeeiro apresenta uma estrutura composta por diversas camadas, como mostrado na Figura 1. A parte externa, denominada pericarpo, inclui o mesocarpo, a camada de pectina e o endocarpo (BRESCHIANI et al., 2014). Quando imaturo, o pericarpo possui coloração verde, tornando-se vermelho-violeta ou vermelho-escuro à medida que o fruto amadurece (BRESCHIANI et al., 2014). Internamente, o fruto abriga duas sementes, conhecidas como grãos de café, que são envolvidas por uma fina camada chamada película prateada, recoberta pelo pergaminho. Externamente ao pergaminho, encontram-se a polpa e, por fim, a casca do fruto (FRANCA; OLIVEIRA, 2016a). As características físicas dos grãos, como forma, tamanho, cor e densidade, podem variar em função do genótipo da planta e das condições ambientais de cultivo (BRESCHIANI et al., 2014; FARINHOTO, 2012).

Figura 1 - Anatomia do fruto do café



Fonte: Adaptado de YANS GUARDIA-PUEBLA, 2012

O grão de café constitui a principal fração comercializável do fruto, representando entre 50% e 55% da matéria seca total. As demais estruturas geradas durante o processamento do fruto correspondem a subprodutos com potencial de aproveitamento tecnológico (FRANCA; OLIVEIRA, 2016a).

3.2 Produção e processamento do café

Os principais países produtores da bebida incluem Brasil, Vietnã e Colômbia, os quais, conjuntamente, foram responsáveis por uma produção de 97,08 milhões de sacas de 60 kg, correspondendo a cerca de 57% da safra mundial estimada (EMBRAPA, 2024). Nesse cenário, o Brasil destaca-se como o maior exportador global, mantendo também uma elevada demanda interna (ABIC, 2023). Em 2024, a produção brasileira de café atingiu 3.387.724 toneladas, sendo exportadas diariamente 497,6 toneladas de café torrado, extratos, essências e concentrados — o que representa um aumento de 21,7% em relação ao ano anterior (IBGE, 2024).

A produção nacional está concentrada majoritariamente nos estados de Minas Gerais, Espírito Santo, São Paulo, Paraná, Bahia e Rondônia. Tais regiões apresentam ampla diversidade edafoclimática, social e tecnológica, refletida tanto na variedade de tipos de café cultivados quanto nos distintos níveis de competitividade e organização produtiva (BLISKA, 2009).

Paralelamente à relevância econômica da cultura, a cadeia produtiva do café é marcada pela geração expressiva de resíduos. De acordo com o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), estima-se que, para cada tonelada de café produzida, sejam gerados mais de 600 kg de resíduos. Com base na produção brasileira de 2024, tal estimativa implica na geração de mais de 2 milhões de toneladas de resíduos sólidos. Dentre esses, destaca-se a película prateada, subproduto obtido durante a torrefação dos grãos, cuja produção é estimada entre 7,5 e 8,3 kg por tonelada de café torrado (GEMECHU, 2020). Deste modo, pode-se estimar cerca de 25,4 toneladas de película prateada de café apenas na produção brasileira no ano de 2024.

O processamento do café pode ocorrer por via úmida ou seca. De acordo com Franca e Oliveira (2016), no método seco, os frutos são inicialmente submetidos à secagem até atingirem teor de umidade entre 10 e 11%, sendo então descascados mecanicamente para a obtenção dos grãos, etapa que resulta na geração de resíduos como casca, polpa e pergaminho. No método úmido, por sua vez, a casca e a polpa são removidas mecanicamente logo após a colheita, originando a polpa de café. Os grãos em pergaminho obtidos podem ser submetidos à fermentação controlada ou diretamente secos até atingirem aproximadamente 12% de umidade. Ambos os métodos de processamento geram diferentes frações residuais, incluindo casca, pergaminho e película prateada, sendo esta última mais abundante no processamento seco (NARIRA; INOUE, 2014).

Durante a torrefação, os grãos de café são submetidos a aquecimento com ar quente, sob condições atmosféricas controladas de tempo e temperatura. O processo ocorre em três fases principais: na primeira, há a liberação de água e compostos voláteis, promovendo a mudança de cor dos grãos de verde para amarelo; na segunda, ocorrem reações de pirólise, liberação de CO₂, água e outros compostos voláteis, além do escurecimento dos grãos em decorrência das reações de Maillard e da caramelização, responsáveis pelo aroma e sabor característicos do café; por fim, os grãos são resfriados com ar ou água, para evitar a queima (BUFFO; FREIRE, 2004; OLIVEIRA et al., 2005). Nesse processo, a película prateada se desprende dos grãos e é transportada pelo fluxo de ar quente, constituindo o principal resíduo sólido da torrefação (COSTA et al., 2014).

A gestão inadequada desses resíduos pode ocasionar impactos negativos tanto para a indústria quanto para os consumidores. Nesse contexto, empresas que

investem em inovação e no desenvolvimento de tecnologias alternativas, com o objetivo de minimizar os impactos ambientais e reduzir perdas produtivas, tendem a conquistar maior competitividade (COSTA et al., 2014). Diante do crescimento contínuo da produção cafeeira, a valorização industrial dos resíduos torna-se uma estratégia essencial para a promoção da sustentabilidade ambiental (MURTHY; NAIDU, 2012b).

3.3 Película prateada do café

A película prateada do café é um subproduto obtido durante o processo de torrefação, momento em que, com o aumento da temperatura, ela se desprende do grão. Este resíduo é notavelmente rico em fibras alimentares, apresentando teor superior ao de alimentos amplamente reconhecidos por seu conteúdo fibroso, como maçã (28,43%), brócolis (28,94%), repolho (22,41%), cenoura (28,4%), farelo de trigo (41,97%), farelo de aveia (28,60%) e batata (2,85%) (ANDERSON; BRIDGES, 1988).

A composição da fibra alimentar vegetal é, em geral, formada por hemiceluloses, celulose, lignina, oligossacarídeos, polissacarídeos, pectinas, gomas e ceras (LECUMBERRI et al., 2007). A película prateada do café apresenta aproximadamente 30% de lignina, e polissacarídeos compostos por 17,8% de glucano, 4,7% de xilano, 2% de arabinano, 3,8% de galactano e 2,6% de manano (MUSSATTO et al., 2012). Em termos nutricionais, o conteúdo de proteína, gordura e cinzas da película prateada varia entre 16,2–19,0%, 1,56–3,28% e 7%, respectivamente (BORRELLI et al., 2004; NAPOLITANO et al., 2006, 2007; POURFARZAD et al., 2013).

A película prateada do café apresenta cafeína em concentrações que variam entre 0,81% e 1,37% (NAPOLITANO et al., 2007). Diversos estudos evidenciam que seus extratos aquosos possuem atividade antioxidante relevante (NARIRA; INOUE, 2012). Observa-se que o rendimento de cafeína permanece praticamente constante, em torno de 0,4% (base seca), ao longo de uma ampla faixa de temperatura (25–270 °C) (NARITA; INOUE, 2012). Além disso, o teor de compostos fenólicos totais tende a aumentar com o incremento da temperatura de extração, especialmente entre 25 °C e 240 °C, sendo a extração com água subcrítica uma técnica eficaz para a obtenção desses compostos (NARITA;

INOUE, 2012). No caso do ácido 5-cafeoilquínico (5-CQA), sua extração ocorre em concentrações entre 0,1% e 0,2% (base seca) nas faixas de 25–180 °C, mas o composto deixa de ser detectado em temperaturas superiores, entre 210 °C e 270 °C, o que indica sua degradação térmica, especialmente sob condições alcalinas (NARITA; INOUE, 2013).

Bresciani et al. (2014) relataram que extratos obtidos com água acidificada (1% de ácido fórmico) a 70 °C por 1 hora apresentaram compostos como 3-CQA, 4-CQA, 5-CQA, ácidos 4-feruloilquínico (4-FQA), 5-FQA, 3-cumaroilquínico (3-CoA) e 5 CoA. As concentrações encontradas foram de 147,8 mg/100 g, 84,9 mg/100 g, 198,9 mg/100 g, 121,6 mg/100 g, 2,4 mg/100 g e 5,7 mg/100 g, respectivamente. O composto 5-(hidroximetil)-2-furfural (5-HMF), formado pela desidratação de hexoses, também aumentou com o uso da água subcrítica (KHAJAVI et al., 2005; USUKI et al., 2008).

Diversas aplicações têm sido propostas para a película prateada do café, entre elas estão: uso na combustão e compostagem (MENÉNDEZ et al., 2007), formulação de pães de baixa caloria como fonte de fibras (POURFARZAD et al., 2013), elaboração de bebidas funcionais (RIBEIRO et al., 2014), cultivo de microrganismos para liberação de compostos fenólicos (MACHADO et al., 2012), produção de enzimas (MUSSATTO et al., 2013), obtenção de etanol (MUSSATTO et al., 2012), e possível aplicação como prebióticos em alimentos por estimular o crescimento de bifidobactérias (BORRELLI et al., 2004).

Martinez-Saez et al. (2014) desenvolveram uma bebida à base da película prateada com potencial para reduzir o acúmulo de gordura corporal. Bebidas preparadas com extrato da película apresentaram maiores concentrações de melanoidinas, ácidos clorogênicos e cafeína, especialmente quando derivadas do café Robusta. Ambas as formulações não continham glicose e apresentavam alto teor de fibras, predominando a fibra solúvel. Em testes com o nematódeo *Caenorhabditis elegans*, observou-se redução de até 24% no acúmulo de gordura, sendo o ácido clorogênico mais eficaz que a cafeína na redução da gordura corporal.

Pourfarzad et al. (2013) demonstraram que o tratamento da película com peróxido de hidrogênio alcalino melhora o conteúdo de fibra alimentar de pães. O tratamento reduz a cristalinidade da celulose e solubiliza lignina, promovendo melhor retenção de água e maior volume de intumescimento das fibras. As condições ideais

foram: 1 hora de contato, proporção solução:película de 4,77:1 e tamanho de partícula de 116,41 μm , resultando em pães com maior vida útil, aparência aprimorada e cor mais clara.

Ribeiro et al. (2014) analisaram uma mistura funcional contendo cacau, película prateada e café cru, que apresentou maior concentração de ácidos clorogênicos e atividade antioxidante comparável à de cafés comerciais. Sensorialmente, destacou-se em gosto, odor e aparência, embora tenha recebido notas inferiores em corpo e persistência.

Em outro estudo, Fernandez-Gomez et al. (2016) demonstraram, *in vivo*, o efeito quimioprotetor do extrato da película prateada no tecido pancreático de ratos, sugerindo propriedades glicorreguladoras atribuídas à sua capacidade antioxidante e à inibição das enzimas α -glicosidase e lipase (DEL CASTILLO et al., 2014). A extração aquosa aumentou a bioacessibilidade dos compostos, embora a digestão tenha reduzido sua concentração. Ainda assim, os digeridos mantiveram capacidade antioxidante. O ácido clorogênico e a cafeína foram metabolizados e associados à proteção pancreática contra estresse oxidativo.

3.4 Métodos de extrações de compostos fenólicos

Com o avanço das tecnologias aplicadas à ciência dos alimentos, métodos assistidos por tecnologia, como a extração assistida por ultrassom (UAE), vêm ganhando destaque. A aplicação de ondas ultrassônicas promove a cavitação, ou seja, a formação e o colapso de microbolhas no solvente, o que rompe as paredes celulares e aumenta a liberação dos compostos intracelulares (RODRIGUES, 2021). Essa técnica é reconhecida por sua alta eficiência, baixo consumo de solvente e menor tempo de processamento, além de ser considerada uma alternativa sustentável e economicamente viável. Em determinados casos, a UAE foi capaz de aumentar significativamente a concentração de compostos bioativos, mesmo quando utilizada com água pura como solvente, apresentando desempenho superior a métodos convencionais (NZEKOU et al., 2020).

Outra variação tecnológica de destaque é a extração em duas fases assistida por ultrassom, que permite a extração simultânea de compostos polares e apolares utilizando dois solventes imiscíveis, como uma fase hidroetanólica e outra à base de n-heptano. Essa abordagem resulta em maior diversidade de compostos extraídos,

aumentando em até 60% o número de picos detectados por análise cromatográfica quando comparada à extração em fase única (RODRIGUES, 2021). O n-heptano atua como agente desengordurante, removendo lipídios da matriz e facilitando a penetração do solvente polar, o que contribui para a eficiência global do processo (RODRIGUES, 2021).

Além dos métodos físicos, também se destacam as extrações baseadas em hidrólise térmica e enzimática. A hidrólise térmica, conduzida em temperaturas elevadas e sob alta pressão, é capaz de promover elevado rendimento global, porém com significativa degradação de compostos sensíveis ao calor, levando à formação de subprodutos indesejados, como furfural e 5-hidroximetilfurfural (BARALDI, 2013). Já a hidrólise enzimática é realizada sob condições brandas de temperatura e pH, utilizando enzimas específicas que atuam na degradação controlada da matriz vegetal, liberando compostos bioativos de maneira seletiva e preservando sua estabilidade química. Essa técnica tem como principais vantagens o menor consumo energético e a obtenção de extratos de maior qualidade, com menor formação de compostos voláteis indesejáveis (BARALDI, 2013).

Outro fator de relevância para a eficiência das extrações é a escolha do solvente e sua polaridade. Solventes polares, como água, etanol, metanol e acetona, são amplamente utilizados para a extração de compostos fenólicos. Misturas binárias, como acetona aquosa, têm se mostrado especialmente eficazes, pois combinam a capacidade de solubilização de compostos polares com a habilidade de romper complexos polifenol-proteína (RODRIGUES, 2021). A utilização de acetona, além disso, apresenta vantagens industriais devido ao seu baixo ponto de ebulição, o que facilita a recuperação do solvente e reduz o consumo energético durante o processo (ROMERO, 2017).

A modificação do pH do solvente também é uma estratégia amplamente estudada para otimizar a extração de compostos fenólicos. A acidificação do meio extrator, obtida pela adição de ácidos orgânicos como o ácido fórmico, pode aumentar a estabilidade e a solubilidade desses compostos, além de favorecer sua separação analítica e quantificação (BASILIO, 2018). Em contrapartida, a extração alcalina, embora menos comum, tem sido explorada para facilitar a extração de fenólicos desprotonados e promover reações químicas que originam derivados não detectáveis em condições neutras (ROMERO, 2017).

3.5 Enzimas e sua aplicação

As enzimas alimentares podem ser classificadas em duas categorias principais: endógenas, que estão naturalmente presentes nos alimentos, e exógenas, que são adicionadas com o objetivo de promover alterações desejáveis. As enzimas endógenas representam desafios de controle devido à variabilidade de sua concentração na matriz alimentar e às limitações de manipulação dos alimentos para modular sua atividade. Em contrapartida, as enzimas exógenas são selecionadas com base no custo e na funcionalidade, sendo esta relacionada à atividade catalítica, seletividade e estabilidade sob condições específicas de aplicação (FENNEMA et al., 2019).

De modo geral, as enzimas apresentam três características fundamentais: são proteínas que atuam como catalisadores biológicos, possuem elevada especificidade por seus substratos e estão sujeitas à regulação. Seu papel é essencial em diversos processos fisiológicos e industriais, podendo ser aplicadas em condições amenas de temperatura, pH e pressão, o que favorece sua utilização na produção de alimentos (FENNEMA et al., 2019; MACEDO et al., 2015).

