

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

LUANA CERRI GABRIEL

**EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR BANHO ULTRASSÔNICO DE ÓLEO DE
CAFÉ VERDE (*Coffea arabica*) UTILIZANDO ETANOL E HEXANO
COMO SOLVENTES E CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS POR
CROMATOGRAFIA GASOSA E RESSONÂNCIA MAGNÉTICA
NUCLEAR DE HIDROGÊNIO**

DISSERTAÇÃO

PONTA GROSSA

2020

LUANA CERRI GABRIEL

**EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR BANHO ULTRASSÔNICO DE ÓLEO DE
CAFÉ VERDE (*Coffea arabica*) UTILIZANDO ETANOL E HEXANO
COMO SOLVENTES E CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS POR
CROMATOGRAFIA GASOSA E RESSONÂNCIA MAGNÉTICA
NUCLEAR DE HIDROGÊNIO**

Dissertação apresentada à Universidade Tecnológica Federal do Paraná, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Erica Roberta Lovo da Rocha Watanabe

Coorientadora: Prof^a. Dr^a Priscilla dos Santos Gaschi Leite

PONTA GROSSA

2020

Ficha catalográfica elaborada pelo Departamento de Biblioteca
da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Ponta Grossa
n.62/20

G118 Gabriel, Luana Cerri

Extração assistida por banho ultrassônico de óleo de café verde (*Coffea arabica*) utilizando etanol e hexano como solventes e caracterização dos extratos por cromatografia gasosa e ressonância magnética nuclear de hidrogênio. / Luana Cerri Gabriel, 2020.

74 f.; il. 30 cm.

Orientadora: Profa. Dra. Erica Roberta Lovo da Rocha Watanabe

Coorientadora: Profa. Dra. Priscilla dos Santos Gaschi Leite

Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Programa de Pós-Graduação Engenharia Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, 2020.

1. Café. 2. Óleos vegetais. 3. Química ambiental. 4. Cromatografia a gás. 5. Ressonância magnética nuclear. I. Watanabe, Erica Roberta Lovo da Rocha. II. Leite, Priscilla dos Santos Gaschi. III. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. IV. Título.

CDD 660

FOLHA DE APROVAÇÃO

Dissertação nº 2020

**EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR BANHO ULTRASSÔNICO DE ÓLEO DE CAFÉ
VERDE (*Coffea arabica*) UTILIZANDO ETANOL E HEXANO COMO SOLVENTES
E CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS POR CROMATOGRAFIA GASOSA E
RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE HIDROGÊNIO**

por

LUANA CERRI GABRIEL

Esta Dissertação foi apresentada às 14 horas do dia 11/08/2020 como requisito parcial para obtenção de título de MESTRE EM ENGENHARIA QUÍMICA, com área de concentração em Desenvolvimento de Processos, do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após a deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Prof^a Dr^a Melina Savioli Lopes
Universidade Federal de Alfenas

Prof^a Dr^a Priscilla dos Santos Gaschi
Leite
UTFPR

Prof^a Dr^a Aline Coqueiro
UTFPR

Prof^a Dr^a Erica Roberta Lovo da
Rocha Watanabe
UTFPR

Prof Dr Everton Moraes Matos
UTFPR

A FOLHA DE APROVAÇÃO ASSINADA ENCONTRA-SE NO DEPARTAMENTO DE
REGISTROS ACADÊMICOS DA UTFPR – CÂMPUS PONTA GROSSA

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus pela disposição e dedicação para desenvolvimento deste trabalho.

A minha orientadora, Prof^a Dr^a Erica Roberta Lovo da Rocha Watanabe, que me acompanha desde o TCC 1, que auxiliou também meu estágio na Indústria, pelo incentivo, orientação e amizade. Agradeço por acreditar em mim, por ser sempre presente, por me mostrar os melhores caminhos e me dar os melhores conselhos.

A minha co-orientadora, Prof^a Dr^a Priscilla dos Santos Gaschi Leite, que também está conosco desde a graduação, sempre mostrando ótimos pontos de vista e sendo presente em todas as reuniões para conclusão deste trabalho.

A Prof^a Dr^a Aline Coqueiro que nos ofereceu muito suporte técnico e nos aconselhou durante o desenvolvimento deste trabalho.

As professoras convidadas a compor a banca de defesa, Prof^a Dr^a Melina Savioli Lopes e Prof^a Dr^a Simone Delezuk Inglez por todas as críticas e sugestões para este trabalho.

Ao Prof. Dr. Marcos Pivatto, Núcleo de Pesquisa em Compostos Bioativos (NPCBio), UFU e Dr. Flaysner Magayver pela realização das análises de Ressonância Magnética Nuclear.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química (PPGEQ) por possibilitar que eu realizasse esta pesquisa de mestrado.

A minha família pela força, pelo carinho e amizade em todos os momentos e pela torcida para melhor desenvolvimento deste trabalho

Ao Sítio Santo Antônio, pelo fornecimento de matéria-prima para a elaboração deste trabalho.

RESUMO

A extração sólido-líquida, ou extração por solvente, é o método mais utilizado pela indústria química, pois apresenta maior rendimento na obtenção de óleos, principalmente dos provenientes de matérias-primas de baixa umidade, como sementes. O solvente universal utilizado neste processo é o hexano, que devido à sua polaridade, apresenta alta afinidade com a fração lipídica dos grãos, conseguindo retirar grande quantidade de óleo das sementes, além de se obter produtos de maior pureza e utilizar menor tempo de processo, porém este solvente apresenta alta toxicidade e inflamabilidade. Dentre as opções mais sustentáveis para extração de óleos, o etanol mostra-se como destaque, pois representa um solvente de origem vegetal, oriundo matérias-primas ricas em território brasileiro, como a cana-de-açúcar, fazendo com que se diminuam os custos do processo e a dependência de solventes de origem petrolífera. Entretanto devido a sua polaridade, o etanol apresenta interação molecular com água, diminuindo a solubilidade em triglicerídeos e, conseqüentemente o rendimento da extração. Uma proposta para sanar as dificuldades apresentadas pelo etanol e ao mesmo tempo diminuir o impacto ambiental do hexano, é utilizar uma mistura de solventes na extração. Portanto, neste trabalho estudaram-se as variáveis do processo de extração do óleo de café verde, que ainda não passou pelo processo de torrefação, observando ao rendimento do óleo bruto, com extração utilizando banho ultrassônico, variando os solventes em hexano, etanol e mistura hexano/etanol nas proporções 1/1 (vol/vol). Para isto, foram realizadas extrações com os diferentes solventes em tempos variados, determinando o tempo de saturação da extração, para posteriormente realizar as extrações com diferentes proporções solvente/amostra (mL.g^{-1}) e diâmetros de partículas (mm) dos grãos, encontrando as melhores condições de extração com partículas de diâmetros iguais a 0,7 mm e proporção/amostra solvente igual a 7:1. Após as análises de rendimento do teor de óleo, realizaram-se análises qualitativas por cromatografia gasosa, identificando os ácidos graxos presentes em cada uma, e por ressonância magnética nuclear de hidrogênio, mostrando a presença dos diterpenos da família dos cauranos. Ao final deste trabalho, foi possível concluir que a substituição pelos solventes foi viável, porém, com algumas adaptações ao processo.

Palavras-chaves: Extração de óleos. Sustentabilidade. Química Verde. Banho ultrassônico. Cromatografia Gasosa. Ressonância Magnética Nuclear.

ABSTRACT

The solid-liquid extraction, or solvent extraction, is the method most used by the chemical industry, because it has a higher yield in obtaining oils, especially from the low moisture feedstocks, such as seeds. The universal solvent used in this process is the hexane, which due to its polarity, has high affinity with lipid fraction of the grains, managing to remove large amounts of oil from the seeds, besides obtaining products of greater purity and using less process time, however, this solvent has high toxicity and flammability. Among the most sustainable options for oil extraction, ethanol stands out, because it represents a solvent of plant origin, originated from raw materials that are abundant in Brazilian territory, such as sugar cane, reducing process costs and dependence on oil-based solvents. However, due to its polarity, ethanol presents molecular interaction with water, decreasing the solubility in triglycerides and, consequently, the extraction yield. A proposal to remedy the difficulties presented by ethanol and at the same time to reduce the environmental impact of hexane, is the usage of a mixture of solvents in the extraction. Therefore, in this work, the variables of the green coffee oil extraction process was studied, that has not yet gone through the roasting process, observing the crude oil yield, with extraction using an ultrasonic bath, varying the solvents in hexane, ethanol and a mixture of ethanol and hexane in a 1/1 (vol/vol) proportion. For this, extractions were carried out with different solvents at different times, determining the extraction saturation time, to later perform the extractions with different solvent / sample proportions (mL.g⁻¹) and grains particles diameters (mm), finding the best conditions of extraction with particles diameters of 0.7 mm and solvent/sample proportions of 7: 1. After the analysis of the oil content yield, qualitative analyzes were carried out via gas chromatography, identifying the fatty acids present in each one, and via nuclear magnetic resonance, showing the presence of the diterpenes from the kaurans family. At the end of this work, it was possible to conclude that the substitution with solvents was feasible, yet, with some adaptations through the process.

Keywords: Oil extraction. Sustainability. Green chemistry. Ultrasonic bath. Gas chromatography. Nuclear magnetic resonance.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Grãos de café verde arábica (esquerda) e robusta (direita).....	14
Figura 2: Sessão longitudinal do grão de café verde	17
Figura 3: Estrutura química do cafestol e caveol livres e esterificados	18
Figura 4: Cromatograma de ácidos graxos livres em café arábica e robusta.....	21
Figura 5: Mecanismo de extração com banho ultrassônico	28
Figura 6: Processo de cavitação do banho ultrassônico	29
Figura 7: Cinética da extração de oleagenosas	33
Figura 8: Cromatógrafo Gasoso	34
Figura 9: Reação de transesterificação.....	35
Figura 10: Grãos de café verde.....	37
Figura 11: Processo de extração em banho ultrassônico.....	43
Figura 12: Processo de centrifugação.....	44
Figura 13: Balões para rotaevaporação	44
Figura 14: Evaporador rotativo	44
Figura 15: Curva cinética de extração com diferentes solventes	48
Figura 16: Gráfico Pareto dos efeitos das variáveis independentes em relação ao rendimento	52
Figura 17: Superfície de resposta para o rendimento de óleo de café verde	54
Figura 18: Sobreposição dos cromatogramas referentes aos extratos hexânicos (__), etanólicos (__) e mistura hexano/etanol (1/1) (__).....	57
Figura 19: Sobreposição extrato etanólico com padrão interno	57
Figura 20: Sobreposição extrato etanólico com mistura de ésteres de ácidos graxos	57
Figura 21: Espectro de RMN 1H (400 MHz, CDCI ₃ , τ = 0,00-5,50) de um extrato hexânico (fração lipídica) de café verde.....	62
Figura 22: Espectro de RMN 1H do óleo de café verde obtido extraído com hexano (400 MHz, CDCI ₃ , τ = 0,00-8,00)	64

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Composição dos grãos de café arábica e robusta	14
Tabela 2: Composição lipídica dos grãos de café verde arábica	18
Tabela 3: Composição dos ácidos graxos nos lipídeos dos grãos de café arábica...	20
Tabela 4: Variáveis independentes planejamento experimental	42
Tabela 5: Dados planejamento experimental estrela	42
Tabela 6: Teor de óleo segundo planejamento fatorial	50
Tabela 7: Efeito das variáveis no processo de extração utilizando hexano como solvente	51
Tabela 8: Análise das variâncias (ANOVA)	53
Tabela 9: Rendimento das extrações com diferentes solventes	55
Tabela 10: Concentração de Ácidos Graxos em mg.g^{-1} de extrato	58
Continuação Tabela 11: Concentração de Ácidos Graxos em mg.g^{-1} de extrato	59
Tabela 12: Legenda amostras tabela 10	59
Tabela 13: Concentração média das duplicatas de AG em mg.g^{-1} dos extratos	60
Tabela 14: Concentração média de AG em % dos extratos	60

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
1.1. OBJETIVO GERAL	12
1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
2.1 O CAFÉ	13
2.2 LÍPIDEOS EM GRÃOS DE CAFÉ	16
2.1.1 Composição em Ácidos Graxos	19
2.1.2 Composição em Diterpenos da Família dos Cauranos	21
2.3 BENEFÍCIOS E USOS DO ÓLEO DE CAFÉ	23
2.4 PROCESSO EXTRATIVO DE ÓLEOS DE GRÃOS DE CAFÉ	24
2.4.1 Preparo da Matéria Prima	25
2.4.2 Equipamentos Utilizados no Processo Extrativo	26
2.4.3 Solventes Utilizados no Processo	29
2.5 CURVA CINÉTICA	33
2.6 CROMATOGRAFIA GASOSA.....	34
2.6.1 Processo de Transesterificação	35
3. METODOLOGIA	37
3.1. MATERIAIS	37
3.2. MÉTODOS	38
3.2.1. Pré-Tratamento das Amostras	38
3.2.2 Equipamento Extrativo Utilizado no Processo	39
3.2.3 Construção da Curva Cinética.....	40
3.2.4 Planejamento Experimental.....	41
3.2.5 Processo de Extração	43
3.2.6 Caracterização do Óleo.....	45
3.2.6.1 Transesterificação das amostras.....	45
3.2.6.2 Condições cromatográficas	46
3.2.6.3 Quantificação	47
3.2.6.4 Análises por ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN 1H)	47

4. RESULTADOS.....	48
4.1 CURVA CINÉTICA.....	48
4.2 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL.....	49
4.3 ANÁLISES CROMATOGRÁFICAS.....	56
4.4 ANÁLISES DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE HIDROGÊNIO....	61
5. CONCLUSÃO.....	66
5.1 TRABALHOS FUTUROS.....	67
REFERÊNCIAS.....	68

1. INTRODUÇÃO

A bebida mais consumida do mundo é o café, junto da cerveja. De acordo com a Associação Brasileira de Indústria do Café (ABIC), 95% da população brasileira têm o hábito de consumir esta bebida todos os dias. O Brasil está em segundo lugar como maior consumidor, possuindo 13% da demanda mundial, com 21 milhões de sacas/ano, atrás apenas dos Estados Unidos (14%). Entre 2017/2018 houve um aumento de 4,8% no consumo e a projeção para 2021 é de um crescimento em 3,5% (ABIC, 2019).

Muito conhecido em forma de bebida, o café, além de ser uma ótima fonte alimentícia, também pode ser explorado em outros seguimentos de mercado, como o farmacêutico e cosmético, uma vez em que o óleo dos grãos de café verde, ou seja, dos grãos que ainda não passaram pelo processo de torrefação, apresenta propriedades antioxidantes, tonificantes, suavizantes e antissépticas (FREITAS, et.al. 2007).

Um dos métodos mais comuns aplicados pela indústria para a obtenção do óleo de grãos de café, é pela extração sólido-líquido, ou como é mais comumente conhecida, extração por solventes. Com este método é possível obter o maior rendimento da extração da oleaginosa em menor tempo de processo, principalmente para matérias-primas de baixa umidade, como sementes. O solvente mais utilizado nestes casos é o hexano comercial, uma mistura de hidrocarbonetos derivados de petróleo, de característica apolar, que apresenta grande afinidade com a fração lipídica dos grãos, ocasionando ao rendimento máximo de extração sem arrastar compostos indesejados. Entretanto, este solvente apresenta inúmeras desvantagens para o processo, como: alta volatilidade, inflamabilidade, toxicidade e, por se tratar de um derivado do petróleo, não representa uma alternativa sustentável (BATISTA *et.al*, 2016).

Inúmeros solventes alternativos têm sido estudados para extração de óleos para substituição do hexano, como o tricloroetileno, n-heptano, etanol, isopropanol e propanol (DALMOLIN, 2009). O etanol, dentre as demais opções, mostra-se um solvente promissor para o processo de extração, pois é encontrado em grande quantidade no território nacional, uma vez em que o Brasil é provedor de matérias-

primas abundantes, como a cana-de-açúcar, e pioneiro na produção deste solvente, resultando em custos mais baixos ao processo (FREITAS, *et.al.* 2007).

A extração com etanol apresenta a vantagem de possuir baixa toxicidade, alternativa sustentável e econômica ao processo extrativo, com apelo a química verde. Além disso, devido a sua estrutura molecular, representada por uma parte apolar e uma extremidade polar (grupo OH), o etanol é capaz de solubilizar não somente o óleo presente na oleaginosa, mas também outros compostos orgânicos que podem ser explorados, como as ceras (SILVA, *et.al.*, 2015).

Apesar de suas vantagens, o processo de extração utilizando etanol precisa de adaptações, tais quais o aumento de temperatura quando a extração é realizada com auxílio do equipamento sohxlet e também para solubilizar os compostos da oleaginosa, deve-se evitar o uso de etanol hidratado, uma vez em que sua capacidade de solubilizar em triglicerídeos diminui, limitando o processo de extração, e aplicação de processos posteriores de purificação para obtenção de óleo puro. Uma solução para estas problemáticas é o uso do etanol em mistura com o hexano, onde diminuir-se-ia o impacto ambiental do processo contendo hexano e ainda assim permitiria o aumento do rendimento da extração (DALMOLIN, 2009).

A metodologia empregada no processo extrativo também é um fator decisivo para a sustentabilidade do processo. O equipamento mais comum em plantas extratoras é o sohxlet, entretanto seu uso implica em grande consumo de solvente, temperaturas elevadas (temperatura de ebulição do solvente) e maior tempo de processo (BRUM *et.al.* 2009). Já o equipamento banho ultrassônico mostra-se como uma alternativa sustentável para o processo extrativo, uma vez em que a geração de cavitações pelo equipamento possibilita extrações em temperatura ambiente, com tempo reduzido de processo e menor quantidade de solvente (MATOS, *et. al.* 2009).

Tratando-se dos grãos de café verde, com o uso do banho ultrassônico é possível obter altos rendimentos de teor de óleo, extração de compostos bioativos, redução da degradação térmica, sem perdas de suas características antioxidantes e, além disso, também é possível a redução do tempo de processo e da quantidade de solventes (NORA;BORGES, 2017).

Desta maneira, este trabalho teve como finalidade avaliar a influência das variáveis do processo, como tempo, diâmetro médio das partículas e proporção solvente/amostra no rendimento da extração de óleo de café verde arábica (*Coffea arabica*) por banho ultrassônico, utilizando como solventes hexano, etanol e a mistura hexano/etanol na proporção 1/1. Posterior as extrações e definição das melhores condições operacionais, realizou-se a caracterização de cada extrato (hexânico, etanólico e mistura hexano/etanol (1/1), por cromatografia gasosa (CG) e ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN 1H), para identificação dos compostos de cada amostras, para possíveis aplicações nas indústrias cosméticas e alimentícias.

1.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar a extração de óleo de café verde com uso do banho ultrassônico, utilizando como solventes hexano, etanol e mistura hexano/etanol na proporção (1/1), em diferentes condições operacionais e determinação dos perfis químicos dos extratos por cromatografia gasosa e ressonância magnética nuclear de hidrogênio.

1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Construir a curva cinética da extração de óleo de café, utilizando hexano, etanol e mistura hexano/etanol (1/1), para identificar tempo de saturação do processo pelo teor de óleo de café verde;
- Avaliar as variáveis significativas do processo de extração, proporção solvente/amostra e os diâmetros médios das partículas, com a realização de ensaios experimentais no banho ultrassônico, seguindo planejamento experimental estrela para o solvente hexânico;
- Extrair o óleo de café verde arábica, utilizando os solventes e misturas de solventes, nas condições definidas pelo planejamento experimental e quantificar o rendimento do óleo bruto em cada condição estudada;
- Caracterizar o perfil dos ácidos graxos por cromatógrafo gasoso (CG) e o perfil química por ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN 1H), dos extratos de óleo de café verde obtido nas diferentes condições.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste tópico serão abordados os tipos de grãos de café, seus componentes e propriedades, dando ênfase à sua composição lipídica e seus benefícios, assim como os métodos extrativos e os solventes usuais ao processo. Também serão apresentados conceitos relativos às análises e as caracterizações do óleo de café, como a curva cinética, cromatografia gasosa e ressonância magnética nuclear de hidrogênio.

