



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA – UESB**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM**  
**ENGENHARIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS**



Área de Concentração: Engenharia de Alimentos e Ciência de Alimentos

**CASCAS RESIDUAIS DE CAFÉ ORGÂNICO: COMPOSIÇÃO  
QUÍMICA, POTENCIAL ANTIOXIDANTE, FATORES  
ANTINUTRICIONAIS E APLICAÇÃO TECNOLÓGICA**

Autor: Jorge Vitório Gomes das Neves  
Orientador: Prof. Dr. Marcondes Viana da Silva

ITAPETINGA  
BAHIA-BRASIL  
Fevereiro de 2016

**JORGE VITÓRIO GOMES DAS NEVES**

**CASCAS RESIDUAIS DE CAFÉ ORGÂNICO: COMPOSIÇÃO  
QUÍMICA, POTENCIAL ANTIOXIDANTE, FATORES  
ANTINUTRICIONAIS E APLICAÇÃO TECNOLÓGICA**

Dissertação apresentada como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos, no Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia.

Orientador: Prof. Dr. Marcondes Viana da Silva

Co-orientador: Prof. Dr. Daniel de Melo Silva

ITAPETINGA  
BAHIA-BRASIL  
Fevereiro de 2016

633.73

N424c Neves, Jorge Vitório Gomes das

Cascas residuais de café orgânico: composição química, potencial antioxidante, fatores antinutricionais e aplicação tecnológica. / Jorge Vitório Gomes das Neves. - Itapetinga: UESB, 2016.

82f.

Dissertação apresentada como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos, no Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Sob a orientação do Prof. D.Sc. Marcondes Viana da Silva e co-orientação do Prof. D.Sc. Daniel de Melo Silva.

1. Fitoquímicos bioativos. 2. Café orgânico - Subprodutos. 3. Cafeicultura. I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos. II. Silva, Marcondes Viana da. III. Silva, Daniel de Melo.

**CDD(21): 633.73**

Catálogo na fonte:

Adalice Gustavo da Silva – CRB/5-535  
Bibliotecária – UESB – Campus de Itapetinga-BA

Índice Sistemático para Desdobramento por Assunto:

1. Fitoquímicos bioativos
2. Café orgânico - Subprodutos
3. Cafeicultura



**Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia**  
Programa de Pós-Graduação  
**Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos**



Áreas de Concentração: Engenharia de Alimentos  
Ciência de Alimentos

**DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO**

**Título:** CASCAS RESIDUAIS DE CAFÉ ORGÂNICO: COMPOSIÇÃO QUÍMICA, POTENCIAL ANTIOXIDANTE, FATORES ANTINUTRICIONAIS E APLICAÇÃO TECNOLÓGICA.

**Autor (a):** JORGE VITÓRIO GOMES DAS NEVES

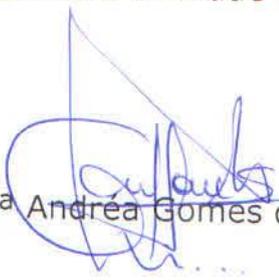
**Orientador (a):** Prof.<sup>o</sup> Dr. Marcondes Viana da Silva

**Co-orientador (a):** Prof.<sup>o</sup> Dr. Daniel de Melo Silva

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de **MESTRE EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: CIÊNCIA DE ALIMENTOS**, pela Banca Examinadora.

  
Prof.<sup>o</sup> Dr. Marcondes Viana da Silva (UESB)

  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Simone Andrade Gualberto (UESB)

  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Andrea Gomes da Silva (UFBA)

**Itapetinga-BA, 25 de fevereiro de 2016.**

“A vida é um desafio, fogo cruzado eu sei. No rumo traçado me guio, no meu faro eu confio,  
na busca do que sonhei! Porta fechada é nada, é mais uma lição... A perseverança me ensinou,  
só conquista o que se sonhou com fé e determinação.”

*Nelson Rufino*

A minha família meu grande alicerce, e em especial a minha mãe Márcia Sobral, por todo incentivo, parceria e confiança.

DEDICO

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB) pela oportunidade de continuar a minha formação e aperfeiçoamento profissional;

Ao Programa de Pós-graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos e os docentes do programa por ampliarem meu conhecimento na área de alimentos;

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pela bolsa concedida;

Ao Professor Marcondes Viana da Silva pela orientação e apoio no desenvolvimento do estudo;

Ao Professor Daniel de Melo Silva por todo incentivo e coorientação;

Aos colegas do Núcleo de Estudos em Ciência de Alimentos, que dividiram desafios que envolvem uma pesquisa;

Aos colegas da turma do mestrado em alimentos, pela convivência, e em especial a Joyce Moreno e Márcio Souza pela parceria ao longo da jornada;

À Fazenda Floresta que gentilmente cedeu às amostras que foi a base de todo o estudo desenvolvido;

A toda minha família que embarcou comigo nesse desafio, e mesmo distante, sempre me confortaram e me impulsionaram a seguir em frente;

A todos os amigos, meus grandes parceiros da vida, que sempre emanaram positividade e torceram por mim;

E minha imensa gratidão a Deus que é a fonte de toda minha energia, e foi quem me guiou nessa trajetória e vai continuar guiando minha vida nos futuros desafios que o destino me propiciar!

## SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS .....	viii
LISTA DE FIGURAS .....	ix
RESUMO .....	x
ABSTRACT .....	xi
1 INTRODUÇÃO.....	2
2 OBJETIVOS.....	5
2.1 Objetivo Geral.....	5
2.2 Objetivos Específicos .....	5
3 REVISÃO DE LITERATURA .....	6
3.1 Café.....	6
3.2 Composição química do café.....	8
3.3 Beneficiamento do café .....	10
3.4 Cascas de café.....	12
3.5 Produção de alimentos orgânicos .....	14
3.6 Metabólitos secundários .....	16
3.7 Bebidas antioxidantes .....	20
3.8 Métodos de extração .....	22
3.9 Ensaio utilizados para determinação da capacidade antioxidante.....	23
CAPÍTULO I – Caracterização química e potencial antioxidante de cascas do café arábica orgânico ( <i>Coffea arabica</i> ) produzido na região da Chapada Diamantina-Ba .....	26
RESUMO .....	26
ABSTRACT .....	26
1 INTRODUÇÃO.....	27
2 MATERIAIS E MÉTODOS .....	29
2.1 Amostragem.....	29

2.2 Composição centesimal das cascas residuais de café orgânico .....	30
2.2.1 Determinação de Umidade .....	30
2.2.2 Determinação de cinzas totais .....	30
2.2.3 Determinação de Proteína .....	30
2.2.4 Determinação de lipídios.....	30
2.2.5 Determinação de carboidratos totais .....	31
2.3 Ensaio Preliminar para seleção do método de extração sólido-líquido .....	31
2.3.1 Seleção do método mais eficiente de extração aquosa de compostos fenólicos totais das cascas residuais de café orgânico.....	32
2.4 Produção de extratos aquosos das cascas residuais de café orgânico.....	32
2.5 Caracterização química dos extratos aquosos das cascas residuais de café orgânico.....	33
2.5.1 Determinação de fenólicos totais .....	33
2.5.2 Determinação de flavonoides totais .....	33
2.5.3 Determinação dos Taninos Condensados - Método da vanilina .....	33
2.6 Ensaios <i>in vitro</i> da atividade antioxidante dos extratos aquosos das cascas residuais de café orgânico.....	34
2.6.1 Método do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) .....	34
2.6.2 Co-oxidação $\beta$ -caroteno/Ácido Linoleico .....	35
2.6.3 Poder Redutor.....	35
2.7 Comparação da composição química e atividade antioxidante entre o extratos aquoso dos grãos e extratos aquosos de suas cascas residuais.....	36
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	37
4 CONCLUSÕES .....	47
CAPÍTULO II – Desenvolvimento de bebida a partir da casca de <i>Coffea arabica</i> orgânico: caracterização química, potencial antioxidante e análise sensorial .....	48
RESUMO .....	48
ABSTRACT .....	48
1 INTRODUÇÃO.....	49
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	51

2.1 Análises Microbiológicas.....	51
2.2 Fatores antinutricionais.....	52
2.2.1 Ácido oxálico .....	52
2.2.2 Hemaglutinas.....	53
2.3 Produção de extratos aquosos das cascas residuais de café orgânico.....	53
2.4 Preparo do concentrado de Abacaxi .....	53
2.5 Preparo da bebida em diferentes concentrações .....	53
2.6 Análise Sensorial .....	54
2.7 Composição química e Análise Antioxidante.....	54
2.7.1 Determinação de fenólicos totais .....	55
2.7.2 Determinação de flavonoides totais .....	55
2.7.3 Determinação dos Taninos Condensados - Método da vanilina .....	55
2.7.4 Método do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH).....	56
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	58
4 CONCLUSÕES .....	65
REFERÊNCIAS .....	66
V- ANEXOS.....	79

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1-</b> Composição química de grãos de café (arábica e robusta) verdes	8
<b>Tabela 2-</b> Composição química das cascas de café	13
<b>Tabela 3-</b> Composição centesimal das cascas de café orgânico	37
<b>Tabela 4-</b> Teores de fenólicos totais encontrado no teste preliminar com os diferentes métodos de extração	38
<b>Tabela 5-</b> Caracterização química dos extratos aquosos de cascas de café arábica orgânico	39
<b>Tabela 6-</b> Atividade antioxidante dos extratos aquosos de cascas de café arábica orgânico	42
<b>Tabela 7-</b> Caracterização fitoquímica e potencial antioxidante de extratos aquosos dos grãos de café arábica	45
<b>Tabela 8-</b> Contagem microbiológica de coliformes, salmonela sp e bolores e leveduras	58
<b>Tabela 9-</b> Fatores Antinutricionais: hemaglutinas e ácido oxálico	59
<b>Tabela 10-</b> Caracterização química das formulações desenvolvidas a partir das cascas de café arábica orgânico	60
<b>Tabela 11-</b> Capacidade antioxidante, expressa como EC <sub>50</sub> , do extrato aquoso das cascas de café e da bebida antioxidante, utilizando o radical livre DPPH.	61
<b>Tabela 12-</b> Atributos sabor, textura, aroma e aspecto global da bebida antioxidante desenvolvida com as cascas resíduas de café orgânico com diferentes concentrações do concentrado de abacaxi	62
<b>Tabela 13-</b> Equações de regressão com significância e coeficiente de determinação para bebida antioxidante desenvolvida com as cascas resíduas de café orgânico com diferentes concentrações do concentrado de abacaxi	63

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1-</b> Fruto do café com desenho esquemático de suas estruturas	6
<b>Figura 2-</b> Estrutura química da cafeína	9
<b>Figura 3-</b> Estruturas químicas de (A) trigonelina, (B) N-metilpiridínio, (C) ácido nicotínico	10
<b>Figura 4-</b> Diagrama simplificado do processamento do café por via seca	11
<b>Figura 5-</b> Classificação dos fitoquímicos bioativos	18
<b>Figura 6-</b> Amostra de frutos de café colhidos em julho de 2014 na Fazenda Floresta; (B) Secagem ao sol dos grãos de café e de suas respectivas cascas.	29
<b>Figura 7-</b> Diagrama simplificado com procedimento adotado nos métodos de extração do ensaio preliminar	31
<b>Figura 8-</b> Caracterização da atividade antioxidante dos extratos aquosos de cascas residuais de café pelo método do poder redutor	43

## RESUMO

NEVES, J. V. G. **Cascas residuais de café orgânico: composição química, potencial antioxidante, fatores antinutricionais e aplicação tecnológica.** Itapetinga, BA: UESB, 2016. 82p. Dissertação. (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos, Área de Concentração em Ciência de Alimentos).\*

O café é uma planta de grande importância econômica para o Brasil, que atualmente é o maior produtor de grãos de café beneficiado do mundo. O beneficiamento do fruto gera uma grande quantidade de resíduos, principalmente a casca de café. A bebida café é consumida em todo mundo, pelo seu sabor e aroma, mas, além disso, atualmente seu consumo moderado vem sendo recomendado em virtude de efeitos fisiológicos benéficos à saúde, como a ação antioxidante e psicoestimulante, que estão associadas aos fitoconstituintes presentes nos grãos e que também estão disponíveis nas suas cascas residuais. Neste contexto, objetivou-se com presente estudo avaliar a composição química, potencial antioxidante, fatores antinutricionais e aplicação tecnológica para cascas residuais de café arábica orgânico. Os resultados do estudo evidenciaram que a extração aquosa é eficaz na obtenção de fitoconstituintes como os fenólicos totais, que variaram de 396,8 mg EAG.100 g<sup>-1</sup> à 454,5 mg EAG.100 g<sup>-1</sup>, e a decocção foi o método de extração mais eficiente. Nas cascas foi observado ausência de hemaglutinas e baixo teor de oxalato (3,31 mg de ácido oxálico.100 g<sup>-1</sup>). A atividade antioxidante do extrato aquoso das cascas frente ao radical DPPH, apresentou o melhor EC<sub>50</sub> igual a 2,7 mg.mL<sup>-1</sup>, e na co-oxidação β-caroteno/ácido linoleico os extratos obtiveram percentuais de inibição acima de 50%. Quanto à análise sensorial da bebida antioxidante desenvolvida, os resultados indicaram que os provadores não treinados gostaram ligeiramente do novo produto, demonstrando assim que o uso das cascas é viável para recuperação de fitoconstituintes de interesse da indústria de alimentos, farmacêutica e cosmética.

**PALAVRAS CHAVE:** Fitoquímicos bioativos. Subprodutos. Cafeicultura.

---

\* Orientador: Marcondes Viana da Silva, Dr. UESB e Co-orientador: Daniel de Melo Silva, Dr. UESB.

## ABSTRACT

NEVES, J.V.G. **Residual husks of organic coffee: chemical composition, antioxidant activity, anti-nutritional factors and technological application.** Itapetinga, BA: UESB, 2016. 82p. Dissertation. (Master of Engineering and Food Science, Major Field in Food Science). \*

Coffee is a plant of great economic importance to Brazil, which is currently the largest producer of benefited coffee beans in the world. The processing of the fruit generates a lot of waste, especially the coffee bark. The drink coffee is consumed worldwide, for its flavor and aroma, but, besides, its moderate consumption has been recommended because of beneficial physiological effects on health, such as antioxidant and psychostimulant actions, that are associated to the phytochemicals present in grains and which are also available in their residual bark. In this context, the aim of this study was to evaluate the chemical composition, antioxidant activity, anti-nutritional factors and technological application to residual peel organic Arabica coffee. The study results showed that the aqueous extraction is effective in getting phytochemicals such as total phenolics, which ranged from 396.8 mg EAG.100 g<sup>-1</sup> to 454.5 mg EAG.100 g<sup>-1</sup>, and the decoction is the most suitable extraction method. The absence of hemagglutinin and low oxalate rates (3,31mg of oxalic acid / 100g) were observed in the barks. The antioxidant activity of aqueous extract of the bark in comparison to the DPPH radical showed the best EC<sub>50</sub>, equal to 2.7, and the co-oxidation β-carotene/linoleic acid of the extracts obtained inhibition percentage above 50%. In which refers to the sensory analysis of the antioxidant drink developed, the results indicated that the untrained tasters slightly liked the new product, thereby demonstrating that the use of the barks is viable for the recovery of phytochemicals of interest for the food, pharmaceutical and cosmetics industries.

**KEY WORDS:** Bioactive phytochemicals. Byproducts. Coffee.

---

\* Advisor: Marcondes Viana da Silva, Dr. UESB e Co-advisor: Daniel de Melo Silva, Dr. UESB

## 1 INTRODUÇÃO

O café é uma bebida obtida a partir dos grãos torrados do fruto do cafeeiro e amplamente consumida em todo mundo (SALINARDI et al., 2010), e é um produto de grande importância econômica para o Brasil, segundo dados da Organização Internacional do Café (ICO, 2014), o país é o maior exportador do produto, ocupando a primeira colocação desde 2011, sendo seguido por Indonésia, Etiópia e México.

A produção brasileira de café se concentra nos territórios de Minas Gerais, Espírito Santo e São Paulo. A Bahia oscila entre a quarta e a quinta posição de maior estado produtor de café do Brasil. A produção baiana em 2012 alcançou um volume de 2.164,7 mil sacas (CONAB, 2012), sendo responsável por 5% de toda produção nacional de café.

A Bahia era dividida em três principais regiões produtoras de café, o Cerrado, o Planalto e o Atlântico, sendo que as duas primeiras regiões sempre foram especializadas na produção do café arábica, porém, a partir de 2011, surgiram na Bahia outras regiões com produções significativas de café, como na região da Chapada Diamantina, Planalto da Conquista, região de Itiruçu/Vale do Jiquiriçá/Brejões, cafés naturais finos do Oeste Baiano e o conilon das regiões costeiras do Baixo Sul e Extremo Sul. Por conta da sua dimensão geográfica e às diferentes condições edafoclimáticas, a Bahia dispõe de uma boa amostra de todo o mundo cafeeiro e, portanto, é hoje reconhecida como uma região produtora de bons cafés, desde cafés comerciais até cafés especiais 'super premium' (BAHIA, 2011).

De toda essa grande produção do café do Brasil, uma parte significativa corresponde ao café orgânico, que é cultivado sem o uso de agrotóxicos, fertilizantes químicos ou pesticidas sintéticos. O mercado dos produtos orgânicos é predominantemente constituído por consumidores conscientes com as questões ligadas à saúde e de caráter ambiental e social. É um mercado em ascensão, já que estas questões têm sido alvo de interesse da população, principalmente na associação da alimentação com a saúde e bem estar.

O café orgânico é cultivado sob as condições originais de crescimento da planta, que são recriadas em sistemas agroflorestais, com etapas de cultivo que envolvem o preparo do solo e de mudas, arborização da área, manejo de adubo verde, controle de plantas espontâneas, controle alternativo de pragas e irrigação (EMBRAPA, 2006).

Junto com o processamento das toneladas de grãos de café, que são o produto de interesse econômico da indústria cafeeicultora, são produzidas toneladas de resíduos, que podem significar uma fonte grave de contaminação ambiental (MARTINEZ, 1999; SILVA, 2008), se forem descartados de maneira inadequada e sem nenhum gerenciamento, além de

serem possíveis interferentes da qualidade do produto final, já que o acréscimo desse resíduo ao café torrado e moído pode interferir no sabor e aroma da bebida. Em contrapartida esses resíduos da agroindústria cafeeira podem ter um destino final bem mais promissor, visto que os mesmos apresentam potencial para serem empregados como substrato na obtenção de biomoléculas, agregando-se valor a este resíduo (SOCCOL et al., 1999).

A bebida café, além do aroma e sabor, tem sido utilizada para fins terapêuticos, em virtude da presença de constituintes bioativos, como a cafeína e compostos fenólicos. As cascas contêm quantidades apreciáveis de compostos bioativos, principalmente o ácido clorogênico, que já tem reconhecida atividade antioxidante descrita (NAIDU; MURTHY, 2010). A recuperação de compostos de alto valor agregado a partir dos resíduos agroindustriais pode ser considerada como uma atividade econômica atraente, e as cascas de café podem ser fonte de extração desses compostos bioativos, já que assim como os grãos, contêm substâncias com propriedades fisiológicas, que podem ser utilizadas no desenvolvimento de alimentos funcionais e nutracêuticos, produtos estes que além da nutrição, promovem efeitos benéficos à saúde, como a prevenção de doenças (ESPÖN et al., 2007).

Assim, novos estudos sobre o uso dos resíduos provenientes do beneficiamento dos grãos de café têm sido realizados, a exemplo da aplicação como aditivos alimentares e suplementos de alto valor nutritivo (NAIDU; MURTHY, 2010); produção de aromas através da fermentação no estado sólido (BRAND et al., 2001); cultivo de cogumelos do gênero *Pleurottus* (SILVA et al., 2012); produção de exoglucanase por *Rhizopus stolonifer* (NAVYA et al., 2012); bioetanol (SAHU, 2014); produção de carvão ativado (GONÇALVES et al., 2013); efeito alelopático na produção de vegetais (SILVA et al., 2013); na alimentação animal (SOUZA et al., 2006); como adubos orgânicos (SHEMEKITE et al., 2014).

Alguns estudos já propuseram a investigação de compostos antioxidantes dos resíduos da cadeia produtiva do café, porém em sua maioria, as metodologias empregadas utilizavam extratos obtidos por meio de solventes orgânicos, sendo poucos os trabalhos que avaliaram a presença de compostos fenólicos e atividade antioxidante por meio da extração aquosa.

A extração aquosa é a técnica mais utilizada na produção da bebida café, e esta é apontada como um alimento funcional, em virtude da presença de bioconstituintes funcionais que propiciam efeitos benéficos no organismo humano, e são obtidos utilizando a água como solvente extrator. Além disso, a extração em meio aquoso é uma forma menos poluentes, já que no manejo de solventes orgânicos, o descarte destes sem gerenciamento adequado pode se tornar um risco de contaminação ambiental.

O estudo propõe o aproveitamento das cascas residuais de café arábica orgânico, vislumbrando contribuir para o fornecimento de subsídios para utilização desta matéria prima como fonte de antioxidantes naturais e suas possíveis aplicações nos diversos ramos da indústria de alimentos, farmacêutica e cosmética.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Avaliar a composição química, potencial antioxidante, fatores antinutricionais, e aplicação tecnológica para cascas residuais de café arábica orgânico produzido na Chapada Diamantina.

### 2.2 Objetivos Específicos

Verificar a eficiência da extração aquosa de fitoquímicos hidrossolúveis por diferentes técnicas de extração como infusão, decocção sem agitação, decocção com agitação, circulação contínua de água, extração assistida por ultrassom;

Determinar a composição centesimal, compostos fenólicos totais, flavonoides totais, taninos condensados e fatores antinutricionais;

Analisar o potencial antioxidante utilizando ensaios *in vitro* como o método do DPPH, co-oxidação do ácido linoleico/betacaroteno e poder redutor;

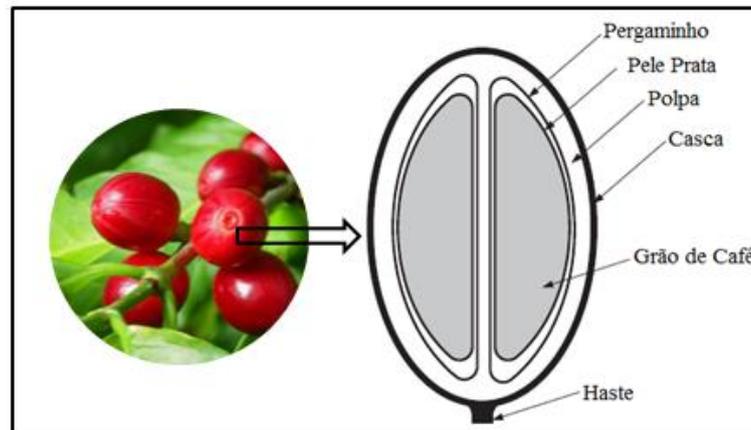
Formular uma bebida a partir das cascas residuais do beneficiamento do café arábica orgânico, bem como realizar análise sensorial e aceitação do novo produto.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Café

O cafeeiro pertence ao Reino *Plantae*, a Família *Rubiaceae* e ao Gênero *Coffea*. O gênero *Coffea*, tem em média, 103 espécies descritas, dentre as diversas espécies de café existentes (BRIDSON; VERDCOURT, 1988), as principais do ponto de vista agroeconômico, são a *Coffea arábica* (café arábica) e a *Coffea canephora* (café robusta). O fruto do café, representado na Figura 1, é composto por dois cotilédones no seu interior, que se encontra com suas faces planas frente um para o outro, e cada um dos grãos é coberto com um tegumento, denominado pele prata. A segunda pele de aspecto amarelado é o pergaminho que recobre cada grão separadamente.

**Figura 1-** Fruto do café com desenho esquemático de suas estruturas



Fonte: Vincent (1987), adaptada.

Esses grãos de café com suas películas ficam incorporados numa pasta mucilaginosa, à polpa, que por sua vez, é coberto por uma pele externa, a casca. O grão de café constitui 50-55% da massa do fruto maduro do café (VINCENT, 1987).

A cafeicultura é uma cultura perene, e tem sua produtividade influenciada pelas condições do clima, pelo ciclo produtivo e pelos tratamentos dispensados aos cafezais. A produção de café movimentava mais US\$ 90,000 milhões por ano, e vem em crescente ascensão em mais de 80 países (RAMALHO et al., 2013). O café robusta é principalmente produzido em países como Vietnã e Indonésia, já o café arábica é mais produzido no Brasil, Colômbia, México, Etiópia, e Guatemala (PETRACCO, 2005). Atualmente o café é um dos maiores produtos

agrícolas negociados do mundo, sendo a base econômica de vários países tropicais em desenvolvimento (RAMALHO et al., 2013).

A Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB) realiza levantamentos de campo da safra da cultura do café, que trazem à estimativa acerca da produção anual. Ao longo do ano são realizados quatro levantamentos, sendo que o primeiro é realizado em dezembro no período pós-florada; o segundo levantamento em abril no período pré-colheita; o terceiro levantamento em agosto, no período pleno da colheita; e o quarto e último levantamento em dezembro no período pós-colheita (CONAB, 2014).