3.5.1 Carboidrases e a celulase

As enzimas carboidrases são responsáveis pela hidrólise de ligações glicosídicas entre monossacarídeos, com alta especificidade quanto ao tipo de açúcar, posição da ligação e tamanho do substrato. Elas pertencem à classe das hidrolases e podem atuar também em reações de transglicosilação. Uma de suas principais aplicações é a hidrólise de polissacarídeos estruturais em paredes celulares vegetais, viabilizando a liberação de compostos de interesse, como os compostos fenólicos (MACEDO et al., 2015; PAPILLO et al., 2014).

A celulase, em particular, atua hidrolisando ligações β -1,4-glicosídicas da celulose, desestruturando a parede celular vegetal e permitindo a liberação de componentes intracelulares. Isso a torna essencial em processos de extração de compostos bioativos, como os ácidos clorogênicos, a partir de matrizes vegetais e subprodutos agroindustriais. Sua utilização pode substituir solventes orgânicos, aumentar o rendimento e proporcionar maior especificidade na extração (PINELO; ARNOUS; MEYER, 2006; HABEEBULLAH et al., 2021).

3.5.2 Complexo celulolítico

O complexo celulolítico é constituído por três grupos principais de enzimas: endoglucanases (EnG), exoglucanases (ExG) e β -glicosidases (BG). Todas são hidrolases que atuam sobre a celulose, sendo classificadas pela *Enzyme Commission* (EC) com códigos iniciados por 3.2.1.x, sendo x o número específico da enzima dentro dessa sub-subclasse, definido conforme o substrato exato e o tipo de ligação que ela quebra. A endoglucanase (EC 3.2.1.4) cliva aleatoriamente ligações internas da estrutura amorfa da celulose, produzindo oligossacarídeos e novos terminais. As exoglucanases incluem a glucano-hidrolase (GH, EC 3.2.1.74) e a celobiohidrolase (CBH, EC 3.2.1.91), que hidrolisam os terminais da fibra, sendo a CBH dividida em dois tipos: CBH I (terminais redutores) e CBH II (não redutores). Já a β -glicosidase (EC 3.2.1.21) hidrolisa oligossacarídeos solúveis e celobiose, liberando glicose (CASTRO; PEREIRA JR, 2010).

A atuação sinérgica entre essas enzimas resulta em maior eficiência na degradação da celulose do que a soma de suas ações individuais. Essa sinergia é observada entre EnG e ExG (liberação de terminais de ataque), entre CBH I e II (hidrólise de diferentes terminais) e entre ExG ou EnG com BG (conversão dos produtos em glicose) (CASTRO; PEREIRA JR, 2010).

3.5.3 Características das celulasas

As propriedades das celulasas variam conforme a origem do microrganismo produtor. Fungos filamentosos geralmente produzem celulasas com pH ótimo entre 3,6 e 5,0, enquanto linhagens bacterianas, como as do gênero *Bacillus*, podem atuar em ambientes alcalinos (pH até 10,5). Já celulasas produzidas por actinomicetos (*Streptomyces* spp.) são mais eficientes em pH neutro a moderadamente ácido e temperatura próxima de 50 °C. Em termos de atividade catalítica, diferenças entre substratos naturais e sintéticos também influenciam o desempenho das enzimas, como demonstrado em estudos com β -glicosidases de *Humicola lanuginosa* e *Trichoderma harzianum* (CASTRO; PEREIRA JR, 2010).

A Celluclast 1.5L, uma preparação enzimática multicatalítica produzida pela empresa Novozymes; é uma celulase de grau alimentício derivada do fungo

Trichoderma reesei, amplamente utilizada na degradação de tecidos vegetais. Essa enzima é conhecida por suas alta atividade xilanolítica, celulolítica e mananolítica, além de um perfil de atividade sacarolítica bastante robusto. Avaliada a pH 4,5 e 50 °C, a Celluclast apresenta atividade de pectinase geral, poligalacturonase, pectinoesterase, além de ser capaz de hidrolisar componentes da parede celular como arabinose e manana (DE LA PEÑA-ARMADA et al., 2020), como ilustra a Tabela 1.

Tabela 1 - Principais características da enzima *Celluclast*

Estado físico	Composição	Atividade	T (°C)	pH
Líquido	Celulase, pectinases e β -glicosidases	700 EGU/g	50 - 60°C	4,5 - 6,0

Fonte: Autora (2025), adaptado de Novozymes.

Nos estudos de Trần et al. (2021) e Nguyen Phuong Huynh et al. (2025), a enzima Celluclast foi utilizada como parte de sistemas enzimáticos voltados à desestruturação da parede celular vegetal, com o objetivo de aumentar a liberação de compostos fenólicos em resíduos do processamento do café. Em Trần et al. (2021), a Celluclast — composta principalmente por um complexo de celulasas — foi empregada em conjunto com pectinases, demonstrando efeito sinérgico na degradação dos polissacarídeos estruturais da casca de café, o que resultou em maior rendimento de compostos fenólicos totais e aumento da atividade antioxidante dos extratos obtidos. Já em Nguyen Phuong Huynh et al. (2025), a aplicação da Celluclast ocorreu de forma isolada e otimizada, evidenciando que a hidrólise enzimática mediada por essa enzima constitui uma estratégia eficiente e sustentável para a extração de polifenóis, devido à sua capacidade de romper ligações β -1,4-glicosídicas da celulose, facilitando o acesso aos compostos bioativos presentes na matriz lignocelulósica. Esses trabalhos ressaltam o potencial da Celluclast como um agente catalítico promissor na valorização de subprodutos do café.

Diversas outras aplicações também têm explorado o uso da Celluclast em matrizes vegetais distintas. Em estudos com bagaço de maçã, por exemplo, a enzima demonstrou alta eficiência na extração de pectina, alcançando rendimentos de até 15,3% com doses de 25 μ L/g, resultados comparáveis aos obtidos por

métodos ácidos convencionais. Concentrações mais elevadas aumentaram o rendimento sem promover degradação significativa do polímero, e a pectina obtida enzimaticamente apresentou maior massa molecular (470 kDa) e teor superior de ácido galacturônico, refletindo em melhores propriedades antioxidantes. Além disso, a combinação do tratamento com alta pressão hidrostática e a ação enzimática da Celluclast intensificou a liberação de carboidratos solúveis em até 3,8 vezes em relação ao controle, reduzindo o tempo total de processamento (DOURADO et al., 2002).

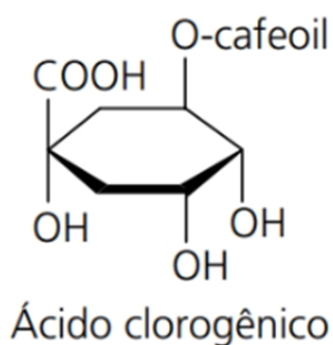
Apesar dos resultados promissores observados em diferentes matrizes vegetais e subprodutos do café, não há registros na literatura do uso da enzima Celluclast especificamente na extração de compostos bioativos da película prateada do café, o que evidencia o caráter inovador e inédito dessa abordagem no presente estudo.

3.5 Compostos bioativos

3.5.1 Ácido clorogênico

O ácido clorogênico é um composto fenólico amplamente distribuído em plantas, sendo um dos principais antioxidantes presentes nos grãos de café verde, onde pode representar entre 6 a 9% da composição. Este composto é quimicamente caracterizado como um éster do ácido cafeico com o ácido quínico (FENNEMA et al., 2019). Os compostos fenólicos, como o ácido clorogênico, são metabólitos secundários das plantas que influenciam diretamente características sensoriais dos alimentos, como a cor, o gosto e o aroma, além de desempenharem importante papel como antioxidantes naturais. A estrutura química destes compostos, com anéis aromáticos e ligações conjugadas, como ilustra a Figura 2, permite a deslocalização de elétrons, conferindo-lhes elevado potencial redox e a capacidade de atuar como doadores de hidrogênio, agentes redutores e inibidores do oxigênio singlete (FENNEMA et al., 2019).

Figura 2 - Estrutura química do ácido clorogênico



Fonte: FENNEMA, et al., 2019

Os isômeros são formados pela esterificação do ácido cafeico com o ácido quínico e incluem principalmente o 3-cafeoilquínico (3-CQA), o 4-cafeoilquínico (4-CQA) e o 5-cafeoilquínico (5-CQA), sendo este último o mais prevalente na natureza, é referido como ácido clorogênico, embora a nomenclatura IUPAC recomenda o uso de 5-CQA (DE MARIA; MOREIRA, 2004; FARINHOTO, 2012).

Além dos monoésteres, também são encontrados os ácidos dicafeoilquínicos (diCQA), que apresentam dois grupos de ácido cafeico ligados ao ácido quínico, com destaque para os isômeros 3,4-diCQA, 3,5-diCQA e 4,5-diCQA. A mistura desses isômeros é muitas vezes denominada ácido isoclorogênico (DE MARIA; MOREIRA, 2004; VIEIRA, 2015). Também fazem parte desse grupo os ácidos feruloilquínicos (FQA), formados a partir da ligação entre o ácido ferúlico e o ácido quínico, com isômeros como 3-FQA, 4-FQA e 5-FQA (FARINHOTO, 2012).

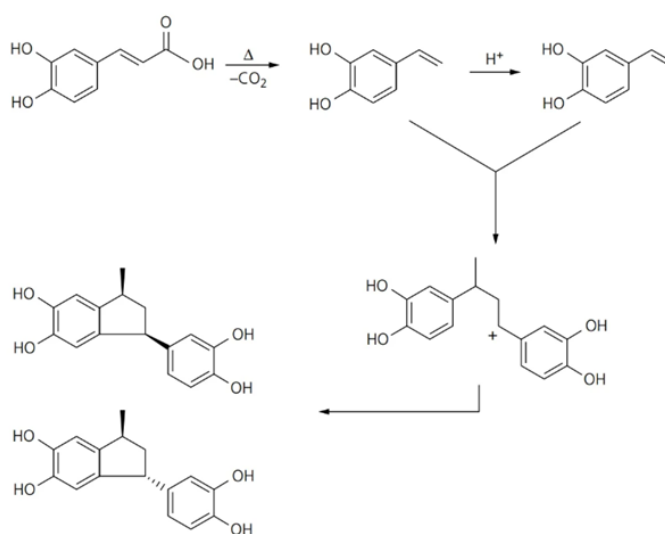
Os isômeros de ACG são solúveis em álcoois de cadeia curta e em misturas hidroalcoólicas, estando presentes em teores significativos nos grãos de café verde, onde podem representar até 14% da massa seca, consolidando o café como a principal fonte dietética desses compostos (FARINHOTO, 2012).

A identificação e caracterização desses isômeros pode ser realizada por técnicas como a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) com detecção UV ou DAD, métodos amplamente utilizados por sua eficiência e precisão (BAQUETA, 2017). Técnicas mais robustas, como HPLC-MS, oferecem maior especificidade e permitem a identificação inequívoca dos isômeros individuais (BAQUETA, 2017; DE MARIA; MOREIRA, 2004). A espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) também é útil na identificação de grupos funcionais característicos desses compostos, como a carbonila de éster (1715 cm^{-1}), a hidroxila (1316 cm^{-1}), a

hidroxila fenólica (3750 cm^{-1}), o ácido carboxílico (3400 cm^{-1}) e a ligação $\text{C}=\text{C}$ sp^2 do anel aromático (1516 cm^{-1}) (BAQUETA, 2017).

Nesse contexto, o ácido clorogênico merece destaque. Durante o processo de torrefação, esse composto sofre degradação, o que reduz seu teor, mas gera subprodutos com relevantes propriedades biológicas, como os fenilindanos 1,3-cis e 1,3-trans-tetraoxigenados, como ilustra a Figura 3, conhecidos por sua alta atividade antioxidante e antimutagênica (FENNEMA et al., 2019).

Figura 3 - Formação de fenilindanos 1,3-tetraoxigenados a partir do ácido cafeico



Fonte: FENNEMA, et al., 2019

Além de ser um potente antioxidante, o ácido clorogênico inibe a autooxidação por radicais livres, o que contribui para a estabilidade de compostos sensíveis, como a betalaína, em alimentos processados (FENNEMA et al., 2019). Essa propriedade tem incentivado o uso de antioxidantes naturais na indústria alimentícia, em substituição aos sintéticos, refletindo uma preferência crescente dos consumidores (NARIRA; INOUE, 2012).

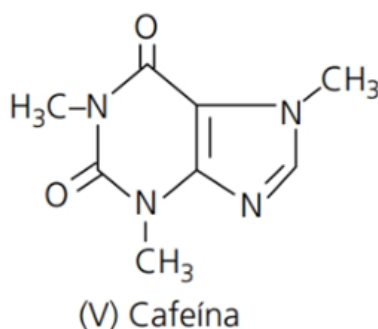
A película prateada do café, subproduto da industrialização do grão, também tem se revelado uma fonte promissora de compostos fenólicos, especialmente ácido clorogênico e ácido cafeico. Sua atividade antioxidante é comparável à de frutas frescas reconhecidas como fontes antioxidantes, como tomates, pêssegos e maçãs. Além dos ácidos fenólicos, a presença de melanoidinas, formadas durante a reação

de Maillard no processo de torrefação, contribui para essa capacidade antioxidante (BORRELLI et al., 2004; NARIRA; INOUE, 2012).

3.5.2 Cafeína

A cafeína (Figura 4) é um composto pertencente à classe dos alcalóides, derivado da purina. Está presente em diferentes concentrações nas sementes do café, dependendo da variedade, da espécie da planta e também do processamento ao qual os grãos são submetidos. Dentre as espécies comerciais, o café Robusta (*Coffea canephora*) contém, em média, mais cafeína do que o café Arábica (*Coffea arabica*), apresentando cerca de 2,2% contra 1,2%, respectivamente (FARINHOTO, 2012). Apesar de a torrefação promover mudanças significativas na composição química do café, a cafeína é relativamente estável ao calor, sofrendo pouca alteração durante esse processo (ABRAHÃO et al., 2008).

Figura 4 - Molécula da cafeína



Fonte: FENNEMA, et al., 2019

Esse alcaloide é amplamente distribuído em bebidas de consumo diário, como chás, refrigerantes e energéticos, sendo especialmente abundante no café. Sua principal ação fisiológica é a estimulação do sistema nervoso central, o que promove aumento da atenção, da disposição e da capacidade de concentração. Além disso, pode atuar como diurético e influenciar a musculatura lisa de diversos sistemas do organismo, como o respiratório, digestivo e circulatório, contribuindo para o relaxamento dos brônquios e o aumento da secreção gástrica (BELAY et al., 2008; BRENELLI, 2003).

O consumo moderado de cafeína está frequentemente associado a benefícios como melhora do desempenho físico e cognitivo. No entanto, quando

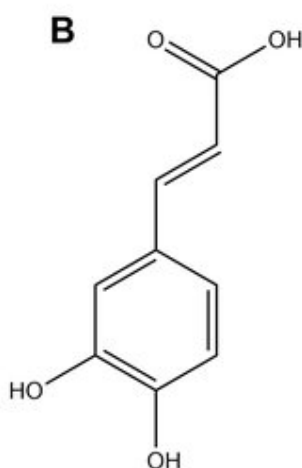
ingerida em excesso, pode provocar efeitos adversos como insônia, irritabilidade, taquicardia e desconfortos gastrointestinais (BRENELLI, 2003). O sabor amargo característico da cafeína também influencia o perfil sensorial do café, sendo um dos fatores determinantes de sua aceitação pelos consumidores (PERRONE et al., 2008).

