

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

LOHANA PICOLO CARREIRA DE MATOS

**COMPOSTOS FITOQUÍMICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE
CASCA DE CAFÉ**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

CAMPO MOURÃO
2014

LOHANA PICOLO CARREIRA DE MATOS

COMPOSTOS FITOQUÍMICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE CASCA DE CAFÉ

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação, apresentado à disciplina de Trabalho de Diplomação, do Curso Superior de Tecnologia em Alimentos, do Departamento de Alimentos – DALIM - da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, como requisito parcial para obtenção do título de Tecnólogo.

Orientador: Prof. Dr. Bogdan Demczuk Junior

CAMPO MOURÃO
2014

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

TERMO DE APROVAÇÃO

LOHANA PICOLO CARREIRA DE MATOS

**COMPOSTOS FITOQUÍMICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE
CASCA DE CAFÉ**

Este trabalho foi apresentado no dia 27 de fevereiro de 2014, como requisito para obtenção do título de graduação do curso superior de Tecnologia em Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná. A candidata foi avaliada pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho **APROVADO**.

Prof. Dr. Charles W. I. Haminiuk
UTFPR

Prof. Dr. Miguel A. A. Rodriguez
UTFPR

Prof. Dr. Bogdan Demczuk Junior
Orientador - UTFPR

RESUMO

MATOS, Lohana Pícolo Carreira de. **Compostos fitoquímicos e atividade antioxidante de casca de café**. 2014. 34 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso Superior de Tecnologia em Alimentos), Departamento de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2014.

A casca de café é o subproduto do beneficiamento do café em coco e representa 40% do fruto maduro, retornando às lavouras de café como adubo orgânico. O objetivo deste trabalho foi determinar a composição centesimal, o teor de compostos fitoquímicos e a avaliação da atividade antioxidante da casca de café. A composição da casca de café varia significativamente de acordo com uma série de fatores, como a variedade e o processo de beneficiamento. Entre os compostos identificados, destacam-se os teores de cafeína (140,94 a 158,31 mg.100 g⁻¹). Já para o teor de fenólicos totais, houve uma variação de 983,33 a 1415,15 mg EAG.100 g⁻¹. A condição de extração que resultou em maiores valores de capacidade antioxidante foi acima do máximo utilizado no experimento (HCl 2 M por 90 minutos).

Palavras chave: Café. Resíduo. Cafeína. Compostos fitoquímicos. Atividade Antioxidante.

ABSTRACT

MATOS, Lohana Pícolo Carreira de. **Phytochemical compounds and antioxidant activity of coffee husk**. 2014. 34 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso Superior de Tecnologia em Alimentos), Departamento de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2014.

Coffee husk is a byproduct of coffee beans processing and represents 40% of the ripe fruit, returning to the coffee plantations as organic fertilizer. The objective of this study was to determine the chemical composition, the content of phytochemical compounds and evaluation of antioxidant activity of coffee husk. The composition varies significantly according to a number of factors such as variety and beneficiation process. Among the identified compounds, we highlight the caffeine levels (140.94 to 158.31 mg.100 g⁻¹). As for the total phenolic content, were varied from 983.33 to 1415.15 EAG.100 mg g⁻¹. The condition of extraction which resulted in higher values of antioxidant capacity was above the maximum used in the experiment (2 M HCl for 90 minutes).

Keywords: Coffee. Byproduct. Caffeine. Phytochemical compounds. Antioxidant Activity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | |
|--|----|
| Figura 1 – Superfície de resposta para a atividade antioxidante de extrato de casca de café obtido por hidrólise em função do tempo e da concentração molar de ácido | 26 |
| Tabela 1 – Quantidade de cafeína em alguns alimentos..... | 17 |
| Tabela 2 – Fatores utilizados e seus respectivos níveis codificados e não codificados..... | 19 |
| Tabela 3 – Delineamento fatorial completo com três repetições no ponto central..... | 19 |
| Tabela 4 – Composição química da casca de café determinada no presente trabalho e por diferentes autores..... | 23 |
| Tabela 5 – Condições experimentais e respostas do teor de cafeína, compostos fenólicos e atividade antioxidante da casca de café..... | 24 |
| Tabela 6 – Análise de varância para efeito do tempo de extração e da concentração molar de ácido na atividade antioxidante por DPPH da casca de café..... | 25 |

SUMÁRIO

| | | |
|----------|--|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO | 11 |
| 2 | OBJETIVOS | 13 |
| 2.1 | OBJETIVO GERAL | 13 |
| 2.2 | OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 13 |
| 3 | REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 14 |
| 3.1 | CAFÉ | 14 |
| 3.2 | CASCA DE CAFÉ | 15 |
| 3.3 | COMPOSTOS FENÓLICOS | 16 |
| 3.4 | METILXANTINAS | 17 |
| 4 | MATERIAL E MÉTODOS | 18 |
| 4.1 | OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS | 18 |
| 4.2 | CARACTERIZAÇÃO DAS CASCAS DE CAFÉ | 18 |
| 4.2.1 | Composição centesimal | 18 |
| 4.2.2 | Preparo das amostras | 18 |
| 4.2.3 | Delineamento experimental | 19 |
| 4.2.4 | Compostos Fitoquímicos | 20 |
| 4.2.4.1 | Extração | 20 |
| 4.2.4.2 | Quantificação por cromatografia líquida de alta eficiência | 20 |
| 4.2.4.3 | Teor de compostos fenólicos totais | 20 |
| 4.2.5 | Atividade antioxidante | 21 |
| 4.2.5.1 | Atividade antioxidante pelo método DPPH | 21 |
| 4.2.5.2 | Atividade antioxidante pelo método ABTS | 22 |
| 5 | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 23 |
| 6 | CONCLUSÃO | 27 |
| | REFERÊNCIAS | 28 |

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é, atualmente, o maior produtor mundial de café, sendo responsável por 30% do mercado internacional, com um volume equivalente à soma da produção dos outros seis países de maior produção. Aproximadamente 86% da produção brasileira concentra-se nos estados de Minas Gerais, Espírito Santo, Paraná e São Paulo (ABIC, 2013).

A qualidade do café, além dos atributos sensoriais, pode ser avaliada através da identificação e da quantificação dos componentes presentes neste produto, tais como a cafeína, que está associada à saúde humana, a trigonelina e os ácidos clorogênicos, compostos responsáveis pela formação do sabor durante a torrefação (TRUGO; MACRAE, 1986).

