



**FERNANDA REZENDE ABRAHÃO**

**TEOR DE COMPOSTOS BIOATIVOS E  
POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE EXTRATO  
DA BORRA DE CAFÉ EXPRESSO  
ENCAPSULADO POR *SPRAY DRYING***

**LAVRAS - MG**

**2018**

**FERNANDA REZENDE ABRAHÃO**

**TEOR DE COMPOSTOS BIOATIVOS E POTENCIAL ANTIOXIDANTE  
DE EXTRATO DA BORRA DE CAFÉ EXPRESSO ENCAPSULADO  
POR *SPRAY DRYING***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Biomateriais, área de concentração em Produtos e Nanoprodutos Alimentícios, para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Diego Alvarenga Botrel

Orientador

Profa. Dra. Rosemary Gualberto Fonseca Alvarenga Pereira

Coorientadora

**LAVRAS – MG**

**2018**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca  
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Abrahão, Fernanda Rezende.

Teor de compostos bioativos e potencial antioxidante de extrato da  
borra de café expresso encapsulado por *Spray Drying* / Fernanda  
Rezende Abrahão. – 2018.

111 p. : il.

Orientador: Diego Alvarenga Botrel.

Coorientadora: Rosemary Gualberto Fonseca Alvarenga Pereira.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de  
Lavras, 2018.

Bibliografia.

1. Resíduo de café. 2. *Coffea arabica*. 3. Carboidratos. I. Botrel,  
Diego Alvarenga. II. Pereira, Rosemary Gualberto Fonseca Alvarenga.  
III. Título.

**FERNANDA REZENDE ABRAHÃO**

**TEOR DE COMPOSTOS BIOATIVOS E POTENCIAL ANTIOXIDANTE  
DE EXTRATO DA BORRA DE CAFÉ EXPRESSO ENCAPSULADO  
POR *SPRAY DRYING***

**CONTENTS OF BIOACTIVE COMPOUNDS AND  
ANTIOXIDANT POTENTIAL OF EXTRACTS FROM COFFEE  
GROUNDS FROM ENCAPSULATED COFFEE BY *SPRAY DRYING***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Biomateriais, área de concentração em Produtos e Nanoprodutos Alimentícios, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 02 de março de 2018.

Prof. Dr. Cleiton Antônio Nunes      UFLA  
Dr. Marcelo Ribeiro Malta              EPAMIG

Prof. Dr. Diego Alvarenga Botrel  
Orientador

Profa. Dra. Rosemary Gualberto Fonseca Alvarenga Pereira  
Coorientadora

**LAVRAS – MG**

**2018**

Aos meus pais, Edmar e Maria José  
e ao meu irmão Lucas.

**DEDICO.**

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Edmar e Maria José, pelo amor incondicional e incentivo constante. Ao meu irmão Lucas, pelo companheirismo e apoio.

Ao Prof. Diego pela orientação, paciência, incentivo e ensinamentos constantes. Grande exemplo de professor e pesquisador!

À Profa. Rose, pela disponibilidade e conhecimento.

À Lenizy, pela ajuda com a secagem e realização das análises. Obrigada pela paciência e disposição em ajudar.

À Taline e Lívio, pela ajuda com as análises, amizade e risadas durante os dias de trabalho.

À Eloá, pela disposição e auxílio com as análises de isotermas.

Aos demais colegas de laboratório e pós-graduação, pela companhia e conhecimento compartilhado.

Aos professores e funcionários do Departamento de Ciências de Alimentos e do Programa Pós-Graduação de Engenharia de Biomateriais, pelas contribuições e ensinamentos.

À Universidade Federal de Lavras, especialmente, ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Biomateriais, pela oportunidade.

À Capes, pela concessão da bolsa de estudos.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram com uma palavra amiga, conselhos e ajuda, meu muito obrigada!

## RESUMO

Nos últimos anos, o consumo de café tem registrado um crescimento significativo tanto pelo sabor característico quanto pelo reconhecimento da qualidade e efeitos potencialmente benéficos na saúde pelo consumo da bebida. O café contém vários componentes bioativos que justificam esse efeito positivo, destacando-se os fenólicos antioxidantes. Milhões de xícaras de café são consumidas, todos os dias em todo o mundo, produzindo toneladas de resíduos de extração. Tradicionalmente, estes resíduos foram considerados como descarte, ou ocasionalmente utilizados como fertilizantes, porém é uma potencial fonte para a extração de compostos bioativos. A extração de compostos fenólicos antioxidantes do resíduo da bebida do café pode, assim, ser considerada uma opção interessante, para obter estes importantes ingredientes industriais, a partir de uma matéria-prima de baixo custo. A microencapsulação é considerada como um método alternativo, para aumentar a estabilidade de compostos bioativos, como os antioxidantes, em condições ambientais adversas, tais como armazenamento e processamento, retardando as alterações que podem resultar em perda do valor nutricional. Diante do exposto, no presente trabalho objetivou-se microencapsular pelo método de *Spray Drying* o extrato obtido a partir da borra do café expresso, utilizando isolado proteico de soro do leite e sua combinação com outros materiais (maltodextrina, goma arábica, inulina), caracterizando a micropartícula e avaliando sua estabilidade e atividade antioxidante por métodos de DPPH, FRAP, ABTS, quantificação de fenólicos totais e compostos bioativos (ácidos clorogênicos) por cromatografia líquida de alta eficiência. Foi possível a obtenção de partículas de formato esférico com ausência de rachaduras e deformações na superfície. A utilização de isolado proteico de soro do leite (IPSL) apresentou maior eficiência na manutenção da atividade antioxidante mensurada por diferentes métodos. Apesar da aplicação de duas condições diferentes de armazenamento, as variações máximas da atividade antioxidante por DPPH pelas amostras foram inferiores a 10%. Os encapsulados obtidos carrearam e protegeram quantidades consideráveis de antioxidantes presentes no café, os quais foram extraídos de resíduos do processamento.

**Palavras-chave:** Resíduo de café. *Coffea arabica*. Carboidratos. Isolado Proteico de Soro do Leite. Microencapsulação. Compostos Fenólicos.

## ABSTRACT

In the past few years coffee consumption has experienced significant growth due to the recognition of quality and potentially beneficial effects on health. Coffee contains several bioactive components that justify this positive effect, highlighting the antioxidants. Millions cups of coffee are consumed everyday around the world, producing tons of waste extraction. Traditionally, these wastes are discarded or occasionally used as fertilizers, but it is a viable source for extracting bioactive compounds. Extraction of antioxidant phenolic compounds from the coffee beverage residue can be considered an interesting option to obtain these important industrial ingredients from a low-cost raw material. Microencapsulation is considered as an alternative method to increase the stability of bioactive compounds, such as antioxidants, under adverse environmental conditions such as storage and processing, delaying changes that may result in loss of nutritional value. The present work aimed to microencapsulate by the method of *Spray Drying* the extract obtained from the espresso coffee, using whey protein isolate and its combination with other materials (maltodextrin, gum arabic, inulin), characterizing the microparticle and evaluating its stability and antioxidant activity through the methods of DPPH, FRAP, ABTS, quantification of total phenolics and bioactive compounds (chlorogenic acids) by high performance liquid chromatography. It was possible to obtain particles of spherical shape with no cracks and deformations on the surface. The use of whey protein isolate was considered the most efficient material in the maintenance of the activity measured by different methods. Despite the application of two different storage conditions, the maximum variation of the antioxidant activity by DPPH by the samples was less than 10%. The obtained encapsulates carried and protected considerable amounts of antioxidants present in the coffee, which were extracted from residue processing.

**Keywords:** Spent Coffee. *Coffea Arabica*. Carbohydrates. Whey Protein Isolate. Microencapsulation. Phenolic Compounds.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Estrutura química da cafeína. ....	23
Figura 2 -	Ácidos clorogênicos encontrados no café. ....	24
Figura 3 -	Reação de transferência de elétrons do método de FRAP.....	30
Figura 4 -	Sequestro do radical DPPH por um antioxidante.....	31
Figura 5 -	(A) Microesfera, em que o agente ativo é disperso na matriz polimérica; (B) Microcápsula, o agente encapsulante (material polimérico) envolve o agente ativo da micropartícula .....	32
Figura 6 -	Representação do processo de microencapsulação por <i>Spray Drying</i> . ....	35
Figura 7 -	Estrutura química da maltodextrina. ....	39
Figura 8 -	Estrutura Química da Goma Arábica. ....	40
Figura 9 -	Estrutura química da inulina. ....	42
Figura 10 -	Micrografias eletrônicas de varredura obtidas para as micropartículas de extrato bioativo de borra de café expresso encapsulado com diferentes materiais encapsulantes (a) IPSL, ampliação 600x (b) IPSL, ampliação 2000x (c) IPSL/Maltodextrina, ampliação 600x (d) IPSL/Maltodextrina, ampliação 2000x (e) IPSL/Goma Arábica, ampliação 600x (f) IPSL/Goma Arábica, ampliação 2000x (g) IPSL/Inulina, ampliação 600x (h) IPSL/Inulina, ampliação 2000x.....	59
Figura 11 -	Distribuição de tamanho em volume (%) das micropartículas produzidas com diferentes materiais de parede. IPSL: isolado proteico de soro do leite; IPSL/M: isolado proteico de soro do leite/maltodextrina; IPSL/GA: isolado proteico de soro do leite/goma arábica; IPSL/IN: isolado proteico de soro do leite/inulina.....	61

Figura 12 - Eficiência de encapsulação de ácido clorogênico (5-ACQ) das micropartículas em relação ao valor do extrato inicial.....	65
Figura 13 - Efeito do tempo de armazenamento no teor de compostos fenólicos totais nas micropartículas armazenadas (a) 25°C (b) 35°C.....	69
Figura 14 - Percentual de retenção de compostos fenólicos totais, após 42 dias de armazenamento sob duas diferentes temperaturas. Letras diferentes indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos, para cada temperatura. IPSL: isolado proteico de soro do leite; IPSL/M: isolado proteico de soro do leite/maltodextrina; IPSL/GA: isolado proteico de soro do leite/goma arábica; IPSL/IN: isolado proteico de soro do leite/inulina.....	71
Figura 15 - Compostos escuros (melanoidinas) extraídas das diferentes micropartículas após 0 e 42 dias de armazenamento sob 25°C e 35°C. IPSL: isolado proteico de soro do leite; IPSL/M: isolado proteico de soro do leite/maltodextrina; IPSL/GA: isolado proteico de soro do leite/goma arábica; IPSL/IN: isolado proteico de soro do leite/inulina.....	73
Figura 16 - Efeito do tempo de armazenamento na atividade antioxidante, determinado pelo método de FRAP, nas micropartículas armazenadas (a) 25°C (b) 35°C.....	76
Figura 17 - Efeito do tempo de armazenamento na atividade antioxidante, determinado pelo método de DPPH, nas micropartículas armazenadas (a) 25°C (b) 35°C.....	78
Figura 18 - Efeito do tempo de armazenamento na atividade antioxidante, determinado pelo método de ABTS, nas micropartículas armazenadas (a) 25°C (b) 35°C.....	80

Figura 19 - Isotermas de adsorção ajustadas com o modelo de GAB de micropartículas de extrato da borra de café expresso com diferentes materiais encapsulantes. IPSL: isolado proteico de soro do leite; IPSL/M: isolado proteico de soro do leite/maltodextrina; IPSL/GA: isolado proteico de soro do leite/goma arábica; IPSL/IN: isolado proteico de soro do leite/inulina.....	84
Figura 20 - Aspecto físico das micropartículas armazenadas sob diferentes atividades de água (0,112 – 0,843) a 25°C após a determinação das isotermas de sorção. IPSL: isolado proteico de soro do leite; IPSL/M: isolado proteico de soro do leite/maltodextrina; IPSL/GA: isolado proteico de soro do leite/goma arábica; IPSL/IN: isolado proteico de soro do leite/inulina.....	86

## **ANEXO B**

Figura 1 - Cromatograma do padrão de fenólicos utilizado para análise de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).....	109
Figura 2 - Cromatograma obtido por CLAE do extrato da borra de café expresso.....	109
Figura 3 - Cromatograma por CLAE das micropartículas de IPSL. ....	110
Figura 4 - Cromatograma por CLAE das micropartículas de IPSL/M. ....	110
Figura 5 - Cromatograma por CLAE das micropartículas de IPSL/GA. ....	111
Figura 6 - Cromatograma por CLAE das micropartículas de IPSL/IN.....	111

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Teores (%) de alguns constituintes de grãos crus e torrados da espécie <i>Coffea arabica</i> L. ....	22
Tabela 2 - Planejamento experimental para obtenção das micropartículas. ....	46
Tabela 3 - Modelos para ajuste de isotermas de adsorção. ....	52
Tabela 4 - Teor de fenólicos totais, ácido clorogênico (5-ACQ) e atividade antioxidante do extrato aquoso da borra de café expresso. ....	56
Tabela 5 - Média e desvio padrão para diâmetro médio volumétrico. ....	63
Tabela 6 - Teor de 5-ACQ para as micropartículas obtido por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). ....	64
Tabela 7 - Teor de cafeína para as micropartículas obtido por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). ....	67
Tabela 8 - Teor de compostos escuros (melanoidinas) (Abs 420 nm) das amostras antes e após o armazenamento a duas diferentes temperaturas por 42 dias. ....	74
Tabela 9 - Valores estimados dos coeficientes e parâmetros estatísticos de ajuste dos modelos de GAB, Smith, Oswin e BET para as micropartículas obtidas com diferentes materiais encapsulantes. ....	82

## LISTA DE ABREVIATURAS

5-ACQ	Ácido Cafeoilquínico
ABTS	Ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfônico
ASRL	Atividade Sequestrante de Radicais Livres
CGA	Ácidos Clorogênicos
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazina
ERO	Espécies Reativas de Oxigênio
FRAP	Ferric Ion Reducing Antioxidant Power
IPSL	Ísolado Proteico de Soro do Leite
ORAC	Oxygen Radical Absorbance Capacity
TPTZ	2,4,6-tris (2-piridil)-s-triazina

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	15
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	17
<b>2.1</b>	<b>Café</b> .....	17
<b>2.2</b>	<b>Consumo de café</b> .....	18
<b>2.3</b>	<b>Café Expresso</b> .....	19
<b>2.3.1</b>	<b>Método de extração dos resíduos do café</b> .....	20
<b>2.4</b>	<b>Composição química do café</b> .....	21
<b>2.5</b>	<b>Potencial antioxidante</b> .....	25
<b>2.5.1</b>	<b>Métodos para a avaliação da atividade antioxidante <i>in vitro</i></b> .....	28
<b>2.5.1.1</b>	<b>Atividade Antioxidante Total por Redução do Ferro (FRAP)</b> .....	29
<b>2.5.1.2</b>	<b>Método do Radical ABTS (ácido 2,2'-azino-bis-(3- etilbenzotiazolina)-6-sulfônico)</b> .....	30
<b>2.5.1.3</b>	<b>Método do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazina)</b> .....	31
<b>2.6</b>	<b>Microencapsulação</b> .....	32
<b>2.7</b>	<b><i>Spray Drying</i></b> .....	34
<b>2.8</b>	<b>Material encapsulante</b> .....	36
<b>2.8.1</b>	<b>Isolado proteico de soro do leite</b> .....	37
<b>2.8.2</b>	<b>Maltodextrina</b> .....	38
<b>2.8.3</b>	<b>Goma arábica</b> .....	40
<b>2.8.4</b>	<b>Inulina</b> .....	41
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	43
<b>3.1</b>	<b>Material e local de execução</b> .....	43
<b>3.2</b>	<b>Produção do extrato da borra de café expresso</b> .....	43
<b>3.3</b>	<b>Formação da solução a ser encapsulada</b> .....	44
<b>3.4</b>	<b>Secagem por <i>Spray Drying</i></b> .....	45
<b>3.5</b>	<b>Delineamento experimental</b> .....	45
<b>3.6</b>	<b>Eficiência de encapsulação</b> .....	46
<b>3.7</b>	<b>Determinação do teor de ácido clorogênico (5 – ACQ) e cafeína</b> ....	46
<b>3.8</b>	<b>Análises espectrofotométricas</b> .....	47
<b>3.8.1</b>	<b>Teor de compostos fenólicos totais</b> .....	47
<b>3.8.2</b>	<b>Atividade Sequestrante de Radicais Livres – DPPH</b> .....	48
<b>3.8.3</b>	<b>Atividade antioxidante total – ABTS+</b> .....	49
<b>3.8.4</b>	<b>Atividade antioxidante total por redução de ferro – FRAP</b> .....	49
<b>3.8.5</b>	<b>Teor de melanoidinas (Compostos Escuros)</b> .....	50

<b>3.9</b>	<b>Caracterização das micropartículas</b> .....	50
<b>3.9.1</b>	<b>Microestrutura</b> .....	50
<b>3.9.2</b>	<b>Distribuição do tamanho de partículas</b> .....	51
<b>3.10</b>	<b>Isotermas de adsorção de umidade</b> .....	51
<b>3.11</b>	<b>Análises estatísticas</b> .....	52
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	55
<b>4.1</b>	<b>Caracterização do extrato</b> .....	55
<b>4.2</b>	<b>Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)</b> .....	58
<b>4.3</b>	<b>Distribuição de tamanho das partículas</b> .....	60
<b>4.4</b>	<b>Quantificação de 5-ACQ nas micropartículas e eficiência de encapsulação</b> .....	64
<b>4.5</b>	<b>Teor de cafeína nas micropartículas</b> .....	66
<b>4.6</b>	<b>Teor de compostos fenólicos totais</b> .....	68
<b>4.7</b>	<b>Teor de melanoidinas</b> .....	73
<b>4.8</b>	<b>Atividade antioxidante</b> .....	75
<b>4.9</b>	<b>Isotermas de adsorção</b> .....	82
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	87
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	89
	<b>ANEXO A - ESTUDOS SOBRE EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS E QUANTIFICAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO CAFÉ E DERIVADOS</b> .....	105
	<b>ANEXO B - CROMATOGRAMAS OBTIDOS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE)</b> .....	109

## 1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor mundial de café, sendo responsável por 30% do mercado internacional, e o segundo maior mercado consumidor, ficando atrás apenas dos Estados Unidos. A bebida do café consumida, principalmente, pelo seu efeito estimulante e sabor característico, possui uma composição química diversa, incluindo compostos com funções biológicas variadas, ditos como funcionais que podem ter efeitos benéficos à saúde. O café destaca-se também pela atividade antioxidante, comprovada *in vitro* e *in vivo*, pela presença de cafeína, trigonelina, compostos fenólicos e seus produtos de degradação, como as melanoidinas (ABRAHÃO et al., 2010; ESQUIVEL; JIMÉNEZ, 2012; LIMA et al., 2010; SÁNCHEZ-GONZÁLEZ; JIMÉNEZ-ESCRIG; SAURACALIXTO, 2005).

Grande parte da produção mundial de café, em torno de 50%, destina-se à preparação direta da bebida. A outra metade é direcionada para a produção de café solúvel. As cafeterias são responsáveis por grande parte desse preparo direto, tendo seu mercado ampliado nos últimos anos, visto que se trata de uma tendência atual. Independente do método de preparação aplicado, a eficiência de extração de compostos bioativos será visivelmente inferior à obtida em escala industrial, assim, os resíduos obtidos apresentarão sua maior concentração, possibilitando inúmeras aplicações potenciais. Diversos trabalhos relataram que o extrato de resíduo de café apresenta alta atividade antioxidante, em razão da presença de compostos polifenólicos e derivados, produtos da Reação de Maillard, que permanecem no resíduo do café, atuando como compostos antioxidantes primários e secundários (MUSSATTO et al., 2011a; PANUSA et al., 2013; RAMALAKSHMI et al., 2009; XU et al., 2015). A extração de compostos fenólicos antioxidantes do resíduo da bebida do café pode assim ser

considerada uma alternativa interessante, para obter estes importantes ingredientes industriais, a partir de uma matéria-prima de baixo custo.

A ingestão de compostos antioxidantes, como os compostos polifenólicos, é de grande interesse e pode trazer benefícios à saúde dos consumidores. Porém as dificuldades associadas à susceptibilidade desses compostos às condições de processamento de alimentos e sua instabilidade química têm gerado vários estudos visando buscar uma melhor biodisponibilidade destes compostos.

A microencapsulação, na indústria de alimentos, tem como função a proteção de compostos bioativos, por apresentarem elevada atividade biológica, sendo encontrados em pequenas concentrações nos alimentos, sendo susceptíveis à luz, temperatura e processos oxidativos. Além disso, o processo de microencapsulação, ao tornar o produto na forma em pó, facilita seu manuseio e aplicação em matrizes alimentícias. A aplicação de substâncias antioxidantes do café microencapsuladas representa uma grande alternativa, uma vez que é capaz de proporcionar os benefícios naturais oferecidos pelos antioxidantes, ao mesmo tempo em que os protege da degradação.

Dentro deste contexto, no presente estudo objetivou-se determinar o teor de compostos fenólicos e avaliar a atividade antioxidante do extrato obtido a partir do resíduo da produção do café expresso. Além disso, pretendeu-se avaliar as micropartículas contendo o extrato da borra de café expresso produzidas por *Spray Drying*, com diferentes formulações de material encapsulante, visando obter maior estabilidade para os compostos responsáveis pela atividade antioxidante e sua funcionalidade como aditivo em alimentos.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Café

O café, por ser um produto natural com sabor e aroma característicos, é uma das bebidas mais aceitas em diversos países do mundo. Sua popularidade é baseada tanto no valor nutricional e nos benefícios potenciais para a saúde quanto no seu efeito estimulante (ESQUIVEL; JIMÉNEZ, 2012). A sua aceitabilidade, comercialização e valorização no mercado encontram-se associados a parâmetros qualitativos (SILVA et al., 2009).

O café torrado é obtido, a partir do beneficiamento do fruto maduro de espécies do gênero *Coffea*, sendo as espécies Robusta (*Coffea canephora* Pierre) e Arábica (*C. arabica* L.) com maior consumo mundialmente. O café arábica é um café mais fino, que apresenta uma bebida de qualidade superior em termos de aroma e sabor. O café robusta é frequentemente utilizado nos blends, com o arábica, com a finalidade de conferir mais corpo à bebida e diminuir a acidez. Serve também para oferecer um produto de menor custo e ajustar a bebida à preferência ou ao costume de determinada classe de consumidores (BERTRAND et al., 2003; MARCUCCI et al., 2013).

A qualidade de um café é resultado da somatória de atributos físicos dos grãos crus, como: cor, tamanho, densidade, forma e uniformidade; de atributos do grão torrado, dentre os quais destacam-se a homogeneidade na cor e a cor da película prateada e as características organolépticas da bebida, expressas pelo gosto e aroma. Ela está relacionada com o sabor e aroma do produto e este sofre influência de vários fatores tanto na pré como na pós-colheita. Entre os fatores de pré-colheita destacam-se o local do cultivo, o efeito das adubações, a quantidade de microrganismos presentes. Já para os fatores de pós-colheita,

destacam-se o processamento, tipo de secagem, armazenamento do café beneficiado, a torração do grão, entre outros fatores (TOLEDO et al., 2016).

## **2.2 Consumo de café**

Segundo dados do setor cafeeiro, divulgados pela Organização Internacional do Café – OIC (INTERNACIONAL COFFEE ORGANIZATION – ICO, 2017), em seu relatório sobre o mercado cafeeiro de dezembro de 2017, a produção mundial de café, no período 2017/2018, está estimada, provisoriamente, em 158,78 milhões de sacas de 60 kg e o consumo mundial de café previsto para esse período é de 157,59 milhões de sacas. Esses dados do setor indicam expansão desse mercado em nível global tanto na oferta quanto na demanda de café. Em relação ao consumo de café, especificadamente, o relatório prevê um aumento de 1,7% no consumo de países da América do Sul.

Nos últimos anos, o consumo mundial de café tem-se modificado substancialmente, observando-se crescente procura por produtos de boa qualidade, tornando possível a segmentação do mercado com produtos de alto valor agregado, ditos cafés especiais (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE CAFÉ - ABIC, 2014). O conjunto de cafés especiais se distingue dos cafés tradicionais em razão do fornecimento de alta qualidade do ponto de vista sensorial, derivada de processos distintos de plantação, colheita, processamento e lavagem, secagem, moagem e preparo da bebida (ARDEKANI, 2016). O café expresso é um dos métodos de preparo de forte influência no crescimento do consumo de cafés especiais. Grande impulso no consumo da bebida, no Brasil, ocorreu na década de 1980, com o aumento de shopping centers e centros comerciais (SAMPAIO; SPINOLA, 2000). Atualmente, o método de preparo da bebida expresso apresenta bom crescimento no mercado

interno, principalmente, nas grandes cidades brasileiras, conquistando cada vez mais consumidores do tradicional café preparado no coador.