2.1 O CAFÉ

Considerado como uma das maiores riquezas nacionais, o café impulsionou o desenvolvimento e a ascensão do Brasil no comércio internacional. Atualmente, o Brasil é responsável por 30% da produção mundial de café, sendo o maior produtor e o segundo maior consumidor da bebida. O plantio de café está concentrado no estado de Minas Geras, seguido do Espírito Santo, São Paulo, Paraná, Bahia e Rondônia (TSUKUI *et. al*, 2014).

Segundo a *Embrapa*, em nível mundial, no ano cafeeiro 2018-2019, a produção de café arábica foi estimada em 104,01 milhões de sacas e a de café robusta em 63,5 milhões de sacas, números que apontam um volume total equivalente a 167,47 milhões de sacas. Nesse contexto, no caso específico dos países exportadores o consumo interno deverá aumentar em 1,4%, passando a 50,3 milhões. E nos países importadores o consumo também registrará o incremento de 2,5% e atingirá 114,88 milhões de sacas.

Pesquisas realizadas pela Organização Internacional do Café – IOC apontam que o Brasil continuará a ser o líder mundial, cuja produção foi estimada em 58,5 milhões de sacas, a qual corresponde a aproximadamente 35% do consumo mundial, seguido do Vietnã, cuja produção equivale a 18% do consumo mundial. Em terceiro, destaca-se a Colômbia, que teve acréscimo na produção de 2,7% ao atingir 14,2 milhões de sacas, no ano cafeeiro de 2018-2019, volume que abastece em torno de 9% do consumo mundial (EMBRAPA, 2019).

O café pertence à família *Rubiaceae*, com mais de 630 gêneros e aproximadamente 10.700 espécies. A planta de café pertence ao gênero *Coffea*. As

espécies mais conhecidas e importantes são *Coffea arabica* Linn (café arábica) e *Coffea canephora* Pierre ex Froehner (café robusta ou conilon), representados pela figura 1. Na tabela 1 encontram-se as composições dos grãos de café (TSUKUI *et.al*, 2014).

Figura 1: Grãos de café verde arábica (esquerda) e robusta (direita)



Fonte: Tsukui *et. al.* (2014)

Tabela 1: Composição dos grãos de café arábica e robusta

COMPONENTES	CAFÉ ARÁBICA (%)	CAFÉ ROBUSTA (%)
Cafeína	0,8 - 1,4	1,7 – 4,0
Trigonelina	0,6 - 1,2	0,3 – 0,9
Minerais	3 - 5,4	3 - 5,4
Ácidos clorogênicos totais	6,7 – 9,2	7,1 – 12,1
Ácidos alifáticos não voláteis	2 – 2,9	1,3 – 2,2
Ácidos voláteis	0,1	0,1
Carboidratos solúveis	9 – 12, 5	6,0 – 11,5
Polissacarídeos insolúveis	46 – 53	34 – 44
Lignina	1 – 3	1 – 3
Proteínas	8,5 – 12	8,5 – 12
Aminoácidos Livres	0,2 – 0,8	0,2 – 0,8
Ceras	0,2 – 0,3	0,2 – 0,3
Óleos	7,7 – 17, 7	7,7 – 17, 7

Fonte: Tsukui *et al.*, 2014

A cafeína (1,3,7-trimetilxantina) e os ácidos clorogênicos são os componentes que causam maior efeito no organismo humano. A cafeína está presente no citoplasma, complexada com o clorogenato de potássio e não tem efeito na qualidade sensorial do café, uma vez em que é bastante estável com a torrefação. Capaz de atuar como diurético natural, além de possuir efeito estimulante ao sistema nervoso

central e vascular, a cafeína eleva a atenção e redução da fadiga, melhorando o desempenho de tarefas que exijam vigilância, porém também acelera batimentos cardíacos, aumentando a ansiedade em indivíduos sensíveis (SIQUEIRA & ABREU, 2005). Em pequenas doses, a cafeína é capaz de diminuir a fadiga, uma vez em que atua sobre o sistema muscular circular, principalmente sobre o músculo cardíaco, entretanto se consumida em grandes quantidades pode se tornar prejudicial, afetando os rins, fígado e sistema nervoso (OLIVEIRA, 2013).

A presença de compostos não-voláteis nos grãos de café (como a trigonelina e ácidos clorogênicos), conferem adstringência aos frutos e contribuem para o sabor e aroma do café torrado (MALTA; CHAGAS, 2009). A trigonelina, tanto pela sua qualidade nutricional quanto sensorial, tem sido alvo de muitos estudos, pois atua no sistema nervoso central, na secreção da bile, na mobilidade intestinal e apresenta baixa toxicidade ao organismo comparada com a cafeína. A trigonelina é degradada no processo de torrefação dos grãos de café, ocasionando na formação de compostos importantes para o aroma da bebida e também auxilia na formação da niacina, componente de alto valor nutricional (DIAS, *et.al.* 2011).

Os ácidos clorogênicos são encontrados na superfície do grão, associados com a graxa cuticular, e no citoplasma. Apresentam atividade antioxidante, graças a sua estrutura fenólica e podem ser encontrados como cafeoilquínicos, dicafeoilquínicos, feruloilquínicos, p-cumaroilquínicos e ésteres mistos dos ácidos caféico e ferúlico com ácido quínico. São sensíveis a torrefação, cerca de 32-52% são degradados durante a torra e os produtos formados são responsáveis pelo aroma do café (TSUKUI, 2013).

Responsáveis pelas propriedades antioxidantes do café, os ácidos clorogênicos também são responsáveis pela coloração dos grãos após a torra, devido a sua incorporação na estrutura das melanoidinas. À medida que a torrefação aumenta, a atividade antioxidante desses compostos diminui, devido à perda dos compostos fenólicos, entretanto outros compostos antioxidantes são formados na degradação térmica, como o furfural, resultantes da reação de Maillard (DIAS, *et.al.* 2011).

O furfural pertence à classe dos furanos, é encontrado na natureza, em frutas, sucos de frutas, bebidas alcoólicas, chá e café e são provenientes da hidrólise ácida ou aquecimento de polissacarídeos. Este composto introduz aspectos adocicados e nuances aromáticas, uma vez em que é levemente fenólico, e são encontrados em

maiores quantidades no café arábica torrado, pois possui maior concentração de açúcares que nos grãos crus (MELO, 2014).

Entende-se que devido a torrefação alguns compostos perdem suas propriedades antioxidantes, entretanto o furfural é um componente importante dos grãos de café e é encontrado em grande quantidade após o processo de torrefação. O furfural é considerado como um indicador da degradação de alimentos e bebidas, utilizado também como identificador de efeitos do aquecimento quando em grandes concentrações, e em pequenas quantidades compõe o aroma de bebidas. Apresenta origem na sacarose, após as reações de pirólise e Maillard, que ocorrem na presença de aminas ou aminoácidos e açúcares redutores, resultando em uma mistura de compostos escuros (DIAS, *et.al.* 2011).

A degradação dos compostos fenólicos, como dos ácidos clorogênicos, resultante da torra dos grãos, origina pigmentos e componentes voláteis do aroma, além de empregarem ao café sabores característicos da bebida (MALTA & CHAGAS, 2009). Este processo ocorre devido a presença de compostos voláteis presentes nos grãos, que sofrem alterações químicas e apresentam mudanças físicas durante a torra, imprimindo a bebida café a sua qualidade degustativa (SIQUEIRA & ABREU, 2005).

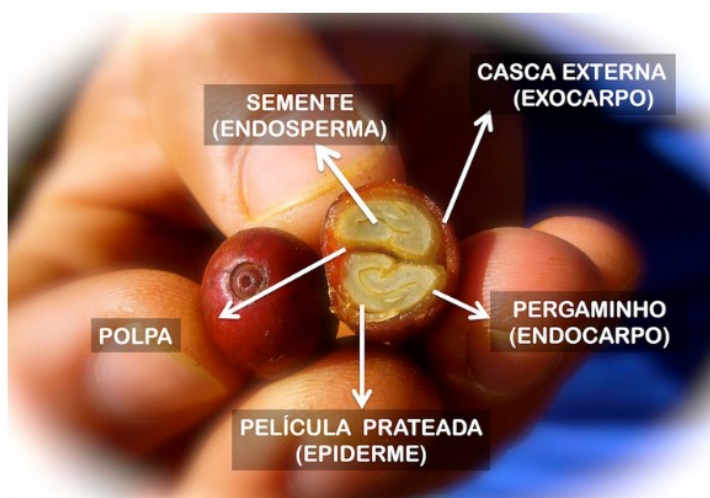
2.2 LÍPIDEOS EM GRÃOS DE CAFÉ

Componente de grande importância dos grãos de café verde, os lipídios representam funções energéticas e metabólicas essenciais para o crescimento e sobrevivência da planta. A maioria dos lipídios encontra-se no endosperma dos grãos, porém também estão presentes em membranas celulares e tecidos especializados, em maior parte nas sementes e pouco nas folhas, estames e raízes. Nas angiospermas, os lipídios estão concentrados no endosperma ou cotilédone, enquanto nas gimnospermas estão presentes no gametófito feminino (TSUKUI *et.al.*, 2014).

O endosperma do grão de café possui composição química constituída por água, proteínas, lipídios, açúcares, xetina, pentosanas, celulose, cafeína e diversos ácidos, e pode ser observado pela figura 2. Estas substâncias conferem ao café

torrado o aroma característico e podem sofrer transformações químicas dependendo do grau da torra. Também se encontra envolvendo o endosperma dos grãos uma pequena quantidade de cera, localizada na camada externa. Esta cera é extraída com auxílio de compostos orgânicos e sua proporção varia entre 0,2 – 0,3% do peso total do grão. A remoção da camada de cera auxilia na qualidade do café, tornando-o uma bebida mais digestiva, entretanto os efeitos antioxidantes presentes nela têm se mostrado de grande interesse para os mercados alimentícios e cosméticos (SPEER & SPEER, 2006).

Figura 2: Sessão longitudinal do grão de café verde



Fonte: Revista The Coffee Travele (2019)

O teor dos lipídios em grãos varia de acordo com as espécies e esta diferença é notada na composição do material insaponificável, principalmente no que diz respeito aos álcoois diterpênicos, cafestol e caveol, e seus ésteres. É importante notar que durante a torrefação, ocorre a destruição de carboidratos, e com isso o teor de lipídios aumenta, porém podem ocorrer alterações das propriedades do material insaponificável (LAGO, 2001).

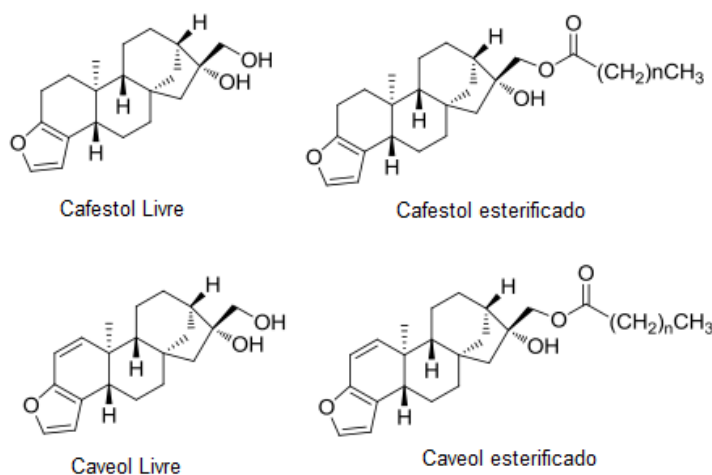
As propriedades lipídicas dos grãos de café são muito semelhantes aos grãos dos demais vegetais, pois apresentam triacilgliceróis, fosfolipídios, esteróis, tocoferóis e cera. Entretanto, o óleo de café apresenta grande quantidade de material insaponificável e é rico nos diterpenos da família dos cauranos: cafestol e caveol, como mostra a tabela 2 (TSUKUI *et.al*, 2014).

Tabela 2: Composição lipídica dos grãos de café verde arábica

COMPONENTES	TEOR (%)
Triacilglicerídeos	75,2
Ésteres diterpênicos e ácidos graxos	18,5
Diterpenos livres	0,4
Ésteres de esteroides de ácidos graxos	3,2
Esteróis	2,2
Tocoferóis	0,04-0,06
Fosfatídeos	0,1-0,5
Outros	1,0

Fonte: TSUKUI, 2014

Na fração lipídica, representada por óleos e ceras, encontram-se os terpenos das famílias dos cauranos: cafestol e caveol, presentes em sua forma livre (pequena quantidade) e esterificados em diversos ácidos graxos, como ilustrados pela figura 3 (DURÁN *et.al.*, 2016).

Figura 3: Estrutura química do cafestol e caveol livres e esterificados

Fonte: Durán *et.al.*, 2016

Mesmo com as inúmeras aplicações para as indústrias cosméticas, os lipídios vegetais possuem alguns inconvenientes devido a sua estabilidade oxidativa, uma vez em que ácidos cerosos insaturados podem sofrer foto-oxidação, oxidação térmica, auto oxidação e oxidação enzimática, representando um fator limitante para utilização

deste óleo. Entretanto, este quadro pode ser controlado com o uso de micro encapsulamento, como gomas, ceras e polímeros, protegendo estes materiais e demais componentes (como os diterpenos), além de ajudar a diminuir a toxicidade e aumentar a eficiência da substância. A goma arábica apresenta excelentes propriedades emulsificadoras e é muito utilizada para retenção e proteção do óleo. São amplamente usadas para liberar controladamente os ativos e apresentam boa estabilidade nas variações de pH e umidade (NOSARI *et.al.*, 2015).

2.1.1 Composição em Ácidos Graxos

Os ácidos graxos são classificados de acordo com o comprimento da cadeia de carbono, por número ligações duplas e pelas configurações de cada ligação e podem ser classificados como saturados ou insaturados (Santos *et al.*, 2013). A maior parte dos ácidos graxos totais é encontrada em combinações, onde a maioria está esterificada com glicerol nos triacilgliceróis, aproximadamente 20% estão esterificados com diterpenos e uma pequena proporção é encontrada nos ésteres esteróis (SPEER & SPEER, 2006).

A composição de ácidos graxos nos lipídios dos grãos de café verde arábica é descrita pela tabela 3. Os triacilgliceróis majoritários são derivados dos ácidos linoleico e palmítico, que refletem a composição dos respectivos ácidos graxos, podendo variar muito entre a composição no óleo e na cera. Em café arábica, diferenças marcantes entre a composição em ácidos graxos dos triacilgliceróis e dos monoésteres de cafestol e caveol, mas ainda com predominância do ácido palmítico (nos monoésteres) e do linoleico (nos triacilgliceróis) e que o teor de ácidos graxos livres no óleo varia de 0,5 a 4,2% e a torrefação eleva este valor em 1 a 2 vezes (LAGO, 2001).

O óleo de café é composto por ácidos graxos saturados (SFA) de cadeia longa (acima de 14 átomos de carbono), onde encontra-se o mirístico (14:0), palmítico (16:0), que estão presentes também na gordura animal, no leite e seus derivados. De forma geral, a gordura saturada (C12:0, C14:0 e C16:0) aumenta o colesterol, especialmente o C14:0. Já os ácidos graxos insaturados, são classificados de acordo

com o número de duplas ligações, e a primeira dupla identifica a serie do ácido graxo (SANTOS *et al*, 2013).

Tabela 3: Composição dos ácidos graxos nos lipídeos dos grãos de café arábica

ÁCIDO	CERA	ÓLEO
C 14:0 (M) – Mirístico	1,5	Tr
C 16:0 (P) – Palmítico	24,5	31,1
C 18:0 (S) – Esteárico	6,5	9,6
C 18:1 (O) – Oléico	4,8	9,6
C 18:2 (Li) – Linoléico	23,8	43,1
C 18:3 (Ln) – Linolênico	Tr	1,6
C 20:0 (A) – Araquínico	14,1	1,1
C 20:1 (G) – Gadoleico	-	-
C 22:0 (B) – Behênico	21,0	0,9
C 24:0 (Lg) – Lignocérico	3,7	Tr

*tr = traços

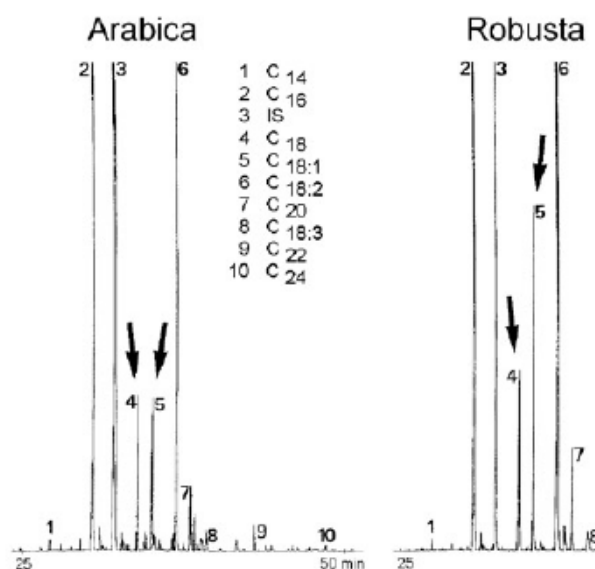
Fonte: Lago, 2001

Logo após a colheita, o teor de ácidos graxos livres nos grãos de café é de aproximadamente 1g.Kg^{-1} . Com o passar do tempo, para um café com 10 anos de 'idade', o teor de ácido graxo pode chegar a 30g.Kg^{-1} . Isto se deve pela presença da enzima lipase, que permanece ativa após a colheita do grão. Além disso, temperatura e umidade elevadas também aumentam a quantidade de ácidos graxos livres. Este aumento no teor de umidade e temperatura dos grãos favorece a hidrólise dos ésteres de ácidos graxos, assim como a decomposição dos diterpenos, provocando efeito negativo na qualidade sensorial do grão (TSUKUI, 2013).

Segundo SPEER & SPEER (2006), existem três frações individuais nos óleos de café onde encontram-se os ácidos graxos: uma contendo triacilgliceróis, outra contendo o diterpenos e outra com ácidos graxos livres. Neste sistema, os autores detectaram nove ácidos graxos livres, que são distribuídos de forma semelhante nos cafés Robusta e Arábica, conforme figura 4. Nas duas espécies os principais ácidos

graxos são C18:2 (linoleico) e C16:0 (palmítico), porém também foi possível detectar proporções de C18, C18:1, C20 e C22 e traços de C14, C18:3. O que fica perceptível pelo cromatograma é que o C18:1 é responsável por distinguir as espécies de café, uma vez em que se apresenta em maior quantidade no Robusta.

Figura 4: Cromatograma de ácidos graxos livres em café arábica e robusta



Fonte: SPEER & SPEER (2006)

O C18:1, ou ácido linoleico, apresenta 18 carbonos com duas duplas ligações (18:2 Ômega-6), é o principal ácido graxo Ômega-6, encontrado especialmente em óleos vegetais como os de soja, cártamo, milho e canola, e como comprovado pela cromatograma da figura 4, no óleo de café. Os norte-americanos sugerem que para uma boa alimentação, cerca de 14,8 mg de ácido linoleico deve ser ingerido por dia, para abastecimento de calorías. Além disso, após ingerido, este ácido sofre dessaturação e alongamento, favorecendo a formação de substratos para uma grande variedade de metabólitos, responsáveis por ações antiinflamatória. Enquanto o ácido palmítico (C16:0) é responsável por uma pequena redução no colesterol de baixa densidade (LDL-c) (SANTOS *et al*, 2013).