Os compostos fenólicos, especificamente os ácidos clorogênicos, aparecem em concentrações que variam de 6% a 10% do peso seco dos grãos (SÁNCHEZ-GONZÁLEZ; JIMÉNEZ-ESCRIG; SAURA-CALIXTO, 2005).

O processo de pós-colheita do café gera grandes quantidades de resíduos sólidos. Mesmo sendo um excelente fertilizante, o descarte das cascas de café pelos agricultores está se tornando um assunto de interesse (BADOCHA; COSTA; LEÔNIDAS, 2003).

Para se ter uma ideia do impacto ambiental dos resíduos gerados no processamento do café, apenas 6% constitui a porção destinada à produção de pó para preparo da bebida, os outros 94% são subprodutos, como água de lavagem, polpa e casca (YOSHIDA, 2005).

Apesar da grande quantidade de resíduos gerados no meio agrícola e agroindustrial, apenas uma pequena porcentagem é aproveitada em razão do desconhecimento do potencial energético e pela falta de equipamentos apropriados para sua utilização (MAGALHÃES et al, 2008).

A casca de café é normalmente empregada na alimentação de ruminantes. No entanto, considera-se que o resíduo possui fatores antinutricionais devido à presença de substâncias tóxicas a estes animais, como cafeína (1,2%), taninos (6,3%) e polifenóis. Devido à produtividade brasileira de grãos de café, o resíduo é considerado um problema ambiental (SOCCOL, 2002). O mesmo autor ainda destaca o potencial de uso da casca de café na utilização como substrato para bioprocessos, como por exemplo, a produção de enzimas, compostos aromáticos e

cultivo de cogumelos. Na aplicação tradicional, como ração animal, a casca também pode ser incrementada pelo uso de métodos biotecnológicos eficientes.

A preocupação com o destino das cascas gerado no beneficiamento do café não existia em décadas passadas, como por exemplo entre 1930 e 1943, quando 77 milhões de sacas de café verde foram destruídas por queima, lançamento ao mar e em aterros. Mas atualmente, a preocupação com problemas ambientais tem levado a um aumento do interesse sobre a destinação dos resíduos gerados no processamento agroindustrial do café. O maior conhecimento da composição destes resíduos, resultantes de trabalhos científicos, possibilita a ampliação da aplicação econômica (VEGRO; CARVALHO, 1994).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho foi extrair e identificar os compostos fitoquímicos em casca de café e determinar sua atividade antioxidante.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a composição centesimal da casca de café;
- Realizar a extração dos compostos fitoquímicos da casca de café através de hidrólise ácida;
- Determinar o teor de compostos fitoquímicos (cafeína, teobromina, ácido ferúlico, ácido clorogênico, ácido p-cumárico, ácido cafeico e piacetanol) do extrato de casca de café através de separação por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE);
- Determinar as condições ótimas de extração dos compostos fitoquímicos da casca de café.
- Determinar o teor de compostos fenólicos totais da casca de café;
- Avaliar a atividade antioxidante da casca de café.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 CAFÉ

O fruto de café é composto pelo grão ou endosperma (54%), o pergaminho ou endocarpo (membrana que reveste o grão, 12%), uma capa mucilaginosa ou mesocarpo (reveste externamente o pergaminho, 5%), a polpa ou exocarpo (29%) e a casca ou epicarpo, que é a membrana externa que recobre todo o fruto do café (BRESSANI; ESTRADA; JARQUIN, 1972).

O café pertence à família *Rubiaceae* e ao gênero *Coffea*. Existem descritas aproximadamente 100 espécies do gênero *Coffea*, mas são cultivadas somente a *Coffea arabica* e a *Coffea canephora*, conhecida como Robusta ou como Conilon (ILLY, 2002).

O café é uma importante fonte de divisas e riquezas e representa o segundo item de maior comercialização no mercado internacional, depois do petróleo, sendo o Brasil o maior produtor mundial (MOREIRA et al., 2001; BORRELLI et al., 2002; ENCARNAÇÃO; LIMA, 2003; NACIF, 2003). Segundo a Associação Brasileira da Indústria de Café (ABIC), no ano de 2006 o Brasil exportou 27 milhões de sacas de café *in natura* e cinco milhões de sacas de café industrializado (ABIC, 2013).

A espécie Arábica é considerada economicamente mais importante do que a espécie Robusta sendo que a produção mundial destas espécies corresponde a 70 e 30% respectivamente (LIN et al., 2005).

Os cafés crus, dependendo da variedade considerada, apresentam teores de 8,6 a 12,6% de proteínas, 12,3 a 14% de lipídios e 3,5 a 4,5% de minerais. (MORGANO et al., 2002). Além destes nutrientes, o café também contém fitoquímicos como ácidos fenólicos, cafeína e melanoidinas. As variedades Arábica e Robusta apresentam, respectivamente 7 e 10% de ácidos clorogênicos e 1,6 e 2,4% de cafeína (SALDAÑA; MAZZAFERA; MOHAMED, 1997).

O café *in natura*, os grãos torrados e a bebida preparada são misturas complexas formadas por várias substâncias de ocorrência natural ou derivadas pelo processo de torrefação (DAGLIA et al., 2000). Esta etapa da cadeia produtiva é feita pela exposição dos grãos verdes ao ar aquecido durante curto intervalo de tempo, suficiente para liberar a umidade. Os grãos secos são aquecidos a uma temperatura

que varia de 200 a 240 °C por 10 a 15 min para promover reações de pirólise, caramelização e reação de Maillard que resultam na formação de compostos responsáveis pela cor, aroma e sabor (DAGLIA et al., 2000; AMSTALDEN; LEITE; MENEZES, 2001).

A bebida café é consumida em vários países, sendo os maiores mercados os Estados Unidos, Brasil e Alemanha. Essa bebida é elaborada a partir do café torrado e moído, ou do café solúvel. Normalmente, o café torrado e moído resulta da industrialização do café Arábica, enquanto o café solúvel do café Robusta. No entanto, as indústrias atentas às exigências dos consumidores podem elaborar misturas das duas variedades, tanto para produção de café torrado e moído como de café solúvel (SILVA, 2012).

O sabor e o aroma da bebida conferem grande aceitação ao produto, cujo consumo se tornou um hábito mundial (MOREIRA et al., 2001). O café vem se revelando como um alimento funcional (NACIF, 2003). São considerados alimentos funcionais aqueles que, além de fornecerem a nutrição básica, possuem potencial para promover a saúde. Deve-se salientar que esse efeito restringe-se à promoção da saúde e não à cura de doenças (SANDERS, 1998).