Segundo a primeira estimativa para a safra de café, a Conab projetava uma colheita em 2015 de 44,11 milhões a 46,61 milhões de sacas de 60 quilos do produto beneficiado, mantendo a média produzida em 2014, que foi de 45,35 milhões de sacas. A área plantada com a cultura de café (espécies arábica e conilon) no país totaliza 2.251.968,2 hectares, e estima-se que a produção de café arábica represente 71,2% da produção total de café do Brasil (CONAB, 2014). O café arábica é o mais produzido e mais consumido, pois origina uma bebida de sabor suave e aromático.

No Brasil, o consumo de café se destaca entre as demais bebidas, segundo a Associação Brasileira da Indústria de Café – ABIC. O mercado brasileiro representa 14% da demanda mundial, com um consumo de 4,27 kg de café torrado por habitante/ano, aproximadamente 70 litros para cada brasileiro (ABIC, 2010). Ainda segundo dados da ABIC, numa pesquisa de consumo de café realizada no Brasil, não foram verificadas mudanças significativas no perfil dos consumidores em termos de idade e sexo, no entanto, a classe C vem aparecendo como uma consumidora mais expressiva. O café moído/coado/filtrado permanece como a forma mais consumida em casa, e os chamados cafés especiais (descafeinado, gourmet, orgânico, de origem certificada) tem aumentado o consumo fora de casa.

O consumo do café tem sido atribuído principalmente ao seu sabor e aroma peculiares, mas, além disso, o consumo deste produto vem crescendo em virtude do mesmo estar sendo associado a ações fisiológicas, como o efeito estimulante e antioxidante, por isso tem aumentado o interesse em investigar e verificar o seu impacto sobre a saúde humana (ILLY; VIANI, 2005).

### 3.2 Composição química do café

Estudos recentes têm mostrado que o consumo moderado de café e seus subprodutos acarretam um impacto positivo para saúde humana, já que é uma rica fonte de antioxidantes (ESQUIVEL; JIMÉNEZ, 2012; MURTHY; NAIDU, 2012), contestando assim algumas informações que indicavam malefícios associados a este hábito (CHU, 2012). O café é uma mistura complexa de componentes químicos, como álcoois diterpenóides, alcaloides (cafeína), e ácidos fenólicos (ácido caféico e ácido clorogênico) (GEORGE, RAMALAKSHMI, MOHAN RAO, 2008). Em virtude desta composição química, o café tem sido considerado uma fonte alimentar rica em antioxidantes, podendo assim ser considerado uma das principais fontes de antioxidante da dieta em muitos países (NATELLA, SCACCINI, 2012; TORRES, FARAH, 2010).

O café verde tem em sua composição 10 a 13% (p.p<sup>-1</sup>) de água, enquanto o café torrado pode conter até 5% (p.p<sup>-1</sup>) (CLARKE, 1989). O teor de cafeína e de lipídeos, que são componentes importantes do café varia de acordo às espécies como pode ser observado na Tabela 1.

**Tabela 1-** Composição química de grãos de café (arábica e robusta) verdes

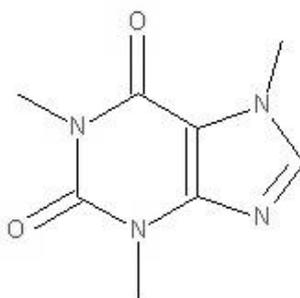
	<b>Arábica Verde</b>	<b>Robusta Verde</b>
<b>Cafeína</b>	0,9-1,2	1,6-2,4
<b>Trigonelina</b>	1,0-1,2	0,6-0,75
<b>Minerais</b>	3,0-4,2	4,0-4,5
<b>Ácidos Clorogênicos Totais</b>	5,5-8,0	7,0-10,0
<b>Ácidos Alifáticos</b>	1,5-2,0	1,5-2,0
<b>Oligossacarídeos</b>	6,0-8,0	5,0-7,0
<b>Polissacarídeos</b>	50,0-55,0	37,0-47,0
<b>Proteínas</b>	11,0-13,0	11,0-13,0
<b>Aminoácidos</b>	2,0	2,0
<b>Lipídios</b>	12,0-18,0	9,0-13,0

Fonte: Clarke e Macrae (1989).

O café robusta cru contém cerca de 1,6-2,4% cafeína, e o arábica tem de 0,9-1,2%. O café arábica apresenta em média 15% de lipídeos em sua constituição, enquanto o café robusta têm apenas 10%. Os carboidratos constituem 50 a 60% do grão de café.

A cafeína (Figura 2) é um alcaloide do grupo das xantinas, identificado como 1,3,7-trimetilxantina, é o componente mais estudado do café, em virtude das suas propriedades psicoestimulantes (TOCI; FARAH; TRUGO, 2006). No processo de torrefação dos grãos de café, não há uma perda significativa no teor de cafeína (ILLY; VIANI, 2005). Este alcaloide apresenta-se moderadamente solúvel em água, mas é também hidrofóbico o suficiente para ultrapassar as membranas biológicas, sendo assim completamente absorvido no trato gastrointestinal (RAMALAKSHMI; RAGHAVAN, 1999), por isso a bebida café é popularmente considerada como uma bebida de efeito estimulante.

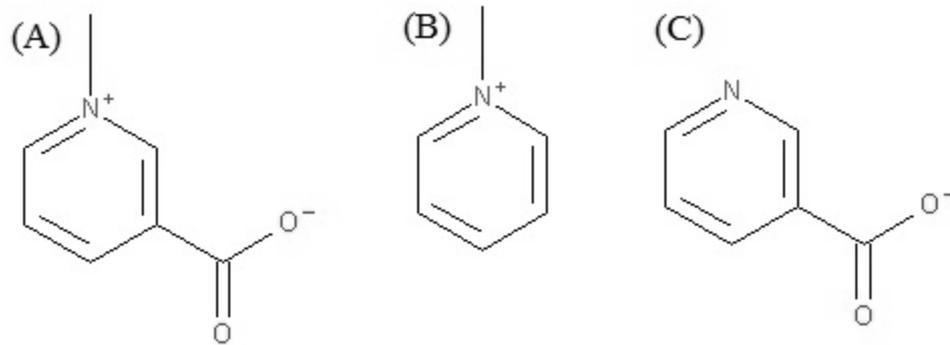
**Figura 2-** Estrutura química da cafeína



Fonte: Wei e Tanokura (2014), adaptada.

Além da cafeína, o café verde contém também a trigonelina (Figura 3(A)), outro alcaloide importante, e está presente em torno de 1-1,2% no grão verde de café arábica e em torno de 0,6-0,75% no robusta (CLARKE; MACRAE, 1985). A quantidade de trigonelina no café arábica é superior à quantidade presente no café robusta, por isso pode ser usado como um composto marcador para distinguir as espécies (WEI; FURIHATA; KODA; HU; KATO; MIYAKAWA, 2012). Além disso, o conteúdo de trigonelina pouco varia, quando são comparados grãos de café em desenvolvimento com grãos de café amadurecidos (CLIFFORD; KAZI, 1987).

**Figura 3-** Estruturas químicas de (A) trigonelina, (B) N-metilpiridínio, (C) ácido nicotínico



Fonte: Wei e Tanokura (2014), adaptada.

Na torrefação dos grãos é verificada a degradação térmica da trigonelina, que resulta na formação de outros compostos, como os pirróis e niacina, além do N-metilpiridínio e ácido nicotínico (Figura 3(B) e (C)). A niacina é uma vitamina do complexo B, que pode ser encontrada no café torrado em quantidades que variam de acordo com o grau de torrefação dos grãos.

Os ácidos clorogênicos são uma família de ésteres formados entre o ácido cafeico e certos ácidos trans-cinâmicos, mais comumente o cafeico, p-cumárico e ácido ferúlico, que são progressivamente degradados durante a torrefação, resultando em perdas de até 90% do conteúdo inicial após o processo de torra dos grãos (DUARTE; PEREIRA; FARAH, 2010). Eles contribuem de forma significativa na formação do sabor e aroma do café torrado.

Os ácidos clorogênicos são os mais abundantes polifenóis dos grãos de café verde, e tem despertado o interesse de diversos pesquisadores devido a suas funções biológicas. Estudos atribuem a estes polifenóis uma significativa atividade antioxidante (NAIDU et al., 2008), anti-inflamatória e antipirética (DOS SANTOS et al., 2006), e propriedades antineoplásicas (RAO et al., 1992).

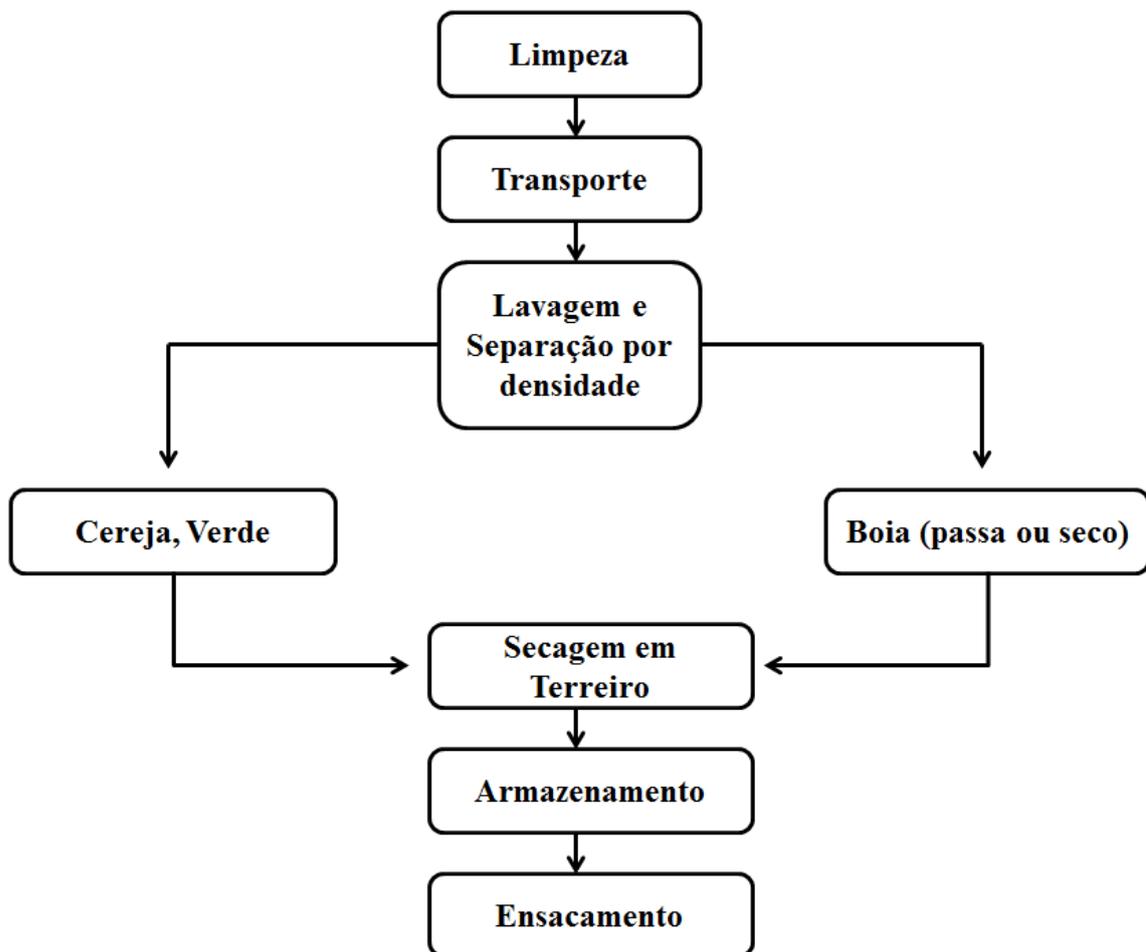
### 3.3 Beneficiamento do café

O beneficiamento do café é uma operação pós-colheita em que ocorre o descascamento dos frutos do café, e envolvem diversas etapas até o armazenamento final do produto de maior interesse econômico, os grãos de café beneficiados. A colheita do café pode ser realizada por derriça manual no pano ou mecanizada, e os frutos colhidos devem ser submetidos a um processo de limpeza, que tem por finalidade separá-los de impurezas. Essa

limpeza prévia pode se dá por meio do peneiramento manual (abanação), ventilação forçada ou por máquinas de pré-limpeza, como separadores de ar e peneira. Após essa pré-limpeza, os frutos do café podem ser beneficiados por dois tipos de processamento, por via seca ou por via úmida, como pode ser observado na Figura 4 (EMBRAPA, 2006).

O processamento seco é a técnica mais simples para o tratamento de grãos de café, neste processamento, os grãos de café são levados para a secagem ao sol ou para secadores artificiais até cerca de 10-11% de umidade. Muitos produtores fazem uso da secagem natural como um processo de pré-secagem dos grãos e completam o processo em secadores mecânicos.

**Figura 4**-Diagrama simplificado do processamento do café por via seca



Fonte: EMBRAPA (2006), adaptada.

A secagem ao sol é o método mais comumente usado, pois não requer investimentos em equipamentos, e não gera custos de energia, em contrapartida neste método, se faz necessário grandes áreas para que seja realizado, além disso, é um processo que depende

tempo, já que é lento e pode levar de 3 a 4 semanas para obter-se os grãos secos. Outro fator importante no processo de secagem é que os grãos ao serem espalhados para secagem ao sol devem ser distribuídos em uma camada fina para evitar a fermentação, necessitando de “varrição frequente” para se alcançar uma secagem homogênea e evitar a proliferação de mofo. Após a secagem, os grãos de café são separados removendo o material que os cobre em uma máquina de descasque. Esse processamento, também pode ser realizado com o prévio descascamento dos frutos do café, sendo que neste processo é mantida a mucilagem que envolve o grão, e após o descascamento os grãos são então encaminhados para secagem (EMBRAPA, 2006). Os resíduos sólidos gerados neste processo são as cascas de café. Este método de processamento é comumente empregado na maioria dos cafés arábica e robusta, colhidos no Brasil.

O processamento por via úmida consiste na retirada da casca e/ou mucilagem da cereja envolvendo o uso de água. Neste processamento, a pele exterior e a polpa são removidas mecanicamente, e em seguida os grãos são lavados para remover a camada remanescente de polpa, para enfim passar pelo processo de secagem. O processamento por via úmida é uma prática comum entre os produtores do México, da Colômbia e do Quênia, sendo pouco utilizado no Brasil. Este tipo de processamento tem aplicação recomendada para áreas onde o período pós-colheita ocorre sob condições de elevada umidade relativa do ar, já que a retirada da mucilagem, através da operação de despulpamento, reduz os riscos de desenvolvimento de microrganismos responsáveis por fermentações indesejáveis (EMBRAPA, 2006).

### **3.4 Cascas de café**

Considerando que a relação entre grãos e casca de café seja de 1:1 (BARTHOLO et al., 1989), a produção de café na Bahia, na safra 2014 foi de cerca de 2.376,7 mil sacas de café beneficiado, 31,8% superior ao volume produzido na safra 2013, conseqüentemente um número proporcional de cascas foi produzido. O descascamento consiste na retirada da casca do fruto maduro, que gera o café descascado.

No resíduo do descascamento do café pode conter o epicarpo (casca), mesocarpo (polpa ou mucilagem) e endocarpo (pergaminho). No processamento por via úmida que é gerado a polpa em virtude do despulpamento do café cereja, este resíduo é composto por epicarpo e parte do mesocarpo (MATIELLO, 1991).

As cascas e a polpa do café são constituídas de matéria orgânica e nutrientes, além de conter compostos como a cafeína e polifenóis. A cafeína, um alcaloide estimulante do sistema nervoso central, está presente nas cascas de café em aproximadamente 1,3% de concentração em matéria seca (GOUVEA; TORRES; FRANCA; OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2009) (Tabela 2). Na literatura científica existem estudos que propõem o uso das cascas de café em diversos segmentos, como na pecuária podendo ser empregada na alimentação animal, compostagem, biocombustíveis, produção de cogumelos, produção de adsorventes entre outros.

**Tabela 2-** Composição química das cascas de café

	<b>Casca de Café Beneficiamento via seca (g.100g<sup>-1</sup> de material seco)</b>
<b>Proteína</b>	8,0-11,0
<b>Lipídios</b>	0,5-3,0
<b>Minerais</b>	3,0-7,0
<b>Carboidratos</b>	58,0-85,0
<b>Cafeína</b>	~1,0
<b>Taninos</b>	~5,0

Fonte: Clifford e Ramirez-Martinez (1991); Souza et al. (2006);  
Gouvea et al. (2009)

Na alimentação de bovinos as cascas de café tem seu uso limitado em virtude sua baixa digestibilidade e reduzido teor de proteínas, além disso, o seu teor de carboidrato como o amido é equivalente ao feno de baixa qualidade (ADAMS; DOUGAN, 1987). Por se tratar de um resíduo, de baixo custo, além da alimentação bovina, também foram propostos estudos para suplementação alimentar de outros animais, como cavalos, suínos, peixes, ovelhas e frango (FRANCA; OLIVEIRA, 2009). A presença dos polifenóis restringe o uso deste resíduo como complemento à alimentação animal. A suplementação dietética com cascas de café na alimentação de vaca só pode ser considerada viável na substituição variando de 30% a 40%; para os ovinos, as cascas de café podem ser utilizadas como um substituto do milho em até 25% (FRANCA; OLIVEIRA, 2009).

Uma boa alternativa para o reaproveitamento das cascas de café é na compostagem, este resíduo pode ser utilizado diretamente como cobertura do solo, sendo uma boa opção para solos que apresentem carência em potássio, e seu uso é permitido em variados tipos de

culturas, incluindo a própria cultura do café. As cascas de café são ricas em potássio e outros nutrientes minerais, o que possibilita seu uso como um fertilizante orgânico, não sendo necessário nenhum tratamento na mesma, ou seja, pode ser utilizada direto no solo, além disso, as cascas utilizadas como compostagem favorece o controle da erosão e diminui as flutuações de temperatura, já que diminui a perda de água do solo por evaporação (MATOS, 2008).

Por apresentar uma quantidade considerável de açúcares fermentáveis, tem sido considerado um substrato apropriado para o cultivo de fungos e leveduras (MURTHY; NAIDU, 2010). Estudos evidenciaram o crescimento de *Pleurotus ostreatus* em cascas de café enriquecidas com várias concentrações de selenito de sódio (SILVA; NAOZUKA; LUZ; ASSUNÇÃO; OLIVEIRA; VANETTI et al., 2012). Já foi verificada também a aplicação dessas cascas de café na produção de outros materiais, como na produção de aglomerados em substituição da madeira (até 50%), e a depender do tipo e quantidade de resina utilizada, esses novos aglomerados feitos em laboratório atendia os requisitos das normas europeias no que diz respeito ao uso geral em condições secas e, em parte, em condições úmidas (BEKALO E REINHARDT, 2010).

A recuperação de compostos bioativos de alto valor agregado dos resíduos da agroindústria tem sido amplamente estudada, já que permite um uso alternativo para os mesmo, agregando valor, e permitindo que se torne uma nova fonte de renda. As cascas de café frescas foram utilizadas como fonte de antocianinas para aplicações como corantes de alimentos naturais e na sua quantificação indicou que estas podem ser consideradas uma fonte abundante deste corante. (PRATA; OLIVEIRA, 2007). Outro composto bioativo que pode ser recuperado das cascas de café é a cafeína, um alcaloide presente em quantidades expressivas nas cascas, e de bastante interesse, em virtude da sua ação biológica estimulante. No estudo desenvolvido por Tello e colaboradores em 2011, foi avaliada a viabilidade de se obter a cafeína das cascas de café através da técnica de extração supercrítica CO<sub>2</sub>, e foi verificado no estudo um máximo rendimento de extração de 84% e, após a lavagem com água, a cafeína extraída apresentava pelo menos 94% pureza.

### **3.5 Produção de alimentos orgânicos**

Alimentos de origem vegetal ou animal que estão livres de agrotóxicos ou qualquer outro tipo de produtos químicos, são produtos orgânicos, pois são produzidos em práticas

culturais que buscam estabelecer o equilíbrio ecológico do sistema agrícola (MAPA, 2007), beneficiando assim, a esfera ambiental, social e econômica.

Em 2006 o Brasil apresentava 4,93 milhões de hectares de área destinada ao cultivo de produtos orgânicos (IBGE, 2006), e segundo o relatório *The World Organic Agriculture*, elaborado pelo Research Institute of Organic Agriculture e pela International Federation of Organic Agriculture Movements (FIBL/IFOAM, 2010), o país figura dentre os maiores produtores de orgânicos do mundo.

Na agricultura orgânica não são utilizados fertilizantes sintéticos solúveis, agrotóxicos e transgênicos, ou seja, é vedado o uso de toda e qualquer substância que possa representar risco a saúde humana e ao meio ambiente. A agricultura orgânica fundamenta-se no manejo de forma consciente dos sistemas naturais para produção de alimentos, permitindo compreender a natureza dos agroecossistemas e desenvolvendo sistemas com dependência mínima de insumos energéticos externos (EMBRAPA, 2006), ou seja, produção com a conservação de recursos naturais, respeitando à natureza.

O segmento de produtos orgânicos vem apresentando taxa de crescimento de cerca de 20% ao ano, e esse aumento é verificado tanto em países desenvolvidos como nos países em desenvolvimento (UNCTAD, 2003). O mercado mundial de produtos orgânicos ascendeu de US\$ 10 bilhões em 1997 para US\$ 23-25 bilhões em 2003 (YUSSEFI; WILLER, 2003). A cafeicultura orgânica no Brasil tem mantido taxas de crescimento próximas a 100% ao ano (CAIXETA; PEDINI, 2002) e em 2002 já ocupava uma área de 13.000 ha com de 419 produtores empregando este tipo de cultura (ORMOND et al., 2002). Os preços de produtos orgânicos é um grande atrativo para os produtores, já que um produto produzido em manejo orgânico pode custar 25% a mais do que o mesmo produto produzido em manejo tradicional.

É notório que a sociedade contemporânea busca longevidade, qualidade de vida e objetiva retardar os efeitos indesejáveis que vem com o tempo, como o envelhecimento, e é através de uma alimentação saudável e equilibrada, somada a outros fatores, como a prática de atividades físicas, que se pode alcançar esse objetivo. A preocupação com a qualidade dos alimentos e o manejo produtivo destes, é um determinante de saúde hoje em dia, tanto que o mercado de produtos orgânicos é predominantemente constituído por consumidores que são conscientes das questões ligadas à saúde e questões de caráter ambiental e social. Estes consumidores consideram que a alimentação baseada em alimentos livres de agrotóxicos colabora para manutenção da saúde e previne riscos e agravos à saúde. Atualmente é preconizado um consumo menor de sal, gorduras e açúcares, priorizando uma ingestão maior de frutas e legumes. Porém, essa alimentação pautada em produtos de origem natural, pode

apresentar risco, em virtude do uso exacerbado de agrotóxicos e pesticidas na agricultura tradicional, que tem por finalidade aumentar a produção, mas expõe a população a substâncias tóxicas, que podem trazer sérios danos a saúde humana.

Mesmo com a agricultura orgânico estando em constante ascensão no Brasil, o país ainda é um grande consumidor de agrotóxicos, em 2008, o Brasil ultrapassou os Estados Unidos e assumiu o posto de maior mercado mundial de agrotóxicos, e em 2012 enquanto nos últimos dez anos o mercado mundial de agrotóxicos cresceu 93%, o mercado brasileiro cresceu 190% (ANVISA; UFPR, 2012).

Segundo análise de amostras coletadas em todas as 26 Unidades Federadas do Brasil, realizada pelo Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA) da ANVISA (2011), um terço dos alimentos consumidos cotidianamente pelos brasileiros estavam contaminados por agrotóxicos.

Algumas das substâncias ativas dos agrotóxicos são classificadas como medianamente ou pouco tóxicas, quando se consideram apenas os seus efeitos agudos, porém o que deve ser sinônimo de preocupação são os efeitos crônicos que podem ocorrer meses ou anos após a exposição a essas substâncias, estando associados à causa de várias doenças como câncer, malformação congênita, distúrbios endócrinos, neurológicos e mentais. Por exemplo, os agrotóxicos do grupo piretróide, que são usados na agricultura, em ambiente doméstico e em campanhas de saúde pública como inseticida, estão associados a diversos efeitos graves à saúde. A cipermetrina (classe II) é tóxica aos embriões de ratos, incluindo a perda pós-implantação dos fetos e malformações viscerais (ASSAYED; KHALAF; SALEM, 2010). Efeitos semelhantes – mortes neonatais e malformações congênitas – foram descritos em seres humanos plantadores de algodão (RUPA; REDDY; REDDI, 1991). Os organofosforados, grupo de agrotóxicos inseticidas, causam numerosos efeitos à saúde humana, como o clorpirifós (classe II), que interferiu com o sistema reprodutivo masculino de ratos tratados por via oral, induzindo alterações histopatológicas de testículos e levou à diminuição da contagem de espermatozoides e da fertilidade animal (JOSHI; MATHUR; GULATI, 2007).

### **3.6 Metabólitos secundários**

Diversos fatores podem influenciar na produção dos compostos químicos vegetais de uma planta, como tipo de solo e a fertilidade do mesmo, disponibilidade hídrica, temperatura, radiação solar, dentre outros. O organismo vegetal possui mecanismos que visam o aproveitamento de todos os nutrientes para atender as exigências fundamentais das células. O

metabolismo é o conjunto das transformações das moléculas orgânicas, catalisadas por enzimas, que ocorre nas células vivas, suprindo o organismo de energia, renovando suas moléculas e garantindo a continuidade do estado organizado (MARZZOCO; TORRES, 2015).