Em um estudo de tendências de consumo do café, realizado pela ABIC (2014), foi demonstrado que o Brasil possui grande participação de vendas de café no varejo se comparado a outros países. O volume de café consumido no Brasil concentra-se, aproximadamente, 68% no varejo e 32% no *food service* e, segundo a análise, a projeção para 2019 é de aumento de 36% para o *food service*, indicando que o consumidor buscará ainda mais o consumo de café fora de casa.

### **2.3 Café expresso**

Diversos são os métodos, para a preparação da bebida do café, que são geralmente caracterizados por processos de extração. Segundo a Associação Brasileira da Indústria de Café - ABIC (2017), o café expresso é a bebida preparada em máquina específica, cuja concentração de óleos aromáticos é mais intensa. A bebida é obtida por percolação de água quente, sob alta pressão, por uma quantidade de café moído torrado compactado. Durante a preparação, a água fica a uma temperatura entre 88 – 92°C entre, aproximadamente, 9 bar, forçando um compactado de café (bolo de café), em curto intervalo de tempo (BARTEL; MESIAS; MORALES, 2015; SALAMANCA et al., 2017).

Durante a preparação do café expresso, diversos fatores influenciarão a qualidade final da bebida e a eficácia do processo de extração, dentre eles temperatura, pressão, o tempo de infusão, o grau de moagem dos grãos e a parcela de café moído, qualidade da água, entre outros. A qualidade do grão de café torrado também é primordial para obtenção da bebida com boas propriedades sensoriais (CAPRIOLI et al., 2014).

### 2.3.1 Método de extração dos resíduos do café

Milhões de xícaras de café são consumidas, todos os dias em todo o mundo, produzindo toneladas de resíduos de extração. Tradicionalmente, estes resíduos foram considerados como descarte, ou ocasionalmente, utilizados como fertilizantes. Durante as últimas décadas, em nível industrial, várias aplicações foram propostas para agregar valor aos subprodutos de café. O resíduo do café pode ser usado para a alimentação animal, para a produção de biocombustível, biodiesel ou bioetanol, como adsorvente e carvão ativado e, também, para extrair antioxidantes ou outros compostos bioativos (BRAVO et al., 2012; ESQUIVEL; JIMÉNEZ, 2012; RAMALAKSHMI et al., 2009).

A extração de compostos fenólicos antioxidantes do resíduo da bebida do café pode assim ser considerada uma alternativa interessante, para obter estes importantes ingredientes industriais, a partir de uma matéria-prima de baixo custo. A extração é o primeiro passo no isolamento de compostos fenólicos de vários resíduos agroindustriais e materiais vegetais. Diferentes técnicas têm sido aplicadas para recuperar compostos fenólicos antioxidantes de fontes naturais, incluindo extração sólido-líquido com solventes orgânicos, extração por ultrassom, extração por micro-ondas, extração de fluidos supercríticos e processos de alta pressão. Entre estas técnicas, a extração sólido-líquido é amplamente empregada para a extração de fenóis a partir de fontes vegetais. No entanto a eficiência do processo de extração é afetada por vários fatores, tais como o tipo de solvente e a sua concentração, a razão solvente/sólido, o número de passos de extração, o pH, o tempo de contato, a temperatura e o tamanho de partícula da matriz sólida. Assim, é muito importante otimizar as condições de processo a fim de maximizar a eficiência de extração de cada matéria-prima (MUSSATTO et al., 2011a).

A aplicação da radiação ultrassônica é uma alternativa para a aceleração do processo extrativo, pois facilita a transferência de massa, principalmente, entre fases imiscíveis, além de possuir maior reprodutibilidade, em tempos mais curtos, simplificando a manipulação e aumentando rendimentos e qualidade de extrato (DELGADO-POVEDANO; CASTRO, 2013; PIZARRO, 2013).

O extrato da borra de café já foi avaliado quanto à atividade biológica por diversos autores, com uma abordagem promissora, porém pouco explorada do ponto de vista tecnológico. Eles demonstraram forte atividade antioxidante e antitumoral, bem como ação anti-inflamatória e antialérgica. Suas propriedades antioxidantes podem ser a consequência da presença residual de compostos bioativos, como cafeína, trigonelina e ácidos clorogênicos (BRAVO et al., 2013a; CRUZ et al., 2012; ESQUIVEL; JIMÉNEZ, 2012).

No entanto compostos fenólicos são muito vulneráveis a condições ambientais diversas, tais como exposição à luz, oxigênio, umidade, entre outras, pela existência de ligações não saturadas nas estruturas moleculares. Assim, a encapsulação é capaz de melhorar sua estabilidade de armazenamento, prolongando os benefícios de tais compostos, além de mascarar aromas desagradáveis nos alimentos fornecidos por esses compostos funcionais, incluindo o gosto amargo e a adstringência de polifenóis (BALLESTEROS et al., 2017).

#### **2.4 Composição química do café**

O grão de café apresenta em sua constituição química inúmeros componentes, voláteis e não voláteis, que são responsáveis pelo sabor e aroma característicos do café, tais como: ácidos, aldeídos, cetonas, açúcares, proteínas, aminoácidos, ácidos graxos, carboidratos, trigonelina, compostos fenólicos, cafeína, entre outros (TABELA 1) (TOCI; FARAH; TRUGO, 2006).

Tabela 1 - Teores (%) de alguns constituintes de grãos crus e torrados da espécie *Coffea arabica L.*

Constituintes	Grãos Crus	Grãos Torrados
	Arábica	Arábica
Cafeína	0,9 – 1,2	1,0 – 1,3
Trigonelina	1,0 – 1,2	0,5 – 1,0
Cinzas	3,0 – 4,2	3,0 – 4,5
Ácido Clorogênico	5,5 – 8,0	2,2 – 4,5
Outros Ácidos	1,5 – 2,0	1,0 – 2,4
Sacarose	6,8 – 8,0	0
Açúcares Redutores	0,1 – 1,0	0,2 – 0,3
Polissacarídeos	44,0 – 55,0	24,0 – 39,0
Proteínas	11,0 – 13,0	7,8 – 10,4
Lipídeos	14,0 – 16,0	14,0 – 20,0
Sólidos Solúveis	23,8 – 27,3	26,0 – 30,0

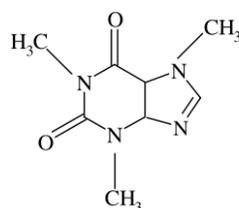
Fonte: Adaptado de Illy e Viani (1995).

A cafeína (FIGURA 1) é o principal metabólito fisiologicamente ativo e quantitativamente, o alcaloide mais importante do grão do café (MOREIRA et al., 2014). Encontra-se no grupo das bases de purina, sendo derivada de metilados da 2,6-dioxi-purina (xantina). A cafeína é a 1,3,7-trimetilxantina, uma substância lipossolúvel, sendo rapidamente absorvida pelo trato gastrointestinal (AGUIAR; ESTEVINHO; SANTOS, 2016; MELLO; KUNZLER; FARAH, 2007).

Diversos autores descrevem a cafeína como a substância psicoativa mais consumida no mundo, interferindo nas funções fisiológicas do organismo humano, sendo estimulante do sistema nervoso central, cardiovascular, além de ter ação ergogênica e apresentar elevado potencial antioxidante e atividade

genoprotetora (AGUIAR; ESTEVINHO; SANTOS, 2016; BRAVO et al., 2013a; ESQUIVEL; JIMÉNEZ, 2012).

Figura 1 - Estrutura química da cafeína.



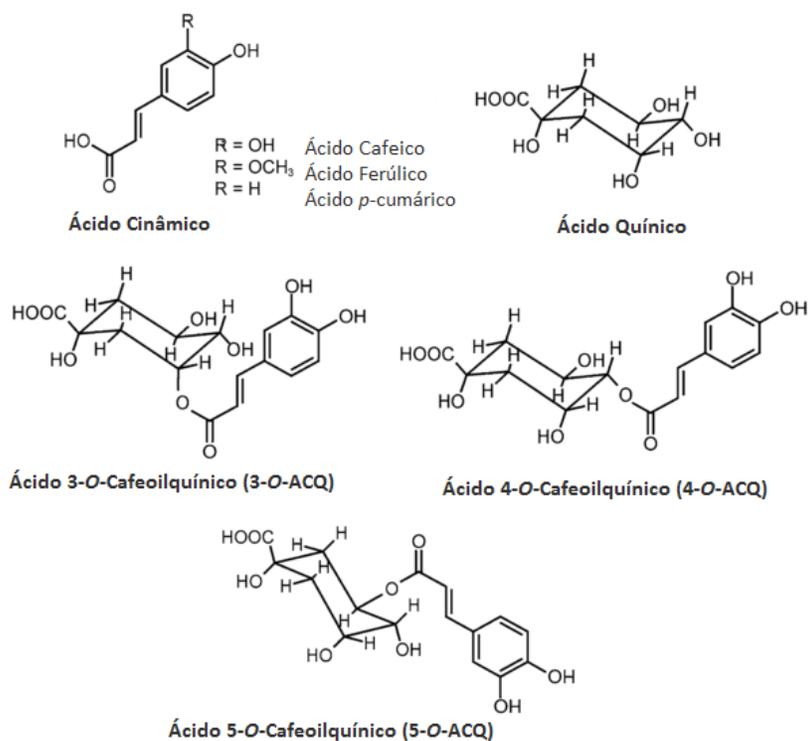
Fonte: (BREZOVÁ; ŠLEBODOVÁ; STAŠKO, 2009).

Além da cafeína, o café apresenta outras substâncias bioativas como a trigonelina, compostos fenólicos (em que se destacam os ácidos clorogênicos) e compostos resultantes da reação de Maillard, como as melanoidinas. Os compostos fenólicos constituem uma das principais classes de antioxidantes naturais (MORAIS et al., 2008).

Os ácidos clorogênicos (FIGURA 2) são compostos fenólicos formados pela esterificação de ácidos transcinâmicos com ácido quínico, que apresentam diferentes formas isoméricas, variando a posição da ligação éster: o ácido cafeico, o ferúlico, ou o p-cumárico. Estes grupos são ácidos cafeoilquínicos, com três isômeros principais (3, 4, 5); os ácidos dicafeoilquínicos, cujos isômeros principais são 3,4; 3,5; 4,5; ácidos feruloilquínicos (3, 4, 5), ácidos p-cumaroilquínicos, e os ácidos cafeoilferuloilquínicos (TOCI; FARAH; TRUGO, 2006). Os ácidos clorogênicos são importantes componentes do café, dos quais o representante principal é o ácido 5-cafeoilquínico (5-ACQ) (ZANIN et al., 2016). Estes compostos conferem adstringência, amargor e acidez à bebida do café (AGUIAR; ESTEVINHO; SANTOS, 2016). Os grãos de café verde possuem maior concentração de ácidos clorogênicos e derivados quando

comparado ao grão de café torrado, alcançando teores de até 14% (em peso seco) (AGUIAR; ESTEVINHO; SANTOS, 2016; FARAH; DONANGELO, 2006; PERRONE et al., 2008).

Figura 2 - Ácidos clorogênicos encontrados no café.



Fonte: (Adaptado de JESZKA-SKOWRON et al., 2016).

Os açúcares predominantes no café verde são os não redutores, particularmente a sacarose; os redutores se apresentam em quantidades pequenas. Durante a torração, a sacarose é rapidamente degradada, ocorrendo caramelização, acompanhada pela produção de gás carbônico. O *flavor* do café, para a formação do pigmento e outras moléculas, é derivado da natureza e conteúdo desses açúcares essenciais. Os teores de sacarose dependem da

espécie, variedade e grau de maturidade do fruto na colheita (DUARTE; PEREIRA; FARAH, 2010; FARAH et al., 2006).

As proteínas são fontes da maioria dos “*flavors*” característicos do café e, com a torração, elas desnaturam-se em temperaturas inferiores à pirólise, ocorrendo hidrólise das ligações peptídicas das moléculas proteicas com liberação de aminas e carbonilas (SIVETZ; DESROISIER, 1979). Além disso, esses compostos podem formar complexos com açúcares, especificadamente, durante o processo de torração do café, resultando na formação de uma grande variedade de compostos, como as melanoidinas, pela Reação de Maillard (HEČIMOVIĆ et al., 2011; WANG; QIAN; YAO, 2011).

As melanoidinas são compostos de alto peso molecular que apresentam coloração castanha, originados, principalmente, pela reação de Maillard entre grupos amino e açúcares redutores. Embora apresentem estrutura química pouco conhecida, representam cerca de 25% do peso seco dos grãos de café torrados, apresentando comprovada atividade antioxidante (BRAVO et al., 2013a; PANUSA et al., 2013).

## **2.5 Potencial antioxidante**

O termo oxidação de uma substância é comumente definido como a modificação de uma determinada substância química em um derivado, com número inferior de elétrons. Assim, oxidação é a perda de um ou mais elétrons para outra substância e o procedimento inverso pode ser considerado como redução. A transferência de elétrons é um dos processos químicos mais fundamentais para a sobrevivência das células. A dependência da transferência de elétrons tem como efeito a produção de radicais livres e outras espécies reativas de oxigênio (ERO) que podem causar dano oxidativo (ALVES et al., 2010a).

Os radicais livres são átomos, ou grupos de átomos, que apresentam um ou mais elétrons desemparelhados no último reservatório de elétrons (WOJTOWICZ; KRUPSKA; ZAWIRSKA-WOJTASIAK, 2017). Tal característica, em particular, é responsável pela alta reatividade e mecanismos de reação em cadeia em organismos vivos (GALANO et al., 2016). Sua produção ocorre, continuamente, nos processos metabólicos, são moléculas que atuam como intermediárias nas transferências de elétrons em reações bioquímicas, tendo significativas funções no metabolismo, como produção de energia, regulação do crescimento celular e síntese de substâncias biológicas importantes. Entretanto, em quantidades excessivas, apresentam efeitos prejudiciais, tais como danos celulares e ao DNA, alterações nas estruturas e funções celulares, estando, assim, envolvidos em disfunções como câncer e envelhecimento precoce (ALVES et al., 2010a).

A grande parte dos radicais livres encontrados *in vivo* são espécies reativas de oxigênio (ERO) e espécies reativas de nitrogênio (ERN). As espécies reativas de oxigênio são radicais livres derivados do oxigênio, como exemplo o ânion superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), hidroxil ( $\cdot OH$ ) e o radical hidroperóxil ( $HOO^{\cdot}$ ). Já as espécies reativas de nitrogênio são radicais à base de nitrogênio como o dióxido de nitrogênio ( $NO_2^{\cdot}$ ) (GALANO et al., 2016).

Para combater os radicais livres, os organismos vivos produzem substâncias que são capazes de regenerar ou prevenir os danos oxidativos, exercendo seu papel como antioxidante. Além destes, substâncias com habilidade de sequestrar radicais livres podem ser obtidas de fontes externas, como alimentos e bebidas. Quando os antioxidantes produzidos pelo corpo são insuficientes, para combater os radicais livres produzidos pelo organismo, este sofre ações degenerativas em virtude do distúrbio conhecido como estresse oxidativo (PEREIRA; VIDAL; CONSTANT, 2009).

Antioxidantes são substâncias que, quando presentes em baixas concentrações, retarda ou inibe a oxidação de um substrato de forma eficaz, atuando em diferentes níveis na proteção dos organismos. O primeiro mecanismo de defesa contra os radicais livres é impedir a sua formação, por intermédio do bloqueio das reações em cadeia com o ferro e o cobre. Os antioxidantes são capazes de interceptar os radicais livres gerados pelo metabolismo celular ou por fontes exógenas, impedindo o ataque sobre os lipídeos, os aminoácidos das proteínas, a dupla ligação dos ácidos graxos poli-insaturados e as bases do DNA, evitando a formação de lesões e perda da integridade celular (BIANCHI; ANTUNES, 1999; GÜLÇIN, 2012). O segundo mecanismo de proteção é a reparação de lesões causadas pelos radicais, por meio da remoção de danos da molécula de DNA e por reconstituição dos danos em membranas celulares, mas, em algumas situações, pode ocorrer uma adaptação do organismo em resposta à geração desses radicais com o aumento da síntese de enzimas antioxidantes (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004).

Estudos evidenciam (ANEXO A) que pela presença de constituintes naturais e compostos, formados pelo processo de torração, o café é uma fonte dietética de antioxidantes, tais como a cafeína, ácidos clorogênicos, ácidos hidroxicinâmicos e produtos da reação de Maillard, como melanoidinas (ESQUIVEL; JIMÉNEZ, 2012). Por suas propriedades redutoras e estrutura química, os compostos fenólicos desempenham um papel importante, na inativação de radicais livres e quelação de metais de transição, agindo tanto no início como no final da propagação do processo oxidativo (ABRAHÃO et al., 2010).

Os ácidos clorogênicos (CGA) e seus isômeros são os principais componentes da fração fenólica dos grãos de café *in natura*. Além de possuir propriedade antioxidante, atuam como agentes hepatoprotetores, hipoglicemiantes e antivirais. Dentre os ácidos clorogênicos, o componente

dominante é o ácido cafeoilquínico (5-ACQ) e seu produto de hidrólise, o ácido cafeico, presentes em quantidade elevada na bebida do café (ABRAHÃO et al., 2008; AGUIAR; ESTEVINHO; SANTOS, 2016; FARAH, DONANGELO, 2006). Transformações químicas tais como isomerização, hidrólise ou degradação, em compostos de baixo peso molecular, podem ocorrer nos ácidos clorogênicos durante a torração do café. Sob altas temperaturas, durante o processo de torração, ocorre redução da quantidade desses ácidos, formando quinolactonas e melanoidinas (PANUSA et al., 2013).

### **2.5.1 Métodos para a avaliação da atividade antioxidante *in vitro***

A fim de avaliar as propriedades antioxidantes de diferentes alimentos e ingredientes alimentícios, diversos métodos analíticos têm sido empregados. Tais métodos, além de se basearem em fundamentos diversos, são numerosos e podem estar sujeitos a interferências e limitações. Dessa forma, preconiza-se a utilização de duas ou mais técnicas, já que nenhum ensaio usado, isoladamente irá refletir exatamente a “capacidade antioxidante total” de uma determinada amostra (ALVES et al., 2010a; HUANG; BOXIN; PRIOR, 2005).

A avaliação da atividade antioxidante em testes *in vitro* é importante para verificar a correlação entre antioxidantes potentes e os níveis de estresse oxidativo (HUANG; BOXIN; PRIOR, 2005). A maioria dos métodos baseia-se na adição de um agente “starter”, como a temperatura, um metal de transição ou mesmo a exposição à luz, para acelerar o processo, além de uma fonte específica de radicais livres. Os radicais serão, então, reduzidos sob condições padronizadas, e o grau de oxidação, ou sua extensão, será mensurado (ALVES et al., 2010a; VIGNOLI; BASSOLI; BENASSI, 2011).

Em geral, os métodos de avaliação da atividade antioxidante podem atuar sobre radicais livres por dois diferentes mecanismos: transferência de

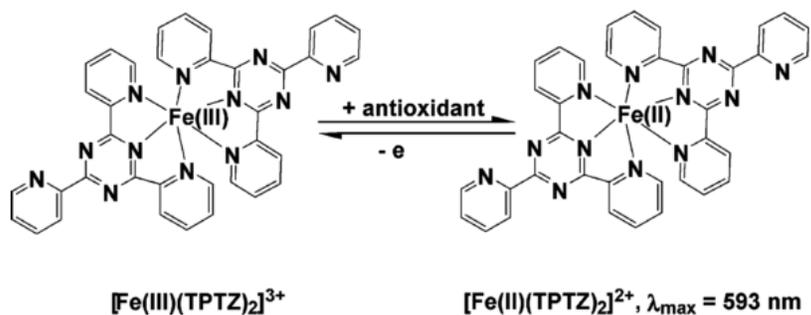
elétrons livres (TEL) e transferência de átomos de hidrogênio (TAH). Os métodos baseados em transferência de elétrons livres detectam a capacidade de um composto antioxidante em transferir um elétron, para reduzir qualquer substância, incluindo metais e radicais livres, alterando a coloração da solução à medida que o composto oxidante sofre redução. Já os métodos analíticos, que se baseiam na transferência de átomos de hidrogênio, avaliam a capacidade de um antioxidante em inibir a ação de radicais livres por doação de átomos de hidrogênio (GÜLÇİN, 2012; HUANG; BOXIN; PRIOR, 2005).

Dentre os métodos *in vitro* mais usados, podem-se citar aqueles que medem: a habilidade de um antioxidante de reduzir um radical livre por doação de hidrogênio ou elétron (ORAC, FRAP, ABTS e DPPH); o poder redutor; a capacidade de quelante de íons ferrosos e a capacidade de inibir a oxidação lipídica (método da oxidação acoplada do  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico) (HUANG; BOXIN; PRIOR, 2005).

#### **2.5.1.1 Atividade Antioxidante Total por Redução do Ferro (FRAP)**

O método FRAP utiliza-se de um sal férrico ( $\text{Fe (III) (TPTZ)}_2 \cdot \text{Cl}_3$ ) como agente oxidante, que é preparado misturando-se TPTZ (2,4,6-tris(2-piridil)-s-triazina) com tampão acetato e cloreto férrico (20 mM), formando o conglomerado denominado “reagente FRAP”. Após aquecimento a 37°C, agentes antioxidantes da amostra podem ligar-se ao Fe(III), reduzindo-o para Fe(II), alterando a absorbância mensurada entre 590 – 595 nm (FIGURA 3) (HUANG; BOXIN; PRIOR, 2005).

Figura 3 - Reação de transferência de elétrons do método de FRAP.



Fonte: (HUANG; BOXIN; PRIOR, 2005).

O teste de FRAP é conduzido a um pH ácido (pH = 3,6) para que a solubilidade do ferro seja mantida. A reação a baixo pH resulta na diminuição do potencial de ionização, o que impulsiona a troca de elétrons e aumenta o potencial redox (GÜLÇİN, 2012).

### 2.5.1.2 Método do radical ABTS

(ácido 2,2'-azino-bis-(3- etilbenzotiazolina)-6-sulfônico)

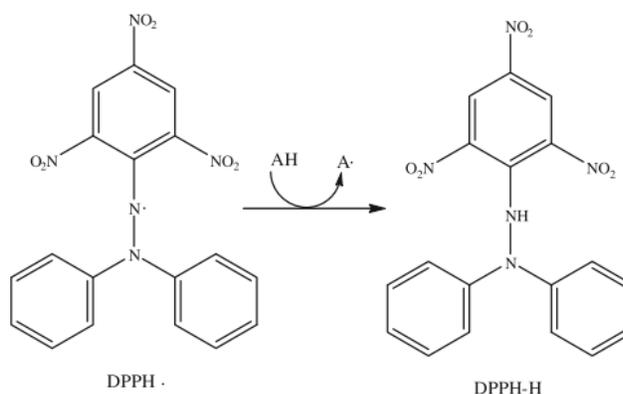
O radical ABTS<sup>•+</sup> é produzido, a partir de um iniciador, o ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfônico, sendo um composto cromóforo, estável quimicamente, altamente solúvel em água e solventes orgânicos, permitindo a determinação da capacidade antioxidante de compostos hidrofílicos e lipofílicos (NENADIS et al., 2004; SUCUPIRA et al., 2014).

O método de determinação de atividade antioxidante pelo radical ABTS é baseado na inibição da absorbância do radical positivo ABTS<sup>•+</sup>, que possui espectro de absorção com comprimento de onda de 734 nm (GÜLÇİN, 2012).

### 2.5.1.3 Método do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazina)

O método DPPH é baseado na redução da taxa do radical estável DPPH. Por ação de um antioxidante ou uma espécie radicalar ( $R\cdot$ ), o DPPH $\cdot$  é reduzido formando 2,2-difenilpicril-hidrazina (DPPH-H). Dessa maneira, o mecanismo de redução de radicais livres DPPH envolve a doação de hidrogênio (FIGURA 4) (MENSOR et al., 2001).

Figura 4 - Sequestro do radical DPPH por um antioxidante.



Fonte: (GÜLÇİN, 2012).

O DPPH é um radical de nitrogênio orgânico, bastante estável, de coloração violeta, possuindo absorção na faixa de 515 – 520 nm. Durante a reação de redução do radical DPPH, observa-se decréscimo da absorbância (SUCUPIRA et al., 2014).