3.2 CASCA DE CAFÉ

A cafeicultura dá origem a um volume elevado de resíduos, principalmente a casca de café, cuja utilização tem sido objeto de vários estudos. A crescente preocupação com os problemas ambientais tem levado a um aumento do interesse sobre a destinação desses resíduos gerados no processamento agroindustrial do café (VILELA et al., 2001).

A casca de café, subproduto do beneficiamento do café em coco (composta pela mucilagem e casca) é de alta disponibilidade em algumas regiões do Brasil. A casca representa cerca de 40% do fruto maduro sendo que este material retorna às lavouras de café como adubo orgânico ou perde-se por não ter utilização, produzindo grandes quantidades de resíduos, geralmente lançados indevidamente no meio ambiente, causando danos (OLIVEIRA, 1999).

Existem dois tipos de casca de café resultantes do tipo de grão colhido e do processamento, a casca de café melosa e a casca de café seca. A casca de café

melosa tem como peculiaridade, em relação à casca de café seca a ausência de um componente fibroso, o pergaminho, a qual a torna mais disponível para a alimentação de suínos, embora apresente altos teores de fibras e fatores antinutricionais como polifenóis, taninos e cafeína, que podem limitar sua utilização em função da baixa digestibilidade (OLIVEIRA, 2001). A casca de café em geral é um resíduo de composição química semelhante ao do milho desintegrado com palha e sabugo (BARCELOS et al., 1997).

A adição da casca de café em produtos adulterados também pode ocorrer. O acréscimo destes fragmentos quando torrados permite a redução de custos dos cafés vendidos no mercado interno, comprometendo a qualidade da bebida (SANTOS, 2013).

3.3 COMPOSTOS FENÓLICOS

Os compostos fenólicos têm sido amplamente estudados pelas suas características antioxidantes *in vitro*. Uma das principais classes de compostos fenólicos é a dos ácidos hidroxicinâmicos, dentre os quais os ácidos caféico, ferúlico e p-cumárico se destacam. Eles podem ser encontrados no reino vegetal sob a forma livre ou esterificada, principalmente, com o ácido quínico. Esse grupo de ésteres é chamado de ácidos clorogênicos (CGA). Apesar desses compostos serem identificados numa grande variedade de plantas, os grãos verdes do café contêm os maiores teores de CGA encontrados na literatura (de 5,5 a 12,5%) (TRUGO; MACRAE, 1984). Ainda, são encontrados os cinco grupos de isômeros identificados que compõem os CGAs, como os ácidos cafeoilquínicos (CQA), feruloilquínicos (FQA), p-cumaroilquínicos, dicafeoilquínicos (diCQA) e os cafeoilferuloilquínicos (CLIFFORD, 1979).

Além de servirem como precursores na formação de lignina e apresentarem a função de proteção contra predadores e microrganismos para a planta, esses compostos participam da formação de pigmentos, aroma e sabor do café, gerados durante a torrefação. Durante as últimas décadas, várias características farmacológicas envolvendo diferentes isômeros desse grupo de compostos têm sido evidenciadas em estudos com células e animais. Entre elas está o poder antioxidante (DESMARCHELIER; COUSSIO; CICCIA, 1998).

Embora os grãos verdes do café contenham os maiores teores de CGA encontrados na literatura, durante seu processamento esses compostos sofrem acentuada modificação. Se as funções comprovadas *in vitro* e em animais forem realmente válidas para humanos, isto é, se os CGAs forem comprovadamente biodisponíveis em humanos, diante da possibilidade de controle dos teores desses isômeros em amostras de café durante a torrefação, será bastante interessante a produção de uma bebida que, mantendo suas características sensoriais mais agradáveis, possa ainda atender a uma funcionalidade biológica.

3.4 METILXANTINAS

As metilxantinas são consideradas como pseudoalcaloides, por serem originadas de bases purínicas, com caráter anfótero. Mas muitos autores consideram as metilxantinas como alcaloides verdadeiros, devido sua atividade biológica e presença do nitrogênio heterocíclico (RATES; SIMÕES, 2004).

São compostos de interesse devido às propriedades farmacológicas, como estimulantes do sistema nervoso central, responsáveis pela inibição do sono e diminuição da sensação de fadiga (VALDUGA, 1995). As principais metilxantinas são a cafeína, a teobromina e a teofilina (GNOATTO et al., 2007).

Tais compostos são encontrados em várias bebidas de importância econômica e cultural como o café, chá, chimarrão, refrigerantes, entre outros (MAZUR, 2012). Na Tabela 1 são apresentados os teores de cafeína em alguns alimentos, de acordo com Altimari et al. (2001) e Kopcak (2003).

Tabela 1 – Quantidade de cafeína em alguns alimentos

| Produto (100 mL) | Quantidade (mg) |
|------------------------|-----------------|
| Café solúvel | 120 |
| Café expresso | 170 |
| Chá mate | 13 |
| Refrigerante tipo cola | 13,8 |
| Energético | 32 |

FONTE: ALTIMARI et al. (2001); KOPCAK (2003).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

As cascas de café utilizadas neste experimento foram fornecidas pela Coamo Agroindustrial Cooperativa (Campo Mourão), resultantes do beneficiamento de grãos provenientes da safra de 2013.

4.2 CARACTERIZAÇÃO DAS CASCAS DE CAFÉ

4.2.1 Composição Centesimal

O conteúdo de umidade das cascas (g de água.100 g⁻¹ de sólido seco) foi determinado por secagem durante 24 h em estufa a 105 °C (AOAC, 2010). O teor de lipídios totais foi determinado pelo método de Soxhlet, usando como solvente éter de petróleo a 40 °C (AOAC, 2010). O conteúdo de proteínas foi determinado pelo procedimento de Kjeldahl usando 6,25 como fator de conversão de nitrogênio para proteína (AOAC, 2010). O conteúdo total de carboidratos foi determinado subtraindo os valores de umidade, proteínas, lipídios e cinzas (%) de cem (100) (WATT; MERRILL, 1999). A determinação do valor energético (kcal) foi realizado através da soma dos resultados da multiplicação dos fatores de conversão (9,0) para lipídios e (4,0) para carboidratos e proteínas (BRASIL, 2003).

4.2.2 Preparo das amostras

As cascas foram homogeneizadas, trituradas em moinho de facas tipo Willey e adicionados de 0,2% de antioxidante ácido ascórbico (p/p).