Por ser uma das substâncias mais valorizadas no café, tanto por seus efeitos fisiológicos quanto por seu impacto no sabor, a análise do teor de cafeína nos grãos é frequentemente utilizada como indicador de qualidade. Estudos apontam que grãos com maior concentração de cafeína tendem a ser mais bem avaliados sensorialmente (BELAY et al., 2008). Além disso, a popularidade do café como bebida estimulante faz da cafeína o composto psicoativo mais consumido globalmente (CAMPO et al., 2010).

3.5.3 Ácido cafeico

O ácido cafeico é um dos principais ácidos fenólicos encontrados na película prateada do café e desempenha papel relevante na atividade antioxidante desse resíduo (OLIVEIRA, 2021). Estruturalmente, é um derivado do ácido cinâmico que contém dois grupos hidroxila na posição orto do anel aromático, o que favorece a doação de elétrons e a neutralização de radicais livres, conferindo-lhe alta eficiência antioxidante, com mostra a Figura 5 (MAURICIO, 2006; MATTOS, 2009).

Figura 5 - Estrutura química do ácido cafeico



Fonte: Caparica et al., 2020

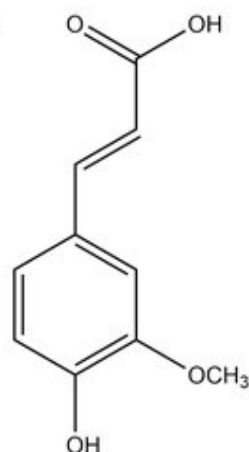
Além de sua ação direta na inibição da oxidação lipídica, o ácido cafeico apresenta propriedades de quelação de íons metálicos e capacidade de regeneração de outros antioxidantes, como o ácido ascórbico (OLIVEIRA, 2021). A presença desse composto na película prateada do café indica a conservação de importantes frações fenólicas durante o beneficiamento do grão, contribuindo para o potencial de reaproveitamento deste subproduto como fonte natural de antioxidantes.

No estudo de Oliveira e Bastos (2011) que investigou a rota de absorção, o metabolismo e as metodologias utilizadas para avaliar a biodisponibilidade dos ácidos fenólicos, foi demonstrado que o ácido cafeico possui significativa biodisponibilidade, sendo rapidamente absorvido e metabolizado no organismo, o que potencializa sua eficácia biológica (OLIVEIRA; BASTOS, 2011). Assim, sua detecção na película prateada é um indicativo de valor agregado e viabilidade de aplicação em formulações alimentícias e cosméticas com ação antioxidante.

3.5.4 Ácido ferúlico

O ácido ferúlico (AF), ou (E)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)prop-2-enóico, é um ácido hidroxicinâmico amplamente presente em cereais e frutas (DOS SANTOS NUNES et al., 2024; OLIVEIRA; BASTOS, 2011). Embora os ácidos clorogênicos sejam os compostos fenólicos dominantes no café (GARAMBONE; ROSA, 2008), o AF é um dos ácidos cinâmicos livres identificados em menor proporção nos extratos de café comercial (VEGA et al., 2018). Sua estrutura (Figura 6), que contém uma hidroxila e um grupo metoxila adjacente no anel fenólico, confere-lhe elevado poder antioxidante por ser um eficiente sequestrador de radicais livres (DOS SANTOS NUNES et al., 2024).

Figura 6 - Estrutura química do ácido ferúlico



Fonte: Caparica et al., 2020

O AF apresenta múltiplas funções biológicas, incluindo atividades anti-inflamatórias, anticarcinogênicas, anti-alérgicas e antitrombóticas (SANTOS, 2025). Em café verde, estudos sugerem que o AF contribui para reduzir hipertensão, dislipidemia e estresse oxidativo (GARAMBONE; ROSA, 2008).

Em comparação com o ácido cafeico, o AF possui menor atividade antioxidante (OLIVEIRA, 2021), pois o ácido cafeico apresenta dois grupos hidroxila adjacentes (catecol), enquanto o AF possui apenas um grupo hidroxila livre e uma metoxila na posição orto, reduzindo sua capacidade antioxidante relativa (OLIVEIRA, 2021).

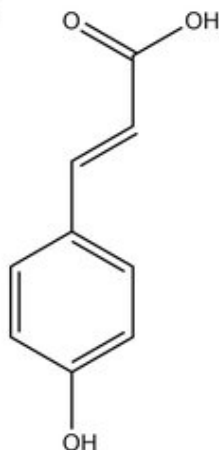
O AF destaca-se ainda na área de biomateriais, relevante para a otimização de extratos e subprodutos como a película prateada. Quando conjugado a biopolímeros, como a quitosana (CS-TPP), melhora sua solubilidade e permeabilidade (SANTOS, 2025). Em estudo de Dos Santos Nunes (2024) através de uma revisão integrativa da literatura, aponta que a associação do AF ou do ácido cafeico à quitosana apresentou melhor atividade antioxidante do que a quitosana isolada, inibindo significativamente a peroxidação lipídica.

3.5.5 Ácido p-cumárico

O ácido p-cumárico, é pertencente à classe dos ácidos hidroxicinâmicos, é encontrado em quantidades moderadas na película prateada do café e contribui para o efeito antioxidante do material. Sua estrutura (Figura7), com uma única hidroxila no anel aromático, confere-lhe capacidade de doação de hidrogênio e

neutralização de espécies reativas de oxigênio, embora em intensidade inferior à do ácido cafeico (SOARES, 2002; OLIVEIRA, 2023).

Figura 7 - Estrutura química do ácido p-cumárico



Fonte: Caparica et al., 2020

A presença do ácido p-cumárico na película está associada à defesa natural da planta contra o estresse oxidativo, além de conferir propriedades funcionais aos resíduos de café. Esse composto apresenta ainda potencial antimicrobiano e efeito modulador sobre enzimas oxidativas, o que reforça sua importância biológica (AMADOR et al., 2019).

De acordo com estudos recentes, o ácido p-cumárico também pode atuar de forma sinérgica com outros fenólicos, como o ácido ferúlico, ampliando a proteção antioxidante de sistemas alimentares e biológicos (OLIVEIRA, 2023). Sua presença, portanto, evidencia o valor funcional da película prateada como matriz rica em compostos bioativos de interesse para o desenvolvimento de novos produtos com propriedades antioxidantes e antimicrobianas.

4 METODOLOGIA

4.1 Obtenção e preparo da película prateada do café

Neste estudo, foram utilizadas amostras de película prateada provenientes da torra de diferentes variedades de café *Coffea arabica*, sendo elas Catuaí Amarelo, Arara, Topázio e Mundo Novo, oriundas das regiões de Sul de Minas e Média

Mogiana Paulista, obtidas junto à empresa Torra Local, uma torrefadora especializada em cafés especiais, situada em Porto Alegre (RS).

O pré-preparo das amostras consistiu na padronização do material, as amostras foram moídas em moinho IKA (A11 *Basic*) em seguida peneiradas em malha mesh 32, a fim de uniformizar a granulometria do pó obtido.

4.2 Extração em água aquecida a 80°C (EA)

A metodologia foi adaptada de Rodrigues (2021), consistindo na pesagem de 2,5 g de película de café adicionadas a 50 mL de água destilada aquecida a 80 °C. A mistura foi submetida à agitação constante por 45 min, promovendo a solubilização dos compostos de interesse. Após o tempo de extração, o sistema foi rapidamente resfriado para interromper possíveis reações de degradação térmica. A separação das fases sólida e líquida foi realizada por centrifugação a 3.000 rpm ($\approx 1000 \times g$) durante 10 min, seguida de filtração com papel filtro Whatman nº 40. O extrato obtido foi armazenado sob baixa temperatura (4 °C) e protegido da luz, garantindo a estabilidade dos compostos extraídos.

4.3 Extração em água acidificada (EAa)

A extração dos compostos bioativos foi realizada com base na metodologia adaptada de Ferreira (2022), utilizando água acidificada como solvente extrator. Inicialmente, foram pesadas 2,5 g da amostra de película prateada de café e adicionadas a 50 mL de água acidificada com ácido acético a 1%. A mistura foi submetida à extração em banho-maria a 80°C por 45 min.

A separação das fases sólida e líquida foi realizada por centrifugação a 3.000 rpm ($\approx 1000 \times g$) durante 10 min, seguida de filtração com papel filtro Whatman nº 40. O extrato obtido foi armazenado sob baixa temperatura (4 °C) e protegido da luz, a fim de preservar a estabilidade dos compostos extraídos.

4.4 Extração assistida por ultrassom (EU)

A extração foi conduzida conforme metodologia baseada em Ferreira (2022), utilizando água destilada como meio extrator. Foram pesadas 2,5 g da amostra e

adicionadas a 50 mL de água destilada. A mistura foi submetida ao banho ultrassônico a 40 kHz e 100 W por 15 min, sem agitação.

Após o processo, a mistura foi centrifugada a 3.000 rpm ($\approx 1000 \times g$) por 10 min e filtrada com papel filtro Whatman nº 40 para remoção das partículas sólidas. O extrato obtido foi armazenado a 4 °C e protegido da luz até as análises posteriores.

4.5 Extração enzimática assistida por ultrassom (EE)

A extração enzimática dos compostos bioativos da película prateada do café foi realizada com base na técnica de extração assistida por enzimas (EE), conforme descrita por Inácio (2022), com as devidas adaptações para a matriz em estudo.

A extração foi realizada mediante adição de 2,5 g da amostra moída a 50 mL da solução enzimática (tampão citrato, 5% de enzima Celluclast, pH 4,8, 0,05 mol/L), resultando em uma proporção sólido-líquido de 1:20 (m/v). A mistura foi incubada em banho ultrassônico a 40 kHz e 100W, a uma temperatura de 50 °C por 15 min, com base em parâmetros adaptados da literatura.

Após o processo, a mistura foi centrifugada a 3.000 rpm ($\approx 1000 \times g$) por 10 min e filtrada com papel filtro Whatman nº 40 para remoção das partículas sólidas. O extrato obtido foi armazenado a 4 °C e protegido da luz até as análises posteriores.

4.6 Análise de compostos fenólicos totais por HPLC-DAD

A metodologia analítica utilizada foi adaptada de Romero (2017). Para a análise cromatográfica em HPLC-DAD, foram inicialmente utilizadas as seguintes fases móveis: acetonitrila contendo 0,1% de ácido fórmico (v/v) e água Milli-Q também acidificada com 0,1% de ácido fórmico (v/v).

A separação ocorreu em coluna de C18 (25 cm x 4,6 mm, 5 μ m) e o sistema cromatográfico foi configurado para eluição em gradiente, fluxo de 1 mL/min, forno à 40 °C e volume de injeção de 20 μ L. O gradiente teve início com 95% da fase móvel aquosa e 5% de acetonitrila, progredindo gradualmente até 50% de acetonitrila em 10 minutos, sendo mantido até 15 min, seguido por aumento até 90% de acetonitrila em 20 min, permanecendo até 25 min, e retornando às condições iniciais (95% fase aquosa e 5% acetonitrila) aos 30 min.

4.7 Análise de compostos bioativos por UHPLC-MS/MS

Todos os extratos foram analisados em sistema UHPLC, acoplado a um espectrômetro de massas com fonte de ionização por electrospray e analisador de massas do tipo triplo quadrupolo (modelo, Shimadzu, Japão).

A separação cromatográfica foi realizada na coluna C18 (100 × 2.1 mm, 1.9 µm; Shim Pack Giss), sob vazão de 0,3 mL/min. A fase móvel consistiu em uma solução de 0,1% de ácido fórmico em água ultrapura (eluente A) e solução de acetonitrila com 0,1% de ácido fórmico (eluente B), empregando-se um gradiente de eluição com o seguinte perfil: 0-10 min, 5% B; 10-11 min, 50% B; 11-13 min, 95% B; 13-17 min, 5% B.

O espectrômetro de massas operou nos modos de ionização positivo e negativo para análise de metilxantinas e compostos fenólicos, respectivamente. As análises foram realizadas sob as seguintes condições operacionais: temperatura do DL de 250 °C, temperatura do bloco de aquecimento de 400 °C e temperatura da interface de 300 °C. O fluxo de gás nebulizante foi mantido em 3 L/min, o fluxo de gás de aquecimento em 5 L/min e o fluxo de gás de secagem em 15 L/min. A voltagem capilar foi ajustada para ±4000 V. As amostras foram analisadas no modo MRM (*Multiple Reaction Monitoriment*, SCAN/SCAN) para conhecimento dos principais íons presentes na amostra. As análises também foram conduzidas no modo SRM (*Selected Reaction Monitoring*), com o objetivo de identificar os íons precursores e fragmentos característicos monitorados em cada experimento. Para a teobromina, foram observadas as transições m/z 181,0078 → 99,1000, 140,2000 e 81,2000, com energias de colisão de -12,0, -9,0 e -38,0, respectivamente. O ácido clorogênico (CQA) apresentou as transições m/z 352,9922 → 191,1500, 96,9500 e 179,0500 (CE 19,0; 36,0; 17,0), enquanto os derivados DiCQA (DCQ) e TriCQA (TCQ) mostraram transições m/z 514,9922 → 469,7000, 73,0000 e 468,9500 (CE 29,0; 43,0; 20,0) e m/z 676,9922 → 261,0000 e 630,9000 (CE 47,0; 14,0), respectivamente. Para os ácidos fenólicos, as transições monitoradas foram: ácido ferúlico m/z 192,9922 → 103,1000, 59,1500 e 147,0500 (CE 11,0; 22,0; 8,0), ácido cafeico m/z 178,9922 → 89,1000, 59,0000 e 135,0500 (CE 12,0; 20,0; 14,0), e ácido p-cumárico m/z 162,9922 → 62,0000, 101,1500 e 72,9500 (CE 9,0; 9,0; 12,0), correspondendo aos compostos-alvo investigados. A voltagem do octapolo e a energia de colisão foram determinadas por meio de experimentos de otimização

utilizando padrões de 5-CQA e cafeína, garantindo a detecção precisa dos analitos. A identificação dos compostos foi confirmada com base nos dados espectrais obtidos, na ordem de eluição e por comparação com os resultados das análises realizadas em sistema HPLC-DAD, bem como com dados reportados na literatura científica.

4.8 Análise da atividade antioxidante utilizando DPPH

A atividade antioxidante foi determinada por meio do método DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil), conforme a metodologia adaptada de DO (2007). Os resultados foram expressos em mg Trolox equivalente/g de amostra a partir da construção de curva de calibração (50 a 1000 μM , $y = -13299x + 481,27$; $R^2 = 0,9986$). Foi misturado 150 μL de cada padrão com 5,850 mL de DPPH (60 μM), repousado por 40 minutos, transferidos para cubetas de vidro de 4 mL, e a leitura foi realizada a 515 nm.

Posteriormente, foram preparadas as amostras a partir dos extratos da película prateada do café, a 40mg de película prateada por mL de extrato. Foram transferidos 0,1 mL da solução para tubos Falcon de 15 mL, protegidos da luz com papel alumínio, adicionando-se 3,9 mL da solução de DPPH a 60 μM . Após homogeneização as leituras foram realizadas nos tempos de 5, 10, 20, 30, 40 min ou até que a leitura se estabilizasse a 515 nm. Também foi realizada a leitura da absorbância inicial da solução controle, composta por etanol e DPPH.