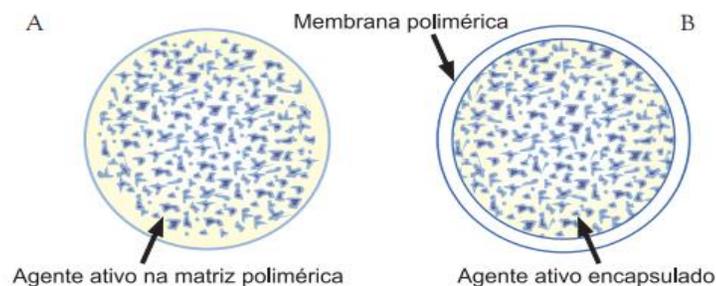
A partir dos resultados obtidos, determina-se a porcentagem de atividade antioxidante (quantidade de DPPH $\cdot$  consumida pelo antioxidante) ou sequestradora de radicais (%ASRL) e/ou a porcentagem de DPPH $\cdot$  remanescente no meio reacional. A porcentagem de DPPH $\cdot$  remanescente é

proporcional à concentração de compostos antioxidantes, e a concentração que causa redução em 50% da concentração inicial de DPPH é definida como o  $EC_{50}$ . Por meio deste método, também é possível a obtenção do tempo necessário para o alcance do estado estacionário com a concentração  $EC_{50}$ , podendo ser obtido a partir da curva cinética, definido como  $TEC_{50}$  (HUANG; BOXIN; PRIOR, 2005).

## 2.6 Microencapsulação

A microencapsulação é o processo de empacotamento e transporte de partículas, de matérias sólidas, líquidas ou gases em um material inerte, conferindo proteção a condições externas. Os produtos obtidos por este processo são chamados de micropartículas, apresentando formato esférico e aspecto sólido, diâmetro entre 3 – 800  $\mu\text{m}$ , subdividindo-se em microesferas e microcápsulas, que se diferenciam na morfologia e estrutura interna (JYOTHI et al., 2010), conforme mostrado na Figura 5.

Figura 5 - (A) Microesfera, em que o agente ativo é disperso na matriz polimérica; (B) Microcápsula, o agente encapsulante (material polimérico) envolve o agente ativo da micropartícula



Fonte: (SUAVE et al., 2006).

As microesferas são caracterizadas pela dispersão do composto a ser encapsulado à matriz polimérica. Por ser uma rede polimérica, uma pequena fração do material encapsulado permanece exposto na superfície da partícula. Essas partículas podem ser classificadas como homogêneas, estando o núcleo em um estado molecular (dissolvido), ou como heterogêneas, quando o núcleo encontra-se suspenso ou na forma particulada (AZEREDO, 2013; SUAVE et al., 2006).

As microcápsulas apresentam uma estrutura simples, na qual o núcleo (composto a ser protegido) é envolto por uma membrana, de espessura uniforme. Nesta estrutura, a parede protetora pode apresentar diferentes espessuras que vão conferir proteção ao composto (DESAI; PARK, 2005).

A microencapsulação é vantajosa, sobretudo, para evitar que fatores ambientais como presença de oxigênio, pH, luminosidade, temperatura, presença de outros componentes, entre outros, possam comprometer a estabilidade e função do composto bioativo. Além disso, em processos de encapsulação em que as micropartículas são obtidas em pó, o pó resultante pode ser aplicado como ingrediente alimentar funcional, podendo ser melhor absorvido pelo sistema gastrointestinal (VILLELA-CASTREJÓN; ACOSTA-ESTRADA; GUTIÉRREZ-URIBE, 2017). Existem diversas técnicas de microencapsulação que se dividem em métodos físicos, químicos e físico-químicos. Não há uma técnica universalmente ideal, a escolha da técnica de microencapsulação, para uma aplicação específica, depende de uma série de fatores, como tipo de núcleo, tamanho de partículas requerido, propriedades físicas e químicas do núcleo e da parede, aplicação do produto final, mecanismos desejados de liberação, escala de produção e custo (AZEREDO, 2005).

A diferença básica entre os métodos de encapsulação existentes está no tipo de proteção do material ativo pelo agente encapsulante, pelo fato da

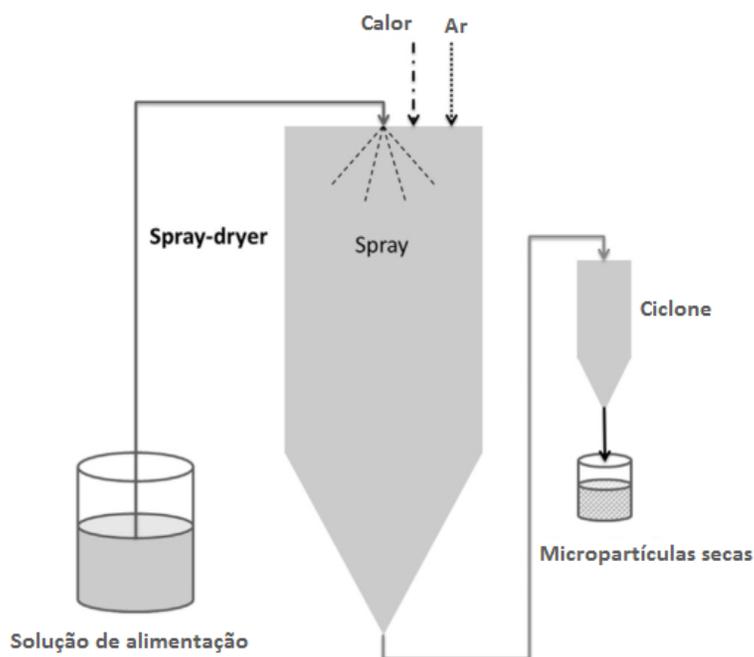
combinação entre o material e o agente ativo poder ser de natureza física, química ou físico-química (SUAVE et al., 2006).

## ***2.7 Spray Drying***

A secagem por atomização, ou *Spray Drying* é o método mais comum e econômico empregado na produção de micropartículas, por facilidade de operação e boa relação custo- benefício (BOTREL et al., 2014). A técnica consiste em transformar um produto fluido em partículas secas. É comumente utilizado na indústria de alimentos para a produção de alimentos em pó e aglomerados (SHISHIR; CHEN, 2017).

O processo consiste em três etapas: atomização da solução, secagem das gotículas líquidas e recuperação da partícula ou pó (FIGURA 6). Na atomização, a alimentação, no estado líquido, é aspergida dentro de uma câmara de secagem com circulação de ar quente e dispersa em pequenas partículas. Nessa etapa, haverá a maximização da área superficial da alimentação líquida, de forma a conferir maior eficiência para a secagem. As propriedades da partícula final obtida dependerão diretamente do tipo de atomizador utilizado e do seu desempenho. Após essa etapa, as gotículas atomizadas entrarão em contato com o ar quente. O ar quente aumenta a temperatura das gotículas, ocasionando-lhes a evaporação da água nelas contida. Os sólidos remanescentes do material encapsulante envolverão o material ativo, formando as micropartículas, que podem ter forma esférica ou oval, com crosta suave ou áspera, dependendo das características do composto e das condições estabelecidas no processo de secagem. Após o fim da secagem, as micropartículas secas são separadas por meio de um ciclone, sendo recuperadas no final em um recipiente específico (SHISHIR; CHEN, 2017; SILVA; VIEIRA; HUBINGER, 2014).

Figura 6 - Representação do processo de microencapsulação por *Spray Drying*.



Fonte: (Adaptado de ESTEVINHO et al., 2013).

Suave et al. (2006) e Santos et al. (2000) afirmam que o processo de *Spray Drying* apresenta algumas vantagens sobre os outros métodos de microencapsulação, como o controle eficiente das propriedades e a qualidade do produto, utilização para materiais sensíveis ao calor. Além disso, possibilitam-se grandes produções em operação contínua com equipamento simples, produção de partículas relativamente uniformes e esféricas. Por outro lado, dentre as desvantagens do método, está a baixa eficiência energética, resultante do transporte da energia pelo ar de saída, dificultando a obtenção de uma condição de ar saturado (AGHBASHLO et al., 2012; KAJIYAMA; PARK, 2011).

## 2.8 Material encapsulante

A eficiência do encapsulamento e a estabilidade das micropartículas são influenciadas diretamente pela escolha do material de parede ou material carreador. O material encapsulante é selecionado em função das propriedades físicas e químicas do composto, da aplicação e do método de microencapsulação (SUAVE et al., 2006). O material da parede ideal deve ser de fácil manipulação durante o processo; não reagir com o núcleo; possuir baixa higroscopicidade, para facilitar a manipulação e evitar aglomeração; possuir capacidade de selar e manter o agente ativo no interior da cápsula; ser capaz de fornecer proteção máxima para o núcleo contra condições adversas, possuir as propriedades desejadas de liberação do material ativo; não interferir no sabor, no caso de microcápsulas alimentícias; e possuir viabilidade econômica (GHARSALLAOUI et al., 2007; SILVA; VIEIRA; HUBINGER, 2014).

Segundo Estevinho et al. (2013) e Silva, Vieira e Hubinger (2014) , a maioria dos materiais de parede não têm todas as propriedades desejadas, assim, é comum a mistura de dois ou mais materiais. Dependendo do composto protegido e das características desejadas na partícula final, uma grande variedade de polímeros naturais e sintéticos pode ser selecionada. Os materiais de parede, frequentemente utilizados para a microencapsulação por *Spray Drying*, são carboidratos (amido, dextrinas, celulosas, etc), proteínas (glúten, caseína, gelatina, albumina, etc) e gomas (goma arábica, alginato de sódio, carragena) (KANDANSAMY; SOMASUNDARAM, 2012).

Os carboidratos, tais como amidos, maltodextrinas e xaropes de glicose são normalmente utilizados em microencapsulação de ingredientes alimentares. Estes materiais são considerados como bons agentes encapsulantes, apresentando baixa viscosidade em alto teor de sólidos e boa solubilidade, embora não apresentem as propriedades interfaciais necessárias para uma

elevada eficiência de microencapsulação. Assim, são, geralmente, associados com outros materiais de encapsulamento, tais como proteínas ou gomas, por suas propriedades de estabilização da emulsão (GHARSALLAOUI et al., 2007). As maltodextrinas proporcionam boa estabilidade oxidativa, mas exibem fraca capacidade de emulsão e baixa estabilidade de emulsão em solução (SILVA; VIEIRA; HUBINGER, 2014). A incorporação de carboidratos hidrolisados, no material de parede de microcápsulas, pode melhorar as propriedades de secagem, com o aumento da formação de uma crosta seca em volta das partículas, aumentando sua estabilidade oxidativa pela redução da permeabilidade de oxigênio (BOTREL et al., 2014).

As proteínas possuem um caráter anfifílico que oferecem propriedades físico-químicas e funcionais requeridas para encapsular materiais de núcleo hidrofóbico. Além disso, os compostos das proteínas, tais como o caseinato de sódio, proteína isolada de soja e concentrados de proteína de soro de leite também garantem boas propriedades de microencapsulação por *Spray Drying* e eficaz proteção contra processos oxidativos, sendo excelentes agentes encapsulantes para óleos, gorduras e compostos voláteis (GHARSALLAOUI et al., 2007).

### **2.8.1 Isolado proteico de soro do leite**

As proteínas do leite são biopolímeros, química e estruturalmente versáteis, divididas em dois grupos principais: caseínas e proteínas do soro de leite. As caseínas, presentes na forma de coloides altamente hidratadas (micelas) no leite, apresentam grupamentos hidrofóbicos e aminoácidos hidrofílicos. As proteínas do soro de leite, sendo a  $\beta$  – lactoglobulina ( $\beta$  –Lg) a mais abundante, apresentam elevada capacidade de ligação com grupos hidrofóbicos e compostos anfifílicos, tais como aromas, ácidos, gorduras e vitaminas, sendo obtidas a

partir da produção de queijos, sofrendo branqueamento e posterior secagem. O isolado proteico de soro de leite (IPSL) possui inúmeras aplicações por apresentar excelente funcionalidade e valor nutricional, em razão do alto teor de aminoácidos essenciais de cadeia ramificada (DOHERTY et al., 2012; LIU et al., 2016; ZHANG; ZHONG, 2012).

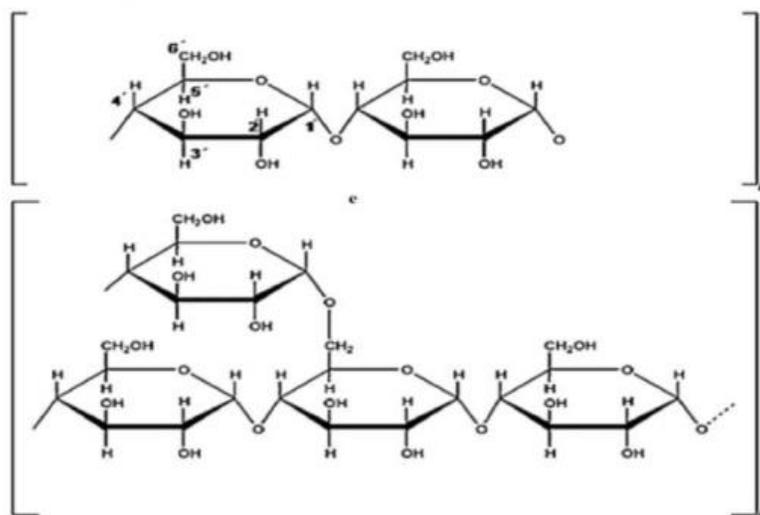
O IPSL é caracterizado por proteínas globulares, insolúveis em leite no ponto isoelétrico (aproximadamente, pH 5), mas solúvel em qualquer outro valor de pH, sendo desnaturadas em altas temperaturas e umidades (JANISZEWSKA-TURAK et al., 2017). Por ser um polímero natural, o IPSL apresenta vantagens como: biocompatibilidade, biodegradabilidade, excelentes propriedades anfífilas e funcionais, além de boa solubilidade em água e capacidade de formar emulsões e espumas, sendo considerado um eficaz material encapsulante (LEE; ROSENBERG, 2000; NESTERENKO et al., 2013).

Nos últimos anos, diversos trabalhos vêm comprovando a eficiência do isolado proteico do soro de leite em processos de encapsulação de compostos bioativos, óleos e aromas (BAE; LEE, 2008; BASTOS et al., 2012; EZHILARASI et al., 2013; HUNDRE; KARTHIK; ANANDHARAMAKRISHNAN, 2015; LIU et al., 2016).

### **2.8.2 Maltodextrina**

A maltodextrina é um polímero, constituída de unidades D – glicose, ligadas por cadeias  $\alpha$  - 1,4, apresentando características higroscópicas (FIGURA 7) (BARRETO et al., 2015). É obtida pela hidrólise parcial do amido com ácidos ou enzimas, sendo caracterizada em termos de equivalente de dextrose (DE), variando de 3 a 19 dependendo do grau da hidrólise (ABBAS et al., 2012).

Figura 7 - Estrutura química da maltodextrina.



Fonte: (CARNEIRO et al., 2013).

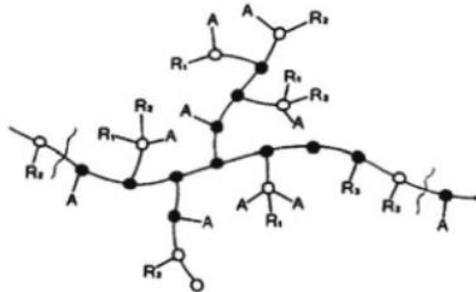
Caracteriza-se por ser uma goma hidrolisada de baixo custo, isenta de aroma e sabor, possuindo excelente propriedade de barreira à oxigênio, apresentando boa capacidade de emulsificação (UEKANE et al., 2016). É o material mais utilizado em processos de encapsulação, por sua alta solubilidade, baixa viscosidade e teor de açúcar, demonstrando eficácia na preservação de compostos fenólicos, aromas e corantes (HARTWIG et al., 2013).

Visando à eficiência do processo de microencapsulação por *Spray Drying*, com maior proteção do material ativo, alguns autores têm sugerido a utilização da maltodextrina combinado com outros encapsulantes, como proteínas (BOTREL et al., 2014; MAHDAVI et al., 2016) e goma arábica (SIMON-BROWN et al., 2016).

### 2.8.3 Goma arábica

Exsudado natural de algumas variedades da árvore acácia, a goma arábica caracteriza-se como um polissacarídeo complexo, contendo íons de cálcio, magnésio e potássio. A goma arábica é composta por seis carboidratos: galactose, ramnose, arabinopiranosose, arabinofuranose, ácido glucurônico e ácido metilglucurônico, apresentando também uma pequena porção proteica na sua estrutura, conforme apresentado na Figura 8 (PRAKASH; JOSEPH; MANGINO, 1990).

Figura 8 - Estrutura Química da Goma Arábica.



Legenda: \* A: arabinosil, ●: β-1,3 galactose, ○: β-1,6 galactose 6 –ligada, R<sub>1</sub>: ramnose-ácido glucurônico, R<sub>2</sub>: galctose-1,3-arabinose, R<sub>3</sub>: arabinose-1,3-arabinose-1,3-arabinose.

Fonte: (BARRETO et al., 2015).

É um material inodoro, incolor, insípido, não afetando odor, coloração ou sabor do sistema ao qual é adicionado. Apresenta alta solubilidade em água, podendo ser dissolvida em água fria e quente em concentrações superiores a 50% (m/v) (KANDANSAMY; SOMASUNDARAM, 2012).

A goma arábica tem sido usada por vários anos pela indústria de alimentos para encapsular substâncias lipossolúveis, óleos essenciais, vitaminas, aromas e corantes, aumentando a funcionalidade. No processo de microencapsulação, a goma arábica tem grande utilização por apresentar baixa viscosidade em solução, boa retenção de compostos voláteis e favorecer a estabilidade das emulsões. Alguns estudos conferem à goma arábica uma boa proteção às microcápsulas quanto ao efeito da luz e da temperatura, mas não ao efeito do oxigênio (PAULO; ASSIS; SANTOS, 2009).

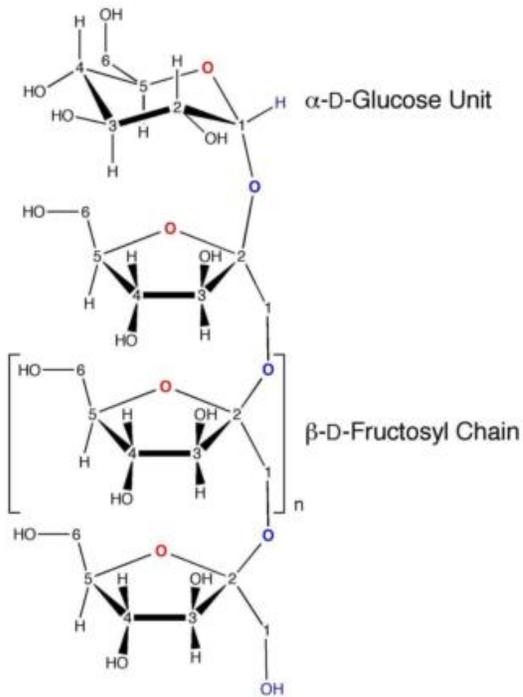
#### **2.8.4 Inulina**

Fruto-oligossacarídeo obtido, a partir de raízes da chicória (*Cichorium intybus*), dahlia (*Dahlia pinuata*) e alcachofra de Jerusalém (*Helianthus tuberosus*), a inulina é composta por unidades de frutose com ligações  $\beta$  (2-1) com glicose no final da cadeia. Classificada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) como fibra dietética, a inulina apresenta propriedades funcionais comprovadas, como o aumento da biodisponibilidade de cálcio. Além disso, é um composto hidrolisado em pequenas quantidades no estômago e intestino grosso, não resultando em aumento do índice glicêmico, sendo potencial ingrediente para alimentos ao público diabético (BAKOWSKA-BARCZAK; KOLODZIEJCZYK, 2011; ROBERFROID, 2005).

A inulina apresenta elevada solubilidade em soluções aquosas, por sua conformação molecular, podendo formar géis em concentrações superiores a 25%, quando apresenta cadeia curta e, a partir de 13%, para cadeias mais longas, submetidas a arrefecimento ou cisalhamento. Variáveis como pH, peso molecular, concentração e tipo de solvente podem afetar as características do gel final. A inulina apresenta a capacidade de aumentar a estabilidade das espumas e

emulsões, podendo ser uma opção aos carboidratos, como material encapsulante em processos de microencapsulação por *Spray Drying* (PETROVSKY, 2010).

Figura 9 - Estrutura química da inulina.



Fonte: (PETROVSKY, 2010).

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Material e local de execução**

Para a realização do experimento, foi utilizado resíduo da produção de café expresso, proveniente da Cafeteria Escola da Universidade Federal de Lavras (UFLA) – CAFESAL, preparado com café arábica cultivado nesta universidade, cujo extrato foi utilizado como material a ser encapsulado.

Os materiais encapsulantes selecionados foram maltodextrina (DE 12 - 20, Cassava, Rio Grande do Sul, Brasil), goma arábica (Colloides Naturels Brasil, São Paulo, Brasil), inulina (Frutafit ®, Sensus, Roosendaal, Holanda) e isolado proteico de soro de leite (Hilmar™ Whey Protein Isolate 9000, CA, Estados Unidos).

As instalações utilizadas, para a realização das análises, foram os Laboratórios de Análise de Alimentos do Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras (DCA – UFLA), Planta Piloto de Processamento de Produtos Vegetais – DCA UFLA, Laboratório de Embalagens e Secagem – DCA UFLA, Laboratório de Cromatografia Líquida (CAPQ – UFLA) e Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultraestrutural (LME) da UFLA.

#### **3.2 Produção do extrato da borra de café expresso**

Inicialmente, o resíduo do café expresso obtido foi seco em estufa a vácuo com temperatura de 65°C até peso constante, para retirada da sua umidade (MUSSATTO et al., 2011a). Posteriormente, foi armazenado em embalagens de polietileno com proteção da luz, sob temperatura de, aproximadamente, 8°C, de forma minimizar a perda de compostos fenólicos por oxidação.

O processo de extração realizado foi do tipo extração sólido-líquido, segundo metodologias de Al-Dhabi, Ponmurugan e Jeganathan (2017) e Panusa et al. (2013) com adaptações. 50 g de resíduo seco e 500 mL de solvente, água destilada foram transferidos para um recipiente e agitados por ultrassom (Ultrason Digital Sonifier, Model 450, Branson Ultrasonic Corporation), por 40 minutos a uma energia ultrassônica de, aproximadamente,  $960 \text{ J.mL}^{-1}$ . O extrato, então, foi filtrado com papel filtro quantitativo 1-2  $\mu\text{m}$  com auxílio de uma bomba a vácuo.

Após o processo extrativo, o extrato obtido foi armazenado em recipiente âmbar, vedado, devidamente identificado, sob temperatura de, aproximadamente,  $8^{\circ}\text{C}$  até a submissão às análises e demais processos.

### **3.3 Formação da solução a ser encapsulada**

Inicialmente, 450 ml de extrato aquoso foram previamente preparados, obedecendo à metodologia acima descrita, para cada secagem realizada.

Os materiais encapsulantes selecionados, maltodextrina, goma arábica, inulina e isolado proteico de soro de leite foram previamente hidratados, no próprio extrato aquoso, durante, aproximadamente, 12 horas sob baixas temperaturas. As soluções foram homogeneizadas com auxílio de homogeneizador Ultra-Turrax (Ultra-Turrax IKA T18 basic, Wilmington, EUA) em uma velocidade de 2500 rpm, durante 10 min. A porcentagem de sólidos (material de parede) utilizada foi fixada em 20% (m/v), com base em trabalhos encontrados na literatura (BHUSARI; MUZAFFAR; KUMAR, 2014; RAJABI et al., 2015; RATANASIRIWAT; WORAWATTANAMATEEKUL; KLAYPRADIT, 2013).

### 3.4 Secagem por *Spray Drying*

As soluções produzidas foram bombeadas para o secador por atomização (modelo MSD 1.0; Labmaq do Brasil, Rio Preto, Brasil) equipado com bico atomizador de duplo fluido. As variáveis de processo aplicadas foram: temperatura do ar de entrada de  $160 \pm 1$  °C e temperatura de ar de saída de  $90 \pm 6$  °C, a uma vazão de fluxo de alimentação de  $0,7 \text{ L.h}^{-1}$ ; definidas com base em testes preliminares (dados não apresentados).

Uma vez coletados, porções de quase 1 g de pó foram armazenados em embalagens de polietileno, com proteção da luz, estocados em incubadoras do tipo B.O.D. em duas temperaturas diferentes (25°C e 35°C), por 42 dias. A temperatura de 25°C foi selecionada por representar a temperatura ambiente e a de 35°C por ser a temperatura recomendada para estudos de aceleração de vida de prateleira de alimentos (MOSER et al., 2017).