4.2.3 Delineamento Experimental

Para avaliar as condições de extração dos compostos fitoquímicos da casca de café, foi utilizado um delineamento fatorial com três níveis e dois fatores (3^2), conforme sugerido por Ribani (2006). As variáveis de processo escolhidas foram tempo (fator 1) e concentração molar de ácido (fator 2). Na Tabela 2 são mostrados os níveis codificados e não codificados dos fatores.

Tabela 2 – Fatores utilizados e seus respectivos níveis codificados e não codificados

| Fator | Nível | | |
|------------------------|-------|---------------|-----|
| | -1 | Ponto central | +1 |
| Tempo (min) | 30 | 60 | 90 |
| Concentração molar (M) | 1,0 | 1,5 | 2,0 |

Na Tabela 3 é mostrado o delineamento experimental para as condições propostas expresso na forma de variáveis codificadas. Se os valores das variáveis-resposta obtidos nas condições dos pontos centrais forem estatisticamente iguais, poderá ser confirmada a viabilidade do processo (NIST/SEMATECH, 2003).

Tabela 3 – Delineamento fatorial completo com três repetições no ponto central

| Experimentos | Níveis das variáveis independentes codificadas | |
|--------------|--|---------|
| | Fator 1 | Fator 2 |
| 1 | -1 | -1 |
| 2 | -1 | 0 |
| 3 | -1 | +1 |
| 4 | 0 | -1 |
| 5 | 0 | +1 |
| 6 | +1 | -1 |
| 7 | +1 | 0 |
| 8 | +1 | +1 |
| 9 | 0 | 0 |
| 10 | 0 | 0 |
| 11 | 0 | 0 |

4.2.4 Compostos fitoquímicos

4.2.4.1 Extração

Foram tomados 5 g de amostra homogeneizada com ácido ascórbico e adicionados 10 mL de HCl em diferentes concentrações molares iniciais (três níveis) e 25 mL de metanol. Após o refluxo a 90 °C por diferentes períodos (três tempos), os extratos foram resfriados e o volume completado a 50 mL com metanol. Então cada amostra foi filtrada primeiramente em peneira e depois por filtro (PTFE) Millipore de 0,45 µm de diâmetro, antes da análise por CLAE.

4.2.4.2 Quantificação por cromatografia líquida de alta eficiência

Foi utilizado um cromatógrafo líquido de alta eficiência Dionex UltiMate 3000 (Dionex, Idstein, Alemanha), controlado pelo Software Chromeleon, equipado com amostrador automático, bomba e detector de arranjo de diodos (UV-VIS) (UltiMate 3000). Foi usada uma coluna de fase reversa Acclaim 120, C18, 120 Å (4,6 x 250 mm, 5 µm). As demais condições experimentais foram: volume de injeção de 5 µL, cinco comprimentos de onda específicos para cada classe de compostos e vazão de 1 mL min⁻¹. Os solventes de grau cromatográfico, água acidificada com ácido fosfórico 1% e metanol, aplicados de forma gradiente durante a eluição e previamente filtrados em membrana de 0,45 µm de poro antes de serem utilizados. A quantificação de compostos foi realizada pela comparação dos tempos de retenção de padrões cromatográficos de ácido gálico, ácido siríngico, ácido cafeico, ácido p-cumárico, ácido ferrúlico, ácido trans-cinâmico, piceatanol, resveratrol, rutina, catequina, miricetina, quercetina e campferol. Foi realizada padronização externa a partir de curvas de calibração dos mesmos padrões.

4.2.4.3 Teor de compostos fenólicos totais

Os extratos foram avaliados quanto ao teor de compostos fenólicos totais, pelo método colorimétrico de Folin-Ciocalteu, com resultados expressos em

miligramas equivalentes de ácido gálico por cem gramas de amostra ($\text{mg EAG} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$). O método é caracterizado por uma mistura de ácidos fosfotúngstico e fosfomolibdico (coloração amarela) em um meio básico. Os fenóis que estão contidos nas amostras são energeticamente oxidados em meio básico, ocorrendo a formação do O^{2-} , o qual reage com os ácidos formando compostos de coloração verde, com uma absorção intensa perto de 750 nm (SHAHIDI; NACZK, 1995).

No método de Folin-Ciocalteu (SINGLETON; ROSSI, 1965), uma alíquota de aproximadamente 30 μL de extrato diluído é transferida para um tubo de ensaio, com 2370 μL de água destilada e 150 μL do reagente de Folin-Ciocalteu. O tubo é agitado em vórtex por 10 s. Para o preparo do branco, 30 μL de metanol foram usados ao invés de água destilada. Depois de 2 min, 450 μL de solução de carbonato de sódio (15%, m/v) foram adicionados e a mistura foi homogeneizada em vórtex por 10 s e em seguida incubada a por 2 h a temperatura ambiente. A absorbância das amostras foi lida em espectrofotômetro a 765 nm. Uma curva padrão de ácido gálico na faixa de 60-600 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ($R^2 = 0.9988$) foi usada para quantificação do teor de compostos fenólicos totais e os resultados expressos em mg de equivalente em ácido gálico por 100 g de amostra ($\text{mg EAG} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$).

4.2.5 Atividade antioxidante

4.2.5.1 Atividade antioxidante pelo método DPPH[•]

A atividade antioxidante é caracterizada pela inibição do radical 2,2-difenil-1-picrilidrazila (DPPH[•]). O teste de redução do DPPH[•] está baseado na capacidade de reação com doadores de hidrogênio. Quando na presença de substâncias antioxidantes o mesmo recebe H^+ sendo então reduzido. A capacidade da amostra de reduzir o DPPH[•], ou seja, de evitar a sua oxidação, é indicada pela porcentagem de DPPH[•] restante no sistema. Sendo assim, a porcentagem de DPPH[•] restante é proporcional à concentração de antioxidante (BRAND-WILLIAMS et al., 1995).

O método, com algumas modificações (MENSOR et al., 2001), consistiu na adição de 1 mL de solução metanólica de DPPH[•] ($0,3 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) a 2,5 mL de extrato adequadamente diluído. A mistura é agitada em vórtex por 10 s. O branco é

preparado com 2,5 mL de cada extrato e 1 mL de metanol. Depois da reação por 30 min a temperatura ambiente, a absorbância foi lida a 518 nm e os resultados comparados com uma curva de calibração de trolox na faixa de 10-60 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ ($R^2 = 0.9986$) e expressos em micromolar de equivalente de trolox por grama de amostra ($\mu\text{M ET.g}^{-1}$).