O resultado do metabolismo vegetal da origem aos metabólitos primários e os metabólitos secundários. O metabolismo primário é responsável pela síntese de celulose, lignina, proteínas, lipídeos, açúcares e outras substâncias importantes para a realização das funções vitais (CHAMPE et al., 2008) na divisão, crescimento celular, respiração, estocagem, reprodução, e armazenamento de energia.

Os metabólitos secundários, produtos secundários ou produtos naturais, aparentemente não tem uma relação direta com crescimento e desenvolvimento da planta (TAIZ; ZEIGER, 2006), por isso já foram considerados como produtos de excreção do vegetal no passado, já que nem sempre estão envolvidos com funções vitais do vegetal ou mesmo encontram-se presentes em todas as partes da planta. No entanto, hoje se atribui a estes produtos secundários importantes funções ecológicas nos vegetais, como a função de proteção das mesmas contra herbívoros e patógenos, como atrativos (aroma, cor, sabor) para polinizadores, e podem atuar como agentes de competição entre plantas e de simbiose entre plantas e microrganismos (TAIZ; ZEIGER, 2006). Os produtos secundários têm um papel importante na adaptação das plantas aos estímulos e condições do seu ambiente, contribuindo para que as mesmas possam ter uma boa interação com os diferentes ecossistemas (AERTS et al., 1991) (HARBORNE, 1988).

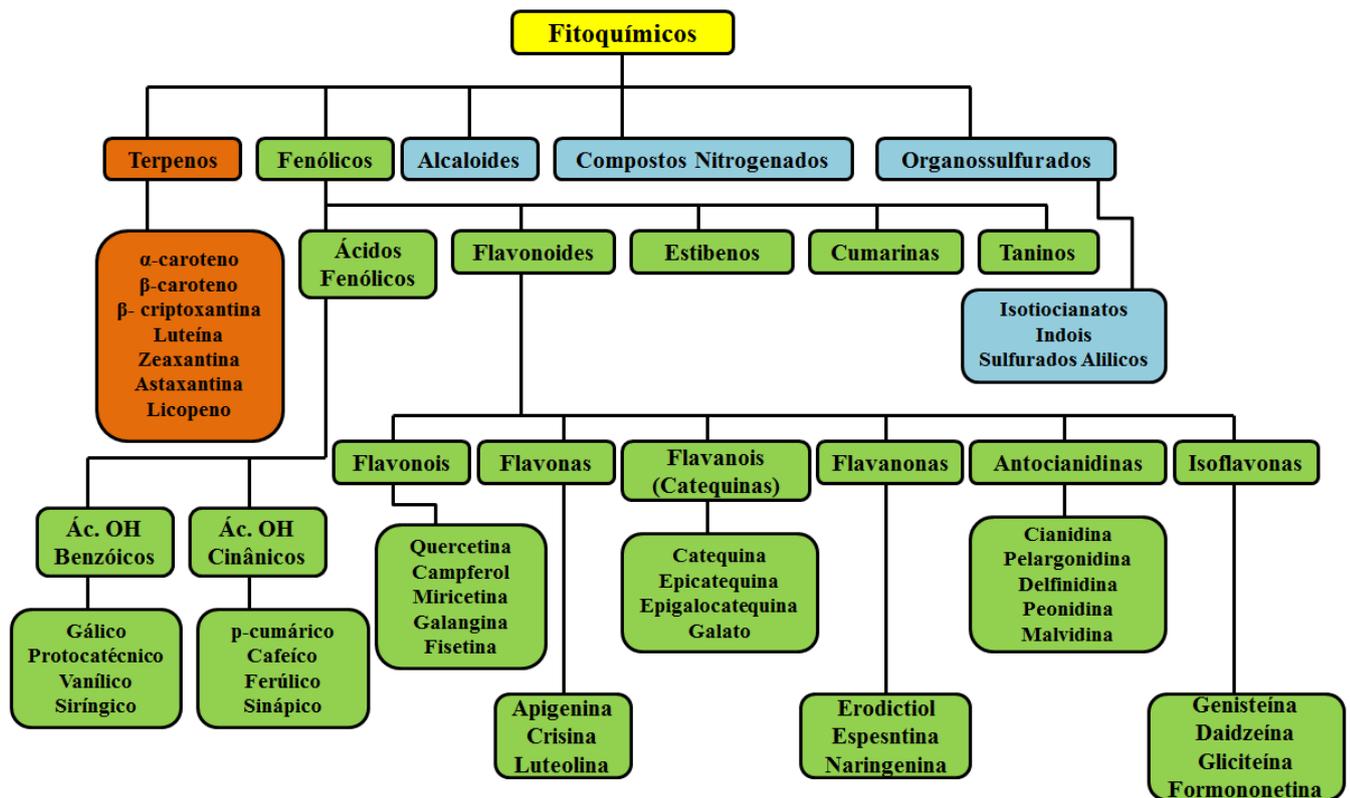
No decorrer da história da humanidade, a natureza sempre figurou como a primeira fonte de medicamentos para tratamento de diversas enfermidades, principalmente através do uso de plantas, que até os tempos atuais são uma importante fonte de matéria-prima na busca de novas drogas. Com a evolução da ciência, as plantas passaram a ser mais profundamente estudadas em virtude da diversidade molecular dos produtos naturais, que são superiores àquela derivada dos processos de síntese química (RISSATO et al., 2004). Mesmo com o grande interesse por estudos dos vegetais, somente 15 a 17 % das plantas existentes no mundo têm sido pesquisadas do ponto de vista medicinal (SOEJARTO, 1996).

A partir da investigação dos recursos químicos das mesmas, foram sendo revelados que os produtos naturais presentes nas plantas que atuam na defesa do vegetal, poderiam apresentar propriedades fisiológicas na terapêutica humana, por exemplo, produtos secundários que estão relacionados com a defesa das plantas através de ação citotóxica contra os patógenos microbianos, poderiam ser empregados no desenvolvimento de medicamentos antimicrobianos para humanos, se não são excessivamente tóxicos, e assim nessa busca,

atualmente existe um vasto número de medicamentos de grande importância na terapêutica atual.

Metabólitos secundários nas plantas podem ser divididos quimicamente em três grupos distintos como pode ser observado na Figura 5: terpenos, compostos fenólicos e componentes contendo nitrogênio (SHAHIDI, 1997; CROTEAU et al., 2000; SHAHIDI; NACZK, 2003; SHAHIDI; HO, 2005; TAIZ; ZEIGER,2006).

**Figura 5-** Classificação dos fitoquímicos bioativos



Fonte: Liu (2004), adaptada.

Os terpenos podem ocorrer em todas as plantas e compreendem uma classe de compostos que são definidos como grupo de moléculas formado pela fusão de unidades isoprênicas, formada por cinco carbonos e são classificados de acordo com o número de isoprenos que constituem (OLIVEIRA et al., 2003). O hemiterpenóide (C5) mais conhecido e estudado é o isopreno, um produto volátil liberado de tecidos fotossinteticamente ativos (CROTEAU et al., 2000). Os monoterpenóides (C10) são constituintes das essências voláteis e óleos essenciais, têm sido empregados nas indústrias de perfumes e fragrâncias, produção de especiarias, indústria de alimentos e condimentos (OLIVEIRA et al., 2003). Os

sesquiterpenóides (C15) são encontrados nos óleos essenciais e em hormônios vegetais (OLIVEIRA et al., 2003).

Os tetraterpenóides (C40) são os carotenoides, pigmentos responsáveis pela coloração laranja, amarela, vermelha e púrpura dos vegetais, exercendo função essencial na fotossíntese e na pigmentação de frutos e flores (RIBEIRO; SERAVALLI, 2004). Esses compostos são amplamente utilizados como corantes e no enriquecimento de alimentos, em virtude da sua atividade pró-vitamina A e as propriedades que resultam em possíveis funções biológicas benéficas à saúde. Os politerpenóides são aqueles com mais de oito unidades de isopreno, ou seja, com mais de 40 carbonos na sua estrutura, como os longos polímeros encontrados na borracha (ROBBERS et al., 1997; CROTEAU et al., 2000; OLIVEIRA et al., 2003).

Os alcaloides são produtos naturais que apresentam pelo menos um átomo de nitrogênio em sua estrutura química. São abundantes em plantas superiores, segundo Hegnauer (1963) podem ser consideradas plantas alcalóides aquelas espécies que contenham mais do que 0,01% de alcalóides em sua composição química. Estes metabólitos secundários já foram utilizados no xamanismo, na medicina tradicional para a cura de doenças e em armas como toxinas durante guerras tribais e/ou durante a caça, por isso até hoje este fitoquímico apresenta importante significado na etnobotânica (COTTON, 1996). O isolamento da morfina, em 1806 pelo farmacêutico alemão Friedrich Sertürner, despertou o grande interesse em realizar estudos com os alcaloides (VIZZOTO et al., 2010), e as aplicações médicas, juntamente com o advento da indústria farmacêutica, levou à produção de fármacos e de drogas que apresentam em sua formulação os alcalóides. Estas drogas são produzidas a partir de alcalóides puros naturais, como no caso de extratos, ou a partir de compostos purificados, ou até mesmo totalmente sintetizadas com base na estrutura de alcalóide natural. Essa classe de compostos é bastante estudada por apresentarem acentuado efeito no sistema nervoso, sendo muitos deles algumas vezes utilizadas como venenos ou alucinógenos.

Os fenólicos são um grupo de compostos que estão diretamente relacionados com o sabor, odor e coloração de diversos vegetais, sendo alguns destes compostos já empregados na indústria de alimentos, como o aldeído cinâmico da canela (*Cinnamomum zeyllanicum*) e a vanilina da baunilha (*Vanilla planifolia*). Os compostos fenólicos são produtos secundários ubíquos no reino vegetal, logo toda planta pode produzi-los, são produtos que não desempenham função direta nas atividades bioquímicas primárias, responsáveis pelo crescimento, desenvolvimento e reprodução (CLIFFORD, 1989), estando envolvidos sim na adaptação a condições de estresse ambiental, bem como na defesa contra agressão por patógenos ou da radiação ultravioleta (FARAH & DONANGELO, 2006).

São encontradas estruturas muito variadas dentre os compostos fenólicos pertencentes ao metabolismo secundário dos vegetais, variando em aproximadamente 10.000 compostos (TAIZ & ZIGER, 2004), como: pigmentos de frutos e folhas, derivados da cumarina, ácidos fenólicos. Essa classe abrange as ligninas e taninos, que são polímeros com importantes funções nos vegetais (CARVALHO et al., 2004). Quimicamente os compostos fenólicos são substâncias que possuem em sua estrutura pelo menos um anel aromático no qual ao menos um hidrogênio é substituído por um grupamento hidroxila (NYCHAS, 1995).

Os compostos fenólicos apresentam-se nos vegetais na forma livre ou ligados a açúcares (glicosídeos) e proteínas. Os fenóis simples, como o pirocatecol, a hidroquinona e o resorcinol, bem como os aldeídos derivados dos ácidos benzóicos, que são constituintes dos óleos essenciais, como a vanilina (SOARES, 2002). Os taninos e as ligninas são compostos fenólicos que são polímeros, e são encontrados na forma livre nos tecidos vegetais (ÂNGELO; JORGE, 2007). Os flavonóides (antocianinas, flavonóis e seus derivados), ácidos fenólicos (ácidos benzóico, cinâmico e seus derivados) e cumarinas (KING et al, 1999) são fenólicos que estão largamente distribuídos na natureza.

O tocoferol é um exemplo de composto fenólico que já é amplamente utilizado pela indústria de alimentos, sendo aplicado em óleos e gorduras comestíveis, prevenindo a oxidação dos ácidos graxos insaturados, é apontado como um dos melhores antioxidantes naturais (JORGE; GONÇALVES, 1998). A legislação brasileira permite a adição de 300 mg/kg de tocoferóis em óleos e gorduras, como aditivos intencionais, com função de antioxidante (ABIA, 1999).

As duas rotas metabólicas básicas que estão envolvidas na síntese de compostos fenólicos são a rota do ácido chiquímico e a rota do ácido mevalônico. A rota do ácido chiquímico participa na biossíntese da maioria dos fenóis vegetais. A rota do ácido malônico, embora seja uma fonte importante de produtos secundários fenólicos em fungos e bactérias, é menos significativa nas plantas superiores (TAIZ; ZEIGER, 2004).

### **3.7 Bebidas antioxidantes**

Os chás de ervas, vinho e café são apontados por estudos como bebidas que trazem benefícios a saúde em virtude de suas propriedades antioxidantes (CARLSEN et al., 2010). O vinho é um produto que vem do processamento de uvas e é descrita como uma bebida antioxidante, pois a fruta que dá origem a esta bebida é rica em compostos fenólicos, como os flavonoides e os ácidos fenólicos, além dos taninos (MALACRIDA & MOTTA, 2005).

A bebida café é também apontada como uma bebida antioxidante, em virtude da presença de fitoquímicos bioativos presente na mesma. Segundo Levinton e Cowan (2002) os estudos acerca do consumo do café a partir do ano 2000 tiveram como principal objetivo investigar a relação do consumo do café com câncer e suas propriedades antioxidantes. As diferentes etapas e técnicas utilizadas no preparo da bebida podem resultar em variação no teor de algumas substâncias, como os ácidos clorogênicos, cafeol, cafestol, melanoidinas e cafeína, substâncias essas que estão associadas com ações fisiológicas no organismo humano, e essas modificações nos compostos bioativos podem resultar em variações quanto ao potencial ativo do café, como por exemplo, conferir maior ou menor atividade antioxidante (O'BRIEN e MORRISSEY, 1989).

Os primeiros relatos do uso de chás são datados no século 27 a.C., e por isso são considerados como uma das primeiras e mais antigas bebidas produzidas por via biotecnológica. Define-se chá como o produto do processamento de espécies vegetais. O chá é basicamente constituído de uma ou mais partes de espécie vegetal, que pode ser utilizado inteiro, fragmentado ou moído, com ou sem fermentação, tostada ou não (BRASIL, 2011). O consumo de chás na cultura brasileira sempre veio arraigado como tratamento na medicina popular ou medicina não convencional, visto que isso são traços da própria formação cultural herdadas de antepassados. No entanto, hoje o consumo de chá vem aumentando também em virtude das suas características sensoriais. Pesquisas têm associado o consumo de chás à redução do risco de doenças cardiovasculares, diabetes e câncer, que são doenças crônicas, um problema global que atinge sociedade moderna.

O café, o vinho e os chás são produtos ricos em compostos bioativos, como os polifenóis, que atuam principalmente com ação antioxidante no organismo, combatendo os radicais livres que são comumente associados à etiologia de várias doenças incluindo doenças degenerativas.

Atualmente tem se buscado alternativas para incluir na alimentação cotidiana ainda mais compostos bioativos com ação antioxidante. Hoje os popularizados “sucos detox”, é uma das formas mais consumida desses fitoquímicos. A popularização do suco detox se deu por conta de celebridades influentes em estilo e comportamento que foram fotografadas tomando o suco verde, a partir daí, o mesmo passou a ser divulgado em revistas do seguimento de beleza, que divulgam diversas receitas de sucos detox. Além disso, é possível encontrar esse produto sendo comercializados, inclusive alguns industrializados, com diversas marcas disponíveis no mercado, nacionais e produtos importados. Além dos sucos atualmente é possível encontrar cápsula, sucos em pó e outras formas de produtos que prometem

neutralizar os radicais livres no organismo e assim amenizar seus efeitos prejudiciais, em função da ação antioxidante de fitoconstituintes. Um exemplo é o CoffeBerry®, produto obtido a partir do café, que é processado em sua totalidade (grãos verdes com cascas) (HEIMBACH et al., 2010), apontado como um potente composto antioxidante, e tem seu marketing voltado ao setor cosmeceútico, já que sua ação antioxidante está associada ao combate dos radicais livres que promovem o envelhecimento precoce.

### **3.8 Métodos de extração**

A extração é um dos processos mais utilizados para o isolamento de produtos ativos presentes em uma planta (MARCANO; HASEGAWA, 1991), e o desenvolvimento dessas técnicas de extração pode significar uma via importante para alcançar um maior conhecimento sobre os princípios ativos presentes nos vegetais. Segundo a Farmacopeia Brasileira de Fitoterápicos (BRASIL, 2011), extrato é a preparação de consistência líquida, sólida ou intermediária, obtida a partir de material animal ou vegetal, sendo que o material utilizado na preparação de extratos pode sofrer tratamento preliminar, tais como, moagem ou desgorduramento, utilizando como solvente a água, álcool etílico ou outro solvente adequado.

O extrato pode ser preparado por métodos tradicionais como infusão, decocção, percolação, maceração ou outro método adequado e validado não convencional como ultrassom, extração com fluido supercrítico (SFE) e extração com líquido pressurizado (PLE). A extração refere-se à separação das porções farmacologicamente ativas a partir dos tecidos das plantas, mediante o uso de solventes seletivos (BOMBARDELLI, 1991; MIRANDA et al., 2001).

No caso de extratos produzidos a partir de matéria prima vegetal, as partes em estudo da planta são determinantes na escolha do procedimento a ser utilizado, podendo-se aplicar métodos contínuos ou descontínuos, com ou sem a aplicação de calor (MARCANO; HASEGAWA, 1991). A taxa de transferência dos compostos químicos do tecido vegetal para o solvente pode ser afetada por diversos fatores como quantidade de material sólido, dimensão da partícula, o volume e seletividade do solvente, a temperatura (pode aumentar a solubilidade de determinado composto químico, como pode promover a degradação de outros que sejam termolábeis) e tempo.

O método de extração decocção consiste na ebulição da parte vegetal em água potável por tempo determinado. Método indicado para partes de drogas vegetais com consistência

rígida, tais como cascas, raízes, rizomas, caules, sementes e folhas coriáceas. A infusão consiste em verter água fervente sobre a droga vegetal e, em seguida, tampar ou abafar o recipiente por tempo determinado. Método indicado para partes de estruturas vegetais de consistência menos rígida tais como folhas, flores, inflorescências e frutos, ou que contenham substâncias ativas voláteis (BRASIL, 2011).

A extração assistida por ultrassom é um processo que utiliza a energia de ondas sonoras geradas em frequência superior à capacidade auditiva do ser humano. Estas ondas sonoras criam uma variação na pressão do líquido empregado no processo, gerando cavitação e microfluxos nos líquidos, e instabilidade na interface de sistemas líquido-líquido e líquido-gás. (KIRK-OHMER, 1981; BARBOZA et al., 1992; BERLAN et al., 1992). Os principais efeitos do ultrassom empregado como técnica de extração é o aumento da permeabilidade da parede celular; a produção de cavitação (formação espontânea de bolhas num líquido abaixo do seu ponto de ebulição, resultante do esforço dinâmico); aumento da tensão mecânica das células (LIST; SCHMIDT, 1989).

### **3.9 Ensaios utilizados para determinação da capacidade antioxidante**

Nos últimos anos os radicais livres e outros oxidantes, vem sendo associados a diversos agravos à saúde, como câncer, doenças cardiovasculares, catarata, declínio do sistema imune, disfunções cerebrais e diabetes mellitus tipo I (SOUSA et al., 2007), em virtude disso, muitos estudos estão sendo realizado na investigação de substâncias que atuem no combate a ações danosas desses radicais. É significativo o número de evidências epidemiológicas que atribuam os alimentos como fonte de compostos antioxidantes que podem vir a prevenir o risco dessas doenças, o que tem levado ao desenvolvimento de grande número de métodos para determinar a capacidade antioxidante (PÉREZ-JIMÉNEZ; SAURA-CALIXTO, 2006).

Antioxidante é toda substância capaz de retardar a velocidade da oxidação. Os antioxidantes são compostos aromáticos, que apresentam em sua estrutura ao menos uma hidroxila, podem ser sintéticos como BHT, que já é largamente utilizado na indústria de alimentos, ou natural, fazendo parte da constituição química de diversos alimentos, como os organosulfurados, fenólicos e terpenos (RAMALHO; JORGE, 2006).

Os testes que avaliam a atividade antioxidante *in vitro* são considerados ferramentas importantes na seleção inicial de substâncias que possam ser utilizadas como fármacos, de modo que podem contribuir na escolha mais adequada de espécies de planta para estudos

químicos e farmacológicos, com informações acerca do grau de maturação, condições ambientais, entre outras. É também através destes métodos que se verifica a presença de substâncias antioxidantes em alimentos como frutas, legumes e bebidas, ressaltando a importância de uma dieta rica em vegetais (ALVES et al., 2010).

Na avaliação da capacidade antioxidante *in vitro* de substâncias bioativas podem ser empregados métodos que se fundamentam na captura do radical peróxila (ORAC, TRAP), poder de redução do metal (FRAP; CUPRAC), captura do radical hidroxila (método de desoxirribose), captura do radical orgânico (ABTS, DPPH), quantificação de produtos formados durante a peroxidação de lipídios (TBARS, oxidação do LDL, co-oxidação do  $\beta$ -caroteno) (FRANKEL e MEYER, 2000). Existem muitos métodos de análise da atividade antioxidante, no entanto recomenda-se escolher métodos validados e padronizados, que são mais comumente aceitos, por apresentarem informações já descritas na literatura científica (OLIVEIRA; VALENTIM; GOULART, 2009).

O ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity), desenvolvido originalmente por Cao, Alessio & Cutler (1993), mede a capacidade do antioxidante em sequestrar radicais peróxila gerados por uma fonte radicalar. O método do ABTS<sup>•+</sup> (2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)), consiste no monitoramento do decaimento do cátion-radical ABTS produzido pela oxidação do ABTS<sup>•+</sup>, quando a amostra que contém compostos antioxidantes é adicionada (RE et al., 1999) (STRATIL; KLEJDUS; KUBAN, 2006), já o FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power), está baseado na capacidade dos fenóis em reduzir o Fe<sup>3+</sup> em Fe<sup>2+</sup> (BENZIE; STRAIN, 1996; STRATIL; KLEJDUS; KUBAN, 2006; HUKKANEN et al., 2006) e o Rancimat, que determina a estabilidade oxidativa da amostra, por meio da detecção de ácidos voláteis a 110°C (AOCS, 2003; GARCIA et al., 2006).

O método de inibição de radicais 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) fundamenta-se na transferência de elétrons de um composto antioxidante para um oxidante. A molécula de DPPH é um radical livre estável, que sofre deslocalização do elétron desemparelhado por toda a molécula, e é esta deslocalização que confere a esta molécula a coloração violeta, caracterizada por uma banda de absorção em etanol em cerca de 520 nm (MOLYNEUX, 2004). A capacidade antioxidante deste ensaio é determinada pelo potencial que a substância tem em sequestrar o radical DPPH, reduzindo-o a hidrazina com mudança simultânea na coloração de violeta a amarelo pálido (ALVES et al., 2010). Os resultados da capacidade antioxidante pelo método DPPH são apresentados de diversas formas, inexistindo uma padronização dos resultados, o que dificulta comparar a capacidade antioxidante de uma mesma amostra, ou diferentes amostras (DENG ET et al., 2011), por isso, convencionou-se

apresentar os resultados com o valor de  $EC_{50}$ , que é definida como a quantidade de antioxidante necessária para diminuir ou reduzir a concentração inicial do radical DPPH• em 50% (CHEN; BERTIN; FROLDI, 2012).

O método de oxidação do  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico avalia a atividade de inibição de radicais livres gerados durante a peroxidação do ácido linoleico. O sistema de co-oxidação do  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico foi originalmente descrito por Marco (1968) e modificado por Miller (1971), está fundamentado em medidas espectrofotométricas da oxidação do  $\beta$ -caroteno, evidenciada pela descoloração da solução, induzida pelos produtos gerados durante a degradação oxidativa do ácido linoleico.

## **CAPÍTULO I – Caracterização química e potencial antioxidante de cascas do café arábica orgânico (*Coffea arabica*) produzido na região da Chapada Diamantina-Ba**

### **RESUMO**

O consumo moderado de café pode trazer efeitos fisiológicos benéficos à saúde, como ação antioxidante e psicoestimulante. Estes efeitos estão associados aos fitoquímicos presentes nos grãos. Durante o beneficiamento dos grãos de café é gerado uma grande quantidade de resíduo, sendo as cascas do café o principal, e estas podem ser utilizadas na obtenção de fitoconstituintes funcionais, semelhantes aos presentes nos grãos. Sendo assim, objetivou-se com o presente estudo avaliar a eficiência da extração aquosa de fitoconstituintes de cascas residuais de café arábica orgânico produzido na Chapada Diamantina-Ba, bem como sua composição química e o potencial antioxidante. Os resultados do estudo indicaram que a extração aquosa é eficaz na obtenção de alguns fitoconstituintes das cascas de café como os fenólicos, e a decocção é o método de extração mais indicado. O estudo evidenciou que os grãos de café verde apresentam maior conteúdo de fenólicos, flavonoides e taninos condensados, no entanto, as cascas também apresentaram resultados satisfatórios quanto a seu conteúdo fitoquímico, bem como potencial antioxidante. No ensaio da co-oxidação do  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico o extrato aquoso das cascas apresentou percentual de inibição de 60% em média. Além disso, no ensaio do sequestro de radicais DPPH, os extratos produzidos a partir das cascas apresentou melhor atividade antioxidante em comparação com o extrato dos grãos, evidenciado pelo valor de  $EC_{50}$ , sendo que dentre as cascas o melhor  $EC_{50}$  foi 2,7  $mg.mL^{-1}$ , enquanto nos extratos aquosos dos grãos o melhor  $EC_{50}$  foi 7,5  $mg.mL^{-1}$ .