### 3.5 Delineamento experimental

Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, com três repetições, de forma avaliar a influência do tipo de material de parede utilizado na encapsulação nas variáveis estudadas (TABELA 2). Para alguns casos, avaliou-se, também, o a estabilidade dos compostos ao longo do tempo de estocagem a 25 °C e 35 °C. Diferentes matrizes encapsulantes foram utilizadas, sendo 100% isolados proteicos de soro de leite e três misturas de isolado proteico com diferentes carboidratos, em uma razão 1:1 (m/m).

Tabela 2 - Planejamento experimental para obtenção das micropartículas.

Tratamento	Material de Parede	Concentração (*)
1	IPSL	20,0
2	IPSL + Maltodextrina (1:1)	20,0
3	IPSL + Goma Arábica (1:1)	20,0
4	IPSL + Inulina (1:1)	20,0

Fonte: Dados da autor (2018).

IPSL: Isolado Proteico de Soro do Leite.

\*  $\text{g} \cdot 100^{-1}$  g de solução

### 3.6 Eficiência de encapsulação

A eficiência de microencapsulação foi definida como a razão da quantidade de material encapsulado nas micropartículas finais secas e seu valor original na solução inicial (ZILBERBOIM; KOPELMAN; TALMON, 1986). Para essa avaliação, foi considerado o teor de ácido clorogênico (ácido 5-cafeoilquínico (5-ACQ)), no extrato original e, na partícula final obtida, para cada tratamento, que foi mensurado por análise de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

### 3.7 Determinação do teor de ácido clorogênico (5 – ACQ) e cafeína

Para a quantificação do teor de ácido clorogênico (ácido 5-cafeoilquínico) e o teor de cafeína, tanto no extrato de café quanto nas micropartículas foi realizada análise de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), utilizando cromatógrafo de marca Shimadzu com coluna em fase reversa C-18. O sistema foi constituído de um detector espectrofotométrico UV/visível Shimadzu® (modelo SPD-10A) conectado por uma interface (CBM-101) a um microcomputador para processamento de dados.

As condições de análise utilizadas foram fluxo de 1mL/min; fase móvel: metanol, água e ácido acético (70:28:2 % v/v); temperatura ambiente; comprimento de onda 280 nm. A concentração dos compostos foi determinada pela relação entre as áreas dos picos do composto presente nas amostras e do respectivo padrão de concentrações conhecidas de ácido clorogênico ( $y=1.10^{10} x - 4684,4$ ;  $R^2 = 0,9914$ ) e cafeína ( $y= 6 \cdot 10^9 x + 5276$ ;  $R^2 = 0,9903$ ).

### 3.8 Análises espectrofotométricas

Para as análises espectrofotométricas, 0,07 g de micropartículas foram diluídas completamente em 25 mL de água destilada a 25°C e agitadas com o auxílio de um agitador do tipo *Vortex*. O extrato foi diluído em água destilada e etanol, em diferentes proporções, conforme a metodologia de cada análise. As leituras foram realizadas em um espectrofotômetro (Espectrofotômetro Shimadzu, UV-1601, Japão).

Com o propósito de avaliar a sua estabilidade, as amostras foram analisadas nos dias de armazenamento: 0, 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias, quanto ao seu teor de compostos fenólicos totais e à sua atividade antioxidante pelos métodos de DPPH, FRAP e ABTS. O teor de melanoidinas foi somente analisados no dia inicial (dia 0) e no dia final (dia 42).

#### 3.8.1 Teor de compostos fenólicos totais

O teor de fenólicos totais das micropartículas produzidas foi determinado conforme metodologia descrita por Babbar et al. (2011). Uma alíquota de 200 µL de amostra foi transferida em triplicata, para tubos identificados, contendo 200 µL de reagente Folin-Ciocalteu. Preparou-se uma solução saturada de carbonato de cálcio (10 % m/v) e, então, 200 µL desta foram

adicionadas aos tubos, juntamente com 2 mL de água destilada; os tubos foram incubados no escuro, à temperatura ambiente, durante 60 minutos. A leitura da absorbância foi realizada com comprimento de onda de 765 nm, utilizando água destilada como branco. O teor de compostos fenólicos totais das amostras derivou-se de uma curva padrão de ácido gálico (concentrações de 0 – 80 µg/mL) ( $y = 0,0182 x - 0,071$ ;  $R^2 = 0,987$ ) e o resultado final foi expresso em miligrama de ácido gálico (GA) por grama de amostra em base seca.

### 3.8.2 Atividade Sequestrante de Radicais Livres – DPPH

A atividade sequestrante de radicais livres pelo método de DPPH foi determinada segundo Mensor et al. (2001). Uma alíquota de 2,5 mL de amostra foi depositada em tubos devidamente identificados. 1 mL de solução etanólica de DPPH (0,3 mM) foi adicionado aos tubos, seguido de agitação e armazenados no escuro, à temperatura ambiente, durante 30 minutos.

Posteriormente, foi realizada a leitura da absorbância (Abs) a 518 nm e os valores convertidos em atividade antioxidante (% AA) segundo a Equação 1.

$$AA \% = 100 - \left\{ \frac{(Abs_{amostra} - Abs_{branco}) * 100}{Abs_{controle}} \right\} \quad (1)$$

Uma alíquota de 2,5 mL de amostra adicionada de 1,0 mL de etanol foi utilizada como branco. O controle negativo foi constituído de solução etanólica de DPPH (1,0 mL; 0,3 mM) acrescido de etanol (2,5 mL).

### 3.8.3 Atividade antioxidante total – ABTS+

A atividade antioxidante total pelo radical ABTS<sup>+</sup> foi determinada segundo metodologia adaptada de Babbar et al. (2011). Inicialmente, preparou-se uma solução aquosa de ABTS (7 mmol . L<sup>-1</sup>) e uma solução aquosa de persulfato de potássio (2,45 mmol . L<sup>-1</sup>). As duas soluções foram misturadas na mesma proporção, armazenadas em frasco âmbar, por 16 horas à temperatura ambiente, originando a solução ABTS<sup>+</sup>. Para realização das análises, a solução de ABTS<sup>+</sup> foi diluída em etanol até leitura de, aproximadamente, 0,700 a 734 nm.

Para a avaliação da capacidade antioxidante, 100 µL de amostra, em triplicata, foram adicionadas a tubos devidamente identificados, juntamente de 1,9 mL de solução ABTS+. As amostras foram agitadas e incubadas no escuro, por 10 minutos, à temperatura ambiente, sendo realizada a leitura, posteriormente, a 734 nm, considerando o etanol como branco.

As leituras encontradas foram correlacionadas com uma curva padrão de Trolox (100 – 2000 µM) (  $y = - 0,0005 x + 0,6658$ ;  $R^2 = 0,987$ ) e o resultado final expresso em µM de Trolox por grama de amostra em base seca.

### 3.8.4 Atividade antioxidante total por redução de ferro – FRAP

O poder de redução de ferro foi avaliado de acordo com Rufino et al. (2006) com adaptações. A preparação do reagente FRAP consistiu em: 2,5 mL de solução 10mM TPTZ em HCl 40mM adicionados a 2,5 mL de solução de cloreto férrico 20 mM e 25 mL de tampão acetato 0.3 mM pH 3,6.

Para a avaliação da capacidade antioxidante, 2,7 mL do reagente FRAP preparado, foram misturados com 270 µL de água destilada e 90 µL da amostra ou padrão. As amostras foram incubadas a 37°C por 30 minutos e a leitura

realizada a 595 nm. Os resultados obtidos foram comparados com uma curva padrão de sulfato ferroso (500 - 2000  $\mu\text{M}$ ) ( $y = 0,0003x - 0,0275$ ;  $R^2 = 0,975$ ), e o resultado final expresso em  $\mu\text{M}$  de sulfato ferroso por grama de amostra em base seca.

### **3.8.5 Teor de melanoidinas (Compostos Escuros)**

A determinação do teor de compostos escuros foi realizada, segundo metodologia de Huang et al. (2016), com algumas modificações. As amostras foram diluídas em água destilada e agitadas por Vortex e tiveram sua absorbância determinada a 420 nm. O aumento da absorbância representa um indicativo de maior concentração de melanoidinas e compostos escuros. Os resultados serão as médias das leituras obtidas para cada amostra, em triplicata, seguida do desvio padrão.

## **3.9 Caracterização das micropartículas**

As diferentes micropartículas obtidas foram caracterizadas quanto a sua microestrutura (morfologia) e distribuição de tamanho, conforme metodologias descritas abaixo.

### **3.9.1 Microestrutura**

A morfologia da micropartícula produzida foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura (MEV). O pó foi aderido a uma fita adesiva dupla face, pregada em um *stub* de 1cm de diâmetro e altura de 1cm, sendo posteriormente revestido com ouro em vácuo e examinado com um microscópio eletrônico de varredura MEV LEO 40 XVP, equipado com sistemas de microanálises de raios-

X (Quantax EDS e Software Spirit). As condições de operação foram 20 kV com ampliação de 600-2000x.

### **3.9.2 Distribuição do tamanho de partículas**

A distribuição do tamanho de partículas foi medida, usando-se instrumento de espalhamento de luz laser (Mastersizer 2000, modelo Hydro 2000 UM, Malvern Instruments, Worcestershire, UK). Uma amostra de pó foi suspensa em álcool isopropílico (índice de refração 1,39) sob agitação, e a distribuição do tamanho de partículas foi monitorada, durante cada medida, até que elas fossem constantes (JINAPONG; SUPHANTHARIKA; JAMNONG, 2008).

### **3.10 Isotermas de adsorção de umidade**

As isotermas de adsorção foram determinadas por método gravimétrico estático, usando-se soluções salinas saturadas a 25 °C. Seis soluções salinas saturadas (NaCl, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, MgCl<sub>2</sub>, LiCl, Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> e KCl) foram preparadas de forma que a atividade de água variasse de 0,112 a 0,843.

0,2 g de micropartículas foram pesadas e dispostas em placas devidamente identificadas, ficando expostas a diferentes atividades de água em potes herméticos, a 25°C, em incubadoras do tipo B.O.D. com controle de temperatura. Após 15 dias, as amostras foram retiradas e pesadas novamente. Para evitar crescimento microbiano nas amostras sob maiores atividades de água, pequenos béqueres de vidro contendo 1,5 mL de tolueno foram colocados no fundo dos potes herméticos (MCLAUGHLIN; MAGEE, 1998).

Os dados das isotermas foram correlacionados com a atividade de água por meio da aplicação dos modelos matemáticos de GAB, Halsey, Smith, Oswin e BET (TABELA 3).

Tabela 3 - Modelos para ajuste de isotermas de adsorção.

MODELOS	EQUAÇÕES
GAB	$X_{eq} = \frac{X_m \cdot C \cdot K \cdot a_w}{(1-K \cdot a_w)(1-K \cdot a_w + C \cdot K \cdot a_w)}$
Smith	$X_{eq} = a + b \cdot \log(1-a_w)$
Oswin	$X_{eq} = a \left[ \frac{a_w}{1-a_w} \right]^b$
BET	$X_{eq} = \frac{X_m \cdot C \cdot a_w}{[(1-a_w) + (C-1)(1-a_w)a_w]}$

Fonte: Fernandes et al. (2013) e Mclaughlin e Magee e (1998).

Sendo:  $X_{eq}$ : teor de umidade no equilíbrio ( $g \cdot g^{-1}$  de material seco);  $X_m$ : teor de umidade da monocamada ( $g \cdot g^{-1}$  de material seco); C, K: constantes do modelo relacionadas à monocamada e às propriedades da monocamada;  $a_w$ : atividade de água; a,b: parâmetros do modelo.

### 3.11 Análises estatísticas

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA), realizada com o software estatístico SISVAR desenvolvido por Ferreira (2011). As diferenças entre os valores médios obtidos foram examinadas, por meio de teste de médias de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade ( $p < 0,05$ ).

Para a análise dos dados referentes às isotermas de adsorção de umidade, os parâmetros das equações foram estimados, correlacionando-se os modelos matemáticos aos dados experimentais, com o uso da regressão não linear pelo método Quase-Newton ao nível de 5% de significância. A escolha do modelo mais adequado foi baseada no maior coeficiente de determinação ( $R^2$ ) e no

menor valor do desvio médio relativo (E%) pela Equação 2, em que  $m_i$  é o valor experimental,  $m_p$  é o valor previsto e N é o tamanho da amostra.

$$E = \frac{100}{N} \cdot \sum_{i=1}^N \frac{|m_i - m_p|}{m_i} \quad (2)$$



## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Caracterização do extrato

A avaliação da atividade antioxidante e do teor de compostos fenólicos e não fenólicos, presentes na bebida do café por diferentes preparos, incluindo o expresso, já foi realizada por diversos autores. Wolska et al. (2017) encontraram valores de atividade sequestrante de radicais livres pelo método de DPPH de, aproximadamente, 81% para a bebida do café expresso. Teores de ácido clorogênico (5 – ACQ) entre 6 e 17 mg 5-ACQ/g de café torrado foram encontrados em outro trabalho (HEČIMOVIĆ et al., 2011). Quando o mesmo composto foi mensurado na bebida do café expresso, valores entre 0,97-1,47 mg 5-ACQ/ g foram obtidos (ANDUEZA et al., 2007).

A cafeína é o principal alcaloide encontrado nos grãos de café. No grão cru do café, valores desse composto podem variar entre 0,8 – 1,4% (m / m), para a variedade Arábica, enquanto, para o café Robusta, tais valores podem oscilar entre 1,7 – 4,0 % (m / m). Para a bebida do café expresso, a cafeína apresenta um coeficiente de extratibilidade de até 85%, representando valores de até 2250 mg / 100 g base seca da bebida (CRUZ et al., 2012).

O teor de compostos fenólicos totais, cafeína e ácido clorogênico (5-ACQ), bem como os valores da atividade antioxidante por diferentes métodos do extrato aquoso da borra de café expresso obtidos, estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Teor de fenólicos totais, ácido clorogênico (5-ACQ) e atividade antioxidante do extrato aquoso da borra de café expresso.

Parâmetros avaliados	Valores
Fenólicos Totais (mg GAE/g base seca)	7,57 ± 0,52
Ácido Clorogênico (5-ACQ) (mg 5-ACQ/g base seca)	3,71 ± 0,40
Cafeína (mg/ g base seca)	6,12 ± 0,83
DPPH (%)	83,99 ± 2,38
FRAP (µM Fe(II)/g base seca)	456,83 ± 12,41
ABTS (µM Trolox/g base seca)	140,38 ± 0,33
Melanoidinas (Abs 420 nm)	0,503 ± 0,004

Fonte: Dados da autora (2018).

Resultados expressos como o valor ± desvio padrão, n=3.

Dentre os métodos de atividade antioxidante utilizados estão os que mensuram a inibição de radicais livres por componentes da amostra, empregando dois radicais de referência, ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfônico (ABTS) e 2,2-difenil-1-picril-hidrazina (DPPH). O resultado de ABTS encontrado foi de 140,38 µM Trolox/g base seca e o de DPPH sugere uma atividade de sequestrar radical livre de 83,99%. Ambos os valores corroboram os estudos de Bravo et al. (2013a) e Ramalakshmi et al. (2009), respectivamente. Considerando-se a bebida do café expresso, em condições semelhantes, observa-se que os resultados do extrato da borra estão similares (WOLSKA et al., 2017) ou até superiores (ALVES et al., 2010b), indicando que compostos antioxidantes e bioativos permanecem em concentrações significativas, no resíduo da produção da bebida, sendo de possível extração.

O extrato obtido apresentou um valor de cafeína de 6,12 ± 0,83 mg / g base seca. Quando analisado o extrato da borra de café expresso, valores similares foram encontrados por Bravo et al. (2012). Os autores obtiveram

extratos com concentrações de cafeína variando de 3,59 a 8,09 mg /g de borra de café seca. Considerando que a cafeína é extraída de forma significativa na bebida do café expresso, o resultado obtido demonstra que quantidades residuais de tal composto podem ser extraídas, a partir da borra, passível de futura aplicabilidade. A cafeína pode ser um importante contribuinte, para a capacidade antioxidante dos produtos do café, apresentando comprovada capacidade de redução de radicais livres (CAPRIOLI et al., 2015; LUDWIG et al., 2012).

O teor de compostos fenólicos totais do extrato obtido foi de 7,57 mg GAE/g base seca. Resultado similar foi obtido por Panusa et al. (2013) ( $7,43 \pm 0,15$  mg GAE / g) e Ramalakshmi et al. (2009) (6,32 mg GAE / g), que avaliaram o processo extrativo de compostos fenólicos na borra de café expresso. Segundo os autores, as variáveis do processo extrativo, como tipo de solvente, temperatura e método de extração, podem influenciar na obtenção de tais compostos, além da variedade de café utilizada no preparo da bebida.

Dentre os ácidos clorogênicos, o componente dominante é o ácido cafeoilquínico (5-ACQ), sendo considerado um dos mais importantes compostos fenólicos presentes no café, apresentando comprovada atividade antioxidante e biofuncionalidade (BALLESTEROS et al., 2017; GONÇALVES et al., 2017). A sua extração, na bebida do café, é influenciada pela variedade do café, ponto de torra, moagem do grão torrado, a proporção de café e água, o método de preparo, temperatura da água e do tempo de preparo da bebida; fatores que também vão influenciar a quantidade residual na borra (FARAH; DONANGELO, 2006). No extrato da borra de café analisado no trabalho, a concentração do composto quantificada foi de 3,71 mg 5-ACQ/g base seca. O resultado obtido é superior ao encontrado no trabalho de Mussatto et al. (2011a); ao utilizarem água como solvente no processo extrativo, obtiveram extratos com 0,58 mg 5-ACQ/g base seca e similares a valores encontrados na literatura (ANDUEZA et al., 2007; BRAVO et al., 2012; RAMALAKSHMI et al., 2009), enaltecendo o fato de que

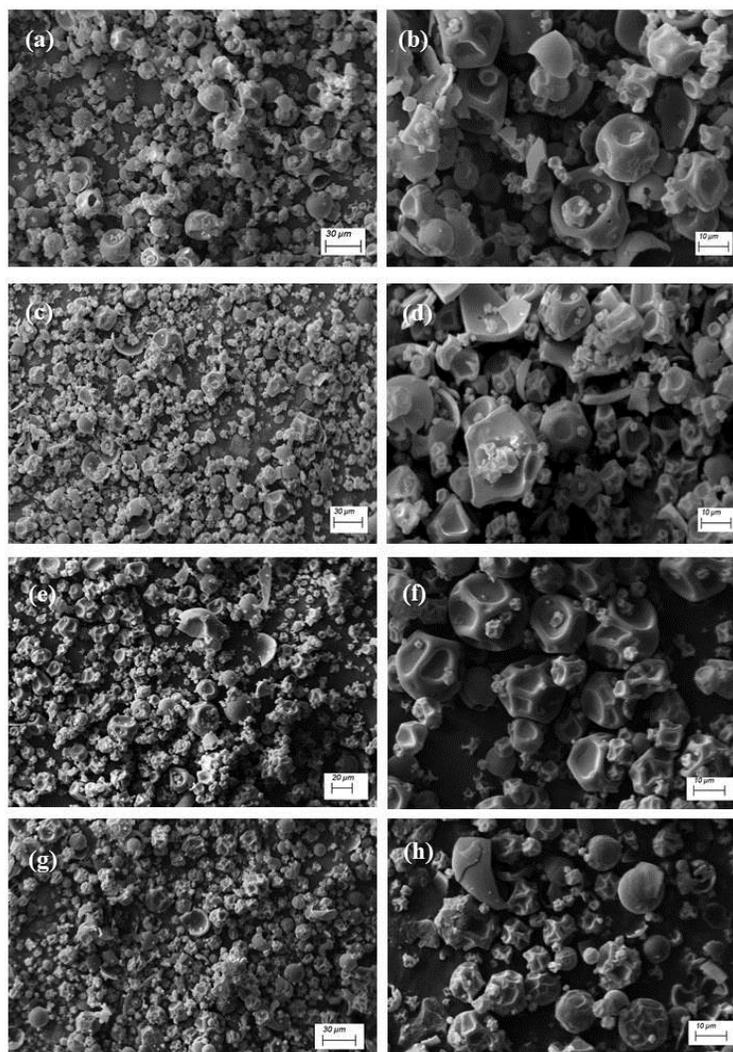
a borra do café expresso pode ser uma relevante fonte de compostos fenólicos bioativos.

#### **4.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

As micropartículas preparadas com os diferentes materiais encapsulantes foram analisadas por microscopia eletrônica de varredura de forma a avaliar e determinar as suas características superficiais. As micrografias estão apresentadas na Figura 10.

É possível observar micropartículas com formato esférico, superfície enrugada e tamanho irregular, para todos os tratamentos analisados. Notou-se, também, a ausência de rachaduras na superfície das partículas produzidas, o que pode assegurar maior proteção aos compostos encapsulados, possibilitando um aumento da sua estabilidade. As micropartículas produzidas com a combinação de IPSL e inulina como material encapsulante apresentaram maior variação na rugosidade da superfície das partículas. O aumento na rugosidade das micropartículas pode diminuir a sua adesão de contato e com a câmara de secagem do *spray dryer*. Tal característica também pode afetar negativamente a fluidez das micropartículas (CHOI et al., 2010; EDRIS et al., 2016; PANG; YUSOFF; GIMBUN, 2014).

Figura 10 - Micrografias eletrônicas de varredura obtidas para as micropartículas de extrato bioativo de borra de café expresso encapsulado com diferentes materiais encapsulantes (a) IPSL, ampliação 600x (b) IPSL, ampliação 2000x (c) IPSL/Maltodextrina, ampliação 600x (d) IPSL/Maltodextrina, ampliação 2000x (e) IPSL/Goma Arábica, ampliação 600x (f) IPSL/Goma Arábica, ampliação 2000x (g) IPSL/Inulina, ampliação 600x (h) IPSL/Inulina, ampliação 2000x.



Fonte: Da autora (2018).

A utilização do método de *Spray Drying* para a secagem, comumente, resulta na produção de micropartículas ocas, de formato esférico e com grande enrugamento. A ausência de núcleo está diretamente relacionada ao mecanismo de expansão das partículas durante os estágios finais da secagem (BOTREL et al., 2014). A formação da superfície enrugada é em razão do “empacotamento” da partícula, nos estágios iniciais do processo de secagem (WANG; JIANG; ZHOU, 2013).

A utilização de IPSL também apresenta influência na superfície rugosa das micropartículas, por sua alta atividade superficial. Durante a secagem, as proteínas formam uma camada fina na superfície da partícula, tendo suas moléculas unidas por interações hidrofóbicas, apresentando, assim, baixa mobilidade lateral. À medida que a água evapora, essa camada proteica torna-se mais estável pela elasticidade das proteínas presentes. O aumento da flexibilidade contribuída pelo IPSL pode reduzir o encolhimento da partícula, durante a secagem, sem que ocorra quebra ou rachaduras na superfície (WANG; JIANG; ZHOU, 2013).

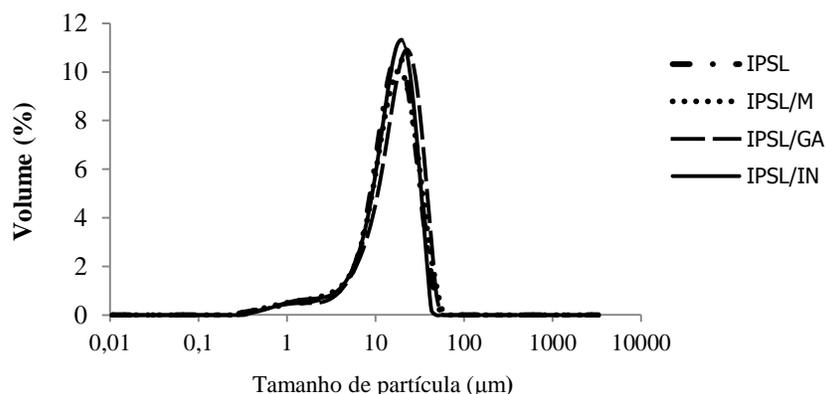
### **4.3 Distribuição de tamanho das partículas**

A distribuição do tamanho de partículas auxilia no entendimento do comportamento das micropartículas, relacionando com o seu material de parede, além de inferir sobre as características de manuseio e fluidez, bem como a estabilidade e a liberação controlada do conteúdo. Além disso, a textura e as propriedades sensoriais do produto final são influenciadas pelo tamanho da partícula (AGUIAR et al., 2017).

A Figura 11 ilustra as curvas de distribuição de tamanho de partículas obtidas para todos os tratamentos. O diâmetro médio das partículas foi expresso como  $D[4,3]$  (diâmetro de Brouckere), como demonstrado na Tabela 5, assim

como os valores designados  $d_{(0,1)}$ ,  $d_{(0,5)}$  e  $d_{(0,9)}$ , que indicam os diâmetros atingidos, respectivamente, em 10%, 50% e 90% do volume do grupo de partículas. O tamanho de partícula foi significativamente afetado pela adição de diferentes materiais ao IPSL, apresentando maiores valores para a utilização da goma arábica e maltodextrina.