4.2.5.2 Atividade antioxidante pelo método ABTS^{•+}

A inibição do radical [2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin)6-ácido sulfônico] (ABTS^{•+}) é utilizada para a caracterização da atividade antioxidante. O princípio do método ABTS é monitorar o decaimento do cátion-radical ABTS^{•+}, produzido pela oxidação do ABTS, gerado pela adição de uma amostra contendo antioxidantes. Na ausência de fenóis, ABTS^{•+} é estável, porém reage energeticamente com um doador de átomo de hidrogênio, como fenóis, e então é convertido em uma forma não colorimétrica do ABTS (ARNAO; CANO; ACOSTA, 2001).

No método de Arnao, Cano e Acosta (2001) modificado por Thaipong et al. (2006), as soluções estoque consistiram de uma solução 7.4 mM ABTS^{•+} e outra 2.6 mM de persulfato de potássio. A solução de trabalho foi então preparada através da mistura das duas soluções estoque em quantidades iguais, permitindo-se que reagissem por 12 h no escuro e à temperatura ambiente. A solução foi então diluída através da mistura da solução ABTS^{•+} com 60 mL de metanol para obter uma absorbância no espectrofotômetro de $1,1 \pm 0,02$ unidades a 734 nm. Os extratos (150 μL) reagiram com 2850 μL de solução ABTS^{•+} por 2 h protegidos da luz. A absorbância foi lida em espectrofotômetro a 734 nm e as amostras que ultrapassaram a faixa da curva padrão precisaram de diluições adicionais. A curva padrão foi linear entre 25 e 600 mM de Trolox. Os resultados foram expressos em micromolar equivalente de trolox por grama de amostra ($\mu\text{M ET.g}^{-1}$).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 4 é apresentada a composição química da casca de café determinada no presente trabalho e comparada com alguns parâmetros avaliados por outros autores. Com relação ao teor de umidade, verificam-se valores próximos aos encontrados na literatura. Convém destacar os menores teores encontrados de resíduo mineral (cinzas), lipídios e proteínas.

De acordo com Fernandes (2007), a composição da casca de café também é influenciada significativamente por uma série de fatores, como a variedade e o processo de beneficiamento. A autora ainda ressalta, que determinados constituintes não variam ao longo do armazenamento.

Por se tratar de um resíduo industrial, sem padrões de qualidade definidos, considera-se normal que existam variações nos parâmetros avaliados, ao serem comparados com outros trabalhos.

Tabela 4 – Composição química da casca de café determinada no presente trabalho e por diferentes autores

| | Valores por 100 g | | | |
|-------------------------|-------------------|---------------------|---------------------------|-------------------------|
| | Presente trabalho | Brand et al. (2000) | Ribeiro Filho et al. 2000 | Barcelos e Pérez (2001) |
| Umidade (g) | 13,13 ± 0,37 | 11,98 | 15,8 – 7,2 | 11,63 |
| Resíduo mineral (g) | 4,32 ± 0,03 | 6,03 | 6,5 – 7,8 | |
| Lipídios totais (g) | 0,13 ± 0,04 | 1,5 | 1,4 – 6,0 | |
| Proteínas (g) | 1,26 ± 0,03 | 6,8 | 7,26 – 11,7 | |
| Carboidratos (g) | 81,16 | | | |
| Valor energético (kcal) | 348,22 | | | |

Na Tabela 5 são apresentadas as condições experimentais utilizadas e as respostas analisadas para a casca de café. Entre as respostas, os valores variaram de 140,94 a 158,31 mg.100 g⁻¹ para a cafeína. Soccol (2002) menciona valores de 1300 mg.100 g⁻¹. Teores de cafeína de 270 mg.100g⁻¹ para café torrado e 80 mg.100g⁻¹ para casca de café foram encontrados por Andrade (2009) através de análise gravimétrica. Acredita-se que a diferença entre o valor de literatura pode ser atribuído à metodologia utilizada, já que a análise gravimétrica é caracterizada por várias etapas sujeitas a erros experimentais. Já a separação cromatográfica fornece valores mais confiáveis, pela comparação dos elementos identificados com padrões cromatográficos em comprimentos de onda específicos.

Tabela 5 – Condições experimentais e respostas do teor de cafeína, compostos fenólicos e atividade antioxidante da casca de café

| Níveis das variáveis independentes | | | Variáveis dependentes | | | |
|------------------------------------|--------------|-------------------------------|----------------------------------|--|-------------------------------|-------------------------------|
| Experimento | Tempo (min.) | Concentração molar de HCl (M) | Compostos fenólicos | | Atividade antioxidante | |
| | | | Cafeína (mg.100g ⁻¹) | Fenólicos totais (mg EAG.100 g ⁻¹) | DPPH (µM ET.g ⁻¹) | ABTS (µM ET.g ⁻¹) |
| 1 | 30 | 1 | 153,22 | 1186,36 | 54,31 | 45,45 |
| 2 | 30 | 1,5 | 158,31 | 1133,33 | 80,11 | 36,89 |
| 3 | 30 | 2 | 152,19 | 1113,64 | 92,39 | 42,77 |
| 4 | 60 | 1 | 148,91 | 1128,79 | 76,27 | 48,36 |
| 5 | 60 | 2 | 152,76 | 1007,58 | 105,54 | 44,20 |
| 6 | 90 | 1 | 154,71 | 1192,42 | 75,82 | 51,63 |
| 7 | 90 | 1,5 | 140,94 | 983,33 | 89,88 | 42,54 |
| 8 | 90 | 2 | 150,06 | 1186,36 | 108,42 | 42,54 |
| 9 | 60 | 1,5 | 150,09 | 1245,45 | 97,10 | 57,51 |
| 10 | 60 | 1,5 | 153,87 | 1319,70 | 95,82 | 47,47 |
| 11 | 60 | 1,5 | 157,91 | 1415,15 | 96,50 | 46,70 |

Nas condições estudadas, porém não em todos os experimentos, ainda foram detectados teores de teobromina (7,32 a 10,33 mg.100 g⁻¹), ácido ferúlico (0,213 a 0,264 mg.100 g⁻¹), ácido clorogênico (4,35 a 11,36 mg.100 g⁻¹), ácido p-cumárico (1,08 a 1,16 mg.100 g⁻¹), ácido cafeico (1,45 a 2,03 mg.100 g⁻¹) e piacetanol (0,196 a 0,466 mg.100 g⁻¹).