### **ABSTRACT**

Moderate consumption of coffee can bring beneficial physiological effects on health, such as antioxidant and psychostimulant action. During the processing of the coffee beans, a large amount of residue is generated, and the barks of the coffee are the main residue, and these can be used to obtain functional phytochemicals, which have chemically similarity to those present in the grains. Thus, the aim of the present study was to evaluate the efficiency of aqueous extraction of phytochemicals organic coffee barks produced in Chapada Diamantina-BA, as well as its chemical composition and the antioxidant potential. The results indicated that aqueous extraction is effective in achieving some phytochemicals of coffee barks, such as phenolics, and the decoction is the most indicated extraction method. The study showed that green coffee beans have a higher content of phenolics, flavonoids and condensed tannins, however, the coffee barks also showed satisfactory results regarding their phytochemical content and antioxidant potential. In the test of co-oxidation of  $\beta$ -carotene / Linoleic acid aqueous extract of the bark, the percent inhibition of 60% on average. Furthermore, in the DPPH assay sequestration, the extracts produced from the bark showed the best antioxidant activity in comparison with the extract of grain, shown by the  $EC_{50}$  value, which for the best peel  $EC_{50}$  was 2.7  $mg.mL^{-1}$ , while the aqueous extracts of the best grain  $EC_{50}$  was 7.5  $mg.mL^{-1}$ .

## 1 INTRODUÇÃO

O café é um produto de grande importância econômica para o Brasil, que atualmente ocupa a colocação de maior produtor mundial. A bebida café destaca-se entre as bebidas mais consumidas no mundo, juntamente com a água, chás, sucos de frutas e refrigerantes. A matéria prima utilizada para produção da bebida são os grãos do fruto do cafeeiro, que é uma planta que pertence à família *Rubiaceae*, que possui mais de 100 espécies descritas. Atualmente as principais espécies do ponto de vista agroeconômico são o *Coffea arábica* (café arábica) e a *Coffea canephora* (café robusta).

O café arábica é o mais produzido e mais consumido no Brasil, e origina uma bebida de sabor suave e aromático. O acompanhamento da safra brasileira de café realizado pela CONAB em setembro de 2015, revelou que o país deverá colher 42,15 milhões de sacas de 60 quilos de café beneficiado (CONAB, 2015). O grão de café, produto base da indústria cafeeira, é obtido do fruto do cafeeiro através do processo de beneficiamento, uma operação pós-colheita que promove o descascamento dos frutos. O resíduo desse processo pode conter o epicarpo (casca), mesocarpo (polpa ou mucilagem) e endocarpo (pergaminho).

A bebida café é um alimento funcional, pois pode trazer efeitos fisiológicos benéficos à saúde, e estes efeitos estão associados aos fitoquímicos bioativos que estão presentes no café, como a cafeína que é um alcaloide com propriedades estimulantes do sistema nervoso central (TOCI; FARAH; TRUGO, 2006), e os polifenóis, principalmente o ácido clorogênico, que apresenta atividade antioxidante (NAIDU et al., 2008) neutralizando os radicais livres e seus efeitos nocivos ao organismo humano. Assim como os grãos de café, suas cascas são constituídas de matéria orgânica e nutriente, além de fitoquímicos como a cafeína e polifenóis (GOUVEA; TORRES; FRANCA; OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2009). Uma pequena parcela das cascas é reaproveitada na alimentação de ruminantes, produção de cogumelos, produção de adsorventes entre outros produtos. A grande maioria dessas cascas é descartada, e se este descarte for realizado de maneira inadequada, pode significar um grave problema de contaminação ambiental (MARTINEZ, 1999; SILVA, 2008).

A extração é um dos processos mais utilizados para o isolamento de produtos ativos presentes em uma planta (MARCANO; HASEGAWA, 1991), e é também a técnica mais utilizada no preparo da bebida café. Segundo a Farmacopeia Brasileira de Fitoterápicos (BRASIL, 2011), extrato é a preparação de consistência líquida, sólida ou intermediária, obtida a partir de material animal ou vegetal, utilizando como solvente a água, álcool etílico ou outro solvente adequado. A bebida café é apontada como um das principais formas de

consumo de antioxidante na dieta de muitos países, evidenciando assim a eficácia da água como solvente extrator de biomoléculas funcionais do café.

É crescente o interesse em recuperar compostos de alto valor agregado de matérias-primas alternativas e subaproveitadas, em especial aqueles que apresentem atividade antioxidante, como os polifenóis. Dessa forma o presente estudo propôs avaliar a composição química de cascas residuais de café arábica orgânico produzido na Chapada Diamantina bem como a eficiência da extração aquosa na obtenção de fitoquímicos bioativos e o seu potencial antioxidante.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi conduzido no Laboratório do Núcleo de Estudos em Ciência de Alimentos (NECAL), *Campus* de Itapetinga-BA na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB).

Foram utilizados grãos de café beneficiados (*Coffea arábica* L.), e as cascas residuais do processo de beneficiamento dos frutos, produzidos com manejo orgânico da safra 2014, cultivado na Fazenda Floresta - Povoado de Pau Ferrado, município de Ibicoara-BA, localizada na região da Chapada Diamantina, meridional 13°, 24', 50,7" latitude Sul e 41°, 17', 7,4" longitude oeste de Greenwich e altitude aproximada de 1.027 m acima do nível do mar. A precipitação mínima anual é de 1.179 mm e máxima anual de 1.868mm, sendo o maior nível encontrado de outubro a março (FAZENDA FLORESTA, 2012). O café orgânico é produzido no manejo biodinâmico e tem certificação Demeter (IBD, 2016), que identifica, mundialmente, os produtos biodinâmicos, fornecido pela certificadora IBD.

### 2.1 Amostragem

Os frutos foram colhidos aleatoriamente de 10 plantas de café no mês de julho de 2014. A amostra coletada abrangeu duas plantas da região norte, duas do sul, duas do leste, duas do oeste e duas plantas da região central da propriedade. Os frutos de café foram lavados, separados e beneficiados por via seca. As cascas e grãos foram submetidos ao processo de secagem ao sol nos terreiros da própria fazenda (Figura 6 (A) e (B)) que são utilizados exclusivamente para esta finalidade.

**Figura 6-** Amostra de frutos de café colhidos em julho de 2014 na Fazenda Floresta; (B) Secagem ao sol dos grãos de café e de suas respectivas cascas.



Fonte: Imagem do autor.

Os grãos beneficiados e suas cascas residuais foram conduzidos para o laboratório, sendo armazenados em sacos de papel, mantidas em local seco a temperatura ambiente ( $25\pm 2^\circ\text{C}$ ). Para as análises tanto as cascas quanto os grãos foram trituradas em moinho de facas do tipo Willy MSSL-031 e acondicionadas em vasos de polietileno com tampa, identificados, e mantidas em local seco a temperatura ambiente ( $25\pm 2^\circ\text{C}$ ).

As duas amostras de cascas coletadas por região foram misturadas com auxílio do Agitador Mecânico- TE-139 da Tecnal. As amostras ficaram sob agitação constante por 5 minutos, e assim obteve-se 05 amostras compostas. O mesmo procedimento foi adotado para obtenção de amostras compostas dos grãos de café triturados.

## **2.2 Composição centesimal das cascas residuais de café orgânico**

### **2.2.1 Determinação de umidade**

Determinou-se conforme o protocolo nº 984.25 da AOAC (2010), por secagem em estufa (SX-DTME, Marca Prolab - Brasil) a  $105\pm 2^\circ\text{C}$  até peso constante, utilizando-se 5 g de amostra.

### **2.2.2 Determinação de cinzas totais**

Foi determinado conforme o procedimento nº 925.51 proposto pela AOAC (2010). Foram calcinadas de 5 g da amostra em mufla (Marconi - Brasil) a  $550\pm 2^\circ\text{C}$  até peso constante.

### **2.2.3 Determinação de proteína**

Determinou-se pelo método semi-micro Kjeldahl, segundo a metodologia nº 920.152 proposto pela AOAC (2010). O ensaio baseia-se na hidrólise ácida da matéria orgânica seguida de destilação, recolhendo-se a amônia liberada em ácido bórico a 4%. O fator 5,75 foi utilizado para converter o nitrogênio total em proteínas conforme estabelecido pela Legislação Brasileira (Resolução RDC n. 360 de 23 de dezembro de 2003, da ANVISA).

### **2.2.4 Determinação de lipídios**

Os lipídios foram extraídos e determinados conforme o protocolo recomendado pelo IAL (2008). Utilizou-se uma alíquota de 1 g de amostra em extrator de Soxhlet, empregando o éter de petróleo como solvente extrator, durante 8 horas.

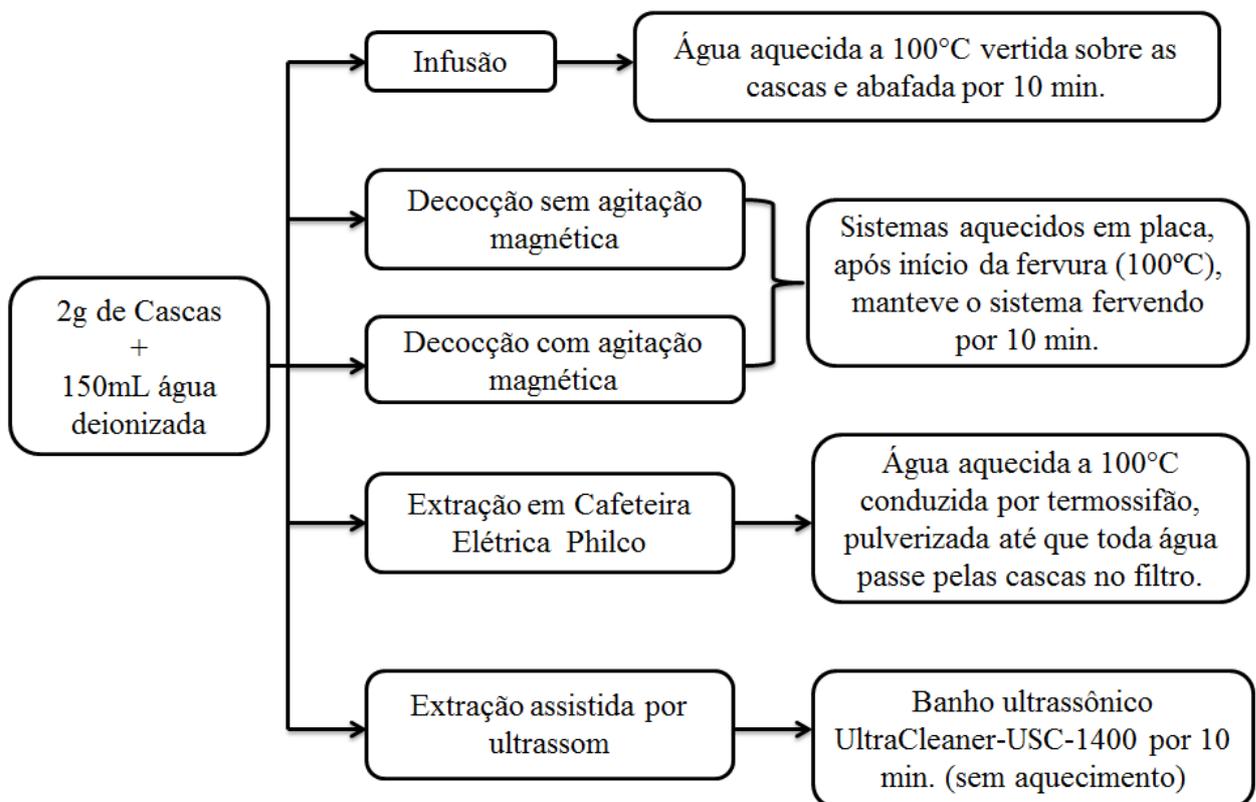
### 2.2.5 Determinação de carboidratos totais

Os teores de carboidratos foram determinados por diferença, subtraindo de 100 a soma dos valores obtidos de umidade, cinzas, proteínas totais e lipídios totais, conforme metodologia proposta pela ANVISA, RDC nº 360/2003.

### 2.3 Ensaio preliminar para seleção do método de extração sólido-líquido

A partir das amostras compostas de cascas foi selecionada uma aleatoriamente para condução do ensaio preliminar de extração aquosa. Utilizaram-se cinco métodos de extração conforme ilustrado na Figura 7.

**Figura 7-** Diagrama simplificado com procedimento adotado nos métodos de extração do ensaio preliminar



Fonte: Dados da pesquisa.

### **2.3.1 Seleção do método mais eficiente de extração aquosa de compostos fenólicos totais das cascas residuais de café orgânico**

Os extratos obtidos pelos diferentes métodos no ensaio preliminar foram arrefecidos a temperatura ambiente. Posteriormente, foram filtrados e acondicionados em frascos âmbar, identificados e armazenados sob-refrigeração ( $10\pm 2^{\circ}\text{C}$ ).

Os extratos foram submetidos à determinação do teor de fenólicos totais, com uso do reagente de Folin-Ciocalteu, e a partir dos resultados foi escolhido como procedimento de extração padrão para produção dos extratos o que se mostrou mais eficiente na extração de fenólicos totais.

O reagente de Folin-Ciocalteu é uma mistura dos ácidos fosfomolibídico e fosfotungstístico, que em presença de certos agentes redutores, como os compostos fenólicos, formam o molibdênio azul e tungstênio azul, cuja coloração permite a determinação da concentração das substâncias redutoras. Uma alíquota de 0,5 mL dos extratos aquosos foi transferida para tubo de ensaio, no qual foram adicionados 2,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu diluído em água destilada 1:10 (v.v<sup>-1</sup>). Agitou-se a mistura que permaneceu em repouso por 8 minutos. Em seguida, foram adicionados 2,0 mL de carbonato de sódio 4% (p.v<sup>-1</sup>) e os tubos foram deixados em repouso por uma hora, ao abrigo da luz. A absorbância foi medida a 740 nm em espectrofotômetro UV Mini 1240, Shimadzu Co. Os fenólicos totais foram quantificados através de curva de ácido gálico ( $R^2=1$ ), e foram expressos como equivalentes de ácido gálico (EAG) por 100 g de matéria seca da amostra.

### **2.4 Produção de extratos aquosos das cascas residuais de café orgânico**

Depois de realizado os ensaios preliminares, o método de extração definido como padrão para a produção dos extratos foi à decocção sem agitação. Os extratos foram preparados utilizando 2,0 g das cascas, em 150 mL de água deionizada, com aquecimento do sistema até atingir a temperatura de  $100^{\circ}\text{C}$ , e manutenção da fervura por 10 minutos. Os extratos foram arrefecidos a temperatura ambiente, filtrado e acondicionados em frascos âmbar, identificados e armazenados sob-refrigeração ( $10\pm 2^{\circ}\text{C}$ ). Foram produzidos extratos aquosos das amostras em três períodos distintos, correspondendo assim às três repetições realizadas no estudo.

## **2.5 Caracterização química dos extratos aquosos das cascas residuais de café orgânico**

### **2.5.1 Determinação de fenólicos totais**

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado com uso do reagente de Folin-Ciocalteu, procedendo-se conforme foi apresentado no item 2.3.1.

### **2.5.2 Determinação de flavonoides totais**

A determinação de flavonoides foi realizada em conformidade com Woisky e Salatino (1998), a alíquotas de 0,5mL do extrato aquoso das cascas de café foram adicionados 1,5mL de álcool etílico e 0,1mL de cloreto de alumínio 10%, a mistura reacional nos tubos foram homogeneizadas e acrescentou-se 0,1mL de acetato de potássio 1M e 2,8mL de água destilada. Os tubos foram novamente homogeneizados e mantido em repouso por 30 minutos. As leituras das absorvâncias foram feitas em espectrofotômetro UV Mini 1240, Shimadzu Co. a 415 nm. A quantificação de flavonoides foi feita por meio de uma curva analítica de quercetina variando sua concentração de 0,05 a 1,00 mg/mL. Os flavonoides totais foram quantificados através de curva de quercetina ( $R^2 = 0,99$ ), e foram expressos em mg equivalente de quercetina (EQ) por 100 g de matéria seca da amostra.

### **2.5.3 Determinação dos taninos condensados - Método da vanilina**

A mistura reacional foi constituída por 0,5 mL do extrato das cascas com 3 mL da solução metanólica de vanilina (4%, m.v<sup>-1</sup>) e homogeneizados vigorosamente. Posteriormente foram adicionados 1,5 mL de HCl concentrado, e novamente agitados. A mistura foi mantida à temperatura de  $28 \pm 2^\circ\text{C}$  por 20 minutos. Procedeu-se a leitura em espectrofotômetro Shimadzu UV mine 1240 a 500 nm. A quantificação de taninos foi feita através de uma curva analítica de catequina variando sua concentração de 0,01 a 0,05 mg.mL<sup>-1</sup>. Os taninos totais foram quantificados através de curva de catequina ( $R^2 = 0,95$ ), e foram expressos em mg equivalente de catequina (ECTQ) por 100 g de matéria seca da amostra.

## 2.6 Ensaios *in vitro* da atividade antioxidante dos extratos aquosos das cascas residuais de café orgânico

### 2.6.1 Método do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH)

A atividade antioxidante dos extratos foi determinada utilizando-se o método adaptado de Brand-Wiliams (1995). O método fundamenta-se na redução do radical DPPH<sup>•</sup> (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) por antioxidantes presentes no extrato, resultando num decréscimo da absorvância. Alíquotas de 1,0 mL de extrato aquoso das cascas, em cinco concentrações diferentes (0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0 mg.mL<sup>-1</sup>) em tubos de ensaio, e acrescentou-se 4 ml de uma solução etanólica de DPPH 0,06 mM. As análises foram realizadas em triplicatas. Após 30 minutos, as absorvâncias das amostras foram lidas a 515 nm em espectrofotômetro UV Mini 1240, Shimadzu Co. A amostra controle foi submetida às mesmas condições com solução de etanol a 80% no lugar das amostras. Para cada concentração dos extratos, foi calculado o percentual de inibição do DPPH (Equação 01). A partir da porcentagem de inibição do DPPH das cinco concentrações diferentes dos extratos, foram construídos os gráficos de dispersão, plotando-se no eixo Y essas porcentagens e no eixo X a concentração dos extratos (mg.mL<sup>-1</sup>).

#### Equação 1:

$$\% \text{ de inibição do DPPH} = \frac{(\text{Leitura do controle} - \text{Leitura da Amostra}) \times 100}{(\text{Leitura do Controle})}$$

Os resultados foram expressos em Concentração Efetiva 50% (EC<sub>50</sub>). A EC<sub>50</sub> expressa a concentração mínima (mg.mL<sup>-1</sup>) de antioxidante necessária para reduzir em 50% a concentração inicial de DPPH. Para calcular o EC<sub>50</sub> utilizou-se a equação da reta, substituindo o valor de Y por 50 para obter a concentração da amostra com capacidade de reduzir 50% do DPPH. Os extratos com valores de EC<sub>50</sub> mais próximo a zero foram considerados com melhor potencial antioxidante.

### 2.6.2 Co-oxidação $\beta$ -caroteno/Ácido Linoleico

Para o preparo da solução sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico, utilizaram-se 8,0 mL da solução de  $\beta$ -caroteno diluído em clorofórmio ( $0,1 \text{ mg.mL}^{-1}$ ), aos quais adicionaram-se 40  $\mu\text{L}$  de ácido linoleico, 400  $\mu\text{L}$  de tween 40. O clorofórmio foi evaporado em rota-evaporador, e 400 mL de água saturada de oxigênio foram acrescentados, segundo método adaptado por Rufino et al. (2007). Em tubos de ensaio com 40  $\mu\text{L}$  de amostra foram adicionados 3,0 mL da solução sistema, o BHT utilizado como padrão foi submetido às mesmas condições. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 470 nm. A leitura do primeiro tubo foi realizada de imediato, os outros tubos foram incubados em banho-maria a  $45^\circ\text{C}$  e as leituras realizadas em intervalos de 15 min. completando o total de duas horas. O mesmo ocorreu com os tubos contendo o padrão e o sistema, que eram os tubos sem o acréscimo de amostras.

Correlacionou-se a queda da leitura de absorvância das amostras com o sistema e assim estabeleceu-se a porcentagem de oxidação, já a porcentagem de proteção contra a oxidação lipídica foi obtida subtraindo-se a porcentagem de oxidação de cada amostra de 100% (Equação 2).

#### Equação 2:

$$\% \text{ Oxidação} = \frac{[(\text{redução Abs})_{\text{amostra}} \times 100]}{(\text{redução Abs})_{\text{sistema}}}$$

$$\% \text{ Proteção} = 100 - (\% \text{ de oxidação})$$

### 2.6.3 Poder redutor

Avaliou-se o poder redutor conforme o procedimento descrito por Oyaizu (1986), com adaptações. O método fundamenta-se na mudança da coloração amarela da solução composta por complexo  $\text{Fe}^{3+}$ /ferricianeto, que varia da tonalidade verde para o azul, dependendo do poder de redução de cada substância, ou seja, a presença de agentes redutores (antioxidantes) reduz o complexo para a forma ferrosa ( $\text{Fe}^{2+}$ ). A partir do extrato aquoso das cascas de café, as amostras foram diluídas em etanol para diferentes concentrações (0,2; 0,4; 0,6; 0,8 e 1  $\text{g.mL}^{-1}$ ). Em seguida foi levado 1 mL de cada extrato diluído a tubos de ensaio, sendo adicionado 2,5 mL de solução tampão fosfato 0,2 M (pH 6,6) e 2,5 mL de ferricianeto de potássio a 1% (p.v<sup>-1</sup>). Posteriormente, a mistura foi incubada a  $100^\circ\text{C}$  por 20 minutos. Foram

acrescidos 2,5 mL de ácido tricloroacético a 10% (p.v<sup>-1</sup>) em seguida, centrifugou-se. Um volume de 2,5 mL da mistura foi transferido para outro tubo de ensaio, adicionou-se 2,5 mL de água destilada e 0,5 mL de cloreto férrico a 0,1% (p.v<sup>-1</sup>), e submeteu-se o sistema à agitação. O branco foi feito sob as mesmas condições, excetuando-se a amostra e as leituras das absorvâncias foram realizadas em triplicata a 700 nm.

## **2.7 Comparação da composição química e atividade antioxidante entre o extratos aquoso dos grãos e extratos aquosos de suas cascas residuais**

As cinco amostras compostas de grãos de café orgânico foram utilizadas para obtenção de extratos aquosos em decocção sem agitação de acordo com o item 2.4. Nos extratos aquosos produzidos a partir das amostras compostas dos grãos de café orgânico foi determinado o teor de compostos fenólicos totais e flavonoides totais, adotando-se procedimento conforme item 2.3.1 e 2.5.2, respectivamente. O potencial antioxidante desses extratos também foram avaliados, adotando-se o teste de sequestro do radical DPPH seguindo o procedimento descrito no item 2.6.1 eo teste da co-oxidação do  $\beta$ -caroteno e ácido linoleico conforme item 2.6.2. Essas análises foram realizadas para comparar a composição química e o potencial antioxidante dos extratos aquosos de grãos de café orgânico com os extratos aquosos das suas cascas residuais.

## **2.8 Análise estatística**

O experimento foi conduzido em Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC) com três repetições que correspondeu a extratos produzidos em tempos diferentes e todas as análises foram realizadas em triplicata. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e o teste de Tukey para comparação das médias ao nível de 5% de probabilidade, usando o programa Statistica® 6.0. Diferenças entre as médias no nível de 5% ( $P < 0,05$ ) serão consideradas significantes.

Para comparar e identificar diferenças significativas entre as médias obtidas dos ensaios realizados com os extratos obtidos da casca e dos grãos de café foi realizado o teste *t* para dados emparelhados.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Composição centesimal das cascas residuais de café orgânico

Os resultados da composição centesimal das cascas de café encontram-se na tabela 3. As amostras não diferiram estatisticamente quanto ao teor de proteínas e, de acordo com Gouvea et al. (2009), o teor de proteínas nas cascas de café variam entre 8-11% de matéria seca, os resultados observados para as cascas 03, 04 e 05 estão em concordância com o autor, estando apenas as cascas 01 e 02 com valores inferiores.

Na determinação do teor de umidade, cinzas e carboidratos totais, as amostras apresentaram diferenças significativas, pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). A umidade das cascas de café beneficiados por via seca têm teores de umidade que variam de 7% a 18% (CLIFFORD E RAMIREZ-MARTINEZ, 1991; SOUZA et al., 2006; GOUVEA et al., 2009) e os resultados encontrados estão dentro dessa margem, já que variaram de 14,4% a 17%.

**Tabela 3-** Composição centesimal das cascas de café orgânico

Amostras	Umidade (%)	Cinzas (%)	Proteínas (%)	Lipídeos (%)	Carboidratos (%)
<b>Casca 1</b>	16,80±0,89 <sup>a</sup>	9,01±0,28 <sup>abc</sup>	6,94±0,00 <sup>a</sup>	10,58±0,08 <sup>a</sup>	56,67±0,28 <sup>b</sup>
<b>Casca 2</b>	16,50±0,57 <sup>ab</sup>	8,36±0,12 <sup>bc</sup>	7,42±0,01 <sup>a</sup>	10,61±0,03 <sup>a</sup>	57,11±0,57 <sup>a</sup>
<b>Casca 3</b>	17,00±0,19 <sup>a</sup>	8,21±0,40 <sup>c</sup>	8,35±0,00 <sup>a</sup>	10,83±0,21 <sup>a</sup>	55,61±0,20 <sup>e</sup>
<b>Casca 4</b>	15,80±0,41 <sup>b</sup>	9,15±0,05 <sup>ab</sup>	8,69±0,00 <sup>a</sup>	10,48±0,00 <sup>a</sup>	55,88±0,79 <sup>d</sup>
<b>Casca 5</b>	14,40±0,45 <sup>b</sup>	9,86±0,03 <sup>a</sup>	8,72±0,00 <sup>a</sup>	10,72±0,13 <sup>a</sup>	56,30±0,23 <sup>c</sup>

Médias na mesma coluna seguidas de letras diferentes diferem entre si ( $P < 0,05$ ), pelo teste de Tukey.  
Fonte: Dados da Pesquisa.