2.1.2 Composição em Diterpenos da Família dos Cauranos

Os terpenos são encontrados em uma grande variedade de plantas, pois exercem controle metabólico e são responsáveis por interações inter e intraespecíficas dos compostos de origem vegetal, produzindo a proteção nas plantas

e controle de fatores de estresse, representando funções vitais para estes organismos. Além disso, algumas plantas podem emitir terpenoides para atrair insetos polinizadores, ou até mesmo ácaros benéficos (BARBOSA & VEGA, 2017).

Os álcoois diterpênicos cafestol e caveol são encontrados na matéria insaponificável do café, são responsáveis por muitas ações benéficas de quimioproteção, ação antioxidante e antiinflamatória, porém também podem elevar o nível de colesterol humano (DIAS & BENASSI, 2007). Presentes principalmente como ésteres de ácidos graxos no óleo de café verde, o caveol e cafestol são dois diterpenos da família dos cauranos. Pela ação de saponificação ou transesterificação é possível recuperá-los sob sua forma livre, entretanto, estes diterpenos são sensíveis ao calor e aos reagentes, portanto, as condições experimentais usadas na reação de transesterificação são críticas (CHARTIER, 2013).

Os grãos de café arábica possuem maiores quantidades de cafestol e caveol na fração lipídica, enquanto robusta apresenta mais cafestol e pouco teor de caveol, como marcador da espécie 16-O-metilcafestol. O teor de cafestol é determinado após metanólise ou saponificação, e apresenta aproximadamente $2,7-6,7\text{g.Kg}^{-1}$ em café arábica e $1,5-3,7\text{g.K}^{-1}$ em café robusta, enquanto o caveol encontra-se entre $1,1-3,5\text{g.Kg}^{-1}$ para arábica e $0,1\text{g.Kg}^{-1}$ em robusta. E o teor de 16-O-metilcafestol varia entre $0,6-1,8\mu\text{g.Kg}^{-1}$ em café robusta (TSUKUI, *et.al.*, 2014).

Em relação ao óleo, os diterpenos encontrados nos grãos de café arábica apresentaram $533,7\text{mg.100g}^{-1}$ de óleo para o cafestol e $619,2\text{mg.100g}^{-1}$ de óleo para o caveol, e para o café torrado apresentou valores de $432,1\text{mg.100g}^{-1}$ para cafestol e $572,3\text{mg.100g}^{-1}$ para o caveol (SANDI, 2003).

Na bebida café, os diterpenos cafestol e caveol são encontrados em maior quantidade quando não filtrados (café expresso, por exemplo), pois são bem sensíveis ao calor e ficam retidos nos filtros (CHARTIER *et.al.*, 2013). Estes diterpenos são responsáveis pelo aumento da glutathione-S-transferase (GST), um grupo de enzimas multifuncionais que atuam na defesa contra estresse oxidativo, defendendo o organismo frente a substâncias estranhas (xenobióticos). Em testes realizados para identificar a redução de células carcinogênicas, o palmitato de caveol apresentou maior atividade comparado ao palmitato de cafestol (TSUKUI *et.al.*, 2014).

Além de auxiliarem na redução do crescimento de tumores, os diterpenos também possuem atividade antiinflamatória por meio da inibição de produção de óxido nítrico e iNOS (sintetases do óxido nítrico induzido), responsáveis por lesões inflamatórias e ação antioxidante. Mesmo com inúmeros benefícios, diterpenos também apresentam aumento da taxa de colesterol no organismo humano, devido a alterações enzimáticas no fígado, por tanto, bebidas de café preparadas sem filtro, devem ser consumidas em menor quantidade (TSUKUI *et.al*, 2014).

Os diterpenos presentes na bebida café podem ser considerados como marcadores de qualidade da bebida, pois muitos compostos presentes na fração lipídica dos grãos promovem características importantes para o sabor e aroma do café. Os lipídios, por se tratar de compostos aromáticos, dão cremosidade, molhabilidade e auxiliam na formação de espuma da bebida, e como parte de sua composição é da fração de ésteres diterpênicos, pode-se estabelecer a relação qualidade vs quantidade de diterpenos presentes na bebida (NOVAES *et.al.*, 2015).

2.3 BENEFÍCIOS E USOS DO ÓLEO DE CAFÉ

Os benefícios do óleo dos grãos de café verde estão relacionados aos ácidos graxos e aos diterpenos da família cauranos, responsáveis pelas propriedades antioxidantes, tonificantes e ao fator de proteção solar, motivo pelo qual as indústrias cosméticas vêm apostando na utilização do óleo de café como base para produção de diversos produtos (SPEER & SPEER, 2006).

O óleo de café verde é muito rico em material insaponificável, como os fitosteróis, que são responsáveis pela retenção de umidade, penetração na pele e aderência, conferindo a este produto um princípio ativo poderoso para formulações cosméticas. Nos cabelos ele atua como hidratante, remove substâncias tóxicas e melhora a coesão entre as partículas de queratina, aumentando o brilho e resistência dos fios (TURATTI, 2001).

Os flavonoides e polifenóis, presentes no óleo de café, são componentes mais poderosos que a vitamina C e chá verde, representando poderosíssimos agentes antioxidantes. A sua propriedade antioxidante também se deve aos ácidos

clorogênicos e tocofenóis (vitamina E), que são responsáveis por combater os radicais livres que causam o envelhecimento precoce da pele. Assim, são ótimos anti-idades e clareadores naturais das manchas da pele (NOSARI *et.al.*, 2015).

A cafeína e a teobromina ajudam na circulação e ação lipolítica, facilitando a quebra de gordura e, conseqüentemente, na diminuição da celulite. A cafeína também promove melhora no rendimento e atenção, e age como antidepressivo, pois aumenta a produção de alguns neurotransmissores, como a dopamina, serotonina e noradrenalina. Devido a este fato muitos óleos essenciais são utilizados como aromatizadores em ambientes para pessoas que apresentam quadros depressivos (TSUKUI *et.al.*, 2014).

A indústria de fármacos pode apostar no óleo de café como um aliado natural para prevenção de diabetes tipo 2, pois ele é capaz de diminuir a quantidade de açúcar no sangue, controlando a glicose. Além disso, atua no emagrecimento, prevenindo o acúmulo de gordura, pois é um excelente termogênico natural. O óleo de café também é responsável por estimular o colágeno e a elastina da pele, logo pode ser formulado para combater à flacidez (NOSARI *et.al.*, 2015).

O óleo presente na borra de café solúvel pode ser reutilizado em produtos alimentícios, como recheios de balas, realçador de sabor do café solúvel e licores de café. Enquanto as tortas provenientes da extração podem ser reutilizadas para produção de ração animal, fertilizantes ao até mesmo material combustível (TURATTI, 2001).

A presença dos ácidos graxos palmítico e linoleico favorece a utilização destes óleos pela indústria alimentícia e de fármacos, uma vez que são responsáveis pela diminuição do colesterol de baixa densidade e por complementar a nutrição calórica, além de possuírem grande atividade antiinflamatória após a ingeridos (SANTOS *et al.*, 2013).

2.4 PROCESSO EXTRATIVO DE ÓLEOS DE GRÃOS DE CAFÉ

Os diferentes processos de extração de óleos de café verde podem levar a diferentes propriedades do óleo. Em geral, a qualidade e quantidade do óleo de café

extraído varia de acordo com a espécie botânica envolvida, a qualidade dos grãos, o tamanho da partícula após a moagem, o tempo de extração, a temperatura e o solvente. Neste tópico, serão abordados as metodologias, equipamento e solventes mais utilizados para extração de óleos.

2.4.1 Preparo da Matéria Prima

A otimização de processos de extração, como diminuição do tempo e substituição de solventes tóxicos é o foco de muitos trabalhos, como o de Lago e Freitas (2006), que analisaram parâmetros de processo de extração do óleo de café verde e da borra, substituindo solvente hexano pelo etanol comercial. Segundo os autores, para facilitar o acesso do solvente às paredes dos grãos, o preparo da matéria prima é extremamente fundamental. Utilizando planejamento fatorial, os autores perceberam que amostras com diâmetros médios das partículas entre 0,1-0,5 mm, umidade inferior a 3%, razão etanol/amostra 3:1 mg/ml, em um processo de extração com etanol com extrusão termoplástica proporcionaram maiores rendimentos de óleo.

Para Araújo e Sandi (2007), o armazenamento e processamento dos grãos também são fatores que influenciam no teor de óleo de café, assim como a torrefação e a espécie dos grãos. Em seu trabalho, fizeram as análises comparativas entre o café arábica e robusta e identificaram que o café arábica apresenta maiores quantidades de óleo que o café robusta, com valores variando de 10,5-17,7% e 8-10%, respectivamente.

Algumas metodologias, como a de Kamper (2005), sugerem que seja realizada uma quebra dos grãos para posterior cozimento até 60° C, para que seja facilitado o processo de laminação e, assim, aumentando a área de superfície do material, para conseqüentemente aumentar o rendimento da extração. Para Wagemaker (2009), a extração de óleos de café foi realizada após a remoção da camada de cera, circundante ao grão. Para tal, a autora utilizou a fervura dos grãos em clorofórmio durante 30 minutos. Em seguida, as amostras foram secas até evaporação completa dos grãos.

Silva *et al.* (2015) utilizou a comparação entre a extração dos grãos de café verde e torrado, com auxílio de CO₂ supercrítico, para tamanhos de partícula variando entre 0,66 - 1,0 mm, para amostras secas em estufa ventilada a 40° C por um período de 24 horas, obtendo rendimentos de 3,68% para o café verde e 7,52% para o café torrado. Segundo Araújo e Sandi (2007), o tamanho das partículas para processo de extração com fluidos supercríticos também é um fator importante a ser considerado, uma vez em que matrizes com partículas grandes tendem a causar um aumento no tempo de extração, pois o processo depende da difusão da substância dentro da matriz. Assim, para partículas menores, a extração torna-se mais rápida, uma vez em que o óleo da superfície dos grãos é removido facilmente pelo fluido.

Alguns autores realizam a secagem das partículas a temperaturas superiores a 70°C para alcançar umidade inferior a 3%, porém, este processo deve ser evitado se o objetivo da extração for obter óleos de qualidade superior, uma vez em que temperaturas elevadas podem causar peroxidação das propriedades dos óleos, assim como instabilidade nos terpenos, por serem compostos termo sensíveis (OLIVEIRA, 2013).

2.4.2 Equipamentos Utilizados no Processo Extrativo

Encontra-se presente na literatura diferentes métodos de extração, desde técnicas convencionais (como a extração por prensa mecânica e uso de solventes químicos), a técnicas mais avançadas, como uso de fluido supercrítico. A prensagem, mesmo sendo a técnica mais antiga, é a mais usual em indústrias de alimentos, que objetivam um óleo de maior qualidade, preservando suas propriedades naturais, sem a presença de solventes. Entretanto, esta técnica encarece o produto, uma vez em que o rendimento da extração é menor (TSUKUI, 2013).

O primeiro equipamento de extração de óleos foi criado por Franz von Soxhlet, em 1879 e durante muitos anos este equipamento foi o mais usual entre os pesquisadores. No equipamento soxhlet as amostras são envolvidas por papel filtro, onde receberão o solvente. Durante a extração ocorre a sifonagem de solvente de maneira intermitente em amostra, possibilitando um rendimento elevado de óleo e conservação do solvente (SOUZA *et al.*, 2009). Entretanto, algumas amostras

necessitam de cuidados especiais na hora das extrações, pois em alguns casos é comum a co-extração de componentes não lipídicos e oxidação indesejada pelo uso de temperatura elevada (temperatura de ebulição do solvente), levando à reação de peroxidação e hidrólise, comprometendo a quantificação exata dos componentes lipídicos, além apresentar elevado tempo de extração, tornando a operação muito custosa (BRUM *et.al.* 2009).

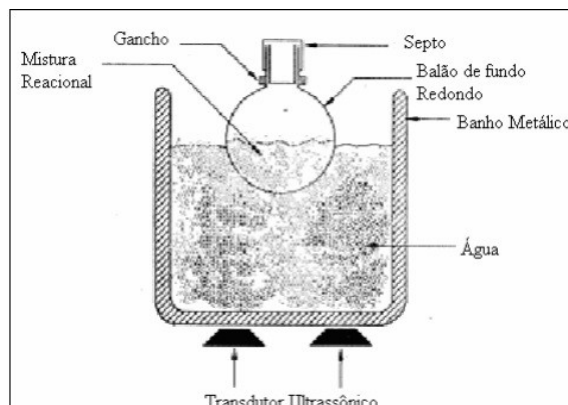
Devido ao seu fácil manuseio e operação, o equipamento agitador orbital shaker é muito utilizado em experimentos laboratoriais, principalmente quando se buscam alternativas mais limpas de extração, uma vez em que favorece a possibilidade vários ensaios simultâneos, com controle de temperatura e tempo de processo (TSUKUI *et.al.*, 2014). A extração de óleos é favorecida pela circulação convectiva entre a amostra e o solvente, aumentando sua interação, e consequentemente o rendimento do processo. Para isto, as sementes são submersas em solventes, e a mistura é depositada em béqueres ou erlenmeyers, que por sua vez são acoplados no equipamento para assim começar o movimento orbital da bandeja (ARAÚJO, 2018). Segundo Tsukui *et.al.* (2014), o uso do shaker para extração de óleo de café ainda é pouco explorado, entretanto, é uma alternativa viável, uma vez em que se busca a produção mais limpa. A sua problemática, entretanto, está no baixo rendimento de óleo obtido, o que pode ser um fator decisivo para seu não uso na indústria.

Visando otimizar o processo e obter uma melhoria na extração, e consequente diminuição do tempo de reação, Ho *et al.* (2016) afirmam que a área superficial entre as fases imiscíveis (óleo e solvente) formadas deve ser maximizada. Além disso, o uso de equipamento extratores que favoreçam a extração sem prejudicar a qualidade do óleo extraído e que evitem a decomposição de compostos de interesse é o objetivo de muitos estudos. O uso de algumas tecnologias verdes, como o banho ultrassônico, tem se mostrado promissoras para várias áreas de pesquisa, uma vez em que é notada a redução do uso de solventes, assim como o tempo de processo, preservando a qualidade do óleo obtido.

O banho ultrassônico possuiu um transdutor, preso do fundo da cuba do aparelho, responsável pela emissão de energia ultrassonora, que se transmite através

de um líquido, geralmente água, conforme ilustrado pela figura 5, que faz com que ocorra o processo de cavitação (SCHNEIDER, 2005).

Figura 5: Mecanismo de extração com banho ultrassônico



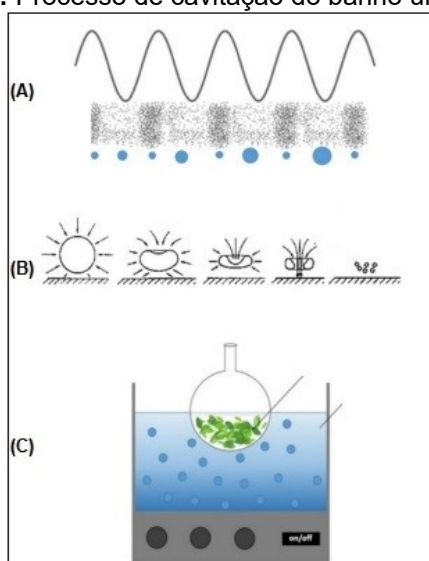
Fonte: Schneider, 2005

O processo utilizando banho ultrassônico resulta em um fenômeno físico, capaz de aumentar e implodir cavidades de vapor e gases (cavitação), otimizando as reações químicas e, conseqüentemente, a extração de óleos. A cavitação é resultado de um ciclo de compressão e expansão, em processo contínuo, formando um ciclo de diferentes pressões, gerando microbolhas, que implodem, ocasionando pontos de alta temperatura e pressão, facilitando o processo como um todo. Quanto maior a frequência do equipamento maior a cavitação de bolhas (MATOS, *et.al.* 2009).

A eficiência do banho ultrassônico depende do meio em que se está inserido. Quando a cavitação de bolhas implode em uma superfície sólida, uma distorção de zona de pressão é formada a altas velocidades, permitindo a ruptura das membranas celulares, aumentando a sua porosidade, e conseqüentemente, facilitando a transferência de massa do interior da célula (NORA & BORGES, 2017)

Considerando o fenômeno resultante do banho ultrassônico e as baixas resistências mecânicas das membranas celulares dos grãos de café verde, é possível extrair óleo de forma eficiente em pouco tempo, conforme ilustrado pela figura 6. Além disso, o uso do banho ultrassônico oferece algumas vantagens como melhorias nos rendimentos, extração de compostos bioativos, sem prejudicar seus efeitos antioxidantes e atividades antimicrobianas, redução da degradação térmica dos compostos, diminuição do tempo de extração e da quantidade de solvente (NORA; BORGES, 2017).

Figura 6: Processo de cavitação do banho ultrassônico



Fonte: Nora ; Borges, 2017

(A) Formação de bolas de cavitação; (B) Efeito de cavitação observado no banho ultrassônico; (C) Sistema de extração por banho ultrassônico

2.4.3 Solventes Utilizados no Processo

O solvente ideal empregado na extração deve apresentar propriedades como: alta solubilidade em óleo em baixas temperaturas, alta seletividade pela substância a ser extraída, ser inerte quimicamente, não ser inflamável, explosivo, irritante, cáustico e venenoso, apresentar baixa viscosidade, de fácil remoção do resíduo e do óleo, ser imiscível em água, possuir baixo ponto de ebulição e baixo calor de evaporação, ser pouco poluente. Como não é possível encontrar um único solvente com todas estas características, procura-se por um solvente que possua o menor número de desvantagens e com baixa toxicidade (TSUKUI, 2013).

Existem duas maneiras de se realizar a extração de óleos por solvente: a de imersão e a de percolação. A imersão permite o contato direto do solvente com o material sólido, enquanto a percolação promove uma lixiviação contracorrente do solvente pelo material, ocorrendo a coleta da miscela (mistura líquida de solvente-óleo) em tempos determinados (JUNIOR, 2008).

O processo de extração sólido-líquido é capaz de remover da matriz oleaginosa os principais compostos de cada grão, que variam de acordo com o solvente utilizado. Nestes casos a extração ocorre em três principais etapas: penetração do solvente nas

camadas do tecido, formação de miscela (óleo + solvente) e difusão do extrato na miscela externa, sendo assim considerados processos físicos, pois o óleo transferido para o solvente é recuperado sem nenhuma reação química (BRUM, *et.al.* 2009). O óleo que sai deste processo é denominado *óleo bruto* e necessita de etapas posteriores de purificação para torná-lo adequado ao consumo humano (DALMOLIN, 2009).

O processo de refino consiste em retirar contaminantes como ácidos graxos livres, como os fosfolipídios (que promovem emulsões estáveis com água) e tocoferol (que oferece odor e gosto extremamente desagradável ao óleo). O refino do óleo acontece em quatro fases: degomagem, neutralização, desodorização e clarificação ou branqueamento (RAMALHO & SUAREZ, 2013).

Em solventes apolares a extração por solventes é facilitada, pois eles têm afinidade com a parte lipídica do grão, como é o caso do éter de petróleo e hexano. Por apresentar características como grande poder de solvência para inúmeras oleaginosas, facilidade em separar óleo ou gordura, ajudando na recuperação de solvente, alta pureza e ausência de resíduos, baixo ponto de ebulição (diminuindo a decomposição do óleo), o hexano é muito usado na obtenção de óleos de diferentes sementes (BATISTA *et.al.*, 2016).

Segundo o trabalho de Dalmolin (2009), a extração deve ser realizada em temperaturas próximas ao ponto de ebulição do solvente, reduzindo a viscosidade do óleo e aumentando a sua solubilidade, favorecendo a eficiência e rapidez do processo. O autor explorou o uso do hexano para extrair óleo de soja, utilizando lavagens seguidas das amostras, até que ocorra o equilíbrio da concentração de óleo interna e externa, com aproximadamente de 8 (oito) lavagens da miscela.