Segundo Soccol (2002), a polpa de café apresenta 42 mg.100 g⁻¹ de ácido clorogênico e teores de 1000 a 2000 mg.100 g⁻¹ de ácido ferúlico. Andrade (2009), encontrou 37 mg.100 g⁻¹ de ácido cafeico no café torrado.

Araujo (2007) relatou níveis de ácido ferúlico variando de 31 a 83 mg.100 g⁻¹ em café *in natura*. A autora encontrou ainda, teores de ácido clorogênico de 182 mg.100 g⁻¹ no café *in natura* e de 11 a 22 mg.100 g⁻¹ no café torrado, 2 a 4 mg.100 g⁻¹ de ácido cafeico no café torrado e 2 mg.100 g⁻¹ de ácido p-cumárico no café torrado.

Ao estudar diferentes técnicas de extração de compostos fenólicos de casca e borra de café, Andrade (2011) obteve teores médios de 65 a 113 mg.100 g⁻¹ de teobromina e 210 a 68420 mg.100 g⁻¹ para cafeína. Os maiores teores de cafeína foram encontrados em técnicas que empregavam o uso de solventes supercríticos.

Já para o teor de fenólicos totais, houve uma variação de 983,33 a 1415,15 mg EAG.100 g⁻¹. Não foi verificada correlação positiva entre os teores de cafeína, fenólicos totais e atividade antioxidante para os extratos da casca de café.

Andrade (2011) encontrou um teor médio de 2300 mg de fenólicos totais por cem gramas de casca de café e 7600 mg. 100 g⁻¹ para café torrado. Apesar do

parâmetro ter sido quantificado pelo mesmo método, o tempo e a temperatura de extração podem ter influenciado as diferenças encontradas no presente estudo.

Baggio et al., (2007) encontraram valores próximos de atividade antioxidante (121,06 a 735,27 $\mu\text{M ET.g}^{-1}$), que variaram de acordo com o solvente testado na extração. Os autores encontraram ainda, quando comparados ao presente trabalho, menores níveis de fenólicos totais, variando de 288,64 a 424 mg. 100 g^{-1} e verificaram correlação positiva entre atividade antioxidante e fenólicos totais.

A falta de correlação entre o teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante no presente estudo, pode estar relacionada à forma como os compostos fenólicos estão presentes nos vegetais. Eles aparecem na forma livre ou esterificados a moléculas de açúcares, proteínas ou ácidos (TSAO; DENG, 2004).

Hassimoto, Genovese e Lajolo (2005), explicam quem a capacidade antioxidante de compostos fenólicos é influenciada pelo grau de glicosilação e o tipo de açúcar.

Araújo (2007) também atribui ao tipo de solvente utilizado as diferenças qualitativas e quantitativas na extração de compostos fenólicos e avaliação do potencial antioxidante.

Apenas o experimento para atividade antioxidante pelo método do DPPH resultou em coeficientes de regressão de modelo significativo ($p < 0,05$) para a hidrólise, conforme mostrado na Tabela 6.

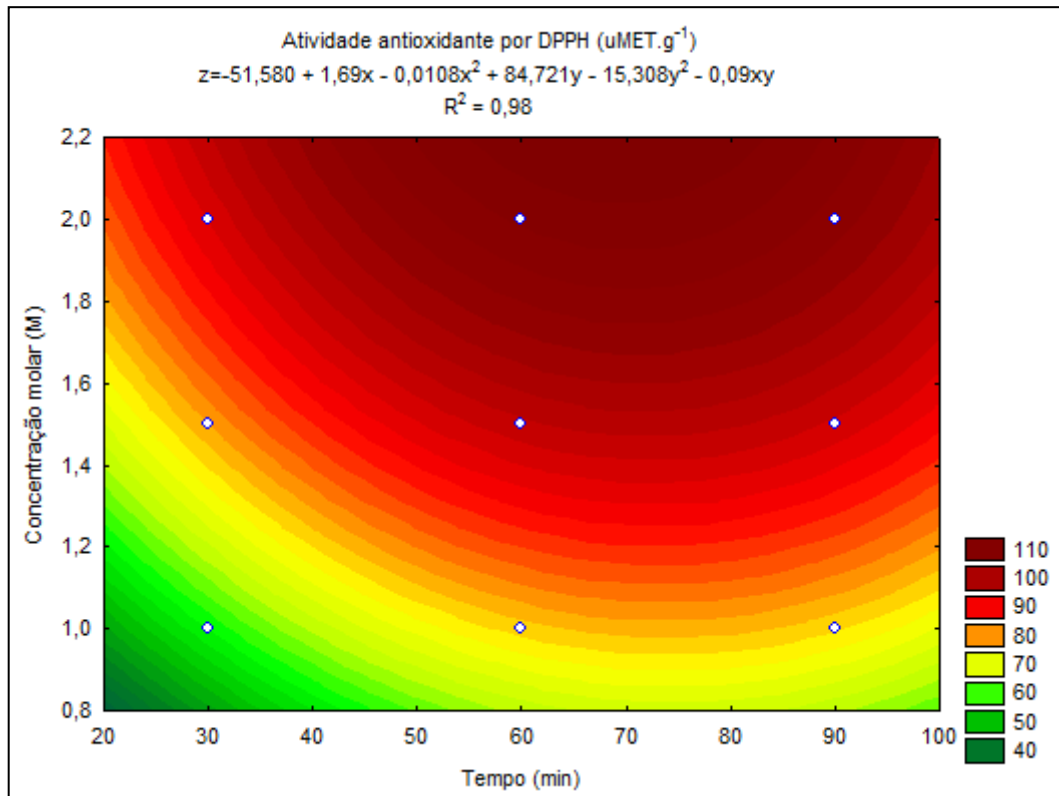
Tabela 6 – Análise de varância para efeito do tempo de extração e da concentração molar de ácido na atividade antioxidante por DPPH da casca de café

| FATOR | SOMA DOS QUADRADOS | GRAUS DE LIBERDADE | QUADRADO MÉDIO | VALOR F | VALOR p |
|---|--------------------|--------------------|----------------|----------|---------|
| Tempo (min) | 373,039 | 1 | 373,039 | 909,556 | 0,001 |
| Tempo x Tempo | 240,188 | 1 | 240,188 | 585,635 | 0,001 |
| Concentração molar (M) | 1665,000 | 1 | 1665,000 | 4059,656 | 0,0002 |
| Concentração molar (M) x Concentração molar (M) | 37,105 | 1 | 37,105 | 90,471 | 0,0108 |
| Tempo x Concentração molar (M) | 7,508 | 1 | 7,508 | 18,305 | 0,0505 |
| Falta de ajuste | 46,194 | 3 | 15,398 | 37,544 | 0,0026 |
| Erro puro | 0,820 | 2 | 0,410 | | |
| Soma de quadrados total | 2445,287 | 10 | | | |

A superfície de resposta (Figura 1) indica que a melhor condição de extração para o parâmetro analisado poderia ocorrer acima do máximo utilizado no

experimento (HCl 2 M por 90 minutos), resultando em valores de atividade antioxidante superiores a 100 $\mu\text{MET}\cdot\text{g}^{-1}$.

