

LARISSA DIONÍSIO DA SILVA

**EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR MICROONDAS DE COMPOSTOS BIOATIVOS DO
CAFÉ VERDE (*Coffea arabica*) UTILIZANDO SOLVENTES EUTÉTICOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientadora: Rita de Cássia Superbi de Sousa

Coorientadora: Jane Sélia dos Reis Coimbra

**VIÇOSA – MINAS GERAIS
2023**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

S586e
2023
Silva, Larissa Dionisio da, 1995-
Extração assistida por microondas de compostos bioativos
do café verde (*Coffea arabica*) utilizando solventes eutéticos /
Larissa Dionisio da Silva. – Viçosa, MG, 2023.
1 dissertação eletrônica (72 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Rita de Cássia Superbi de Sousa.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Química, 2023.

Referências bibliográficas: f. 61-72.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2023.452>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Extração por solventes. 2. Café. 3. Fenóis. 4. Ácidos
clorogênicos. 5. Química verde. 6. Antioxidantes. I. Sousa, Rita
de Cássia Superbi de, 1983-. II. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Química. Programa de Pós-Graduação em
Engenharia Química. III. Título.

CDD 22. ed. 660.284248

LARISSA DIONÍSIO DA SILVA

**EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR MICROONDAS DE COMPOSTOS BIOATIVOS DO
CAFÉ VERDE (*Coffea arabica*) UTILIZANDO SOLVENTES EUTÉTICOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 13 de julho de 2023.

Assentimento:



Documento assinado digitalmente
LARISSA DIONISIO DA SILVA
Data: 26/07/2023 11:55:48-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Larissa Dionísio da Silva
Autora



Documento assinado digitalmente
RITA DE CASSIA SUPERBI DE SOUSA
Data: 26/07/2023 22:51:21-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Rita de Cássia Superbi de Sousa
Orientadora

Dedico esse trabalho a Deus, pois sem Ele não teria capacidade para desenvolver e concluir meu estudo. E a minha família, pois é graças ao seu esforço que hoje posso concluir o minha pós-graduação. Dedico também a todos aqueles a quem esta pesquisa possa ajudar de alguma forma.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar meus sinceros agradecimentos aos que contribuíram para o meu percurso até aqui. Em primeiro lugar, agradeço a Deus pela oportunidade de capacitação e orientação ao longo de todas as minhas decisões. Sua proteção e amor infinito foram constantes em minha vida;

Aos meus pais, João e Terezinha, devo um reconhecimento especial por todo o apoio e suporte que me proporcionaram nesta jornada. Eles me incentivaram, abençoaram e sustentaram minha vida em suas orações, demonstrando amor, segurança e confiança. Sou grato por tê-los ao meu lado, pois sem eles tudo seria mais difícil;

Agradeço também aos meus irmãos, Kely e João Vitor, que sempre estiveram presentes para me ajudar em todas as situações necessárias. Eles são meus laços eternos e sei que posso confiar neles sempre que precisar;

Aos irmãos de minha igreja, gostaria de expressar minha gratidão pelo zelo e cuidado que têm por mim. Sua presença em minha vida durante esse tempo foi uma demonstração do cuidado de Deus através deles. Em especial, quero mencionar Lorrana, Sandra, Viviane e Maristela, que seguraram minhas mãos nos momentos mais difíceis;

Aos meus fiéis amigos, que sempre comemoram minhas conquistas e estão ao meu lado, são pessoas essenciais em minha vida. Sua amizade é de grande valor e sou grata por tê-los comigo;

Aos meus pastores José Maria Júnior e Ana Cristina, que têm me acompanhado e cuidado de mim em oração ao longo de muitos anos. Eles zelam pela minha vida e estão sempre disponíveis quando preciso;

À minha amiga Rejane, que tem sido minha parceira desde a graduação, pelo carinho e acolhimento. Obrigado por todo apoio ao longo desta fase. Compartilhamos sonhos, superamos dificuldades e celebramos alegrias juntas. Guardarei todos os momentos vividos com você no meu coração;

À Professora Rita de Cássia, expresse minha gratidão por sua orientação, profissionalismo e incentivo ao longo desta jornada de pós-graduação. Acredito que sua confiança, acompanhamento e orientação foram fundamentais para o meu progresso;

Não posso deixar de mencionar a Professora Jane, pela coorientação, pelas importantes discussões sobre o tema, pela disponibilização da matéria-prima para o estudo e todo o apoio prestado;

Agradeço ao Professor Sérgio do Laboratório GQSB por sua assistência com equipamentos e insumos, e à Sara, pela sua contribuição e generosidade;

Gostaria de expressar minha sincera gratidão aos membros da banca examinadora que generosamente aceitaram participar e colaborar com esta dissertação. Sua contribuição é de extrema importância para o desenvolvimento do meu trabalho;

Meus agradecimentos se estendem aos professores do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, que proporcionaram um ambiente de aprendizado pessoal e profissional enriquecedor;

Sou grata à Universidade Federal de Viçosa por tornar possível a realização deste mestrado, fornecendo as condições necessárias para o meu crescimento acadêmico;

Agradeço a todos que, de alguma forma, contribuíram para a concretização deste trabalho. Seja por meio de apoio, orientação ou incentivo, cada contribuição foi valiosa.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela concessão da bolsa de estudos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

RESUMO

SILVA, Larissa D., M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2023. **Extração assistida por microondas de compostos bioativos do café verde (*Coffea arabica*) utilizando solventes eutéticos**. Orientadora: Rita de Cássia Superbi de Sousa. Coorientadora: Jane Sélia dos Reis Coimbra.

O café é amplamente valorizado nos setores comercial, industrial, econômico e possui propriedades benéficas à saúde. Os ácidos clorogênicos (ACG), encontrados no grão de café, são conhecidos por suas propriedades antioxidantes, proteção hepática e regulação dos níveis de glicose. Uma abordagem moderna para a extração de compostos naturais é o uso de Solventes Eutéticos Profundos Naturais (NADES), que possuem baixa toxicidade, biodegradabilidade e capacidade de extrair compostos de diferentes polaridades. O objetivo deste estudo foi otimizar e avaliar a extração de compostos bioativos do grão de café verde, como fenólicos totais (FT), ACG e atividade antioxidante (AA). Utilizou a combinação de NADES com a técnica de extração assistida por microondas. A eficiência da extração usando NADES foi comparada com a de solventes orgânicos convencionais. Três combinações de NADES foram testadas: cloreto de colina com ácido oxálico [Ch]Cl:AO, cloreto de colina com ácido cítrico [Ch]Cl:AC e cloreto de colina com ácido láctico [Ch]Cl:AL. Foi aplicada uma metodologia estatística de superfície de resposta para avaliar o efeito da temperatura, concentração de biomassa e fração de água adicionada ao solvente na extração dos fenólicos totais. Os extratos obtidos usando NADES e solventes convencionais (etanol e acetato de etila) foram analisados por Espectrofotometria UV-Vis para determinar o teor de fenólicos, ACG e AA. Os resultados mostraram que o ponto ótimo para maior rendimento de FT foi a uma temperatura de 86,75 °C, com 30% de biomassa no solvente e 58,42% de adição de água ao NADES. Os NADES demonstraram eficiência na extração de fenólicos totais. O NADES [Ch]Cl:AO foi selecionado para determinar a concentração de ACG, apresentando um teor de 12,48%. Os extratos obtidos com NADES e com solventes convencionais exibiram AA significativa e valores próximos. O estudo evidenciou que o uso de NADES é uma alternativa promissora para a extração de compostos bioativos presentes no grão de café verde.

Palavras-chave: Compostos fenólicos. Café. Química verde. NADES. Atividade antioxidante. Ácidos clorogênicos. Metodologia de superfície de resposta.

ABSTRACT

SILVA, Larissa D., M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2023. **Microwave-assisted extraction of bioactive compounds from green coffee (*Coffea arabica*) utilizing eutectic solvents.** Adviser: Rita de Cássia Superbi de Sousa. Co-Adviser: Jane Sélia dos Reis Coimbra.

Coffee is widely valued in commercial, industrial, economic sectors and has beneficial health properties. Chlorogenic acids (CGA), found in the coffee bean, are known for their antioxidant properties, liver protection and regulation of glucose levels. A modern approach for the extraction of natural compounds is the use of Natural Deep Eutectic Solvents (NADES), which have low toxicity, biodegradability and the ability to extract compounds of different polarities. The aim of this study was to optimize and evaluate the extraction of bioactive compounds from green coffee bean such as total phenolics (FT), ACG and antioxidant activity (AA). It used the combination of NADES with microwave-assisted extraction technique. The extraction efficiency using NADES was compared with that of conventional organic solvents. Three combinations of NADES were tested: choline chloride with oxalic acid [Ch]Cl:AO, choline chloride with citric acid [Ch]Cl:AC and choline chloride with lactic acid [Ch]Cl:AL. A statistical response surface methodology was applied to evaluate the effect of temperature, biomass concentration and water fraction added to the solvent on the extraction of total phenolics. The extracts obtained using NADES and conventional solvents (ethanol and ethyl acetate) were analyzed by UV-Vis spectrophotometry to determine the content of phenolics, ACG and AA. The results showed that the optimum point for highest FT yield was at a temperature of 86.75 °C, with 30% biomass in the solvent and 58.42% water addition to NADES. The NADES showed efficiency in the extraction of total phenolics. The NADES [Ch]Cl:AO was selected to determine the concentration of ACG, showing a content of 12.48%. The extracts obtained with NADES and with conventional solvents exhibited significant AA and close values. The study evidenced that the use of NADES is a promising alternative for the extraction of bioactive compounds present in green coffee beans.

Keywords: Phenolic compounds. Coffee. Green chemistry. NADES. Antioxidant activity. Chlorogenic acids. Response surface methodology.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | |
|--|----|
| Figura 1 – Estrutura do fruto do café..... | 19 |
| Figura 2 - Fruto do café | 20 |
| Figura 3 - Estruturas químicas dos ácidos hidroxibenzóicos e hidroxicinâmicos..... | 24 |
| Figura 4 - Estrutura química dos ácidos clorogênicos..... | 24 |
| Figura 5 - Estrutura química dos ácidos clorogênicos principais..... | 25 |
| Figura 6 - Estrutura química dos ácidos clorogênicos em diferentes combinações | 26 |
| Figura 7 - Diagrama de fases demonstrando a formação do ponto eutético de duas substâncias | 29 |
| Figura 8 - Interação de um HBD com o sal de amônio quaternário cloreto de colina | 30 |
| Figura 9 - Tendência temporal da aplicação do DES e NADES na literatura..... | 31 |
| Figura 10 - Fruto do café | 32 |
| Figura 11 - Equipamento comercial para padronização de tamanho da biomassa..... | 32 |
| Figura 12 - Processo de combustão dos grãos de café verde..... | 33 |
| Figura 13 - Sistema de extração no Soxhlet para obtenção de lipídios | 34 |
| Figura 14 - Obtenção de lipídios presente nos grãos de café verde | 35 |
| Figura 15 - Solvente NADES | 36 |
| Figura 16 - Equipamento de extração microondas | 39 |
| Figura 17 - Amostras antes e após extração | 39 |
| Figura 18 - Obtenção do extrato sobrenadante | 40 |
| Figura 19 - Reação com coloração azul para construção da curva de calibração de FT | 41 |
| Figura 20 - Etapas das amostras para caracterização da atividade antioxidante | 43 |
| Figura 21 – Grãos do café verde após a cominuição..... | 44 |
| Figura 22 - Curva de calibração para determinação de FT..... | 46 |
| Figura 23 - Curva de calibração para determinação padrão dos ácidos clorogênicos..... | 47 |

| | |
|---|----|
| Figura 24 - Influência das variáveis e de suas interações sobre as variáveis de resposta no processo de extração de FT no grão de café verde utilizando [Ch]Cl:AO | 49 |
| Figura 25 - Influência das variáveis e de suas interações sobre as variáveis de resposta no processo de extração de FT no grão de café verde utilizando [Ch]Cl:AC | 50 |
| Figura 26 - Influência das variáveis e de suas interações sobre as variáveis de resposta no processo de extração de FT no grão de café verde utilizando [Ch]Cl:AL | 51 |
| Figura 27 - Superfície de resposta para o rendimento de FT com os efeitos arranjados de (i) Temperatura e Razão (ii) Temperatura e Concentração (iii) Concentração e Razão para [Ch]Cl:AO | 52 |
| Figura 28 - Superfície de resposta para o rendimento de FT com os efeitos arranjados de (i) Temperatura e Razão (ii) Temperatura e Concentração (iii) Concentração e Razão para [Ch]Cl:AC | 53 |
| Figura 29 - Superfície de resposta para o rendimento de <i>FT</i> com os efeitos arranjados de (i) Temperatura e Razão (ii) Temperatura e Concentração (iii) Concentração e Razão para [Ch]Cl:AL..... | 53 |
| Figura 30 - Perfil previstos/otimizados e desejabilidade para o planejamento para as variáveis resposta compostos fenólicos totais das extrações com NADES | 55 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1 - Classificação científica do Coffea arábica | 18 |
| Tabela 2 - Composição química de grão cru | 20 |
| Tabela 3 - Compostos fenólicos presentes no café..... | 22 |
| Tabela 4 - Técnicas de extração e solventes usados para obtenção dos ACG presente nos grãos do café verde..... | 28 |
| Tabela 5 - Reagentes e proporções usadas para preparo do NADES | 35 |
| Tabela 6 - Variáveis e níveis dos fatores do planejamento experimental | 37 |
| Tabela 7 - Planejamento experimental com ensaios..... | 37 |
| Tabela 8 - Concentração de Fenólicos Totais presente na extração do café com diferentes combinações de NADES | 47 |
| Tabela 9 - Estimativa dos coeficientes de regressão do modelo para as variáveis resposta compostos fenólicos totais das extrações com NADES [Ch]Cl:AO | 49 |
| Tabela 10 - Estimativa dos coeficientes de regressão do modelo para as variáveis resposta compostos fenólicos totais das extrações com NADES [Ch]Cl:AC | 50 |
| Tabela 11 - Estimativa dos coeficientes de regressão do modelo para as variáveis resposta compostos fenólicos totais das extrações com NADES [Ch]Cl:AL..... | 51 |
| Tabela 12 - Concentração média dos fenólicos totais presente nos extratos selecionados com NADES, etanol e acetato de etila nas condições ótimas | 56 |
| Tabela 13 - Atividade sequestrante do radical DPPH (%) dos extratos dos grãos de café verde obtidos com os NADES e solventes convencionais | 58 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|--------|--|
| ACG | Ácidos clorogênicos |
| AL | Ácido láctico |
| AC | Ácido cítrico |
| AO | Ácido oxálico |
| AA | Atividade Antioxidante |
| [Ch]Cl | Cloreto de colina |
| DES | Deep eutectic solvents |
| DCCR | Planejamento composto central rotacional |
| DPPH | (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) |
| FT | Fenólicos totais |
| HBA | Hydrogen bond acceptor |
| HBD | Hydrogen bond donor |
| MAE | Microwave assisted extraction |
| MRS | Metodologia de superfície de resposta |
| NADES | Natural deep eutectic solvents |
| Tc | Teor de cinzas |

SUMÁRIO

| | | |
|-------|--|----|
| 1. | INTRODUÇÃO | 14 |
| 2. | OBJETIVOS | 17 |
| 2.1 | Objetivo geral | 17 |
| 2.2 | Objetivos específicos | 17 |
| 3 | REVISÃO DE LITERATURA..... | 18 |
| 3.1 | Café..... | 18 |
| 3.2 | Café verde | 19 |
| 3.3 | Compostos Bioativos do Café..... | 21 |
| 3.4 | Extração sólido-líquido..... | 26 |
| 3.5 | Extração assistida por microondas..... | 27 |
| 3.6 | Solventes Eutéticos Profundos (DES) | 28 |
| 3.7 | Solventes Eutéticos Profundos Naturais (NADES) | 30 |
| 4 | METODOLOGIA | 32 |
| 4.1 | Preparação dos grãos para extração | 32 |
| 4.2 | Caracterização físico-química..... | 33 |
| 4.2.1 | Cinzas..... | 33 |
| 4.2.2 | Lipídios | 34 |
| 4.3 | Preparo dos NADES | 35 |
| 4.4 | Solventes convencionais para testes comparativos com NADES | 36 |
| 4.5 | Planejamento experimental..... | 36 |
| 4.6 | Extração sólido-líquido assistida por microondas | 38 |
| 4.7 | Caracterização dos extratos por espectrofotometria UV-Vis | 40 |
| 4.7.1 | Compostos fenólicos..... | 40 |
| 4.7.2 | Ácidos clorogênicos (ACG)..... | 41 |

| | | |
|---------|---|----|
| 4.7.2.1 | Curva de calibração dos ACG | 41 |
| 4.7.2.2 | Análise dos ACG nos extratos | 42 |
| 4.7.3 | Atividade antioxidante (AA) | 42 |
| 5 | RESULTADOS E DISCUSSÕES | 44 |
| 5.1 | Cinzas..... | 44 |
| 5.2 | Lipídios | 45 |
| 5.3 | Curva de calibração dos FT e ACG | 46 |
| 5.4 | Eficiência dos solventes no processo de extração de compostos fenólicos | 47 |
| 5.5 | Planejamento experimental..... | 48 |
| 5.5.1 | Otimização do rendimento de extração dos FT | 48 |
| 5.6 | Extração e caracterização dos ácidos clorogênicos (ACG) | 57 |
| 5.7 | Extração e caracterização da atividade antioxidante (AA)..... | 58 |
| 6 | CONCLUSÃO | 59 |
| 7 | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 61 |

1. INTRODUÇÃO

O café é uma *commodity* valiosa e uma das bebidas mais populares em todo o mundo e desempenha um papel importante na economia global. Segundo a Organização Internacional do Café (2023), a estimativa provisória mais recente para a produção total de café durante o ano cafeeiro de 2021-2022 foi de 167,2 milhões de sacas, representando uma queda de 2,1% em relação às 170,83 milhões de sacas do ano anterior. Por outro lado, prevê-se que o consumo global de café cresça 3,3%, atingindo 170,3 milhões de sacas de 60 kg em 2021/22, em comparação com 164,9 milhões de sacas no ano cafeeiro de 2020/21.