Após a extração, a miscela deve ser filtrada ou separada por centrifugação, para remoção das partículas sólidas, antes de se realizar o processo de degomagem. Assim, quando limpa, apresenta cerca de 30-35% de teor de óleo de soja e o restante representa o solvente. O solvente da miscela é então evaporado a 60° C, removendo o hexano residual da solução e obtendo o óleo bruto (DALMOLIN, 2009).

A utilização do hexano é um aliado no processo extrativo, entretanto, a busca por alternativas sustentáveis, com uso de solventes menos tóxicos ao homem e ao

meio ambiente, também pode ser muito aproveitada na extração utilizando isopropanol, acetona, mistura de clorofórmio e metanol e principalmente com etanol (BATISTA *et.al*, 2016). Solventes polares, como álcoois, são conhecidos por extrair maiores quantidades de produtos indesejados, como proteínas, carboidratos, fosfatídeos entre outros compostos, por tanto, seu processo tem algumas particularidades (EFTHYMIPOULOS *et.al.*, 2018).

A substituição do hexano pelo etanol representa uma excelente alternativa econômica e sustentável, principalmente para o Brasil, que é um grande produtor de cana de açúcar. (CETESB, 2018). Esta troca pode significar grandes perspectivas comerciais, além de representar uma fonte de energia renovável. Outra vantagem é a independência de materiais derivados do petróleo, sua baixa toxicidade e, mesmo sendo inflamável, seu risco é menor comparado ao hexano. O etanol é um caso especial no que diz respeito à solubilidade, pois é infinitamente solúvel na água (polar), mas também dissolve muito bem materiais apolares, como a gasolina. Isso acontece porque sua molécula possui uma parte apolar e uma extremidade polar, o grupo OH (RAMALHO & SUAREZ, 2013).

Segundo Saxena *et al.* (2011), em seu trabalho sobre o estudo de cinética e termodinâmica de extração de óleo de algodão, o uso de isopropanol e etanol são os mais promissores solventes alternativos para a extração em prol à substituição do hexano. O etanol ainda se sobressai devido a seu baixo custo e alta reprodutibilidade. Segundo os autores, as melhores condições de extração acontecem na temperatura de 308K no tempo de 3 horas na razão de 10:1, obtendo 77,28 % de óleo de algodão.

Para Gomes *et al.* (2013), o uso do etanol promove um pré-refino do óleo extraído e o solvente pode ser recuperado sem gastos energéticos. Os autores exploraram a extração de óleo de babaçu com hexano e etanol buscando determinar as melhores condições de processo, identificando a temperatura e razão solvente/amostra, ideais para cada solvente. Com o etanol as melhores condições para extração de óleo da amêndoa de babaçu foram na razão 5:1 solvente/amostra, a temperatura de 60° C, durante 3 horas, obtendo 89,67% de teor de óleo e concluíram que a substituição do hexano pelo etanol é viável.

No trabalho de Lago & Freitas (2006), sobre a extração dos óleos de café verde e da borra com etanol comercial, para se obter uma miscela com teor de óleo entre 15-35% (obtido com solvente convencional), o processo deve ser otimizado, variando a pressão no extrator entre 1,5 a 2 atm, assim a temperatura no interior pode ser mais elevada para 85°C _ temperatura ideal para a completa solubilidade de óleos vegetais em etanol. Os autores utilizaram grãos de café verde, da variedade robusta, e etanol comercial 99,2%. Segundo os autores, a substituição do hexano pelo etanol é viável, entretanto são necessárias algumas adaptações do processo.

Em estudos sobre extração de óleos de semente de jatrofa com etanol e hexano como solventes, foi encontrada uma média de rendimento de 31,22% para o hexano e de 34,34% para o etanol, utilizando a mesma metodologia de extração. Os autores ainda chegaram ao valor de 36,75% de teor de óleo da semente de jatrofa utilizando o etanol, em um tempo ótimo de 4 horas (GONZÁLEZ et al., 2010).

Segundo Dagostin (2015), o uso do etanol como solvente para extração de óleo é vantajoso devido a sua seletividade aos compostos da oleaginosa, além das demais vantagens sustentáveis e econômicas do processo. Entretanto, ao utilizar o etanol como solvente são obtidas duas miscelas após o resfriamento, sendo necessário o refinamento do mesmo para retiradas dos ácidos graxos livres, compostos apolares e fosfolipídios na fase rica.

Os lipídeos apresentam duas regiões moleculares: uma região polar, hidrofílica, conectada a uma região apolar, hidrofóbica (cadeia hidrocarbonada), assim a fração lipídica apresenta relativa hidrofobicidade, ou seja, grande faixa dos óleos são insolúveis em água, sendo praticamente inviável a utilização de apenas um solvente para o processo extrativo (Brum *et al.*, 2009).

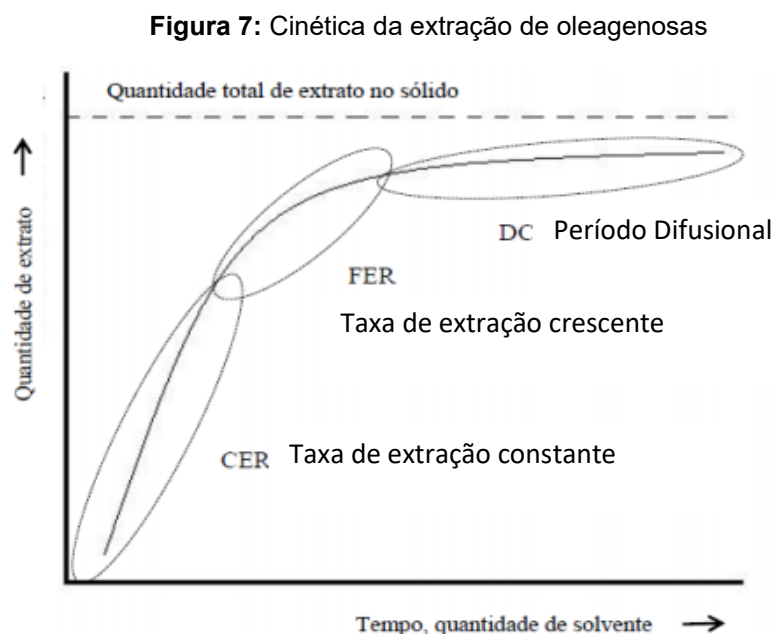
Além disso, para extração de óleos com etanol, há um gasto energético maior, uma vez em que seu ponto de ebulição é de 78° C, além de ser um solvente polar, ou seja, é infinitamente solúvel em água, reduzindo drasticamente a solubilização do óleo na miscela e conseqüentemente, a eficiência da extração. Para contornar estes problemas de solubilidade, o uso de co-solventes, ou mistura de solventes, que aumentam a afinidade entre os compostos da mistura, tem sido muito usual (DAGOSTIN, 2015).

Os autores Escorsim *et al.* (2018) usaram uma mistura de etanol e hexano como solvente, em diferentes proporções de misturas, variando em de 1:1, 2:1, 1:2 (hexano/etanol), na temperatura de 60°C e obtiveram maior rendimento com a mistura 1:2 (vol/vol) etanol:hexano, em tempo de 12 horas por extração sohxlet. Também mostraram que este rendimento foi maior do que com solventes puros.

2.5 CURVA CINÉTICA

O estudo da velocidade, ou taxa de desenvolvimento de uma reação química, é baseado pela construção de um gráfico, conhecido como curva cinética que é utilizada para análise dos fatores que influenciam na velocidade do processo, relacionando o consumo de reagentes e formação de produtos (SCARAVELLI *et al.*, 2014).

Segundo Nascimento (2017), as curvas cinéticas de extração para oleaginosas podem ser classificadas em três etapas distintas, como indica a figura 7.



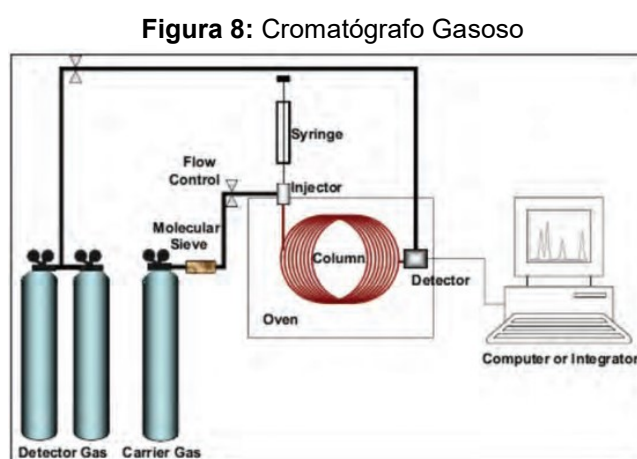
Fonte: Nascimento, 2017

- Período de taxa de extração constante (CER – constant extraction rate): neste período a transferência de massa por convecção predomina, onde os solutos são liberados pelo rompimento das paredes celulares, removendo óleo da superfície externa das sementes;
- Período de taxa de extração decrescente (FER – falling extraction rate): etapa onde ocorre a difusão e convecção do óleo através das camadas dos grãos;
- Período difusional (DC – diffusion controlled): onde a extração ocorre pela difusão do solvente para interior das partículas.

A curva cinética oferece parâmetros para o desenho de processos, de forma a serem utilizados para prever a curva total da extração e viabilizar o processo para escala industrial. Outra funcionalidade para a determinação do tempo ideal de extração é a identificação do tempo em que cada composto minoritário da oleaginosa é extraído, desta forma, pode-se realizar uma extração com mais acuidade para cada finalidade, evitando etapas posteriores de refino (SAWADA, 2012).

2.6 CROMATOGRAFIA GASOSA

A cromatografia gasosa (CG) (figura 8) é uma técnica de separação e análise de misturas, onde os componentes são arrastados por uma fase móvel e posteriormente ocorre interação dos componentes na fase estacionária.



Fonte: EMBRAPA, 2014

A fase móvel, ou gás de arraste, deve ser inerte, para não interagir com a amostra, fase estacionária ou superfície de instrumento. Assim, a amostra é injetada e arrastada pela fase móvel (gás de arraste), pela coluna que contém a fase estacionária

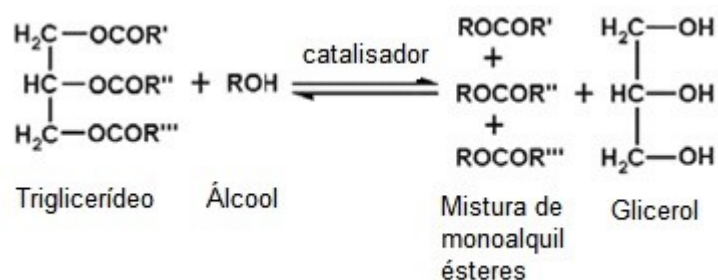
(coluna CG aquecida), para que ocorra a separação da mistura. Com isto, o detector irá gerar um sinal elétrico proporcional à quantidade de substâncias encontradas, gerando o cromatograma. Os detectores mais usuais são o de ionização em chama (FID) e de captura de elétrons (ECD). O detector FID é mais usual quando quer se analisar compostos orgânicos, exibe alta sensibilidade, larga faixa linear de resposta, além de baixo custo e ruído (EMBRAPA, 2014).

2.6.1 Processo de Transesterificação

A transesterificação é uma reação reversível, onde um éster é transformado em outro, com auxílio da troca do resíduo alcoila. Quando esta reação ocorre na presença de um álcool, o processo é denominado alcoolize e pode ser acelerada com auxílio de um catalisador, ácido ou básico, que contribui para aumento do seu rendimento. Para óleos vegetais, um triacilglicerídeo reage com um álcool na presença de uma base ou ácido forte, resultando em glicerol e mistura de ésteres de ácidos graxos. Como a reação é reversível, o álcool ou agente transesterificante é geralmente colocado em excesso (GERIS *et.al.*, 2007).

Óleos de origem vegetais possuem triglicerídeos em sua composição, ou seja, uma molécula de glicerol ligada a três moléculas de ácido graxo, e ácidos graxos livres (AGL). Através de um agente transesterificante (álcool primário) e um catalisador (base ou ácido), os triglicerídeos são transformados em moléculas menores de ésteres de ácido graxo, ocorrendo assim a reação de transesterificação, como indicado pela figura 9 (AGEITEC, 2009).

Figura 9: Reação de transesterificação



Fonte: AGEITEC, 2009

A escolha do agente transesterificante pode ser decisiva na melhor reação de transesterificação, considerando que o processo reacional ocorre preferencialmente com álcoois de baixa massa molecular, o que torna muito comum a escolha do metanol, devido ao seu baixo custo e as suas propriedades físico-químicas, como polaridade, álcool de cadeia mais curta, facilidade em dissolver catalisador básico e rápida reação com o triacilglicerídeo. Entre os catalisadores básicos, o hidróxido de potássio e hidróxido de sódio apresentam maior rendimento e seletividade, sendo os mais usuais, enquanto entre os catalisadores ácidos, predominam os ácidos sulfúrico, sulfônicos e clorídricos (GERIS *et.al.*, 2007).

A reação dos óleos vegetais com metanol origina os ésteres metílicos, enquanto com etanol, origina ésteres etílicos, através do processo de transesterificação. Essa reação transforma os óleos vegetais em biodiesel (ésteres) e glicerina, que por sua vez passa por um processo de decantação e é retirada do biodiesel (SOUZA, 2006).

A escolha de catalisadores básicos acelera a reação em torno de 4 mil vezes, em relação aos catalisadores ácidos e são mais viáveis economicamente. Porém, promovem maior nível de saponificação ao processo, uma vez em que ocorre a reação com os ácidos graxos livres no óleo, formando sabão. Assim, para que a reação de transesterificação seja alcançada, é necessário que existam apenas 3% de ácidos graxos livres no óleo vegetal (AGEITEC, 2009).

3. METODOLOGIA

Neste tópico serão descritas as metodologias utilizadas para o processo extrativo de óleos de café verde, incluindo o preparo da matéria-prima, a determinação o tempo ideal de extração pela curva cinética e o planejamento experimental para identificação das melhores condições operacionais do processo. Além disso, serão apresentados os procedimentos para determinação do rendimento da extração em relação ao teor de óleo obtido, e para caracterização dos extratos de café verde por cromatográfica gasosa.

3.1. MATERIAIS

As amostras de café verde tipo arábica (figura 10) foram colhidas no sítio Santo Antônio, no bairro Jacutinga, localizado em 23°23'28.5"S 49°24'51.2"O, na cidade de Fartura, interior do Estado de São Paulo, no mês de abril de 2018, e foram secas ao ambiente durante 24 horas.

Os solventes utilizados na extração foram Hexano 95,0%, da marca *AppliChem Panreac* (M = 86,18 g/mol) e Etanol 99,9%, da marca *PanReac AppliChem* (M=46,07 g/mol), da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Ponta Grossa.

Figura 10: Grãos de café verde



Fonte: Autoria própria

Para as análises no Cromatógrafo Gasoso (CG), foi utilizado Tricosanoato de Metila, da marca Sigma-Aldrich Brasil Ltda, como padrão para cromatografia gasosa, pureza $\geq 99,0\%$ e 2,2,4-trimetilpentano, da marca Honeywell USA, grau HPLC

(Cromasolv®) (Isoctano) e para análises no equipamento de Ressonância Magnética Nuclear por Hidrogênio foi utilizado Clorofórmio Deuterado (CDCl_3) como solvente.

3.2. MÉTODOS

De acordo com os estudos apresentados pelos autores Lago & Freitas (2006), Tsukui (2013) e Silva *et.al.* (2015), verificou-se que algumas variáveis do processo apresentam maior influência no rendimento do óleo obtido, como: o tamanho da partícula após a moagem, o tempo de extração, o solvente utilizado no processo e a proporção solvente/amostra. A temperatura, segundo Lago & Freitas (2006) também é uma aliada no processo extrativo, entretanto, visando manter as propriedades do óleo e evitar a peroxidação de seus compostos, preferiu-se manter a temperatura ambiente ao processo. Assim, foram feitas avaliações de cada uma destas variáveis, a fim de se determinar a melhor condição para extração de óleo de café verde.

Para realização deste trabalho, as amostras passaram por um pré-tratamento, para facilitar solubilização do solvente nas camadas dos grãos e, conseqüentemente, aumentar o rendimento de óleo obtido. Foram selecionados os melhores diâmetros médios das partículas, de acordo com as condições operacionais disponíveis e com auxílio da literatura, para se realizar a extração por banho ultrassônico, com diferentes proporções solvente/amostra e diâmetros médios das partículas.

3.2.1. Pré-tratamento das Amostras

As amostras foram moídas no Moinho de Facas da marca Marconi, modelo MA340, e peneiradas no Agitador de Peneiras para Análises Granulométricas Eletromagnético, em vibração constante durante 15 minutos, a fim de separar os diferentes diâmetros de partículas. Segundo Silva *et.al.* (2015), quanto menor o tamanho da partícula, maior será o rendimento no processo de extração, pois o acesso do solvente até o soluto será facilitado. Portanto, utilizaram-se peneiras com aberturas entre 0,7 e 1,3 mm, para selecionar grãos classificados como sólidos finos. Diâmetros de partículas maiores que 1,3 mm foram inviáveis de se obter, uma vez em que o moinho, utilizado para triturar as sementes de café verde não foi eficiente para tal função. Ao mesmo tempo, percebeu-se que a extração com diâmetros inferiores a 0,7

mm arrastou os grãos, pois os mesmos apresentaram tamanho similar a um farelo, inviabilizando a caracterização e determinação do teor do óleo. Assim, para o intervalo de diâmetro entre 0,7 e 1,3 mm, utilizaram-se 5 peneiras, adequando-se o processo ao planejamento experimental.

3.2.2 Equipamento Extrativo Utilizado no Processo

O equipamento utilizado neste trabalho foi o Banho Ultrassônico, com frequência de 25 kHz da marca TECNAL. Este equipamento apresenta vantagens, como: menor tempo de processo e uso da temperatura ambiente, pois devido a cavitação, há um aumento na frequência vibracional do meio, auxiliando na difusão do solvente nos grãos, aumentando o rendimento da extração.

As amostras foram colocadas em duplicatas, no centro do equipamento, de forma que a frequência do banho ultrassônico as alcançasse com a mesma intensidade. O nível de água foi suficiente para cobrir toda a amostra, respeitando o nível máximo do equipamento.

A primeira etapa do procedimento experimental no banho ultrassônico foi determinar o tempo de saturação do óleo. Para isto construiu-se a curva cinética de extração para cada um dos solventes em estudo (etanol, hexano e mistura hexano/etanol na razão 1/1). Em seguida, realizou-se o planejamento experimental estrela para o solvente hexano, a fim de determinar quais as variáveis foram mais significativas no processo extrativo (proporção solvente/amostra e diâmetros médios das partículas).

O planejamento experimental estrela foi realizado apenas para o solvente hexano, pois como o trabalho tem um viés comparativo, desejou-se obter as melhores condições para este solvente, que é o mais usual no processo extrativo, e utilizar estas melhores condições no processo de extração com solvente etanol e para a mistura hexano/etanol, nas proporções 1/1. Assim, estabelecidas as melhores variáveis do processo na extração hexânica, realizou-se a extração para o etanol e para a mistura, nestas mesmas condições, comparando os processos segundo os rendimentos de óleo obtidos e nas caracterizações por cromatografia gasosa.

3.2.3 Construção da Curva Cinética

A primeira etapa consistiu na identificação do tempo de saturação do óleo no processo de extração ultrassônica assistida dos grãos de café verde, com a construção das curvas cinéticas. Nesses gráficos foram apresentados o rendimento do óleo obtido em função do tempo de extração, utilizando o hexano, etanol e mistura hexano/etanol (1/1) como solventes.

