

## **Estudo da extração de compostos bioativos em café verde**

Geovana R. Cavilha (IC)<sup>1</sup>, Germano O. Marré (IC)<sup>2</sup>, Marlon B. Anceschi (IC)<sup>1</sup>, Jheniffer O. Alves (IC)<sup>1</sup>, Aloísio J. B. Cotta\* (PQ)<sup>3</sup>

1- *Graduando em Agronomia, Universidade Federal do Espírito Santo - Campus São Mateus.*

2- *Graduando em Engenharia Química, Universidade Federal do Espírito Santo - Campus São Mateus.*

3- *Professor do Departamento de Ciências Naturais, Universidade Federal do Espírito Santo - Campus São Mateus.*

\*[aloisio.cotta@ufes.br](mailto:aloisio.cotta@ufes.br)

**Resumo:** Os ácidos clorogênicos estão entre os compostos bioativos mais importantes do café, sendo responsáveis por propriedades antioxidantes e sensoriais. Este trabalho avaliou os efeitos da temperatura, teor de metanol e volume de extrator sobre a extração de compostos bioativos em amostras de café verde. O estudo foi conduzido por meio de um planejamento fatorial fracionário. Os resultados mostraram que as três variáveis avaliadas influenciam significativamente a eficiência da extração, e por conseguinte as concentrações registradas. Destaca-se os efeitos da temperatura sobre a extração de ácidos clorogênicos, volume do extrator para trigonelina e teor de metanol para cafeína. Conclui-se que a padronização dos métodos de extração é essencial para a comparação de resultados entre publicações/estudos.

**Palavras-chave:** Otimização, Cromatografia, Ácidos clorogênicos, Cafeína, Trigonelina

### **Introdução**

Os ácidos clorogênicos (AC) são compostos bioativos importantes encontrados no café, são o principal grupo de polifenóis presentes no grão verde, compondo cerca de 12% da dos grãos verdes despulpados. Esses compostos são conhecidos por suas propriedades antioxidantes e seus potenciais benefícios à saúde, além de contribuírem para o sabor e aroma característicos do café (Stefanello, et al., 2019; Makiso, et al., 2023).

Dentre os AC destacam-se os isômeros (3, 4 e 5) do ácido cafeoilquínico (CQA), sendo o ácido 5-O-cafeoilquínico (5-CQA), conhecido como ácido neoclorogênico, o mais abundante (Nogueira e Trugo, 2003). Além dos AC, muitos estudos se dedicam a medição das concentrações de trigonelina e cafeína em cafés verdes e torrados na busca de contrastes composicionais entre as variedades conilon e arábica (Agnoletti et al., 2019), bem como na tentativa de correlacionar atributos sensoriais com a composição (Farah, 2006; Cwиковá, et al., 2022). Desta forma, fica claro a importância de estudar as variáveis que influenciam a eficiência dos procedimentos de extração dos compostos bioativos. Este trabalho objetivou avaliar os efeitos da temperatura, teor de metanol e volume de extrator sobre a concentração medida de 11 compostos bioativos de amostras de café verde.

### **Metodologia**

Uma amostra de café verde (CV) conilon (safra 2024/25) foi moída (moída <0,8mm), seca (100 °C/2h) e porções de 0,500g pesadas em tubos Falcon de 50mL para avaliar a

eficiência das condições de extração, seguindo um planejamento fatorial fracionário,  $2^{3-1}$ , com ponto central e duplicatas. Foram estudados os efeitos da variação da temperatura, do volume e do percentual de metanol na solução extratora, conforme apresentado na tabela 1, sendo as extrações realizadas em banho-maria durante 20 minutos, com agitação em vórtex (por 10 segundos) a cada 5 minutos.

TABELA 1. Condições empregadas na extração, conforme planejamento  $2^{3-1}$ , com ponto central

Ensaio	Temperatura (° C)	V (ml) extrator	Metanol (%)
A	60	20	40
B	60	40	10
C	100	20	10
D	100	40	40
E	80	30	25

Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Os extratos obtidos foram centrifugados (4.000rpm/1min), porções de 0,25mL foram filtradas em membrana de 0,45 $\mu$ m (Perfecta, Nylon) e gravimetricamente diluídas com 4,8mL de solução metanólica à 20% (v/v). Todos reagentes usados foram de grau HPLC (Sigma-Aldrich). As determinações foram realizadas em cromatógrafo Shimadzu (Prominence 20i) com detector PDA, pela injeção de 4 $\mu$ L em coluna C18 (ODS2, de 150x4,6mm), termostaticada a 40°C, com vazão de 1,05mL/min da fase móvel composta por 2,3% de solução de ácido fosfórico 0,20% (v/v) com gradiente de metanol entre 5 a 55% em 30 min, seguidos de 10 de estabilização. Os ácidos clorogênicos-AC (isômeros 3, 4 e 5-CQAs, 3, 4 e 5-FQA, 3,4; 3,5 e 4,5-di-CQAs) foram quantificados pela integração dos picos registrados em 325m, trigonelina e cafeína com a absorbância em 270nm. Porções de 1 a 10mg dos compostos (AC e trigonelina adquiridos de MCE-Veritas, com pureza >98,5% e cafeína da Sigma-Aldrich, >99%) foram dissolvidos em solução metanólica à 20% obtendo-se padrões entre 100 e 500 mg/kg. Para as análises, o aparelho foi calibrado com uma mistura cobrindo a faixa de 5 a 50 mg/L para os CQAs e cafeína e entre 1 e 10 mg/L para os demais compostos. Uma amostra foi repetidamente analisada, no início e a cada 10 amostras para verificar a estabilidade do sinal analítico, que demonstrou precisão melhor que 5 % entre replicatas da amostra controle.

Os efeitos foram avaliados com o software livre Chemoface (Nunes *et al.*, 2012).

## Resultados e Discussão

Uma síntese dos resultados é apresentada na tabela 2, para os ácidos clorogênicos, os teores totais de cada grupo são apresentados, além da soma geral (AC<sub>total</sub>). Uma escala de

cores foi aplicada. Para destacar, em vermelho os maiores valores obtidos nos ensaios realizados com a condição D para ambas amostras.

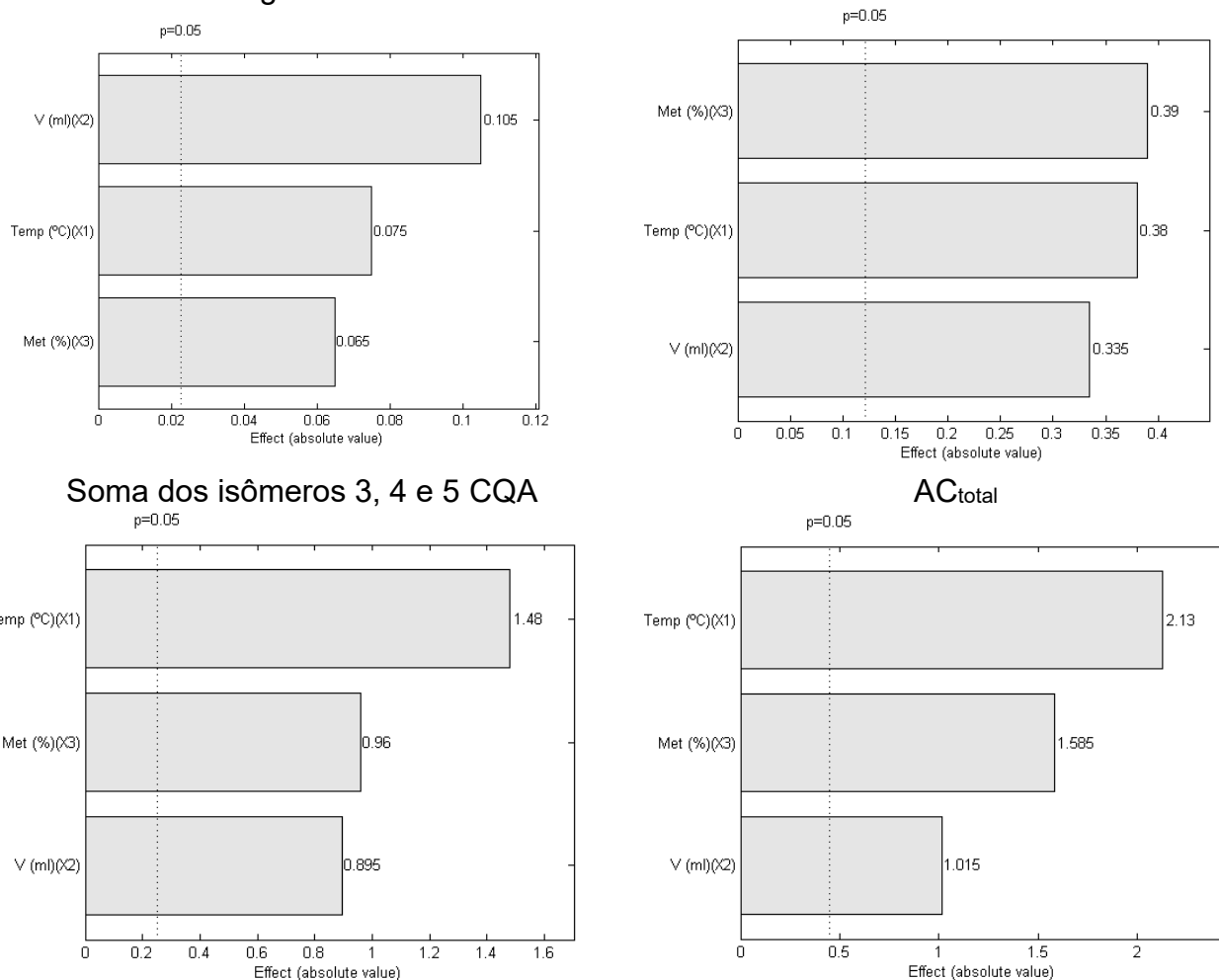
Tabela 2. Teores (%) registrados na amostra CV