Estudos sobre a composição química e as atividades biológicas dos grãos do café têm ganhado visibilidade, devido a sua relevância econômica e as características específicas relacionadas às bebidas de café e à saúde humana. Um dos compostos mais estudados é a cafeína, um alcaloide pertencente ao grupo das xantinas e com a designação química de 1,3,7-trimetilxantina. Pesquisas mostram que a cafeína pode reduzir o risco de doenças como Parkinson, Alzheimer, doença hepática, diabetes tipo II e alguns tipos de câncer (GROSSO *et al.*, 2017).

Existem várias partes das plantas que contêm compostos fenólicos, os quais são uma classe de compostos químicos caracterizados pela presença de um grupo hidroxilo ligado diretamente a um grupo hidrocarboneto aromático. Dependendo do número e da posição dessas hidroxilas na cadeia, esses compostos exibem diferentes propriedades na capacidade de se ligar aos radicais livres, neutralizando-os. As maiores concentrações desses compostos são encontradas em frutas, vegetais e seus derivados. Especificamente, eles atuam como agentes de defesa em resposta a estresses climáticos, hídricos, químicos patogênicos e entre outros enfrentados pelas frutas e vegetais, conferindo-lhes coloração, adstringência, aroma e sabor distintos (SOUSA; VIEIRA; LIMA, 2011).

Os ácidos clorogênicos (ACG) são os compostos fenólicos mais encontrados no café. Esse termo possivelmente deu-se origem por Payen em 1846 para descrever um composto fenólico com propriedades ácidas, cuja estrutura ainda era desconhecida na época. Atualmente, essa nomenclatura é utilizada para se referir a uma família de ésteres formados pela esterificação de um ou mais derivados do ácido *trans*-cinâmico com o ácido quínico (BASTOS DE MARIA; MOREIRA, 2004). Na infusão do café em água, os ACG contribuem para o amargor, a acidez e a adstringência da bebida. No campo biológico, possuem fortes

propriedades antioxidantes (MOREIRA *et al.*, 2005) e demonstram ter efeitos hepatoprotetores, antimicrobianos, antiobesidade, anti-inflamatórios, antidiabéticos e anti-hipertensivos (NAVEED *et al.*, 2018).

A atividade antioxidante (AA) refere-se à capacidade de um composto de impedir a degradação oxidativa. Por esse motivo, há um aumento na busca e obtenção de antioxidantes provenientes de fontes naturais, principalmente para prevenir danos causados pela oxidação às células, o que está diretamente relacionado aos benefícios à saúde (LIMA *et al.*, 2010).

A extração sólido-líquido, uma operação unitária baseada na transferência de massa, se destaca em diversas aplicações na produção de fármacos, alimentos, meio ambiente e nas áreas abrangentes da química e bioquímica. Cada método de extração definirá quais resultados serão atingidos, resultando em diferenças na composição química dos óleos extraídos, incluindo teores de ácidos graxos, antioxidantes, esteróis, tocoferóis e diterpenos (JARDIM, 2010; DONG *et al.*, 2021).

Com o avanço tecnológico, foram desenvolvidas diversas técnicas de extração, como a extração ultrassônica, extração com líquido pressurizado, microextração em fase sólida e extração assistida por microondas. Essas técnicas apresentam várias vantagens como velocidade, redução no consumo de solvente, utilização de solventes menos prejudiciais ao meio ambiente e melhores possibilidades de controle da extração, permitindo automação e a perspectiva de acoplamento da extração on-line com outras técnicas analíticas (FANALI *et al.*, 2020).

A extração assistida por microondas (MAE) é uma técnica inovadora amplamente utilizada para extrair compostos orgânicos de diversas matrizes. Ao empregar microondas, essa abordagem acelera o processo de extração, reduzindo consideravelmente o tempo necessário para obter os analitos desejados. Além disso, a MAE oferece vantagens, como maior eficiência, menor consumo de solventes e menor geração de resíduos, em comparação com as técnicas convencionais de extração. Sua aplicação abrange áreas como análises ambientais, farmacêuticas e alimentícias, fornecendo resultados precisos e confiáveis. Assim, a MAE tem um potencial significativo para otimizar os métodos de extração, sendo uma ferramenta valiosa para a pesquisa científica e análises laboratoriais (CAMEL, 2000; CHAN *et al.*, 2011).

O uso de solventes orgânicos na obtenção de extratos e compostos é comum devido à sua alta capacidade de extração. No entanto, esse processo apresenta desvantagens, como o

consumo elevado de solvente, alta toxicidade, volatilidade, alto custo e produção de resíduos prejudiciais à saúde e ao meio ambiente, além do custo associado às etapas de separação do solvente para minimizar os efeitos adversos à saúde causados pelos resíduos (CUNHA; FERNANDES, 2018).

Por esta razão, os solventes eutéticos profundos, do inglês deep eutectic solvents (DES) têm sido investigados como uma alternativa para a extração de compostos bioativos, visando reduzir a produção de resíduos tóxicos e melhorar a seletividade e eficiência da extração (PENA-PEREIRA; NAMIEŚNIK, 2014). Esses solventes consistem em uma mistura de um sal haleto, atuando como um acceptor de ligação de hidrogênio (hydrogen bond acceptor - HBA), e um doador de ligação de hidrogênio (hydrogen bond donor - HBD), como ácidos carboxílicos, carboidratos, álcoois ou aminas. Essa mistura possui um ponto de fusão mais baixo em comparação com seus componentes individuais, tornando-os adequados para uso como solventes de extração. A alta viscosidade é um desafio para a eficiência da extração com DES, mas esse obstáculo pode ser superado adicionando-se uma porcentagem de água ou trabalhando com temperaturas mais elevadas (PERNA; VITALE; CAPRIATI, 2020).

Além do DES, a extração de produtos naturais pode ser realizada com o uso de solventes eutéticos profundos naturais, do inglês natural deep eutectic solvents (NADES). NADES é uma subclasse dos DES compostos exclusivamente por componentes de origem natural. Estudos têm demonstrado vários benefícios do uso de NADES em comparação com os solventes orgânicos convencionais, destacando sua viabilidade como uma abordagem mais ecológica para a extração de produtos naturais. Os NADES são considerados seguros para o meio ambiente, biodegradáveis, apresentam baixa toxicidade e os extratos obtidos podem ser utilizados diretamente como produtos finais (ESPINO *et al.*, 2018; KUA; GAN, 2019). Eles também possuem viscosidade variável e alto potencial na extração de compostos fenólicos devido à sua ampla gama de polaridade (DAI, 2013; DAI *et al.*, 2013; PAIVA *et al.*, 2014; BOYKO *et al.*, 2020; SILVA *et al.*, 2020; RODRÍGUEZ-JUAN *et al.*, 2021).

O objetivo deste estudo foi otimizar a extração assistida por microondas, utilizando NADES, para obter compostos fenólicos, como os ácidos clorogênicos (ACG), a partir do café verde. Além disso, foi avaliada a atividade antioxidante (AA) dos extratos obtidos, com intuito de oferecer uma alternativa aos solventes orgânicos convencionais e destacar as vantagens dos NADES como solventes verdes.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Realizar a extração sólido-líquido para a obtenção de ácidos clorogênicos do fruto do café verde (*coffea arabica*), empregando solventes eutéticos profundos naturais e determinar a atividade antioxidante dos extratos obtidos.

2.2 Objetivos específicos

- Realizar a tamisação de grãos de café verde moídos;
- Realizar caracterização físico-química dos grãos de café verde;
- Preparar uma série de NADES baseados em cloreto de colina, ácidos carboxílicos e álcoois;
- Efetuar o planejamento experimental para avaliar a influência dos parâmetros (razão sólido:solvente, temperatura e fração de água no solvente) na extração dos fenólicos totais do café verde utilizando NADES;
- Determinar condições ótimas operacionais para possibilitar um maior rendimento extrativo dos ACG e AA com o NADES;
- Realizar os experimentos de extração dos ACG e AA utilizando o NADES que oferecer melhor condição ótima, apresentando maior rendimento do extrato e comparar com os teores dos extratos obtidos com os solventes orgânicos etanol e acetato de etila;
- Analisar os extratos obtidos para quantificação de ACG e AA com espectrofotômetro.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Café

O café é um grão com grande participação no mercado mundial de produtos naturais. A indústria do café abrange uma ampla gama de participantes, incluindo produtores, exportadores, importadores, torrefadores, varejistas e empresas especializadas em café. Devido à sua popularidade global, o café tem sido objeto de muitas pesquisas que buscam entender suas propriedades e benefícios para a saúde (DAGLIA *et al.*, 2000). O termo "café" deriva da palavra árabe "qahwa", que significa vinho, e pode ter origem no Reino de Kaffa, na Etiópia, onde a planta de café é conhecida como Bunn ou Bunna (COCAPEC, 2021).

O café é derivado da agroindústria e pertence à subfamília Cinchonoideae, da tribo Coffeae, dentro da família botânica Rubiaceae (Tabela 1). A tribo Coffeae é composta por duas categorias: *Coffea* e *Psilanthus* (CLIFFORD; WILLIAMS; BRIDSON, 1989; MURTHY; MADHAVA NAIDU, 2012). A Rubiaceae é uma família botânica (BARBOSA *et al.*, 2015) geralmente encontrada em climas tropicais e subtropicais, composta principalmente por árvores e arbustos que crescem em áreas mais baixas das florestas. O subgênero *Coffea* é economicamente relevante, com cerca de 6.000 espécies e 500 gêneros (OIC, 2021).

Tabela 1 - Classificação científica do *Coffea arabica*

| Classificação | |
|---------------|---------------|
| Reino | Plantae |
| Divisão | Magnoliophyta |
| Classe | Magnoliopsida |
| Ordem | Gentianales |
| Família | Rubiaceae |
| Gênero | <i>Coffea</i> |

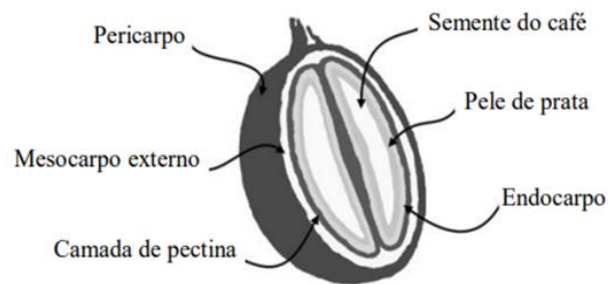
Fonte: World Flora Online, 2021.

O café é uma planta de ciclo de vida longo, com caule vertical e alto, possui sistema radicular responsável pela fixação e absorção de água e nutrientes. As raízes das espécies *Coffea arabica* (café arábica) e *Coffea canephora* (café robusta) apresentam diferenças, sendo

uma delas com penetração mais profunda no solo e a outra concentrada na superfície. Os cafeeiros são encontrados em regiões tropicais, com chuvas abundantes e temperaturas médias de 21°C, sem exposição a geadas. Eles podem crescer desde o nível do mar até altitudes superiores a 1981,2 metros. A primeira safra ocorre aproximadamente após cinco anos e o café é produtivo por cerca de quinze anos (MURTHY; MADHAVA NAIDU, 2012).

A Figura 1 mostra a estrutura do grão de café, composta pelo pericarpo, mesocarpo externo, camada de pectina e endocarpo. O pericarpo é verde quando o fruto está imaturo e vermelho violeta ou vermelho escuro quando maduro. A pele prata envolve cada hemisfério do grão de café, contendo a semente. As características do grão, como cor, tamanho, densidade e forma, podem variar de acordo com as condições de crescimento e genótipo (FARINHOTO, 2012; BRESCIANI *et al.*, 2014).

Figura 1 – Estrutura do fruto do café



Fonte: Adaptado BRESCIANI *et al.*, 2014.

3.2 Café verde

O café verde tem aparência similar ao feijão (Figura 2), com cor verde e aroma suave. O aroma característico do café se intensifica durante o processo de torrefação (MADHAVA NAIDU *et al.*, 2008).

Figura 2 - Fruto do café



Fonte: O AUTOR, 2021.

A Tabela 2 exhibe a composição química do café verde em fração mássica, que possui compostos voláteis e não voláteis, água, cafeína, carboidratos, cinzas, lipídios, ácidos clorogênicos, minerais, proteínas, trigonelina, dentre outros (MURTHY; NAIDU, 2012).

Tabela 2 - Composição química de grão cru

| Componente | Café Arábica (%) | Café Robusta (%) | Referências |
|----------------------------|-------------------------|-------------------------|--|
| Cafeína | 0,7 - 1,4 | 1,2 - 2,4 | Toci (2006), Mendonça <i>et al.</i> , (2007), Durán <i>et al.</i> , (2017), Muzaifa <i>et al.</i> , (2020), Cardoso (2013) |
| Trigonelina | 1,0 - 1,2 | 0,6 - 0,7 | Durán <i>et al.</i> , (2017), Cardoso (2013) |
| Minerais | 3 - 4,2 | 3 - 4,2 | Durán <i>et al.</i> , (2017), Cardoso (2013) |
| Lignina | 1 - 3 | 1 - 3 | Durán <i>et al.</i> , (2017), Cardoso (2013) |
| Proteínas | 11,0 - 13,0 | 11,0 - 13 | Durán <i>et al.</i> , (2017), Muzaifa <i>et al.</i> , (2020), Cardoso (2013) |
| Amino ácidos livres | 0,2 - 0,8 | 0,2 - 0,8 | Durán <i>et al.</i> , (2017) |
| Óleos | 7,7 - 16,0 | 7,7 - 16,0 | Durán <i>et al.</i> , (2017), Cardoso (2013) |
| Ceras | 0,2 - 0,3 | 0,2 - 0,3 | |
| Ácidos clorogênicos totais | 3,5 - 7,3 | 7,0 - 14,0 | Toci (2006), Durán <i>et al.</i> , (2017), Muzaifa <i>et al.</i> , (2020), Nobre <i>et al.</i> , (2011), Cardoso (2013) |

| | | | |
|--------------------------------|----------|------------|--|
| Ácidos alifáticos não voláteis | 2 - 2,9 | 1,3 - 2,2 | Durán <i>et al.</i> , (2017), Cardoso (2013) |
| Ácidos voláteis | 0,1 | 0,1 | |
| Carboidratos solúveis | 9 - 12,5 | 6,0 - 11,5 | Durán <i>et al.</i> , (2017) |
| Polissacarídeos insolúveis | 46 - 53 | 34 - 44 | Durán <i>et al.</i> , (2017), Cardoso (2013) |

O café também apresenta em sua composição química ácidos orgânicos como cafeico, metilúrico, vanílico, hidroxibenzoico e ferrúlico, ácido benzoico, diterpenos (cafestol, caveol), EDTA, flavonóides (caempferol, quercetol 40%), salicilatos (salicilato de metila), vitaminas (nicotinamida, ácido ascórbico, tiamina, riboflavina e caroteno), óleos essenciais (ácido cinâmico, aldeído cinâmico), alcalóides abrangendo os alcalóides purínicos ou xantinas (cafeína, teobromina, teofilina, paraxantina) e minerais (cálcio, fósforo e ferro) (Revista Cafeicultura, 2005).

A cafeína presente no café, juntamente com os polifenóis, em especial os ACG, possui propriedades preventivas contra várias doenças degenerativas (DAGLIA *et al.*, 2000; BONITA *et al.*, 2007). O consumo de café acelera o metabolismo da glicose, melhora a sensibilidade à insulina e reduz o risco de doenças cardíacas coronárias, Alzheimer, diabetes tipo II, acidente vascular cerebral, depressão e doenças de Parkinson (BRESCIANI *et al.*, 2014).

3.3 Compostos Bioativos do Café

Estudos têm investigado as atividades biológicas do café verde, destacando suas propriedades quimioprotetoras devido à presença de agentes antioxidantes como os ACG. O café contém ácido cafeico, ferúlico e *p*-cumárico, que contribuem para seu alto poder antioxidante em comparação com outras bebidas (RICHELLE; TAVAZZI; OFFORD, 2001; BELGUIDOUM *et al.*, 2014; VIGNOLI *et al.*, 2014). Os agentes antioxidantes do café atuam no combate à peroxidação lipídica (KROYER; KRETSCHMER; WASHUTTL, 1989; DAGLIA *et al.*, 2000). Essas propriedades antioxidantes são importantes para inibir a deterioração oxidativa das macromoléculas celulares, prevenindo doenças cardiovasculares e degenerativas (LOUREIRO; DI MASCIO; MEDEIROS, 2002; WILLCOX; ASH;

CATIGNANI, 2004). Os compostos antioxidantes têm sido reconhecidos por sua capacidade de proteger sistemas biológicos contra os danos causados pelas espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, contribuindo assim na prevenção de doenças relacionadas a danos oxidativos (SANTOS *et al.*, 2007).