Figura 11 - Distribuição de tamanho em volume (%) das micropartículas produzidas com diferentes materiais de parede. IPSL: isolado proteico de soro do leite; IPSL/M: isolado proteico de soro do leite/maltodextrina; IPSL/GA: isolado proteico de soro do leite/goma arábica; IPSL/IN: isolado proteico de soro do leite/inulina.



Fonte: Dados da autora (2018).

O aumento do valor médio de tamanho da micropartícula com a substituição de IPSL por maltodextrina e goma arábica foi observado em outros trabalhos (CHOI et al., 2010; WANG; JIANG; ZHOU, 2013). Pang, Yusoff e Gimibun (2014) e Tonon, Brabet e Hubinger (2010) relatam que o aumento da concentração desses compostos na solução de alimentação resulta em um aumento da viscosidade líquida da solução, gerando-se, assim, gotículas maiores

pulverizadas na câmara de secagem, durante o processo de *Spray Drying*, resultando em micropartículas com maior tamanho médio.

O tamanho médio das micropartículas apresenta grande influência nas suas características físicas. Micropartículas com maior tamanho médio, geralmente, apresentam menor densidade aparente, em virtude da presença de maior porosidade, podendo apresentar maior teor de umidade (SHISHIR; CHEN, 2017).

O espalhamento das partículas (*span*) está diretamente relacionado à homogeneidade da distribuição de tamanho das partículas, visto que valores mais baixos indicam uma distribuição mais homogênea, o que é bastante desejável (KUCK; NOREÑA, 2016). Os valores de *span* observados foram inferiores a 2, para todos os tratamentos, indicando boa homogeneidade na distribuição de partículas.

Tabela 5 - Média e desvio padrão para diâmetro médio volumétrico.

Tratamento	$d_{(0,1)}$ ( $\mu\text{m}$ )	$d_{(0,5)}$ ( $\mu\text{m}$ )	$d_{(0,9)}$ ( $\mu\text{m}$ )	<i>Span</i>	D [4;3] ( $\mu\text{m}$ )
IPSL	$5,22 \pm 0,04^b$	$15,60 \pm 0,07^c$	$29,86 \pm 0,40^c$	$1,58 \pm 0,02^b$	$16,78 \pm 0,22^c$
IPSL / M	$4,56 \pm 0,03^d$	$15,96 \pm 0,09^b$	$31,76 \pm 0,37^b$	$1,71 \pm 0,01^a$	$17,36 \pm 0,18^b$
IPSL / GA	$5,60 \pm 0,20^a$	$18,32 \pm 0,08^a$	$33,72 \pm 0,31^a$	$1,53 \pm 0,03^b$	$19,12 \pm 0,08^a$
IPSL / IN	$4,87 \pm 0,11^c$	$15,94 \pm 0,11^b$	$29,28 \pm 1,29^c$	$1,53 \pm 0,07^b$	$16,62 \pm 0,41^c$

Fonte: Dados da autora (2018)

Resultados expressos como o valor  $\pm$  desvio padrão, n=5. Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente entre si ( $p < 0.05$ ) pelo teste de Tukey. IPSL: isolado proteico de soro do leite; IPSL/M: isolado proteico de soro do leite/maltodextrina; IPSL/GA: isolado proteico de soro do leite/goma arábica; IPSL/IN: isolado proteico de soro do leite/inulina.

#### 4.4 Quantificação de 5-ACQ nas micropartículas e eficiência de encapsulação

Por ser um composto bioativo de grande importância e com relevante atividade antioxidante, o ácido clorogênico (5-ACQ) foi quantificado, nas diferentes micropartículas produzidas, sendo utilizado no cálculo da eficiência de encapsulação. Os resultados estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 - Teor de 5-ACQ para as micropartículas obtido por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

Tratamentos	5-ACQ (mg 5-ACQ/g base seca)
IPSL	1,5675 ± 0,2901
IPSL / M	1,5434 ± 0,0362
IPSL / GA	1,3904 ± 0,0874
IPSL / IN	1,5323 ± 0,2920

Fonte: Dados da autora (2018)

Resultados expressos como o valor ± desvio padrão, n=2.

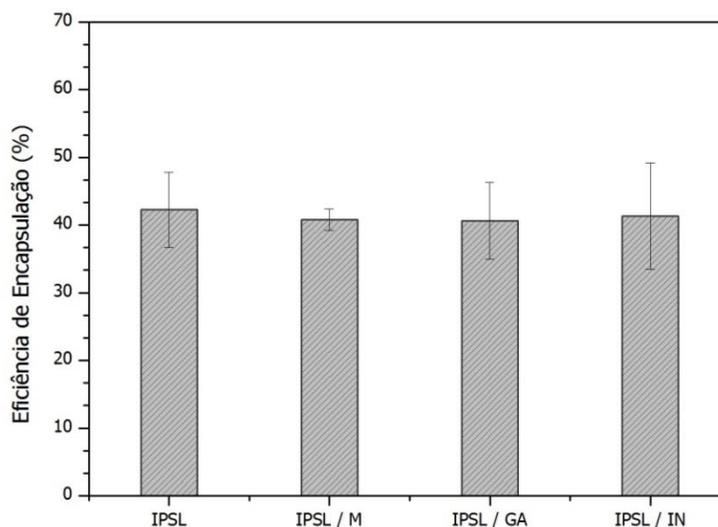
Conforme apresentado na Tabela 6, é possível observar que o material encapsulante não influenciou na retenção de ácido 5-cafeioquinico, não apresentando diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos. Porém os valores obtidos para as micropartículas são inferiores ao encontrado, para o extrato original (3,71 mg 5-ACQ / g base seca), sugerindo que o processo de *Spray Drying* pode ser responsável pela degradação de parte deste importante composto fenólico.

Entretanto a diminuição da concentração de ácidos clorogênicos por processos térmicos pode acarretar em um aumento da atividade antioxidante da amostra. Diversos trabalhos vêm sugerindo que compostos derivados das

reações podem ser altamente efetivos em reações com radicais livres. Além disso, a ocorrência da reação de Maillard, especificadamente no café processado termicamente, é atribuída a interações não covalentes entre isômeros de ácidos clorogênicos e melanoidinas, resultando em complexos com diferentes graus de atividade antioxidante, além da geração simultânea de produtos de coloração com também atividade antioxidante (LIANG et al., 2016).

A Figura 12 apresenta o percentual de ácido clorogênico (5-ACQ) retido nas micropartículas, quando comparado com o valor do extrato inicial. A eficiência de encapsulação variou de 40,59 a 42,25% entre os tratamentos, não demonstrando diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre eles.

Figura 12 - Eficiência de encapsulação de ácido clorogênico (5-ACQ) das micropartículas em relação ao valor do extrato inicial.



Fonte: Dados da autora (2018).

A eficiência de encapsulação é um importante indicador para o processo de microencapsulação e o seu produto final e refere-se à capacidade do material

de parede proteger os compostos encapsulados. Um processo de encapsulação bem sucedido baseia-se em alta retenção do composto e em mínimas quantidades na superfície das partículas (MAHDAVI et al., 2016). O material encapsulante e suas propriedades, bem como os parâmetros de secagem, são os fatores que podem afetar os valores da eficiência (JAFARI; SABAH; RAHAIE, 2016).

Diversos trabalhos já reportaram valores entre 40 – 60% de eficiência de encapsulação de micropartículas contendo compostos fenólicos com diferentes materiais encapsulantes (DELADINO et al., 2008; ERSUS; YURDAGEL, 2007; PASRIJA et al., 2015; ROBERT et al., 2010). Ao encapsularem extrato fenólico do chá verde via *Spray Drying*, Pasrija et al. (2015) obtiveram menores valores de retenção de compostos fenólicos para micropartículas obtidas pela combinação de maltodextrina com  $\beta$ -ciclodextrina. Segundo os autores, a elevada temperatura de entrada e saída do equipamento podem induzir a deterioração de polifenóis, resultando em baixa eficiência.

Segundo Farah e Donangelo (2006) sob temperaturas mais elevadas, o 5-ACQ pode ser parcialmente hidrolisado em monoésteres e ácido cafeico, que podem ser novamente hidrolisados, descarboxilados e degradados em uma gama de compostos fenólicos simples e voláteis.

#### **4.5 Teor de cafeína nas micropartículas**

A Tabela 7 apresenta os teores de cafeína obtidos por cromatografia para as quatro diferentes formulações de micropartículas obtidas.

Tabela 7 - Teor de cafeína para as micropartículas obtido por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

Tratamentos	Cafeína (mg / g base seca)
IPSL	2,5445 ± 0,0793 <sup>a</sup>
IPSL / M	2,8354 ± 0,0775 <sup>a</sup>
IPSL / GA	2,5518 ± 0,1618 <sup>a</sup>
IPSL / IN	2,4704 ± 0,1478 <sup>a</sup>

Fonte: Dados da autora (2018).

Resultados expressos como o valor ± desvio padrão, n=2. Médias seguidas por letras diferentes diferem significativamente entre si (p<0.05) pelo teste de Tukey.

De maneira geral, não foi observada influência do material encapsulante, na retenção de cafeína pelas micropartículas, não apresentando diferença significativa (p<0,05) entre os tratamentos. Além disso, os teores de cafeína encontrados, para as diferentes micropartículas, foram inferiores ao obtido para o extrato de borra de café expresso original (6,1247 ± 0,8314 mg / g base seca), indicando que os materiais utilizados não protegeram de forma efetiva esse composto.

O método de formação de micropartículas, também, pode ter influenciado o seu teor de cafeína para os tratamentos. Bagheri et al. (2014) avaliaram a retenção da cafeína por dois diferentes métodos de encapsulação, concluindo que a eficiência de encapsulação das partículas reduziu ao passarem pelo processo de *Spray Drying*. Segundo os autores, a rápida secagem do solvente, juntamente com a baixa afinidade do composto de núcleo com o material encapsulante, interferem crucialmente na retenção de tal composto.

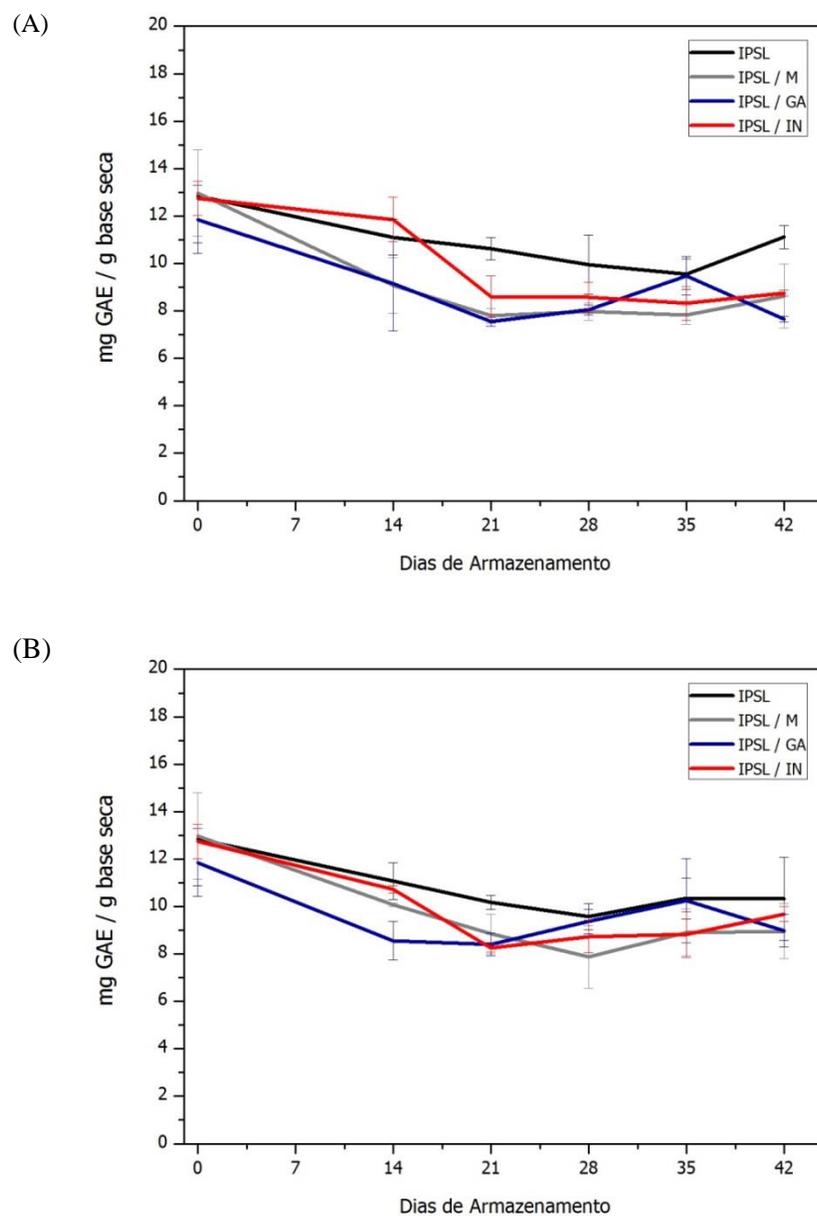
A retenção de cafeína pelo método de *Spray Drying* também foi avaliada por Belščak-Cvitanović et al. (2015). Os autores utilizaram biopolímeros para a encapsulação da cafeína extraída do chá verde (*Camellia sinensis* L.). Quando utilizado isolado proteico de soro do leite como material de parede, o teor de

caféina obtido foi de  $1,59 \pm 0,01$  mg / g base seca, valor de retenção inferior a outros polímeros, como amido modificado ( $4,37 \pm 0,07$  mg / g base seca) e goma xantana ( $3,96 \pm 0,28$  mg / g base seca).

#### **4.6 Teor de compostos fenólicos totais**

Os valores encontrados, para teor de compostos fenólicos nos diferentes tratamentos, imediatamente após o processo de *Spray Drying* e durante 42 dias de armazenamento, quando submetidos a duas diferentes temperaturas de estocagem, estão apresentados na Figura 13.

Figura 13 - Efeito do tempo de armazenamento no teor de compostos fenólicos totais nas micropartículas armazenadas (a) 25°C (b) 35°C.



Fonte: Dados da autora (2018).

Nota-se que, quando considerado o valor de compostos fenólicos nas micropartículas, imediatamente após a secagem, a eficiência de encapsulação para ambos os tratamentos foi superior a 100%, demonstrando que o material encapsulante e o processo de secagem por *Spray Drying* não interferiram negativamente na retenção de compostos fenólicos, sugerindo que os compostos fenólicos presentes na amostra são estáveis à temperatura do ar de entrada do equipamento, definida em 160°C. Além disso, a elevada retenção inicial de fenólicos pode indicar que os compostos polifenólicos, presentes nas amostras, são altamente reativos com o reagente Folin-Ciocalteu.

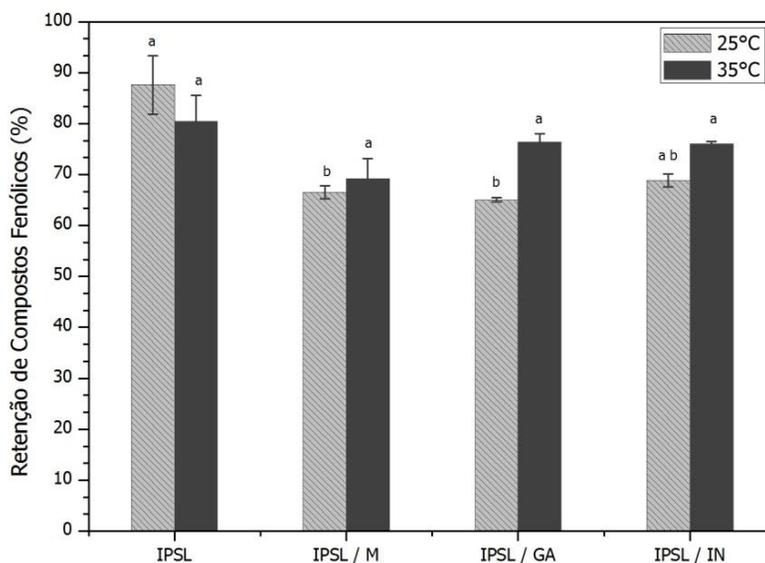
O método de Folin-Ciocalteu é convencionalmente utilizado para a quantificação dos compostos polifenólicos totais em alimentos. O reagente tem, em sua constituição, a mistura dos ácidos fosfomolibdídico e fosfotungstístico, no qual o molibdênio e o tungstênio apresentam-se em um estágio de oxidação avançado, de forma que, na presença de substâncias redutoras, como os compostos fenólicos, ocorre a formação dos compostos molibdênio azul e tungstênio azul. A alteração da coloração permite, assim, a determinação da concentração das substâncias redutoras, podendo não necessariamente apresentar natureza fenólica (SOUSA et al., 2007). Deste modo, tal reagente pode sofrer redução por inúmeras substâncias doadoras de elétrons, sendo sensível à presença de proteínas, ácido ascórbico e outros compostos redutores (COELHO et al., 2014; PÉREZ-MARTÍNEZ et al., 2010).

O maior teor de compostos fenólicos nas micropartículas, quando comparado ao extrato original, também foi observado por Saénz et al. (2009) em seu trabalho. Segundo os autores, o aumento na retenção de compostos fenólicos pode ser consequência da hidrólise de compostos fenólicos conjugados da solução inicial, durante a preparação da amostra ou durante o processo de secagem, resultando no aumento do teor de tais compostos.

Os compostos fenólicos são importantes compostos, com estrutura química variada, apresentando comprovada atividade antioxidante. Geralmente, por apresentarem estrutura com anéis aromáticos conjugados com grupos hidroxila, esses compostos apresentam alta eficiência na estabilização de radicais livres. A presença de grupos carboxílicos e carbonílicos em numerosos compostos fenólicos, também, resulta em significativa inibição da rancidez oxidativa por quelação de metais (VALENZUELA; NIETO, 1996).

O percentual de retenção de compostos fenólicos, para as diferentes combinações de materiais de parede, após 42 dias de armazenamento, está demonstrado na Figura 14.

Figura 14 - Percentual de retenção de compostos fenólicos totais, após 42 dias de armazenamento sob duas diferentes temperaturas. Letras diferentes indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos, para cada temperatura. IPSL: isolado proteico de soro do leite; IPSL/M: isolado proteico de soro do leite/maltodextrina; IPSL/GA: isolado proteico de soro do leite/goma arábica; IPSL/IN: isolado proteico de soro do leite/inulina.



Fonte: Dados da autora (2018).

A partir dos resultados apresentados, é possível observar-se que a quantidade de compostos fenólicos totais das micropartículas diminuiu, em função do período de armazenamento, enquanto a utilização de isolado proteico de soro de leite (IPSL) foi mais eficiente, na retenção de compostos fenólicos, ao longo dos 42 dias de armazenamento. Durante o processo de secagem por *Spray Drying*, or seu elevado teor proteico, o IPSL tem um aumento na sua flexibilidade, o que reduz o encolhimento das micropartículas, evitando a quebra ou a presença de rachaduras na superfície, aumentando, assim, a proteção dos compostos bioativos (WANG; JIANG; ZHOU, 2013).

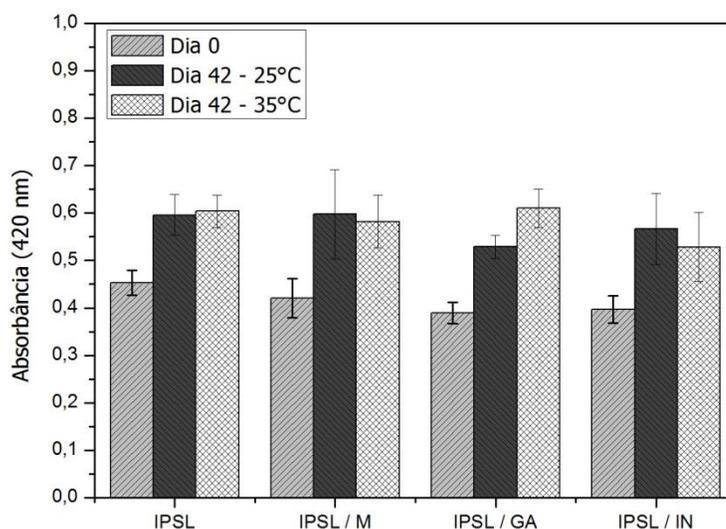
A combinação dos demais materiais, cuja composição inclui carboidratos, ao IPSL, resultou em taxas de retenção de compostos fenólicos maiores para temperatura mais elevada (35°C) de armazenamento. Uma possível explicação para esse fato é a indução pela temperatura da formação de compostos escuros (melanoidinas) de baixo peso molecular. Melanoidinas de baixo peso molecular podem ser formadas pela reação de produtos resultantes da degradação de açúcar ou carboidrato, com aminoácidos, geralmente, a uma temperatura inferior a 50°C, por períodos de tempo superiores a 30 dias (WANG; QIAN; YAO, 2011).

Segundo Coelho et al. (2014), as melanoidinas cuja produção seja a partir de sistemas modelos, contendo apenas açúcar e aminoácidos, apresentam comprovada capacidade de redução. Assim, produtos da reação de Maillard e proteínas redutoras, presentes na amostra, podem contribuir para o aumento na capacidade de redução da amostra, resultando em uma superestimação da quantidade de compostos fenólicos observada quando mensurada pelo método de Folin-Ciocalteu.

#### 4.7 Teor de melanoidinas

O teor de compostos escuros é um índice conveniente, para indicação da caramelização e compostos formados pela Reação de Maillard, por medida da absorvância a 420 nm. Os resultados obtidos, para as micropartículas, imediatamente após o processo de *Spray Drying* e após 42 dias de armazenamento sob as temperaturas de 25°C e 35°C, estão apresentados na Tabela 8 e Figura 15 abaixo.

Figura 15 - Compostos escuros (melanoidinas) extraídas das diferentes micropartículas após 0 e 42 dias de armazenamento sob 25°C e 35°C. IPSL: isolado proteico de soro do leite; IPSL/M: isolado proteico de soro do leite/maltodextrina; IPSL/GA: isolado proteico de soro do leite/goma arábica; IPSL/IN: isolado proteico de soro do leite/inulina.



Fonte: Dados da autora (2018).

Tabela 8 - Teor de compostos escuros (melanoidinas) (Abs 420 nm) das amostras antes e após o armazenamento a duas diferentes temperaturas por 42 dias.

Tratamento	Temperatura: 25°C	
	Dia 0	Dia 42
IPSL	0,452 ± 0,026 <sup>aB</sup>	0,595 ± 0,043 <sup>aA</sup>
IPSL / M	0,421 ± 0,041 <sup>aB</sup>	0,597 ± 0,094 <sup>aA</sup>
IPSL / GA	0,389 ± 0,023 <sup>aB</sup>	0,529 ± 0,024 <sup>aA</sup>
IPSL / IN	0,397 ± 0,029 <sup>aB</sup>	0,567 ± 0,074 <sup>aA</sup>
Tratamento	Temperatura: 35°C	
	Dia 0	Dia 42
IPSL	0,452 ± 0,026 <sup>aB</sup>	0,604 ± 0,034 <sup>aA</sup>
IPSL / M	0,421 ± 0,041 <sup>aB</sup>	0,582 ± 0,056 <sup>aA</sup>
IPSL / GA	0,389 ± 0,023 <sup>aB</sup>	0,610 ± 0,040 <sup>aA</sup>
IPSL / IN	0,397 ± 0,029 <sup>aB</sup>	0,528 ± 0,073 <sup>aA</sup>

Fonte: Dados da autora (2018).

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na mesma coluna e letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferem significativamente entre si ( $p < 0.05$ ) pelo teste de Tukey. IPSL: isolado proteico de soro do leite; IPSL/M: isolado proteico de soro do leite/maltodextrina; IPSL/GA: isolado proteico de soro do leite/goma arábica; IPSL/IN: isolado proteico de soro do leite/inulina.

A partir dos resultados apresentados, é possível observar um aumento na absorvância dos diferentes tratamentos de micropartículas, após o armazenamento por 42 dias, independente da temperatura de armazenamento. Assim como na retenção de compostos fenólicos, essa elevação de valores pode ser explicada pela formação de melanoidinas de baixo peso molecular, pela presença de carboidratos e proteínas na matriz encapsulante, ao longo do período de armazenamento.