A curva analítica para determinação da capacidade antioxidante pelo método do DPPH foi utilizada para expressar os resultados em valores de TEAC (μmol Trolox/g) e para o cálculo do IC_{50} , definido como a concentração necessária para inibir 50% dos radicais DPPH. O valor de IC_{50} foi obtido a partir da regressão linear entre a porcentagem de inibição e a concentração das amostras, sendo determinado por interpolação no ponto correspondente a 50% de inibição.

4.9 Análise da atividade antioxidante utilizando ABTS

A determinação da atividade antioxidante total foi realizada utilizando o método de captura do radical $\text{ABTS}^{\cdot+}$, conforme a metodologia descrita por Rufino et al. (2007), com as devidas adaptações.

Inicialmente, o radical ABTS $\cdot^+$ foi gerado pela reação de 5 mL da solução estoque de ABTS (7 mM) com 88 μ L de solução de persulfato de potássio (140 mM). A mistura foi mantida em repouso, no escuro e à temperatura ambiente, por 16 h. Após esse período, uma alíquota de 1 mL da solução resultante foi diluída em etanol até atingir absorvância de $0,70 \pm 0,05$ a 734 nm, sendo essa a solução de trabalho utilizada para as análises. A solução foi preparada no mesmo dia da realização do ensaio, a fim de garantir sua estabilidade.

Para a construção da curva-padrão, foi utilizado o padrão antioxidante Trolox, nas concentrações de 100 a 1500 μ M. Alíquotas de 30 μ L de cada solução padrão foram adicionadas a 3,0 mL da solução do radical ABTS $\cdot^+$, e a mistura foi homogeneizada em agitador de tubos, em ambiente escuro. A leitura da absorvância foi realizada após 6 min, a 734 nm, utilizando-se etanol como branco. A partir dos dados obtidos, foi construída uma curva de calibração relacionando as concentrações de Trolox (μ M) com as respectivas absorvâncias, permitindo a obtenção da equação da reta ($y = ax + b$) e seu coeficiente de determinação (R^2).

Os extratos das amostras foram submetidos a diluições (1:1, 1:2, 1:3 e 1:4) e, em triplicata, foram pipetadas alíquotas de 30 μ L de cada diluição em tubos contendo 3,0 mL da solução de ABTS $\cdot^+$. As misturas foram homogeneizadas e mantidas por 6 min no escuro, antes da leitura da absorvância no espectrofotômetro. A atividade antioxidante foi calculada interpolando-se os valores de absorvância das amostras na equação da curva-padrão, sendo os resultados expressos como micromoles equivalentes de Trolox por grama de amostra (μ mol TE/g).

A curva analítica para determinação da capacidade antioxidante com ABTS foi determinada através da curva analítica de concentrações conhecidas do padrão Trolox (100 a 1500 μ M), descrita pela equação da reta: $y = 2E-05x + 0,0619$; $R^2 = 0,9972$. A determinação foi realizada em triplicata e os resultados expressos pela capacidade antioxidante em mg TEAC g $^{-1}$ da amostra em base seca.

4.10 Análise de dados

Os ensaios foram conduzidos em triplicata e expressos como a média e seus respectivos desvios padrão. A verificação da normalidade dos dados foi realizada por meio do teste de Shapiro-Wilk. Os dados obtidos nas análises de atividade

antioxidante foram submetidos à análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste de comparação de médias de Tukey, adotando-se um nível de significância de 5%.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análise dos compostos bioativos

5.1.1 Quantificação de cafeína e ácido clorogênico na película prateada do café por HPLC-DAD

As curvas de calibração foram elaboradas com o objetivo avaliar a linearidade e a sensibilidade do método nas faixas de concentração estudadas. Para isso, foram utilizadas soluções padrão de cafeína e ácido clorogênico (ACG) em diferentes concentrações. A Tabela 2 mostra que a linearidade das curvas foi avaliada por meio do coeficiente de determinação (R^2), que indicou boa correlação entre os parâmetros. Além disso, foram determinados os limites de detecção (LoD) e de quantificação (LoQ) pela análise dos dados de regressão linear. Os dados da Tabela 2 indicam que o método possui uma sensibilidade capaz de detectar compostos em concentrações superiores a 1,54 e 2,22 ppm e quantificar em concentrações superiores a 4,67 e 6,67 ppm para cafeína e 5-CQA, respectivamente.

Tabela 2 - Linearidade e sensibilidade para os padrões de cafeína e ácido 5-O-cafeoilquínico (5-CQA)

Composto	λ (nm) monitorado	Equação	R^2	Limite de detecção (mg/100g) $S/N \geq 3$	Limite de quantificação (mg/100g) $S/N \geq 10$
Cafeína	272	$y=18661x - 18025$	0,9973	0,154283	0,467524
5-CQA	325	$y = 27442x + 16390$	0,9949	0,22034	0,667696

Fonte: Autora, 2025

A análise cromatográfica (HPLC) com detecção por DAD permitiu identificar e quantificar dois compostos majoritários da película prateada de café em todas as condições de extração testadas. Foram detectados picos correspondentes à cafeína ($t_r \approx 12,5$ min) e ao ácido clorogênico ($t_r \approx 11,7$ min), além de outros compostos minoritários cuja presença variou conforme o tipo de tratamento.

A Tabela 3 apresenta os valores de tempo de retenção e de quantificação obtidos para os compostos cafeína e 5-CQA, analisados sob diferentes condições de extração (EA, EAa, EU e EE).

Tabela 3 - Resultados médios de tempo de retenção, área do pico, concentrações obtidas (mg/100 mL e mg/100 g) e análise estatística (ANOVA) dos compostos cafeína e 5-CQA, conforme o método de extração utilizado

Composto	Extração	Tempo de retenção (min)	Concentração (mg/100mL)	Concentração (mg/100g)
Cafeína	EA	12,526	17.673,36	353.467,12
	EAa	12,509	18.423,58	368.471,68
	EU	12,496	18.316,41	366.328,17
	EE	12,497	18.584,35	371.686,94
5-CQA	EA	11,791	403,07	8.061,37 ^c
	EAa	11,775	421,29	8.425,77 ^b
	EU	11,742	435,86	8.717,29 ^b
	EE	11,759	479,59	9.591,87 ^a

Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade ($p < 0,05$)

Fonte: Autora, 2025

Entre os compostos avaliados, observou-se que os tempos de retenção permaneceram constantes entre os diferentes métodos de extração, confirmando a estabilidade e a repetibilidade do sistema cromatográfico. Para a cafeína, as concentrações obtidas apresentaram variações discretas entre os tratamentos, sem diferenças estatisticamente significativas, conforme evidenciado pela ANOVA ($p = 0,569$) (Tabela 2). Em contrapartida, para o ácido clorogênico, a ANOVA apontou diferenças significativas entre os métodos ($p = 0,0007259$). O teste de Tukey indicou que as extrações EAa e EU não apresentaram diferenças significativas entre si, enquanto EA e EE diferiram, apresentando menores e maiores concentrações, respectivamente.

A Tabela 4 apresenta o número total de compostos detectados em 280 e 320 nm pela análise de HPLC-DAD sob diferentes condições de extração.

Tabela 4 - Número de compostos detectados em cromatogramas obtidos em 280nm e 320nm.

Extração	Nº de compostos a 280 nm	Nº de compostos a 320 nm	Total de compostos
EA	6	4	10
EAa	6	4	10
EU	6	5	11
EE	9	5	14

Fonte: Autora, 2025

Ao analisar os dados da Tabela 4, observa-se que as extrações EA (10 compostos totais), EAa (10 compostos totais) e EU (11 compostos totais) demonstram um perfil de detecção semelhante, com números de compostos muito próximos em ambos os comprimentos de onda. Ressalta-se que apenas os picos com bandas de absorção máxima em 320 nm nos espectros eletromagnéticos foram considerados para a detecção, assim como, foram desconsiderados no cromatograma à 280 nm onde possuem uma absorção mais discreta. Esse perfil de absorção é característico de ácidos fenólicos derivados de hidroxicinamatos, assim como, aqueles compostos com máximos em 280 nm podem tanto serem derivados de ácidos fenólicos derivados de hidroxibenzoatos como de taninos condensados e hidrolisáveis.

A extração enzimática (EE) destacou-se por apresentar o maior número total de compostos detectados (14), sinalizando sua superioridade na liberação de substâncias imobilizadas na matriz. O método EE foi particularmente eficiente na região de 280 nm, onde detectou 9 picos, em comparação com 5 picos a 320 nm. Este resultado sugere que a EE é a técnica mais abrangente e eficaz para isolar a diversidade completa de compostos presentes na amostra, especialmente aqueles com maior absorção em 280 nm (ácidos fenólicos derivados de hidroxibenzoatos e/ou taninos condensados e hidrolisáveis).

As Figuras 8, 9, 10 e 11 apresentam os perfis cromatográficos correspondentes às diferentes condições de extração avaliadas — aquosa (EA), aquosa acidificada (EAa), assistida por ultrassom (EU) e enzimática (EE) —, permitindo observar variações quantitativas entre os compostos extraídos em cada tratamento. Como mencionado anteriormente, embora todos os métodos tenham permitido a detecção dos compostos majoritários, como cafeína e ácido clorogênico

(ACG), a intensidade e o número de picos variaram conforme o tipo de extração empregado.

Figura 8 - Cromatograma da extração de compostos bioativos da película prateada do café utilizando água a 80°C por 45 min (EA).

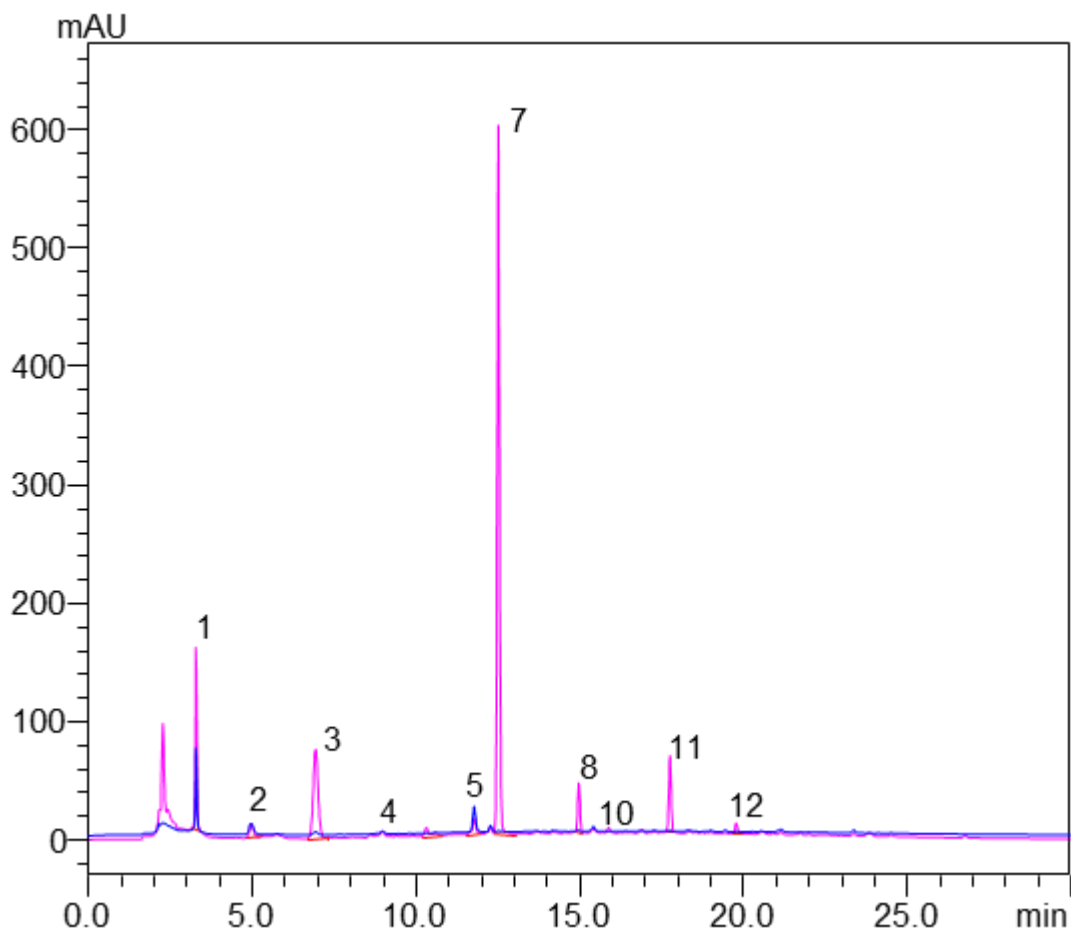


Gráfico em rosa e azul correspondem aos cromatogramas extraídos em 280 e 320nm, respectivamente. Nota: (1) NI; (2) NI; (3) NI; (4) NI; (5) Ácido clorogênico; (7) Cafeína; (8) NI; (10) NI; (11) NI; (12) NI.

NI = não identificado.

Fonte: Autora, 2025

A extração EA apresentou 10 compostos distintos, sendo 6 detectados a 280 nm e 4 a 320 nm. A 280 nm, o pico de maior área foi o de número 7, correspondendo sozinho a mais de 60% da área total, identificado como cafeína por comparação com padrão cromatográfico autêntico. Os demais picos com máximos de absorção a 280 nm, mas não a 320 nm, correspondem aos picos 1, 3, 8, 11 e 12, que juntos representam o restante da área (menos de 40%). A 320 nm, o pico de maior área foi o de número 5, correspondendo a 45% da área total e identificado

como ácido clorogênico. Os picos 2, 4 e 10 representam 34,7%, 9,1% e 11,1% da área total, respectivamente, para este extrato.

Figura 9 - Cromatograma da extração de compostos bioativos da película prateada do café utilizando água acidificada a 80°C por 45 min (EAa).

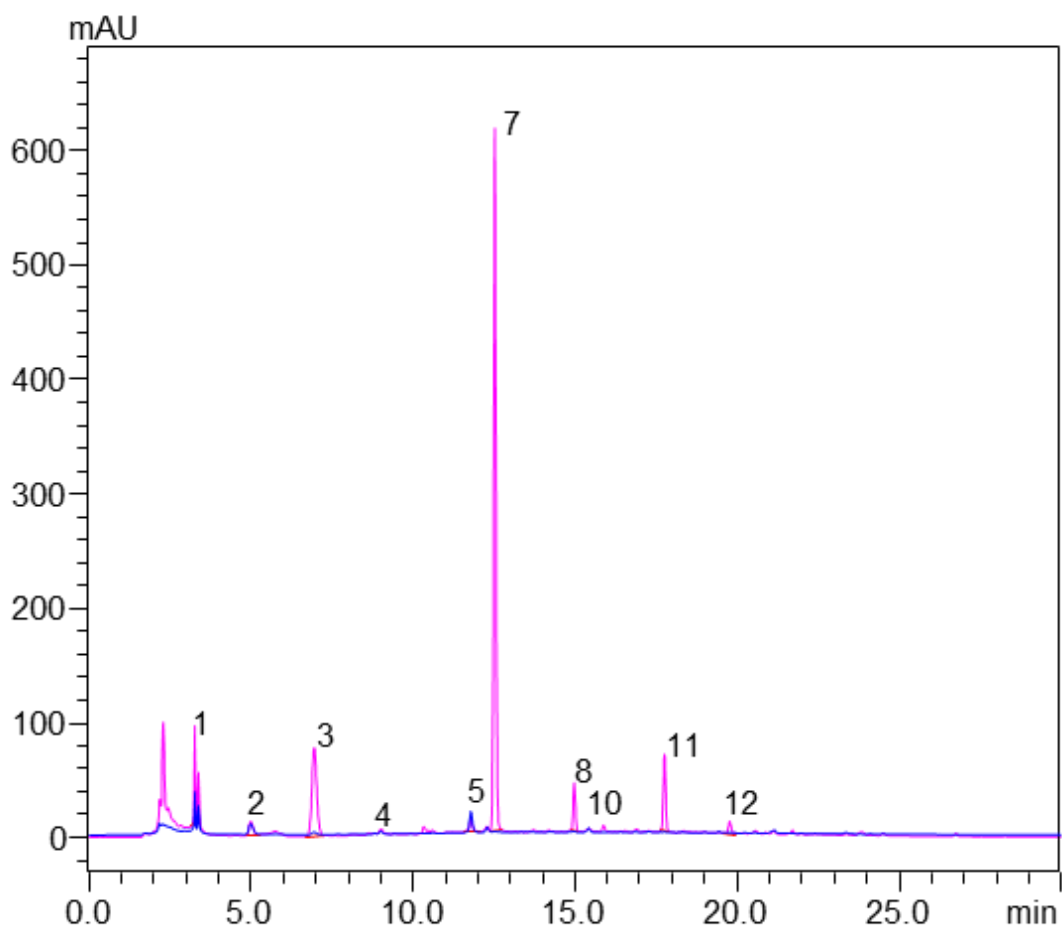


Gráfico em rosa e azul correspondem aos cromatogramas extraídos em 280 e 320nm, respectivamente. Nota: (1) NI; (2) NI; (3) NI; (4) NI; (5) Ácido clorogênico; (7) Cafeína; (8) NI; (10) NI; (11) NI; (12) NI.