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários geralmente envolvidos na adaptação das plantas às condições de estresse ambiental (FANALI *et al.*, 2020). Encontram-se no café compostos fenólicos como: ácidos feruloilquínico, ácidos dicafeoilquínico, ácidos cafeoilquínico e ácidos *p*-coumaroilquínico (LAFAY; GIL-IZQUIERDO, 2008).

Os ácidos clorogênicos (ACG) são ésteres de hidroxicinamoil de ácidos quínicos, amplamente presentes em plantas. No café, eles representam o grupo fenólico mais abundante, podendo chegar a 14% em base seca. O café (*Coffea arabica*) contém cerca de 45 a 50 derivados de ACG diferentes (BADMOS; LEE; KUHNERT, 2019). Além de contribuírem para a acidez, amargor e adstringência da bebida, os ACG também possuem propriedades benéficas para a saúde humana, como atividade antioxidante, anticancerígena, antimutagênica, anti-inflamatória, proteção neuronal e antiplaquetária. Também apresentam atividades hepatoprotetora, hipoglicêmica e antiviral (BORRELLI *et al.*, 2002; MOREIRA *et al.*, 2005; FARAH; DONANGELO, 2006; SATO *et al.*, 2011; GAWLIK-DZIKI *et al.*, 2014). A Tabela 3 apresenta os compostos encontrados nos grãos de café.

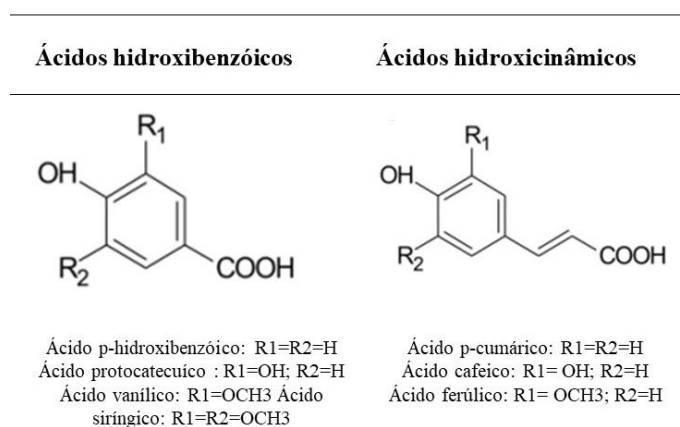
Tabela 3 - Compostos fenólicos presentes no café

| Café arábica | | | |
|--------------------------------|----------------------------|-------------------|--------------------------------|
| | Ácidos fenólicos | Rendimento | Referências |
| Ácidos hidroxicinâmicos | Ácido 3,4-Dicafeoilquínico | 3,53 mg/100 ml | |
| | Ácido 3,5-Dicafeoilquínico | 2,65 mg/100 ml | |
| | Ácido 4,5-Dicafeoilquínico | 1,54 mg/100 ml | Moreira <i>et al.</i> , (2005) |
| | Ácido 4-cafeoilquínico | 19,00 mg/100 ml | |
| | Ácido 4-feruloilquínico | 13,26 mg/100 ml | |
| | Ácido 5-cafeoilquínico | 43,09 mg/100 ml | |
| | Ácido 5-feruloilquínico | 4,64 mg/100 ml | |
| Outros polifenóis | | | |
| Alquilfenóis | 3-Metilcatecol | 0,11 mg/100 ml | Lang (2006) |

| | | | |
|--------------------------------|----------------------------|-------------------|--------------------------------|
| Outros polifenóis | 4-Etilcatecol | 0,13 mg/100 ml | |
| | 4-Metilcatecol | 0,04 mg/100 ml | |
| | Catecol | 0,54 mg/100 ml | |
| | Pirogalol | 0,39 mg/100 ml | |
| Café Robusta | | | |
| | Ácidos fenólicos | Rendimento | Referências |
| Ácidos hidroxicinâmicos | Ácido 3,4-Dicafeoilquínico | 5,96 mg/100 ml | |
| | Ácido 3,5-Dicafeoilquínico | 4,42 mg/100 ml | |
| | Ácido 3-cafeoilquínico | 32,26 mg/100 ml | |
| | Ácido 4,5-Dicafeoilquínico | 3,09 mg/100 ml | Moreira <i>et al.</i> , (2005) |
| | Ácido 4-cafeoilquínico | 36,46 mg/100 ml | |
| | Ácido 4-feruloilquínico | 30,05 mg/100 ml | |
| | Ácido 5-cafeoilquínico | 75,80 mg/100 ml | |
| | Ácido 5-feruloilquínico | 16,57 mg/100 ml | |

Os compostos fenólicos possuem grupos benzênicos, como grupos hidroxilos, em sua estrutura. Existem dois grupos principais de compostos fenólicos: os flavonoides (polifenóis) e os não-flavonoides (fenóis simples ou ácidos). Os não-flavonoides incluem derivados dos ácidos hidroxibenzóicos e hidroxicinâmicos (Figura 3). A atividade antioxidante desses compostos é influenciada pela posição dos grupos hidroxilo e pela proximidade do grupo -CO₂H ao grupo fenilo. Quanto mais próximo estiverem, maior será a propriedade antioxidante do grupo hidroxilo na posição meta (SILVA *et al.*, 2010).

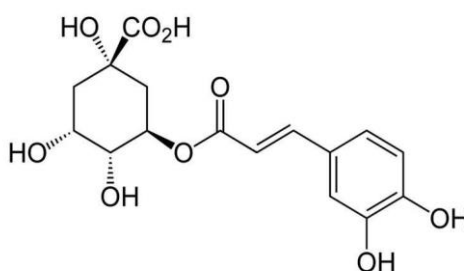
Figura 3 - Estruturas químicas dos ácidos hidroxibenzóicos e hidroxicinâmicos



Fonte: Adaptado ANGELO e JORGE, 2007.

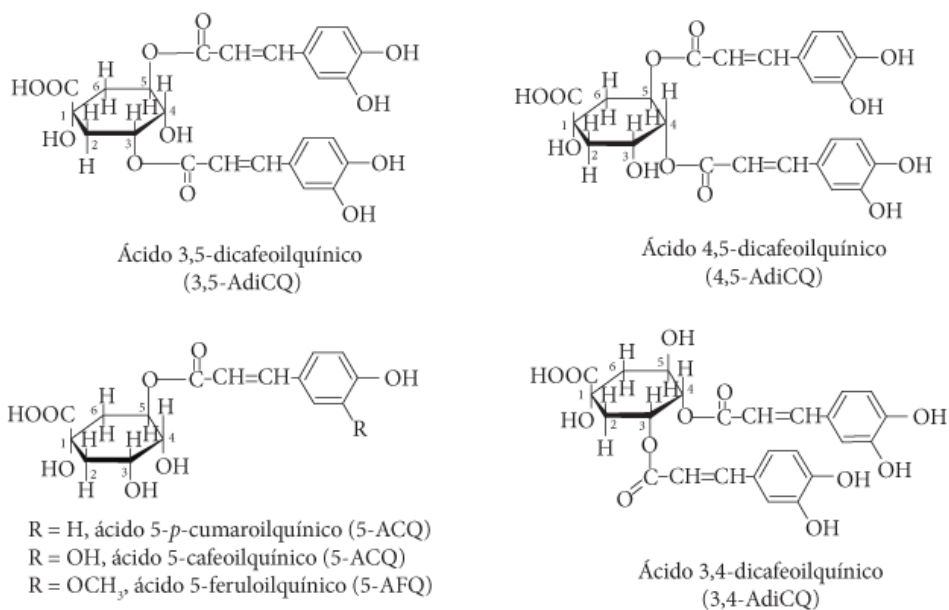
Os ésteres dos ácidos cafeico, cumárico e ferúlico são os principais compostos fenólicos não-flavonoides derivados dos ácidos de origem. Os ácidos hidroxibenzóicos incluem os ácidos gálico, protocatecuico, *p*-hidroxibenzóico, siríngico e vanílico. A maior parte da parte fenólica no café é o resultado da esterificação de uma a três moléculas de ácido *trans*-hidroxicinâmico e uma molécula de ácido quínico, formando a estrutura dos ácidos clorogênicos (Figura 4) (FARAH; DONANGELO, 2006). A Figura 5 mostra as estruturas dos principais ácidos clorogênicos presentes na bebida do café (MORAIS *et al.*, 2008).

Figura 4 - Estrutura química dos ácidos clorogênicos



Fonte: Adaptado de FARINHOTO, 2012.

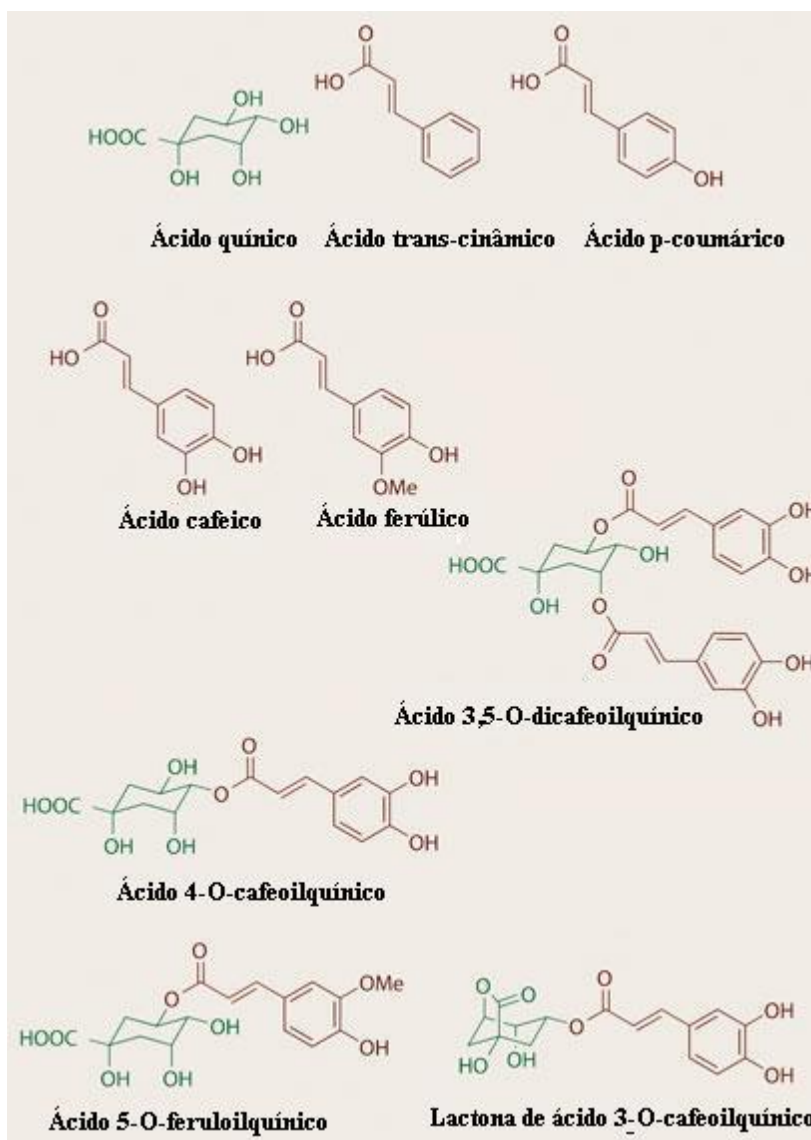
Figura 5 - Estrutura química dos ácidos clorogênicos principais



Fonte: Adaptado de MORAIS et al., 2008.

A Figura 6 apresenta as estruturas de ACG antioxidantes, que combinam ácidos fenólicos com ácido quínico em diferentes combinações.

Figura 6 - Estrutura química dos ácidos clorogênicos em diferentes combinações



Fonte: CABRERIZO, 2011.

3.4 Extração sólido-líquido

A compreensão do desempenho de diferentes técnicas de extração é crucial, pois isso influencia a extração dos constituintes do café e permite a escolha da técnica mais adequada para obter os compostos bioativos com maior rendimento (NATELLA *et al.*, 2002). A seleção da técnica de extração afeta diretamente a qualidade e a composição final dos extratos de produtos naturais. O rendimento e a composição dos extratos dependem tanto do solvente utilizado quanto do método de extração aplicado. A solubilidade do composto a ser extraído é afetada pela sua característica hidrofílica ou lipofílica, e a eficácia da extração também é

influenciada pela polaridade do solvente (MOURE *et al.*, 2001; TSAO; DENG, 2004; BISCAIA, 2007).

A extração de substâncias biologicamente ativas pode ser realizada por meio das técnicas de extração assistida por ultrassom e extração Soxhlet. Neste método são utilizados solventes orgânicos como etanol, hexano, diclorometano, acetato de etila, acetona, entre outros. A extração com solventes orgânicos é amplamente empregada nas indústrias química, farmacêutica e de alimentos para a produção de extratos (SCALIA; GIUFFREDA; PALLADO, 1999). A demanda global por tecnologias mais sustentáveis tem impulsionado estudos e aplicações industriais de métodos com rendimentos superiores e custos reduzidos (PERRUT, 2000).

3.5 Extração assistida por microondas

A extração assistida por microondas (microwave assisted extraction - MAE) é um método inovador que utiliza a energia de microondas em conjunto com um solvente para extrair compostos desejados de diversas matrizes. Esse método resulta em extratos mais concentrados em comparação com a extração convencional, devido à temperatura e pressão elevadas, que promovem a migração seletiva mais rápida dos compostos alvo do material. Além disso, ela permite uma redução significativa no consumo de solvente e no tempo de extração em comparação com os métodos convencionais (GAO, SONG; LIU, 2006; ZHOU; LIU, 2006; ROSTAGNO; PALMA; BARROSO, 2007; ZHANG; XU, 2007).

Microondas são ondas eletromagnéticas que consistem em um campo elétrico e um campo magnético. Essas ondas operam na faixa de frequência de 0,3 a 300 GHz, com comprimento de onda (λ) variando de 1 mm a 1 m (TSUKUI; REZENDE, 2014).

Na Tabela 4, são apresentados exemplos de solventes e técnicas de extração empregados na extração dos ácidos clorogênicos (ACG) a partir de grãos de café verde.

Tabela 4 - Técnicas de extração e solventes usados para obtenção dos ACG presente nos grãos do café verde

| Matéria Prima | Solvente | Técnica Extração | Compostos Extraídos | Referências |
|---------------------|---|--|-------------------------|--|
| Grãos de café verde | Etanol, metanol e água | Microondas | | Upadhyay; Ramalakshmi; Rao (2012) |
| | Água, metanol aquoso 70% (v/v) e isopropanol aquoso 60% (v/v) | Filtração à vácuo | ACG | Suarez-Quiroz et al., (2014) |
| | NADES | Extração assistida por ultrassom | ACG e cafeína | Yuniarti; Saputri; Mun'im (2019) Ahmad et al., (2021) Syakfanaya; Saputri; Mun'im (2019) |
| | Dióxido de carbono supercrítico e co-solventes | Aparato experimental de fluxo semi-contínuo com controle independente de temperatura e pressão | ACG, cafeína e lipídios | De azevedo <i>et al.</i> , (2008) |

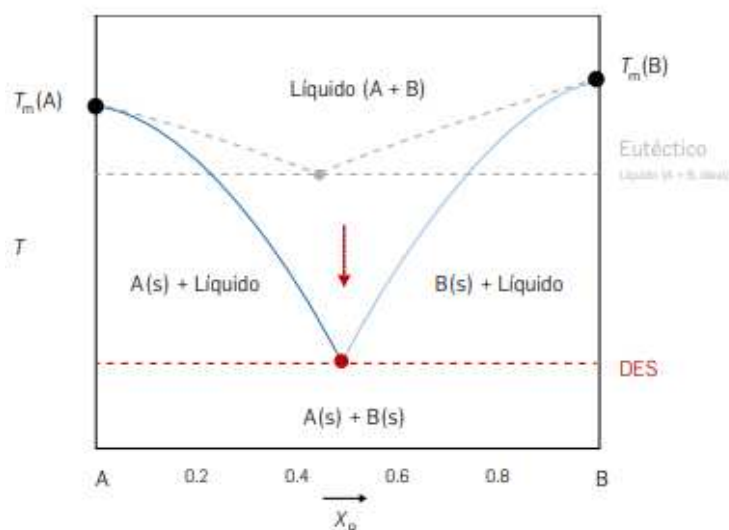
3.6 Solventes Eutéticos Profundos (DES)

O termo inglês ‘Deep Eutectic Solvents’ (DES), refere-se a misturas de dois solventes que apresentam um comportamento muito distante (“profundo”) da idealidade, visto que a mistura de substâncias tem um ponto de fusão inferior ao dos componentes individualmente (ABBOTT *et al.*, 2004). Esse grande abaixamento do ponto de fusão é atribuído à presença de ligações de hidrogênio intermoleculares entre as espécies que compõem os DES. Em sua formação é preciso ter um doador de ligação de hidrogênio (HBD) e um receptor de ligação de

hidrogênio (HBA), com sua mistura em proporções apropriadas onde é criada uma “rede” de moléculas associadas por ligações de hidrogênio com propriedades físico-químicas atrativas.

Na figura 7 são exibidos os diagramas de fase de misturas de dois componentes (A e B). O eixo vertical equivale a temperatura de equilíbrio para as diferentes composições no diagrama e o eixo horizontal representa a composição da mistura. Quando a diminuição da temperatura eutética é muito acentuada, como está apresentada no diagrama, temos um sistema eutético profundo.