Diversos são os fatores que podem influenciar no percentual de umidade das cascas de café, tais como variações no beneficiamento, condições de armazenamento e transporte. Se for aplicado o beneficiamento por via úmida, o teor de umidade tende a ser mais elevado. Segundo Oliveira e Franca (2014), o teor elevado de carboidratos é esperado para este tipo de resíduo, resultado observado no presente estudo, com valores acima de 50% de carboidratos em todas as amostras. Esses valores estão abaixo dos valores descritos por outros autores que propõem um teor médio de carboidratos em cascas de café beneficiados por via seca entre

58,0-85,0% (CLIFFORD E RAMIREZ-MARTINEZ, 1991; SOUZA et al., 2006; GOUVEA et al., 2009).

### 3.2 Ensaio Preliminar para seleção do método de extração aquoso dos fenólicos totais das cascas residuais de café orgânico

Por meio de investigação na Farmacopeia Brasileira de fitoterápicos (2011), foi observado que a maioria dos extratos aquosos produzidos a partir de cascas e partes duras de vegetais utiliza em média entre 1-4 g do material vegetal, em volume médio de 150-200 mL de água. Os extratos aquosos das cascas de café foram produzidos seguindo esta recomendação, sendo utilizados 2 g de cascas em 150 mL de água.

Os cinco métodos testados se mostraram eficazes quanto à extração de fenólicos totais, como pode ser observado na Tabela 4.

**Tabela 4-** Teores de fenólicos totais encontrado no teste preliminar com os diferentes métodos de extração

<b>Método de Extração</b>	<b>Teor de Fenólicos Totais (mg EAG.100g<sup>-1</sup>)</b>
<b>Infusão</b>	276,28±0,04 <sup>b</sup>
<b>Decocção sem agitação</b>	345,72±0,02 <sup>a</sup>
<b>Decocção com agitação</b>	382,97±0,03 <sup>a</sup>
<b>Ultrassom</b>	184,79±0,03 <sup>c</sup>
<b>Cafeteira Elétrica</b>	270,95±0,01 <sup>b</sup>

Médias na mesma coluna seguidas de letras diferentes diferem entre si (P<0,05), pelo teste de Tukey.  
Fonte: Dados da Pesquisa.

Os métodos que se mostraram mais eficiente foram a decocção sem agitação e decocção com agitação, sendo considerados iguais a 5% de significância. Já extração assistida por ultrassom mostrou-se o método menos eficiente. Variações na forma de extração, tipos de solvente, proporção de solvente/sólido, o tempo e a temperatura são fatores importantes no processo de extração de compostos fenólicos, pois afetam diretamente a cinética de transferência dos mesmos para o solvente (MUSSATTO, et al, 2011). O resultado do ensaio preliminar de extração está de acordo com o que é preconizado pela Farmacopeia de Fitoterápicos (BRASIL, 2011), que aponta a decocção como método mais indicado para o preparo de extratos a partir de amostras vegetais rígidas como as cascas de café. A partir dos resultados do estudo preliminar, foi definido como método de extração aquoso padrão a

decoção sem agitação, que foi um dos métodos onde se encontrou o maior teor de fenólicos totais.

### 3.3 Caracterização química dos extratos aquosos das cascas residuais de café orgânico

Os extratos aquosos das cascas de café arábica orgânico, apresentaram alto teor de compostos fenólicos totais, e teor de flavonoides e taninos condensados baixos em relação aos valores obtidos para os polifenóis totais como pode ser observado na Tabela 5. Os compostos fenólicos desempenham um papel de defesa na planta e são fitoquímicos bastante estudados devido à sua bioatividade (OLIVEIRA e FRANCA, 2014), já que podem propiciar efeitos fisiológicos benéficos ao organismo humano, como neutralizar radicais livres associados a doenças, provocar efeito vasodilatador em virtude do aumento da síntese do óxido nítrico endotelial (NATHAN; BRUMAGHIM, 2009; QUIÑONES et al, 2013).

**Tabela 5-** Caracterização química dos extratos aquosos de cascas de café arábica orgânico

<b>Amostras</b>	<b>Fenólicos Totais (mg EAG.100g<sup>-1</sup>)</b>	<b>Flavonoides Totais (mg EQ.100g<sup>-1</sup>)</b>	<b>Taninos Condensados (mg de ECTQ.100g<sup>-1</sup>)</b>
<b>Casca 01</b>	383,47±0,35 <sup>a</sup>	7,10±0,20 <sup>b</sup>	1,15±0,56 <sup>b</sup>
<b>Casca 02</b>	417,76±0,86 <sup>a</sup>	7,66±0,63 <sup>b</sup>	1,79±0,89 <sup>b</sup>
<b>Casca 03</b>	404,00±1,72 <sup>a</sup>	7,18±0,12 <sup>b</sup>	2,37±0,27 <sup>a</sup>
<b>Casca 04</b>	396,82±0,08 <sup>a</sup>	7,43±0,35 <sup>b</sup>	2,14±0,20 <sup>ab</sup>
<b>Casca 05</b>	454,59±0,20 <sup>a</sup>	8,47±0,11 <sup>a</sup>	2,12±0,74 <sup>ab</sup>

Valores médios de três repetições; Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente (P<0,05) pelo teste de Tukey.

Fonte: Dados da pesquisa.

Em estudo utilizando diferentes solventes na extração de fenólicos totais de café arábica (BAGGIO et al., 2007), os níveis observados, variaram de 288,6 a 424,0 mg EAG.100g<sup>-1</sup> de material seco, estando os resultados do presente estudo similares. Produções científicas de relevância descrevem que na extração destes compostos, o mais indicado são os solventes orgânicos menos polares que a água, onde os compostos fenólicos tendem a ser mais solúveis (KIM; LEE, 2002). A natureza do composto, o método de extração empregado, o tamanho da amostra, o tempo e as condições de estocagem, o padrão utilizado e a presença de interferentes tais como ceras, gorduras, terpenos e clorofilas<sup>8</sup> são fatores que influenciam na análise dos polifenóis. O metanol e etanol são os solventes mais indicados e considerados como mais eficientes na extração de compostos fenólicos a partir de diferentes fontes naturais

(REHMAN, 2006; CHIRINOS et al, 2007; JAMAL et al., 2010), entretanto no presente estudo foi observado que a extração aquosa é também eficaz na extração destes compostos, bem como no trabalho desenvolvido por Kallel e seus colaboradores (2014), que comparou diferentes solventes na extração de compostos fenólicos de cascas de alho, e foi verificado que o rendimento de extração aumentou na seguinte ordem: etanol<metanol<metanol-água<etanol-água<água.

A extração aquosa é um método eficaz na obtenção compostos fenólicos e, além disso, pode ser considerado um método menos poluente de extração, quando comparada a extrações que utilizam solventes orgânicos. Se os solventes orgânicos são mal gerenciados no seu descarte, pode resultar em possível contaminação ambiental.

Foram observadas diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) nos resultados de flavonóides totais e taninos totais. Além disso, observam-se valores relativamente reduzidos quando comparado ao teor de fenólicos totais extraído das amostras. Essa diferença observada nos resultados pode ser justificada pelo método utilizado na determinação dos compostos fenólicos totais com uso do reagente de Follin Ciocauteau. Este método espectrofotométrico apresenta limitações, já que além de determinar todos os fenólicos presentes na amostra, determina também outras substâncias redutoras que naturalmente fazem parte da composição química das cascas de café e que podem interferir nos resultados, podendo ser considerado como um método não específico (ANGELO; JORGE, 2007).

A grande variedade de combinações que acontece na natureza justifica a diversidade estrutural dos compostos fenólicos existentes (ANGELO; JORGE, 2007), os flavonóides e os taninos são fitoconstituintes que fazem parte da classe dos compostos de natureza fenólica. Os resultados evidenciam que é possível extrair os flavonoides das cascas de café orgânico com a extração aquosa, porém o teor reduzido dos flavonoides pode ser justificado pela temperatura utilizada no processo de extração. A temperatura indicada para extração de flavonóides é entre 60 e 80°C (SOUZA-SARTORI et al., 2013), e no presente estudo a temperatura utilizada foi superior a essa média. Os flavonóides são uma classe de compostos fenólicos que têm propriedades terapêuticas com destaque para o potencial antioxidante, anticarcinogênico, efeitos protetores do sistema renal (BEHLING et al., 2004) propriedades cardioprotetoras específicas, anti-inflamatória e vasodilatadora (TESTAI, 2015). Estruturalmente os flavonoides possuem 15 átomos de carbono em seu núcleo fundamental, que formam os três anéis fenólicos (SIMÕES et al., 2000) e podem ser encontradas nos vegetais na forma aglicosilada, quando se apresentam isentos de glicídios, e também na forma glicosilada, quando estão unidas a moléculas de glicídios (DEGÁSPARI, WASZCZYNSKYJ, 2004). A

posição ocupada pela porção do açúcar, o grau de insaturação e a natureza química dos substituintes influenciam na solubilidade da molécula, e a extração com água quente tende a arrastar os heterosídeos mais polares, tais como os poliglicosídeos, flavanodióis, catequinas e procianidinas (SIMÕES et al., 2000). A partir dos resultados obtidos no presente estudo pode-se inferir que os flavonoides extraídos pela água das cascas residuais de café estão ligados a glicídios, e por polaridade tendem a ser arrastados pela extração aquosa. Como o interesse do estudo desenvolvido era de usar apenas a água como solvente extrator, seguindo procedimento semelhante ao usado na produção da bebida café, não foi utilizado outros solventes, tais como o etanol e metanol, que são solventes orgânicos que poderiam arrastar além dos flavonoides ligados a glicídios com afinidade química com a água, outros que apresentassem afinidade maior com esses outros solventes orgânicos.

Assim como os flavonoides, os taninos também são fenólicos, e os extratos apresentaram baixo teor deste fitoconstituente. O teor de taninos pode variar de concentração nos tecidos vegetais, por diversos fatores como a idade da planta, parte coletada, época da coleta (LARCHER, 2000). No presente estudo foram quantificados apenas os taninos condensados, e além desses, os vegetais podem conter os taninos hidrolisáveis. Estes fitoconstituintes são responsáveis pela adstringência dos produtos vegetais, devido à precipitação de glucoproteínas salivares, o que ocasiona a perda do poder lubrificante (BRUNETON, 1995). Além disso, no método utilizado para determinar os taninos condensados, o método da vanilina, é um teste específico para determinar flavan-3-ols, dihidrochalconas e proantocianinas (ANGELO; JORGE, 2007), e possivelmente a extração aquosa não é tão eficaz na extração desses fitoconstituintes, justificando assim o teor baixo de taninos observado nos extratos aquosos das cascas residuais de café.

Faz-se necessário estudo acerca do teor de taninos, quando resíduos da agroindústria, como as cascas de café são utilizadas na alimentação de animais como ruminantes, ovinos, caprinos ou piscicultura, pois resíduos com altos índices de taninos são considerados antinutricionais, já que podem formar complexos com as proteínas, carboidratos e outros nutrientes, interferindo assim na qualidade nutricional (McDOUGALL et al., 2005). Entretanto, na alimentação humana os taninos podem exercer ação antioxidante, e tem grande interesse econômico. Na viticultura, importantes e estão relacionados à precipitação de matérias proteicas em excesso, auxiliam nos processos de clarificação da bebida eliminação de aromas e estabilização da cor em vinhos tintos (MANFROI et al., 2010), além de ser atribuído também aos taninos juntamente com outros compostos bioativos do vinho as propriedades antioxidantes associadas ao consumo da bebida.

### 3.4 Ensaios *in vitro* da atividade antioxidante dos extratos aquosos das cascas residuais de café orgânico

No método do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil, o percentual de redução do radical DPPH nas diferentes diluições dos extratos aquosos variou de 81,37% a 86,29%, demonstrando assim que o extrato aquoso dos resíduos da cafeicultura é eficiente na redução do radical DPPH. A partir do percentual de inibição foi determinado o EC<sub>50</sub> das amostras de cascas (Tabela 6), destacando-se a amostra 04 do extrato das cascas, com melhor potencial antioxidante, com o menor valor de EC<sub>50</sub>.

Diversos fatores podem influenciar na atividade antioxidante dos compostos de natureza fenólica, em especial a posição de substituição e o número de grupos hidroxila (OH), as propriedades de outros grupos substituintes e a possibilidade de formação de ligações de hidrogênio (RIBEIRO et al., 2015). Compostos com dois ou três grupos hidroxilas no anel benzênico possuem maior atividade antioxidante do que os monohidroxilados (CHENG et al., 2003).

**Tabela 6-** Atividade antioxidante dos extratos aquosos de cascas de café arábica orgânico

Amostras	Sequestro do radical livre DPPH EC <sub>50</sub> (mg.mL <sup>-1</sup> )	Inibição da co-oxidação do β- caroteno/ácido linoleico (%)
Casca 01	4,71 <sup>a</sup>	59,88 <sup>c</sup>
Casca 02	3,57 <sup>c</sup>	53,49 <sup>d</sup>
Casca 03	4,44 <sup>b</sup>	62,80 <sup>a</sup>
Casca 04	2,73 <sup>e</sup>	60,57 <sup>b</sup>
Casca 05	3,44 <sup>d</sup>	60,47 <sup>b</sup>

Médias na mesma coluna seguidas de letras diferentes diferem entre si (P<0,05), pelo teste de Tukey.  
Fonte: Dados da pesquisa.

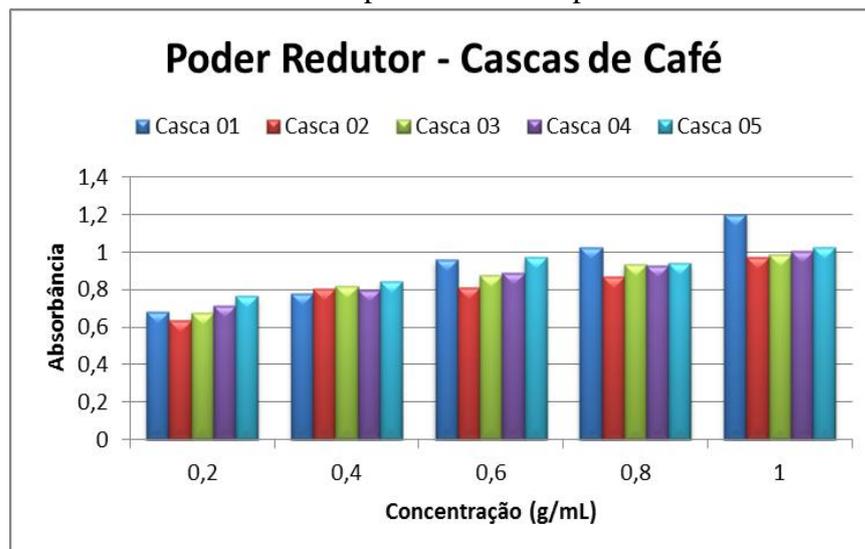
Em trabalho realizado com extração aquosa de variedades de chás e condimentos mais consumidos no Brasil, foram encontrados EC<sub>50</sub> 47,41 mg.mL<sup>-1</sup> para Camomila (*Matricaria recutita* L.), 17,36 mg.mL<sup>-1</sup> para o Capim Santo (*Cymbopogon citratus*) e 17,40 mg.mL<sup>-1</sup> para o Hortelã (*Mentha arvensis* L.) (MORAIS, 2009). Essas são plantas largamente utilizadas como medicamentos fitoterápicos para diversos problemas de saúde, no entanto além desta aplicação atualmente tem se notado um aumento no consumo de chás como fonte de constituintes antioxidantes, que tragam benefícios à saúde, como evitar danos oxidativos dos

radicais livres no organismo. Em comparação com os valores de  $EC_{50}$  encontrado nos extratos aquosos de cascas, estas demonstraram ser uma fonte interessante na obtenção de compostos bioativos com potencial antioxidante.

No teste antioxidante da co-oxidação  $\beta$ -caroteno e ácido linoleico, foi utilizado como padrão o antioxidante sintético BHT, por ser amplamente utilizado na indústria alimentícia. O percentual de inibição da oxidação do antioxidante sintético foi de 95,5%, e dentre as amostras, o extrato da casca 03 destacou-se com 62,80% de inibição da co-oxidação do betacaroteno (Tabela 4). Os percentuais de inibição obtidos no ensaio demonstram uma boa atividade antioxidante dos extratos aquosos das cascas de café arábica orgânico, indicando assim que os extratos contêm fitoconstituintes químicos capazes de inibir a oxidação do  $\beta$ -caroteno. Este resultado corrobora com o alto teor de fenólicos totais determinado nos extratos aquosos, pois estes compostos são descritos como biomoléculas capazes de inibir a peroxidação lipídica e a lipooxigenase *in vitro* (HASLAM, 1996; SOARES, 2002).

O teste do poder redutor fundamenta-se na redução do íon ferricianeto a ferrocianeto que, na presença do íon férrico (proveniente do  $FeCl_3$ ), forma o azul da Prússia, e quanto mais elevado o valor de absorbância, maior é o poder redutor do extrato. Pelo resultado obtido no presente estudo, os extratos aquosos das cascas de café arábica apresentaram boa atividade antioxidante, como pode ser observado na figura 8.

**Figura 8-** Caracterização da atividade antioxidante dos extratos aquosos de cascas residuais de café pelo método do poder redutor



Fonte: Dados da pesquisa.

Nota-se um aumento gradual das absorvâncias à medida que se aumenta a concentração das amostras, e quanto maior a absorvância, maior a capacidade redutora dos fitoconstituintes do extrato.

Os resultados do ensaio de poder redutor não apresentou correlação direta com os resultados de fenólicos totais, visto que amostras que tiveram maior teor de compostos fenólicos não necessariamente apresentaram maior valor de absorvância, como a Amostra 1, que teve o resultado mais expressivo no teste do poder redutor e não foi a amostra que apresentou o maior teor de compostos fenólicos. Pode-se inferir a partir desta observação que uma amostra com maior quantidade de fenóis e flavonoides nem sempre implica em uma maior capacidade antioxidante (SOUSA et al.,2007; MILIAUSKAS et al., 2004).

### **3.5 Comparação da composição química e atividade antioxidante entre o extratos aquoso dos grãos de café e extratos aquosos de suas cascas residuais**

Os resultados das análises realizadas com os extratos aquosos produzidos a partir dos grãos de café orgânico, apresentaram maior teor dos fitoquímicos, bem como percentual de inibição da co-oxidação do  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico superior do que os extratos aquosos produzidos a partir das suas cascas residuais.

De acordo com o teste  $t$  para dados pareados a 5% de probabilidade, no teor de fenólicos totais, foi verificado uma diferença significativa ( $t_{cal}=5,42$  e  $t_{tab}=2,78$ ) entre eles, como pode ser observado na tabela 7, os fenólicos totais encontrados no xtrato aquoso dos grãos foram superiores em relação ao extrato aquoso das suas cascas residuais. O mesmo foi observado no teor de flavonoides. No entanto, mesmo estatisticamente os extratos aquosos dos grãos sendo considerados superiores em ralação aos extratos das cascas, os resultados não apresentaram uma diferença tão expressiva. O grão de café, sem passar pelo processo de torrefação, tem sido objeto de estudos em virtude de possíveis atividades biológicas relacionadas à sua composição química complexa. O processo de torrefação tende a diminuir a concentração dos seus produtos naturais e conseqüentemente pode reduzir as propriedades antioxidantes. Mas ainda assim a bebida café preparada a partir dos grãos de café torrado apresenta potencial antioxidante, já que da mesma forma que alguns fitoconstituintes se perdem nos tratamentos térmicos, outros podem ser preservados ou até mesmo formados, como as melanoidinas que são geradas na reação de Maillard (LÓPEZ-GALILEA et al., 2006).

Os fitoquímicos encontrados nas folhas de uma planta podem ser diferentes dos presentes nas flores, nos galhos, raízes ou frutos dos vegetais e, além disso, o mesmo composto ainda pode ser encontrado em diferentes concentrações dependendo do órgão vegetal (SIMÕES et al., 2000).

**Tabela 7-** Caracterização química e potencial antioxidante de extratos aquosos dos grãos de café arábica

	<b>Fenólicos Totais</b> (mg EAG.100g <sup>-1</sup> )	<b>Flavonoides Totais</b> (mg EQ.100 <sup>-1</sup> g)	<b>Seqüestro do radical livre DPPH</b> EC <sub>50</sub> (µg.mL <sup>-1</sup> )	<b>Inibição da Co-oxidação do β-caroteno/ácido linoleico (%)</b>
<b>Grãos 1</b>	662,15±0,83 <sup>a</sup>	13,88±0,87 <sup>a</sup>	15,09 <sup>a</sup>	68,58 <sup>a</sup>
<b>Grãos 2</b>	606,40±0,78 <sup>ab</sup>	13,44±0,80 <sup>a</sup>	11,48 <sup>b</sup>	66,43 <sup>c</sup>
<b>Grãos 3</b>	514,66±0,29 <sup>c</sup>	10,72±0,35 <sup>c</sup>	10,44 <sup>c</sup>	58,22 <sup>e</sup>
<b>Grãos 4</b>	545,74±0,56 <sup>bc</sup>	11,63±0,87 <sup>b</sup>	10,10 <sup>d</sup>	64,65 <sup>d</sup>
<b>Grãos 5</b>	568,97±0,40 <sup>bc</sup>	11,53±0,20 <sup>bc</sup>	7,53 <sup>e</sup>	68,22 <sup>b</sup>

Valores médios de três repetições; Médias na mesma coluna seguidas de letras diferentes diferem entre si (P<0,05), pelo teste de Tukey.

Fonte: Dados da pesquisa.

Pelo teste *t* para dados pareados com 5% de probabilidade (P<0,05), foi observado que também existe uma diferença significativa ( $t_{cal}=4,79$  e  $t_{tab}=2,78$ ) entre as médias de inibição da co-oxidação do β-caroteno/ácido linoleico, confirmando o que foi observado nos percentuais, os extratos aquosos de grãos de café apresentaram relativa superioridade de inibição dos radicais formados durante a peroxidação do ácido linoleico.

Apenas o resultado do ensaio antioxidante com o radical livre DPPH, o extrato aquoso dos grãos de café obteve um resultado inferior quando comparado com os extratos aquosos das cascas residuais. O menor valor de EC<sub>50</sub> (mg.mL<sup>-1</sup>), que expressa a concentração mínima de antioxidante do extrato necessária para reduzir em 50% a concentração inicial de radicais DPPH, nos extratos aquosos dos grãos foi 7,5 mg.mL<sup>-1</sup>, enquanto para os extratos aquosos das cascas o menor valor de EC<sub>50</sub> foi 2,7 mg.mL<sup>-1</sup>, e quanto menor o valor de EC<sub>50</sub>, maior a capacidade antioxidante do extrato. Amostras com maior teor fitoconstituintes como os compostos fenólicos, não necessariamente são aquelas que apresentarão maior potencial antioxidante (SOUSA et al.,2007; MILIAUSKAS et al., 2004) e essa variação no resultado do ensaio com radical DPPH também pode ser justificada pela existência de possíveis diferenças

estruturais entre os compostos fenólicos dos grãos de café com os fenólicos das suas cascas residuais. Segundo Sousa et al. (2007) as propriedades antioxidantes dos compostos de natureza fenólica estão intimamente relacionadas com sua estrutura química, e como podem existir diferença entre os fitoquímicos presentes em tecidos de um mesmo vegetal, estas possíveis variações demonstraram comportamento distintos no meio reacional, resultando numa menor capacidade de sequestrar o radical DPPH pelos fitoconstituintes extraídos dos grãos de café cru.

## 4 CONCLUSÕES

Os resultados evidenciam que é possível obter compostos bioativos, como os fenólicos totais, das cascas residuais do beneficiamento do café orgânico através da extração aquosa. Destaca-se o potencial antioxidante *in vitro* deste resíduo da agroindústria, que no sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico, apresentou significativo percentual de inibição da oxidação, assim como demonstrou ser eficiente no sequestro do radical DPPH, confirmado pelo valor de  $EC_{50}$  encontrado. Dessa forma, a partir destes resultados, é possível inferir que as cascas de café podem ser uma fonte alternativa na obtenção de fitoquímicos bioativos com potencial antioxidante.