Após a moagem e peneiramento dos grãos, as amostras com diâmetro médio 0,98 mm foram pesadas em erlenmeyers de 125 mL e em seguida colocadas em contato direto com o solvente, nas razões solvente/amostra de 5/1, adaptando-se a metodologia proposta por Lago e Freitas (2006). Os erlenmeyers com as amostras em duplicatas, imersas em solventes foram vedadas e mantidas suspensas em banho ultrassônico, com frequência de 25 kHz, em temperatura ambiente, a fim de se evitar a degradação do óleo e perda de solventes.

O primeiro ensaio foi realizado com tempo de extração de 15 minutos, onde retiraram-se as amostras para determinação do teor de óleo. Para realizar a quantificação, as amostras passaram pelo processo de centrifugação e evaporação em equipamento rotativo, retirando assim todo sólido suspenso na micela e o solvente de cada uma. Em seguida, os extratos obtidos com auxílio do solvente etanol e mistura passaram por uma solubilização em hexano, a fim de se determinar apenas o teor de óleo de cada amostra. Após a solubilização, as frações hexânica e o extrato hexânico (obtido pela extração com solvente hexano) foram pesados para determinação do teor de óleo contido em cada uma, conforme equação 1.

$$\text{Teor de Óleo (\%)} = \frac{\text{massa de óleo após extração}}{\text{massa da amostra}} \times 100$$

Equação 1: Teor de Óleo

Os demais pontos da curva foram determinados seguindo o mesmo procedimento, porém com a variação do tempo de extração. Desta forma, o segundo ponto foi coletado após 30 minutos, o terceiro no tempo de 45 minutos, o quarto após 1 hora, e assim manteve-se, de hora em hora, até que se observou a saturação do teor de óleo, ou seja, mesmo com o aumento do tempo não houveram aumentos significativos no teor de óleo da extração.

Após estabelecido o tempo de extração, este manteve-se constante para os próximos ensaios, nos quais variaram-se a proporção solvente/amostra e os diâmetros médios das partículas, de acordo com o planejamento experimental.

3.2.4 Planejamento Experimental

O planejamento experimental estrela foi utilizado para otimizar o sistema, buscando identificar a variável com maior influência no processo de extração. Para fins comparativos, realizou-se o planejamento experimental baseado nas extrações com o solvente hexano, uma vez em que este é o solvente mais utilizado no processo. Assim, definiram-se os níveis de cada fator, para posteriormente montar a matriz de planejamentos com as combinações das variáveis de entradas e então, obter as variáveis de saída do sistema, definindo o planejamento adequado para a extração com solvente hexano e posterior reprodutibilidade para o solvente etanol e mistura hexano/etanol (1/1).

As proporções solvente/amostra (mL.g^{-1}), assim como os diâmetros médios das partículas (mm) usadas nas extrações, foram determinados segundo o planejamento experimental estrela, no qual buscou-se um modelo estatístico, representado por uma equação matemática, para discriminar a variável resposta (teor de óleo) em função das suas variáveis independentes (proporção solvente/amostra e diâmetros médios das partículas). A partir da aproximação matemática obtida, tornou-se perceptível a influência de uma ou mais variáveis em outra de interesse no experimento.

O planejamento estrela consistiu em 11 experimentos, realizados em duplicatas, com três pontos centrais (utilizados para estimar o erro experimental), e com quatro pontos axiais, que correspondem ao mínimo e ao máximo valor das variáveis independentes (razão solvente/amostra mL.mg^{-1} e diâmetros médios das partículas mm), conforme indicado pela tabela 4. No planejamento experimental é usual trabalhar com valores codificados das variáveis, neste caso o planejamento estrela, que possui duas variáveis independentes, tem-se nove níveis diferentes, com três pontos centrais. A repetição do ponto central é utilizada para estimar o erro experimental.

Tabela 4: Variáveis independentes planejamento experimental

Níveis Codificados	-1,4142	-1	0	1	1,4142
Proporção (solvente/amostra) (mL.mg ⁻¹)	3,00	3,59	5,00	6,41	7,00
Diâmetros médios das partículas (mm)	0,7	0,8	1,0	1,2	1,3

Autoria própria

Os valores mínimos e máximos da proporção solvente/amostra foram baseados no trabalho de Lago e Freitas (2006) e as extremidades 0,7 mm e 1,3 mm dos diâmetros médios das partículas foram baseadas segundo as condições operacionais disponíveis para este trabalho. Os resultados do experimento foram inseridos no programa Statistica Release 10.0 (2011), utilizando as variáveis codificadas, que geraram tabelas e gráficos necessários para avaliação das variáveis estudadas no processo (tabela 5).

Tabela 5: Dados planejamento experimental estrela

ENSAIO	VARIÁVEIS CODIFICADAS		VARIÁVEIS REAIS	
	x ₁	x ₂	Proporção (solvente/amostra mL.mg ⁻¹)	Diâmetros médios das partículas (mm)
1	-1,41	0,00	3,00	1,0
2	-1,00	1,00	3,59	1,2
3	-1,00	-1,00	3,59	0,8
4	0,00	1,41	5,00	1,3
5	0,00	0,00	5,00	1,0
6	0,00	0,00	5,00	1,0
7	0,00	0,00	5,00	1,0
8	0,00	-1,41	5,00	0,7
9	1,00	1,00	6,41	1,2
10	1,00	-1,00	6,41	0,8
11	1,41	0,00	7,00	1,2

Autoria própria

Para fins deste trabalho, a extração foi realizada segundo o planejamento fatorial para o solvente hexano. A partir dos resultados obtidos, foi possível determinar quais variáveis foram mais influentes na extração, e assim fez-se a reprodutibilidade do procedimento para os solventes etanol e mistura hexano/etanol (1/1), comparando o rendimento de cada um nestas melhores condições operacionais.

A partir da avaliação do planejamento experimental, definiram-se as melhores condições do processo de extração, dentro do intervalo estudado. Em seguida, foram realizadas extrações nessas condições com o banho ultrassônico utilizando hexano, etanol e mistura hexano/etanol (1/1), para se comparar o rendimento e a composição dos componentes do óleo de café.

3.2.5 Processo de Extração

Após determinadas as condições operacionais pela curva cinética (tempo) e pelo planejamento fatorial (diâmetro médio e proporção solvente/amostra), realizou-se as extrações com os melhores parâmetros para as amostras utilizando etanol, mistura hexano/etanol (1/1) e hexano como solventes.

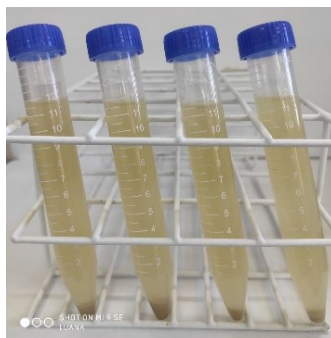
Os ensaios foram feitos em duplicatas, para reprodutibilidade dos dados. Assim, os erlenmeyers com as amostras previamente pesadas, foram colocados em pares no banho ultrassônico, presos com suporte, ao centro do equipamento, para que a frequência emitida fosse a mesma em ambos, conforme figura 11.

Figura 11: Processo de extração em banho ultrassônico



Autoria própria

Após a extração as amostras foram retiradas do banho ultrassônico e peneiradas, para remover os grãos de café verde residuais. Em seguida, transferiram-se as amostras para tubos falcons (figura 12), para se realizar o processo de centrifugação visando remover partículas e sujeiras dos grãos, carregadas pelo solvente.

Figura 12: Processo de centrifugação**Fonte:** Autoria própria

Realizada a separação dos sólidos suspensos, as amostras foram transferidas dos tubos falcons para balões (figura 13), com auxílio de pipetas, evitando o contato com material particulado no fundo dos tubos. Os balões foram previamente pesados para processo de rotaevaporação (figura 14), onde ocorreu a remoção completa de solvente.

Figura 13: Balões para rotaevaporação**Fonte:** Autoria própria**Figura 14:** Evaporador rotativo**Fonte:** Autoria própria

Terminada a evaporação, os balões foram novamente pesados para determinar a massa do extrato de cada processo e calcular o rendimento referente a cada amostra (equação 1). Após determinado o rendimento (%) de extrato, as amostras extraídas com solvente etanol e mistura hexano/etanol, passaram por um processo de solubilização em hexano, a fim de se obter as frações hexânicas de cada uma, buscando determinar apenas o teor de óleo de café nos extratos.

3.2.6 Caracterização do Óleo

Como visto pela literatura, a extração com solventes polares, como etanol, é capaz de extrair tanto o óleo quanto demais compostos lipídicos dos grãos de café, devido a sua afinidade molecular. Assim, realizou-se a pesagem dos extratos obtidos pelos solventes hexano, etanol e pela mistura hexano/etanol, para determinação do teor da fração lipídica de cada um. Após a primeira extração com etanol e com a mistura hexano/etanol (1/1), as amostras passaram pela primeira rotaevaporação e foi determinado o teor de extrato pela equação 1. Entretanto, para determinar apenas o teor de óleo, excluindo os demais compostos extraídos pelo etanol, fez-se a solubilização deste extrato com solvente hexano. Para isto, foram adicionados 40 mL de solvente hexano nos balões com o extrato, suficiente para lavar bem as paredes dos balões, e os colocaram por aproximadamente 3 minutos, no banho ultrassônico, a fim de solubilizar todo o extrato impregnado. Após a solubilização, transferiu-se o conteúdo para tubos falcons, para centrifugação e posterior segunda rotaevaporação em novos balões, previamente pesados. Após evaporação de todo solvente, pesou-se novamente cada amostra, para assim determinar o teor de óleo em cada uma.

3.2.6.1 Transesterificação das amostras

Realizado o cálculo do teor de óleo de cada extrato, identificou-se que o solvente etanol realmente foi capaz de extrair mais compostos dos grãos de café verde, comprovado pela diferença entre as massas após a solubilização com hexano. Assim, para identificar essas variações, realizaram-se análises no cromatógrafo gasoso dos extratos das amostras obtidos pelos solvente hexano, etanol e pela mistura hexano/etanol.

Após quantificadas, todas as amostras passaram pelo processo de transesterificação para análise cromatográfica, que foi realizada de acordo com a norma da Organização Internacional de Normatização 5509 (*Gorduras e óleos animais e vegetais Preparação de ésteres metílicos de ácidos graxos. ISO 5509, p. 01 .06.*), com modificações. A solução de padrão interno de tricosanato de metila (C23:0) foi preparada em uma concentração de 10 mg.mL⁻¹ em iso-octano. Cerca de 20 mg de amostra foram adicionadas em um tubo falcon, e a massa exata de cada amostra foi registrada para ser utilizada, posteriormente, na quantificação dos ácidos graxos.

Para a transesterificação dos triacilgliceróis, 0,25 mL da solução de padrão interno mais 1,75 mL de iso-octano foram adicionados ao tubo falcon, contendo as amostras previamente pesadas. Com auxílio de um vórtex a amostra foi completamente solubilizada. Após a solubilização da amostra foram adicionados ao tubo 2 mL de solução de NaOH em metanol (2 mol.L⁻¹). As amostras foram novamente colocadas em um vórtex por 5 minutos para que a reação de transesterificação ocorresse. Finalmente as amostras foram deixadas em repouso para que houvesse separação das fases. Após a completa separação a fração lipídica foi analisada por cromatografia gasosa com detector por ionização em chama (CG-FID).

3.2.6.2 Condições cromatográficas

Depois de transesterificadas, todos os extratos (hexânicos, etanólicos e de mistura hexano/etanol (1/1)) foram analisados em cromatógrafo gasoso da marca YL 6100, equipado com detector por ionização em chama (CG-FID) em coluna da marca Zebrom, com comprimento de 30 m, diâmetro interno de 0,25 mm e espessura de filme de 0,25 µm. O gás de arraste utilizado foi Nitrogênio (N₂) a uma vazão de 2 mL.min⁻¹, o hidrogênio (H₂) e o ar sintético a 40 e 400 mL min⁻¹, respectivamente, foram utilizados na chama do detector. O programa de temperatura do forno iniciou a 150 °C, mantido por 5 min e depois elevado para 225 °C, como uma taxa de aquecimento de 2 °C.min⁻¹, ao final a coluna foi mantida nessa temperatura por 5 min. As temperaturas do injetor e do detector foram ajustadas para 225 e 240 °C, respectivamente. O volume de injeção foi de 1 µL com uma proporção de divisão de amostra de 1:40. O tempo total da corrida cromatográfica foi de 47,5 min. Os tempos

de retenção e as áreas de pico foram determinados usando o software YL-Clarity v.2.6.5.488. A identificação dos ésteres metílicos de ácidos graxos (FAMEs) foi feita comparando o tempo de retenção dos compostos presentes nos extratos com o tempo de retenção dos padrões comerciais (FAME Mix, C4-24, Sigma-USA).

3.2.6.3 Quantificação

Para a quantificação dos ésteres metílicos de ácidos graxos nas amostras, o método de padronização interna foi aplicado usando o éster metílico do ácido tricosanóico (C23: 0), como padrão interno, seguindo o procedimento proposto por Joseph e Ackman (Ref: Joseph, JD; Ackman, RG; J. AOAC Int. 1992, 75, 488.)

Para obter a concentração de ácidos graxos (AGs) nos extratos de café verde em mg.g⁻¹ de lipídeos totais, foram utilizados os fatores teóricos de correção para o detector de ionização de chama (FID) (VISENTAINER, 2012) de acordo com a equação 2:

$$AG = \frac{Ax \times Wis \times FCx}{Ais \times Wx \times FCag} \times 100$$

Equação 2: Concentração de Ácidos Graxos

Onde:

AG é a concentração de ácidos graxos em mg por g de lipídeos totais; Ax é a área do pico (ácidos graxos); Ais é a área de pico do éster metílico de padrão interno do ácido tricosanóico (C23: 0); Wis é a massa do padrão interno (em mg) adicionado à amostra; Wx é a massa da amostra (em mg); FCx é o fator de correção teórico (VISENTAINER, 2012); FCae é o fator de conversão necessário para expressar os resultados em mg de ácidos graxos em vez de ésteres metílicos; FCae foi calculada para cada composto dividindo a massa molecular do éster metílico de ácido graxo (FAME) pela massa molecular do correspondente ácido graxo (AG);

3.2.6.4 Análises por ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN 1H)

As análises de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN 1H) foram realizadas em equipamento da marca Bruker Ascend™ 400 Avance III HD (9,2 Tesla) do Laboratório Multiusuário do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia (UFU) operando em frequências de 400 MHz para os núcleos de hidrogênio (¹H). Os experimentos foram realizados a 25 °C, utilizando como padrão interno o tetrametilsilano-TMS (δ_{TMS} = 0,00) e Clorofórmio deuterado como solvente (CDCl₃).

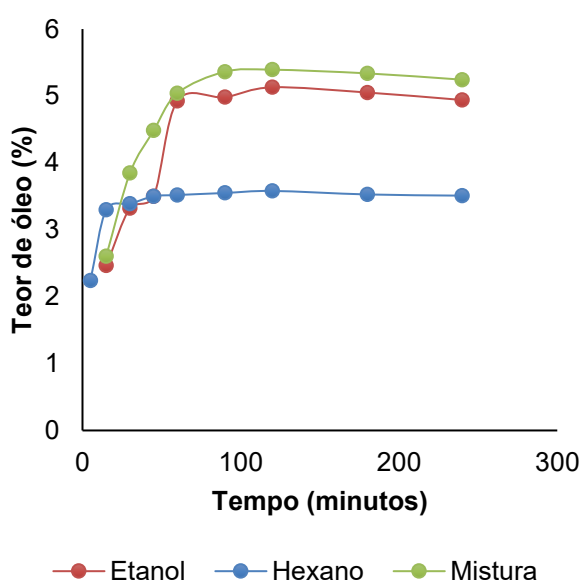
4. RESULTADOS

Neste tópico serão apresentados os resultados obtidos pela extração em diferentes condições operacionais, para os diferentes diâmetros médios das partículas, assim como a identificação do melhor tempo de extração com diferentes solventes e as caracterizações, por análises cromatográficas e ressonância magnética nuclear de hidrogênio.

4.1 CURVA CINÉTICA

Em análise dos dados obtidos pela curva cinética, utilizando a proporção 5/1 solvente/amostra, para diâmetros médios de partículas de 0,98 mm, identificou-se o tempo ótimo de extração de duas (2) horas, próximo ao tempo encontrado por Silva *et al.* (2014), no qual realizou extração de óleo de café verde com uso de CO₂ supercrítico. Com este dado, pode-se perceber que a extração utilizando banho ultrassônico foi eficaz a ponto de demandar o mesmo tempo operacional que a extração com fluido supercrítico, que representa um dos métodos mais eficazes e ecológicos para a extração de óleos, uma vez em que não é necessário o uso de solventes químicos.

Figura 15: Curva cinética de extração com diferentes solventes



Autoria própria

Conforme figura 15, onde observa-se a saturação da extração, pode se notar que mesmo com o aumento do tempo, o teor de óleo manteve-se praticamente constante a partir do tempo de 120 minutos. Além disso, é possível observar que a extração com solvente hexano teve início no tempo de 5 minutos, com rendimento de 2,24% do teor de óleo e progrediu de forma rápida, chegando a saturação no tempo de 45 minutos, com rendimento de 3,5% do teor de óleo, com pouca variação ao longo do processo até o tempo de 240 minutos.

O rendimento da extração com etanol, representada pela curva cinética da figura 15, alcançou níveis de aproximadamente 5% no tempo de 60 minutos, e manteve-se constante até o tempo de 240 minutos, indicando a saturação do processo. Este teor de óleo superior ao hexano indica que o etanol arrastou mais compostos na extração. O mesmo critério de avaliação vale para a mistura de solventes hexano/etanol que apresentou saturação em 90 minutos de extração, com aproximadamente 5,4% de rendimento de óleo, considerando que a mistura de polaridades é responsável por remover mais facilmente os lipídeos das oleaginosas.

Estes resultados corroboram com o que foi apresentado por Brum *et al.* (2009), onde os autores enfatizam que para uma extração completa, é necessário o uso de mistura de solventes, sendo esta teoria comprovada posteriormente pelas análises quantitativas, onde notou-se um maior teor de extrato de óleo de café na mistura dos solventes.

De acordo com as curvas cinéticas apresentadas na figura 15, definiu-se um tempo de duas horas para realização das extrações posteriores, uma vez que nesse tempo o teor de óleo extraído é praticamente constante para os três solventes.

4.2 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

Com o tempo de extração fixo em duas (2) horas, realizou-se o planejamento experimental para o solvente hexano, a fim de se obter as melhores condições operacionais. Os dados experimentais (tabela 6) foram inseridos no programa Statistica Release 10.0 (2011), utilizando as variáveis codificadas referentes as variáveis independentes (razão solvente/amostra mL.mg⁻¹ e diâmetros médios das

partículas mm), para gerar as tabelas e gráficos para as variáveis de respostas obtidas (teor de óleo).

Tabela 6: Teor de óleo segundo planejamento fatorial

ENSAIO	VARIÁVEIS CODIFICADAS		VARIÁVEIS REAIS		VARIÁVEIS RESPOSTA
	x ₁	x ₂	Proporção (solvente/amostra mL.mg ⁻¹)	Diâmetros médios das partículas (mm)	Teor de óleo obtido (%)
1	-1,41	0,00	3,00	1,0	2,63
2	-1,00	1,00	3,59	1,2	2,34
3	-1,00	-1,00	3,59	0,8	2,85
4	0,00	1,41	5,00	1,3	2,57
5	0,00	0,00	5,00	1,0	2,86
6	0,00	0,00	5,00	1,0	3,10
7	0,00	0,00	5,00	1,0	2,96
8	0,00	-1,41	5,00	0,7	3,87
9	1,00	1,00	6,41	1,2	3,04
10	1,00	-1,00	6,41	0,8	3,96
11	1,41	0,00	7,00	1,2	3,36

Autoria própria

Pelas variáveis de respostas obtidas, pode-se perceber que pela extração com solvente hexano, o maior teor de óleo obtido foi com a proporção solvente/amostra igual a 6,41 e diâmetro médio das partículas em 0,8 mm. Também nota-se, ao comparar o teor de óleo para o mesmo diâmetro médio das partículas e com diferentes proporções solvente/amostra, que quanto maior a proporção, maior foi o rendimento da extração e de forma geral, quanto menor o diâmetro, também foi maior o rendimento, para notar melhor esta influência, fez-se o cálculo (tabela 7) pelo programa Statistica 10.0 para identificar os efeitos de cada variável no processo de extração.