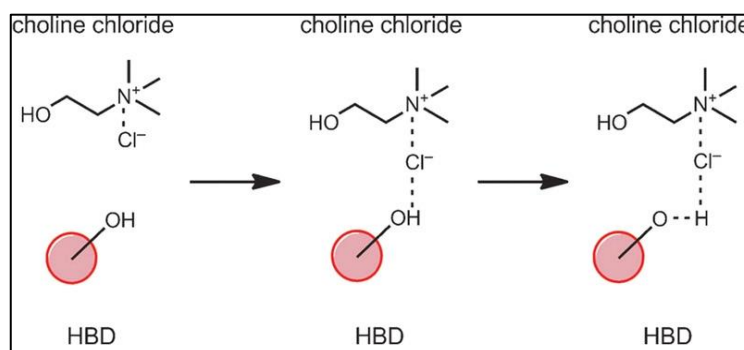
Figura 7 - Diagrama de fases demonstrando a formação do ponto eutético de duas substâncias



Fonte: Santos, 2017.

A Figura 8 também demonstra a obtenção de um DES, as ligações de hidrogênio ou as forças de van der Waals interferem na capacidade dos compostos iniciais de cristalizar. Os HBAs podem defender a carga quando na vizinhança de determinados HBDs, assim se obtém o solvente (LI; ROW, 2016).

Figura 8 - Interação de um HBD com o sal de amônio quaternário cloreto de colina



Fonte: Li; Row, 2016.

Este solvente possui alta capacidade de dissolução e baixa volatilidade, sendo conveniente para aplicações em processos químicos e biotecnológicos que demandam a remoção seletiva de compostos orgânicos ou inorgânicos de uma mistura complexa. Também são relativamente não tóxicos e ambientalmente seguros, tornando-o como uma alternativa atrativa aos solventes orgânicos convencionais. Por isso, o DES é priorizado para o uso em uma variedade de aplicações, como na extração de produtos naturais, separação de biomoléculas e síntese química (ZHANG *et al.*, 2012).

Para favorecer a formação do DES é apropriado selecionar solventes com baixa viscosidade (HUDDLESTON *et al.*, 1998; CUNHA; FERNANDES, 2018), pois a alta viscosidade dificulta sua utilização em processos que requisitam fluidez. Porém, pesquisas mostram que o uso de aditivos como a água soluciona esse obstáculo (SMITH; ABBOTT; RYDER, 2014; SKARPALEZOS; DETSI, 2019).

O preparo do DES pode ocorrer por diversos métodos, como por agitação em altas temperaturas (80°C), mistura assistida por ultrassom ou liofilização (LIU *et al.*, 2016). O método pode levar em consideração a rapidez, eficiência, o custo ou a limitação das propriedades dos reagentes.

3.7 Solventes Eutéticos Profundos Naturais (NADES)

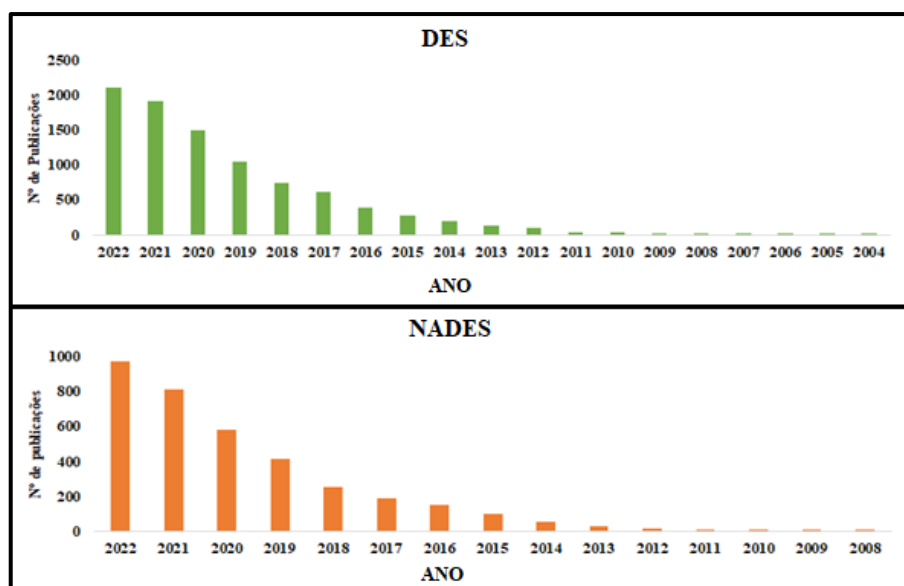
A extração de produtos naturais por solvente eutético profundo natural (NADES) deriva-se dos DES que são solventes formados apenas por compostos de origem natural. O NADES apresenta baixo custo, baixa pressão de vapor, além da capacidade de eliminação da

necessidade de recuperação de solvente, pois pode permanecer em um produto final consumível. O NADES pode ser formado a partir de fontes verdes, como álcoois, açúcares, ácidos orgânicos, sais quaternários de amônio naturais (CRAVEIRO *et al.*, 2016; FERNÁNDEZ *et al.*, 2018), polar ou apolar, hidrofílico ou hidrofóbico e adaptado para qualquer situação com a máxima eficiência (SKARPALEZOS; DETSI, 2019). Também apresenta facilidade de solubilização, maior degradabilidade, grande faixa de polaridade, inflamabilidade e toxicidade reduzidas comparadas aos solventes orgânicos tradicionais.

A literatura relata estudos sobre extração de grãos do café verde utilizando o NADES para a extração de ACG (YUNIARTI *et al.*, 2019; YUNIARTI; SAPUTRI; MUN'IM, 2019; SYAKFANAYA; SAPUTRI; MUN'IM, 2019; AHMAD *et al.*, 2021). De acordo com os princípios da Química Verde, os NADES possuem vantagens como facilidade operacional, aplicação de reagentes não voláteis e emprego de menores volumes de solvente extrator, sendo considerado uma possibilidade válida aos métodos convencionais de preparo da amostra (LENARDÃO *et al.*, 2003).

O DES e o NADES vem demonstrando eficiência como solventes de extração em diversos procedimentos de preparação de amostras. De acordo com a pesquisa de literatura no Web Science Clarivate, indica um total de 9744 referências sobre DES e 3885 sobre NADES (Figura 9). Desde 2012 o número de publicações aumentou consideravelmente, chegando a 3088 em 2022.

Figura 9 - Tendência temporal da aplicação do DES e NADES na literatura



Fonte: O AUTOR, 2023.

4 METODOLOGIA

4.1 Preparação dos grãos para extração

O estudo foi realizado com o fruto do café verde, da espécie *Coffea arabica* coletados na cidade de Viçosa, Minas Gerais. Os frutos foram pré-selecionados com base em sua qualidade, higienizados e sanitizados para remover sujidades como terra e folhas, e em seguida moídos. A biomassa resultante foi peneirada para padronizar o tamanho a uma faixa de 24 a 28 mesh (700 a 600 micra), foi armazenada em um dessecador para evitar absorção de umidade e aguardar até o momento da extração.

Figura 10 - Fruto do café



Fonte: O AUTOR, 2021.

Figura 11 - Equipamento comercial para padronização de tamanho da biomassa



Fonte: O AUTOR, 2022.

4.2 Caracterização físico-química

4.2.1 Cinzas

O teor de cinzas (T_c) foi determinado por análise termogravimétrica. Os grãos de café verde foram separados manualmente e pesados em duas amostras, com aproximadamente 5 g cada na balança Analítica Bel M214-AIH. Em seguida, as amostras foram transferidas para cápsulas de porcelana (cadinhos de laboratório) utilizadas para queima, fusão ou mistura de compostos sólidos em um queimador.

As amostras foram carbonizadas em um forno mufla modelo Quimis, com temperatura máxima de 550 °C. Foi avaliada a variação de massa em função da temperatura até que a massa atingisse um estado constante. Após a carbonização, as cinzas foram removidas da mufla, resfriadas até atingirem a temperatura ambiente e pesadas em uma balança analítica para determinar o rendimento. Os resultados foram expressos em % (m/m) utilizando a equação (1).

$$T_c = \frac{m_1 - m_2}{m_3} \times 100 \quad (1)$$

onde:

m_1 : é a massa da cápsula com cinza (g); m_2 : é a tara da cápsula (g) e m_3 é a massa da amostra (g).

Figura 12 - Processo de combustão dos grãos de café verde



Fonte: O AUTOR, 2022.

4.2.2 Lipídios

O teor lipídico nos grãos de café foi determinado utilizando um método gravimétrico. Realizou-se a extração em Soxhlet com etanol (98%) como solvente, seguida pela evaporação do solvente e pesagem do óleo obtido. Utilizou-se 5 g da matéria-prima, que foi transferida para um cartucho de celulose. O cartucho foi colocado em um extrator Soxhlet contendo 150 mL de solvente, que foi refluxado por 4 horas para obter o óleo de café. As análises foram realizadas em duplicata, e o resultado foi expresso como a porcentagem de lipídios totais presentes nas amostras, calculada de acordo com a equação (2).

$$\text{Rendimento lipídios totais \%} = \frac{\text{Massa do óleo (g)}}{\text{massa de café da amostra (g)}} \times 100$$

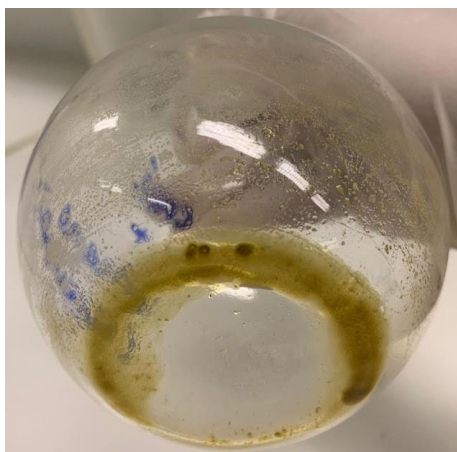
(2)

Figura 13 - Sistema de extração no Soxhlet para obtenção de lipídios



Fonte: O AUTOR, 2022.

Figura 14 - Obtenção de lipídios presente nos grãos de café verde



Fonte: O AUTOR, 2022.

4.3 Preparo dos NADES

Os compostos utilizados para preparação dos NADES foi: Cloreto de colina [Ch]Cl como HBA e ácidos carboxílicos e álcoois como HBD, como ácido láctico (AL), ácido cítrico (AC) e ácido oxálico (AO).

Os NADES foram pesados diretamente em um frasco, evitando a exposição à umidade do ar, de acordo com a proporção indicada na Tabela 5. Em seguida, os componentes foram misturados em um recipiente, aquecidos a 80 °C com agitação até formarem um líquido homogêneo e incolor (DAI *et al.*, 2013; DURAND *et al.*, 2013; RUESGAS-RAMÓN *et al.*, 2020). Os solventes obtidos foram armazenados em um dessecador com sílica gel até o uso.

Tabela 5 - Reagentes e proporções usadas para preparo do NADES

| Reagentes | Razão Molar |
|--------------------------------------|-------------|
| [Ch]Cl + Ácido Cítrico Anidro + Água | 2:1:6 |
| [Ch]Cl + Ácido Láctico 85% | 1:1 |
| [Ch]Cl + Ácido Oxálico Cristal | 1:1 |

Figura 15 - Solvente NADES



Fonte: O AUTOR, 2022.

4.4 Solventes convencionais para testes comparativos com NADES

Para comparar o rendimento com os NADES, foram selecionados solventes convencionais, como o etanol (98%). O etanol é uma opção interessante, pois é de origem vegetal e suas matérias-primas são abundantes no Brasil, como a cana-de-açúcar. Além disso, o etanol pode ser facilmente recuperado e reutilizado, o que reduz os custos. É um solvente seguro, pois possui menor grau de inflamabilidade e não gera resíduos tóxicos (PRADO, 2014; GABRIEL et al., 2020). Outro solvente utilizado foi o acetato de etila.

4.5 Planejamento experimental

Para otimizar a extração de compostos fenólicos no grão de café verde, foi aplicada a metodologia de superfície de resposta (MRS) com um planejamento composto central rotacional (DCCR) de cinco níveis e três variáveis (temperatura, razão sólido/solvente e fração de água no solvente). Foram realizados 17 experimentos, sendo 8 pontos fatoriais (+1 e -1), 6 pontos axiais (+ α e - α) e 3 repetições no ponto central. A variável resposta foi a concentração dos compostos fenólicos totais avaliada por Espectrofotometria UV-Vis. Os níveis e variáveis testadas estão apresentados na Tabela 6, e os ensaios estão listados na Tabela 7, que representa a matriz de contraste dos coeficientes codificados e decodificados do delineamento proposto, que são as condições experimentais dos ensaios. Essa análise

considerou o efeito multifatorial das variáveis: temperatura, razão sólido/solvente e concentração de água no solvente.

Tabela 6 - Variáveis e níveis dos fatores do planejamento experimental

| Variáveis | Níveis | | | | |
|--------------------------------|--------|-----|-------|------|------|
| | -1,68 | -1 | 0 | 1 | 1,68 |
| Temperatura °C | 53,2 | 60 | 70 | 80 | 86,8 |
| Razão sólido/solvente | 0,049 | 0,1 | 0,175 | 0,25 | 0,30 |
| Concentração de água/ solvente | 16,5 | 25 | 37,5 | 50 | 58,5 |

Tabela 7 - Planejamento experimental com ensaios

| Ensaio | Decodificada | | | Codificada | | |
|--------|------------------|-----------------------|------------------------|------------------|-----------------------|------------------------|
| | Temperatura (°C) | Razão sólido/solvente | Conc. de água/solvente | Temperatura (°C) | Razão sólido/solvente | Conc. de água/solvente |
| 1 | 60 | 0,10 | 25 | -1 | -1 | -1 |
| 2 | 60 | 0,25 | 50 | -1 | 1 | 1 |
| 3 | 80 | 0,10 | 50 | 1 | -1 | 1 |
| 4 | 80 | 0,25 | 25 | 1 | 1 | -1 |
| 5 | 60 | 0,10 | 50 | -1 | -1 | 1 |
| 6 | 60 | 0,25 | 25 | -1 | 1 | -1 |
| 7 | 80 | 0,10 | 25 | 1 | -1 | -1 |
| 8 | 80 | 0,25 | 50 | 1 | 1 | 1 |
| 9 | 53,27 | 0,18 | 37,5 | -1,67 | 0 | 0 |
| 10 | 86,73 | 0,18 | 37,5 | 1,67 | 0 | 0 |
| 11 | 70 | 0,05 | 37,5 | 0 | -1,67 | 0 |
| 12 | 70 | 0,30 | 37,5 | 0 | 1,67 | 0 |
| 13 | 70 | 0,18 | 16,58 | 0 | 0 | -1,67 |
| 14 | 70 | 0,18 | 58,42 | 0 | 0 | 1,67 |
| 15 | 70 | 0,18 | 37,5 | 0 | 0 | 0 |
| 16 | 70 | 0,18 | 37,5 | 0 | 0 | 0 |
| 17 | 70 | 0,18 | 37,5 | 0 | 0 | 0 |

A análise dos dados para o ensaio foi conduzida no software StatSoft Statistica®, versão 7.0. O planejamento fatorial permite a análise simultânea de vários fatores

independentes e mais de uma resposta. Foi utilizado um modelo quadrático para ajustar aos dados experimentais, segundo a equação (3).

$$y(x) = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{123} X_1 X_2 X_3 \quad (3)$$

onde:

y é a resposta modelo; $X_1 X_2 X_3$ são valores codificados dos fatores e $\beta_1, \beta_2, \beta_3, \beta_{12}, \beta_{13}, \beta_{23}, \beta_{123}$, são coeficientes constante, linear, quadrático e interações respectivamente.

Os ensaios foram realizados com base no planejamento proposto para encontrar as melhores condições de extração. Os experimentos foram conduzidos em ordem randômica para reduzir variações na resposta devido a fatores externos. Os efeitos das variáveis foram calculados e os coeficientes e erros correspondentes foram atribuídos. O teste t de Student foi aplicado para determinar os parâmetros estatísticos da regressão, com um nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

4.6 Extração sólido-líquido assistida por microondas

Os experimentos iniciais foram conduzidos em duplicata. A matéria-prima foi padronizada com um tamanho de partícula de 24-28 mesh e misturada de acordo com a proporção sólido-solvente estabelecida no planejamento experimental. Para a extração, foi utilizado o método de Yuniarti, Saputri e Mun'im (2019) com adaptações. As amostras foram submetidas à extração assistida por microondas (MAE) utilizando um equipamento modelo Discovery System nº 908005, série nº DU9203, Matthews, NC, Estados Unidos. O equipamento foi configurado para operar a uma potência de 30 W, durante 5 minutos para cada amostra. Após o aquecimento, as amostras foram resfriadas à temperatura ambiente, centrifugadas e o extrato sobrenadante foi coletado.

Esse extrato corresponde à primeira etapa de extração, na qual os fenólicos totais do planejamento mencionado anteriormente foram caracterizados e o ponto ótimo de extração dos solventes verdes foi determinado. O software StatSoft Statistica© foi utilizado para determinar o ponto ótimo.

Na segunda etapa, utilizou-se o ponto ótimo previamente determinado para realizar uma nova extração com NADES. Nessa etapa, foram quantificados os fenólicos totais, a atividade antioxidante e a concentração de ACG com o objetivo de maximizar a eficiência do experimento e obter resultados mais precisos e significativos.