## **CAPÍTULO II – Desenvolvimento de bebida a partir da casca de *Coffea arábica* orgânico: caracterização química, potencial antioxidante e análise sensorial**

### **RESUMO**

No processo de beneficiamento do fruto do cafeeiro é gerado como principal resíduo as cascas de café, que apresentam em sua composição química fitoconstituintes semelhantes aos presentes nos grãos de café. A bebida café tem sido considerada um alimento funcional em virtude dos fitoquímicos que podem trazer efeitos fisiológicos benéficos à saúde, como ação antioxidante e psicoestimulante. No Iêmen as cascas são usadas na produção de bebida e, além disso, atualmente existem produtos desenvolvidos à base do fruto inteiro de café, que prometem poderosa ação antioxidante. Dessa forma, objetivou-se com o estudo propor o aproveitamento das cascas residuais de café arábica orgânico (*Coffea arábica*, L) na produção de bebida acrescida de concentrado de abacaxi, avaliar a composição química, o potencial antioxidante e a aceitação do novo produto por meio de análise sensorial. Os resultados indicaram que o extrato aquoso teve seu conteúdo de fenólicos, taninos e flavonoides melhorados, com o acréscimo do concentrado de abacaxi. Os fenólicos totais aumentaram de 484,3 mg EAG.100 g<sup>-1</sup> para 648,04 mg EAG.100 g<sup>-1</sup> na bebida antioxidante desenvolvida, além disso, o potencial antioxidante frente ao radical DPPH teve seu valor de EC<sub>50</sub> melhorado. O acréscimo do concentrado de abacaxi resultou também em maior aceitabilidade do produto desenvolvido, visto que na bebida produzida apenas com as cascas o resultado da aceitabilidade indicou que os provadores desgostaram de moderadamente a muito, já a bebida acrescida de concentrado de abacaxi teve médias que indicaram que os provadores gostaram ligeiramente da bebida antioxidante desenvolvida.

### **ABSTRACT**

In the beneficiation process of the coffee fruit is generated as main residue the coffee husks, which features in its chemical composition similar to the phytochemicals present in coffee beans. The coffee drink has been considered a functional food because of phytochemicals that can bring physiological effects to health benefits such as antioxidant and psychostimulant. In Yemen the barks are used in the production of beverage and, moreover, there is currently a market product developed from the whole fruit of coffee, which promises a powerful antioxidant action. Thus, the objective with the study propose the use residual barks of organic Arabica coffee (*Coffea arabica* L) in production plus pineapple concentrate drink, evaluate the chemical composition, the antioxidant potential and acceptance of the new product by through sensory analysis. The results indicated that the aqueous extract had its phenolic, tannins and flavonoids content improved, with addition of concentrate pineapple, total phenolics, for example, increased from 484.3mg EAG.100g<sup>-1</sup> to 648.04 mg GAE .100g<sup>-1</sup> in the developed antioxidant drinks, furthermore, the antioxidant potential in comparison to the DPPH had improved its EC<sub>50</sub> value. The pineapple concentrate addition also resulted in greater acceptability of the developed product, because in the beverage produced with only the barks the result of the acceptability showed that the tasters disliked from moderately to a lot, since the drink added with pineapple concentrate had averaged rates that indicated the tasters slightly liked the developed antioxidant drink.

## 1 INTRODUÇÃO

A cafeicultura é uma cultura perene, e tem sua produtividade influenciada pelas condições do clima, pelo ciclo produtivo e pelos cuidados dispensados aos cafezais. A produção de café movimentava mais US\$ 90.000 milhões por ano, e vem em crescente ascensão em mais de 80 países (RAMALHO et al., 2013). Dentre as diversas espécies de café existentes, as principais do ponto de vista agroeconômico, são a *Coffea arábica* (café arábica) e a *Coffea canephora* (café robusta). O café robusta é principalmente produzido em países como Vietnã e Indonésia, já o café arábica é mais produzido no Brasil, Colômbia, México, Etiópia, e Guatemala (PETRACCO, 2005).

O grão obtido do beneficiamento do fruto do café é o produto de maior interesse econômico, e nesta operação são separados os grãos, da casca e da polpa que constituem o fruto. Os grãos depois de beneficiados são destinados às indústrias processadoras de produtos derivados do café, como o café torrado e moído, café em grãos torrados para cafeteiras elétricas, café solúvel, café em capsulas, dentre outros. O consumo do café está associado principalmente ao seu sabor e aroma peculiares, mas, além disso, este consumo vem crescendo em virtude do café estar sendo apontado como um alimento funcional capaz de trazer efeitos biológicos benéficos à saúde, como psicoestimulante (DUNCAN; OXFORD, 2011) e antioxidante (ESQUIVEL e JIMÉNEZ, 2012; MURTHY e NAIDU, 2012).

O café é uma mistura complexa de componentes químicos, como álcoois diterpenóides, alcaloides (cafeína), e ácidos fenólicos (ácido caféico, ácido clorogênico, dentre outros) (GEORGE, RAMALAKSHMI, MOHAN RAO, 2008). Considerando sua composição fitoquímica, o café pode ser considerado uma das principais fontes de antioxidantes da dieta em muitos países (NATELLA; SCACCINI, 2012; TORRES; FARAH, 2010).

Juntamente com o beneficiamento dos grãos do café é produzida uma grande quantidade de resíduos. A água da lavagem, polpa e principalmente as cascas de café, são os resíduos que podem significar uma fonte grave de contaminação ambiental se forem descartados de maneira inadequada e sem nenhum gerenciamento. Em contrapartida esses resíduos da agroindústria cafeeira podem ter um destino final mais promissor, visto que os mesmos apresentam potencial para serem empregados como substrato na obtenção de fitomoléculas, agregando assim valor a este resíduo (SOCCOL et al., 1999).

Historicamente, o café começou a ser consumido como bebida preparada em infusão, onde era utilizado o fruto completo, cascas e grãos. Hoje apenas no Iêmen as cascas são

valorizadas. Com o advento tecnológico, atualmente em grande parte do mundo, o café é consumido sob a forma de pó obtido dos grãos de café torrados. Além do Iêmen, onde as cascas são utilizadas na produção de uma bebida conhecida como “earthy herb” (VARISCO, 1997), as cascas juntamente com os grãos estão sendo processadas para produção de um produto chamado CoffeeBerry®, que é um produto alimentício produzido à base do fruto inteiro de café não-torrado. O CoffeeBerry® promete acrescentar a dieta, altos níveis de ácidos fenólicos, monossacáridos e outros nutrientes do café, que não se perdem em virtude do grão não ser submetido ao processo de torrefação, que pode degradar alguns destes constituintes antioxidantes.

Pelo exposto, objetivou-se com o presente estudo propor o aproveitamento das cascas residuais de café arábica orgânico (*Coffea arábica*, L) produzido na Chapada Diamantina-Ba, como matéria prima na produção de bebida com fitoquímicos recuperados destes resíduos, avaliar a composição química, o potencial antioxidante e a aceitação do novo produto por meio de análise sensorial.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi conduzido no Laboratório do Núcleo de Estudos em Ciência de Alimentos (NECAL), *Campus* de Itapetinga-BA na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB). Foram utilizadas cascas residuais do beneficiamento dos frutos de café (*Coffea arabica* L.) produzidos com manejo orgânico da safra 2014, cultivado na Fazenda Floresta - Povoado de Pau Ferrado, município de Ibicoara-BA, localizada na região da Chapada Diamantina, meridional 13°, 24', 50,7" latitude Sul e 41°, 17', 7,4" longitude oeste de Greenwich e altitude aproximada de 1.027 m acima do nível do mar. A precipitação mínima anual é de 1.179 mm e máxima anual de 1.868mm, sendo o maior nível encontrado de outubro a março (FAZENDA FLORESTA, 2012). O café orgânico é produzido no manejo biodinâmico e tem certificação Demeter (IBD, 2016), que identifica, mundialmente, os produtos biodinâmicos, fornecido pela certificadora IBD.

### 2.1 Análises microbiológicas

Preliminarmente as cascas residuais de café orgânico (*Coffea arabica* L.) foram submetidas a testes microbiológicos, seguindo o que é preconizado pela legislação brasileira para análises em café, em conformidade com a Portaria nº 01, de 28 de janeiro de 1987, da Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Alimentos (define critérios e padrões microbiológicos para produtos expostos à venda ou de alguma forma destinados ao consumo).

#### 2.1.1 Coliformes

Para a determinação de coliformes foi utilizada a metodologia descrita por Silva, Junqueira e Silveira (2010), com 25 g representativos da amostra foram preparadas três diluições ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ , e  $10^{-3}$ ) em água peptonada a 1% estéril. Na fase presuntiva, alíquotas de 1mL de cada diluição foram inoculadas em três séries de três tubos contendo 9 mL de caldo Lauril Sulfato Triptose (LST), com tubo invertido para coleta de gás (tubo de Durhan). Os tubos foram incubados a 35°C por 24-48 horas. A leitura dos tubos foi realizada observando turvação e formação de gás. Na fase confirmativa efetua-se a transferência de alíquotas dos tubos presuntivos positivos para tubos contendo caldo verde brilhante, esses devem ser incubados a 35°C durante 24 a 48 horas e posterior identificação dos que tiverem crescimento (positivo) de coliformes totais, identificado pela ocorrência de produção de gás nos tubos de Durhan.

### **2.2.2 Bolores e leveduras**

Para a contagem padrão de bolores e leveduras utilizou-se 25g da amostra de cascas residuais de café orgânico foram preparadas três diluições ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ , e  $10^{-3}$ ) em água peptonada a 1% estéril. Para contagem padrão dos bolores e leveduras, 1 mL das diluições foi plaqueado, utilizando o meio Ágar Batata Dextrose (BDA) acidificado com ácido tartárico 10% até pH 3,5. A incubação se deu em estufa bacteriológica a 25 °C por 5 dias, sem inverter e em pilhas de três placas. Passado o período de incubação, as placas foram contadas para determinar o número de unidades formadoras de colônia (UFC.g<sup>-1</sup>) de bolores e leveduras, utilizando a metodologia do Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos (SILVA et al., 1997).

### **2.2.3 *Salmonella sp.***

A análise microbiológica para presença de *Salmonella sp.* nas cascas residuais de café orgânico foi realizada retirando 25g representativos da amostra para pré-enriquecimento em 225ml de caldo lactosado, que ficou em incubação a 35°C por 24h. Para o enriquecimento seletivo foram utilizados os caldos específicos (Rappaport-Vassiliadis e Selenito-Cistina) em tubos, onde foram inoculados alíquotas de cultura do caldo lactosado, e permaneceram em incubação a 35°C por 24h. O plaqueamento diferencial foi realizado a partir dos tubos do enriquecimento seletivo, foi realizado o estriamento com uma alçada na superfície de meios de cultura específicos, levando essas placas para incubação em estufa a 35°C por 24 horas. Foi considerado positivo as placas que apresentassem culturas típicas, conforme descrito por Silva, Junqueira e Silveira (2010), devem ser submetidas aos testes bioquímicos de Citrato de Simmons e Vermelho de Metila.

## **2.2 Fatores antinutricionais**

### **2.2.1 Ácido oxálico**

Na determinação do ácido oxálico adotou-se a metodologia proposta por Lourdes e Jokl (1990). O método consiste na extração do ácido oxálico sob aquecimento, em presença do ácido clorídrico, sendo precipitado e quantificado pela titulação com permanganato de potássio. Os resultados foram expressos em mg.g<sup>-1</sup> da amostra seca.

### **2.2.2 Hemaglutinas**

A atividade hemaglutinante foi determinada de acordo com a metodologia proposta por Figueroa e Lajolo (1997), e se baseou na extração da hemaglutinina das cascas de café em solução de NaCl, com agitação constante por três horas à temperatura ambiente, seguindo com a filtração em filtro de papel em sistema à vácuo. A estimativa da atividade aglutinante foi realizada em placa de microtitulação, foi adicionando suspensão de eritrócitos (sangue humano tipo A-) com o extrato das cascas, em uma série de diluições, mantendo o sistema em repouso por uma hora, à temperatura ambiente. A leitura é realizada de forma visual, para verificar a formação ou não de aglutinação das células sanguíneas. Como controle negativo foi utilizado apenas suspensão de eritrócitos, e como controle positivo foi utilizado extrato de feijão preto.

### **2.3 Produção de extratos aquosos das cascas residuais de café orgânico**

Depois de realizado os ensaios preliminares com as cascas de café, estas foram utilizadas para produzir extrato aquoso utilizando 2,0 g da amostra de cascas, em 150 mL de água deionizada, com aquecimento do sistema até atingir a temperatura de 100°C, e manutenção da fervura por 10 minutos. O extrato foi arrefecido a temperatura ambiente, filtrado e acondicionados em frascos âmbar, identificados e armazenados sob-refrigeração (10±2°C).

### **2.4 Preparo do concentrado de abacaxi**

Abacaxis maduros foram obtidos no comércio local na cidade de Itapetinga-Ba. Os frutos foram higienizados em água corrente, descascados, cortados e mantidos sob-refrigeração (±10°C) até serem triturados em liquidificador, obtendo assim a polpa do abacaxi que foi filtrada em coador de tecido “voil”, de tecelagem lisa e quadrada. Este foi concentrado em evaporador rotatório a 50°C, foi utilizado como parâmetro para findar a concentração da polpa de abacaxi, leitura refratométrica dos graus Brix da amostra a 20°C, até verificação mínima de 25° Brix.

### **2.5 Preparo da bebida em diferentes concentrações**

A bebida foi preparada misturando o extrato aquoso das cascas com o concentrado de abacaxi. Foram preparadas bebidas em três concentrações diferentes, 0%, 10% e 20% de concentrado de abacaxi. A bebida foi produzida sob-rígido controle de higiene, não oferecendo riscos a saúde. Depois de fabricadas as bebidas foram armazenadas sob-

refrigeração ( $10\pm 2^{\circ}\text{C}$ ), até a realização da análise sensorial, sendo servida gelada aos voluntários participantes do teste.

## 2.6 Análise sensorial

O teste foi realizado no Laboratório de Análise Sensorial da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, *campus* Itapetinga-Ba, e os voluntários não treinados, sendo estes estudantes e funcionários da instituição. A análise sensorial foi realizada aplicando a escala hedônica estruturada de nove (9) pontos, em que as avaliações variam de gostei muitíssimo (valor 9) e desgostei muitíssimo (valor 1). Cada provador recebeu uma amostra de cada formulação identificada por código numérico, amostra esta que foi servida gelada  $10^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$  acompanhada de um copo com água mineral, a ficha de análise sensorial (Anexo 1) e o termo de consentimento livre esclarecido (Anexo 2). Ao servir as amostras, os provadores eram orientados que entre a prova de uma amostra e outra, fizesse o branco com água, para que o sabor de uma amostra não interferisse na percepção da amostra seguinte. As amostras receberam duas sequências aleatórias de códigos numéricos de três dígitos escolhidos aleatoriamente, a primeira sequência foi 231, 704 e 869, que correspondeu respectivamente a formulação 1 (0% de concentrado de abacaxi), formulação 2 (10% de concentrado de abacaxi) e formulação 3 (20% de concentrado de abacaxi). A segunda sequência foi 107, 441 e 785, que correspondeu respectivamente a formulação 1 (0% de concentrado de abacaxi), formulação 2 (10% de concentrado de abacaxi) e formulação 3 (20% de concentrado de abacaxi).

Juntamente com a análise sensorial foi realizado o teste de intenção de compra do produto desenvolvido. Este teste se deu com avaliações que variaram de “certamente eu compraria” a “certamente eu não compraria”. Além disso, foi questionado ao provador voluntário se era possível identificar de que matéria prima à bebida era produzida. Para a realização deste teste, a proposta da pesquisa foi submetida à avaliação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UESB.

## 2.7 Composição química e análise antioxidante

Os ensaios para determinar a composição química e análise sensorial foram realizadas na bebida com a formulação 1 que era basicamente o extrato aquoso das cascas residuais de café orgânico e com a formulação 2 que era constituída do extrato aquoso das cascas residuais de café orgânico acrescida com 10% de concentrado de abacaxi. Foram determinados o teor de compostos fenólicos totais, flavonoides totais e taninos condensados. E o potencial

antioxidante das formulações 1 e 2 foi avaliado por meio de ensaio *in vitro* com o método do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH).

### **2.7.1 Determinação de fenólicos totais**

A determinação do teor de compostos fenólicos totais foi realizada utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu (RFC). Alíquotas de 0,5 mL das formulações foram transferidas para tubos de ensaio, no qual foram adicionados 2,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu, diluído em água destilada 1:10 (v.v<sup>-1</sup>). Agitou-se a mistura que permaneceu em repouso por 8 minutos. Em seguida, foram adicionados 2,0 mL de carbonato de sódio a 4% (p.v<sup>-1</sup>) e os tubos foram deixados em repouso por uma hora, ao abrigo da luz. A absorbância foi medida a 740 nm em espectrofotômetro UV Mini 1240, Shimadzu Co. Os fenólicos totais foram quantificados através da curva do ácido gálico (R<sup>2</sup>=1), e foram expressos como equivalentes de ácido gálico (EAG) por 100 g de matéria seca da amostra.

### **2.7.2 Determinação de flavonoides totais**

A determinação de flavonoides foi realizada em conformidade com Woisky e Salatino (1998), a alíquotas de 0,5 mL das formulações da bebida desenvolvida foi adicionado 1,5 mL de álcool etílico e 0,1mL de cloreto de alumínio 10%, a mistura reacional nos tubos foram homogeneizadas e acrescentou-se 0,1mL de acetato de potássio 1M e 2,8 mL de água destilada. Os tubos foram novamente homogeneizados e mantido em repouso por 30 minutos. As leituras das absorbâncias foram feitas em espectrofotômetro UV Mini 1240, Shimadzu Co. a 415 nm. A quantificação de flavonoides foi feita por meio de uma curva analítica de quercetina variando sua concentração de 0,05 a 1,00 mg.mL<sup>-1</sup>. Os flavonoides totais foram quantificados através de curva de quercetina (R<sup>2</sup>= 0,99), e foram expressos em mg equivalente de quercetina (EQ) por 100 g de matéria seca da amostra.

### **2.7.3 Determinação dos taninos condensados - Método da vanilina**

A mistura reacional foi constituída por 0,5 mL das formulações testadas com 3 mL da solução metanólica de vanilina (4%, m.v<sup>-1</sup>) e homogeneizados vigorosamente. Posteriormente foram adicionados 1,5 mL de HCl concentrado, e novamente agitados. A mistura foi mantida à temperatura de 28±2°C por 20 minutos. Procedeu-se a leitura em espectrofotômetro Shimadzu UV mine 1240 a 500 nm. A quantificação de taninos foi feita através de uma curva analítica de catequina variando sua concentração de 0,01 a 0,05 mg.mL<sup>-1</sup>. Os taninos totais

foram quantificados através de curva de catequina ( $R^2 = 0,95$ ), e foram expressos em mg equivalente de catequina (ECTQ) por 100 g de matéria seca da amostra.

#### 2.7.4 Método do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH)

A atividade antioxidante dos extratos foi determinada utilizando-se o método adaptado de Brand-Williams (1995). O método fundamenta-se na redução do radical DPPH<sup>•</sup> (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) por antioxidantes presentes no extrato, resultando num decréscimo da absorvância. A partir das formulações 1 e 2 foram preparadas amostras em cinco concentrações diferentes e alíquotas de 1,0 mL dessas concentrações foram levadas à tubos de ensaio, e adicionou-se a cada tubo 4 ml de uma solução etanólica de DPPH 0,06 mM. As análises foram realizadas em triplicata. Após 30 minutos, a absorvância da amostra foi lida em 515 nm em espectrofotômetro UV Mini 1240, Shimadzu Co. A amostra controle foi submetida às mesmas condições com solução de etanol a 80% no lugar das amostras. Para cada concentração dos extratos, foi calculado o percentual de inibição do DPPH (Equação 01). A partir da porcentagem de inibição do DPPH das cinco concentrações diferentes produzidas a partir das formulações testadas, foram construídos os gráficos de dispersão, plotando-se no eixo Y essas porcentagens e no eixo X a concentração dos extratos ( $\text{mg.mL}^{-1}$ ).

#### Equação 1:

$$\% \text{ de inibição do DPPH} = \frac{(\text{Leitura do controle} - \text{Leitura da Amostra}) \times 100}{(\text{Leitura do Controle})}$$

Os resultados foram expressos em Concentração Efetiva 50% ( $EC_{50}$ ). A  $EC_{50}$  expressa a concentração mínima ( $\text{mg.mL}^{-1}$ ) de antioxidante necessária para reduzir em 50% a concentração inicial de DPPH. Para calcular o  $EC_{50}$  utilizou-se a equação da reta, substituindo o valor de Y por 50 para obter a concentração da amostra com capacidade de reduzir 50% do DPPH. Os valores de  $EC_{50}$  mais próximo a zero são considerados com melhor potencial antioxidante.

## 2.8 Análise estatística

O experimento foi conduzido em Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC) e todas as análises foram realizadas em triplicata. Os resultados da composição química e potencial antioxidante foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e o teste de Tukey para comparação das médias ao nível de 5% de probabilidade, usando o programa Statistica® 6.0. Diferenças entre as médias no nível de 5% ( $P < 0,05$ ) serão consideradas significantes.

Os resultados da análise sensorial foram submetidos a análise de regressão afim de verificar a existência de uma relação funcional entre a nota de aceitação do novo produto em relação a adição do concentrado de abacaxi nas formulações. Foi escolhido o modelo matemático linear para explicar a relação entre a concentração do concentrado de abacaxi com a nota de aceitação da bebida testada.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Análises microbiológicas

Nas análises microbiológicas para microrganismos dos grupos de coliformes, os resultados foram negativos (Tabela 1), indicando assim que as cascas residuais de café arábica orgânico não apresenta a presença destes microrganismos. Os coliformes são enterobacterias, que crescem na presença de sais biliares e produzem ácido e gás, derivados da lactose, dentro de 48 horas a 37°C, e na análise realizada, em nenhum tubo foi observada a formação de gás. Os resultados das análises microbiológicas para salmonelas, não foi observado formação de nenhuma colônia com morfologia típica deste microorganismo, que são colônias com centros pretos. Os fungos filamentosos e leveduras apresentaram também indicaram ausência destes contaminantes microbiológicos na matéria-prima.

**Tabela 8-** Contagem microbiológica de coliformes, *Salmonella sp.* e bolores e leveduras

Amostra	Coliformes	<i>Salmonella sp.</i>	Bolores e Leveduras (UFC.g <sup>-1</sup> )
Casca de Café	Ausente	Não houve crescimento	Não houve crescimento

Fonte: Dados da pesquisa.

Esses resultado de ausência de contaminação microbiana pode ser atribuída à eficácia do processo de higienização, bem como ao fato da matéria-prima ser um material seco que dificulta em partes o crescimento desses microrganismos. A especificação da OMS é de no máximo 5,0 x 10<sup>7</sup> UFC.g<sup>-1</sup> de contaminação por coliformes, 5,0 x 10<sup>4</sup> UFC.g<sup>-1</sup> de contaminação por bolores e leveduras para materiais vegetais destinados ao uso na forma de chás e infusões (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1998).

#### 3.2 Fatores antinutricionais

Na investigação de hemaglutininas o resultado foi de ausência destes antinutrientes (Tabela 9). As hemaglutininas são glicoproteínas que podem se aglutinar com algumas células, como os eritrócitos, que são as células vermelhas sanguíneas (REYNOSO-CAMACHO et al., 2003).

A interação das hemaglutinas com as células tem especificidade do sítio de ligação e, além disso, apresenta a necessidade de um íon metálico como  $\text{Ca}^{+2}$  e  $\text{Mn}^{+2}$  (VAN DAMME et al., 1998). A ligação das hemaglutininas com as células resulta em degeneração de membranas celulares da mucosa do trato gastrointestinal, causando inflamação e interferindo na absorção de nutrientes (SGARBIERI, 1987). Elas são estáveis contra a ação de um grande número de enzimas proteolíticas, mas são lábeis ao calor, tendo sua ação específica destruída pelo cozimento (JAFFÉ, 1980).

**Tabela 9-** Fatores Antinutricionais: hemaglutinas e ácido oxálico

Amostra	Hemaglutinas	Ácido Oxálico (mg.100 g <sup>-1</sup> de amostra)
Casca de Café	Ausente	3,31

Fonte: Dados da pesquisa.

Já o oxalato foi detectado na casca de café, e este antinutriente pode estar presente em grande parte dos alimentos de origem vegetal (LOPES, 2009) em concentrações variadas. Apresenta efeito tóxico no organismo, como a capacidade de formar complexos com cálcio, o oxalato de cálcio, que é excretado pela urina. O excesso desses complexos tende a aumentar o risco de formação de cálculos renais, e a ação antinutricional esta relacionada com a redução da biodisponibilidade do cálcio no organismo. O cálcio é de extrema importância para diversos processos fisiológicos no organismo humano (BENEVIDES et al., 2011) como na formação estrutural dos ossos e dos dentes, atua juntamente com a vitamina K, nos sistema circulatório, auxiliando na coagulação do sangue, dentre outras. Alimentos como o morango, espinafre, beterraba, nozes, farelo de trigo, chocolate, chá, café são fontes de ácido oxálico (DUNCAN et al, 2002). O resultado observado para os oxalatos são baixos quando comparados ao espinafre e a carambola, que em estudos apresentaram 180 mg.100 g<sup>-1</sup> e 730 mg.100 g<sup>-1</sup>. Os autores dos estudos salientam ainda que esses dois alimentos não têm seu consumo recomendado principalmente por pessoas que apresentem tendência à formação de cálculos renais, ou pessoas que tenham artrite, reumatismo e gota (MOREIRA et al., 2010; MASSEY et al., 2007).

### 3.3 Composição química e análise antioxidante

O resultado da caracterização fitoquímica do extrato aquoso das cascas de café orgânico evidenciou que este resíduo apresenta um teor elevado de polifenóis, assim como na bebida com o concentrado de abacaxi. De acordo com teste de Tukey ( $P < 0,05$ ) foram verificadas diferenças significativas entre as amostras. O acréscimo do concentrado de abacaxi no extrato aquoso das cascas de café também aumentou o teor de flavonoides totais e taninos condensados como pode ser observado na tabela 8.