A tabela 7 mostra os valores dos efeitos das variáveis independentes sobre o rendimento (teor de óleo) obtido para a extração com solvente hexano. A coluna representada pelo “p”, é referente ao “p-valor” dos efeitos das variáveis para o intervalo de 95% de confiança, ou seja, para que o valor seja significativo, o teste p deve apresentar um valor máximo de 0,05 (5%). O erro puro está relacionado à dispersão dos dados em cada nível de variável de resposta, baseada em sua média. Representa o erro associado aos experimentos, calculado pelas três corridas no ponto central.

Tabela 7: Efeito das variáveis no processo de extração utilizando hexano como solvente

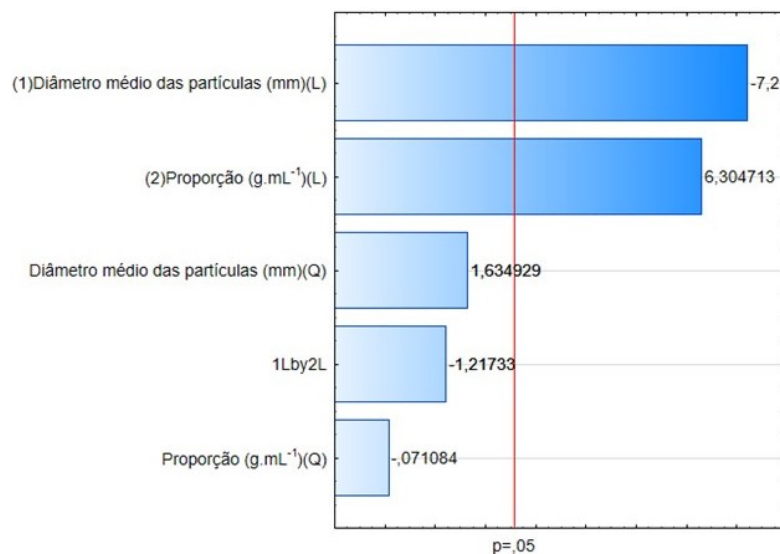
FATOR	EFEITOS	ERRO PURO	P
Diâmetros médios das partículas (mm)	-0,81711	0,08524	0,01071
Proporção (mL.g ⁻¹)	0,71413	0,08524	0,01395

Autoria Própria

Pelo auxílio da tabela 7, percebe-se que devido ao aumento do diâmetro médio das partículas, a extração apresentou um decréscimo em média de 0,82% no rendimento quando ocorre um aumento do nível inferior (0,7 mm) para o superior (1,2 mm), enquanto observa-se um aumento em média de 0,71% para o rendimento relacionado a proporção solvente/amostra quando se passou do nível inferior (3/1 v/m) para o superior (7/1 v/m).

O resultado obtido pela tabela 7 é descrito por alguns autores, como Lago e Freitas (2006) que perceberam que quanto menor o tamanho da partícula e maior e proporção amostra/solvente, maior será o rendimento da extração. Assim, o preparo da matéria prima também auxilia no aumento do teor de óleo, enfatizado por Araujo e Sandi (2007), que afirmaram ser o diâmetro das partículas um fator importante a ser considerado, uma vez em que matrizes com partículas grandes tendem a causar um aumento no tempo de extração, pois o processo depende da difusão da substância dentro da matriz. Assim, para partículas menores, a extração torna-se mais rápida, uma vez em que o óleo da superfície dos grãos é removido facilmente pelo fluido.

De acordo com o gráfico Pareto (figura 16), é possível visualizar a influência de cada variável, como a independência das demais. Percebe-se que o diâmetro médio das partículas (mm) foi a variável linear (L) mais significativa do processo, seguida da proporção solvente/amostra (mL.g⁻¹), também linear (L), enquanto as interações quadráticas (Q) e a interação entre o diâmetro médio das partículas e a proporção (1Lby2L) não apresentaram influência no rendimento da extração, para o intervalo de 95% de significância.

Figura 16: Gráfico Pareto dos efeitos das variáveis independentes em relação ao rendimento

Autoria própria

A equação 3 representa os modelos experimentais que melhor descreveram o processo de extração, dentro do limite das variáveis estudadas, considerando o nível de 95% de significância. Neste modelo foram consideradas somente as variáveis significativas do processo: interação linear do diâmetro médio das partículas e da proporção solvente/amostra. Os coeficientes da equação foram gerados pelo software Statistica 10.0, considerando as variáveis em seu valor codificado.

$$Y = 3,05 + 0,35 X_1 - 0,41 X_2$$

Equação 3: Cálculo do rendimento em função das variáveis codificadas

onde: Y = variável codificada para o rendimento da extração; X1 = variável codificada para o diâmetro médio das partículas; X2 = variável codificada para a proporção solvente/amostra

De modo a avaliar se os dados experimentais estavam adequados ao modelo gerado pela análise estatística, utilizou-se a Análise de Variância, onde os dados podem ser observados pela tabela 8 (ANOVA), que apresentam as contribuições da regressão (R) e dos resíduos (r) nos experimentos. A regressão é baseada pela soma dos efeitos (SQ_R), enquanto os resíduos, pela soma do erro puro com a falta de ajuste do modelo (SQ_r).

Tabela 8: Análise das variâncias (ANOVA)

Fonte de Variação	Soma Quadrática (SQ)	Graus de Liberdade	Média Quadrática (MQ)	F _{calculado}
Regressão (R)	2,471	5	0,494	19
Resíduo (r)	0,128	5	0,026	2,2
Falta de Ajuste	0,099	3	0,033	
Erro Puro	0,029	2	0,015	
Total (T)	2,599	10	0,260	

Autoria própria

Em análise dos dados experimentais, o teste F é utilizado como critério avaliativo, e é medido pela razão entre a média quadrática da regressão (MQR) e a média quadrática dos resíduos (MQR) (equação 4), assim como para a razão entre a falta de ajuste MQ_{faj} e o erro puro (MQ_{ep}) (equação 5), para em seguida comparar as razões com o valor de F tabelado, no mesmo nível de confiança. Se o primeiro F calculado for pelo menos três vezes maior que o F tabelado, indica que o modelo representa bem os dados experimentais e se o segundo F calculado for menor que o tabelado, indica que o modelo não apresenta falta de ajuste.

$$F_{calculado} = \frac{MQR}{MQR} > F_{p-1, n-p} \text{ (tabelado - t student - 95\%)}$$

Equação 4: teste F regressão/resíduo

$$F_{calculado} = \frac{MQ_{faj}}{MQ_{ep}} < F_{m-p, n-m} \text{ (tabelado - t student - 95\%)}$$

Equação 5: teste F falta de ajuste/erro puro

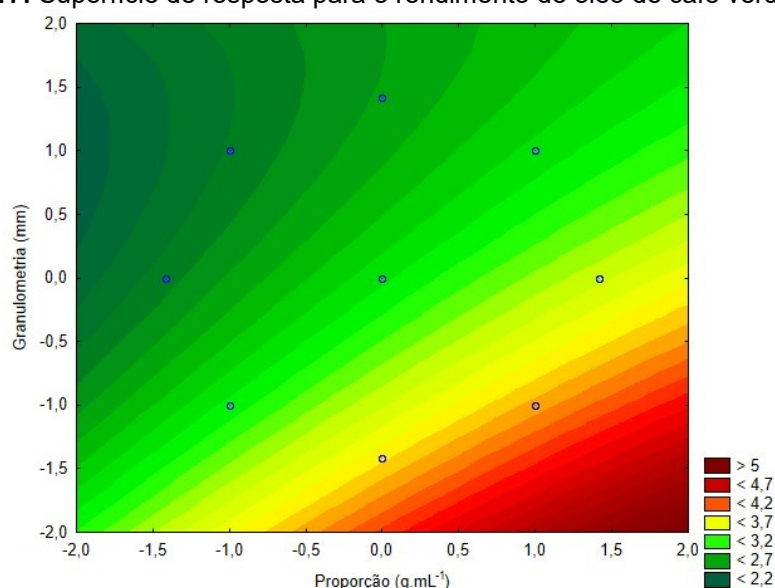
Em resposta das equações, tem-se que $F_{calculado} = 19 > F_{5,5} (5,05)$ e $F_{calculado} = 2,2 < F_{3,2} (19,16)$. Nos planejamentos realizados, nota-se que o F calculado para os resíduos é bem maior que o tabelado, garantindo que os modelos apresentam alta significância estatística, assim como o F calculado para falta de ajuste validam o modelo. Com os dados da tabela 8, também pode-se calcular o coeficiente de determinação pela equação 6, obtendo um valor bem próximo a 1, garantindo que os modelos estão bem ajustados.

$$R^2 = \frac{SQR (regressão)}{SQT (total)} = 0,95$$

Equação 6: Coeficiente de Determinação

Com este modelo pôde-se traçar a superfície de resposta (figura 17) o intervalo das variáveis independentes estudadas em relação ao rendimento do óleo de café. A superfície de resposta é adequada para estimar e analisar as melhores condições das variáveis independentes, dentro do intervalo estudado, que proporciona a melhor resposta.

Figura 17: Superfície de resposta para o rendimento de óleo de café verde



Autoria própria

Os eixos da superfície de respostas representam as variáveis independentes utilizados na extração em valor codificado e as barras coloridas ao lado direito das figuras representam o valor do rendimento da extração (0 a 5%). Observa-se na figura 17 as condições de operação em que ocorre o maior rendimento, região destacada pela cor vermelha mais escura no gráfico, ou seja, quando tem-se a menor granulometria e maior proporção solvente/amostra.

Conforme estudado por Lago e Freitas (2006) e comprovado pelo planejamento experimental, as variáveis que mais influenciaram no processo extrativo com solvente hexânico foram as amostras de menor diâmetro das partículas e maior proporção solvente/amostra.

4.2.1 Extração com etanol e mistura hexano/etanol (1/1) nas condições previamente otimizadas.

Com o intuito de se comparar o teor de óleo obtido na extração com os solventes etanol, mistura hexano/etanol (1/1) e hexano, os ensaios experimentais apresentados na tabela 9 foram realizados segundo as conclusões obtidas do planejamento experimental. Nesse esse sentido, o tempo das extrações no banho ultrassônico foi de 2 horas, para diferentes diâmetros de partículas, para proporção 7/1 solvente/amostra, obtendo resultados de teor de óleo médios das duplicatas, mostrados na tabela 9.

Tabela 9: Rendimento das extrações com diferentes solventes

DIÂMETRO MÉDIO DAS PARTÍCULAS (mm)	1 EXTRAÇÃO (% extrato)			APÓS SOLUBILIZAÇÃO EM HEXANO (% óleo)	
	ETANOL	MISTURA	HEXANO	ETANOL	MISTURA
0,7	7,68597	6,90131	5,67059	6,20439	6,44904
0,8	6,49769	5,94638	4,18463	5,03766	5,63928
1,0	5,85970	4,83034	4,02090	4,10745	5,25377
1,2	4,61153	4,00295	3,49948	3,62776	3,32444

Autoria própria

Os resultados obtidos pela extração ultrassônica de óleo de café verde apontam uma diferença significativa entre os teores de extrato, representados nas primeiras colunas na primeira extração, em comparação com o rendimento da extração hexânica. Com este dado foi possível concluir que a mistura de solventes e o etanol foram capazes de arrastar demais compostos das sementes, como ceras (composta principalmente de 5-hidroxitriptamidas, álcoois diterpênicos como cafestol e caveol, e alguns de seus ésteres, quando associados aos ácidos oleico e linoleico), citados por SANDI (2012) e SPEER (2006). Assim, em busca de um teor de óleo mais puro, fez-se a solubilização destes extratos com o hexano.

Na tabela 9 é possível notar que o maior rendimento da extração (7,69%) é referente ao extrato etanólico, com menor granulometria (0,7 mm), e que conforme aumenta-se o diâmetro médio das partículas, esse rendimento diminui progressivamente. Nota-se também que os extratos hexânicos apresentaram menor rendimento comparado aos demais solventes, corroborando com a teoria de Brum *et*

al. (2007), o qual afirma que a presença de solventes com diferentes polaridades auxilia a extração das frações lipídicas dos grãos. Após a determinação do teor de óleo de cada ensaio, com auxílio da equação 1, as amostras foram recolhidas e separadas para análises cromatográficas.

4.3 ANÁLISES CROMATOGRÁFICAS

Realizaram-se análises cromatográficas para as amostras duplicatas dos extratos etanólicos, hexânicos e mistura hexano/etanol (1/1), a fim de se comparar a quantificação de ácidos graxos totais em cada extração, verificando assim a eficiência do uso de mistura de solventes na extração de ácidos graxos.

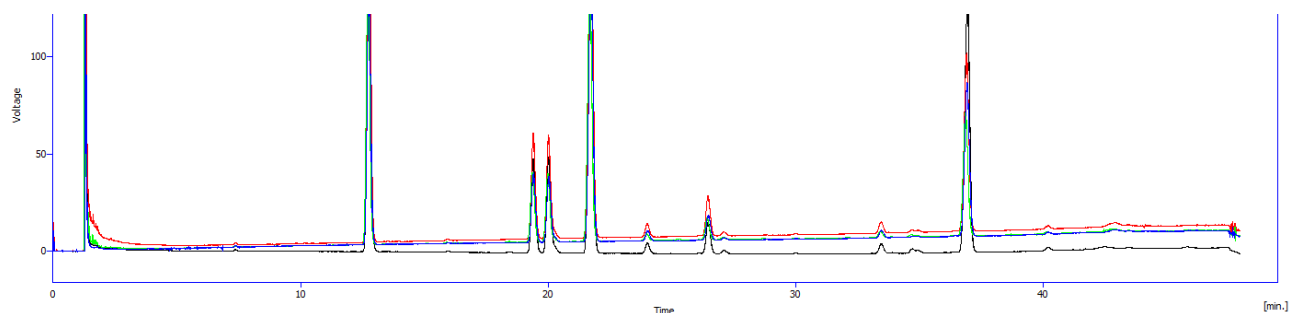
No cromatograma da figura 18, tem-se a sobreposição dos cromatogramas dos extratos obtidos com diferentes solventes. É possível observar um padrão no perfil cromatográfico, indicando que a diferença entre os extratos obtidos é apenas quantitativa entre os ácidos graxos extraídos.

Na figura 19, mostra-se a sobreposição dos cromatogramas do extrato etanólico com adição do padrão interno C23:0 (éster metílico do ácido tricosanóico puro), que não estava presente na amostra. O pico de padrão interno adicionado na amostra pode ser confirmado através da comparação dos tempos de retenção com os picos presentes no cromatograma do extrato. O C23:0 foi o padrão interno de escolha uma vez que a maioria dos óleos vegetais não produzem tal substância e que não há coeluição deste com nenhuma substância presente na amostra.

O último cromatograma (figura 20) indica a sobreposição do extrato etanólico com a mistura comercial (C4-C24) de ésteres metílicos de ácidos graxos, onde através da comparação dos tempos de retenção e sabendo-se pelo fabricante a ordem de eluição dos compostos, pode-se identificar os ácidos graxos presentes nos extratos dos grãos de café verde.

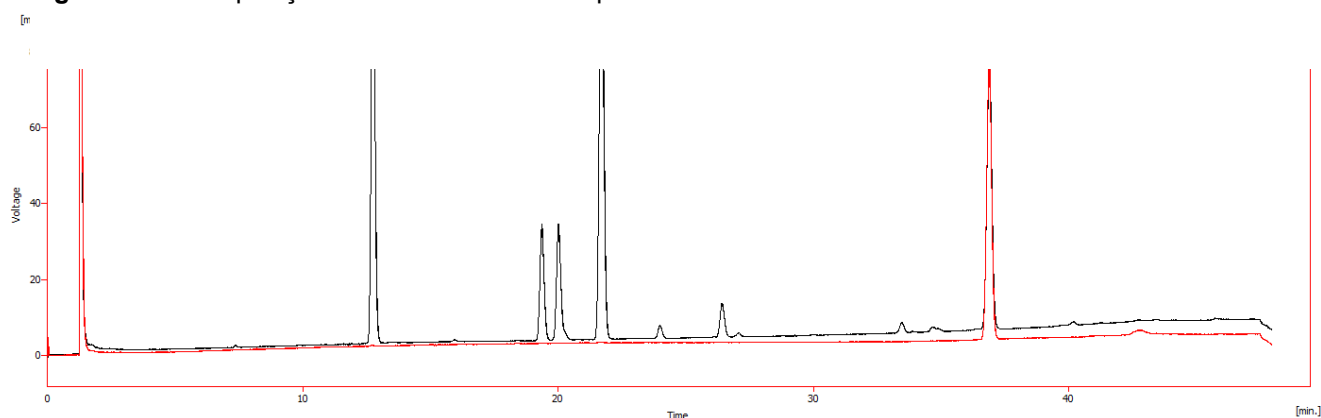
Utilizando a equação 2 foi possível determinar a concentração de ácidos graxos individualmente (tabela 10), bem como a concentração de ácidos graxos totais (tabela 12).

Figura 18: Sobreposição dos cromatogramas referentes aos extratos hexânicos (__), etanólicos (__) e mistura hexano/etanol (1/1) (__)



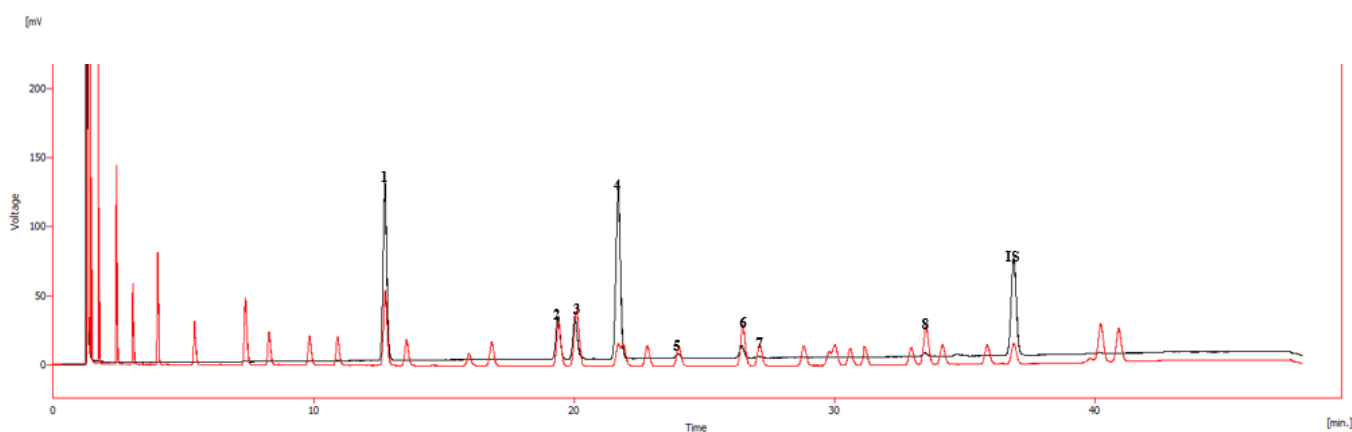
Autoria própria

Figura 19: Sobreposição extrato etanólico com padrão interno



Autoria própria

Figura 20: Sobreposição extrato etanólico com mistura de ésteres de ácidos graxos



Autoria própria

Abaixo, segue a legenda para a figura 20.