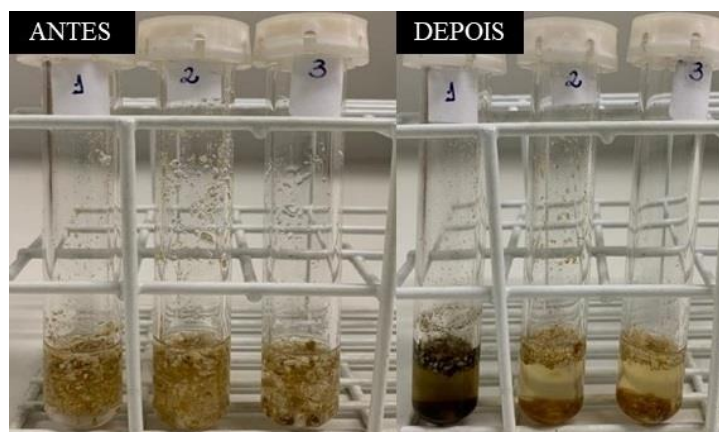
Posteriormente, realizou também a extração com solventes convencionais, seguindo um procedimento similar ao utilizado na extração com os NADES. Foram empregadas as mesmas condições e parâmetros para garantir uma comparação adequada.

Figura 16 - Equipamento de extração microondas



Fonte: O AUTOR, 2022.

Figura 17 - Amostras antes e após extração



Fonte: O AUTOR, 2022.

Figura 18 - Obtenção do extrato sobrenadante



Fonte: O AUTOR, 2022.

4.7 Caracterização dos extratos por espectrofotometria UV-Vis

As amostras com seus respectivos extratos, foram analisadas utilizando um espectrofotômetro UV-Vis (Modelo: SP1105 SPECTROPHOTOMETER - P/NO KJ1B09091811). Realizaram-se análises para quantificar os fenólicos totais, ACG e AA presentes nos extratos.

Na primeira etapa, os extratos foram caracterizados apenas em relação aos fenólicos totais, com o objetivo de obter as concentrações necessárias para inserção no software e determinação do ponto ótimo de extração dos NADES.

Na segunda etapa, os extratos foram analisados para quantificar os fenólicos totais, a atividade antioxidante e a concentração de ACG, de acordo com os pontos ótimos estabelecidos. Em seguida, procedeu-se à quantificação dos solventes convencionais, a fim de comparar os resultados com aqueles obtidos utilizando NADES.

4.7.1 Compostos fenólicos

A determinação do teor de compostos fenólicos totais (FT) baseia-se na redução do reagente de Folin-Ciocalteu, composto por ácido fosfomolibdico ($H_3PMo_{12}O_{40}$) e ácido fosfotúngstico ($H_3PW_{12}O_{40}$), realizada pelos compostos fenólicos presentes na amostra. Isso gera uma mistura de óxidos azuis de tungstênio (W_8O_{23}) e molibdênio (Mo_8O_{23}) com coloração azul (OIV, 2021). A quantificação dos compostos redutores é feita por colorimetria

(Figura 19), medindo a intensidade da cor desenvolvida em um comprimento de onda de 760 nm. A reação ocorre em meio alcalino com a adição de carbonato de sódio (Na_2CO_3) (CHEN; HUANG; HUANG, 2005; MAGALHÃES et al., 2010; ABRAMOVIČ et al., 2015).

Para a determinação dos compostos fenólicos, utilizou-se o método de Singleton e Rossi (1965) com adaptações. Em tubos de ensaio, foram adicionados 100 μL da amostra, diluída na proporção de 1:10, juntamente com 4,5 mL de água destilada, 100 μL do reagente Folin-Ciocalteu não diluído e 300 μL de uma solução de carbonato de sódio a 10% (m/V). As soluções foram misturadas em um agitador vórtex warmnest (VX-38) e armazenadas no escuro, à temperatura ambiente, por 2 horas. A leitura das amostras foi realizada em um espectrofotômetro (Modelo: SP1105 SPECTROPHOTOMETER – P/NO KJ1B09091811) a 760 nm, utilizando um branco preparado da mesma forma, substituindo a amostra por água destilada. Como padrão, utilizou-se o ácido gálico em concentrações de 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350 e 500 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ para construir a curva de calibração. A partir da equação da reta obtida na curva do gráfico do padrão ácido gálico, calculou-se a concentração de FT.

Figura 19 - Reação com coloração azul para construção da curva de calibração de FT



Fonte: O AUTOR, 2022.

4.7.2 Ácidos clorogênicos (ACG)

4.7.2.1 Curva de calibração dos ACG

O método de Navarra et al. (2017) foi utilizado com adaptações para determinar o teor de ACG. O padrão químico dos ácidos clorogênicos da Sigma-Aldrich (C3878-250MG) foi utilizado para preparar a solução padrão, utilizando uma solução de etanol a 70% e água

destilada. O padrão químico de ACG foi dissolvido em etanol (70%) a uma concentração de 100 mg. L⁻¹ para a solução de estoque, e foram preparadas soluções em diferentes concentrações, variando de 1 a 15 mg. L⁻¹, para construir a curva de calibração usando o Microsoft 365® Excel. As absorvâncias foram medidas em um espectrofotômetro (Modelo: SP1105 SPECTROPHOTOMETER – P/NO KJ1B09091811) em um comprimento de onda de 326 nm.

4.7.2.2 Análise dos ACG nos extratos

Com a obtenção da curva, os extratos foram diluídos em etanol 70% para leitura no espectrofotômetro. As medições foram feitas usando cubetas de quartzo com o passo de 10 mm. A concentração de ACG foi determinada usando a lei de Lambert-Beer no comprimento de onda de 326 nm. O teor de ACG nos grãos de café verde foi calculado utilizando a equação obtida na curva de calibração dos ACG padrão, conforme equações (4) e (5) (DADO; ASRESAHEGN; GOROYA, 2019).

$$\text{Teor de ACG (mg)} = \frac{C_{ACG} \left(\frac{mg}{L}\right) \times \text{Volume total da amostra (mL)}^2}{\text{Volume de amostra medida (mL)} \times 1000} \quad (4)$$

$$\text{Teor de ACG \%} = \frac{\text{Massa calculada}_{ACG} (mg)}{\text{Massa da amostra de café medida (mg)}} \times 100 \quad (5)$$

4.7.3 Atividade antioxidante (AA)

A análise da atividade sequestrante de radicais livres DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) foi realizada com base nos métodos de Lopes-Lutz et al. (2008) e Abrahão et al. (2010), com modificações. Preparou-se uma solução de DPPH em metanol na concentração de 6,0.10⁻⁵ (mol. L⁻¹), utilizando banho ultrassônico (Modelo: 521 – 3D n° série: 18988/09 cod: BAN.521.0302) para completa dissolução. Em seguida, foi preparado o controle negativo

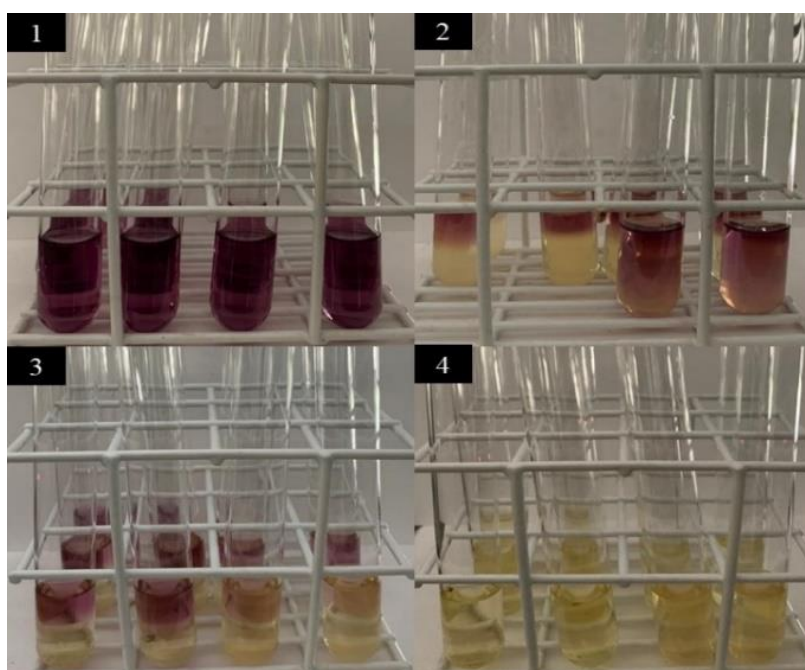
contendo a solução de DPPH e o NADES, seguido de agitação e leitura no espectrofotômetro UV/Vis a 517 nm. Para a avaliação da atividade, adicionou-se 4 mL da solução de DPPH e 100 µL do extrato em tubos de ensaio, agitando-os. A Figura 20 exibe as etapas que antecedeu as caracterizações. Após 30 minutos, realizaram-se leituras no espectrofotômetro. A diminuição na absorbância indica atividade sequestrante de radicais livres. Os testes foram realizados em duplicata e a atividade antioxidante (AA%) foi calculada usando a equação (6):

$$\% AA = \frac{Ac - At}{Ac} \times 100 \quad (6)$$

onde:

Ac: absorbância do controle e At: absorbância do teste (amostra).

Figura 20 - Etapas das amostras para caracterização da atividade antioxidante



Fonte: O AUTOR, 2022.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A Figura 21 apresenta a representação visual do grão de café verde utilizado nesta pesquisa após o processo de trituração e padronização do tamanho da biomassa a uma faixa de 24 a 28 mesh. Em seguida, as amostras foram submetidas a análises físico-químicas.

Figura 21 – Grãos do café verde após a cominuição



Fonte: O AUTOR, 2022.

A tamisação oferece vantagens pois permite a separação de partículas em diferentes faixas de tamanho e obtém frações específicas de material. Ela também é rápida e eficiente, não requer o uso de produtos químicos, sendo uma opção segura e ambientalmente amigável. Pode ser aplicada em uma ampla variedade de materiais, desde partículas sólidas até produtos granulares e em pó. Essa separação possibilita a extração seletiva de componentes desejados, controla o fluxo durante a extração, maximiza a área de superfície disponível e garante a padronização e reprodutibilidade dos resultados (BONIATTI *et al.*, 2013).

5.1 Cinzas

A determinação do teor de cinzas da amostra de café apresentou o valor de 3,92%, este resultado está dentro da faixa encontrada na literatura, considerando os erros experimentais onde são relatados valores entre 4,0 e 6,3% base seca para as espécies de café verde (CLARKE; WALKER, 1985; FRANCA; MENDONÇA; OLIVEIRA, 2005;

VASCONCELOS *et al.*, 2005; OLIVEIRA *et al.*, 2006; DO VALE *et al.*, 2007; ISMAIL; ANUAR; SHAMSUDIN, 2013). A análise do teor de cinzas é de grande importância na caracterização de cafés, uma vez que está relacionada à presença de diferentes minerais na matéria orgânica, como potássio, cálcio, zinco, ferro, fósforo, cobre, sódio, magnésio e traços de iodo e flúor, entre outros, que podem aumentar o teor de cinzas. É válido ressaltar que o conteúdo mineral presente nos cafés pode contribuir para a manutenção da saúde humana, visto que minerais como o potássio e o magnésio auxiliam na preservação da densidade mineral óssea (TUCKER *et al.*, 1999; ISMAIL; ANUAR; SHAMSUDIN, 2013).

5.2 Lipídios

O teor de lipídios presente no café verde obtido por extração com etanol foi de 13,08%. O resultado se encontrou próximo ao limite da faixa reportada na literatura que varia de 9 a 15% (FOLSTAR, 1985; MAZZAFERA *et al.*, 1998; NOGAIM *et al.*, 2013; CAPORASO *et al.*, 2018). Na fração lipídica do café estão presentes os triacilgliceróis, esteróis e tocoferóis. Além disso, os diterpenos estão presentes em proporções de até 20% do total de composto químico lípido. Os diterpenos são metabólitos secundários de relevância por seus efeitos analíticos e fisiológicos (SPEER; KÖLLING-SPEER, 2006; NOGAIM *et al.*, 2013).

Diante do resultado alcançado, constatou-se que o etanol é um solvente adequado para a extração de lipídios a partir dos grãos de café verde. Vale ressaltar que, no Brasil, o etanol tem sido cada vez mais utilizado devido ao avanço tecnológico no processo de produção em larga escala desse solvente, o qual apresenta vantagens como ser atóxico, renovável e não depende do mercado internacional do petróleo. Nesse sentido, o etanol é considerado um solvente com menor impacto ambiental e adequado para a extração de óleos vegetais, devido a sua baixa polaridade em relação à água. É importante ressaltar que o valor de polaridade é um fator determinante para a solubilidade de um solvente em determinadas substâncias, e, portanto, quanto menor a polaridade, maior será a afinidade lipídica do solvente (CARVALHO, 2001; LAGO; FREITAS, 2006).

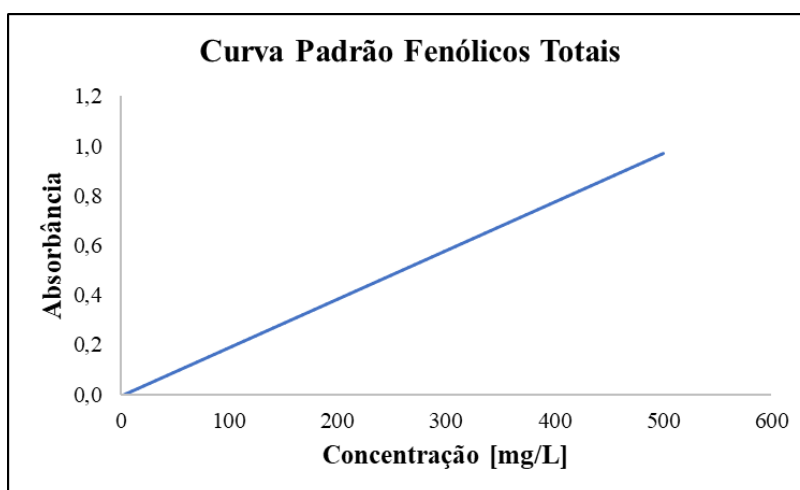
5.3 Curva de calibração dos FT e ACG

Os resultados foram representados graficamente nas Figuras 21 e 22. Apresentando os coeficientes de determinação (R^2) de 0,9937 e 0,9997 para FT e ACG, respectivamente. As equações (7) e (8) foram derivadas dos dados obtidos e utilizadas para determinar as concentrações de FT e ACG em solução aquosa nos experimentos deste estudo.

$$y = 0,0019x - 0,0056 \quad (7)$$

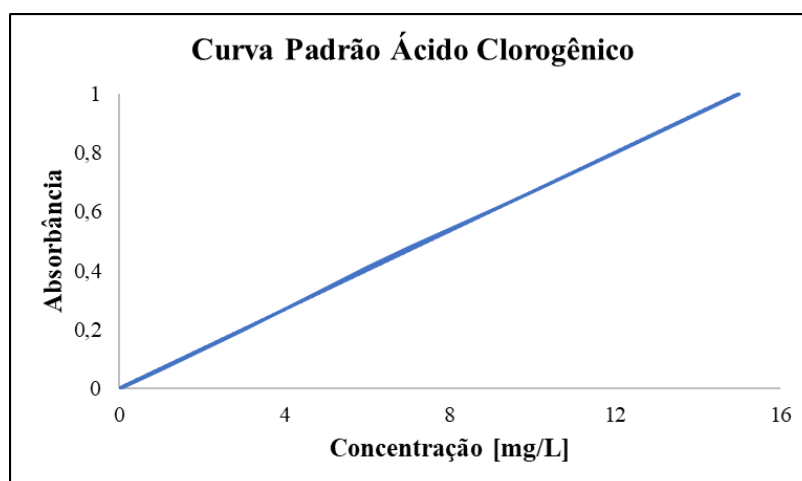
$$y = 0,0667x - 0,0018 \quad (8)$$

Figura 22 - Curva de calibração para determinação de FT



Fonte: O AUTOR, 2022.

Figura 23 - Curva de calibração para determinação padrão dos ácidos clorogênicos



Fonte: O AUTOR, 2022.

5.4 Eficiência dos solventes no processo de extração de compostos fenólicos

Os ensaios foram conduzidos de acordo com o planejamento experimental, onde os solventes listados na seção 4.3 foram analisados para identificar aqueles com maior capacidade de extração dos fenólicos totais. Na triagem, foram utilizadas as condições de extração descritas na seção 4.5 e os resultados, apresentados na Tabela 8, indicam as concentrações dos fenólicos totais após análise no espectrofotômetro. Baseado nos resultados obtidos, que representam as respostas inseridas no software, determinou-se o ponto ótimo para a extração e realizaram-se experimentos de validação para avaliar a adequação do modelo preditivo de extração.