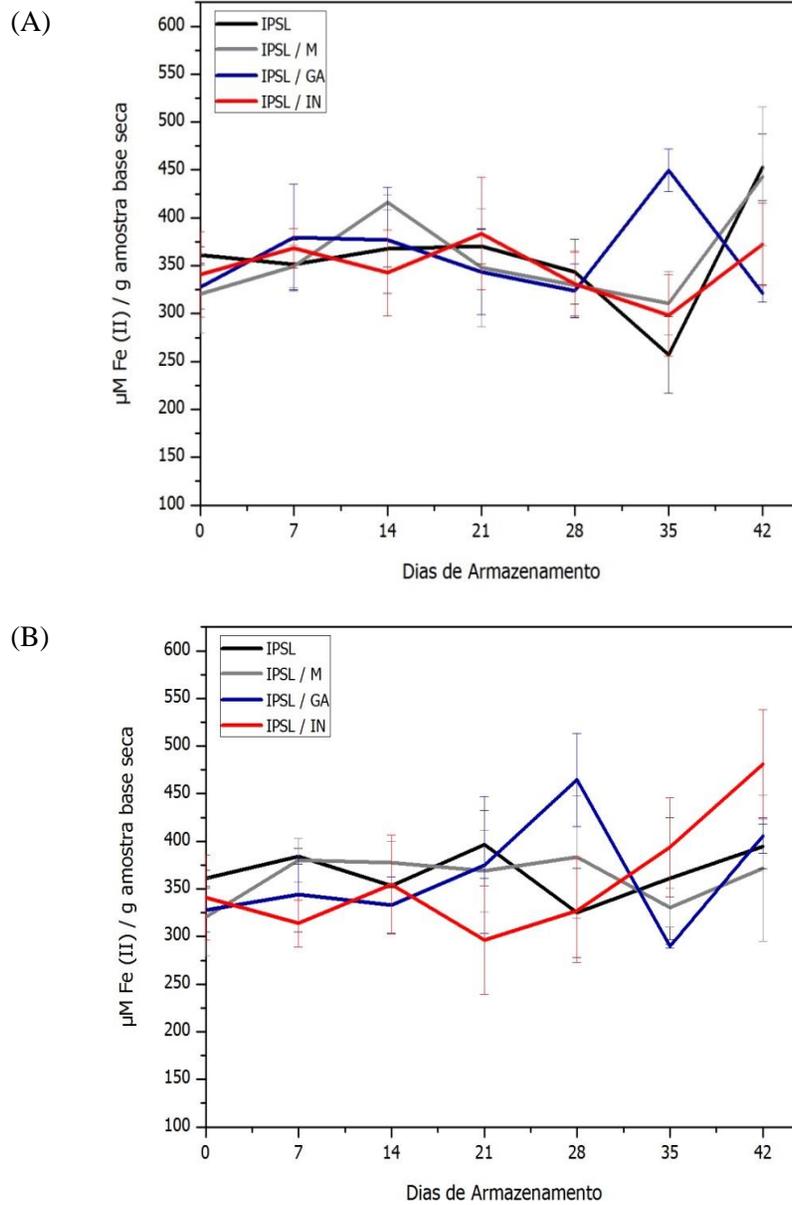
Diversos são os compostos escuros presentes no café e em sua bebida, que incluem os produtos gerados na reação de Maillard, como melanoidinas, formadas, principalmente, no processo de torração. A estrutura exata das

melanoidinas formadas no café ainda é desconhecida, mas trabalhos já permitem uma elucidação parcial de partes de suas estruturas, ressaltando a vasta diversidade (BARTEL; MESIAS; MORALES, 2015; COELHO et al., 2014; PÉREZ-MARTÍNEZ et al., 2010; WANG; QIAN; YAO, 2011). Embora apresentem estrutura química pouco conhecida, representam cerca de 25% do peso seco dos grãos de café torrados, apresentando concentrações relevantes na borra do café, sendo de passível extração. São compostos de grande importância, pois apresentam capacidade de proteção do estresse oxidativo, com comprovada atividade antioxidante (BRAVO et al., 2012; PANUSA et al., 2013).

#### **4.8 Atividade antioxidante**

Com o propósito de avaliar a ação antioxidante das micropartículas produzidas, ao longo do tempo de estocagem, elas foram armazenadas em duas diferentes temperaturas (25°C e 35°C) por 42 dias (6 semanas), tendo a sua atividade antioxidante mensurada por três diferentes métodos (DPPH, ABTS e FRAP), semanalmente. Os valores obtidos encontram-se apresentados nas Figuras 16 a 18.

Figura 16 - Efeito do tempo de armazenamento na atividade antioxidante, determinado pelo método de FRAP, nas micropartículas armazenadas (a) 25°C (b) 35°C.

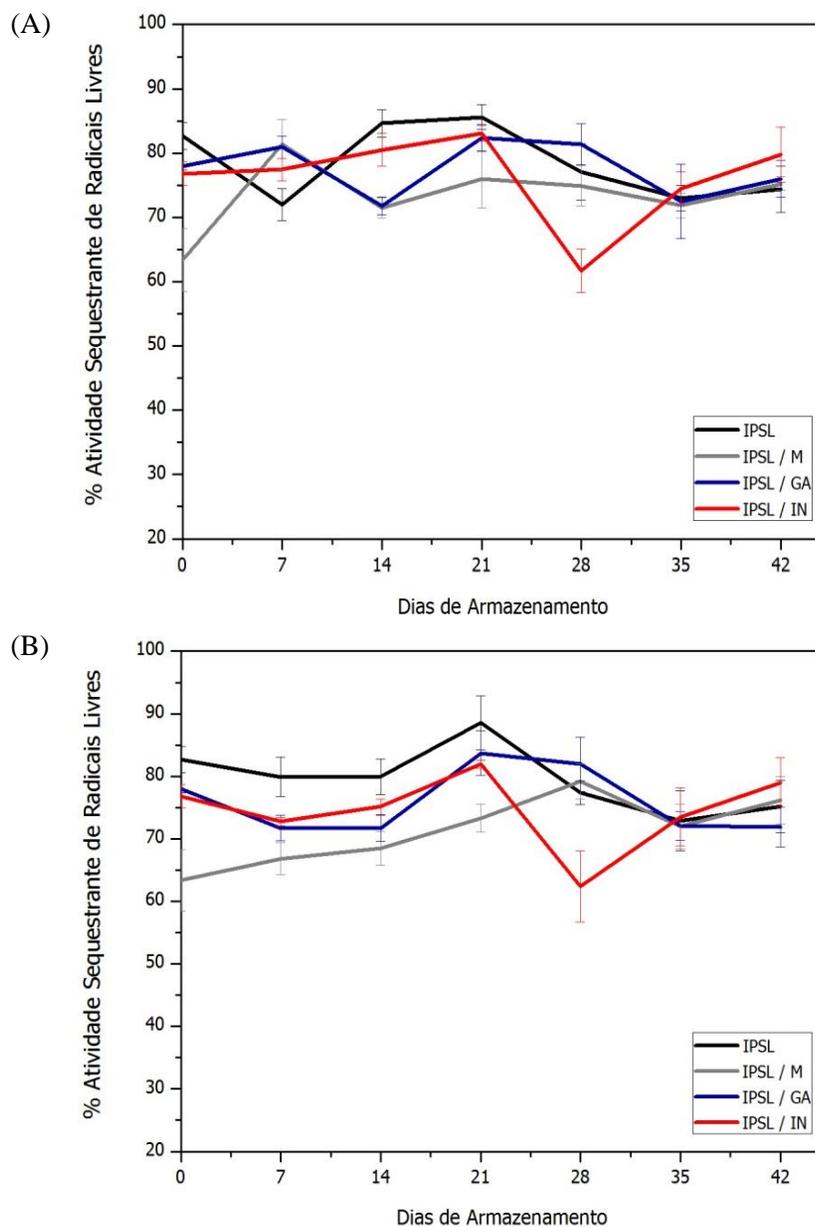


Fonte: Dados da autora (2018).

Os resultados apresentados na Figura 16 demonstram que o material encapsulante, utilizado na produção de micropartículas, influenciou na proteção da sua atividade antioxidante, mensurado pelo método de FRAP. A utilização de IPSL resultou em partículas com maiores valores de redução de ferro (361,19 – 453,04  $\mu\text{M Fe (II)/g}$  base seca), ao longo do tempo de armazenamento, apresentando seu valor potencializado ao final do armazenamento a 25°C. A combinação de IPSL com goma arábica, armazenada sob mesma temperatura, apresentou menor valor final de redução de ferro (321,44  $\mu\text{M Fe (II)/g}$  base seca), além de apresentar maiores oscilações de valores ao longo do período. A utilização de goma arábica, para a retenção de compostos fenólicos da borra de café, também, apresentou menores valores no estudo de Ballesteros et al. (2017). Esse comportamento pode ser explicado, segundo os autores, pelo fato de a eficiência do processo de encapsulação ser altamente dependente da matriz encapsulante selecionada.

Quando avaliada a temperatura de armazenamento de 35°C, nota-se que o maior valor final de poder de redução do ferro de 480,86  $\mu\text{M Fe (II)/g}$  base seca foi obtido para a combinação de IPSL e inulina. Tal valor é consideravelmente maior que o valor inicial apresentado pelo mesmo tratamento (340,99  $\mu\text{M Fe (II)/g}$  base seca). A inulina, por apresentar em sua composição teor relevante de carboidratos, ao ser armazenada em temperaturas abaixo de 50°C, por períodos de tempo prolongados, pode gerar compostos da reação de Maillard de baixo peso molecular, que apresentam forte capacidade redutora, justificando o elevado valor final.

Figura 17 - Efeito do tempo de armazenamento na atividade antioxidante, determinado pelo método de DPPH, nas micropartículas armazenadas (a) 25°C (b) 35°C.

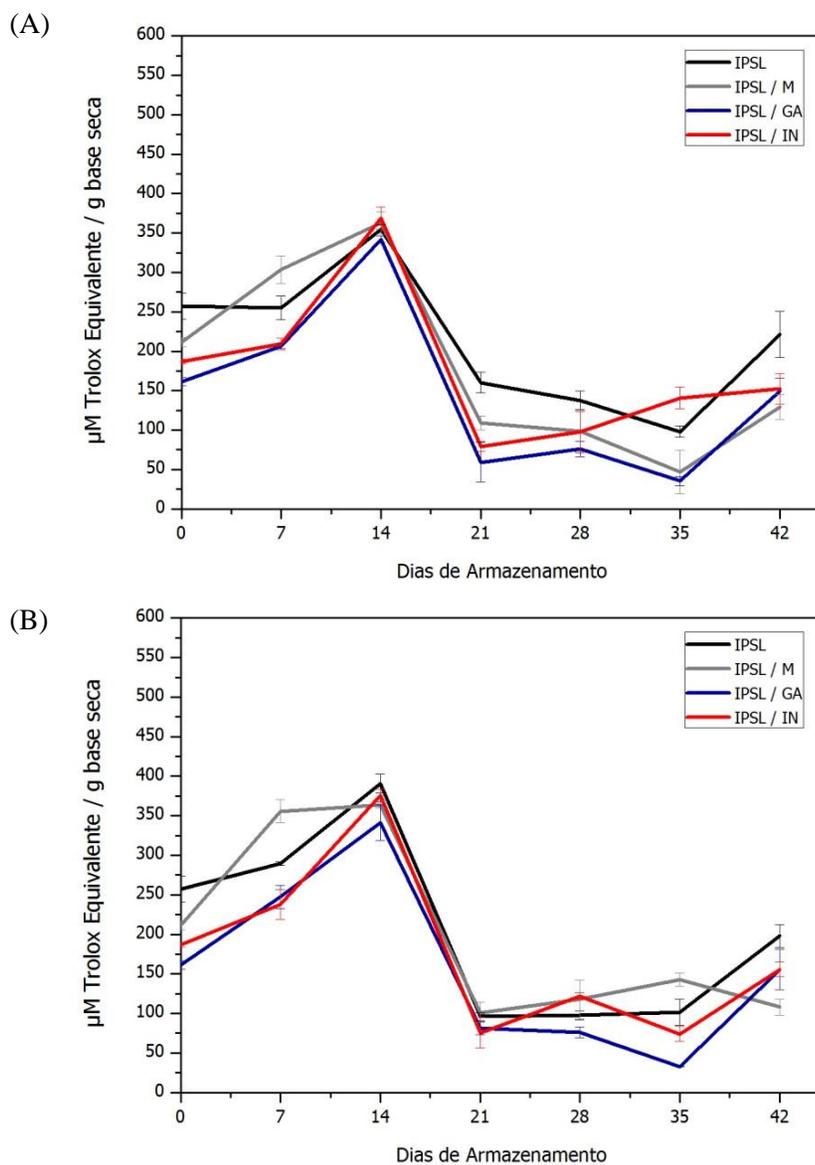


Considerando a capacidade das amostras em sequestrar radicais livres, mensurada pelo método do radical estável DPPH, apesar da aplicação de duas condições diferentes de armazenamento, nota-se que as variações máximas por amostras foram inferiores a 10%, resultando em satisfatória manutenção da atividade antioxidante. A combinação de IPSL com inulina demonstrou maior atividade, após 42 dias de armazenamento, tanto para a temperatura de 25°C como para a de 35°C.

Variações na atividade inibitória do radical DPPH foram observadas, ao longo do armazenamento, assim como em alguns trabalhos da literatura (LÓPEZ-CÓRDOBA et al., 2014; MOSER et al., 2017), tendo tais flutuações atribuídas a possíveis modificações do perfil qualitativo dos compostos fenólicos.

Pinelo et al. (2004) afirmaram que as flutuações na capacidade de sequestrar radicais livres podem ser atribuídas à forte tendência dos compostos polifenólicos a serem submetidos a reações de polimerização, resultando na formação de oligômeros, que possuem maior área para deslocamento de carga. A partir do momento em que o grau de polimerização excede um valor crítico, o aumento da complexidade molecular reduz a disponibilidade de grupos hidroxila, na reação com o radical estável DPPH, resultando na diminuição da capacidade inibidora de radical.

Figura 18 - Efeito do tempo de armazenamento na atividade antioxidante, determinado pelo método de ABTS, nas micropartículas armazenadas (a) 25°C (b) 35°C.



Fonte: Dados da autora (2018).

Conforme observado na Figura 18, as micropartículas produzidas com IPSL, como matriz encapsulante, apresentaram maior valor de inibição do radical ABTS+ ao longo do armazenamento por 42 dias para ambas as temperaturas (25°C e 35°C). De maneira geral, a temperatura de armazenamento não influenciou na atividade antioxidante das micropartículas determinado por ABTS. Observa-se, também, queda na atividade antioxidante mensurada ao longo do período de armazenamento independente da temperatura.

As grandes oscilações, na atividade antioxidante, observadas para ambos os tratamentos, podem ser explicadas pela variação da composição fenólica das amostras ao longo do tempo de armazenamento. Outro importante fator a ser ressaltado é que a atividade antioxidante da amostra é dependente da sensibilidade das moléculas presentes nos mecanismos de quantificação da metodologia requerida. A baixa sensibilidade dos compostos à metodologia acarreta menores valores de atividade mensurada.

O método de determinação da atividade antioxidante total pelo radical ABTS baseia-se na mensuração da capacidade antioxidante de um composto e seus produtos de reação, que podem ter considerável contribuição no resultado final. Tal método é aplicado, para classificar antioxidantes, não apresentando correlação com o número de elétrons que um antioxidante pode doar. Uma das principais limitações do método está no resultado final, que caracteriza apenas a capacidade de determinada amostra reagir com o radical ABTS+ em vez de mensurar a inibição ao processo oxidativo (KARADAG; OZCELIK; SANER, 2009; ROGINSKY; LISSI, 2005). Além disso, o valor da atividade antioxidante total mensurada, para muitos compostos fenólicos, pode levar um tempo maior de reação. Desse modo, baixos valores de atividade antioxidante podem ser obtidos erroneamente, uma vez que as reações podem ser lentas e graduais, podendo ainda não estar finalizadas no momento da determinação (HUANG;

BOXIN; PRIOR, 2005; KARADAG; OZCELIK; SANER, 2009; SCHAICH; TIAN; XIE, 2015).

#### 4.9 Isotermas de adsorção

A construção de isotermas de adsorção permite prever as interações da água com o produto, fornecendo informações relevantes para a escolha do tipo de embalagem e condições de armazenamento (SORMOLI; LANGRISH, 2016). Assim, foram construídas as isotermas de adsorção de umidade, para cada tratamento, tendo os coeficientes estimados e os parâmetros estatísticos utilizados, para avaliar a adequação dos modelos, apresentados na Tabela 9.

Quando considerados o menor valor de desvio relativo médio (E) e o maior valor de coeficiente de determinação ( $R^2$ ), o modelo que melhor se ajustou aos tratamentos foi o de GAB.

Tabela 9 - Valores estimados dos coeficientes e parâmetros estatísticos de ajuste dos modelos de GAB, Smith, Oswin e BET para as micropartículas obtidas com diferentes materiais encapsulantes.

(Continua)

Modelos	Parâmetros	IPSL	IPSL / M	IPSL / GA	IPSL / IN
GAB	Xm	5,598	4,536	6,041	5,498
	C	38,813	29,270	21,155	9,040
	K	0,983	1,010	0,964	1,019
	E (%)	4,501	2,088	1,773	0,119
	$R^2$	0,995	0,997	0,998	0,999
Smith	A	1,599	0,204	1,681	-1,694
	B	-15,301	-14,795	-15,248	-19,654
	E(%)	26,735	28,858	15,616	40,773
	$R^2$	0,973	0,969	0,984	0,975

Tabela 9 - Valores estimados dos coeficientes e parâmetros estatísticos de ajuste dos modelos de GAB, Smith, Oswin e BET para as micropartículas obtidas com diferentes materiais encapsulantes.

(Conclusão)

Modelos	Parâmetros	IPSL	IPSL / M	IPSL / GA	IPSL / IN
Oswin	A	11,388	9,308	11,629	10,143
	B	0,605	0,687	0,587	0,780
	E(%)	13,972	10,858	6,647	5,604
	R <sup>2</sup>	0,986	0,988	0,993	0,996
BET	Xm	5,198	4,784	5,191	6,144
	C	101,061	19,882	85,159	5,455
	E(%)	5,473	2,434	5,467	1,208
	R <sup>2</sup>	0,994	0,997	0,994	0,999

Fonte: Dados da autora (2018).

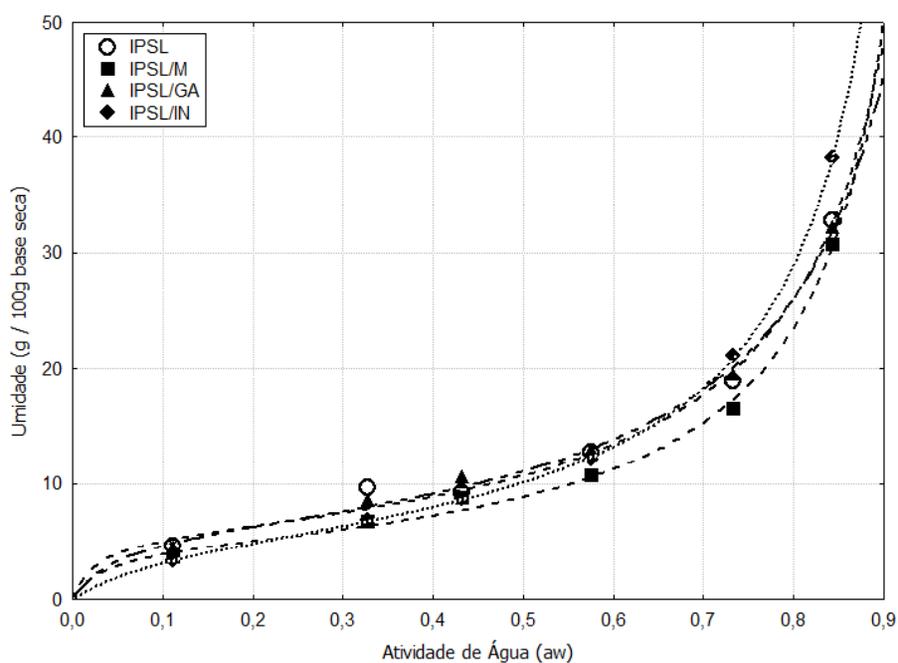
IPSL: Isolado Proteico de Soro do Leite; IPSL/M: Isolado Proteico de Soro do Leite/Maltodextrina; IPSL/GA: Isolado Proteico de Soro do Leite/Goma Arábica; IPSL/IN: Isolado Proteico de Soro do Leite/Inulina; Xm: teor de umidade da monocamada (g.g-1 de material seco); C, K: constantes do modelo relacionadas à monocamada e suas propriedades; a,b: parâmetros de modelo; E: módulo desvio relativo médio; R<sup>2</sup>: coeficiente de determinação.

O teor de umidade da monocamada (Xm) informa a quantidade de água que está diretamente ligada a sítios ativos da superfície e é um importante fator para a correlação da estabilidade de um alimento. Neste estudo, os valores de Xm variaram entre 4,536 a 6,041 (g água. 100 g<sup>-1</sup> pó seco), quando ajustado ao modelo de GAB, sendo o maior valor obtido para a combinação de IPSL e goma arábica. Valores similares de Xm foram reportados para micropartículas contendo extrato de erva mate (4,1 – 5,7 g água. 100 g<sup>-1</sup> pó seco) e micropartículas de chá verde (5,9 g água. 100 g<sup>-1</sup> pó seco) (HARTWIG et al., 2013; LI; TAYLOR; MAUER, 2011).

Observa-se alta absorção de água, para as micropartículas contendo IPSL/IN, principalmente, quando foram submetidas a atividades de água maiores que 0,6 (FIGURA 19). A diminuição da higroscopicidade promovida pela adição de maltodextrina ao IPSL, quando observada na Figura 19, também

reflete em um decréscimo do  $X_m$ . Nesse sistema, tal diminuição no teor de umidade da monocamada é decorrente da maltodextrina, que provoca uma diminuição da superfície exposta a moléculas de água (HARTWIG et al., 2013).

Figura 19 - Isotermas de adsorção ajustadas com o modelo de GAB de micropartículas de extrato da borra de café expresso com diferentes materiais encapsulantes. IPSL: isolado proteico de soro do leite; IPSL/M: isolado proteico de soro do leite/maltodextrina; IPSL/GA: isolado proteico de soro do leite/goma arábica; IPSL/IN: isolado proteico de soro do leite/inulina.

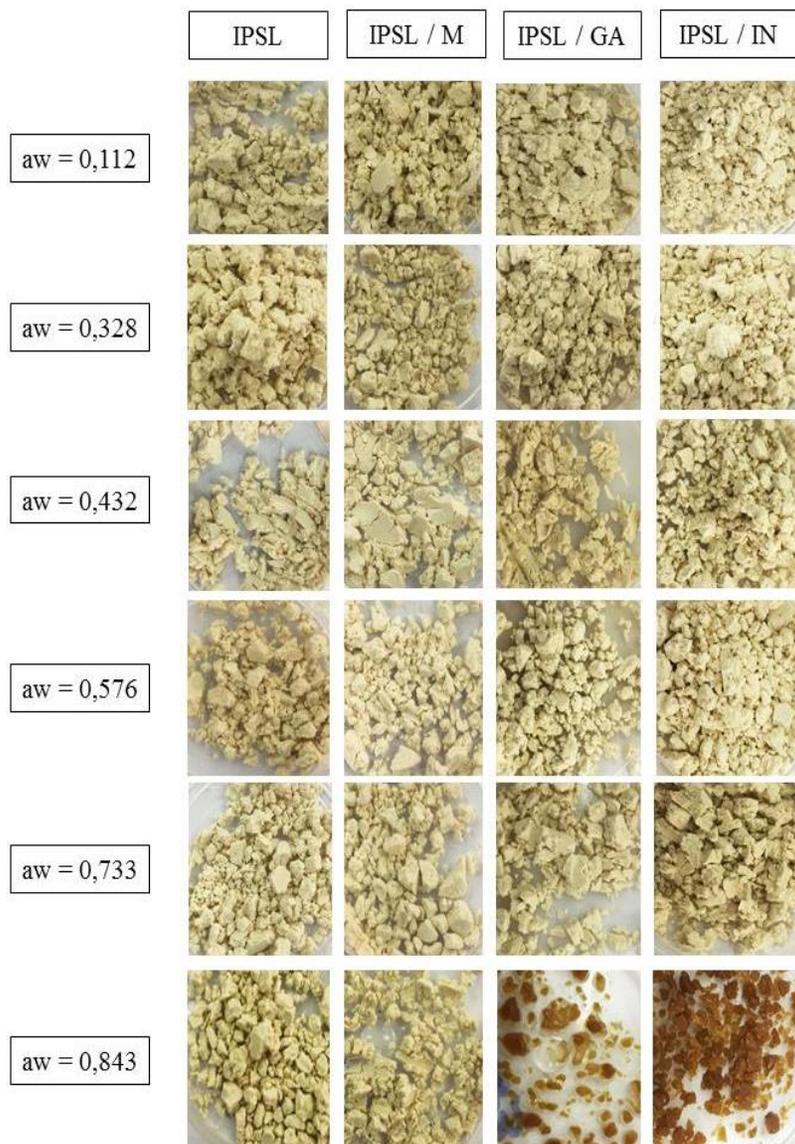


Fonte: Dados da autora (2018).