NI = não identificado.

Fonte: Autora, 2025

A extração EAa também apresentou 10 compostos distintos, sendo 6 detectados a 280 nm e 4 a 320 nm. A 280 nm, o pico de maior área foi o de número 7, correspondendo sozinho a mais de 70% da área total, identificado como cafeína por comparação com padrão cromatográfico autêntico. Os demais picos com máximos de absorção a 280 nm, mas não a 320 nm, correspondem aos picos 1, 3, 8, 11 e 12, que juntos representam o restante da área (menos de 30%). A 320 nm, o

pico de maior área foi o de número 5, correspondendo a 45% da área total e identificado como ácido clorogênico. Os picos 2, 4 e 10 representam 36%, 8,8% e 9,5% da área total, respectivamente, para este extrato.

Figura 10 - Cromatograma da extração de compostos bioativos da película prateada do café utilizando assistida por ultrassom (EU).

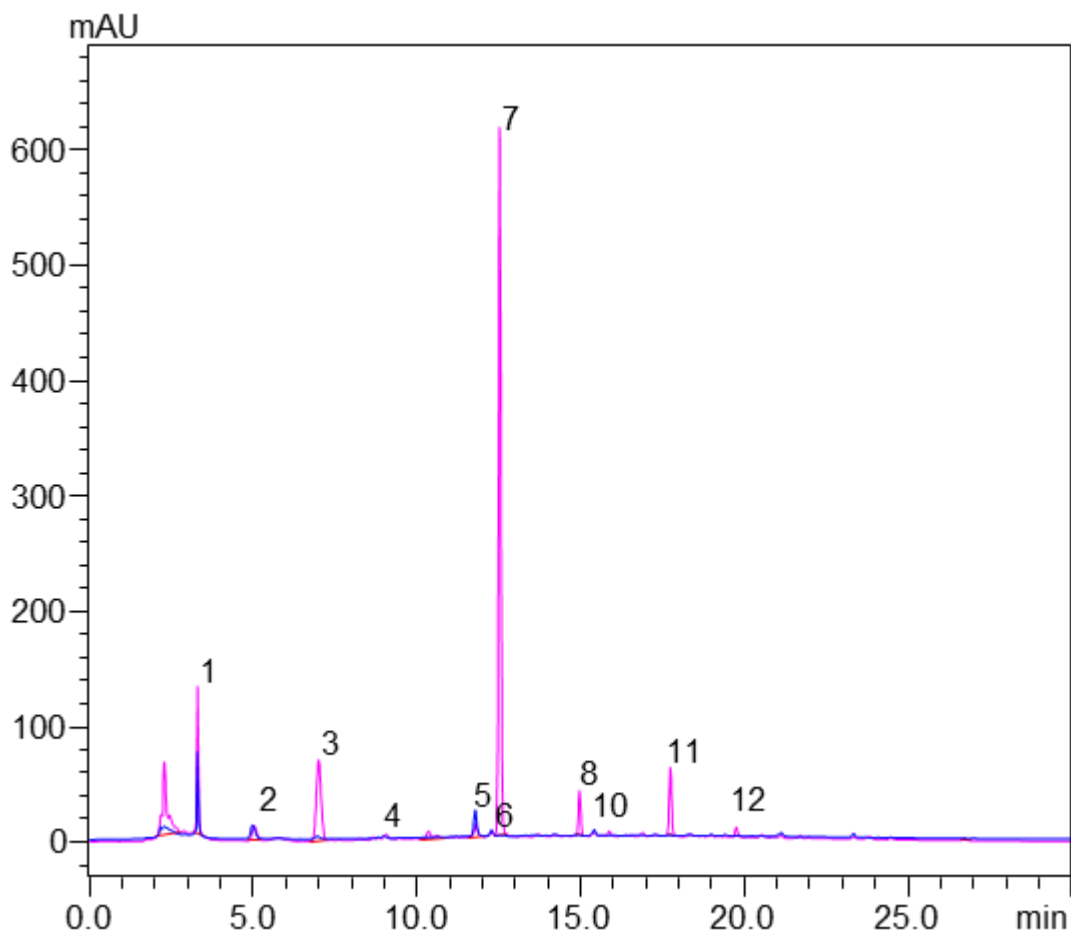


Gráfico em rosa e azul correspondem aos cromatogramas extraídos em 280 e 320nm, respectivamente. Nota: (1) NI; (2) NI; (3) NI; (4) NI; (5) Ácido clorogênico; (6) NI; (7) Cafeína; (8) NI; (10) NI; (11) NI; (12) NI.

NI = não identificado.

Fonte: Autora, 2025

A extração EU apresentou 11 compostos distintos, distribuídos entre 280 nm e 320 nm. A 280 nm, o pico de maior área foi o de número 7, que sozinho respondeu por mais de 60% da área total e foi identificado como cafeína por comparação com padrão cromatográfico autêntico. Os demais picos detectados a 280 nm, mas ausentes em 320 nm — números 1, 3, 8, 11 e 12 — corresponderam ao restante da área, somando menos de 40%. Já a 320 nm revelou a presença de um novo pico, o número 6, representando 9,2% da área total. O pico predominante neste

comprimento de onda foi o de número 5, com 40% da área, atribuído ao ácido clorogênico. Os picos restantes — 2, 4, 6 e 10 — contribuíram com 33,4%, 6,4%, 9,2% e 9,9% da área total.

Figura 11 - Cromatograma da extração de compostos bioativos da película prateada do café utilizando enzimas (EE).

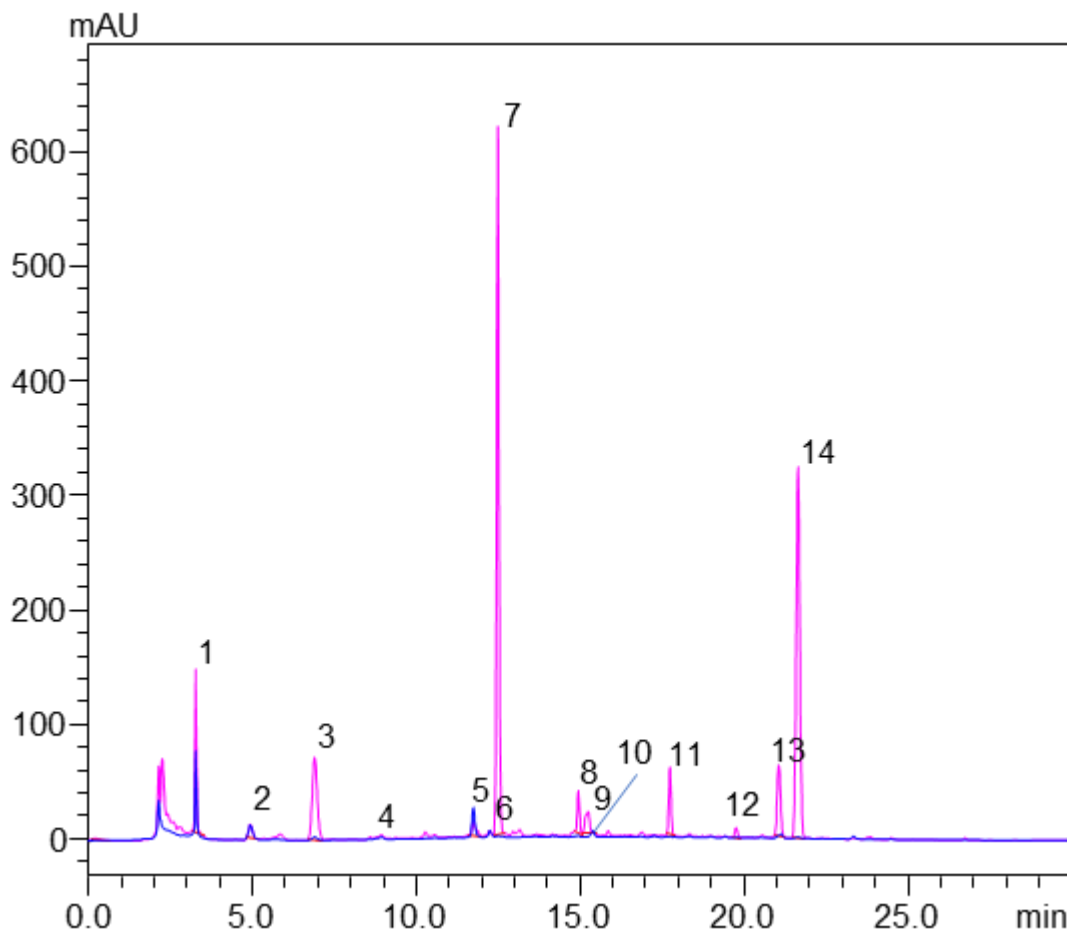


Gráfico em rosa e azul correspondem aos cromatogramas extraídos em 280 e 320nm, respectivamente. Nota: (1) NI; (2) NI; (3) NI; (4) NI; (5) Ácido clorogênico; (6) NI; (7) Cafeína; (8) NI; (9) NI; (10) NI; (11) NI; (12) NI; (13) NI; (14) NI.

NI = não identificado.

Fonte: Autora, 2025

A extração EE apresentou o maior número de compostos detectáveis, totalizando 14 picos, sendo 9 detectados a 280 nm e 6 a 320 nm. No comprimento de onda de 280 nm, foram identificados três compostos exclusivos desta extração, os picos 9, 13 e 14, com áreas correspondentes a 2,1%, 5,5% e 29% da área total. Os compostos 13 e 14 provavelmente correspondem a taninos, embora não seja possível determinar se são hidrolisáveis ou condensados. Isso se deve ao fato de que taninos são polímeros geralmente menos polares que monômeros como ácido

clorogênico, ácido cafeico e ácido ferúlico, identificados na amostra. Outros monômeros seriam esperados em tempos de retenção semelhantes aos desses ácidos. Portanto, há uma grande probabilidade de que os picos 13 e 14 representem compostos poliméricos, com retenção maior que ácidos monoméricos como o ácido gálico ou cafeico.

Entre os picos detectados a 280 nm, o de maior área foi o número 7, correspondente a 42% da área total e identificado como cafeína. A 320 nm, destacou-se o pico número 5, também com 42% da área total, enquanto os picos 2, 4, 6 e 10 apresentaram áreas de 32%, 7%, 8,6% e 9,4%, respectivamente, completando o perfil cromatográfico desta extração.

Em termos gerais, a comparação entre os métodos revela que a EE apresentou o perfil mais abrangente, conseguindo extrair uma gama maior de compostos, incluindo aqueles de menor concentração, enquanto a EA e EAa apresentaram perfis mais seletivos, concentrando-se em compostos específicos de maior área. A EU apresentou eficiência intermediária, extraíndo compostos presentes em menor quantidade e mantendo altos valores de área em picos específicos.

A Tabela 5 apresenta a quantificação por normalização de área para todos os compostos extraídos dos quatro métodos de extração aplicados na película prateada do café.

Tabela 5 - Perfil cromatográfico das extrações de café: áreas de pico e tempos de retenção (TR) por comprimento de onda

n° composto	λ (nm) monitorado	EA		EAa		EU		EE	
		TR (min)	Área (%)	TR (min)	Área (%)	TR (min)	Área (%)	TR (min)	Área (%)
1	280	3.293	10,2%	3.250	4,4%	3.285	9,3%	3.283	5,3%
2	320	4.975	34,7%	4.980	36,0%	5.024	33,4%	4.948	32,9%
3	280	6.937	16,7%	6.935	13,6%	6.984	15,3%	6.910	9,0%
4	320	8.985	9,1%	8.998	8,8%	9.042	6,4%	8.952	7,0%
5	320	11.779	45,0%	11.775	45,7%	11.790	41,1%	11.757	42,0%
6	320	nd		nd		12.284	9,2%	12.256	8,6%
7	280	12.513	61,2%	12.509	70,8%	12.520	64,2%	12.497	42,9%
8	280	14.969	4,0%	14.963	3,4%	14.962	3,8%	14.957	2,0%
9	280	nd		nd		nd		15.258	2,1%
10	320	15.416	11,1%	15.411	9,5%	15.411	9,9%	15.403	9,4%
11	280	17.747	6,9%	17.745	6,8%	17.735	6,3%	17.745	3,6%
12	280	19.775	1,0%	19.768	1,1%	19.758	1,0%	19.771	0,6%
13	280	nd		nd		nd		21.074	5,5%
14	280	nd		nd		nd		21.658	29,0%

nd.: compostos não detectados considerando o LoD do método à 280 nm (1,5 ppm) e à 320 nm (2,2 ppm).

Fonte: Autora, 2025.

A presença de três compostos adicionais observados exclusivamente na extração enzimática pode ser justificada pela ação da enzima utilizada no processo. Nesse caso, a aplicação de uma carboidrase (celulase) promove a hidrólise dos polissacarídeos estruturais do material vegetal, tais como arabinogalactanos (AGs), galactomananos (GMs) e celulose (BARALDI, 2013). A degradação dessas macromoléculas resulta na liberação de açúcares simples (monossacarídeos) no extrato, os quais podem ser detectados por HPLC (BARALDI, 2013).

Além dos açúcares simples, a extração enzimática pode favorecer a liberação de compostos fenólicos previamente complexados às estruturas da parede celular, especialmente carboidratos e proteínas. Esta justificativa também é proposta por Inácio (2022), quando ele realizou a otimização de processos utilizando enzimas e

verificou que a hidrólise enzimática aumenta a liberação de compostos fenólicos individuais, particularmente em resíduos de café, como borra e película prateada. Demonstraram que a extração assistida por enzimas, bem como sua combinação com ultrassom, é eficiente na obtenção desses compostos em comparação com a extração assistida apenas por ultrassom (EU), apresentando concentrações mais elevadas de ácidos dihidroxibenzoicos (DHBAs) e outros fenólicos.