Tabela 8 - Concentração de Fenólicos Totais presente na extração do café com diferentes combinações de NADES

| Ensaio | Temperatura (°C) | Razão sólido/solvente | Conc. de água/solvente | Conc. [Ch]Cl:AO (g. L ⁻¹) | Conc. [Ch]Cl:AC (g. L ⁻¹) | Conc. [Ch]Cl:AL (g. L ⁻¹) |
|--------|------------------|-----------------------|------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| 1 | 60 | 0,1 | 25 | 1,93 | 1,42 | 1,82 |
| 2 | 60 | 0,25 | 50 | 4,35 | 3,47 | 3,69 |
| 3 | 80 | 0,1 | 50 | 2,36 | 1,72 | 1,92 |
| 4 | 80 | 0,25 | 25 | 3,99 | 3,09 | 3,33 |
| 5 | 60 | 0,1 | 50 | 2,54 | 2,11 | 1,65 |

| | | | | | | |
|----|-------|------|-------|------|------|------|
| 6 | 60 | 0,25 | 25 | 3,75 | 3,68 | 2,7 |
| 7 | 80 | 0,1 | 25 | 2,01 | 2 | 1,51 |
| 8 | 80 | 0,25 | 50 | 4,42 | 3,7 | 3,84 |
| 9 | 53,27 | 0,18 | 37,5 | 2,96 | 3,07 | 2,27 |
| 10 | 86,73 | 0,18 | 37,5 | 3,24 | 3,76 | 2,72 |
| 11 | 70 | 0,05 | 37,5 | 0,95 | 0,98 | 0,88 |
| 12 | 70 | 0,3 | 37,5 | 4,33 | 4,55 | 3,37 |
| 13 | 70 | 0,18 | 16,58 | 2,35 | 2,17 | 1,65 |
| 14 | 70 | 0,18 | 58,42 | 2,94 | 2,51 | 2,8 |
| 15 | 70 | 0,18 | 37,5 | 2,62 | 2,56 | 2,54 |
| 16 | 70 | 0,18 | 37,5 | 3,5 | 3,02 | 2,65 |
| 17 | 70 | 0,18 | 37,5 | 3,52 | 2,49 | 2,31 |

5.5 Planejamento experimental

Ao extrair compostos de interesse de matrizes naturais, é essencial ter conhecimento da natureza e estabilidade do componente alvo. Com base nisso, para obter uma extração eficiente e maximizar seu potencial extrativo, é fundamental analisar as variáveis envolvidas no processo, como temperatura, razão sólido/solvente e concentração de solvente. Nesse estudo, a análise dessas variáveis possibilitou uma extração mais rentável, permitindo identificar a influência individual de cada uma delas e das suas interações no processo extrativo.

A MRS consiste na criação de um modelo de regressão que descreve a relação entre as variáveis independentes e a variável de resposta. Esse modelo permite visualizar o comportamento e identificar a combinação ideal das variáveis independentes para otimizar a resposta. Com base nessa abordagem, é possível determinar o ponto ótimo das variáveis independentes que resultará na resposta desejada (NOVAES et al., 2017).

5.5.1 Otimização do rendimento de extração dos FT

A influência da relação entre a variável dependente (concentração fenólicos totais) com as variáveis independentes (temperatura, razão sólido/solvente e concentração de solvente) para a extração de compostos fenólicos totais estão ilustradas no diagramas de Pareto nas Figuras 23, 24, 25, demonstrando os efeitos do processo extrativo com as diferentes combinações de cloreto de colina: ácido oxálico [Ch]Cl:AO, cloreto de colina: ácido cítrico [Ch]Cl:AC e cloreto de colina: ácido láctico [Ch]Cl:AL, respectivamente. Os termos lineares são descritos pela letra L e os termos quadráticos pela letra Q. E, a significância dos efeitos destacados em negrito foi obtida pelo teste t apresentado na Tabela 9, 10 e 11, acompanhado do intervalo de confiança e o erro puro.

Figura 24 - Influência das variáveis e de suas interações sobre as variáveis de resposta no processo de extração de FT no grão de café verde utilizando [Ch]Cl:AO

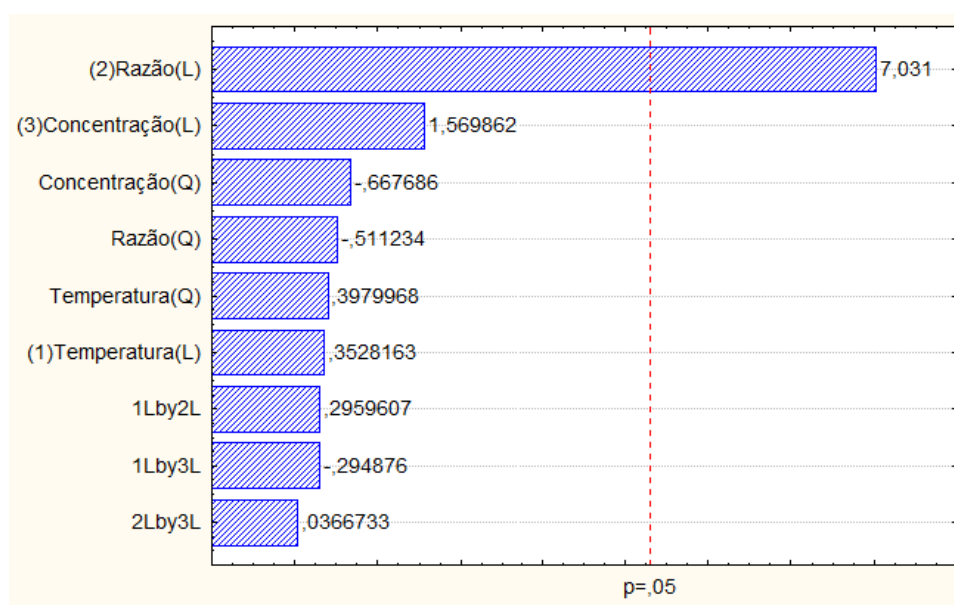


Tabela 9 - Estimativa dos coeficientes de regressão do modelo para as variáveis resposta compostos fenólicos totais das extrações com NADES [Ch]Cl:AO

| Fatores | Efeito | Erro Puro | t (2) | p | Intervalo de confiança (-) | Intervalo de confiança (+) |
|----------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|----------------------------|----------------------------|
| Intercepto | 3,113 | 0,296 | 10,531 | 0,009 | 1,841 | 4,385 |
| (1) Temperatura (L) | 0,098 | 0,278 | 0,353 | 0,758 | -1,098 | 1,295 |
| Temperatura (Q) | 0,122 | 0,307 | 0,398 | 0,729 | -1,199 | 1,444 |
| (2) Razão (L) | 1,957 | 0,278 | 7,031 | 0,020 | 0,759 | 3,154 |
| Razão (Q) | -0,158 | 0,310 | -0,511 | 0,660 | -1,492 | 1,175 |
| (3) Concentração (L) | 0,437 | 0,278 | 1,570 | 0,257 | -0,760 | 1,633 |

| | | | | | | |
|------------------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|
| Concentração (Q) | -0,205 | 0,307 | -0,668 | 0,573 | -1,526 | 1,116 |
| 1L e 2L | 0,107 | 0,362 | 0,296 | 0,795 | -1,450 | 1,665 |
| 1L e 3L | -0,107 | 0,362 | -0,295 | 0,796 | -1,666 | 1,452 |
| 2L e 3L | 0,013 | 0,362 | 0,037 | 0,974 | -1,544 | 1,571 |

Figura 25 - Influência das variáveis e de suas interações sobre as variáveis de resposta no processo de extração de FT no grão de café verde utilizando [Ch]Cl:AC

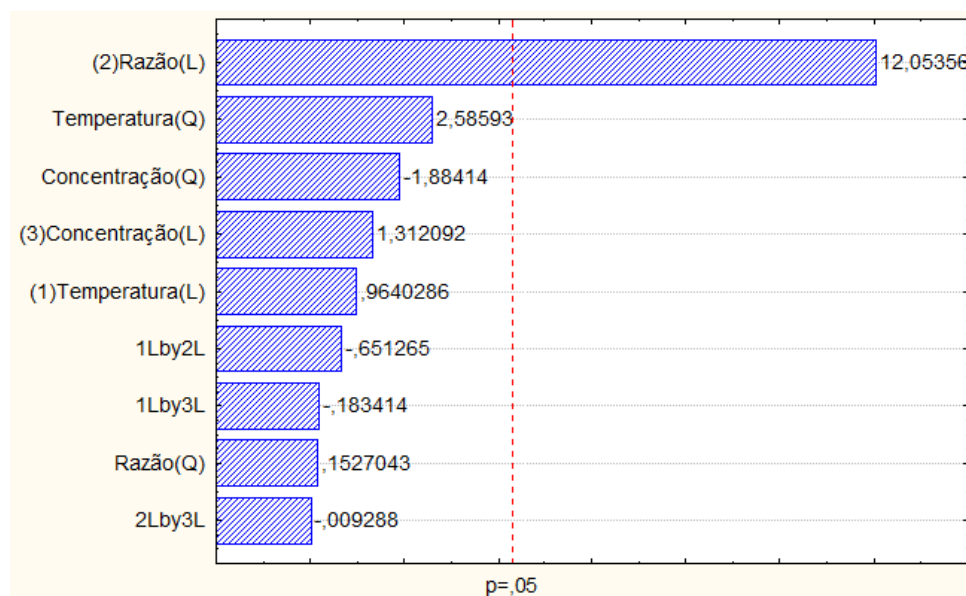


Tabela 10 - Estimativa dos coeficientes de regressão do modelo para as variáveis resposta compostos fenólicos totais das extrações com NADES [Ch]Cl:AC

| Fatores | Efeito | Erro Puro | t (2) | p | Intervalo de confiança (-) | Intervalo de confiança (+) |
|----------------------|--------------|--------------|---------------|--------------|----------------------------|----------------------------|
| Intercepto | 2,639 | 0,165 | 16,017 | 0,004 | 1,930 | 3,348 |
| (1) Temperatura (L) | 0,149 | 0,155 | 0,964 | 0,437 | -0,517 | 0,816 |
| Temperatura (Q) | 0,443 | 0,171 | 2,586 | 0,123 | -0,294 | 1,179 |
| (2) Razão (L) | 1,870 | 0,155 | 12,054 | 0,007 | 1,202 | 2,537 |
| Razão (Q) | 0,026 | 0,173 | 0,153 | 0,893 | -0,717 | 0,770 |
| (3) Concentração (L) | 0,203 | 0,155 | 1,312 | 0,320 | -0,463 | 0,870 |
| Concentração (Q) | -0,322 | 0,171 | -1,884 | 0,200 | -1,059 | 0,414 |
| 1L e 2L | -0,131 | 0,202 | -0,651 | 0,582 | -1,000 | 0,737 |
| 1L e 3L | -0,037 | 0,202 | -0,183 | 0,871 | -0,906 | 0,832 |
| 2L e 3L | -0,002 | 0,202 | -0,009 | 0,993 | -0,870 | 0,866 |

Figura 26 - Influência das variáveis e de suas interações sobre as variáveis de resposta no processo de extração de FT no grão de café verde utilizando [Ch]Cl:AL

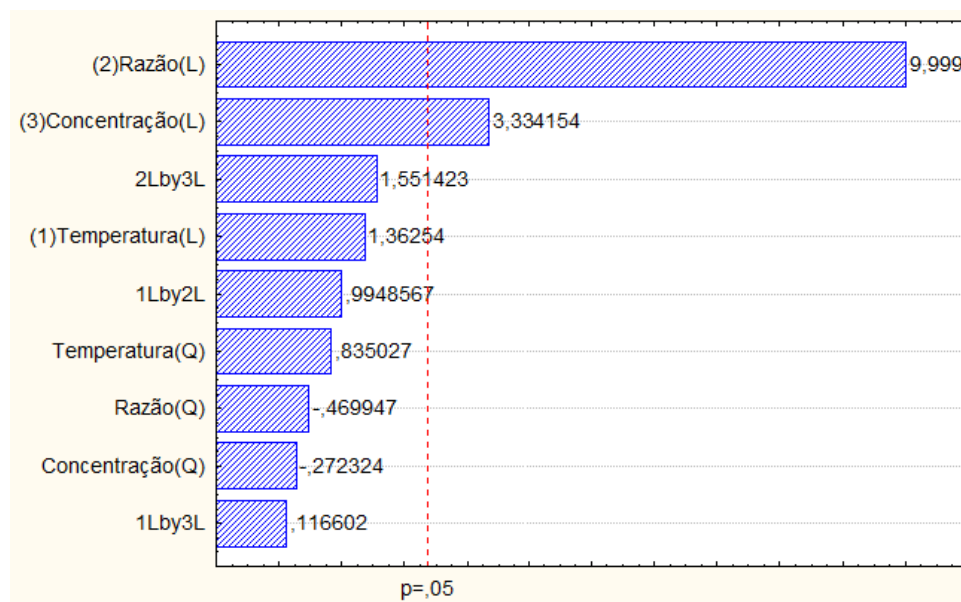


Tabela 11 - Estimativa dos coeficientes de regressão do modelo para as variáveis resposta compostos fenólicos totais das extrações com NADES [Ch]Cl:AL

| Fatores | Efeito | Erro Puro | t (2) | p | Intervalo de confiança (-) | Intervalo de confiança (+) |
|-----------------------------|--------------|--------------|---------------|--------------|----------------------------|----------------------------|
| Intercepto | 2,421 | 0,100 | 24,156 | 0,002 | 1,990 | 2,852 |
| (1) Temperatura (L) | 0,216 | 0,094 | 2,291 | 0,149 | -0,190 | 0,622 |
| Temperatura (Q) | 0,146 | 0,104 | 1,404 | 0,296 | -0,302 | 0,594 |
| (2) Razão (L) | 1,586 | 0,094 | 16,810 | 0,004 | 1,180 | 1,992 |
| Razão (Q) | -0,083 | 0,105 | -0,790 | 0,512 | -0,535 | 0,369 |
| (3) Concentração (L) | 0,528 | 0,094 | 5,605 | 0,030 | 0,123 | 0,934 |
| Concentração (Q) | -0,048 | 0,104 | -0,458 | 0,692 | -0,496 | 0,400 |
| 1L e 2L | 0,205 | 0,123 | 1,672 | 0,236 | -0,323 | 0,733 |
| 1L e 3L | 0,024 | 0,123 | 0,196 | 0,863 | -0,504 | 0,553 |
| 2L e 3L | 0,320 | 0,123 | 2,608 | 0,121 | -0,208 | 0,848 |

Os diagramas de Pareto, evidenciam os valores absolutos dos efeitos padronizados desde o maior até o menor efeito. O gráfico traça uma linha tracejada de referência para identificar quais efeitos foram estatisticamente significativos, esta linha representa o nível de

significância estatística ($p=0,05$). Assim todos os fatores que ultrapassam esta linha interferem no rendimento do composto em estudo. Os dados apresentados na Figura 23 e 24, apontam que a razão (2) tem influência na variação linear da resposta. E na Figura 25, a razão (2) e a concentração (3) nesta ordem, indicam a influência na variável resposta.

A Tabela 9 e 10 mostram que o efeito linear da razão é a variável mais significativa no que tange o rendimento de extração de FT utilizando [Ch]Cl:AO e [Ch]Cl:AC, como solvente extrator, a nível de confiança de 95%. Já na Tabela 11, as variáveis mais significativas são razão (2) e concentração (3).

Os coeficientes de determinação alcançados, $R^2= 92,22\%$ para [Ch]Cl:AO, $R^2= 92,97\%$ para [Ch]Cl:AC e $R^2= 94,43\%$ para [Ch]Cl:AL, demonstram um bom valor de ajuste do modelo aos dados, a um nível de confiança de 95%, indicando que o modelo é capaz de explicar grande parte da variabilidade apresentada pelas respostas.

As Figuras 26, 27 e 28 apresentam as superfícies de resposta do planejamento, que representam graficamente a relação entre a resposta e pares de variáveis de forma tridimensional. Esses gráficos são recursos úteis para avaliação e permitem a visualização da região ótima do sistema para maximização da resposta. Para a construção desses gráficos, foi mantido um fator constante enquanto os outros dois foram variados, com o objetivo de prever a região ótima para a obtenção do melhor rendimento dos compostos fenólicos totais.