- 1) C16:0 – éster metílico do ácido palmítico; 2) C18:0 – éster metílico do ácido esteárico; 3) C18:1 – éster metílico do ácido oleico; 4) C18:2 - éster metílico do ácido linoléico; 5) C18:3 - éster metílico do ácido linolênico; 6) C20:0 - éster metílico do ácido araquídico; 7) C20:1 - éster metílico do ácido gondoico; 8) C22:0 - éster metílico do ácido behênico.

Tabela 10: Concentração de Ácidos Graxos em mg.g⁻¹ de extrato

Amostra	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C20:0	C20:1	C22:0	TOTAL
E1	128,55	39,90	35,15	154,53	5,68	16,56	1,95	5,92	391,93
E2	136,14	41,65	40,84	158,51	5,55	17,82	1,72	6,48	408,71
E3	149,87	40,69	44,14	179,21	8,31	16,17	1,99	5,44	445,84
E4	140,57	39,37	44,19	179,29	6,77	14,89	1,63	5,70	432,41
E5	171,90	53,12	53,62	213,3	8,56	21,94	2,32	8,05	532,81
E6	160,84	47,35	47,33	197,44	8,49	18,45	Traços	5,48	485,39
E7	131,61	38,64	40,07	154,98	4,61	13,19	1,64	4,39	389,13
E8	142,38	40,96	42,67	162,78	4,81	13,25	1,98	4,47	413,30
M9	187,37	55,36	57,25	230,16	12,91	21,12	2,80	9,52	576,49
M10	159,63	50,06	50,88	200,16	8,63	22,48	3,06	7,98	207,87
M11	174,07	49,84	51,48	211,22	8,15	19,22	1,99	5,79	521,76
M12	158,82	46,20	47,03	192,05	7,21	17,71	2,58	5,51	477,10
M13	171,37	52,4	52,76	214,23	7,84	22,11	2,42	7,81	530,95
M14	171,51	51,79	52,18	212,55	7,96	21,67	2,55	8,53	528,75
M15	174,56	50,06	53,50	203,91	5,82	17,99	2,32	6,13	514,28
M16	183,44	51,14	57,16	214,32	6,71	19,89	3,02	6,25	544,94
H17	168,36	52,58	52,23	196,02	6,21	21	Traços	Traços	496,39
H18	183,97	54,69	55,73	218,71	8,49	22,38	2,62	6,91	553,50
H19	206,51	60,06	61,87	229,14	9,07	23,74	2,57	6,84	599,8
H20	167,2	52,74	53,02	179,57	6,64	21,72	2,31	6,35	489,56
H21	187,44	56,98	57,99	228,82	9,65	23,35	2,95	6,95	574,13

Autoria própria

Continuação Tabela 11: Concentração de Ácidos Graxos em mg.g⁻¹ de extrato

H22	196,24	54,06	57,75	245,16	8,32	20,71	2,04	9,29	593,57
H23	189,25	51,94	55,52	205,40	5,05	19,52	2,60	6,54	535,82
H24	162,97	49,78	51,00	187,05	4,83	18,37	3,13	5,89	483,02

Autoria própria

Tabela 12: Legenda amostras tabela 10

Amostra	Solvente	Granulometria
E1	Etanol	0,7
E2	Etanol	0,7
E3	Etanol	0,8
E4	Etanol	0,8
E5	Etanol	1,0
E6	Etanol	1,0
E7	Etanol	1,2
E8	Etanol	1,2
M9	Mistura hexano/etanol (1/1)	0,7
M10	Mistura hexano/etanol (1/1)	0,7
M11	Mistura hexano/etanol (1/1)	0,8
M12	Mistura hexano/etanol (1/1)	0,8
M13	Mistura hexano/etanol (1/1)	1,0
M14	Mistura hexano/etanol (1/1)	1,0
M15	Mistura hexano/etanol (1/1)	1,2
M16	Mistura hexano/etanol (1/1)	1,2
H17	Hexano	0,7
H18	Hexano	0,7
H19	Hexano	0,8
H20	Hexano	0,8
H21	Hexano	1,0
H22	Hexano	1,0
H23	Hexano	1,2
H24	Hexano	1,2

Autoria própria

Fazendo a média e o desvio padrão dos extratos de cada amostra (tabela 10), é possível fazer a porcentagem de ácido graxo/massa de amostra conforme tabela 12.

Tabela 13: Concentração média das duplicatas de AG em mg.g⁻¹ dos extratos

Amostra	Concentração de AG em mg.g ⁻¹ de extrato (média das duplicatas)	Desvio Padrão
HEXANO; granulometria 0,7	524,95	40,38
HEXANO; granulometria 0,8	544,68	77,95
HEXANO; granulometria 1,0	583,85	13,75
HEXANO; granulometria 1,2	509,42	37,34
ETANOL; granulometria 0,7	400,32	11,87
ETANOL; granulometria 0,8	439,13	9,50
ETANOL; granulometria 1,0	509,10	33,53
ETANOL; granulometria 1,2	401,22	17,09
MISTURA; granulometria 0,7	539,68	52,06
MISTURA; granulometria 0,8	499,43	31,58
MISTURA; granulometria 1,0	529,85	1,56
MISTURA; granulometria 1,2	529,60	21,67

Autoria própria

Tabela 14: Concentração média de AG em % dos extratos

Amostra	% de AG nos extratos	Desvio Padrão
ETANOL; granulometria 0,7	40,72	1,20
ETANOL; granulometria 0,8	44,38	1,37
ETANOL; granulometria 1,0	51,79	3,42
ETANOL; granulometria 1,2	40,80	1,73
MISTURA; granulometria 0,7	54,91	5,29
MISTURA; granulometria 0,8	50,80	3,21
MISTURA; granulometria 1,0	53,91	0,16
MISTURA; granulometria 1,2	53,86	2,21
HEXANO; granulometria 0,7	53,38	4,12
HEXANO; granulometria 0,8	55,38	7,93
HEXANO; granulometria 1,0	59,40	1,40
HEXANO; granulometria 1,2	51,79	3,78

Autoria própria

Em análise da concentração média de ácidos graxos dos extratos em porcentagem (tabela 13), pode-se entender que houve uma maior efetividade com os extratos hexânico, porém, com uma pequena variação em relação a mistura hexano/etanol e etanol, não indicando uma preferência pela escolha de solventes neste caso. (EXPLORAR MAIS)

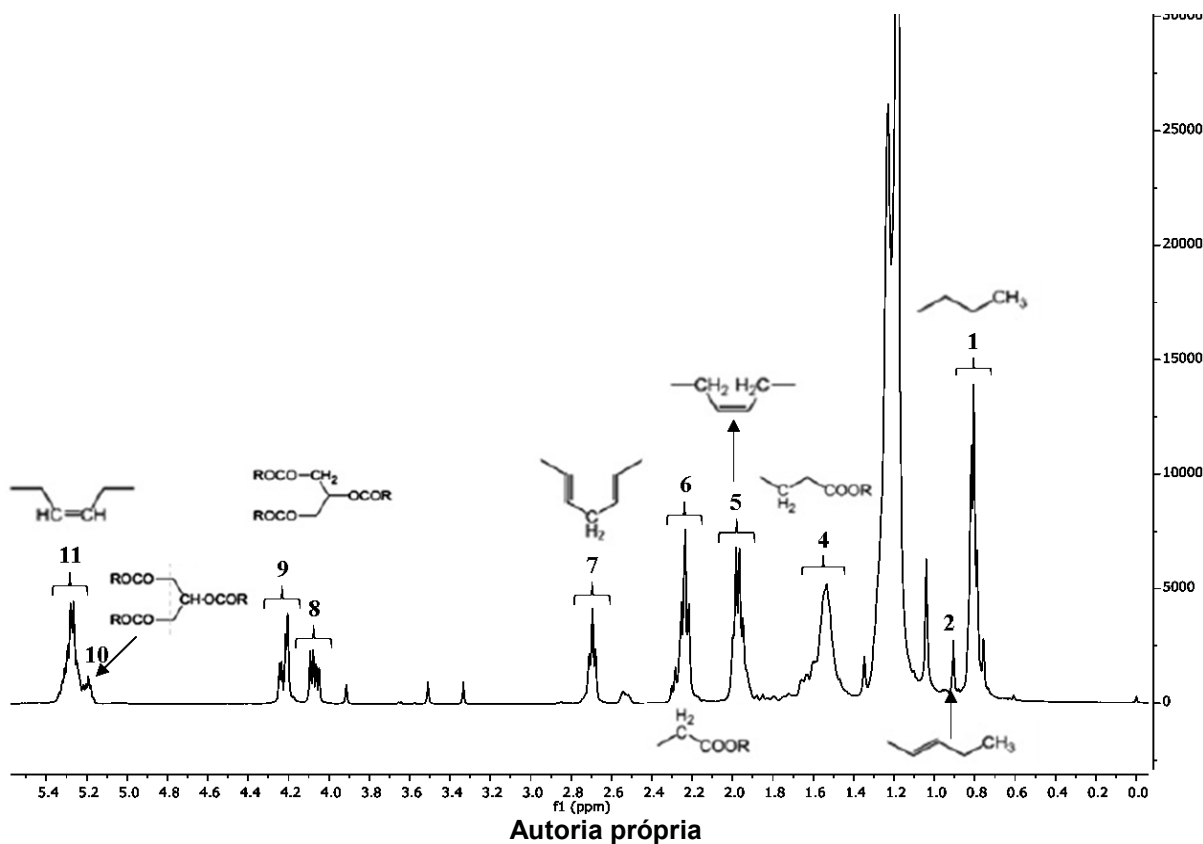
4.4 ANÁLISES DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE HIDROGÊNIO

A espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio é a técnica espectroscópica que fornece maior informação estrutural de uma molécula. Além disso, tem como vantagem a utilização de pequenas quantidades de amostras e a necessidade de um mínimo, ou em algumas análises, nenhum preparo de amostra, além de ser uma análise rápida, não-destrutiva e no caso da análise de frações lipídicas levar a informações das moléculas intactas, o que não pode ser obtido pelas análises de Cromatografia Gasosa uma vez que nesta técnica é necessário realizar a Derivatização (ou transesterificação) dos componentes da fração.

A análise do espectro de RMN ^1H da fração lipídica do café verde obtido por extração com hexano, levou a obtenção do perfil da fração lipídica (figura 21) deste extrato, assim como à identificação de compostos minoritários. A fração lipídica dos grãos de café verde é extremamente complexa, sendo constituída principalmente por triacilgliceróis que apresentam perfil de ácidos graxos similar aos óleos vegetais comestíveis mais comuns, como de soja e de canela (TSUKUI, 2014).

Pela análise de RMN de ^1H é possível atribuir os sinais característicos dos hidrogênios presentes no óleo de café verde, identificados na figura 21. Os sinais presentes na região entre $\delta = 0,72$ e $0,86$ (1), região esta que mostra os hidrogênios mais blindados das moléculas, são referentes aos hidrogênios metílicos correspondentes à parte saturada da molécula, o sinal em $\delta = 0,91$ (2) corresponde aos prótons metílicos do ácido linolênico. O conjunto de sinais sobrepostos na faixa em $\delta = 1,10$ - $1,33$ (3) correspondem aos hidrogênios metilênicos dos ácidos graxos dos triacilgliceróis. Um pouco mais blindados estão os prótons β -carboxílicos na região em $\delta = 1,42$ - $1,69$ (4), cujo sinal apresenta uma baixa resolução, os prótons α -carboxílicos são referentes ao conjunto de sinais em $\delta = 2,17$ - $2,32$ (6). O conjunto de sinais na região em $\delta = 1,89$ - $2,05$ correspondem aos prótons alílicos externos (5), já os prótons alílicos internos são observados em $\delta = 2,65$ - $2,75$ (7). Os prótons metilênicos (H-1 e H-3) do glicerol são observados em $\delta = 4,01$ - $4,28$ (8 e 9). O próton metilênico H-2 foi atribuído ao sinal em $\delta = 5,19$ (10). Os prótons olefínicos foram atribuídos aos sinais na região de $\delta = 5,23$ – $5,37$ (11) (REDA & CARNEIRO, 2006).

Figura 21: Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3 , $\delta = 0,00-5,50$) de um extrato hexânico (fração lipídica) de café verde.



Onde:

1 = prótons metílicos; 2 = prótons metilênicos dos ácidos graxos do triacilglicerol; 3 = prótons β -carboxílicos; 4 = prótons alílicos externos 5 = prótons α -carboxílicos; 6 = prótons alílicos internos; 7 e 8 = prótons metilênicos do glicerol; 9 = próton H-2 do glicerol; 10 = prótons olefínicos.

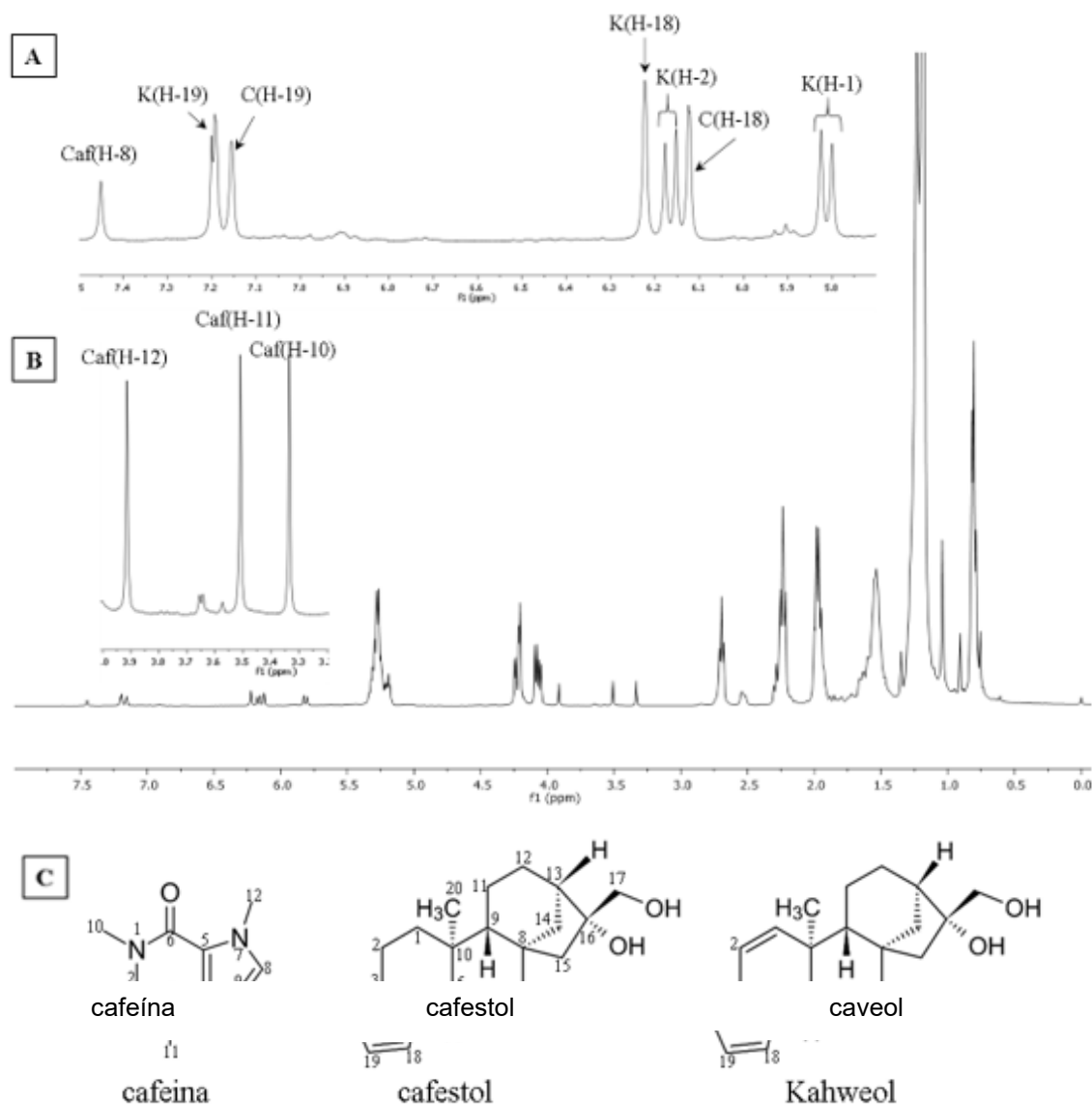
Dados da literatura mostram que comparado ao óleo de oliva, o óleo de café apresenta uma maior concentração de linoleato (ácido linoleico, $\text{C}_{18}:2$ n-6), um ácido graxo poli-insaturado também chamado de ômega-6, um dos ácidos graxos essenciais para os seres humanos e que deve ser obtido através da dieta alimentar. Na natureza é mais comum de ser encontrado nos alimentos na forma de ésteres de triglicerídeos do que em sua forma livre. Estudo realizado por D'Amelio, *et al.* (2014) mostra que é possível diferenciar o óleo de café verde do óleo de oliva baseado no conjunto de sinais no espectro de RMN de ^1H em $\delta = 2,65- 2,75$ (6) referente aos prótons alílicos internos do linoleato cuja concentração é maior para o óleo de café verde do que para o azeite de oliva enquanto a concentração de oleato (ácido oleico, $\text{C}_{18}:1$ n-1), caracterizado pelo sinal em $\delta = 1,89-2,05$ (4) referente aos prótons alílicos externos é maior no óleo de oliva comparado ao óleo de café (D'AMALIO *et al.*, 2014). A maior

concentração de C18:2 no óleo de café verde analisado em comparação com C18:1 pode ser quantitativamente comprovada pelas análises de CG-FID, conforme observado pela figura 20 e tabela 10. Além dos lipídeos também foi possível identificar a presença de caveol, cafestol e cafeína, no óleo de café verde (figura 22).

Os sinais em $\delta = 3,33, 3,51, 3,91$ e $7,45$ foram atribuídos aos hidrogênios H-10, H-11, H-12 e H-8 respectivamente e são mostrados na figura 22, em destaque nas expansões A e B. Apesar de não ter sido realizada análise quantitativa, é possível observar através da comparação da intensidade dos sinais no espectro que a concentração de cafeína é muito baixa, o que corrobora com dados da literatura para a quantificação de cafeína em óleo de café verde (PEREDA *et al.*, 2009) & (D'AMALIO *et al.*, 2014). Os sinais em $\delta = 5,82, 6,17, 6,22$ e $7,19$ foram atribuídos aos hidrogênios H-1, H-2, H-18 e H-19, respectivamente, do diterpeno caveol e os sinais em $\delta = 6,12$ e $7,16$ correspondem aos hidrogênios H-18 e H-19 do diterpeno cafestol. Estes diterpenos são também compostos minoritários no óleo de café verde, sendo que o 16-O-metilcafestol é utilizado como um marcador químico para autenticação de café. D'Amelio *et al.* (2014), mostram que as espécies de café Arábica e Robusta, podem ser diferenciadas através da presença dos diterpenos: caveol e 16-O-metilcafestol. O espectro de RMN ^1H do 16-O-metilcafestol diferencia-se do espectro do cafestol pela presença da metoxila (OCH_3) ligada ao carbono 16 e que segundo D'Amelio tem um deslocamento de 3,13 ppm. Neste estudo não foi possível observar o sinal referente à metoxila o que nos leva a identificar o diterpeno como sendo o cafestol e não seu derivado metilado.

A presença de ambos, cafestol e caveol, em proporções similares leva à confirmação da espécie *Coffea arabica*, sendo que a espécie *Coffea robusta* apresenta quantidades extremamente pequenas de caveol nos óleos de café verde. A proporção entre os dois diterpenos, pode levar à diferenciação de ambas as espécies (D'AMELIO *et al.*, 2014). Neste trabalho, pode-se perceber a presença de ambos os diterpenos em quantidades similares, o que está de acordo com a literatura já que as análises foram realizadas utilizando o óleo de café da espécie Arábica.