Assim, caso o método cromatográfico empregado (HPLC) não seja seletivo apenas para açúcares, é plausível que os dois picos adicionais observados correspondem a compostos fenólicos de baixa polaridade, liberados pela hidrólise das ligações entre esses compostos e a matriz celular durante o processo enzimático (INÁCIO, 2022).

5.2.1 Identificação de compostos bioativos da película prateada de café por UHPLC-MS/MS nas diferentes condições de extração

Os cromatogramas obtidos por UHPLC-MS/MS para as diferentes condições de extração da película prateada de café (Figuras 12–15) evidenciaram a presença de compostos majoritários característicos dessa matriz, como indica na Tabela 6, incluindo teobromina, ácido cafeico, ácido ferúlico, ácido p-cumárico, 3-O-cafeoilquínico (3-CQA), 5-O-cafeoilquínico (5-CQA) e dicafeoilquínico (diCQA).

A atribuição desses picos baseou-se na comparação dos padrões de fragmentação e tempos de retenção com compostos cromatográficos autênticos, permitindo a proposta de identificação de cada composto nos diferentes extratos.

Tabela 6 - Lista de compostos encontrados nos extratos e suas respectivas massas moleculares e fragmentos

Composto	Fórmula molecular (neutra)	Tempo de retenção (min)	Peso molecular (g/mol)	Precursor (m/z)	Fragmentos m/z
3 - CQA	C ₈ H ₈ O ₆	3,806	354	353	191; 179; 135
4 - CQA	C ₈ H ₈ O ₆	1,154	354	353	173; 191; 135
5 - CQA	C ₈ H ₈ O ₆	4,695	354	353	191; 178
diCQA	C ₈ H ₆ Cl ₂ O ₄	4,704	516	515	469; 73
Teobromina*	C ₇ H ₈ N ₄ O ₂	6,689	180	181	138; 163; 110
Ácido Cafeico	C ₈ H ₈ O ₄	1,076	180	179	135; 89; 59
Ácido ferúlico	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	1,107	194	194	179; 149; 131
Ácido p-cumárico	C ₉ H ₁₀ O ₂	1,070	164	163	93; 117

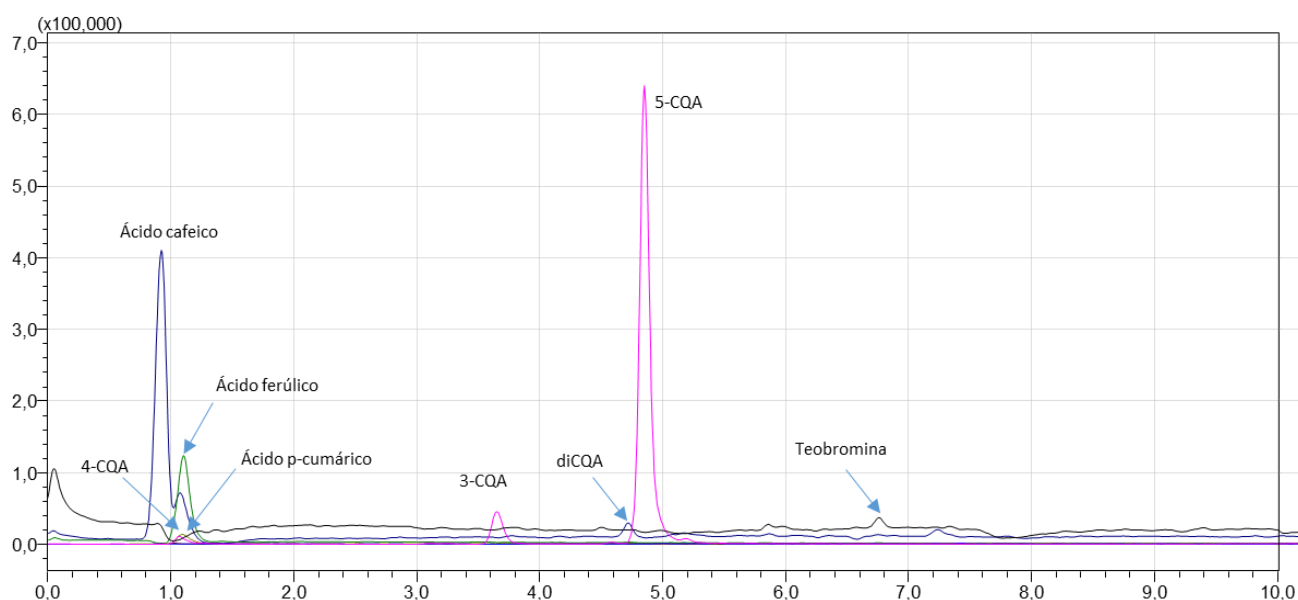
*Composto identificado apenas em modo positivo

Fonte: Autora, 2025

Os cromatogramas obtidos por UHPLC-MS/MS, apresentados nas Figuras (12-15) revelam o perfil dos compostos bioativos presentes nos extratos da película prateada do café, obtidos por EA, EAa, EU e EE. É possível observar diversos picos característicos de compostos fenólicos e metilxantinas, com variação nos tempos de retenção e nas intensidades de sinal, o que reflete a complexidade da matriz e a diversidade de substâncias extraídas. Entre os compostos identificados, destaca-se o ácido cafeico, com tempo de retenção aproximado de 1,0 min. Na sequência, observam-se os picos correspondentes ao ácido ferúlico e ao ácido p-cumárico, ambos com tempos de retenção entre 1,5 e 2,5 min e intensidades menores. Todos esses compostos foram identificados pelo padrão de fragmentação característicos relatado na Tabela 6 e por apresentarem ordem de eluição característica para esses compostos em colunas de C-18 (Tr cafeico < Tr ferulico < p-coumarico). Os derivados de ácido clorogênico representam a fração predominante dos compostos

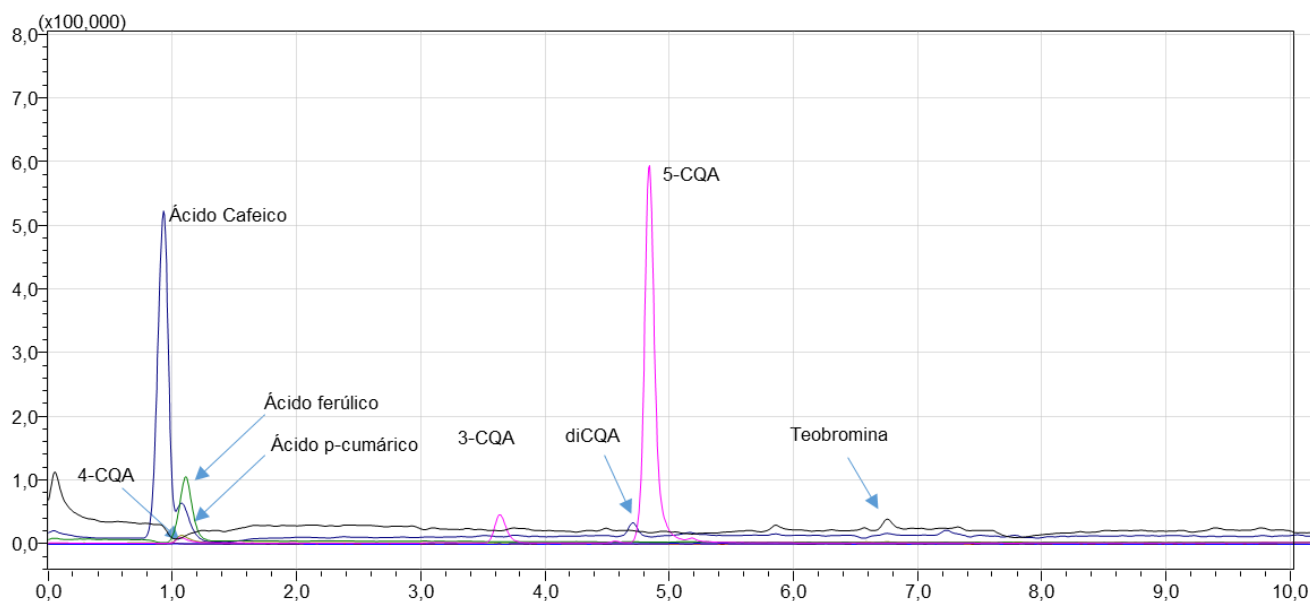
detectados, apresentando os tempos de retenção de 1,2, 3,8 e 4,7 minutos para os isômeros 4-CQA, 3-CQA e 5-CQA, respectivamente. A identificação desses compostos foi baseada no padrão de fragmentação o qual possui o mesmo precursor e principais fragmentos, mas com tempos de retenção distintos. Também foi possível observar a presença de diCQA (ácido dicafeoilquínico, PM 516), com tempo de retenção em torno de 4,5 minutos. Por fim, o pico correspondente à teobromina, em aproximadamente 6,0 min, indica a presença de metilxantinas na amostra, além da cafeína já identificada nas análises de HPLC-DAD.

Figura 12 - Cromatograma obtido por UHPLC-MS/MS da extração de compostos bioativos da película prateada do café utilizando água a 80°C por 45 min (EA)



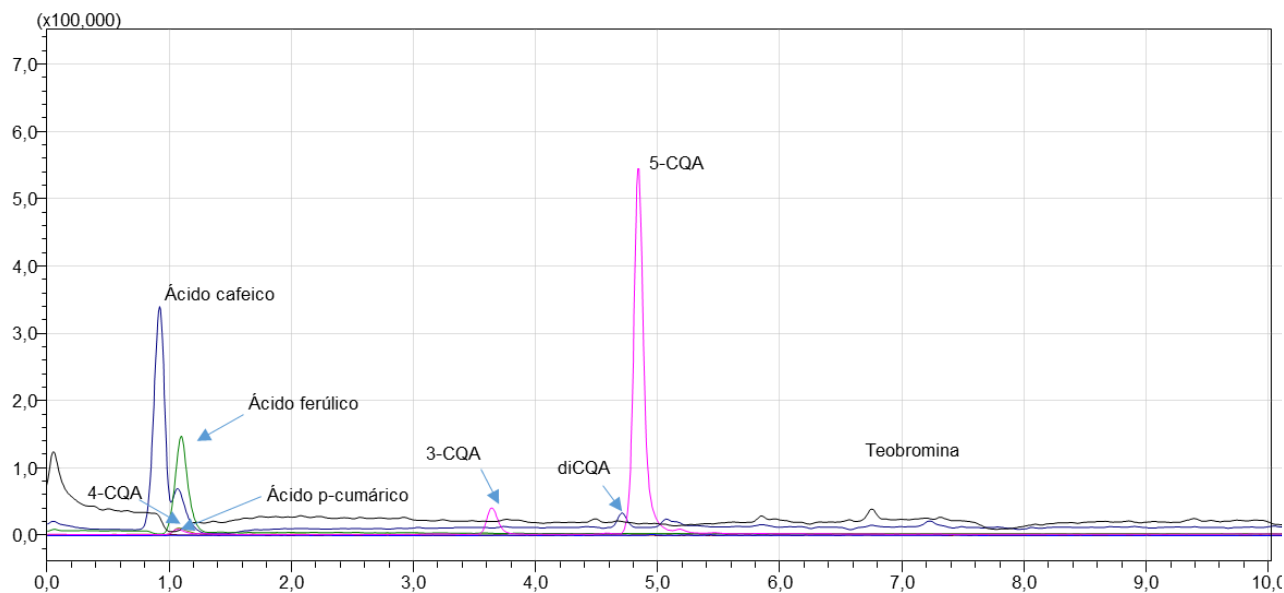
Fonte: Autora, 2025

Figura 13 - Cromatograma obtido por UHPLC-MS/MS da extração de compostos bioativos da película prateada do café utilizando água acidificada a 80°C por 45 min (EAa)



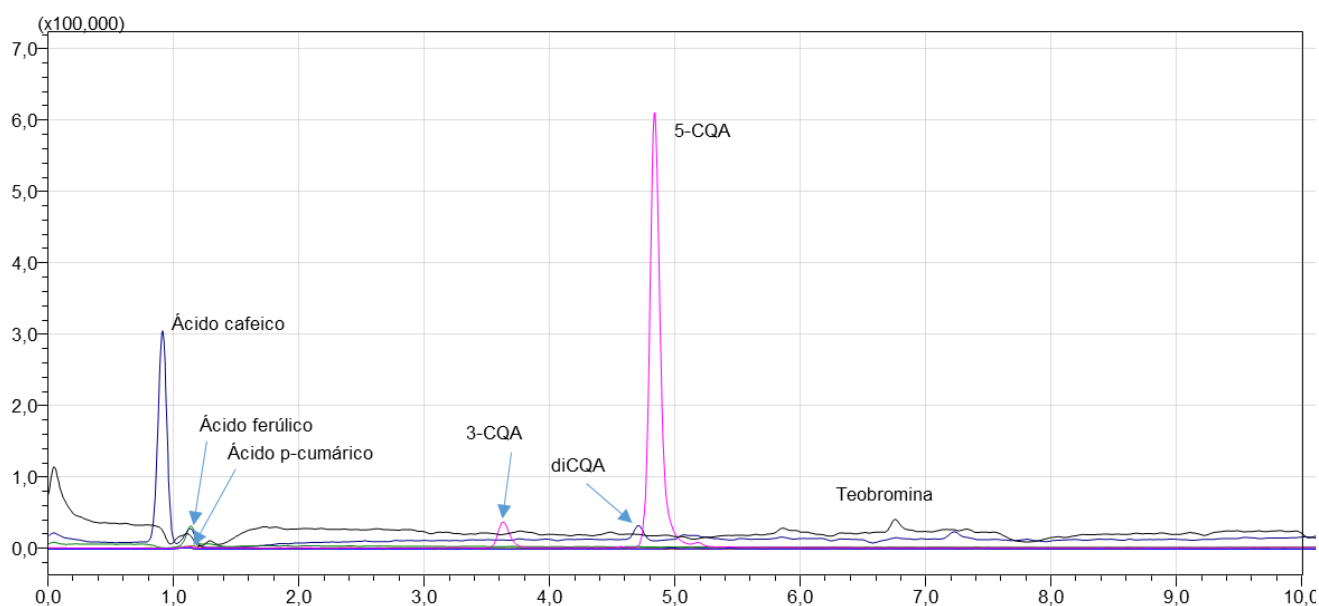
Fonte: Autora, 2025

Figura 14 - Cromatograma obtido por UHPLC-MS/MS da extração de compostos bioativos da película prateada do café assistida por ultrassom (EU)



Fonte: Autora, 2025

Figura 15 - Cromatograma obtido por UHPLC-MS/MS da extração de compostos bioativos da película prateada do café utilizando enzimas (EE)



Fonte: Autora, 2025

A análise qualitativa por UHPLC-MS/MS para os compostos alvo na análise não possibilitou a identificação das diferenças de perfis cromatográficos observados na análise por HPLC-DAD entre os extratos EA, EAA e EU versus o EE. Foram detectados picos correspondentes ao ácido cafeico (~1,0 min), ao ácido ferúlico e ao ácido p-cumárico (~1,5–2,5 min), além dos derivados de ácido clorogênico (3-CQA, 4-CQA e 5-CQA), sendo este último o de maior intensidade entre todos os compostos observados. Também foi identificada a presença de diCQA (~4,5 min) e teobromina (~6,0 min), indicando a coextração de compostos nitrogenados, o que reforça a complexidade química dos extratos obtidos.