Ensaio	Trigonelina	Cafeína	CQAs	FQAs	di-CQAs	AC <sub>total</sub>
A	0,54	2,27	6,06	1,32	0,64	8,01
	0,52	2,28	5,86	1,26	0,71	7,83
B	0,59	2,32	6,07	1,17	0,51	7,74
	0,55	2,12	5,72	1,13	0,11	6,96
C	0,54	2,28	6,50	1,45	0,38	8,34
	0,54	2,25	6,46	1,46	0,67	8,59
D	0,70	2,94	8,28	1,81	0,86	10,95
	0,72	3,04	8,39	1,78	1,01	11,18
E	0,55	2,33	6,42	1,36	0,71	8,50
	0,56	2,43	6,65	1,41	0,78	8,85

Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Diagramas de Pareto foram empregados na avaliação estatística dos efeitos, figura 1. De modo geral, todas as 3 variáveis estudadas influenciam significativamente ( $\alpha=5\%$ ) a extração dos compostos estudados.

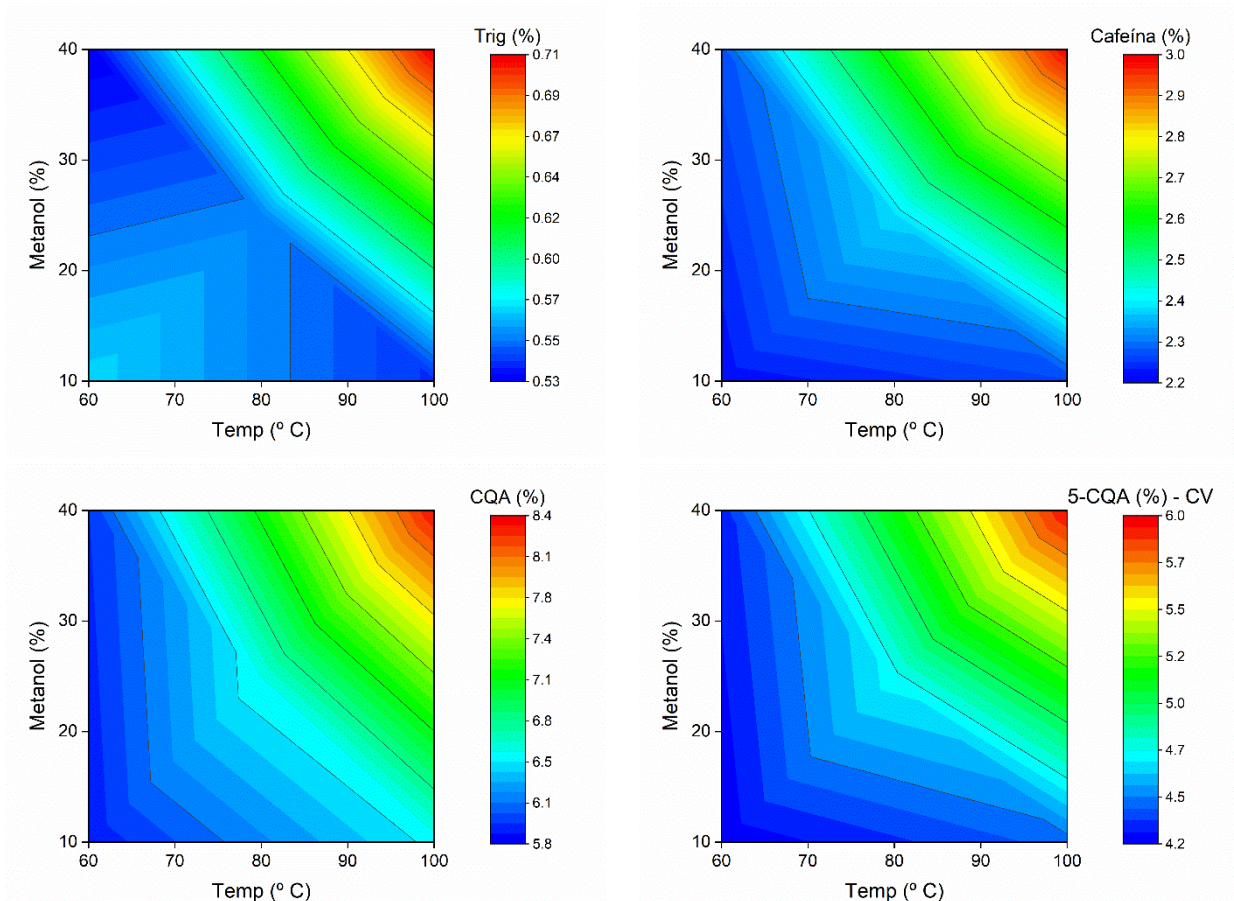
Figura 1 – Diagramas de Pareto, usados na avaliação da significância ( $\alpha=5\%$ ) dos efeitos das variáveis