Visualmente nenhum dos tratamentos apresentou mudança de fase até uma atividade de água de 0,733 a 25°C. A alteração da aparência com início de liquefação foi observado somente para os tratamentos IPSL/GA e IPSL/IN, quando expostos a um ambiente com atividade de água de 0,843, conforme mostrado na Figura 20. É importante que esse fato seja avaliado, visto que a

mudança de fase de uma estrutura vítrea para uma estrutura gomosa ocasiona alterações nas propriedades das micropartículas, diminuindo a proteção dos compostos encapsulados pelo colapso da estrutura (PÉREZ-ALONSO et al., 2006).

Figura 20 - Aspecto físico das micropartículas armazenadas sob diferentes atividades de água (0,112 – 0,843) a 25°C após a determinação das isotermas de sorção. IPSL: isolado proteico de soro do leite; IPSL/M: isolado proteico de soro do leite/maltodextrina; IPSL/GA: isolado proteico de soro do leite/goma arábica; IPSL/IN: isolado proteico de soro do leite/inulina.



Fonte: Da autora (2018).

## 5 CONCLUSÃO

Foi possível a obtenção de extrato aquoso da borra de café expresso com significativas concentrações de compostos polifenólicos e atividade antioxidante.

A microencapsulação se mostrou viável na proteção da atividade antioxidante do extrato. A utilização de isolado proteico de soro do leite (IPSL) foi considerado o material mais eficiente na manutenção da atividade antioxidante mensurada por diferentes métodos.

Alterações estruturais, em função de exposição a altas umidades relativas, foram observadas apenas para os tratamentos com a adição de goma arábica e inulina. As micropartículas obtidas apresentaram características superficiais semelhantes, como a ausência de rachaduras e falhas na superfície, endossando a maior proteção e estabilidade dos compostos bioativos do extrato.

Os encapsulados obtidos carregaram e protegeram quantidades consideráveis de antioxidantes presentes no café, os quais foram extraídos de resíduos do preparo da bebida. Este produto pode ser potencialmente utilizado como ingrediente alimentício ou farmacêutico, permitindo a formulação de produtos inovadores e com aspectos funcionais.



## REFERÊNCIAS

- ABBAS, S. et al. Ascorbic acid: microencapsulation techniques and trends: a review. **Food Reviews International**, New York, v. 28, n. 4, p. 343–374, Feb. 2012.
- ABRAHÃO, S. A. et al. Compostos bioativos e atividade antioxidante do café (Coffea arabica L.). **Ciencia e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 2, p. 414–420, mar./abr. 2010.
- \_\_\_\_\_. Compostos bioativos em café integral e descafeinado e qualidade sensorial da bebida. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 12, p. 1799–1804, dez. 2008.
- AGHBASHLO, M. et al. Energy and exergy analyses of the Spray Drying process of fish oil microencapsulation. **Biosystems Engineering**, London, v. 111, n. 2, p. 229–241, Feb. 2012.
- AGUIAR, J. et al. Design of microparticles containing natural antioxidants: preparation, characterization and controlled release studies. **Powder Technology**, Lausanne, v. 313, p. 287–292, May 2017.
- AGUIAR, J.; ESTEVINHO, B. N.; SANTOS, L. Microencapsulation of natural antioxidants for food application - The specific case of coffee antioxidants - A review. **Trends in Food Science and Technology**, Cambridge, v. 58, p. 21–39, Dec. 2016.
- AL-DHABI, N. A.; PONMURUGAN, K.; JEGANATHAN, P. M. Development and validation of ultrasound-assisted solid-liquid extraction of phenolic compounds from waste spent coffee grounds. **Ultrasonics Sonochemistry**, Oxford, v. 34, p. 206–213, Jan. 2017.
- ALVES, C. Q. et al. Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 10, p. 2202–2210, 2010a.
- ALVES, R. C. et al. Antiradical activity, phenolics profile, and hydroxymethylfurfural in espresso coffee: Influence of technological factors. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 58, n. 23, p. 12221–12229, Dec. 2010b.

ANDUEZA, S. et al. Influence of coffee/water ratio on the final quality of espresso coffee. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 87, n. 4, p. 586–592, Mar. 2007.

ARDEKANI, R. S. The spatiality of specialty coffee bars and the cognitive-cultural economy in Amsterdam. **Cogent Social Sciences**, Abingdon, v. 2, n. 1, p. 1–19, Jan. 2016.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE CAFÉ - ABIC. **Estatísticas**. Rio de Janeiro: ABIC, 2014. Disponível em: <<http://www.abic.com.br/estatisticas/>>. Acesso em: 10 nov. 2017.

AZEREDO, H. M. C. de. Drying technology. **Trends in Food Science and Technology**, Cambridge, v. 31, p. 138–155, Nov. 2013.

BABBAR, N. et al. Total phenolic content and antioxidant capacity of extracts obtained from six important fruit residues. **Food Research International**, Barking, v. 44, n. 1, p. 391–396, Jan. 2011.

BAE, E. K.; LEE, S. J. Microencapsulation of avocado oil by Spray Drying using whey protein and maltodextrin. **Journal of Microencapsulation**, London, v. 25, n. 8, p. 549–560, Dec. 2008.

BAGHERI, L. et al. Spray-dried alginate microparticles carrying caffeine-loaded and potentially bioactive nanoparticles. **Food Research International**, Barking, v. 62, p. 1113–1119, Aug. 2014.

BAKOWSKA-BARCZAK, A. M.; KOŁODZIEJCZYK, P. P. Black currant polyphenols: their storage stability and microencapsulation. **Industrial Crops and Products**, Baltimore, v. 34, n. 2, p. 1301–1309, Sept. 2011.

BALLESTEROS, L. F. et al. Encapsulation of antioxidant phenolic compounds extracted from spent coffee grounds by freeze-drying and spray-drying using different coating materials. **Food Chemistry**, London, v. 237, p. 623–631, Dec. 2017.

BARRETO, A. R. et al. Materiais de revestimento utilizados na microencapsulação de probióticos Coating materials used in the microencapsulation of probiotics. **Ciência e Natura**, Santa Maria, v. 37, nesp., p. 164–174, dez. 2015.

BARTEL, C.; MESIAS, M.; MORALES, F. J. Investigation on the extractability of melanoidins in portioned espresso coffee. **Food Research International**, Barking, v. 67, p. 356–365, Jan. 2015.

BASTOS, S. et al. Microencapsulation of cashew apple (*Anacardium occidentale*, L.) juice using a new chitosan – commercial bovine whey protein isolate system in Spray Drying. **Food and Bioproducts Processing**, Rugby, v. 90, n. 4, p. 683–692, Oct. 2012.

BELŠČAK-CVITANOVIĆ, A. et al. Efficiency assessment of natural biopolymers as encapsulants of Green Tea (*Camellia sinensis* L.) bioactive compounds by Spray Drying. **Food and Bioprocess Technology**, New York, v. 8, n. 12, p. 2444–2460, Dec. 2015.

BERTRAND, B. et al. Impact of the  *Coffea canephora* gene introgression on beverage quality of *C. Arabica*. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 107, n. 3, p. 387–394, Aug. 2003.

BHUSARI, S. N.; MUZAFFAR, K.; KUMAR, P. Effect of carrier agents on physical and microstructural properties of spray dried tamarind pulp powder. **Powder Technology**, Lausanne, v. 266, p. 354–364, Nov. 2014.

BIANCHI, M. D. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 12, n. 2, p. 123–130, maio/ago. 1999.

BOTREL, D. A. et al. Influence of wall matrix systems on the properties of spray-dried microparticles containing fish oil. **Food Research International**, Barking, v. 62, p. 344–352, Aug. 2014.

BRAVO, J. et al. Antioxidant and genoprotective effects of spent coffee extracts in human cells. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 60, p. 397–403, Oct. 2013a.

\_\_\_\_\_. Evaluation of spent coffee obtained from the most common coffeemakers as a source of hydrophilic bioactive compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 60, n. 51, p. 12565–12573, Dec. 2012.

\_\_\_\_\_. Influence of extraction process on antioxidant capacity of spent coffee. **Food Research International**, Barking, v. 50, n. 2, p. 610–616, Mar. 2013b.

BREZOVÁ, V.; ŠLEBODOVÁ, A.; STAŠKO, A. Coffee as a source of antioxidants: an EPR study. **Food Chemistry**, London, v. 114, n. 3, p. 859–868, June 2009.

CAPRIOLI, G. et al. Quantification of caffeine, trigonelline and nicotinic acid in espresso coffee: the influence of espresso machines and coffee cultivars. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, Basingstoke, v. 65, n. 4, p. 465–469, June 2014.

\_\_\_\_\_. The influence of different types of preparation (espresso and brew) on coffee aroma and main bioactive constituents the influence of different types of preparation (espresso and brew). **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, Basingstoke, v. 7486, n.5, p. 505–513, 2015.

CARNEIRO, H. C. F. et al. Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by Spray Drying using different combinations of wall materials. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 115, n. 4, p. 443–451, Apr. 2013.

CHOI, K. et al. Spray-dried conjugated linoleic acid encapsulated with maillard reaction products of whey proteins and maltodextrin. **Food and Bioprocess Technology**, New York, v. 19, n. 4, p. 957–965, Aug. 2010.

COELHO, C. et al. Nature of phenolic compounds in coffee melanoidins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 62, n. 31, p. 7843–7853, Aug. 2014.

CRUZ, R. et al. Espresso coffee residues: a valuable source of unextracted compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 60, n. 32, p. 7777–7784, Aug. 2012.

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 5, n. 1, p. 33–40, jan./jun. 2004.

DELADINO, L. et al. Encapsulation of natural antioxidants extracted from *Ilex paraguariensis*. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 71, n. 1, p. 126–134, Jan. 2008.

DELGADO-POVEDANO, M. M.; CASTRO, M. D. L. de. Ultrasound-assisted extraction and in situ derivatization. **Journal of Chromatography. A.**, Amsterdam, v. 1296, p. 226–234, June 2013.

DESAI, K. G. H.; PARK, H. J. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. **Drying Technology**, New York, v. 23, n. 7, p. 1361-1394, 2005.

DOHERTY, S. B. et al. Survival of entrapped *Lactobacillus rhamnosus* GG in whey protein micro-beads during simulated ex vivo gastro-intestinal transit. **International Dairy Journal**, Barking, v. 22, n. 1, p. 31-43, Jan. 2012.

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**, London, v. 118, n. 3, p. 851-855, Feb. 2010.

EDRIS, A. E. et al. Microencapsulation of *Nigella sativa* oleoresin by Spray Drying for food and nutraceutical applications. **Food Chemistry**, London, v. 204, p. 326-333, Aug. 2016.

ERSUS, S.; YURDAGEL, U. Microencapsulation of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucus carota* L.) by spray drier. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 80, n. 3, p. 805-812, June 2007.

ESQUIVEL, P.; JIMÉNEZ, V. M. Functional properties of coffee and coffee by-products. **Food Research International**, Barking, v. 46, n. 2, p. 488-495, May 2012.

ESTEVINHO, B. N. et al. Using water-soluble chitosan for flavour microencapsulation in food industry. **Journal of Microencapsulation**, London, v. 30, n. 6, p. 571-9, 2013.

EZHILARASI, P. N. et al. Freeze drying technique for microencapsulation of *Garcinia* fruit extract and its effect on bread quality. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 117, n. 4, p. 513-520, Aug. 2013.

FARAH, A.; DONANGELO, C. M. Phenolic compounds in coffee. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 18, n. 1, p. 23-36, jan./mar. 2006.

FARAH, A. et al. Correlation between cup quality and chemical attributes of Brazilian coffee. **Food Chemistry**, London, v. 98, n. 2, p. 373-380, 2006.

FERNANDES, R. V. D. B. et al. Microencapsulation of rosemary essential oil: characterization of particles. **Drying Technology**, New York, v. 31, n. 11, p. 1245-1254, Aug. 2013.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia** Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, nov./dez. 2011.

GALANO, A. et al. Food antioxidants: chemical insights at the molecular level. **Annual Review of Food Science and Technology**, Palo Alto, v. 7, p. 335–352, 2016.

GARCÍA, L. R. P.; DEL BIANCHI, V. L. Antioxidant capacity in coffee industry residues. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 18, n. 4, p. 307–313, out./dez. 2015.

GHARSALLAOUI, A. et al. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: an overview. **Food Research International**, Barking, v. 40, n. 9, p. 1107–1121, Nov. 2007.

GONÇALVES, B. et al. Microencapsulation of a natural antioxidant from coffee - chlorogenic acid (3-caffeoylquinic acid). **Food and Bioprocess Technology**, New York, v. 10, n. 8, p. 1521-1530, Aug. 2017.

GÜLÇİN, I. Antioxidant activity of food constituents: an overview. **Archives of Toxicology**, Berlin, v. 86, n. 3, p. 345–391, Mar. 2012.

HARTWIG, V. G. et al. Effects of Spray Drying conditions on the stability and antioxidant properties of spray-dried soluble maté. **International Journal of Food Engineering**, Oxford, v. 10, n. 1, p. 131–138, 2013.

HEČIMOVIĆ, I. et al. Comparative study of polyphenols and caffeine in different coffee varieties affected by the degree of roasting. **Food Chemistry**, London, v. 129, n. 3, p. 991–1000, Dec. 2011.

HUANG, D.; BOXIN, O. U.; PRIOR, R. L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 53, n. 6, p. 1841–1856, Mar. 2005.

HUANG, K. et al. The effect of Spray Drying on sucrose-glycine caramel powder preparation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 96, n. 7, p. 2319–2327, May 2016.

HUNDRE, S. Y.; KARTHIK, P.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C. Effect of whey protein isolate and  $\beta$ -cyclodextrin wall systems on stability of microencapsulated vanillin by spray – freeze drying method. **Food Chemistry**, London, v. 174, p. 16–24, 2015.

ILLY, A.; VIANI, R. **Espresso coffee: the chemistry of quality**. San Diego: CRC Press, 1995. 253 p.

INTERNACIONAL COFFEE ORGANIZATION - ICO. **The current state of the global coffee trade**. London: ICO, 2017. Disponível em: <[http://www.ico.org/monthly\\_coffee\\_trade\\_stats.asp](http://www.ico.org/monthly_coffee_trade_stats.asp)>. Acesso em: 12 dez. 2017.

JAFARI, Y.; SABAHI, H.; RAHAIE, M. Stability and loading properties of curcumin encapsulated in *Chlorella vulgaris*. **Food Chemistry**, London, v. 211, p. 700–706, Nov. 2016.

JANISZEWSKA-TURAK, E. et al. The influence of carrier material on some physical and structural properties of carrot juice microcapsules. **Food Chemistry**, London, v. 236, p. 134–141, Dec. 2017.

JESZKA-SKOWRON, M. et al. Chlorogenic acids, caffeine content and antioxidant properties of green coffee extracts: influence of green coffee bean preparation. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 242, n. 8, p. 1403–1409, Aug. 2016.

JINAPONG, N.; SUPHANTHARIKA, M.; JAMNONG, P. Production of instant soymilk powders by ultrafiltration, Spray Drying and fluidized bed agglomeration. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 84, n. 2, p. 194–205, Jan. 2008.

JYOTHI, N. V. N. et al. Microencapsulation techniques, factors influencing encapsulation efficiency. **Journal of microencapsulation**, London, v. 27, n. 3, p. 187–197, May 2010.

KAJIYAMA, T.; PARK, K. J. Influence of feed parameters on Spray Drying energy consumption. **Journal of Food Process Engineering**, Westport, v. 34, n. 2, p. 414–426, Apr. 2011.

KANDANSAMY, K.; SOMASUNDARAM, P. D. Microencapsulation of colors by Spray Drying—a review. **International Journal of Food Engineering**, Oxford, v. 8, n. 2, p. 1–15, May 2012.

KARADAG, A.; OZCELIK, B.; SANER, S. Review of methods to determine antioxidant capacities. **Food Analytical Methods**, London, v. 2, n. 1, p. 41–60, Mar. 2009.

KUCK, L. S.; NORENA, C. P. Z. Microencapsulation of grape (*Vitis labrusca* var. Bordo) skin phenolic extract using gum Arabic, polydextrose, and partially hydrolyzed guar gum as encapsulating agents. **Food Chemistry**, London, v. 194, p. 569–576, Mar. 2016.

LEE, S. J.; ROSENBERG, M. Microencapsulation of theophylline in whey proteins: effects of core-to - wall ratio. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 205, n. 1/2, p. 147–158, Sept. 2000.

LIANG, N. et al. Interactions between major chlorogenic acid isomers and chemical changes in coffee brew that affect antioxidant activities. **Food Chemistry**, London, v. 213, p. 251–259, Dec. 2016.

LI, N.; TAYLOR, L. S.; MAUER, L. J. Degradation kinetics of catechins in green tea powder: effects of temperature and relative humidity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 59, n. 11, p. 6082–6090, June 2011.

LIMA, A. R. et al. Compostos bioativos do café: atividade antioxidante in vitro do café verde e torrado antes e após a descafeinação. **Quimica Nova**, São Paulo, v. 33, n. 1, p. 20–24, 2010.

LIU, W. et al. On enhancing the solubility of curcumin by microencapsulation in whey protein isolate via Spray Drying. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 169, p. 189–195, Jan. 2016.

LÓPEZ-CÓRDOBA, A. et al. Yerba mate antioxidant powders obtained by co-crystallization: stability during storage. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 124, p. 158–165, Mar. 2014.

LUDWIG, I. A. et al. Extraction of coffee antioxidants: impact of brewing time and method. **Food Research International**, Barking, v. 48, n. 1, p. 57–64, Aug. 2012.

MAHDAVI, S. A. et al. Microencapsulation optimization of natural anthocyanins with maltodextrin, gum Arabic and gelatin. **International Journal of Biological Macromolecules**, Guildford, v. 85, p. 379–385, Apr. 2016.

MARCUCCI, C. T. et al. Teores de trigonelina, ácido 5-cafeoilquínico, cafeína e melanoidinas em cafés solúveis comerciais Brasileiros. **Quimica Nova**, São Paulo, v. 36, n. 4, p. 544–548, 2013.

- MCLAUGHLIN, C. P.; MAGEE, T. R. A. The determination of sorption isotherm and the isosteric heats of sorption for potatoes. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 35, n. 3, p. 267–280, Feb. 1998.
- MELLO, D.; KUNZLER, D. K.; FARAH, M. A cafeína e seu efeito ergogênico. **Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**, São Paulo, v. 1, n. 2, p. 30-37, mar./abr. 2007.
- MENSOR, L. L. et al. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytotherapy Research**, London, v. 15, n. 1, p. 27-30, Jan. 2001.
- MORAIS, S. L. M. et al. Análise de compostos bioativos, grupos ácidos e da atividade antioxidante do café arábica (*Coffea arabica*) do cerrado e de seus grãos defeituosos (PVA) submetidos a diferentes torras. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, p. 198-207, dez. 2008.
- MOREIRA, I. et al. Efeito do solvente na extração de ácidos clorogênicos, cafeína e trigonelina em *Coffea arabica*. **Química Nova**, São Paulo, v. 37, n. 1, p. 39-43, 2014.
- MOSER, P. et al. Storage stability of phenolic compounds in powdered BRS Violeta grape juice microencapsulated with protein and maltodextrin blends. **Food Chemistry**, London, v. 214, p. 308–318, Jan. 2017.
- MUSSATTO, S. I. et al. A study on chemical constituents and sugars extraction from spent coffee grounds. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 83, n. 2, p. 368–374, Jan. 2011b.
- \_\_\_\_\_. Extraction of antioxidant phenolic compounds from spent coffee grounds. **Separation and Purification Technology**, Amsterdam, v. 83, p. 173–179, Nov. 2011a.
- NAIDU, M. M. et al. Studies on extraction and antioxidant potential of green coffee. **Food Chemistry**, London, v. 107, n. 1, p. 377–384, Mar. 2008.
- NENADIS, N. et al. Estimation of scavenging activity of phenolic compounds using the ABTS<sup>•+</sup> assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, n. 15, p. 4669–4674, July 2004.

NESTERENKO, A. et al. Vegetable proteins in microencapsulation: a review of recent interventions and their effectiveness. **Industrial Crops and Products**, Baltimore, v. 42, p. 469–479, Mar. 2013.

PANG, S. F.; YUSOFF, M. M.; GIMBUN, J. Assessment of phenolic compounds stability and retention during Spray Drying of Orthosiphon stamineus extracts. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 37, p. 159–165, June 2014.

PANUSA, A. et al. Recovery of natural antioxidants from spent coffee grounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 61, n. 17, p. 4162–4168, May 2013.

PASRIJA, D. et al. Microencapsulation of green tea polyphenols and its effect on incorporated bread quality. **LWT - Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 64, n. 1, p. 289–296, Nov. 2015.

PAULO, E. M.; ASSIS, S. A.; SANTOS, V. L. C. S. Polímeros constituídos por carboidratos utilizados no processo de microencapsulação de bactérias: uma revisão. **Sitientibus. Série Ciências biológicas**, Feira de Santana, v. 9, n. 4, p. 185-191, 2009.

PEREIRA, A. L. F.; VIDAL, T. F.; CONSTANT, P. B. L. Dietary antioxidants: chemical and biological importance. **Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**, São Paulo, v. 34, n. 3, p. 231–247, dez. 2009.

PÉREZ-ALONSO, C. et al. Thermodynamic analysis of the sorption isotherms of pure and blended carbohydrate polymers. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 77, n. 4, p. 753–760, Dec. 2006.

PÉREZ-HERNÁNDEZ, L. M. et al. Phenolic characterization, melanoidins, and antioxidant activity of some commercial coffees from *Coffea arabica* and *Coffea canephora*. **Journal of the Mexican Chemical Society**, México, v. 56, n. 4, p. 430–435, 2012.

PÉREZ-MARTÍNEZ, M. et al. Influence of brewing method and acidity regulators on the antioxidant capacity of coffee brews. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 58, n. 5, p. 2958–2965, Mar. 2010.

PERRONE, D. et al. Comprehensive analysis of major and minor chlorogenic acids and lactones in economically relevant Brazilian coffee cultivars. **Food Chemistry**, London, v. 106, n. 2, p. 859–867, Jan. 2008.

PETROVSKY, N. Inulin - a versatile polysaccharide: use as food chemical and pharmaceutical agent. **Journal of Excipients and Food Chemicals**, Mansfield, v. 1, n. 3, p. 27–50, Dec. 2010.

PINELO, M. et al. Interaction among Phenols in food fortification: negative synergism on antioxidant capacity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, n. 5, p. 1177–1180, Mar. 2004.

PIZARRO, C. Plasma lipidomic profiling method based on ultrasound extraction and liquid chromatography mass spectrometry. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 85, n. 24, p. 12085–12092, Dec. 2013.

PRAKASH, A.; JOSEPH, M.; MANGINO, M. E. The effects of added proteins on the functionality of gum arabic in soft drink emulsion systems. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 4, n. 3, p. 177–184, Sept. 1990.

RAJABI, H. et al. Retention of saffron bioactive components by Spray Drying encapsulation using maltodextrin, gum Arabic and gelatin as wall materials. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 51, p. 327–337, Oct. 2015.

RAMALAKSHMI, K. et al. Bioactivities of low-grade green coffee and spent coffee in different in vitro model systems. **Food Chemistry**, London, v. 115, n. 1, p. 79–85, July 2009.

RATANASIRIWAT, P.; WORAWATTANAMATEEKUL, W.; KLAYPRADIT, W. Properties of encapsulated wasabi flavour and its application in canned food. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 48, n. 4, p. 749–757, Apr. 2013.

ROBERFROID, M. Inulin-type fructans: functional food ingredients. **Nutrition and Cancer**, Boca Raton, n. 5, p. 366, 2005.

ROBERT, P. et al. Encapsulation of polyphenols and anthocyanins from pomegranate (*Punica granatum*) by Spray Drying. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 45, n. 7, p. 1386–1394, July 2010.

ROGINSKY, V.; LISSI, E. A. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. **Food Chemistry**, London, v. 92, n. 2, p. 235–254, Sept. 2005.

RUFINO, M. do S. M. et al. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP).