5.2 Análise da atividade antioxidante

A capacidade antioxidante da película prateada foi avaliada pelos métodos ABTS e DPPH. Foram avaliados quatro tipos de extração, utilizando água aquecida a 80°C, água acidificada aquecida a 80°C, assistida por ultrassom e enzimática.

São mostrados na Tabela 7 os resultados da atividade antioxidante pelos métodos DPPH e ABTS.

Tabela 7 - Atividade antioxidante dos extratos de película prateada de café utilizando quatro métodos de extração distintos

Método de extração	DPPH ($\mu\text{mol Trolox/g}$)	ABTS ($\mu\text{mol Trolox/g}$)
EA	0,646 $\pm$ 0,028 ^a	70.140 $\pm$ 0,081 ^b
EAA	0,629 $\pm$ 0,023 ^a	24.038 $\pm$ 0,003 ^c
EU	0,636 $\pm$ 0,012 ^a	20.167 $\pm$ 0,003 ^c
EE	0,968 $\pm$ 0,100 ^b	194.721 $\pm$ 0,001 ^a

Valores médios $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferença estatística entre as amostras, com 5% de significância pelo teste de Tukey.

Fonte: Autora, 2025

No ensaio DPPH, os valores de atividade antioxidante, expressos em $\mu\text{mol Trolox/g}$, apresentaram-se muito semelhantes entre os diferentes métodos de extração EA, EAA e EU ($\approx 0,905 \mu\text{mol Trolox/g}$). No entanto, de acordo com o teste de Tukey ($p < 0,05$), foram observadas diferenças estatísticas significativas apenas para a amostra EE.

No ensaio ABTS, os resultados mostraram diferenças estatisticamente significativas entre os métodos de extração ($p < 0,05$). A extração enzimática apresentou o maior valor de atividade antioxidante (194,721 $\mu\text{mol Trolox/g}$), diferindo estatisticamente das demais técnicas. Em seguida, a extração aquosa (70,140 $\mu\text{mol Trolox/g}$) mostrou atividade intermediária, enquanto as extrações acidificada (24,038 $\mu\text{mol Trolox/g}$) e ultrassônica (20,167 $\mu\text{mol Trolox/g}$) apresentaram os menores valores, não diferindo entre si. Esses resultados reforçam a eficiência do processo enzimático na liberação de compostos antioxidantes, possivelmente devido à degradação de componentes estruturais como hemicelulose e pectinas, que aprisionam compostos fenólicos e ácidos clorogênicos.

A diferença observada entre a extração enzimática e as demais sugere que a hidrólise enzimática promoveu uma maior disponibilidade de compostos com elevada capacidade redutora, refletindo diretamente no valor de TEAC obtido. A extração aquosa, apesar de mais simples, demonstrou eficiência moderada, indicando que o solvente puro foi capaz de extrair compostos hidrossolúveis de relevância antioxidante. Já os métodos acidificado e ultrassônico resultaram em

menor capacidade antioxidante, o que pode estar associado à degradação parcial de compostos fenólicos sensíveis à cavitação ultrassônica ou ao ambiente ácido sob aquecimento prolongado (80°C, 45 minutos).

A diferença entre os resultados obtidos pelos ensaios de ABTS e DPPH está relacionada, principalmente, aos distintos mecanismos químicos de reação, seletividade dos radicais e afinidade estrutural com os compostos antioxidantes presentes na película prateada do café. O ensaio DPPH baseia-se no mecanismo de transferência de átomo de hidrogênio (HAT), enquanto o ABTS atua predominantemente por transferência de elétrons (SET), embora também possa ocorrer por HAT (ALMEIDA, 2025; GARCIA; RIVERA, 2013). Essa diferença faz com que cada método responda de forma diferente aos tipos de compostos antioxidantes presentes.

Além disso, o radical ABTS apresenta maior seletividade e pode interagir tanto com compostos hidrofílicos quanto lipofílicos, ao contrário do DPPH, que apresenta menor precisão e sensibilidade, resultando geralmente em valores de atividade antioxidante mais baixos (LIANG; KITTS, 2014; ALMEIDA, 2025). A estrutura química dos antioxidantes da película prateada também influencia esses resultados, visto que muitos compostos fenólicos presentes possuem maior afinidade com o radical ABTS do que com o DPPH (SÁNCHEZ; ANZOLA, [s.d.]).

Em síntese, o método ABTS tende a apresentar maior sensibilidade para avaliação de atividade antioxidante frente às oscilações de composição do extrato de película prateada de café devido à sua maior abrangência de interação e reatividade.

A Tabela 8 apresenta resultados de atividade antioxidante obtidos por outros autores na literatura. Essa comparação, permite observar as diferenças entre os métodos de extração e as condições experimentais utilizadas.

Tabela 8 - Atividade antioxidante pelos métodos ABTS e DPPH de películas prateadas do café oriundas de diferentes variedades de café.

Variedade	Método de Extração	ABTS ($\mu\text{mol Trolox/g}$)	DPPH ($\mu\text{mol Trolox/g}$)	Referência
Caturra	Não especificado	$4.360 \pm 0,11$	$0,118 \pm 0,02$	SÁNCHEZ; ANZOLA, [s.d.]
Colômbia	Não especificado	$3.110 \pm 0,10$	$0,126 \pm 0,02$	SÁNCHEZ; ANZOLA, [s.d.]
Blend/Arábica	Aquosa, Ultrassom	≈ 2.000	≈ 9.5 (IC ₅₀ mg/mL)	INÁCIO et al., 2022
Blend/Arábica	Aquosa, Enzima	≈ 3.500	≈ 12 (IC ₅₀ mg/mL)	INÁCIO et al., 2022
Blend/Arábica	Aquosa, Ultrassom + Enzima	≈ 1.000	≈ 13 (IC ₅₀ mg/mL)	INÁCIO et al., 2022

Fonte: Autora, 2025

Diversos estudos têm demonstrado que a película prateada do café apresenta expressiva atividade antioxidante, devido à presença de compostos fenólicos, ácidos clorogênicos e outros metabólitos bioativos. De acordo com Sánchez e Anzola (2012), valores médios de $4.360 \mu\text{M Trolox/g}$ e $3.110 \mu\text{M Trolox/g}$ foram observados para as variedades Caturra e Colômbia, respectivamente, quando avaliado pelo método de ABTS. Para o método de DPPH, esses autores relataram valores de $0,118$ e $0,126 \mu\text{M Trolox/g}$, evidenciando uma capacidade antioxidante moderada, mas consistente entre as diferentes variedades de café.

De forma semelhante, Inácio et al. (2022) avaliaram diferentes métodos de extração aplicados à película prateada, observando que a extração enzimática apresentou os melhores resultados de atividade antioxidante pelo método ABTS ($\approx 3500 \mu\text{M Trolox/g}$), seguida pelas extrações aquosa e ultrassônica, com valores próximos de 2000 e $1000 \mu\text{M Trolox/g}$, respectivamente. No método DPPH, as amostras apresentaram IC₅₀ entre $9,5$ e 13 mg/mL , indicando que a eficiência da extração influencia diretamente a liberação e a disponibilidade dos compostos

antioxidantes. Esses resultados reforçam que tanto a técnica de extração quanto a composição fenólica intrínseca do resíduo são determinantes para a capacidade antioxidante observada.

Quando comparados aos dados da literatura, os resultados obtidos neste trabalho (Tabela 8) indicam comportamento semelhante em relação à influência do método de extração sobre a atividade antioxidante da película prateada do café. A amostra submetida à extração enzimática apresentou o maior valor de atividade antioxidante, alcançando 194.721 $\mu\text{mol Trolox/g}$ no ensaio ABTS, diferindo significativamente dos demais métodos de extração. Esse valor é superior aos observados em estudos prévios com películas de café submetidas a extrações aquosas ou combinadas com ultrassom, que variaram entre aproximadamente 1.000 e 3.500 $\mu\text{M Trolox/g}$ (INÁCIO et al., 2022). Esse resultado evidencia que a aplicação de enzimas favoreceu tanto a liberação de compostos antioxidantes ligados à matriz fibrosa da película quanto a hidrólise de açúcares conjugados a compostos fenólicos, potencializando a capacidade antioxidante total do extrato.

Em contrapartida, as extrações aquosa, acidificada e ultrassônica apresentaram valores consideravelmente inferiores, com atividades variando entre 20.167 e 70.140 $\mu\text{mol Trolox/g}$ para o método ABTS. Essa diferença pode ser atribuída ao fato de que os métodos puramente físicos ou sem tratamento enzimático têm menor eficiência na ruptura das estruturas celulares e na solubilização dos compostos fenólicos.

De modo geral, observa-se que o método ABTS apresentou maior sensibilidade na detecção da capacidade antioxidante em comparação ao DPPH, o que está de acordo com a literatura. Essa diferença pode ser explicada pelas características químicas de cada radical: o ABTS^+ reage tanto com compostos hidrofílicos quanto lipofílicos, enquanto o $\text{DPPH}^\bullet$ é mais seletivo para antioxidantes solúveis em solventes orgânicos. Assim, a maior resposta observada no método ABTS sugere que os compostos extraídos da película prateada apresentam predominância de antioxidantes hidrofílicos, o que reforça o potencial de aplicação desse resíduo em formulações aquosas de alimentos e bebidas funcionais.

São mostrados na Tabela 9 os resultados da atividade antioxidante pelo método DPPH e comparação com outras matérias orgânicas.

Tabela 9 - Atividade antioxidante dos extratos de película prateada de café obtidos por diferentes métodos de extração, determinada pelo ensaio DPPH, em comparação com infusões de chás de referência

Nome vulgar	Nome científico	IC50	Referência
EA		42,83 mg/mL	Presente estudo
EaA		35,17 mg/mL	Presente estudo
EU		37,99 mg/mL	Presente estudo
Camomila	<i>Matricaria recutita</i> L.	47,41 mg/mL	Sousa et al., 2004
Carqueja	<i>Baccharis trimera</i> (less.) DC	44,07 mg/mL	Sousa et al., 2004
Cidreira	<i>Lippia alba</i> N.E.Brown	27,29 mg/mL	Matos et al., 2008
Hortelã	<i>Mentha arvensis</i> L.	17,40 mg/mL	Sousa et al., 2004
Maçã	<i>Pyrus malus</i> L.	19,27 mg/mL	Sousa et al., 2004

Fonte: Autora, 2025; Sousa et al., 2004; Matos et al., 2008

Ao se comparar a atividade antioxidante da película prateada com diferentes folhas (Tabela 9), reconhecidos como fontes de compostos bioativos, verifica-se que, quando se considera a extração da película em água, os valores são similares ao chá de carqueja (SOUSA et al., 2004), e superiores ao chá de maçã, hortelã e cidreira (SOUSA et al., 2004; MATOS et al., 2001).

6 CONCLUSÃO

O presente estudo teve como objetivo avaliar e comparar diferentes métodos de extração na obtenção de compostos bioativos da película prateada do café, por meio de análises químicas e de atividade antioxidante dos extratos obtidos. A película prateada demonstrou ser uma matéria-prima promissora, tratada como subproduto do processamento do café, mas caracterizada por seu elevado teor de fibras e compostos fenólicos com reconhecida atividade antioxidante.

Foram aplicados quatro métodos de extração distintos — extração aquosa, aquosa acidificada, assistida por ultrassom e enzimática — e as análises realizadas por HPLC-DAD e UHPLC-MS/MS confirmaram a presença de compostos bioativos majoritários, como cafeína e ácido clorogênico (ACG), sendo a cafeína o composto em maior quantidade e o 5-O-cafeoilquínico (5-CQA) o isômero do ácido clorogênico

com pico de maior intensidade em todas as amostras. Também foram identificados outros compostos de relevância, como ácidos fenólicos (cafeico, ferúlico e p-cumárico) e alcalóides (teobromina).

A comparação entre os métodos de extração evidenciou que a técnica utilizada influencia de forma significativa o perfil químico e a capacidade antioxidante dos extratos.

A extração em água e em água acidificada favoreceu a solubilização de compostos polares naturalmente livres na matriz, resultando em perfis cromatográficos semelhantes e menor número de picos. No entanto, o meio acidificado proporcionou maior intensidade nas áreas de 2 compostos não identificados (11 e 12).

A extração assistida por ultrassom apresentou maior quantidade de compostos extraídos em comparação aos métodos não enzimáticos. Nessa extração, não houve aquecimento, e as amostras permaneceram sob ação do ultrassom por apenas 15 min. O fato de os métodos convencionais envolverem aquecimento por 45 min pode ter contribuído para a degradação parcial dos compostos fenólicos, o que sugere a necessidade de estudos futuros voltados à otimização do tempo de extração e à avaliação da estabilidade desses compostos sob diferentes condições. Considerando que a extração por ultrassom apresentou área de pico superior e foi injetada na mesma diluição, é possível inferir que, além de mais rápida, essa técnica resultou em maior rendimento de extração.

A extração enzimática, utilizando celulase (Celluclast) para a degradação da matriz lignocelulósica, destacou-se por apresentar compostos adicionais no HPLC-DAD e quantidade significativamente maior de ácido clorogênico ($p < 0,05$), demonstrando a ação específica da enzima na liberação de compostos anteriormente retidos na estrutura da película.

Em relação à atividade antioxidante, avaliada pelos ensaios DPPH e ABTS, o método ABTS mostrou-se mais sensível e abrangente, apresentando valores absolutos superiores. De acordo com esse método, a extração enzimática foi significativamente mais eficiente, atingindo 194.721 $\mu\text{mol Trolox/g}$, valor consideravelmente superior aos obtidos pelos demais métodos (EA: 70.140 $\mu\text{mol Trolox/g}$; EAa: 24.038 $\mu\text{mol Trolox/g}$; EU: 20.167 $\mu\text{mol Trolox/g}$).

Esses resultados confirmam que a hidrólise enzimática promovida pela celulase aumentou a disponibilidade de compostos com elevada capacidade

reduzidora, decorrente da degradação dos componentes estruturais da película prateada. Além de extrair maior quantidade de ácido clorogênico e outros compostos bioativos, a extração enzimática também demonstrou melhor atividade antioxidante, tornando-se o método mais eficiente, especialmente considerando que requer apenas 15 minutos, enquanto as extrações por ultrassom, aquosa ou acidificada demandaram tempos iguais ou superiores (15–45 minutos) e apresentaram rendimento inferior.

Dessa forma, conclui-se que a extração enzimática se configura como a estratégia mais eficaz e tecnicamente viável para maximizar o potencial funcional da película prateada do café, promovendo maior liberação de compostos fenólicos ligados e resultando na mais elevada atividade antioxidante total. Esses achados reforçam o potencial de valorização da película prateada como fonte alternativa e sustentável de antioxidantes naturais, contribuindo para o aproveitamento integral dos resíduos da cadeia produtiva do café e para o desenvolvimento de novos ingredientes funcionais voltados à indústria de alimentos.