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Para a trigonelina, o volume da solução extratora foi o fator de maior influência. Já para a cafeína, a eficiência da extração dependeu principalmente do percentual de metanol e da temperatura. No caso dos ácidos clorogênicos (representados pela soma dos CQAs, cerca de 80% do  $AC_{total}$ ), a variável mais determinante foi a temperatura de extração. Mapas de contorno, entre teor de metanol e temperatura de extração, são apresentados na figura 2. Percebe-se incrementos de 30 a 70% nas concentrações medidas entre os níveis inferior e superior das variáveis testadas. Por exemplo, para o 5-CQA a concentração média dos ensaios com as condições B e D variaram de 4,2 a 6,0% (figura 2), sendo sempre mais efetiva na condição D.

Figura 2 – Mapas de contorno (Temperatura Vs Percentual de Metanol) para alguns parâmetros



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

## Considerações Finais

As variáveis avaliadas mostraram efeitos significativos, indicando que os procedimentos de extração influenciam fortemente os resultados. Assim, a comparação entre estudos deve considerar essas condições, o que dificulta a obtenção de valores de referência para genótipos

e variedades. Recomenda-se a padronização da extração de compostos bioativos do café, sendo possível utilizar uma mesma condição ótima para cafés verdes e torrados.

## **Agradecimentos**

Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo – FAPES, edital FAPES/SEAG - Inovagro N° 03/ 2024. N° SIAFEM: Processo 2024-D45LB.

## **Referências**

AGNOLETTI, Bárbara Z. et al. Discriminação de café arábica e conilon utilizando propriedades físico-químicas aliadas à quimiometria. **Revista Virtual de Química**, v. 11, n. 3, p. 785-805, 2019.

Cwиковá, O.; Komprda, T.; Šottníková, V.; Svoboda, Z.; Simonová, J.; Slováček, J.; Jůzl, M. Effects of Different CWIKOVÁ, Olga et al. Effects of different processing methods of coffee arabica on colour, acrylamide, caffeine, chlorogenic acid, and polyphenol content. **Foods**, v. 11, n. 20, p. 3295, 2022.

MAKISO, Markos Urugo et al. Bioactive compounds in coffee and their role in lowering the risk of major public health consequences: A review. **Food science & nutrition**, v. 12, n. 2, p. 734-764, 2024.

NOGUEIRA, Márcia; TRUGO, Luiz Carlos. Distribuição de isômeros de ácido clorogênico e teores de cafeína e trigonelina em cafés solúveis brasileiros. **Food Science and Technology**, v. 23, p. 296-299, 2003.

STEFANELLO, Naiara et al. Coffee, caffeine, chlorogenic acid, and the purinergic system. **Food and Chemical Toxicology**, v. 123, p. 298-313, 2019.