Figura 27 - Superfície de resposta para o rendimento de FT com os efeitos arranjados de (i) Temperatura e Razão (ii) Temperatura e Concentração (iii) Concentração e Razão para [Ch]Cl:AO

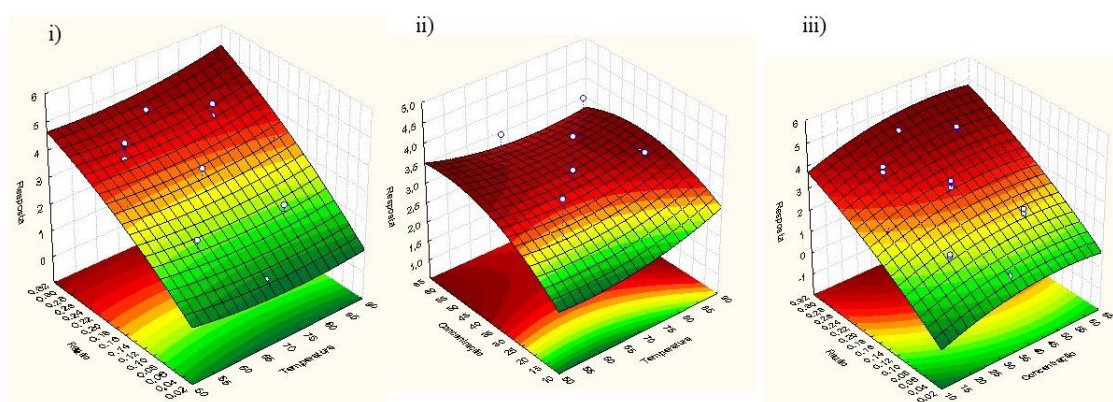


Figura 28 - Superfície de resposta para o rendimento de FT com os efeitos arranjados de (i) Temperatura e Razão (ii) Temperatura e Concentração (iii) Concentração e Razão para [Ch]Cl:AC

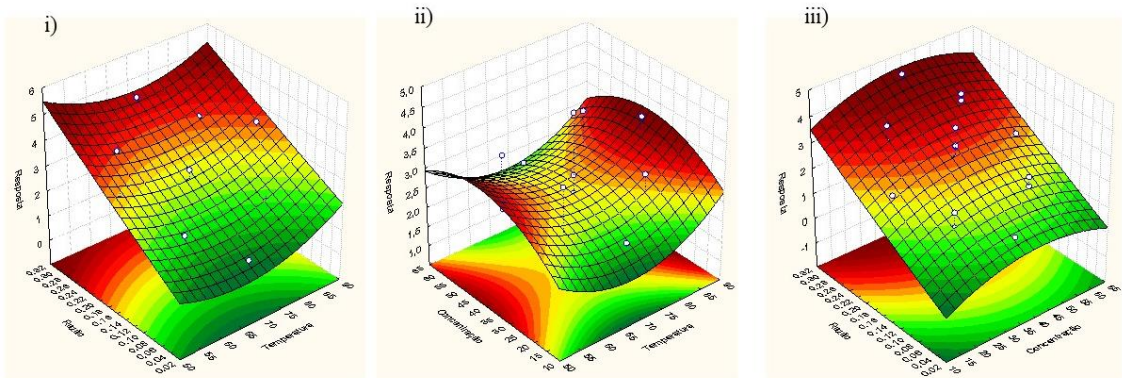
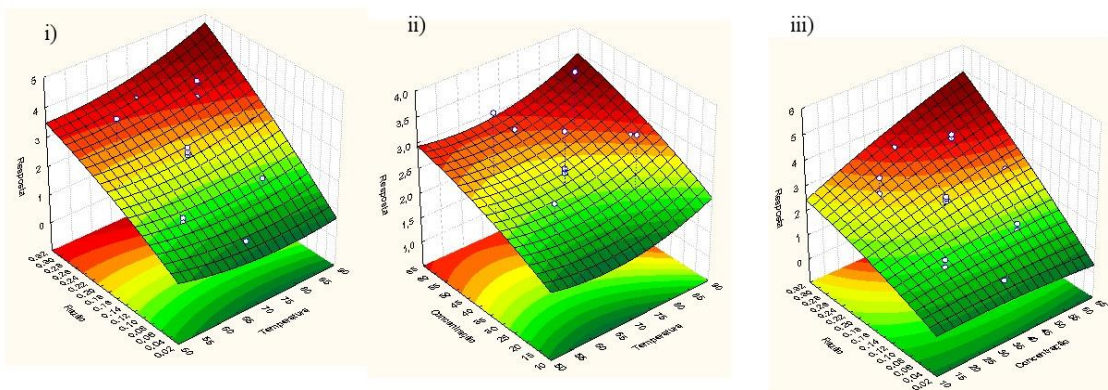


Figura 29 - Superfície de resposta para o rendimento de FT com os efeitos arranjados de (i) Temperatura e Razão (ii) Temperatura e Concentração (iii) Concentração e Razão para [Ch]Cl:AL



Ao examinar as superfícies de resposta representadas graficamente, constata-se que nas Figuras 26 e 27 os valores mais elevados da razão estão associados a maiores rendimentos de FT. Na Figura 28 observa-se que para o experimento em questão, os rendimentos ótimos são obtidos em condições de maior razão sólido:solvente e concentrações mais elevadas de água:solvente.

Contudo, é de suma importância ressaltar que o aumento da relação entre o grão de café verde e o solvente (razão sólido:solvente) pode acarretar desafios experimentais. Isso se torna particularmente evidente durante a etapa de separação, na qual o grão pode absorver todo o solvente, impossibilitando a obtenção do extrato desejado após o processo de extração assistida por microondas. Além disso, é imprescindível considerar que o uso de maiores quantidades de solvente e matéria-prima pode resultar em custos financeiros elevados. Nesse

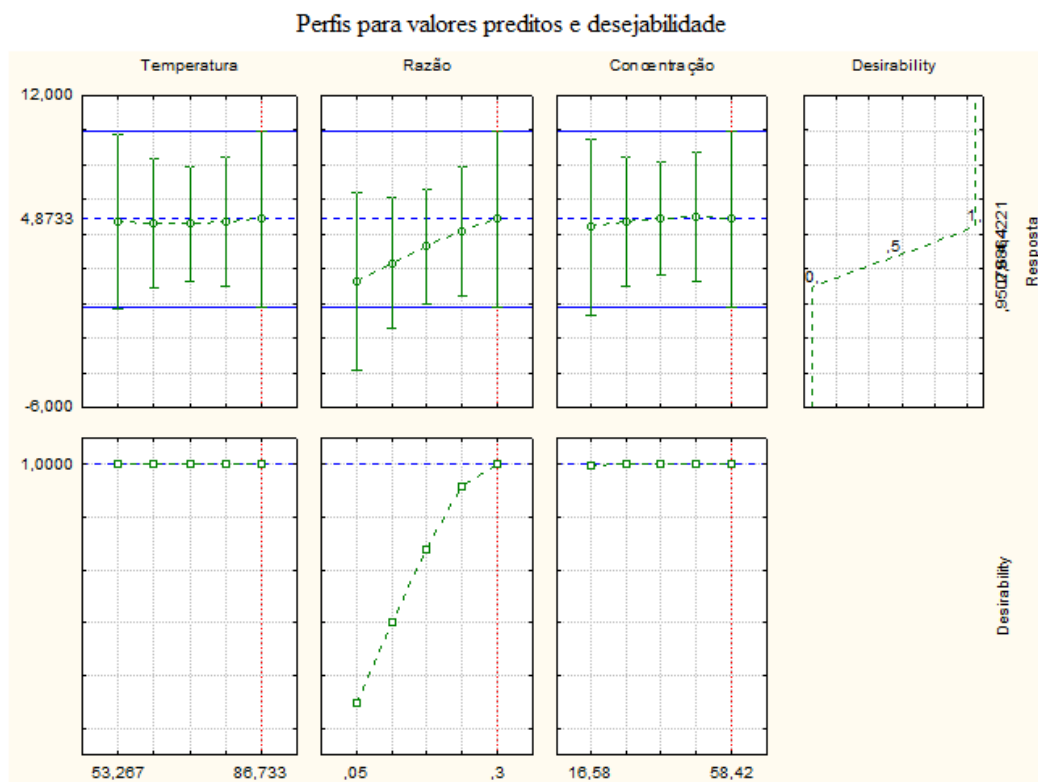
contexto, a aplicação de um planejamento experimental revela-se fundamental, pois possibilita a integração da realidade da extração e a minimização do consumo de solventes, indicando condições ideais para a utilização de NADES como uma alternativa viável aos solventes convencionais.

Uma estratégia amplamente adotada pela indústria para aprimorar simultaneamente diversas respostas é a utilização do método de desejabilidade. Essa abordagem busca identificar as condições experimentais que permitam atender a todos os critérios estabelecidos para as diferentes respostas e, ao mesmo tempo, gerar o melhor valor possível para a resposta combinada, que é considerada a mais desejável. Em suma, o método de desejabilidade possibilita a otimização do processo ao converter múltiplas variáveis de resposta em uma única função composta, que incorpora todas as respostas relevantes de forma integrada (CANDIOTI *et al.*, 2014).

Este método proposto por Derringer e Suich (1980) permite encontrar as condições experimentais para obter, simultaneamente, o valor ideal para todas as variáveis avaliadas. Na primeira etapa, uma $d_i(\hat{y}_i)$ de função de conveniência individual para cada $\hat{y}_i(k)$ da variável resposta deve ser criado usando os modelos equipados e que estabelece os critérios de otimização. O desejo da função é sempre tomar valores entre 0 e 1, onde $d_i(\hat{y}_i) = 0$ para uma resposta indesejável e $d_i(\hat{y}_i) = 1$ representa um valor desejável, os valores intermediários de $d_i(\hat{y}_i)$ indicam respostas mais ou menos desejáveis. Assim, converte-se primeiro a resposta em desejabilidade individuais (d_i) que varia de 0 a 1 (menor conveniência para maior conveniência). As pontuações de cada desejabilidade individual para os valores previstos para cada variável dependente são combinadas em função de conveniência geral denominada D. Tanto a conveniência geral D e outro valor entre 0 e 1, é definida combinando os valores individuais de conveniência d_i . Assim, a configuração ideal é determinada por maximizar D.

A Figura 29 apresenta os valores desejáveis obtidos no estudo, incluindo os perfis dos valores otimizados, a função de desejabilidade e os valores ótimos dos três fatores investigados no delineamento experimental.

Figura 30 - Perfil previstos/otimizados e desejabilidade para o planejamento para as variáveis resposta compostos fenólicos totais das extrações com NADES



Os três perfis da parte superior do gráfico representam a razão entre os valores previstos e otimizados. O quarto perfil mostra a desejabilidade (D) desta razão, que varia de 0 a 1. Evidenciando que quanto maior o valor de D mais conveniente é a resposta do sistema. E, os três perfis da parte inferior exibem a desejabilidade de cada variável individual. Os valores ótimos correspondem ao valor que toca a linha tracejada vertical em vermelho. Com base nos resultados obtidos, verificou-se que os valores desejáveis para maximizar os rendimentos foram estimados em 86,73°C para a variável temperatura, 0,3 para a razão sólido:solvente e 58,42% para a concentração de água:solvente, conforme indicado pelo software.

A partir dos dados obtidos, realizou-se uma avaliação tendo como referência somente os valores desejáveis, cujos resultados estão apresentados na Tabela 12. A fim de se aferir a viabilidade do NADES como solvente verde, foram realizados testes em condições equivalentes utilizando solventes convencionais, o que permitiu avaliar o potencial extrativo do NADES, o qual se mostrou satisfatório em comparação com os demais solventes testados.

Tabela 12 - Concentração média dos fenólicos totais presente nos extratos selecionados com NADES, etanol e acetato de etila nas condições ótimas

| Solventes | Concentração (g. L⁻¹) |
|------------------|---|
| Etanol | 4,94 ± 0,023 |
| Acetato de Etila | 0,24 ± 0,027 |
| [Ch]Cl:AO | 5,27 ± 0,006 |
| [Ch]Cl:AC | 5,06 ± 0,158 |
| [Ch]Cl:AL | 5,27 ± 0,041 |

Analisando a capacidade extratora de cada solvente é possível observar que os ensaios utilizando NADES obteve rendimentos satisfatórios de fenólicos totais, garantindo que a escolha desse solvente é uma alternativa ao uso de solventes convencionais.

A concentração do extrato em acetato de etila apresentou menores valores comparado aos demais solventes, provavelmente, devido à afinidade dessas substâncias pelo solvente empregado. O acetato de etila é um solvente orgânico muito usado para a extração de compostos fenólicos de plantas e outros materiais naturais. Contudo, às vezes, os rendimentos da extração podem ser insatisfatórios. Vários elementos podem exercer influência no desempenho da extração de compostos fenólicos por meio do uso de acetato de etila, como a tipologia dos compostos fenólicos encontrados na matéria-prima. A qualidade do solvente também pode ser fator crítico, neste ensaio o acetato de etila foi utilizado com a adição de água. A adição da pode causar competição entre a água e os compostos orgânicos pela interação com o acetato de etila, o que pode diminuir a eficiência da extração. Um estudo realizado por Moreira *et al.* (2014) mostrou que o acetato de etila apresentou rendimentos menores do café quando comparados a outros solventes. No presente estudo, foi constatado que os NADES maiores rendimentos foram [Ch]Cl:AO e [Ch]Cl:AL.

O ácido oxálico tem sido investigado como um líquido iônico para extrair compostos fenólicos de diferentes fontes como plantas e resíduos agrícolas. Estudos mostraram resultados promissores usando ácido oxálico como DES na extração de compostos fenólicos. Um estudo mostrou que um solvente eutético com ácido oxálico extraiu 45% mais fenólicos da casca de uva em comparação com solventes à base de metanol e água (CVJETKO BUBALO *et al.*, 2016).

Pesquisas conduzidas por Bakirtzi, Triantafyllidou e Makris (2016), Fanali *et al.* (2021) e Kaoui *et al.* (2022) também mostraram melhores resultados na extração de

compostos fenólicos quando utilizaram a combinação [Ch]Cl:AL. O ácido láctico é um composto orgânico que pode ser usado como solvente para extrair compostos fenólicos de plantas, que possuem propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias. Sua utilização como NADES, obtido de fontes renováveis como a cana-de-açúcar, reduz o impacto ambiental em comparação aos solventes convencionais, sendo menos tóxico e mais biodegradável. A extração de compostos fenólicos de plantas como uva, café, chá verde e alecrim tem sido bem-sucedida com o ácido láctico. Estudos indicam que o uso de NADES com ácido láctico resulta em altos rendimentos de compostos fenólicos, benéficos para as indústrias alimentícia, cosmética e farmacêutica devido às suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias. No entanto, o rendimento depende da composição do NADES, concentração de ácido láctico, tempo, temperatura e tipo da matriz vegetal utilizada. A otimização desses parâmetros é essencial para obter maior rendimento de compostos fenólicos durante a extração com NADES contendo ácido láctico (FIORUCCI; SOARES; CAVALHEIRO, 2002; RUESGAS-RAMÓN; FIGUEROA-ESPINOZA; DURAND, 2017; ALSAUD; SHAHBAZ; FARID, 2021; MORGANA *et al.*, 2022).

5.6 Extração e caracterização dos ácidos clorogênicos (ACG)

De acordo com os resultados obtidos, verificou-se concentrações satisfatórias de FT nos extratos utilizando os NADES. Assim, visando otimização do tempo e economia de reagentes, apenas o NADES [Ch]Cl:AO foi escolhido para determinação da porcentagem de ácidos clorogênicos no extrato dos grãos de café verde. O teor de ACG encontrado foi de 12,48%. No entanto, observou-se uma discrepância nos valores encontrados para ACG obtido com NADES, em comparação com estudos previamente relatados por Dado, Asresahegn e Goroya (2019) e Navarra *et al.* (2017), onde são encontrados valores de 5% a 6%. Os solventes utilizados nos estudos mencionados foram diclorometano e etanol. As possíveis explicações para esses fatos são: aplicação de um solvente não utilizado anteriormente, desta forma não há dados na literatura para comparação, a diferença no método de extração utilizado, os solventes e a interferência do NADES na quantificação do soluto, devido à dificuldade de separar o composto do solvente e ao alto custo do processo de separação.

Por fim, é importante ressaltar que a pesquisa científica é um processo contínuo e que novos estudos podem fornecer informações adicionais sobre a concentração de ACG no

extrato de café verde obtido com NADES e novas metodologias de quantificação podem elucidar os resultados obtidos.

5.7 Extração e caracterização da atividade antioxidante (AA)

Os resultados na Tabela 13 demonstram o percentual de atividade antioxidante (%AA), que indica a porcentagem de inibição ou sequestro do radical DPPH.

Tabela 13 - Atividade sequestrante do radical DPPH (%) dos extratos dos grãos de café verde obtidos com os NADES e solventes convencionais

| Solventes | % AA |
|------------------|-------------|
| Etanol | 91,25 |
| Acetato de Etila | 95,49 |
| [Ch]Cl:AO | 95,31 |
| [Ch]Cl:AC | 95,85 |
| [Ch]Cl:AL | 95,90 |

A atividade antioxidante está relacionada ao consumo de DPPH pela amostra. Quanto maior este consumo, maior o valor da atividade antioxidante. Logo, tanto os extratos com NADES, quanto com solventes convencionais, demonstraram atividades antioxidantes significativas e valores próximos. Um estudo realizado por Andreo e Jorge (2006) indica que a água, devido à sua polaridade, é eficiente na extração de compostos fenólicos com atividade antioxidante, o que pode ter contribuído para a melhor extração das amostras neste estudo, pois as condições ótimas para a variável concentração água:solvente foi de 58,42%.

Naidu *et al.* (2008) observou que os cafés verdes da espécie arábica exibiram valores de atividade sequestrante de radicais livres superiores a 80%. Além disso, o estudo conduzido por Rodrigues (2012) apoia os resultados obtidos neste estudo, ao demonstrar que safras de café com maior quantidade de frutos verdes apresentam teores mais elevados de fenólicos com capacidade antioxidante. Essa descoberta está em consonância com as conclusões do presente estudo, uma vez que a biomassa empregada consistiu de grãos de café verde *in natura*.

6 CONCLUSÃO

No presente estudo, demonstrou-se a viabilidade da extração de compostos bioativos dos grãos de café verde por meio de solventes alternativos e da técnica de extração assistida por microondas. Os resultados obtidos confirmam a versatilidade dos NADES, ressaltando a influência do método de extração e da composição molecular desse solvente na quantidade de compostos extraídos. Identificou-se a presença de fenólicos totais, ácidos clorogênicos e capacidade antioxidante no café. Esses resultados reforçam a importância do café como fonte de compostos com propriedades benéficas à saúde, que podem desempenhar um papel significativo na prevenção de doenças relacionadas ao estresse oxidativo.

A utilização de solventes eutéticos profundos naturais, mostrou-se eficaz na extração de compostos fenólicos. Essas combinações de NADES apresentaram boa aplicabilidade e rendimentos consideráveis, aspecto que não havia sido explorado em estudos anteriores. Portanto, é recomendável dedicar maior atenção a essa alternativa promissora de extração. Destaca-se também o uso da metodologia de superfície de resposta para otimizar as condições do processo, resultando em rendimentos superiores em comparação aos métodos convencionais. Isso contribui para a eficiência, economia e objetividade na otimização de procedimentos com múltiplas respostas.