Figura 1 – Superfície de resposta para a atividade antioxidante de extrato de casca de café obtido por hidrólise em função do tempo e da concentração molar de ácido



6 CONCLUSÃO

- Por se tratar de um resíduo agroindustrial, verificou-se uma variação significativa na composição da casca de café, quando comparada com diferentes autores;
- Foi possível realizar a extração dos compostos fitoquímicos da casca de café através de hidrólise ácida.
- Entre os compostos identificados, destacam-se os teores de cafeína. Ainda foram encontrados teores de teobromina, ácido ferúlico, ácido clorogênico, ácido p-cumárico, ácido cafeico e piacetanol.
- Não foi verificada correlação positiva entre as metilxantinas, os compostos fenólicos, os teores de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante.
- Apenas os resultados para atividade antioxidante foram significativos para as condições estudadas.

REFERÊNCIAS

ABIC – **Associação Brasileira da Indústria de Café**. Disponível em www.abic.com.br. Acesso em 04 de março de 2014.

ALTIMARI, L. R.; CYRINO, E. S.; ZUCAS, S. M.; OKANO, A. H.; BURINI, R. C. Cafeína: efeito ergogênico nutricional no esporte. **Revista Brasileira Ciência e Movimento**. Brasília, v. 9, n. 3, p. 57-64, 2001.

AMSTALDEM, L. C., LEITE, F., MENEZES, H. C. Identificação de voláteis de café através de cromatografia gasosa de alta resolução/espectrometria de massas empregando um amostrador automático de “Headspace”. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.21, n.1, p.123-128, 2001.

ANDRADE, K. S. **Avaliação das técnicas de extração e do potencial antioxidante dos extratos obtidos a partir de casca e de borra de café (*Coffea arabica*, L.)**. Dissertação (Mestrado). Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011, 132 f.

AOAC. **Official methods of analysis of AOAC international**. 18. ed. Gaithersburg, 2010.

ARAÚJO, F. A. **Café (*Coffea arabica*, L.) submetido a diferentes condições de torrefação: caracterização química e avaliação da atividade antioxidante e sensorial**. Tese (Doutorado). Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental. 2007, 130 f. Universidade de São Paulo, São Paulo.

ARNAO, M. B., CANO, A., ACOSTA, M. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. **Food Chemistry**. n. 73, p. 239–244, 2001.

BADOCHA, T. E.; COSTA, R. S. C.; LEONIDAS, F. C. Casca de Café: um importante insumo para a agricultura orgânica. In: **Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil**, 3., 2003, Porto Seguro-BA. *Anais do III Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil*, Porto Seguro, 2003.

BAGGIO, J.; LIMA, A.; MANCINI FILHO, J.; FETT, R. Identification of phenolic compounds in coffee (*Coffea arabica*, L.) organic dust and its antioxidant activity. **Italian Journal of Food Science**, v. 2, p. 193-203, 2007.

BARCELOS, A. F.; PÉREZ, J. R. O. Composição da casca e polpa desidratada de café. **Anais do II Simpósio de pesquisas dos cafés do Brasil**. Vitória, p. 818-825, 2001.

BARCELOS, A. F.; ANDRADE, I. F.; Von TIESENHAUSEN I. M. E. V. Aproveitamento da casca de café na alimentação de novilhos confinados – Resultados do primeiro ano. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 26, n. 6, p. 1208-1214, 1997.

BORRELLI, R. C., VISCONTI, A., MENNELLA, C., ANESE, M., FOGLIANO, V., Chemical characterization and antioxidant properties of coffee melanoidins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 22, p. 6527-6533, 2002.

BRAND, D.; PANDEY, A.; ROUSSOS, S.; SOCCOL, C. R. Biological detoxification of coffee husk by filamentous fungi using a solid state fermentation system. **Enzyme and Microbial Technology**. v. 27, p. 127-133, 2000.

BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M. E., BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Leb Wissenschaft und Technik**, 28, 25-30, 1995.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Resolução RDC n.º 360 de 23 de dezembro de 2003. Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 26 de dezembro de 2003.

BRESANI, R.; ESTRADA, E.; JARQUIN, R. Pulpa y pergamino de café. I. Composición química y contenido de aminoácidos de la proteína de la pulpa. **Turrialba**, v. 22. n. 3, p. 299-304, 1972.

CLIFORD, M. N. **Chlorogenic Acids, Coffee: Vol 1**. Chemistry, Elsevier Science Publishing Co, Nova Iorque, 1979.

DAGLIA, M.; PAPETTI, A.; GREGOTTI, C.; BERTE, F.; GAZZANI, G. *In vitro* antioxidant and *ex vivo* protective activities of green and roasted coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, p.1449-1454, 2000.

DESMARCHELIER, C; COUSSIO, J; CICCIA, G. – Antioxidant and free Radical scavenging effects in extracts of the medicinal herb *Achyrocline satureioides* (Lam.) D. C. (“marcela”). **Braz. Med. Biol. Res.**, n. 31, v. 9, p. 1163-70, 1998.

ENCARNAÇÃO, R. O.; LIMA, D. R. **Café & saúde humana**. Brasília: EMBRAPA Café, 2003. 64p. (Documentos, n.1).

FERNANDES, G. **Extração e purificação de cafeína da casca de café**. 2007. 107 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2007.

GNOATTO, S. C. B; BASSANI, V. L.; COELHO, G. C. SCHENKEL, E. P. Influência do método de extração nos teores de metilxantinas em erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hill, Aquifoliaceae). **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 304-307, 2007.

HASSIMOTTO, N. M. A.; GENOVESE, I. S.; LAJOLO, F. M. Antioxidant activity of dietary fruits, vegetables, and commercial frozen fruit pulps. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 53, p. 2928-2935, 2005.