Figura 22: Espectro de RMN ^1H do óleo de café verde obtido extraído com hexano (400 MHz, CDCl_3 , $\delta = 0,00-8,00$)



Autoria própria

Onde:

K indica cafeol, C indica cafestol e Caf indica cafeína. A = expansão da região de 5,70 - 7,50 ppm do espectro de RMN ^1H . B = expansão da região de 3,20 - 4,00 ppm do espectro de RMN ^1H . C = estruturas das substâncias: cafeína, cafestol e cafeol.

As técnicas analíticas utilizadas neste estudo para a caracterização das frações lipídicas do óleo de café se complementam. Pelas análises realizadas por CG-FID foi possível identificar e quantificar os ácidos graxos dos triacilgliceróis individualmente, além de calcular a porcentagem destes na fração. As análises realizadas por RMN ^1H , além de fornecer informação estrutural dos triacilgliceróis intacto e permitir determinais os sinais correspondentes aos diferentes hidrogênios presentes nas moléculas, ainda

permitiu a identificação de compostos minoritários que não haviam sido identificados por CG-FID, como a cafeína, o cafestol e o caveol, sem a necessidade de utilização de padrões comerciais destes compostos, com base apenas nos deslocamentos químicos de hidrogênios característicos destas moléculas e comparação destes com a literatura.

5. CONCLUSÃO

Em análise dos resultados obtidos pelas extrações com os diferentes solventes, foi possível estabelecer o tempo de saturação de duas horas, com auxílio da curva cinética. Este tempo indicou que o processo extrativo foi otimizado com o auxílio do equipamento banho ultrassônico, que potencializa a difusão da miscela e facilita a extração do óleo do grão de café verde. Além disso, também pela análise da curva cinética, pode-se concluir que a mistura de solventes é um aliado no processo extrativo, onde a presença de diferentes polaridades em solventes auxilia o maior rendimento do teor de óleo para os grãos de café verde, observado pelo alto teor de óleo obtido pela mistura de solventes, comparado com o uso de apenas um solvente.

Pelo planejamento experimental, conclui-se que quanto menor o diâmetro da partícula e maior a proporção solvente/amostra, melhor será o rendimento da extração, independente do solvente escolhido. Neste sentido, tem-se que quanto maior a quantidade de solvente em relação a quantidade de amostra, maior será o rendimento, entretanto, por questões ambientais e econômicas, estabeleceu-se que uma quantidade superior de solvente/amostra na razão 7/1 seria inviável. Assim, estabelecendo este limite de quantidade de solvente foi possível identificar a melhor condição operacional com diâmetros menores de grãos de café verde.

Após determinado pelo planejamento experimental as melhores condições para a extração, como tempo de 2 horas e temperatura ambiente, identificou-se o rendimento de cada ensaio, evidenciando que os grãos de café verde com menores diâmetros facilitaram o processo extrativo. Porém, para condições operacionais onde os diâmetros foram menores que 0,7 mm, notou-se um arraste dos grãos na quantificação do teor de óleo, inviabilizando o resultado exato. Assim, estabeleceu-se este limite inferior do tamanho das partículas para as diferentes proporções solvente/amostra.

Nas análises cromatográficas foi possível notar que o solvente hexânico extraiu uma porcentagem maior de ácidos graxos em relação a mistura hexano/etanol e etanol, porém não foram valores significativos o suficiente que inviabilizassem a substituição dos solventes. E pelas análises de ressonância magnética nuclear de hidrogênio, percebeu-se que os extratos hexânicos para o óleo de café verde apresentaram uma maior concentração de ácido linoleico (C18:2 n-6, ou ômega 6)

que o azeite de oliva, sendo este um dos ácidos graxos essenciais para os seres humanos. Além disso também foi possível detectar a presença de cafestol e caveol, marcadores químicos da espécie em estudo.

Após todas as análises quantitativas e qualitativas, conclui-se que a substituição do solvente hexano pelo solvente etanol é viável, e que o uso de misturas de solventes viabiliza ainda mais o processo, uma vez em que juntos conseguem extrair uma maior fração lipídica dos grãos de café verde, de acordo com teor de extrato hexânico e pelas análises no cromatógrafo gasoso.

5.1 TRABALHOS FUTUROS

Para trabalhos futuros já estão sendo analisadas por RMN as amostras com extratos etanólicos e mistura hexano/etanol, a fim de se identificar diferenças nas composições entre os diterpenos. Também é sugerido que se estude a possibilidade de uso de grãos de café verde com defeitos para produção de biodiesel.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA EMBRAPA DE INFORMAÇÃO TECNOLÓGICA (AGITEC). **Árvore do Conhecimento: Transesterificação**. Disponível em: <<https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agroenergia/arvore/CONT000fj0847od02wyiv802hvm3juldruvi.html>>. Acesso em 29/11/2019.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE CAFÉ (ABIC). **História do Café**. Disponível em: <<http://abic.com.br/cafe-com/historia/>>. Acesso em 29/11/2019.

ARAÚJO, Júlio M.A; SANDI, Delcio. **Extraction of Coffee Diterpenes and Coffee Oil Using Supercriticalcarbon Dioxide**. ScienceDirect, Food Chemistry 101(1087-1094), 2007.

BARBOSA, L.T.C.; VEGA, M.R.G.; **Diterpenos do Gênero *Xylopi***. Artigo. Rev. Virtual Química, vol. 9, n. 4, 1712-1733, 2017.

BARROS, N. B., SCARMINIO, I. S., BRUNS, R. E. **Como Fazer Experimentos: Pesquisa e Desenvolvimento na Ciência e na Indústria**. Campinas: Editora da UNICAMP, 2007.

BATISTA, G. L. A. S; SOUZA, E. S.; ALMEIDA, M. M.;ALBURQUERQUER, C.J.; ARAUJO, M. B. V.; ARAÚJO, H. W. **Extração do Óleo da Borra do Café: Alternativa para Redução dos Impactos Ambientais**. 2016. XXI Congresso Brasileiro de Engenharia Química – Fortaleza/CE.

BRUM, Aelson A.S.; ARRUDA, Lia F.; REGITANO-d'ARC, Marisa A.B.; **Métodos de Extração e Qualidade da Fração Lipídica de Matérias-Primas de Origem Vegetal e Animal**. Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, USP. Artigo, 2009.

CHARTIER, Agnes; BEAUMESNIL, Mathieu; OLIVEIRA, Alessandra L.; ELFAKIR, Claire; BOSTYN, Stephane; **Optimization of the Isolation and Quantitation of Kahweol and Cafestol in Green Coffee Oil**. Journal Elsevier – Talanta 117 (2013) 102-111.

CETESB. **Companhia Ambiental do Estado de São Paulo**. Acesso em 21/10/2018.

DALMOLIN, Ireda A. L. **Determinação de Dados de Equilíbrio Líquido- Líquido de Sistema Contendo Óleo de Farelo de Arroz Refinado/Etanol Anidro/Água/Hexano**. 2009. Dissertação de Mestrado – Curso de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade de Campinas.

D'AMALIO, N.; De ANGELIS, E.; NAVARINO, L.; SCHIEVANO, E.; MAMMI, S. **Green coffee oil analysis by high-resolution nuclear magnetic resonance spectroscopy**. *Talanta* (2014), 110, 118–127).

DIAS, Eduardo C.; PEREIRA, Rosemary G.F.A.; BORÉM, Flávio M.; CUNHA, Sara; FERNANDES, José O.; **Determinação dos Níveis de Trigonelina, Furfural, Ácidos Clorigênicos e Cafeína no Processamento e na Torração dos Grão de Café Imaturo**. VII Simpósio de Pesquisas dos Cafés do Brasil, 2011.

DIAS, Rafael C.E.; BENASSI, Marta T.; **Metodologia Cromatográfica para Avaliação de Diterpenos em Tecidos de Café: Polpa, Endosperma e Folhas**. Artigo. Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, 2007.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária; **Consumo Mundial de Café Atinge 165 Milhões de Sacas no Ano Cafeeiro 2018-2019**. Acesso em 20/02/2019.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária; **Passo a Passo para o Uso do Cromatógrafo Gasoso Modelo GC-CP3800 Varian para Análises de Gases de Efeito Estufa (GEEs)**; ISSN 1983-0513 Maio, 2014.

EFTHYMIPOULOS, Ioannis; HELLIER, Paul; LADOMMATOS, Nicos; PRODILI, Alessandro R.; EVELEIGH, Aaron; ALIEV, Abil; KAY, Arthur; LAMPTEV, Ben M.; **Influence of solvent selection and extraction temperature on yield and composition of lipids extracted from spent coffee grounds**. *Jornal Elsevier - Industrial Crops & Products* 119 (2018) 49-56.

ESCORSIM, Alexis M.; ROCHA, Grazielli; VARGAS, José V.C.; MARIANO, André B.; RAMOS, Luis P.; CORAZZA, Marcos L.; CORDEIRO, Claudiney S.; **Extraction of Acutodesmus Obliquus Lipids Using a Mixture of Ethanol and Hexane as Solvent**. *Biomass and Bioenergy*, vol. 108, January 2018, pages 470-478.

FISPQ Hexano – **Ficha de Segurança de Produtos Químicos**. NºBR608, Versão 9, data 19/10/2017.

FREITAS, Suely P.; LAGO, Regina C.A.; **Equilibrium Data for the Extraction of Coffee and Sunflower Oils with Ethanol**. Brazilian Journal of Food Technology, vol.10, n.3, 2007.

GERIS, Regina; SANTOS, Nádia A. C.; AMARAL, Bruno A.; MAIA, Isabelle S.; CASTRO, Vinícius D.; CARVALHO, José R. M.; **Biodiesel de Soja – Reação de Transesterificação para Aulas Práticas de Química**. Química Nova, vol. 30, n. 5, 1369-1373, 2007.

GONZÁLEZ, C.O.B.; FERRARI, R.A., PIGHINE; A. L., PARKA, K. J.; **Evaluación Preliminar del Etanol Anhidro como Solvente en la Extracción de Aceite de Semillas de Jatrofa (Jatropha curcas L.)**. Grasas y Aceites, vol. 61(3), p.295-302, 2010.

GOMES, Ana Carolina G.; FLEURY, Caroline S.; ZUNIGA, Abraham D.G.; PINEDO, Aroldo A.; CARDOSO, Ila R.M.; **Cinética da Extração do Óleo de Babaçu Visando a Produção de Biodiesel**. Centro Científico Conhecer, 2013.
HO, W. W.; NG, H. K.; GAN, S. **Advances in ultrasound-assisted transesterification for biodiesel production**. Applied Thermal Engineering. vol. 100, p. 553-563, 2016.

JUNIOR, Celso T.; **Extração de Óleo de Soja com Etanol e Transesterificação Etilica na Miscela**. Dissertação de Mestrado – Universidade de São Paulo – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, 2008.

LAGO, Regina C.A.; **Lipídeos em Grãos de Café**. B. CEPPA, Curitiba, vol. 19, n. 2, p. 319-340, 2001.

LAGO, Regina C.A.; FREITAS, Suely P.; **Extração dos Óleos de Café Verde e da Borra com Etanol Comercial**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, ISSN 0103-5231, 2006.

MALTA, Marcelo R.; CHAGAS, Sílvio J.R.; **Caracterização de Compostos Não-Voláteis em Diferentes Cultivares de Cafeeiro**. VI Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, 2009.

MARINHO, Mary R.M; **Planejamento Fatorial: Uma Ferramenta Poderosa para os Pesquisadores**. Congresso Brasileiro de Ensino de Engenharia, 2005.

MATOS, Leonardo J.B.L.; COSTA, Enio; LIMA, Larissa P.L; FERNANDES, André N.; **Estudo Comparativo da Extração do Óleo da Borra de Café.** Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil

MELO, Erika M.G.; **Um Método Espectrofotométrico para Quantificação de Furfural em Cachaças por Extração Líquido-Líquido.** Dissertação de Mestrado - Universidade Federal da Paraíba – Centro de Ciências Exatas e da Natureza, 2014.
MOURA, C. L.; MOREIRA, I.C.; LIMA, L.F.; SAKANAKA, L.S.; **Extração e Caracterização da Composição Lipídica da Borra de Café Robusta e Arábica.** XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos.

NASCIMENTO, Caroline M.; **Estudo de Modelos Matemáticos aplicados à cinética de extração de óleos em condição supercríticas.** Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade Federal de Uberlândia, 2017.

NORA, Flávia M.D.; BORGES, Caroline D.; **Ultrasound pretreatment as an alternative to improve essential oils extraction;** Ciência Rural, Santa Maria, v.47: 09, e20170173, 2017.

NOSARI, Anna B.F.L. LIMA, Juliana F.; SERRA, Osvaldo A.; FREITAS, Luis A.P.; **Improved Green Coffee Oil Antioxidant Activity for Cosmética Purpose by Spray Drying Microencapsulation.** Revista Brasileira de Farmacognosia, 25 (2015) 307–311, 2015.

NOVAES, Fábio J. M.; NETO, Francisco R.A.; REZENDE, Claudia M.; **Diterpenos do Café Como Possíveis Marcadores de Qualidade da Bebida.** Artigo. IX Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, 2015.

OIGMAN, S.S.; ROMA S.; JUNIOR, H.M.S.; HOVELL, A.M.C.; HAMERSKI, L.; REZENDE, C.M.; **Microwave-assisted methanolysis of green coffee oil.** Food Chemistry 134 (2012) 999-1004.

OLIVEIRA, Paola. **Óleos de Grãos de Café Verde Obtido por Extração Supercrítica, Extração com Fluido Pressurizado e Comparação de sua Composição com o Óleo de Café Extraído pelos Pequenos Produtores do Estado de São Paulo – Análise da Concentração de Compostos Bioativos.** Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, 2013.

PEREDA, M.C.V.; DIEAMANT, G.C.; EBERLIN, S.; NOGUEIRA, C.; COLOMBI, D.; Di STASI, L.C.; QUEIROZ, M.L.S.; **Effect of green *Coffea arabica* L. seed oil on extracellular matrix components and water-channel expression in in vitro and ex vivo human skin models.** J. Cosmet. Dermatol. Vol.8 (2009) 56-62.

PRADO, Rodrigo. **Avaliação Comparativa Entre a Extração do Óleo de Soja com Hexano e com Álcool Anidro e as Diferenças Físico- Químicas no Farelo.** 2014. Trabalho de Conclusão de Curso – Curso Superior de Tecnologia em Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Ponta Grossa.

RAMALHO, Hugo F.; SUAREZ, Paulo A. Z. **A Química dos Óleos e Gorduras e seus Processos de Extração e Refino.** Revista Virtual de Química, ISSN 1984-6835, vol.5, n.1, jan.2013.

REDA, S.Y.; Carneiro, P.I.B. **Parâmetros físico-químicos do óleo de milho in natura e sob aquecimento calculado pelo programa PROTEUS RMN H1.** UEPG Ci. Exatas Terra, Ci. Agr. Eng., Ponta Grossa, vol. 12, n. 2, p. 31–36, 2006. Revista Eletrônica *The Coffee Traveler*. **Sobre o Fox Bean e Outras Lendas.** Acesso em 02/03/2019.

SANTOS, F. F. P. dos. **Produção de biodiesel assistida por ultra-som.** 2009. 128 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2009. Disponível em: Acesso em: 30 mar. 2018

SAXENA, K.D, SHARMA, K.S., SAMBIC, S.S. **Kinetics and Thermodynamics of Cottonseed Oil Extraction.** Grasas e Aceites, vol.62(2), p.198-205, 2011.

SAWADA, Miriam M.; **Estudo da Viabilidade Técnica da Substituição de Hexano por Etanol no Processo de Extração de Óleo de Soja: Cinética da Extração e Índices de Qualidade.** Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, 2012.

SANTOS R.D., Gagliardi A.C.M., Xavier H.T., Magnoni C.D., Cassani R., Lottenberg A.M.P., Casella Filho A., Araújo D.B., Cesena F.Y., Alves R.J., Felon G., Nishioka S.A.D., Faludi A.A., Geloneze B., Scherr C., Kovacs C., Tomazzela C., Carla C., Barrera-Arellano D., Cintra D., Quintão E., Nakandakare E.R., Fonseca F.A.H., Pimentel I., Santos J.E., Bertolami M.C., Rogero M., Izar M.C., Nakasato M., Damasceno N.R.T., Maranhão R., Cassani R.S.L., Perim R., Ramos S., **I Diretriz sobre o consumo de gorduras e saúde cardiovascular.** Sociedade Brasileira de Cardiologia. Artigo, vol. 100 n.1, supl.3. São Paulo, janeiro de 2013.

SCARAVELLI, Nicole S., CUNHA, Flávia S., CAPELA, Marisa V.; CAPELA, Jorge M.V.; **Métodos Matemáticos na Análise Cinética Não isotérmica.** Proceeding Series of the Brazilian Society of Applied and Computational Mathematics, vol. 2, n. 1, 2014.

SCHNEIDER, Caroline C.; **Utilização de Ultrassom em Química Orgânica**. Monografia do curso de Bacharelado e Licenciatura em Química, Universidade Federal de Pelotas, 2005.

SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO ÀS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS (SEBRAE). **Estudo traz o panorama do mercado de cafés e cafeterias no Brasil**. Disponível em: <https://blog.sebrae-sc.com.br/cafe-cafeterias/>. Acesso em 29/11/2019.

SIQUEIRA, Heloisa H.; ABREU, Celeste M.P.; **Composição Físico- Química e Qualidade do Café Submetido a Dois Tipos de Torração e com Diferentes Formas de Processamento**. Artigo, 2005.

SPEER, Karl; SPEER, Isabelle K. **The Lipid Fraction of the Coffee Bean**. Institute of Food Chemistry, Technische Universität Dresden, Germany, Braz. J. Plant Physiol., 18(1):201-216, 2006.

SILVA, Luciano L.; FERNANDES, Suellen C.; COSTELLI, Murilo C.; SAVIO, Juliana; LOPES, Toni J.; BESEGATTO, Stefane V.; CAPELEZZO, Ana P.; **Extraction Parameters of Essential Oil of Coffe With the Use of CO2 Supercritical**. Coffee Science, Lavras, vol. 10, n. 1, p. 65 - 75, jan./mar. 2015.

SOUZA, Carlos A.; **Sistemas Catalíticos na Produção de Biodiesel por Meio de Óleo Residual**. Encontro de Energia no Meio Rural, 2006, Acesso 28/11/2019. Disponível em: http://www.proceedings.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=MSC0000000022006000200040&lng=en&nrm=iso.

SOUZA, Ingrid P.; PRADO, Gláucia H.C.; SANTOS, Diego T.; MEIRELES, Maria A. A.; **Estudo da Influência do Método de Extração na Obtenção de Extratos de Sementes de Myciaria cauliflora**. Laboratório de Separações Físicas (LASEFI) – FEA/Unicamp. Departamento de Engenharia de Alimentos, Campinas/SP. Artigo, 2010.

TSUKUI, A.; OIGMAN, S.S.; REZENDE, C.M.; **Óleos de Grãos de Café Cru: Diterpenos Cafestol e Caveol**. Revista Virtual de Química, ISSN 1984-6835, 6 (1), 16-33, 2014.

TSUKUI, Anna; **Extração Assistida por Micro-ondas de Óleo de Café Verde (*Coffea arabica* L.) e Quantificação de Diterpenos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência**. Dissertação de Mestrado Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, Instituto de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2013.

TURATTI, J.M. **Extração e Caracterização de Óleo de Café**. 2º Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, 2001.

VIDAL, Hélcio M. **Composição Química e a Qualidade do Café (*Coffea arabica* L.) Durante o Armazenamento**. 2001. Tese de Mestrado – Curso de Pós Graduação em Agronomia da Universidade Federal de Viçosa.

WAGEMAKER, Tais A.L.; **Variabilidade do Teor de Óleo, de Seu Fator de Proteção Solar e de Outros Componentes da Fração Lipídica do Gênero *Coffea* Visando Usos Alternativos aos Grãos**. Dissertação de Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical – Instituto Agronômico, Campinas, 2009.