REFERÊNCIAS

- ABRAHÃO, Sheila Andrade et al. Compostos bioativos em café integral e descafeinado e qualidade sensorial da bebida. Pesquisa agropecuária brasileira, v. 43, p. 1799-1804, 2008.
- ALMEIDA, Lara Solange Bastos de. Reaproveitamento de cascas de café como aditivos para o desenvolvimento de filmes biodegradáveis à base de amido. 2025. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
- AMADOR, Elen Caroline de Matos et al. Potencial antioxidante do ácido p-cumárico e avaliação do efeito sobre atividade locomotora em *Drosophila melanogaster*. 2019.
- ANDERSON, J. W.; BRIDGES, S. R. Dietary fiber content of selected foods. The American Journal of Clinical Nutrition, v. 47, p. 440–447, 1988.
- ANDRADE, Sonja de França. Potencial bioativo de extratos obtidos a partir do resíduo industrial do café torrado utilizando a técnica de ultrassom assistida. 2022.
- Artigo - Produção total de café em nível mundial foi estimada em 174,9 milhões de sacas de 60kg para doze meses. Disponível em: <https://www.embrapa.br/tema-integracao-lavoura-pecuaria-floresta-ilpf/busca-de-noticias/-/noticia/99010562/artigo---producao-total-de-cafe-em-nivel-mundial-foi-estimada-em-1749-milhoes-de-sacas-de-60kg-par-a-doze-meses?p_auth=4y9eDjcU>. Acesso em: 2 abr. 2025.
- BAGYARAJ, D. J.; SHARMA, M. P.; MAITI, D. Phosphorus nutrition of crops through arbuscular mycorrhizal fungi. Current Science, p. 1288-1293, 2015.
- BAGYARAJ, D. J., et al. (2015). Below ground microbial diversity as influenced by coffee agroforestry systems in the Western Ghats, India. Agriculture, Ecosystems & Environment, 202, pp. 198-202.
- BASILIO, E. P. et al. Caracterização da película prateada de café arábica, aplicação em bolo de chocolate e seus efeitos no teor de fibra alimentar, atividade antioxidante e atributos sensoriais. Disponível em: <<https://agris.fao.org/search/en/providers/124977/records/685144e853e52c13fc75e905>>. Acesso em: 25 out. 2025.
- BELAY, A., TURE, K., REDI, M., ASFAW, A., (2008), Measurement of caffeine in coffee beans with UV/vis spectrometer. Food Chemistry 108, 310-315.
- BLISKA, Flavia Maria de Mello et al. Custos de produção de café nas principais regiões produtoras do Brasil. 2009.
- BORRELLI, R. C., ESPOSITO, F., NAPOLITANO, A., RITIENI, A., FOGLIANO, V. Characterization of a new potential functional ingredient: Coffee silverskin. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 52, p. 1338-1343, 2004.

BRENELLI, E.C.S. A extração de cafeína em bebidas estimulantes: uma nova abordagem para um experimento clássico em química orgânica. *Química nova*, v.26, p.136-138, 2003.

BRESCIANI, L., et al. (2014). Phenolic composition, caffeine content and antioxidant capacity of coffee silverskin. *Food Research International*, 61, pp. 196-201

BUFFO, R. A., CARDELLI-FREIRE, C. Coffee flavour: an overview. *Flavour and Fragrance Journal*, v. 19, p. 99-104, 2004

CAMPO, G., Berregi, I., Caracena, R., Zuriarrain, J., (2010), Quantitative determination of caffeine, formic acid, trigonelline and 5-(hydroxymethyl)furfural in soluble coffees by ¹H NMR spectrometry, *Talanta* 81, 367–371

CAPARICA, Rita et al. In vitro cytotoxicity assessment of ferulic, caffeic and p-coumaric acids on human renal cancer cells. *Biomed. Biopharm. Res.*, v. 17, p. 63-74, 2020.

CASTRO, A. M. DE; PEREIRA JR, N. Produção, propriedades e aplicação de celulases na hidrólise de resíduos agroindustriais. *Química Nova*, v. 33, n. 1, p. 181–188, 2010.

COSTA, A. S. G., et al. (2014) Optimization of antioxidants extraction from coffee silverskin, a roasting by-product, having in view a sustainable process. *Industrial Crops and Products*, 53, pp. 350-357

DA ROCHA FARINHOTO, Rute Judite Camelo. Análise física e química de cafés verdes com diferentes origens geográficas. 2012. Dissertação de Mestrado. Universidade NOVA de Lisboa (Portugal).

DAMODARAN, Srinivasan; PARKIN, Kirk L. *Química de alimentos de Fennema*. 5. ed. Porto Alegre: ArtMed, 2019. E-book. p.389. ISBN 9788582715468. Disponível em: <https://app.minhabiblioteca.com.br/reader/books/9788582715468/>. Acesso em: 23 abr. 2025.

DAMODARAN, Srinivasan; PARKIN, Kirk L. *Química de alimentos de Fennema*. 5. ed. Porto Alegre: ArtMed, 2019. E-book. p.588. ISBN 9788582715468. Disponível em: <https://app.minhabiblioteca.com.br/reader/books/9788582715468/>. Acesso em: 28 mai. 2025.

DE LA PEÑA-ARMADA, Rocío et al. High hydrostatic pressure assisted by celluclast® releases oligosaccharides from apple by-product. *Foods*, v. 9, n. 8, p. 1058, 2020.

DE MARIA, Carlos Alberto Bastos; MOREIRA, Ricardo Felipe Alves. Métodos para análise de ácido clorogênico. *Química Nova*, v. 27, p. 586-592, 2004.

DEL CASTILLO, M.D., FERNANDEZ-GOMEZ, B., ULLATE, M., MESA, M. D. (Espanha) Uso de productos de la cascarilla de café para la prevención y

tratamiento de las patologías que conforman el síndrome metabólico y de sus factores de riesgo. P2577889, 2014.

DO, M. et al. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH Introdução. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/426953/1/Cot127.pdf>>.

DOS SANTOS NUNES, Mayara Karla et al. Efeito antimicrobiano do ácido ferúlico: uma revisão integrativa de bioensaios. Revista Eletrônica Acervo Saúde, v. 24, n. 4, p. e16186-e16186, 2024.

DOURADO, Fernando et al. Studies on the properties of Celluclast/Eudragit L-100 conjugate. Journal of Biotechnology, v. 99, n. 2, p. 121-131, 2002.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Comunicado Técnico N°. 125. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pelo Método de Redução do Ferro (FRAP). Fortaleza, 2006. 4 p.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Comunicado Técnico N°. 127. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH. Fortaleza, 2007. 4 p.

FERNANDES, Simone Miranda et al. Constituintes químicos e teor de extrato aquoso de cafés arábica (*Coffea arabica* L.) e conilon (*Coffea canephora* Pierre) torrados. Ciência e Agrotecnologia, v. 27, p. 1076-1081, 2003.

FRANCA, A. S., OLIVEIRA, L. S. Coffee and its by-products as sources of bioactive compounds. In: MASSEY, J.L. Coffee: Production, Consumption and Health Benefits. New York: Nova Science Publishers, 2016. p. 1-28.

GARAMBONE, Edna; ROSA, Glorimar. Possíveis benefícios do ácido clorogênico à saúde. Alimentos e Nutrição Araraquara, v. 18, n. 2, p. 229-235, 2008.

GEMECHU, F. G. Embracing nutritional qualities, biological activities and technological properties of coffee byproducts in functional food formulation. Trends in Food Science & Technology, 2020.

INÁCIO, Heloisa Patrício et al. Efeito de diferentes métodos de extração sobre o perfil fenólico e potencial bioativo de resíduos obtidos do processamento do café (*Coffea arabica* L.). 2022.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Produção agropecuária: café. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/cafe/br>

KHAJAVI, S. H. et al. Degradation kinetics of monosaccharides in subcritical water. Journal of Food Engineering, v. 68, p. 309–313, 2005.

LECUMBERRI, E. et al. Dietary fibre composition, antioxidant capacity and physico

chemical properties of a fibre-rich product from cocoa (*Theobroma cacao* L.). *Food Chemistry*, v. 104, p. 948–954, 2007.

LIANG, N.; KITTS, D. Antioxidant Property of Coffee Components: Assessment of Methods that Define Mechanisms of Action. *Molecules*, v. 19, n. 11, p. 19180–19208, 19 nov. 2014.

MACEDO, Paula Daiany G.; MATOS, Simone Pires de. *Bioquímica dos Alimentos - Composição, Reações e Práticas de Conservação*. Rio de Janeiro: Érica, 2015. E book. p.56.

ISBN 9788536520810. Disponível em: <https://app.minhabiblioteca.com.br/reader/books/9788536520810/>. Acesso em: 23 abr. 2025.

MACHADO, E. M. S., RODRIGUEZ-JASSO, R. M., TEIXEIRA, J. A., MUSSATTO, S. I. Growth of fungal strains on coffee industry residues with removal of polyphenolic compounds. *Biochemical Engineering Journal*, v. 60, p. 87-90, 2012.

MANACH, C., SCALBERT, A., MORAND, C., RÉMÉSY, C., JIMÉNEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 79, p. 727-747, 2004.

MATOS, B. M. et al. Avaliação da atividade antifúngica de uma pomada á base de *Chamomilla Recutita* (Camomila) sobre espécies do gênero *Candida*. In: XII Encontro Latino Americano de Iniciação Científica, 8, 2008, São José dos Campos. Anais... São José dos Campos: Unesp, 2008. p. 1-3

MATTOS, Thiago Cardoso Genaro de. Mecanismos da ação antioxidante dos ácidos caféico e tânico em sistemas contendo íons ferro. 2009.

MAURICIO, Angelo de Queiroz. Estudo da atividade antioxidante do ácido caféico e da PIH: um polifenol natural e um quelante sintético. 2006.

MENÉNDEZ, J. A., DOMÍNGUEZ, A., FERNÁNDEZ, Y., PIS, J. J. Evidence of selfgasification during the microwave-induced pyrolysis of coffee hulls. *Energy & Fuels*, v. 21, p. 373–378, 2007.

MURTHY, P. S., NAIDU, M. M. Sustainable management of coffee industry byproducts and value addition – a review. *Resources, Conservation and Recycling*, v. 66, p. 45-58, 2012b.

MUSSATTO, S. I. et al. Sugars metabolism and ethanol production by different yeast strains from coffee industry wastes hydrolysates. *Applied Energy*, v. 92, p. 763–768, 2012.

MUSSATO, S.I.; MACHADO, E.M.S.; MARTINS, S.; TEIXEIRA, J.A. Production, composition and application of coffee and its industrial residues. *Food Bioprocess Technol.*, v.4, p. 661672, 2013.

NARIRA e INOUE. (2011). Inhibitory effects of chlorogenic acids from green coffee beans and cinnamate derivatives on the activity of porcine pancreas α -amylase isozyme I. *Food Chemistry*, 127(4), pp. 1532-1539.

NGUYEN PHUONG HUYNH, T. et al. Enhancing bioactive compounds from coffee cascara via enzymatic treatment and microbial fermentation. *Coffee Science*, v. 19, p. 1–10, 2025.

NZEKOU, Franks Kamgang et al. Coffee silverskin extracts: Quantification of 30 bioactive compounds by a new HPLC-MS/MS method and evaluation of their antioxidant and antibacterial activities. *Food research international* (Ottawa, Ont.), v. 133, n. 109128, p. 109128, 2020.

OLIVEIRA, Andressa Costa de. Ácido ascórbico associado ao ácido cafeico em formulações tópicas: avaliação da ação antioxidante e peroxidação lipídica. 2021. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

OLIVEIRA, Daniela Moura de; BASTOS, Deborah Helena Markowicz. Biodisponibilidade de ácidos fenólicos. *Química Nova*, v. 34, p. 1051-1056, 2011.

OLIVEIRA, Warley Campos. Compostos derivados do ácido cinâmico e ácido p-cumárico como biomodificadores no pré-tratamento da dentina: ação antimicrobiana, antibiofilme e antioxidante e efeito sobre a resistência de união à dentina. 2023.

PERRONE, D., DONANGELO, C. M., FARAH, A., (2008), Fast simultaneous analysis of caffeine, trigonelline, nicotinic acid and sucrose in coffee by liquid chromatography–mass spectrometry, *Food Chemistry*, 1030–1035.

PINELO, M.; ARNOUS, A.; MEYER, A. S. Upgrading of grape skins: significance of plant cell-wall structural components and extraction techniques for phenol release. *Trends in Food Science and Technology*, v. 17, p. 579–590, 2006. Disponível em: <https://www.scrip.org/reference/referencespapers?referenceid=1426445>. Acesso em: 15 out. 2025.

POURFARZAD, A., MAHDAVIAN-MEHR, H., SEDAGHAT, N. Coffee silverskin as a source of dietary fiber in bread-making: optimization of chemical treatment using response surface methodology. *LWT – Food Science and Technology*, v. 50, n. 2, p. 599–606, 2013.

RIBEIRO, V. S., LEITÃO, A. E., RAMALHO, J. C., LIDON, F. C. Chemical characterization and antioxidant properties of a new coffee blend with cocoa, coffee silverskin and green coffee minimally processed. *Food Research International*, v. 61, p. 39-47, 2014.

RODRIGUES, M. Caracterização metabólica de quinze subprodutos da cadeia produtiva do café: das fazendas aos processos industriais. Disponível em: <https://bv.fapesp.br/en/publicacao/207799/metabolic-characterization-of-fifteen-by-products-of-the-cof/>. Acesso em: 25 out. 2025.

ROMERO, Noelia Giselle. Extração de compostos fenólicos a partir de café e sua caracterização química e funcional. 2017. Dissertação de Mestrado. Universidade NOVA de Lisboa (Portugal).

ROMUALDO, Guilherme Ribeiro et al. Drinking for protection? Epidemiological and experimental evidence on the beneficial effects of coffee or major coffee compounds against gastrointestinal and liver carcinogenesis. *Food Research International*, v. 123, p. 567-589, 2019.

RUFINO, M. D. S. M. et al. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS^{o+}. 2007.

SANCHEZ, D.; ANZOLA, C.V. Caracterización química de la película plateada del café (coffea arábica) en variedades colombia y caturra. *Revista colombiana de química*, v.41(2), p. 211-226, 2012.

SANTOS, Mateus Alves dos. Ácido Ferúlico: uma revisão sobre as aplicações em alimentos e biomateriais. 2025.

SOARES, Sergio Eduardo. Ácidos fenólicos como antioxidantes. *Revista de nutrição*, v. 15, p. 71-81, 2002.

SOUSA MP, MATOS MEO, MATOS FJA, MACHADO MIL, CRAVEIRO AA 2004. Constituintes químicos ativos e propriedades biológicas de Plantas Medicinais Brasileiras, Ed. UFC, 445p.

TRẦN, T. T. T. et al. Combined cellulolytic and pectinolytic enzymes to increase the polyphenol extractability of coffee husks. *Science & Technology Development Journal - Engineering and Technology*, v. 4, n. 2, p. first, 19 maio 2021.

USUKI, C.; KIMURA, Y.; ADACHI, S. Degradation of pentaoses and hexouronic acids in subcritical water. *Chemical Engineering and Technology*, v. 31, p. 133–137, 2008

VEGA, Aracelly et al. Componentes bioactivos de diferentes marcas de café comerciales de Panamá. Relación entre ácidos clorogénicos y cafeína. *Información tecnológica*, v. 29, n. 4, p. 43-54, 2018.

VIEIRA, Liliana do Céu Gomes. Características fitoquímicas e propriedades antioxidantes do grão de café verde. 2015. Dissertação de Mestrado. Universidade Fernando Pessoa (Portugal).

WANG, W., BOSTIC., T. R., GU, L. Antioxidant capacities, procyanidins and pigments in avocados of different strains and cultivars. *Food Chemistry*, v. 122, p. 1193-1198, 2010.

YANS GUARDIA-PUEBLA. Estudio de la digestión anaerobia en dos fases para el tratamiento de las aguas residuales de despulpe del... Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/315789274_Estudio_de_la_digestion_ana

erobia en dos fases para el tratamiento de las aguas residuales de despulpe del beneficiado humedo del cafe>.