Os polifenóis são constituintes bioativos que estão presentes nos vegetais e são consideradas substâncias não nutricionais, que atualmente tem seu consumo recomendado, pois podem contribuir na manutenção da saúde humana. O teor de polifenóis varia de acordo com a espécie vegetal, fatores edafoclimáticos, parte da planta utilizada na extração, bem como o método empregado para obtenção destes fitoconstituintes do tecido vegetal (SIMÕES et al., 2000).

**Tabela 10-** Caracterização química das formulações desenvolvidas a partir das cascas de café arábica orgânico

	<b>Fenólicos Totais</b> (mg EAG.100g <sup>-1</sup> )	<b>Flavonoides Totais</b> (mg EQ.100 <sup>-1</sup> g)	<b>Taninos Condensados</b> (mg de CTQ.100g <sup>-1</sup> )
<b>Formulação 1*</b>	484,30 ± 0,01 <sup>b</sup>	8,47 ± 0,01 <sup>b</sup>	2,12 ± 0,01 <sup>b</sup>
<b>Formulação 2**</b>	648,04 ± 0,00 <sup>a</sup>	13,30 ± 0,03 <sup>a</sup>	2,52 ± 0,01 <sup>a</sup>

Médias na mesma coluna seguidas de letras diferentes diferem entre si ( $P < 0,05$ ), pelo teste de Tukey.

\*0% de concentrado de abacaxi; \*\*10% de concentrado de abacaxi.

Fonte: Dados da pesquisa.

Em estudo realizado com polpas de frutos tropicais, o teor de compostos fenólicos totais no extrato aquoso da polpa de acerola, cajá, caju e goiaba foram respectivamente 835,25 mg.100 g<sup>-1</sup>, 70,92 mg.100 g<sup>-1</sup>, 201,61 mg.100 g<sup>-1</sup> e 104,76 mg.100 g<sup>-1</sup> (VIEIRA et al, 2011). O teor de compostos fenólicos presentes nos vegetais, depende de características genéticas, bem como de outros fatores, como clima (temperatura e umidade), propriedades químicas do solo, região de cultivo, entre outros aspectos (JALIL e ISMAIL, 2008).

O abacaxi (*Ananas comosus*) foi à fruta escolhida para produção da bebida basicamente por suas características sensoriais, visto que é uma é uma fruta abundante em

açúcar quando maduros e rico em sais minerais e vitaminas. Em 100g de polpa fresca de abacaxi pode conter em média cerca de 89% de água, 0,3% de proteína e 5,8% de glicídios (SOARES et al., 2004). O esperado é que a polpa de abacaxi concentrada fosse capaz o suficiente de adoçar a bebida desenvolvida, a ponto de não ser necessária a utilização de nenhum açúcar processado ou qualquer outro tipo de adoçante. A caracterização química revelou que o concentrado de abacaxi também apresenta fitoquímicos em sua constituição, como pode ser observado no aumento no teor de polifenóis, de flavonoides e os taninos condensados. Em estudo desenvolvido com o extrato aquoso do resíduo de polpa desta fruta, os resultados indicaram uma média 8,60 mg.100 g<sup>-1</sup> de fenólicos totais (SOUSA et al. 2011).

O resultado do potencial antioxidante das formulações (Tabela 11) exibiu boa atividade antioxidante para a bebida desenvolvida a partir das cascas residuais de café orgânico. A atividade antioxidante pelo método DPPH foi expresso em concentração efetiva 50% (EC<sub>50</sub>), que determina a concentração mínima de antioxidante necessária para reduzir em 50% a concentração inicial de DPPH, e quanto menor o valor de EC<sub>50</sub>, maior o potencial antioxidante da amostra.

**Tabela 11-** Capacidade antioxidante, expressa como EC<sub>50</sub>, do extrato aquoso das cascas de café e da bebida antioxidante, utilizando o radical livre DPPH.

Amostras	DPPH EC <sub>50</sub> (mg.mL <sup>-1</sup> )
<b>Extrato Aquoso das Cascas de Café</b>	3,44 <sup>a</sup>
<b>Bebida Antioxidante</b>	0,94 <sup>b</sup>

Médias na mesma coluna seguidas de letras diferentes diferem entre si (P<0,05), pelo teste de Tukey.  
Fonte: Dados da pesquisa.

A formulação 1 com 0% da polpa de abacaxi concentrada o valor de EC<sub>50</sub> observado demonstra que as cascas podem ser fonte na obtenção de compostos com potencial antioxidante. A formulação 2 com 10% da polpa de abacaxi concentrada na sua composição, o valor de EC<sub>50</sub> foi ainda melhor, já que foi ainda menor do que o observado na formulação 1.

Como citado anteriormente, a polpa do abacaxi concentrado foi utilizada apenas com a finalidade de contribuir nas características sensoriais da bebida desenvolvida, no entanto, observa-se que o acréscimo da mesma contribuiu, mesmo que de maneira não tão expressiva, na composição química e no potencial antioxidante. A partir dessa sutil variação nos resultados, pode-se inferir que o abacaxi que têm em sua composição química metabólitos secundários com potencial antioxidante frente ao radical DPPH.

### 3.3 Análise sensorial

Como a casca residual do café arábica orgânico não apresentou microorganismos patogênicos foi possível produzir a bebida antioxidante a partir desta matéria prima, visto que não significaria riscos para os provadores voluntários. Os resultados da análise sensorial em escala hedônica indicou que a amostra produzida apenas da decocção das cascas de café arábica orgânico não obteve um bom resultado na aceitação dos atributos avaliados pelos provadores não treinados. Apenas no atributo textura não foi observada diferença na aceitação entre as bebidas (Tabela 12).

**Tabela 12-** Atributos sabor, textura, aroma e aspecto global da bebida antioxidante desenvolvida com as cascas resíduas de café orgânico com diferentes concentrações do concentrado de abacaxi

Amostra	Sabor	Textura	Aroma	Impressão Global
<b>Formulação 1*</b>	2,96±1,88 <sup>b</sup>	5,42±2,08 <sup>a</sup>	4,25±2,06 <sup>b</sup>	3,75±1,90 <sup>b</sup>
<b>Formulação 2**</b>	4,86±2,02 <sup>a</sup>	5,48±2,00 <sup>a</sup>	5,44±1,91 <sup>a</sup>	5,05±2,01 <sup>a</sup>
<b>Formulação 3***</b>	5,48±2,11 <sup>a</sup>	5,78±1,88 <sup>a</sup>	5,44±1,95 <sup>a</sup>	5,48±2,05 <sup>a</sup>

Médias na mesma coluna seguidas de letras diferentes diferem entre si ( $P < 0,05$ ), pelo teste de Tukey.

\*0% de concentrado de abacaxi; \*\*10% de concentrado de abacaxi; \*\*\*20% de concentrado de abacaxi.

Fonte: Dados da pesquisa.

O resultado do produto sem o acréscimo do concentrado de abacaxi (Amostra 0%) pode está associada às características da amostra, que apresentou o sabor doce diminuído, e o atributo sabor, é uma propriedade sensorial que está diretamente relacionada aos teores de açúcares e acidez dos produtos (JAEKEL et al., 2010).

A polpa de abacaxi antes de passar pelo processo de concentração apresentava sólidos solúveis a 20° C igual a 18°Brix. O teor de sólidos solúveis (°Brix) é uma variável de grande relevância já que é um parâmetro que está intimamente relacionado com a garantia de sabor do produto avaliado. Os sólidos solúveis da polpa apresentou valor acima do valor mínimo preconizado pelas Normas de Classificação do Abacaxi (CEAGESP, 2003) que é de 12 °Brix para fruto considerado maduro. O abacaxi é uma fruta tropical com características sensoriais

atrativas, principalmente no sabor e no aroma, além de ser uma importante fonte de ácido ascórbico, minerais e fitoquímicos antioxidantes (RAMALLO & MASCHERONI, 2012). O processo de concentração da polpa do fruto *in natura* em evaporador rotatório retirou a água, acentuando as características sensoriais. A polpa concentrada do abacaxi apresentou teor de sólidos solúveis a 20° C igual a 29°Brix. O acréscimo da mesma nas formulações desenvolvidas foi o fator que determinante para aumentar as notas de aceitação do produto, pois a polpa concentrada de abacaxi contribuiu significativamente no *flavor* da bebida.

Os resultados evidenciaram que o modelo matemático linear (Tabela 13) foi adequado para explicar a variação na concentração da polpa de abacaxi concentrada em relação à nota de aceitação da bebida, pois à medida que se aumentou a concentração do mesmo, foi observada uma maior aceitação do novo produto.

Os resultados mostram que existiu uma resistência dos provadores com o novo produto. A média geral é que a formulação produzida apenas das cascas de café arábica orgânico não apresentou boa aceitabilidade, com valores em torno de 2 a 3 de média o que indica que os provadores “desgostaram de moderadamente a muito” do novo produto. Já a mesma bebida acrescida de concentrado de abacaxi teve médias girando em torno de 5, o que indica que os “provadores foram indiferentes” ou “gostaram ligeiramente” do produto desenvolvido.

**Tabela 13-** Equações de regressão com significância e coeficiente de determinação para bebida antioxidante desenvolvida com as cascas resíduas de café orgânico com diferentes concentrações do concentrado de abacaxi

<b>Atributos</b>	<b>Modelo linear</b>	<b>Probabilidade</b>	<b>R<sup>2</sup></b>
<b>Sabor</b>	$y = 3,176 + 0,126x$	< 0,0001	0,919
<b>Aroma</b>	$y = 4,448 + 0,0596x$	0,0027	0,75
<b>Impressão Global</b>	$y = 3,897 + 0,0865x$	< 0,0001	0,919

x: % do concentrado de abacaxi

Fonte: Dados da Pesquisa.

Na intenção de compra os resultados ratificaram esses resultados, sendo que 55% dos voluntários responderam que certamente não comprariam a amostra sem o acréscimo do concentrado de abacaxi. Já para as amostras que foram adicionadas o concentrado de abacaxi, a maioria dos provadores voluntários alegou que talvez comprasse ou não comprasse o novo produto, confirmando assim a indiferença dos mesmos perante o novo produto.

Atualmente é notória a busca pelo desenvolvimento de novos produtos a partir de resíduos ou subprodutos da agroindústria. Em estudo desenvolvido por Souto-Maior e Novello (2014), os autores propuseram a produção de bebida elaborada à base de extrato de fragmentos de arroz e polpa de abacaxi com hortelã e os resultados do teste sensorial para os atributos sabor, textura e aroma foram em média 6,24; 6,4; e 6,08 respectivamente, sugerindo que os provadores gostaram de ligeiramente a muito. O resultado desse estudo juntamente com o resultado obtido na análise sensorial das formulações desenvolvidas no presente estudo indica que ainda existe resistência na aceitação de novas bebidas produzidas a partir de matéria prima pouco usual para estes fins.

Quanto ao questionamento sobre de que era feita as formulações desenvolvidas, as respostas foram as mais variadas possíveis. Poucos foram os que responderam que se tratava de um produto feito com resíduos ou subproduto do café e polpa de abacaxi. Muitos acreditaram se tratar de bebida feita a base de tamarindo, possivelmente em virtude da cor da bebida e o aroma, que pouco lembra o café. Muitos responderam também que a bebida poderia ter sido feita a partir de mistura de ervas (boldo, sene, umburana), ou mistura de chá de ervas, não especificadas, com suco de abacaxi.

## 4 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos com o presente estudo evidenciam o potencial que as cascas residuais do beneficiamento do café arábica orgânico têm como fonte de extração de fitoquímicos com ação antioxidante, bem como a possibilidade de reaproveitar os constituintes químicos naturais antioxidantes através da extração aquosa para produção de bebidas, agregando valor a estes resíduos. Ademais, foi possível verificar que a formulação desenvolvida a partir das cascas residuais de café orgânico teve suas características sensoriais melhoradas com o acréscimo do concentrado de abacaxi, que além de melhorar o sabor, contribuiu sinergicamente no potencial antioxidante da bebida. Dessa modo, outras formulações podem vir a serem desenvolvidas, a fim de que se obtenha um produto que aproveite todo o potencial antioxidante deste resíduo e que alcance uma maior aceitabilidade dos consumidores.

## REFERÊNCIAS

- ABIA. Associação Brasileira das Indústrias da Alimentação; Compêndio da Legislação de Alimentos: Consolidação das Normas e Padrões de Alimentos, 7ª versão, v. 1, 1999.
- ABIC. Associação Brasileira da Indústria de Café. Tendências de consumo de café-VIII-2010. Disponível em: [http://www.abic.com.br/publique/media/EST\\_PESQTendenciasConsumo2010.pdf](http://www.abic.com.br/publique/media/EST_PESQTendenciasConsumo2010.pdf). Acesso em: dez. 2014.
- ADAMS MR, DOUGAN J. Waste products. In: Clarke RJ, Macrae R, editors. **Coffee technology**, p. 257–291, 1987.
- AERTS, R.; SNOEIJER, W.; VAN DER MEIJDEN, E.; VERPOORTE, R. Allelopathic inhibition of seed germination by Cinchona alkaloids? **Phytochemistry**, v.30, p.2947-2951.
- ALVES, C. Q.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; BAHIA, M. V.; AGUIAR, R. M. Métodos para determinação de atividade antioxidante *in vitro* em substratos orgânicos. **Química Nova**, v. 33, 2202-2210, 2010.
- ÂNGELO, P.M.; JORGE, N. Phenolic compounds in foods – A brief review. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, p. 232-240, 2007.
- ANVISA; UFPR. Seminário de mercado de agrotóxico e regulação. ANVISA, Brasília, 11 abril de 2012.
- ANVISA. Programa de Análise de Resíduo de Agrotóxico em Alimentos (PARA), dados da coleta e análise de alimentos de 2010, ANVISA, dezembro de 2011. Disponível em [www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br) Acesso em maio 2015.
- AOCS. AMERICAN OIL CHEMIST'S SOCIETY. **Official methods and recommended practices**, 2003.
- AOAC. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**, 2010.
- ASSAYED, M.E.; KHALAF, A.A.; SALEM, H.A. Protective effects of garlic extract and vitamin C against *in vivo* 3 cypermethrin-induced teratogenic effects in rat offspring. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, p. 3153-3158, 2010.
- BAGGIO, J. et al. Identification of phenolic acids in coffee (*Coffea arabica* L.) dust and its antioxidant activity. **Italian Journal of Food Science**, v. 19, p. 191-201, 2007.
- BAHIA. Secretaria da Agricultura, Irrigação e Reforma Agrária. **Diagnóstico e propostas para a cadeia produtiva do café da Bahia**. SEAGRI, 2011.
- BARBOZA, Y. C. B.; SERRA A. A. Ultra-som (I): Influência do Ultra-som na Química. **Química Nova**, v.15, p. 302-316, 1992.

BARTHOLO, G. F.; MAGALHAES FILHO, A. A. R.; GUIMARAES, P. T. G.; HALFOUN, S. M. Cuidados na colheita, no preparo e armazenamento do café. **Informe Agropecuário**, v. 162, p. 33-44, 1989.

BEHLING, E. V.; SENDÃO, M. C.; FRANCESCATO, H. D. C.; ANTUNES, L. M. G.; BIANCHI, M. L. P. Flavonóide quercetina: aspectos gerais e ações biológicas. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 15, p. 285-292, 2004.

BEKALO, S.A.; REINHARDT, H.W. Fibers of coffee husk and hulls for the production of particleboard. **Mater Struct**, v.43, p.1049–1060, 2010.

BENEVIDES, C. M. J. et al. Fatores antinutricionais em alimentos: revisão. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v.18, p. 67-79, 2011.

BENZIE, I.F.F.; STRAIN, J.J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, p. 70-76, 1996.

BERLAN, J.; TIMOTHY, J. M. Sonochemistry: from research laboratories to industrial plants. 1992. **Ultrasonic**, v.30, p. 203-212, 1992.

BOMBARDELLI, E. Technologies for the Processing of Medicinal Plants, in: WIJESKERA, R.O.B. **The Medicinal Plant Industry**, CRC Press, 1991.

BRAND, D.; PANDEY, A.; RODRÍGUEZ-LEÓN, J. A.; ROUSSOS, S.; BRAND, I.; SOCCOL, C. R. Packed bed column fermenter and kinetic modeling for upgrading the nutritional quality of coffee husk in solid-state fermentation. **Biotechnology Progress**, v.17, p.1065–1070, 2001.

BRAND-WILIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v. 28, p. 25-30, 1995.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Formulário de Fitoterápicos da Farmacopéia Brasileira** / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: ANVISA, 2011. 126p.

BRASIL, RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003. **Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/>>. Acesso em: 18 dez. 2014.

BRIDSON, D.M.; VERDCOURT, B. Flora of tropical East Africa: Rubiaceae. (Part 2). **Cape Town: Iziko Museums of Cape Town**, p.415-747, 1988.

BRUNETON, J. **Elementos de Fitoquímica y de Farmacognosia**, Ed. Acribia, 1991.  
CAIXETA, I. F.; PEDINI, S. Comercialização do café orgânico. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 23, p. 149-152, 2002.

CARLSEN, M. H.; HALVORSEN, B. L.; HOLTE, K.; BOHN, S. K.; DRAGLAND, S.; SAMPSON, L.; WILLEY, C.; SENOO, H.; UMEZONO, Y.; SANADA, C.; BARIKMO, I.;

BERHE, N.; WILLETT, W.C.; PHILLIPS, K.M.; JACOBS, DR. JR.; BLOMHOFF, R. The total antioxidant content of more than 3100 foods, beverages, spices, herbs and supplements used worldwide. **Nutrition Journal**, v.9, p. 1-11, 2010.

CAO, G.; ALESSIO, H.M.; CUTLER, R.G. Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 14, p. 303-11, 1993.

CARVALHO, J.C.T.; GOSMANN, G.; SCHENKEL, E.P. Compostos fenólicos simples e heterosídicos. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**, Editora da UFRGS; UFSC, p. 520-535, 2004.

CEAGESP. **Programa brasileiro para modernização da horticultura: normas de classificação do abacaxi**. São Paulo: Central de Qualidade em Horticultura, 2003.

CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A.; FERRIER, D. R. **Bioquímica Ilustrada**. 4. Ed. Porto Alegre: Artmed, 533p, 2008.

CHEN, Z.; BERTIN, R.; FROLDI, G. EC50 estimation of antioxidant activity in DPPH assay using several statistical programs. **Food Chemistry**, v. 138, p. 414-420, 2013.

CHENG, Z.; REN, J.; YAN, G.; LI, Y.; CHANG, W.; CHEN, Z. Quantitative elucidation of the molecular mechanisms of hydroxyl radical quenching reactivity of phenolic compounds. **Bioorganic Chemistry**, v.31, p.149-162, 2003.

CHIRINOS, R.; ROGEZ, H.; CAMPOS, D.; PEDRESCHI, R.; LARONDELLE, Y. Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón) tubers. **Separation and Purification Technology**, v.55, p. 217–225, 2007.

CHU, Y. F. (Ed.). **Coffee: Emerging health effects and disease prevention**. Wiley-Blackwell. Oxford,UK: 2012.

CLARKE, R.J.; MACRAE, R. **Coffee: Chemistry**. Elsevier applied Science Publishers, v. 1, London, New York, 1985.

CLARKE, R. J. Water e mineral contents. In: CLARKE, R. J.; MACRAE, R. (Ed.). **Coffee chemistry**, v. 1, p. 42-82, 1989.

CLIFFORD, M.N.; KAZI, T. The influence of coffee bean maturity on the content of chlorogenic acids, caffeine and trigonelline. **Food Chemistry**, v. 26, p.59–69, 1987.

CLIFFORD, M.N.; RAMIREZ-MARTINEZ, J.R. Tannins in wet-processed coffee beans and coffee pulp **Food Chemistry**, v.40, p. 191–200, 1991.

CLIFFORD, M.N. Chlorogenic acids. In: CLARKE, R.J.; MACRAE, R. (Ed.) **Coffee chemistry**, v. 1, p. 153-202, 1989.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira: café**. Brasília : Conab, v. 1, 2014. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>> Acesso em: maio 2015.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira: café**. Brasília: Conab,v. 2, 2015. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15\\_09\\_29\\_09\\_01\\_35\\_boletim\\_cafe\\_s\\_eteembro\\_2015.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_09_29_09_01_35_boletim_cafe_s_eteembro_2015.pdf)> Acesso em: dez. 2015.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da Safra Brasileira Café - Safra 2012 quarta estimativa**, dezembro/2012. Brasília: CONAB, 2012.

CROTEAU, R.; KUTCHAN, T. M.; LEWIS, N. G. Natural products (secondary metabolites). In: BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. **Biochemistry & molecular biology of plants**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 2000.

COTTON, C. M. **Ethnobotany. Principles and Applications**. Wiley & Sons, 1996.

DENG, J.; CHENG, W.; YANG, G. A novel antioxidant activity index (AAU) for natural products using the DPPH assay. **Food Chemistry**, v. 125, p. 1430-1435, 2011.

DOS SANTOS, M.D.; ALMEIDA, M.C.; LOPES, M.P.; SOUZA, G.E.P. Evaluation of the anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of the natural polyphenol chlorogenic acid. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 29, p. 2236-2240, 2006.

DUARTE, G.S.; PEREIRA, A.A.; FARAH, A. Chlorogenic acids and other relevant compounds in Brazilian coffees processed by semi-dry and wet post-harvesting methods. **Food Chemistry**, v.118, p. 851-855, 2010.

DUNCAN, M. J.; OXFORD, S. W. The effects of caffeine ingestion on mood state and bench press performance to failure. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 25, p. 178-185, 2011.

DUNCAN, S. H.; RICHARDSON, A. J.; KAUL, P.; HOLMES, R. P.; ALLISON, M. J.; STEWART, C. S. Oxalobacter formigenes and its potential role in human health. **Applied and Environmental Microbiology**, v.68, p. 3841–3847, 2002.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Sistemas de Produção**, 2 - 2ª ed. Versão Eletrônica, 2006. Disponível em: <[sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Cafe/CafeOrganico\\_2ed/fluxograma.html](http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Cafe/CafeOrganico_2ed/fluxograma.html)> Acesso em: dez. 2014.

ESPÕN, J.C.; GARCÕA-CONESA, M. T. & BARBER;N, F.A.T. Nutraceuticals: Facts and fiction. **Phytochemistry**, v. 68, p. 2986-3008, 2007.

ESQUIVEL, P.; JIMÉNEZ, V. M. Functional properties of coffee and coffee by products. **Food Research International**, v. 46, 488–495, 2012.

FARAH, A.; DONANGELO, C.M. Phenolic compounds in coffee. *Braz. J. Plant Physiology*, v. 18, p. 23-36, 2006.

FIBL/IFOAM. Research Institute of Organic Agriculture/International Federation of Organic Agriculture Movements. **The World of Organic Agriculture**. Alemanha, 2010.

FIGUEROA, M.; LAJOLO, F. M. Effect of chemical modification of Phaseolus vulgaris lectins on their biological properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, p. 639-643, 1997.

FRANCA, A.S.; OLIVEIRA, L.S. Coffee processing solid wastes: current uses and future perspectives. In: Ashworth GS, Azevedo P, editors. **Agricultural Wastes**, p. 155–189, 2009.

FRANKEL, E.N.; MEYER, A.S. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. **Journal Science Food Agriculture**, v. 80, p. 1925-1941, 2000.

GARCIA, C.C.; COSTA, B.J.; VECHIATTO, W.W.D.; ZAGONEL, G.F.; SUCHEK, E.M.; FILHO, N.R.A.; LELES, M.I.G. **Estudo comparativo da estabilidade oxidativa de diferentes biodiesel por termogravimetria e teste Rancimat**. Biodiesel, p. 263-267, 2006.

GEORGE, S.E.; RAMALAKSHMI, K.; MOHAN RAO, .LJ. A perception on health benefits of coffee. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.48, p. 464–486, 2008.

GONÇALVES, M.; GUERREIRO, M.C.; OLIVEIRA, L.C.A.; CASTRO, C.S. A friendly environmental material: Iron oxide dispersed over activated carbon from coffee husk for organic pollutants removal. **Journal of Environmental Management**, v. 127, p. 206–211, 2013.

GOUVEA, B.M.; TORRES, C.; FRANCA, A.S.; OLIVEIRA, L.S.; OLIVEIRA, E.S. Feasibility of ethanol production from coffee husks. **Biotechnol Letters**, v. 31, p.1315–1319, 2009.

HARBORNE, J.B. **Introduction to Ecological Biochemistry**. London: Academic Press. 1988.

HASLAM, E. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. **Journal of Natural Products**, v.59, p. 205-215, 1996.

HEIMBACH, J.T.; MARONE, P.A.; HUNTER, J.M.; NEMZER, B.V.; STANLEY, S.M.; KENNEPOHL, E. Safety studies on products from whole coffee fruit. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, p. 2517–2525, 2010.

HEGNAUER, R. The taxonomic significance of alkaloids. In: **Chemical Plant Taxonomy** (Swain, T., ed.), p. 389–399. New York: Academic Press, 1963.

HERNÁNDEZ, M.R. Medida del color de la uva y del vino y los polifenoles por espectrofotometría. In: HERNÁNDEZ, M.R. **Curso de viticultura**, p. 274-282, 2004.