ILLY, E. Um dos prazeres simples da vida é bastante complicado: A saborosa complexidade do café. **Revista Scientific American Brasil**, p.48-53, 2002.

KOPCAK, U. **Extração de cafeína da planta do guaraná (*Paullinia cupana*) com dióxido de carbono supercrítico e co-solventes**. 2003. 237f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

LIN, C.; MUELLER, L.A.; Mc CARTHY, J.; CROUZILLAT, D.; PETIARD, V.; TANKSLEY, S.D. Coffee and tomato share common gene repertoires as revealed by deep sequencing of seed and cherry transcripts. **Theoretical and Applied Genetics**, v.112, p.114-130, 2005.

MAGALHÃES, E. A.; SILVA, J. S.; SILVA, J. N.; FILHO, D. O.; DORNELES, S. M. L.; MARTIN, S.; DUTRA, L. Casca de café associada à lenha como combustível para aquecimento indireto do ar de secagem, **Revista Brasileira de Armazenagem**, v. 10 p. 66-72, 2008.

MAZUR, L. **Aplicação de metodologia NIR para determinação de metilxantinas presentes na erva-mate (*Ilex paraguariensis*)**. 80f, Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012.

MOREIRA, R. F. A.; TRUGO, L. C.; MARIA, C. A. B.; MATOS, A. G. B.; SANTOS, S. M.; LEITE, J. M. C. Discrimination of brazilian arabica green coffee samples by chlorogenic acid composition. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**. v. 51, n.1, p. 95-99, 2001.

MENSOR, L. L., MENEZES, F. S., LEITÃO, G. G., REIS, A. S., SANTOS, T. C. d., COUBE, C. S., & LEITÃO, S. G. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytotherapy Research**, n. 15, v. 2, 127-130, 2001.

MORGANO, M. A.; PAULUCI, L. F.; MANTOVANI, D. M. B.; MORY, E. E. M. Determinação de minerais em café cru. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, n.1, p.19-23, 2002.

NACIF, A. P. **O café e a saúde humana**. Brasília: EMBRAPA Café, Abril, 2003. (Documentos, n.1). [Folheto].

NIST/SEMATECH. **E-handbook of Statistical Methods**, 2003. Disponível em: <http://www.itl.nist.gov/div989/handbook/tool aids/pff/5-pri.pdf>

OLIVEIRA, V. **Casca de café em rações isoenergéticas para suínos em crescimento e terminação (Digestibilidade e Desempenho)**. 61p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), UFLA, Lavras, 1999.

OLIVEIRA S. L. **Avaliação da casca de café em rações para suínos em terminação**. 74p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), UFLA, Lavras, 2001.

RATES, S. M. K; SIMÕES, C. M. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5 ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2004.

RIBANI R. H. Compostos fenólicos em erva-mate e frutas. **Tese** (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

RIBEIRO FILHO, E. **Degradabilidade in situ da mateira seca, proteína bruta, e fibra em detergente neutro da casca de café (*Coffea arabica*, L.) e desempenho de novilhos em fase de recria**. Dissertação (Mestrado em Nutrição de Ruminantes), Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1998.

SALDAÑA, M. D. A.; MAZZAFERA, P.; MOHAMED, R. S. Extração dos alcalóides: cafeína e trigonelina dos grãos de café com C supercrítico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.17, n.4, p.371-376, 1997.

SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, I.; JIMÉNEZ-ESCRIG, A.; SAURA-CALIXTO, F. In vitro antioxidant activity of coffees brewed using different procedures (italian, espresso and filter). **Food Chemistry**, v. 90, n. 1-2, p. 133-139, 2005.

SANDERS, M. E. Overview of functional foods: emphasis on probiotic bacteria. **International Dairy Journal**, v.8, p.341-347, 1998.

SANTOS, G. **Consumidor pode estar comprando café adulterado para aumentar o peso**. Disponível em:

<http://www.revistacafeicultura.com.br/index.php?tipo=ler&mat=21279&consumidor-podeestar-comprando-cafe-adulterado-para-aumentar-o-peso>.

Acesso em dezembro de 2013.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Methods of analysis and quantification of phenolic compounds**. In: Food Phenolic: Sources, Chemistry, Effects and Applications. Shahidi, F., Naczk, M. (Eds.). Lancaster: Technomic Publishing Company, p. 287-293, 1995.

SILVA, L. C., **Café – fruto, grão e bebida**. Revista Grãos Brasil, Ano X, n. 52, Janeiro/Fevereiro de 2012, p. 13-18.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phospho-tungstic acid reagents. **Am. J. Enol . Vitic.** v. 16, p. 144-158, 1965.

SOCCOL, C. R., Resíduo de café: um substrato promissor para a produção industrial de bioprodutos com alto valor agregado. In: EMBRAPA-CAFÉ. (Org.). **I Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil**. 1 ed. Brasília: EMBRAPA, v. 1, p. 83-98, 2002.

THAIPONG, K.; BOONPRAKOB, U.; CROSBY, K.; CISNEROS-ZEVALLOS, L.; HAWKINS BYRNE, D. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, n. 19, p. 669–675, 2006.

TRUGO, L. C.; MACRAE, R. An Investigation of coffee roasting using high performance gel filtration chromatography, **Food Chemistry**, n. 19, p. 1-9, 1986.

TRUGO, L. C.; MACRAE, R. A study of the effect of roasting on the chlorogenic acid composition of coffee using HPLC. **Food Chemistry**, n. 15, 219-227, 1984.

TSAO, R.; DENG, Z. Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals. **Journal of Chromatography, B: Analytical Technologies in Biomedical and Life Sciences**, v. 812, n. 1-2, p. 85-99, 2004.

VALDUGA, E. **Caracterização química e anatômica de folha de *Ilex paraguariensis* St. Hill e de algumas espécies utilizadas na adulteração do**

mate. 97f. Dissertação (Mestrado) – Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1995.

VEGRO, C. L. R; CARVALHO, F. C. **Disponibilidade e utilização de resíduos gerados no processamento agroindustrial do café. Informações econômicas**, Instituto de Economia Agrícola, São Paulo, v. 24, n.1, p. 9-16, 1994.

VILELA, F. G.; PEREZ, J. R. O.; TEIXEIRA, J. C.; REIS, S. T. Uso da casca de café melosa em diferentes níveis na alimentação de novilhos confinados. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, n. 1, p. 198-205, jan./fev.2001.

YOSHIDA, L. M. **Extração de solúveis do café torrado.** 2005. 198 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2005.