**Comunicado Técnico**, Fortaleza, n. 125, p. 1–4, dez. 2006.

SAÉNZ, C. et al. Microencapsulation by Spray Drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*). **Food Chemistry**, London, v. 114, n. 2, p. 616–622, May 2009.

SALAMANCA, C. A. et al. Extraction of espresso coffee by using gradient of temperature. Effect on physicochemical and sensorial characteristics of espresso. **Food Chemistry**, London, v. 214, p. 622–630, Jan. 2017.

SAMPAIO, J. B. R.; SPINOLA, A. C. **O consumo do café expresso no Brasil**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2000. 14 p.

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

SCHAICH, K. M.; TIAN, X.; XIE, J. Reprint of “Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant efficacy: a critical evaluation of ABTS, DPPH, and ORAC assays”. **Journal of Functional Foods**, Amsterdam, v. 18, p. 782–796, Oct. 2015.

SEVERINI, C.; DEROSI, A.; FIORE, A. G. Ultrasound-assisted extraction to improve the recovery of phenols and antioxidants from spent espresso coffee ground: a study by response surface methodology and desirability approach. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 243, n. 5, p. 835–847, May 2017.

SHANG, Y.-F. et al. Antioxidative polyphenolics obtained from spent coffee grounds by pressurized liquid extraction. **South African Journal of Botany**, Pretoria, v. 109, p. 75–80, Mar. 2017.

SHISHIR, M. R. I.; CHEN, W. Trends of Spray Drying: a critical review on drying of fruit and vegetable juices. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 65, p. 49–67, May 2017.

SILVA, M. C. et al. Caracterização química e sensorial de cafés da Chapada de Minas, visando determinar a qualidade final do café de alguns municípios produtores. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, nesp., p. 1782–1787, 2009.

SILVA, V. M.; VIEIRA, G. S.; HUBINGER, M. D. Influence of different combinations of wall materials and homogenisation pressure on the microencapsulation of green coffee oil by Spray Drying. **Food Research International**, Barking, v. 61, p. 132–143, July 2014.

SIMON-BROWN, K. et al. Microencapsulation of ginger (*Zingiber officinale*) extract by Spray Drying technology. **LWT - Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 70, p. 119–125, July 2016.

SIVETZ, M.; DESROISIER, N. W. Physical and chemical aspects of coffee. **Coffee Technology**, Wetspor, p. 527-575, 1979.

SORMOLI, M. E.; LANGRISH, T. A. G. Spray Drying bioactive orange-peel extracts produced by Soxhlet extraction: use of WPI, antioxidant activity and moisture sorption isotherms. **LWT - Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 72, p. 1–8, Oct. 2016.

SOUSA, C. M. D. M. et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 351–355, mar./abr. 2007.

SUAVE, J. et al. Microencapsulação: inovação em diferentes áreas. **Revista Saúde e Ambiente**, Joinville, v. 7, n. 2, p. 12-20, dez. 2006.

SUCUPIRA, N. R. et al. Métodos para determinação da atividade antioxidante de frutos. **UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 14, n. 4, p. 263–269, 2014.

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**, São Paulo, v. 29, n. 5, p. 965–971, set./out. 2006.

TOLEDO, P. R. A. B. et al. Relationship between the different aspects related to coffee quality and their volatile compounds. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Chicago, v. 15, n. 4, p. 705–719, July 2016.

TONON, R. V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray-dried açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) juice produced with different carrier agents. **Food Research International**, Barking, v. 43, n. 3, p. 907–914, Apr. 2010.

TRUGO, L. C.; MARIA, C. A. B. de; WERNECK, C. C. Simultaneous determination of total chlorogenic acid, trigonelline and caffeine in green coffee samples by high performance gel filtration chromatography. **Food Chemistry**, London, v. 52, n. 4, p. 81–87, 1991.

UEKANE, T. M. et al. Sulfur aroma compounds in gum Arabic/maltodextrin microparticles. **LWT - Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 70, p. 342–348, July 2016.

VALENZUELA, A.; NIETO, S. Synthetic and natural antioxidants: food quality protectors. **Grasas y Aceites**, Sevilla, v. 47, n. 3, p. 186–196, June 1996.

VIGNOLI, J. A.; BASSOLI, D. G.; BENASSI, M. T. Antioxidant activity, polyphenols, caffeine and melanoidins in soluble coffee: the influence of processing conditions and raw material. **Food Chemistry**, London, v. 124, n. 3, p. 863–868, Feb. 2011.

VILLELA-CASTREJÓN, J.; ACOSTA-ESTRADA, B. A.; GUTIÉRREZ-URIBE, J. A. Microencapsulation of Corn Wastewater (Nejayote) phytochemicals by Spray Drying and their release under simulated gastrointestinal digestion. **Journal of Food Science**, Champaign, v. 82, n. 7, p. 1726–1734, July 2017.

WANG, H. Y.; QIAN, H.; YAO, W. R. Melanoidins produced by the Maillard reaction: structure and biological activity. **Food Chemistry**, London, v. 128, n. 3, p. 573–584, Oct. 2011.

WANG, W.; JIANG, Y.; ZHOU, W. Characteristics of soy sauce powders spray-dried using dairy whey proteins and maltodextrins as drying aids. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 119, n. 4, p. 724–730, Dec. 2013.

WOJTOWICZ, E.; KRUPSKA, A.; ZAWIRSKA-WOJTASIAK, R. Antioxidant activity and free radicals of roasted herbal materials. **Herba Polonica**, Poznan, v. 63, n. 2, p. 34–41, 2017.

WOLSKA, J. et al. Levels of antioxidant activity and fluoride content in coffee infusions of arabica, robusta and green coffee beans in according to their brewing methods. **Biological Trace Element Research**, London, v. 179, n. 2, p. 327–333, Oct. 2017.

XU, H. et al. Antioxidative phenolics obtained from spent coffee grounds (*Coffea arabica* L.) by subcritical water extraction. **Industrial Crops and Products**, Baltimore, v. 76, p. 946–954, Dec. 2015.

ZANIN, R. C. et al. Good cup quality roasted coffees show wide variation in chlorogenic acids content. **LWT - Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 74, p. 480–483, Dec. 2016.

ZHANG, Y.; ZHONG, Q. Binding between bixin and whey protein at pH 7.4 studied by spectroscopy and isothermal titration calorimetry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 60, n. 7, p. 1880–1886, Feb. 2012.

ZILBERBOIM, R.; KOPELMAN, I. J.; TALMON, Y. Microencapsulation by a dehydrating liquid: a microstructural study by scanning electron microscopy. **Journal of Food Science**, Champaign, v. 51, n. 5, p. 1307-1310, Sept. 1986.



**ANEXO A - ESTUDOS SOBRE EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS E QUANTIFICAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO CAFÉ E DERIVADOS**

<b>Amostra</b>	<b>Tipo de Extração</b>	<b>Solvente Utilizado</b>	<b>Resultados Obtidos</b>	<b>Referências</b>
<b>Café Verde</b>	Extração Sólido-Líquido	Água Destilada	Obtenção de extratos com teor de fenólicos totais para o café arábica do Brasil na faixa de $191 \pm 17$ g GAE/kg base seca). O extrato do café verde do Vietnã apresentou maiores valores de atividade antioxidante.	(JESZKA-SKOWRON et al., 2016)
<b>Café Verde</b>	Extração Sólido-Líquido	Isopropanol e Água	Obtenção de extratos com teores de compostos fenólicos na faixa de 22 – 32 % e teores de ácidos clorogênicos entre 20 – 30%. Extratos com comprovada atividade antioxidante pelo método de DPPH (40 – 95%).	(MADHAVA NAIDU et al., 2008)
<b>Café Arábica Verde e Torrado</b>	Extração Sólido-Líquido	Água Destilada	Resultados obtidos para o café verde aprontam teores de 7 – 9% de ácidos clorogênicos em base seca. Para o café torrado, teores de ácidos clorogênicos entre 2 – 4 % em base seca.	(TRUGO; DE MARIA; WERNECK, 1991)
<b>Café Verde e Café Torrado</b>	Extração Soxhlet	Éter de Petróleo e Metanol	Extratos de café verde com teor de ácido 5-cafeioquinico de $3,36 \pm 0,02$ g/100g base seca. Extratos de café torrado com teor de ácido 5-cafeioquinico de $0,17 \pm 0,03$ g/100g base seca.	(COELHO et al., 2014)
<b>Café Arábica e Robusta</b>	Diferentes preparos da bebida	Água	A atividade antioxidante pelo método de DPPH das diferentes infusões variou entre 71 – 83%. A bebida preparada com café arábica pelo método expresso obteve uma atividade de 81%.	(WOLSKA et al., 2017)
<b>Café Arábica</b>	Extração Sólido-	Água	Teor de fenólicos totais igual a $41,52 \pm 0,12$	(PÉREZ-HERNÁNDEZ

<b>Amostra</b>	<b>Tipo de Extração</b>	<b>Solvente Utilizado</b>	<b>Resultados Obtidos</b>	<b>Referências</b>
<b>Torrado</b>	Líquido otimizada com ultrassom	Destilada	mg/g bs; atividade antioxidante por ABTS equivalente a $202,68 \pm 13,02$ $\mu\text{mol Trolox/g}$ e teor de ácidos clorogênicos de $11,31 \pm 0,29$ mg/g amostra.	et al., 2012)
<b>Café Torrado</b>	Extração Sólido-Líquido	Água Destilada	Quantificação de 5 – ACQ equivalente a 6 – 17 mg CQA/g; atividade antioxidante mensurada por FRAP de 1,8 – 6 mmol Fe(II)/L e ABTS de 4 – 25 mmol Trolox/L.	(HEČIMOVIĆ et al., 2011)
<b>Café Torrado</b>	Bebida preparada por diferentes métodos.	Água	Bebidas mensuradas quanto ao teor de compostos fenólicos (3,7 – 11 gGAE/100g), FRAP (160 – 1008 $\mu\text{mol Trolox/g}$ ) e ABTS (73 – 450 $\mu\text{mol Trolox/g}$ ). De forma geral, a bebida preparada no coador apresentou maiores valores de atividade antioxidante, seguida da bebida preparada pelo método expresso.	(SÁNCHEZ-GONZÁLEZ; JIMÉNEZ-ESCRIG; SAURA-CALIXTO, 2005)
<b>Café Torrado</b>	Infusão do grão moído	Água	Atividade antioxidante mensurada por DPPH (0,15 – 0,21 mmol Trolox/g) e quanto ao teor de compostos fenólicos totais (41 – 58 mg GAE/g).	(BREZOVÁ; ŠLEBODOVÁ; STAŠKO, 2009)
<b>Bebida do Café Expresso</b>	Preparação do café pelo método expresso.	Água	Quantificação do teor de ácido clorogênico 5 – ACQ por HPLC (0,97 – 1,47 mg 5-ACQ/g).	(ANDUEZA et al., 2007)
<b>Bebida do Café Expresso</b>	Preparação do café pelo método expresso.	Água	A bebida foi caracterizada quanto a sua atividade antioxidante por DPPH (31 – 44%) e o teor de compostos fenólicos totais (319 – 453 mg GAE/30 mL de bebida).	(ALVES et al., 2010b)
<b>Bebida do Café</b>	Extração Sólido-Líquido.	Água	A bebida do café expresso apresentou valores de atividade antioxidante por ABTS de 206,12	(BRAVO et al., 2012)

Amostra	Tipo de Extração	Solvente Utilizado	Resultados Obtidos	Referências
<b>Expresso e Borra de Café Expresso</b>			$\pm 1,68 \mu\text{mol Trolox/g}$ e teor de 5-ACQ equivalente a $6,89 \pm 0,13 \text{ mg/g}$ . O extrato da borra da bebida expresso apresentou atividade antioxidante por ABTS de $131,83 \pm 1,49 \mu\text{mol Trolox/g}$ e teor de 5-ACQ equivalente a $2,84 \pm 0,03 \text{ mg/g}$ .	
<b>Casca de Café</b>	Extração Sólido-Líquido	Água e Acetona	Os autores obtiveram extratos da casca altamente ricos em compostos fenólicos ( $159,50 \text{ mgGAE/g}$ resíduo). A atividade antioxidante mensurada por DPPH foi $\text{IC}_{50}$ de $30,4 \pm 0,40 \mu\text{g/ml}$ .	(GARCÍA; DEL BIANCHI, V, 2015)
<b>Borra de Café</b>	Extração por Líquido Pressurizado.	Etanol e Água	Resultados de DPPH de $16,05 - 38,35 \text{ mg VE/g}$ ; de ABTS de $10,71 - 28,9 \text{ mg VE/g}$ e teor e ácido clorogênico entre $51,7 - 213,9 \text{ mg/g}$ .	(SHANG et al., 2017)
<b>Borra de Café Expresso</b>	Extração Sólido-Líquido.	Água Deionizada	Quantificação de 5-ACQ ( $140,8 \pm 49,5 \text{ mg /100g}$ ) e cafeína ( $452,6 \pm 134,0 \text{ mg /100g}$ ).	(CRUZ et al., 2012)
<b>Borra de Café</b>	Extração Soxhlet e Extração Sólido-Líquido.	Água Destilada	A borra de café apresentou atividade antioxidante e genoprotetora, revelando que o uso desses coprodutos pode proteger o organismo contra estresse oxidativo e doenças relacionadas.	(BRAVO et al., 2013a)
<b>Borra de Café</b>	Extração Soxhlet e Extração Sólido-Líquido.	Água, Etanol e Metanol	Quantificação de compostos fenólicos totais ( $2 - 24 \text{ mg GAE/g bs}$ ), determinação da atividade antioxidante por ABTS ( $15 - 218 \mu\text{mol Trolox/g bs}$ ) e por DPPH ( $5 - 112 \mu\text{mol Trolox/g bs}$ ). Água foi melhor solvente.	(BRAVO et al., 2013b)

<b>Amostra</b>	<b>Tipo de Extração</b>	<b>Solvente Utilizado</b>	<b>Resultados Obtidos</b>	<b>Referências</b>
<b>Borra de Café Solúvel</b>	Hidrólise Ácida	Solução 72% de Ácido Sulfúrico	Extratos com teor de compostos fenólicos variando entre 1 – 5,48 g / L amostra.	(MUSSATTO et al., 2011b)
<b>Borra de Café Expresso</b>	Extração por Ultrassom.	Metanol e Água	Extratos mensurados quanto a sua atividade antioxidante por FRAP (134 – 174 µmol Trolox/g) e DPPH (81 – 146 µmol Trolox/g).	(SEVERINI; DEROSI; FIORE, 2017)
<b>Borra de Café</b>	Extração Sólido-Líquido.	Água e Etanol	Teor de compostos fenólicos variando entre as amostras na faixa de 6 – 28 mgGAE/g e teor de ácidos clorogênicos entre 1,65 – 6,09 mg/g.	(PANUSA et al., 2013)
<b>Borra de Café</b>	Extração Sólido-Líquido.	Metanol	Teor de ácidos clorogênicos (1,2 – 8,5 %), compostos polifenólicos (1,0 – 6,3%) e atividade antioxidante por DPPH (82 – 95%).	(RAMALAKSHMI et al., 2009)
<b>Borra de Café Solúvel</b>	Extração com Água Subcrítica.	Água	Teor de 5-ACQ (0,37 – 1,41 mg/g), atividade sequestrante de radicais livres DPPH (5 – 22 mmol TE/100g), ABTS (7- 32 mmol TE/100g) e teor de fenólicos totais (21 -56 mg GAE/g).	(XU et al., 2015)
<b>Borra de Café Solúvel</b>	Extração Sólido-Líquido.	Metanol e Água	Teor de fenólicos totais (6 – 18,2 mg GAE/g), teor de ácidos clorogênicos (0,37 – 1,39 mg/g) e atividade antioxidante por FRAP (0,100 – 0,113 mM Fe(II)/g).	(MUSSATTO et al., 2011a)

## ANEXO B - CROMATOGRAMAS OBTIDOS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE)

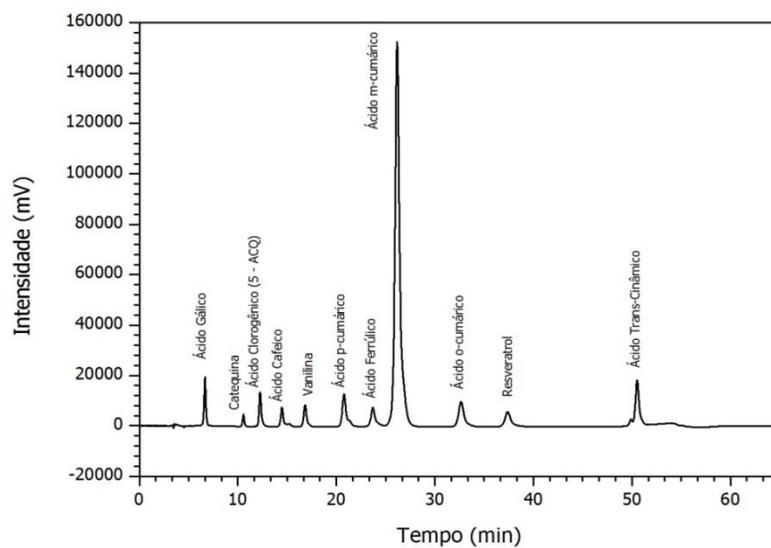


Figura 1 - Cromatograma do padrão de fenólicos utilizado para análise de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

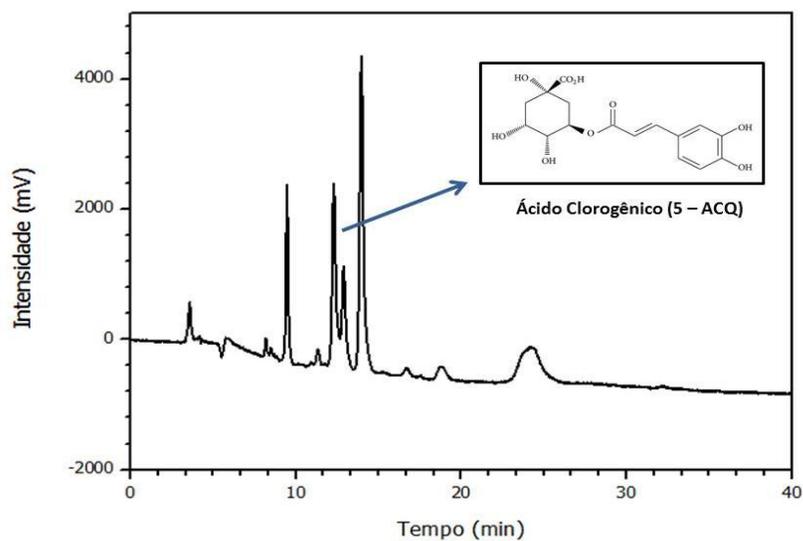


Figura 2 - Cromatograma obtido por CLAE do extrato da borra de café expresso

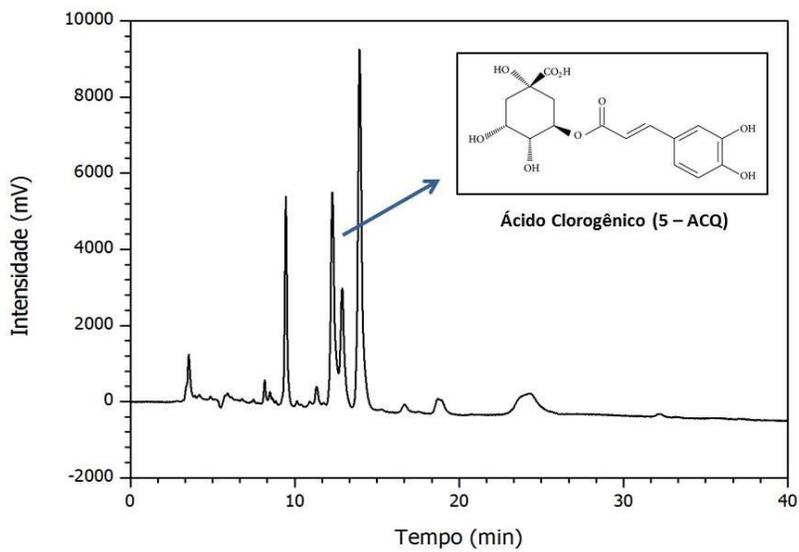


Figura 3 - Cromatograma por CLAE das micropartículas de IPSL.

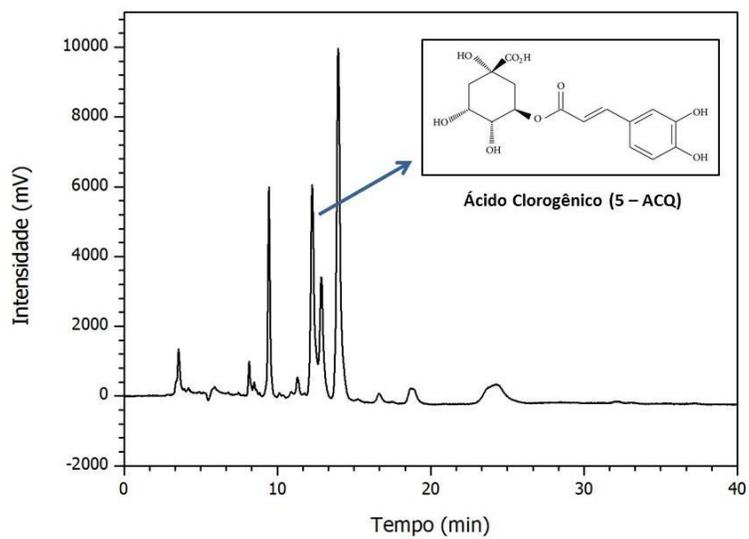


Figura 4 - Cromatograma por CLAE das micropartículas de IPSL/M.

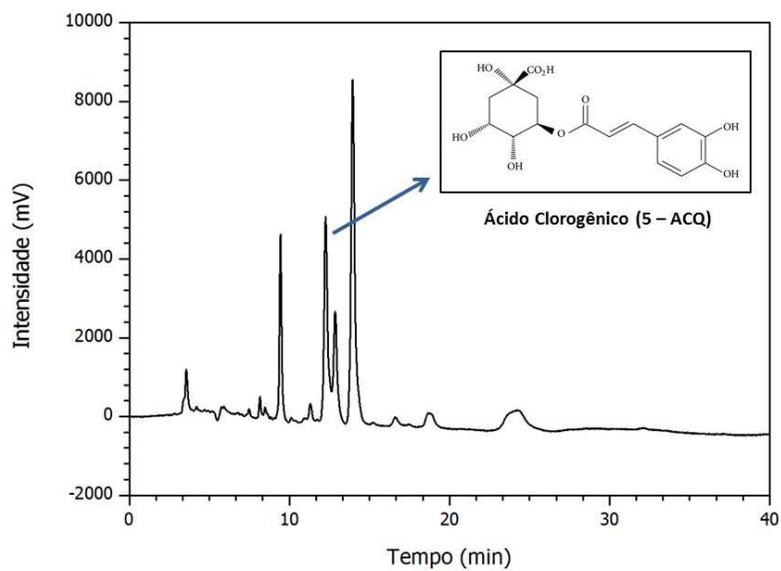


Figura 5 - Cromatograma por CLAE das micropartículas de IPSL/GA.

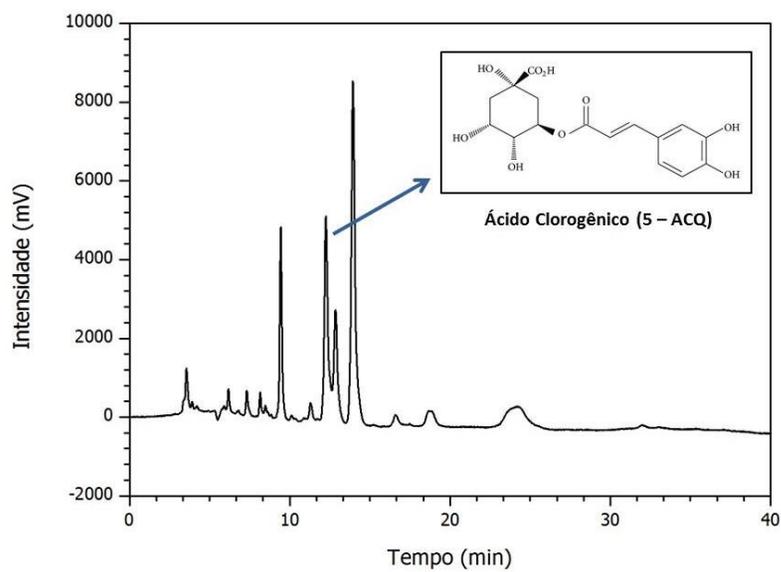


Figura 6 - Cromatograma por CLAE das micropartículas de IPSL/IN.