HUKKANEN, A.T.; PÖLÖNEN, S.S.; KÄRENLAMPI, S.O.; KOKKO, H.I. Antioxidant capacity and phenolic content of sweet rowanberries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.54, p. 112-119, 2006.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo Agropecuário 2006. Rio de Janeiro, 2006.

ICO. International Coffee Organization. World coffee consumption 2015. Disponível em: <<http://www.ico.org/prices/new-consumption-table.pdf>> Acesso em: jun. 2015.

IAL. Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. Instituto Adolfo Lutz, p. 1020, 2008.

IBD. Inspeções e Certificações Agropecuárias e Alimentícias. Disponível em: <[http://ibd.com.br/pt/ClientesResultadoPesquisa.aspx?ID\\_CERTIFICADO=206&PRODUTO=caf%C3%A9&CLIENTE=&PAIS=Brasil&ESTADO\\_SIGLA=BA](http://ibd.com.br/pt/ClientesResultadoPesquisa.aspx?ID_CERTIFICADO=206&PRODUTO=caf%C3%A9&CLIENTE=&PAIS=Brasil&ESTADO_SIGLA=BA)>> Acesso em: fev. 2016.

ILLY, A.; VIANI, R.; **Espresso Coffee: the Science of Quality**; 2nd ed., Elsevier Academic Press, 2005.

JAEKEL, L. Z.; RODRIGUES, R. da S.; SILVA, A. P. da. Avaliação físico-química e sensorial de bebidas com diferentes proporções de extratos de soja e de arroz. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, v. 30, p. 342-348. 2010.

JAFFÉ, W. G. Hemagglutinins. In: LIENER, I. E. **Toxic constituents of plant foodstuffs**. Academic, p. 1-502, 1980.

JALIL, A.M. M.; ISMAIL, A. Polyphenols in cocoa and cocoa products: Is there a link between antioxidant properties and health? **Molecules**, v. 13, p.2190-2219, 2008.

JAMAL, P.; BARKAT, A.A.; AMID, A. Distribution of phenolics in various Malaysian medicinal plants. **Journal of Applied Sciences**, v.10, p. 2658–2662, 2010.

JORGE, N.; GONÇALVES, L. A. G. Aditivos utilizados em óleos e gorduras de frituras. **Boletim SBCTA**, v. 32, p. 40-47, 1998.

JOSHI SC; MATHUR R; GULATI N. Testicular toxicity of chlorpyrifos (an organophosphate pesticide) in albino rat. **Toxicology and Industrial Health**, v. 23, p.439-444, 2007.

KALLEL, F.; DRISS, D.; CHAARI, F.; BELGHITH, L.; BOUAZIZ, F.; GHORBEL, R.; CHAABOUNI, S. E. Garlic (*Allium sativum* L.) husk waste as a potential source of phenolic compounds: Influence of extracting solvents on its antimicrobial and antioxidant properties. **Industrial Crops and Products**, v. 62, p. 34-41, 2014.

KIM, D.O.; LEE, C.Y. Extraction and isolation of polyphenolics, *Curr. Protoc. Food Analytical Methods*, 2002.

KING, A.; YOUNG, G. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 50, p. 213-218, 1999.

KIRK-OHMER. **Encyclopedia of Chemical Technology**, 3ed., New York: John Wiley & Sons, Incorporation. v. 23, p. 469-490, 1981.

LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. Rima Artes e Textos, 531p., 2000.

LEVITON, A.; COWAN, L. A review of the literature relating caffeine consumption by women to their risk of reproductive hazards. **Food and Chemical Toxicology**, v. 40, p.1271-1310, 2002.

LIST, P. H.; SCHMIDT, P. C. **Phytopharmaceutical Technology**, 374 p. 1989.

LIU, K.; LIN, X.; YUE, J.; LI, X.; FANG, X.; LIN, J.; QU, Y.; XIAO, L. High concentration ethanol production from corncob residues by fed-batch strategy. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 4952-4958, 2010.

LOPES, C.O.; DESSIMONI, G.V.; COSTA, M.S.; VIEIRA, G.; PINTO, N.A.V. Aproveitamento, composição nutricional e antinutricional da farinha de quinoa (*Chenopodium quinoa*). **Alimentos e Nutrição**, v. 20, p.669-675, 2009.

LÓPEZ-GALILEA, I.; ANDUEZA, S.; DI LEONARDO, I.; PEÑA, M. P.; CID, C. Influence of torrefacto roast on antioxidant and pro-oxidant activity of coffee. **Food Chemistry**, v. 94, p. 75-80, 2006.

LOURDES, A.; JOKL, L. Microtécnica para determinação de ácido oxálico em folhas e derivados. In: **Encontro Nacional de Analistas de Alimentos**. Resumos. Instituto de Tecnologia do Paraná, p. 59,1990.

MALACRIDA, C. R.; MOTTA, S. Compostos fenólicos totais e antocianinas em suco de uva. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, p. 659-664, 2005.

MANFROI, V.; RIZZON, L. A.; GUERRA, C. C.; FIALHO, F. B.; DALL'AGNOL, I.; FERRI, V. C.; ROMBALDI, C. V. Influence of different doses and distinct times of application of Enological tannins on the physicochemical characteristics of the Cabernet Sauvignon wine. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, p. 127-135, 2010.

MAPA. Ministério da Agricultura, pecuária e abastecimento; SPA - Secretaria de Política agrícola; IICA – Instituto Interamericano de Cooperação para a Agricultura. **Série Agronegócios: Cadeia Produtiva de Produtos Orgânicos**, Brasília, v.5, 2007.

MARCANO, D.; HASEGAWA, M. **Fitoquímica Orgânica**. Universidad Central de Venezuela. Consejo de desarrollo Científico y Humanístico. Caracas, p. 17-38, 1991.

MARCO, G.J. A rapid method for evaluation of antioxidants. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 45, p. 594-598, 1968.

MASSEY, L.K. Food Oxalate: factors affecting measurement, biological variation, and bioavailability. **Journal of the American Dietetic Association**, v.107, p. 1191-1194, 2007.

MATIELLO, J. B. **O café: do cultivo ao consumo**. São Paulo: Globo, p. 320, 1991.

MATOS, A.T. Tratamento de resíduos na pós-colheita do café (residues disposal in coffee post-processing). In: BOREM, F.M., editor. **Pós-colheita do Café (coffee post processing)**. Lavras (Brazil): Editora UFLA. p. 161–201, 2008.

MARTINEZ, J.R.R. La pulpa de café es un subproducto y non un desecho. In: III Seminário internacional sobre biotecnologia na agroindústria cafeeira. **Anais**, p. 393-395, 1999.

MARZZOCO, A.; TORRES, B. B. **Bioquímica Básica**. Guanabara Koogan, 2015. 404p.

McDOUGALL, G. J.; GORDON, S.; BRENNAN, R.; STEWART, D. Anthocyanin-Flavanol Condensation Products from Black Currant (*Ribes nigrum* L.), **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, p.7878-7885, 2005.

MILLER, H.E. A simplified method for the evaluation of antioxidant. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 48, p. 91, 1971.

MILIAUSKAS, G.; VENSKUTONIS, P.; VAN BEEK, T. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. **Food Chemistry**, v.85, p. 231 – 237, 2004.

MIRANDA, M.; CUELLAR, A. **Farmacognosia y Productos Naturales**. 1ed. Editorial Félix Varela, 60p, 2001.

MOLYNEUX, P.; The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. **Songklanakarín Journal of Science and Technology**, v.26, p. 211-219, 2004.

MORAIS, S. M.; CAVALCANTI E. S. B.; COSTA, S. M. O.; AGUIAR, L. A. Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.19, p. 315-320, 2009.

MOREIRA, F.G.; IERVOLINO, R.L.; DALL'ORTO, S.Z.; BENEVENTI, A.C.A.; FILHO, J.L.O.; GÓIS, A.F.T. Intoxicação por carambola em paciente com insuficiência renal crônica: relato de caso. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v.22, p.395-98, 2010.

MURTHY, P. S.; NAIDU, M. M. Recovery of phenolic antioxidants and functional compounds from coffee industry by-products. **Food and Bioprocess Technology**, 2010.

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

MUSSATTO, S. I.; BALLESTEROS, L. F.; MARTINS, S.; TEIXEIRA, J. A. Extraction of antioxidant phenolic compounds from spent coffee grounds. **Separation and Purification Technology**, v. 83, 173–179, 2011.

NAIDU, M.M.; SULOCHANAMMA, G.; SAMPATHU, S.R.; SRINIVAS, P. Studies on extraction and antioxidant potential of green coffee. **Food Chemistry**, v. 107, p. 377–384, 2008.

NAIDU, M. M.; MURTHY, P. S. Recovery of phenolic antioxidants and functional compounds from coffee industry by-products. **Food and Bioprocess Technology**, p. 897-903, 2010.

NATELLA, F.; SCACCINI, C. Role of coffee in modulation of diabetes risk. **Nutrition Reviews**, v.70, 207–217, 2012.

NATHAN, R. P. E; BRUMAGHIM, J. L. A Review of the Antioxidant Mechanisms of Polyphenol Compounds Related to Iron Binding. **Cell Biochemistry and Biophysics**, v. 53, p. 75-100, 2009.

NAVYA, P.N.; BHOITE, R.N.; MURTHY, P.S. Bioconversion of Coffee Husk Cellulose and Statistical Optimization of Process for Production of Exoglucanase by *Rhizopus stolonifer*. **World Applied Sciences Journal**, v.20, p. 781-789, 2012.

NYCHAS, G.J.E. Natural antimicrobials from plants. In: GOULD, G.W. (Ed.). **New methods of food preservation**, p. 59-87, 1995.

O'BRIEN, J.; MORRISSEY, P. A. Nutritional and toxicological aspects of the Maillard reaction in food. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 28, p. 211-248, 1989.

OLIVEIRA, L.S.; FRANCA, A.S. An Overview of the Potential Uses for Coffee Husks, in: PREEDY, V. R. **Coffee in Health and Disease Prevention**, Academic Press, p.283-291, 2014.

OLIVEIRA, R. B.; GODOY, S. A. P.; COSTA, F. B. **Plantas tóxicas: conhecimento e prevenção de acidentes**. Editora Holos, 64p, 2003.

OLIVEIRA, A.C.; VALENTIM, I.B.; GOULART, M.O.F. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, v. 32, p.689-702, 2009.

ORMOND, J. G. P.; PAULA, S. R. L. de; FAVERET FILHO, P.; ROCHA, L. T. M. da. **Agricultura orgânica: quando o passado é futuro**. BNDES Setorial, p. 3-34, 2002.

OYAIZU, M. Studies on products of the browning reaction. Antioxidative activities of browning reaction products prepared from glucosamine. **Eiyogaku Zasshi**, v. 44, p. 307-315, 1986.

PETRACCO, M. Our everyday cup of coffee: the chemistry behind its magic. **Journal of Chemical Education**, v. 82, p. 1161–1167, 2005.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. **Food Research International**, v. 39, p. 791-800, 2006.

PRATA, E.R.B.A; OLIVEIRA, L.S. Fresh coffee husks as potential sources of anthocyanins. **LWT–Food Sci Technol**,v.40, p.1555–1560, 2007.

QUIÑONES, M.; MIGUEL, M.; ALEIXANDRE A. Beneficial effects of polyphenols on cardiovascular disease. **Pharmacological Research**, v. 68, 125-131, 2013.

RAMALAKSHMI, K.; RAGHAVAN, B. Caffeine in coffee: its removal. Why and how? **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 39, p. 441–456, 1999.

RAMALHO, J. C.; RODRIGUES, A.P.; SEMEDO, J.N.; PAIS, I.P.; MARTINS, L.D.; SIMÕES-COSTA, M. C.; LEITÃO, A. E.; FORTUNATO, A.S.; BATISTA-SANTOS P.; PALOS, I.M.; TOMAZ, M. A.; SCOTTI-CAMPOS, P.; LIDON, F. C.; DAMATTA, F. M. Sustained photosynthetic performance of *Coffea* spp. under long-term enhanced [CO<sub>2</sub>]. **PLoS ONE**, v.8, 2013.

RAMALHO, V.C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v.29, p.755-60, 2006.

RAMALLO, L.A.; MASCHERONI, R.H. Quality evaluation of pineapple fruit during drying process. **Food and Bioproducts Processing**, v.90, p.275-283, 2012.

RAO, C.V.; DESAI, D.; KAUL, B.P.; AMIN, S.; REDDY, B.S. Effect of caffeic acid-esters on carcinogen-induced mutagenicity and human colon adenocarcinoma cellgrowth. **Chemico-Biological Interactions**, v.84, p.277–290, 1992.

REHMAN, Z.U. Citrus peel extract – A natural source of antioxidante. **Food Chemistry**., v.99, p. 450–454, 2006.

REYNOSO-CAMACHO, R.; DE-MEJIA, E. G.; LOARCA-PINA, G. Purification and acute toxicity of a lectin extracted from tepary bean (*Phaseolus acutifolius*). **Food and Chemical Toxicology**, v. 41, p. 21-27, 2003.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de Alimentos**. Instituto Mauá de Tecnologia. Editora Edgard Blücher Ltda, 1 ed., São Paulo, p.155-157, 2004.

RIBEIRO, I. S.; RESENDE, M. L. V.; MONTEIRO, A. C. A.; BOTELHO, D. M. S.; CASAGRANDE, M. R. Composição química e atividade antioxidante de subprodutos da indústria cafeeira. In: IX SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, Curitiba. **Anais**, Brasil, 2015.

RISSATO, S.; ALMEIDA, M. V.; SILVA, L. C. Estudo do Óleo Essencial de *Eugenia uniflora* como Subsídio para Aplicação como Fitofármaco. **Salusvita**, v. 23, p. 209-222, 2004.

ROBBERS, J.E., SPEEDIE, M.K., TYLER, V.E. **Farmacognosia e Farmacobiotechnologia**. São Paulo: Premier, 327p, 1997.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. S.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M. Determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método betacaroteno/ácido linoleico. **EMBRAPA**, 2007.

RUPA, DS, REDDY, PP, REDDI, OS.Reproductive performance in population exposed to pesticides in cotton fields in India. **Environmental Research**, v.55, p.123–128, 1991.

SAHU, O. Bioethanol Production by Coffee Husk for Rural Area. **Advanced Research Journal of Biochemistry and Biotechnology**, v. 1, p. 001-005, 2014.

SALINARDI, T.C.; RUBIN, K.H.; BLACK, R.M.; ST-ONGE M.P. Coffee manooligosaccharides, consumed as part of a free-living, weight-maintaining diet, increase

the proportional reduction in body volume in overweight men. **The Journal of Nutrition**, v. 140, p. 1943-1948, 2010.

SGARBIERI, V. C. **Alimentação e nutrição: fator de saúde e desenvolvimento**. Almed, 387 p, 1987.

SHAHIDI, F. (Ed.). **Antinutrients and phitochemicals in food**. American Chemical Society, 344 p., 1997.

SHAHIDI, F.; HO, C-T. (Ed.). Phenolic compounds in foods and natural health products. **American Chemical Society**, 320 p., 2005.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. Phenolics in foods and nutraceuticals. **CRC Press**, 576 p., 2003.

SHEMEKITE, F.; GÓMEZ-BRANDÓN, M.; FRANKE-WHITTLE, I.H.; PRAEHAUSER, B., INSAM, H., ASSEFA, F. Coffee husk composting: An investigation of the process using molecular and non-molecular tools. **Waste Management**, v. 34, p. 642–652, 2014.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. Varela, 295 p. 1997.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. Varela, 624 p. 2010.

SILVA, M.C.S.; NAOZUKA, J.; LUZ, J.M.R.; ASSUNÇÃO, L.S.; OLIVEIRA, P.V.; VANETTI, M.C.D.; BAZZOLLI, D.M.S.; KASUYA, M.C.M. Enrichment of Pleurotus ostreatus mushrooms with selenium in coffee husks. **Food Chemistry**, v. 131, p. 558-563, 2012.

SILVA, C. A. Uso de resíduos orgânicos na agricultura. In: SANTOS, G. A.; SILVA, L.S.; CANELLAS, L.P.; CAMARGO, F.A.O. (Eds.). **Fundamentos da matéria orgânica: ecossistemas tropicais e subtropicais**. Metrópole, p. 597-624, 2008.

SILVA, R.M.G.; BRIGATTI, J.G.F.; SANTOS, V.H.M.; MECINA, G.F.; LUCIANA P. SILVA. Allelopathic effect of the peel of coffee fruit. **Scientia Horticulturae**, v. 158. p. 39-44, 2013.

SIMÕES, C. et al. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 2ª ed. rev. Universidade /UFRGS/ Ed. Universidade/ UFSC, 2000.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v. 15, p.71-81, 2002.

SOARES, L.M.V.; SHISHIDO, K.; MORAES, A. M.M.; MOREIRA, V.A. Composição mineral de sucos concentrados de frutas brasileiras. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, p.202-206, 2004.

SOCCOL, C. R.; LEIFA, F.; WOICIECHOWSKI, A. L.; BRAND, D.; MACHADO, C. M. M.; SOARES, M.; CHRISTEN, P.; PANDEY, A. Experiência Brasileira na Valorização Biotecnológica de Subprodutos da Agroindústria do Café. In: SEMINÁRIO

INTERNACIONAL SOBRE BIOTECNOLOGIA NA AGROINDÚSTRIA CAFEEIRA, **Anais IAPAR/ UFPR/IRD**, p. 323-328, 1999.

SOEJARTO, D. D. Biodiversity prospecting and benefit sharing: perspective from the field. **Journal of Ethnopharmacology**, v.51, p.1-5. 1996.

SOUSA, C.M.M.; SILVA, H.R.; VIEIRA, G.M.; AYRES, M.C.C.; COSTA, C.S.; ARAÚJO, D.S.; CAVALCANTE, L.; BARROS, E.; ARAÚJO, P.; BRANDÃO, M.; CHAVES, M. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, p. 351-355, 2007.

SOUSA, M. S. B.; VIEIRA, L. M.; LIMA, A. Fenólicos totais e capacidade antioxidante *in vitro* de resíduos de polpas de frutas tropicais. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 14, p. 202-210, 2011.

SOUTO-MAIOR, J. D.; NOVELLO, Z. Caracterização físico química e análise sensorial de bebida elaborada à base de extrato de arroz e polpa de abacaxi com hortelã. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.16, p.83-91, 2014.

SOUZA, A.L.; GARCIA, R.; BERNARDINO, F.S.; CAMPOS, J.M.S.; VALADARES FILHO, S.C.; CABRAL, L.S.; GOBBI, K.F. Casca de café em dietas para novilhas leiteiras: consumo, digestibilidade e desempenho. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, p.921-927, 2006.

SOUZA-SARTORI, J. A.; SCALISE, C.; BAPTISTA, A. S.; LIMA, R. B.; AGUIAR, C. L. Parameters of influence on extraction of phenolic compounds from sugarcane tops with total antioxidant activity. **Bioscience Journal**, v. 29, p. 297-307, 2013.

STRATIL, P.; KLEJDUS, B.; KUBAN, V. Determination of total content of phenolic compounds and their antioxidant activity in vegetables evaluation of spectrophotometric methods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p.607-616, 2006.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. 4. ed. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates Inc., 2006.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology**. Massachusetts: Sinauer Associates, 792p, 2004.

TELLO, J.; VIGUERA, M.; CALVO, L. Extraction of caffeine from Robusta coffee (*Coffea canephora* var. Robusta) husks using supercritical carbon dioxide. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 59, p. 53–60, 2011.

TESTAI, Lara. Flavonoids and mitochondrial pharmacology: A new paradigm for cardioprotection. **Life Sciences**, v. 135, p. 68–76, 2015.

TOCI, A.; FARAH, A.; TRUGO, L. C. Efeito do processo de descafeinação com diclorometano sobre a composição química dos cafés arábica e robusta antes e após a torração. **Química Nova**, v. 29, p. 965-971, 2006.

TORRES, T.; FARAH, A. Coffee is the most important contributor to the antioxidant capacity in Brazilian's diet, 2010. **FASEB Journal**, v.24, p. 919–957, 2010.

UNCTAD. Organic fruit and vegetables from the tropics - market, certification and production information for producers and international trading companies, 308 p, 2003.

VAN DAMME, E. J. M.; PEUMANS, W. J.; BARRE, A.; ROUGÉ, P. Plant Lectin: a composite of several distinct families of structurally and evolutionarily related proteins with diverse biological roles. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 17, p. 575-692, 1998.

VARISCO, D. M. **Coffee and qat in Yemen**. New York, the World & I. v. 12, 216p, 1997.

VIEIRA, L. M.; SOUSA, M. S. B.; MANCINI-FILHO, J.; LIMA, A. Fenólicos totais e capacidade antioxidante *in vitro* de polpas de frutos tropicais. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, p. 888-897, 2011.

VINCENT JC. Green coffee processing. In: Clarke RJ, Macrae R, editors. **Coffee technology**. New York: Elsevier Applied Science Publishers Ltd, p. 1–33, 1987.

VIZZOTO, M.; KROLOW, C.; WEBER, G. E. B. Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância. **Embrapa Clima Temperado, Documento 316**, v.1, p.1-16, 2010.

YUSSEFI, M.; WILLER, H. **The world of organic agriculture 2003 - statistics and future prospects**. Tholey-Theley: International Federation of Organic Agriculture Movement (IFOAM), 128 p., 2003.

WEI, F.; FURIHATA, K.; KODA, M.; HU, F.; KATO, R.; MIYAKAWA, T. et al. <sup>13</sup>C NMR-based metabolomics for the classification of green coffee beans according to variety and origin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 10118–10125, 2012.

WEI, F.; TANOKURA, M. Organic Compounds in Green Coffee Beans. In: PREEDY, V(Ed.). **Coffee in Health and Disease Prevention**, Academic Press, p.149-162, 2014.

WOISKY, R.G.; SALATINO, A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. **Journal of Apicultural Research**, v. 37, p. 99-105, 1998.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Quality control methods for medicinal plant materials**. Geneva: WHO,1998.

## V- ANEXOS

### Anexo 01

Nome: \_\_\_\_\_

Amostra: **BEBIDA ANTIOXIDANTE GELADA**

#### Teste de Aceitação

Por favor, avalie cada amostra utilizando a escala abaixo para descrever o quanto você gostou ou desgostou das amostras:

- (9) Gostei extremamente  
 (8) Gostei muito  
 (7) Gostei moderadamente  
 (6) Gostei ligeiramente  
 (5) Indiferente  
 (4) Desgostei ligeiramente  
 (3) Desgostei moderadamente  
 (2) Desgostei muito  
 (1) Desgostei extremamente

AMOSTRA			
Sabor			
Textura			
Aroma			
Impressão Global			

Avalie as amostras com relação à intenção de compra:

AMOSTRA			
Certamente compraria	( )	( )	( )
Possivelmente compraria	( )	( )	( )
Talvez comprasse/talvez não comprasse	( )	( )	( )
Possivelmente não compraria	( )	( )	( )
Certamente não compraria	( )	( )	( )

Após provar a bebida antioxidante, você consegue identificar de que é feita a bebida: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Comentários: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

## Anexo 02

**Termo de consentimento – Análise sensorial**

Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB  
Mestrado em Engenharia de Alimentos

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**  
**Convite à participação na Análise Sensorial**

*Convidamos você a participar como provador do experimento de pesquisa de Mestrado em Engenharia de Alimentos cujo objetivo é obter bebida antioxidante gelada.*

**Pesquisadores:** Jorge Vitório Gomes das Neves (Mestrando), Prof. Marcondes Viana da Silva (Orientador) UESB – Itapetinga.

**Objetivo desta pesquisa:** Avaliar a aceitação sensorial de bebida antioxidante gelada.

**Benefícios:** Desenvolvimento de bebida antioxidante rica em fitoquímicos naturais, como flavonoides e compostos fenólicos, que trazem efeitos benéficos à saúde humana, já que podem combater ações danosas dos radicais livres no organismo humano.

**Riscos:** Os produtos a serem experimentados foram fabricados sob rígido controle de higiene, não oferecendo riscos a saúde. Entretanto, pessoas com algum tipo de diabetes é recomendado não consumir.

**Confiabilidade:** Será garantido total sigilo a respeito da participação dos julgadores nessa pesquisa. Os resultados serão divulgados em eventos e periódicos científicos das áreas de nutrição e ciência e tecnologia de alimentos.

**Direito de recusa ou desistência:** O julgador pode desistir de participar dessa pesquisa a qualquer momento, sem que isso ocasione quaisquer prejuízos.

**Questões:** Jorge Vitório Gomes das Neves, pesquisador responsável por esse estudo, discutiu estas informações comigo, oferecendo-se para esclarecer as minhas dúvidas. Caso tenha perguntas adicionais, poderei contata-lo pelo telefone (77) 3261-8461 ou e-mail: [jorgevitorioneves@gmail.com](mailto:jorgevitorioneves@gmail.com)

**Participação na pesquisa:** Se eu aceitar participar deste estudo, irei provar as amostras de bebida antioxidante e preencher a ficha de avaliação.

**Consentimento:** Eu, \_\_\_\_\_, Portador (a) do RG de Nº \_\_\_\_\_, concordo em participar desta pesquisa na qualidade de julgador da bebida antioxidante gelada. Recebi uma copia do presente termo de consentimento (2ª via) e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer dúvidas.

Itapetinga, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2015.

Assinatura: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Jorge Vitório Gomes das Neves

\_\_\_\_\_  
Marcondes Viana da Silva