Apesar das diferenças nos valores de ACG em relação à literatura, este estudo não perde sua importância; pelo contrário, abre caminho para futuras pesquisas que possam explorar outras abordagens na extração e quantificação de ACG, sem a necessidade de um processo de separação entre o composto e o solvente, evitando custos adicionais.

É importante ressaltar que, no que diz respeito a compostos naturais, como a matéria-prima utilizada neste estudo, podem ocorrer variações normais na concentração desses compostos devido à qualidade dos grãos de café verde, como condições de cultivo e processamento pós-colheita. Portanto, os dados apresentados neste estudo refletem uma condição específica, levando em consideração também a influência do solvente presente no extrato.

A otimização dos dados por meio da metodologia de resposta e os resultados obtidos nos testes de quantificação possuem um significado substancial para validar que os NADES são solventes promissores, devido à sua eficácia, baixo custo e capacidade seletiva em relação a compostos específicos.

Portanto, apesar de algumas diferenças em relação aos resultados descritos na literatura, esta pesquisa proporciona avanços e abre perspectivas para futuras investigações. Ao explorar novas abordagens de extração de compostos bioativos dos grãos de café verde, utilizando solventes alternativos e a técnica de extração assistida por microondas, o estudo contribui para o avanço do conhecimento científico nessa área. Os resultados obtidos fornecem informações valiosas sobre a influência dos NADES, do método de extração e da composição molecular no perfil de compostos extraídos do café. Essas descobertas possibilitam investigações adicionais e aprimoramentos metodológicos, impulsionando a otimização dos processos de extração e quantificação de compostos bioativos.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, A. P. et al. Deep eutectic solvents formed between choline chloride and carboxylic acids: Versatile alternatives to ionic liquids. *Journal of the American Chemical Society*, v. 126, n. 29, p. 9142-9147, 2004.

ABRAHÃO, S. A. et al. Compostos bioativos e atividade antioxidante do café (*Coffea arabica* L.). *Ciência e Agrotecnologia*, v. 34, p. 414-420, 2010.

ABRAMOVIČ, H. et al. Contribution of SO₂ to antioxidant potential of white wine. *Food chemistry*, v. 174, p. 147-153, 2015.

AHMAD, I. et al. Optimization of betaine-sorbitol natural deep eutectic solvent-based ultrasound-assisted extraction and pancreatic lipase inhibitory activity of chlorogenic acid and caffeine content from robusta green coffee beans. *Heliyon*, v. 7, n. 8, p. e07702, 2021.

ALSAUD, N.; SHAHBAZ, K.; FARID, M. Application of deep eutectic solvents in the extraction of polyphenolic antioxidants from New Zealand Manuka leaves (*Leptospermum Scoparium*): Optimization and antioxidant activity. *Journal of Molecular Liquids*, v. 337, p. 116385, 2021.

ANDREO, D.; JORGE, N. Antioxidantes naturais: técnicas de extração. *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, v. 24, n. 2, p. 319-336, 2006.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, v. 66, n. 1, p. 1-9, 2007.

BADMOS, S.; LEE, S. H.; KUHNERT, N. Comparison and quantification of chlorogenic acids for differentiation of green Robusta and Arabica coffee beans. *Food Research International*, v. 126, p. 108544, 2019.

BAKIRTZI, C.; TRIANTAFYLLIDOU, K.; MAKRIS, D. P. Novel lactic acid-based natural deep eutectic solvents: Efficiency in the ultrasound-assisted extraction of antioxidant polyphenols from common native Greek medicinal plants. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, v. 3, n. 3, p. 120-127, 2016.

BARBOSA, M. R. et al. Rubiaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB210>. Acesso em: 10 out. 2021, v. 18, 2015.

BASTOS DE MARIA, C. A.; MOREIRA, R. F. A. Métodos para análise de ácido clorogênico. *Química Nova*, v. 27, p. 586-592, 2004.

BELGUIDOUM, K. et al. HPLC coupled to UV–vis detection for quantitative determination of phenolic compounds and caffeine in different brands of coffee in the Algerian market. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, v. 45, n. 4, p. 1314-1320, 2014.

BISCAIA, D. Comparação Entre Tecnologia Supercrítica E Técnicas Convencionais De Extração Para Obtenção De Extratos De Própolis Avaliados Através De Suas Atividades Biológicas. *Journal of Chemical Information and Modeling*, v. 53, n. 9, 2007.

BONITA, J. S. et al. Coffee and cardiovascular disease: In vitro, cellular, animal, and human studies. *Pharmacological research*, v. 55, n. 3, p. 187-198, 2007.

BORRELLI, R. C. et al. Chemical characterization and antioxidant properties of coffee melanoidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 50, n. 22, p. 6527-6533, 2002.

BONIATTI, Janine et al. Desenvolvimento e validação de metodologia de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do insumo farmacêutico ativo efavirenz. 2013. Tese de Doutorado.

BOYKO, N. et al. Studying and modeling of the extraction properties of the natural deep eutectic solvent and sorbitol-based solvents in regard to biologically active substances from glycyrrhizae roots. *Molecules*, v. 25, n. 7, p. 1482, 2020.

BRESCIANI, L. et al. Phenolic composition, caffeine content and antioxidant capacity of coffee silverskin. *Food Research International*, v. 61, p. 196-201, 2014.

BUBALO, M. C. et al. Green extraction of grape skin phenolics by using deep eutectic solvents. *Food Chemistry*, v. 200, p. 159-166, 2016.

CABRERIZO, D. [Especial] Café. Mitos e Verdades (Parte 2). Disponível em: <https://ciencias4all.wordpress.com/2011/06/13/especial-cafe-mitos-e-verdades-parte-2/>. Acesso em: 10 abr. 2022.

CAMEL, V. Microwave-assisted solvent extraction of environmental samples. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, v. 19, n. 4, p. 229-248, 2000.

CANDIOTI, L. V. et al. Experimental design and multiple response optimization. Using the desirability function in analytical methods development. *Talanta*, v. 124, p. 123-138, 2014.

- CAPORASO, N. et al. Rapid prediction of single green coffee bean moisture and lipid content by hyperspectral imaging. *Journal of food engineering*, v. 227, p. 18-29, 2018.
- CARDOSO, B. T.; SOARES, C. M. F. Caracterização química e estudo da secagem da borra de café espresso. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processo. Universidade Tiradentes, Aracaju, 2013.
- CARVALHO, LCC. Álcool do Brasil: energia limpa e renovável. *Agroanalysis*, São Paulo, FGV, v. 21, n. 9, 2001.
- CHAN, Chung-Hung et al. Microwave-assisted extractions of active ingredients from plants. *Journal of Chromatography A*, v. 1218, n. 37, p. 6213-6225, 2011.
- CHEN, Y. C.; HUANG, Y. L.; HUANG, B. M. Cordyceps sinensis mycelium activates PKA and PKC signal pathways to stimulate steroidogenesis in MA-10 mouse Leydig tumor cells. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, v. 37, n. 1, p. 214-223, 2005.
- CLARKE, R.J.; WALKER, L.J.J. (1985). The interrelationships of potassium contents of green, roasted and instant coffees. In: *Proceedings Of The Seventh International Scientific Colloquium On Coffee*, Hamburg. Anais ... Hamburg: ASIC – Association Scientifique Internationale du café. p. 159-163, 1975.
- CLIFFORD, M. N.; WILLIAMS, T.; BRIDSON, D. Chlorogenic acids and caffeine as possible taxonomic criteria in *Coffea* and *Psilanthus*. *Phytochemistry*, v. 28, n. 3, p. 829-838, 1989.
- Coffea* L. Disponível em: <http://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-4000008851>. Acesso em: 12 out. 2021.
- Cooperativa de Cafeicultores e Agropecuaristas (Cocapec), (2021). Disponível em: <https://cocapec.com.br/noticias/a-origem-do-cafe>. Acesso em: 12 out. 2021.
- CRAVEIRO, R. et al. Properties and thermal behavior of natural deep eutectic solvents. *Journal of Molecular Liquids*, v. 215, p. 534-540, 2016.
- CUNHA, S. C.; FERNANDES, J. O. Extraction techniques with deep eutectic solvents. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, v. 105, p. 225-239, 2018.
- DADO, A. T.; ASRESAHEGN, Y. A.; GOROYA, K. G. Determination of chlorogenic acid content in beans and leaves of *coffea arabica* using UV/Vis spectrometer. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*, v. 13, n. 5, p. 58-63, 2019.

DAGLIA, M. et al. In vitro antioxidant and ex vivo protective activities of green and roasted coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 48, n. 5, p. 1449-1454, 2000.

DAI, Y. Natural deep eutectic solvents and their application in natural product research and development. Leiden University, 2013.

DAI, Y. et al. Natural deep eutectic solvents as a new extraction media for phenolic metabolites in *Carthamus tinctorius* L. *Analytical chemistry*, v. 85, n. 13, p. 6272-6278, 2013.

DE AZEVEDO, A. B. A. et al. Extraction of caffeine, chlorogenic acids and lipids from green coffee beans using supercritical carbon dioxide and co-solvents. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, v. 25, p. 543-552, 2008.

DERRINGER, G.; SUICH, R. Simultaneous optimization of several response variables. *Journal of quality technology*, v. 12, n. 4, p. 214-219, 1980.

DONG, W. et al. Comparison of the effect of extraction methods on the quality of green coffee oil from Arabica coffee beans: Lipid yield, fatty acid composition, bioactive components, and antioxidant activity. *Ultrasonics Sonochemistry*, v. 74, p. 105578, 2021.

DO VALE, A. T. et al. Caracterização energética e rendimento da carbonização de resíduos de grãos de café (*Coffea arabica*, L) e de madeira (*Cedrelinga catenaeformis*), Duke. *Cerne*, v. 13, n. 4, p. 416-420, 2007.

DURÁN, C. A. A et al. Café: Aspectos gerais e seu aproveitamento para além da bebida. *Revista virtual de química*, v. 9, n. 1, p. 107-134, 2017.

DURAND, E. et al. Evaluation of deep eutectic solvent–water binary mixtures for lipase-catalyzed lipophilization of phenolic acids. *Green Chemistry*, v. 15, n. 8, p. 2275-2282, 2013.

ESPINO, M. et al. Green analytical chemistry metrics: Towards a sustainable phenolics extraction from medicinal plants. *Microchemical Journal*, v. 141, p. 438-443, 2018.

FANALI, C. et al. Choline-chloride and betaine-based deep eutectic solvents for green extraction of nutraceutical compounds from spent coffee ground. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 189, p. 113421, 2020.

FANALI, C. et al. Choline chloride–lactic acid-based NADES as an extraction medium in a response surface methodology-optimized method for the extraction of phenolic compounds from hazelnut skin. *Molecules*, v. 26, n. 9, p. 2652, 2021.

FARAH, A.; DONANGELO, C. M.. Phenolic compounds in coffee. *Brazilian journal of plant physiology*, v. 18, p. 23-36, 2006.

FARINHOTO, R. J. C. R. Análise física e química de cafés verdes com diferentes origens geográficas. Tese de Doutorado. Faculdade de Ciências e Tecnologia, 2012.

FERNÁNDEZ, M. DE LOS Á. et al. Natural deep eutectic solvents-mediated extractions: The way forward for sustainable analytical developments. *Analytica chimica acta*, v. 1038, p. 1-10, 2018.

FIORUCCI, A. R.; SOARES, M. H. F. B.a; CAVALHEIRO, E. T. G. Ácidos orgânicos: dos primórdios da química experimental à sua presença em nosso cotidiano. 2002.

FOLSTAR P. Lipids. In: R. J. Clarke, R. Macrae. *Coffee Chemistry*. Nova York: Elsevier. v. 1, p.203-222, 1985.

FRANCA, A. S.; MENDONÇA, J. C. F; OLIVEIRA, S. D. Composition of green and roasted coffees of different cup qualities. *LWT-Food Science and Technology*, v. 38, n. 7, p. 709-715, 2005.

FITRI, Rensa Alsyia et al. Freeze drying of natural deep eutectic solvent (NADES) extract of green coffee bean (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner). *Journal of Research in Pharmacy*, v. 24, n. 2, p. 225-232, 2020.

GABRIEL, L. C. et al. Extração assistida por banho ultrassônico de óleo de café verde (*Coffea arabica*) utilizando etanol e hexano como solventes e caracterização dos extratos por cromatografia gasosa e ressonância magnética nuclear de hidrogênio. Dissertação de Mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2020.

GAO, M.; SONG, B. Z.; LIU, C. Z. Dynamic microwave-assisted extraction of flavonoids from *Saussurea medusa* Maxim cultured cells. *Biochemical Engineering Journal*, v. 32, n. 2, p. 79-83, 2006.

GAWLIK-DZIKI, U. et al. Lipoxygenase inhibitors and antioxidants from green coffee-mechanism of action in the light of potential bioaccessibility. *Food Research International*, v. 61, p. 48-55, 2014.

GROSSO, G. et al. Coffee, caffeine, and health outcomes: an umbrella review. *Annual review of nutrition*, v. 37, p. 131-156, 2017.

HUDDLESTON, J. G. et al. Room temperature ionic liquids as novel media for “clean” liquid–liquid extraction. *Chemical Communications*, n. 16, p. 1765-1766, 1998.

ISMAIL, I.; ANUAR, M. S.; SHAMSUDIN, R. Effect on the physico-chemical properties of liberica green coffee beans under ambient storage. *International Food Research Journal*, v. 20, n. 1, 2013.

JARDIM, I. C. S. F. Extração em fase sólida: fundamentos teóricos e novas estratégias para preparação de fases sólidas. *Scientia Chromatographica*, v. 2, n. 1, p. 13-25, 2010.

KAOUI, S. et al. Response surface modeling and optimization of the extraction conditions using lactic acid-based deep eutectic solvents as green alternative extraction media for *Mentha pulegium*. *Phytochemical Analysis*, v. 33, n. 6, p. 906-914, 2022.

KROYER, G. T.; KRETSCHMER, L.; WASHUTTL, J. Antioxidant properties of tea and coffee extracts. In: *Agriculture, food chemistry and the consumer*, Versailles (France), 27-29 Sep 1989. INRA, 1989.

KUA, Y. L.; GAN, S. Natural deep eutectic solvent (NADES) as a greener alternative for the extraction of hydrophilic (polar) and lipophilic (non-polar) phytonutrients. In: *Key Engineering Materials*. Trans Tech Publications Ltd. p. 20-28, 2019.

LAFAY, S.; GIL-IZQUIERDO, A. Bioavailability of phenolic acids *Phytochemistry Reviews*, 2008.

LAGO, R. C. A; FREITAS, S. P. Extração dos óleos de café verde e da borra com etanol comercial. 2006.

LANG, R.; MUELLER, C.; HOFMANN, T. Development of a stable isotope dilution analysis with liquid chromatography– tandem mass spectrometry detection for the quantitative analysis of di- and trihydroxybenzenes in foods and model systems. *Journal of agricultural and food chemistry*, v. 54, n. 16, p. 5755-5762, 2006.

LENARDÃO, E. J. et al. "Green chemistry": Os 12 princípios da química verde e sua inserção nas atividades de ensino e pesquisa. *Química Nova*, v. 26, p. 123-129, 2003.

LIMA, A. R. et al. Coffee bioactive compounds: in vitro antioxidant activity of green and roasted coffees before and after decaffeination. *Química Nova*, v. 33, p. 20-24, 2010.

LI, X.; ROW, K. H. Development of deep eutectic solvents applied in extraction and separation. *Journal of separation science*, v. 39, n. 18, p. 3505-3520, 2016.

- LIU, Y. et al. Countercurrent assisted quantitative recovery of metabolites from plant-associated natural deep eutectic solvents. *Fitoterapia*, v. 112, p. 30-37, 2016.
- LOPES-LUTZ, D. et al. Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils. *Phytochemistry*, v. 69, n. 8, p. 1732-1738, 2008.
- LOUREIRO, A. P. M.; DI MASCIO, P.; MEDEIROS, M. H. G. Formação de adutos exocíclicos com bases de DNA: implicações em mutagênese e carcinogênese. *Química Nova*, v. 25, p. 777-793, 2002.
- MADHAVA NAIDU, M. et al. Studies on extraction and antioxidant potential of green coffee. *Food Chemistry*, v. 107, n. 1, p. 377-384, 2008.
- MAGALHÃES, L. M. et al. Rapid microplate high-throughput methodology for assessment of Folin-Ciocalteu reducing capacity. *Talanta*, v. 83, n. 2, p. 441-447, 2010.
- MAZZAFERA, P. et al. Oil content of green beans from some coffee species. *Bragantia*, v. 57, p. 45-48, 1998.
- MENDONÇA, L. M. V. L. et al. Composição química de grãos crus de cultivares de *Coffea arabica* L. suscetíveis e resistentes à *Hemileia vastatrix* Berg et Br. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 31, p. 413-419, 2007.
- MENDONÇA, L. M. V. L.; PEREIRA, R. G. F. A.; MENDES, A. N. G. Parâmetro bromatológicos de grãos crus e torrados de cultivares de café (*Coffea arabica* L.). *Food Science and Technology*, v. 25, p. 239-243, 2005.
- MORAIS, S. A. L. de 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. *Food Science and Technology*, v. 28, p. 198-207, 2008.
- MOREIRA, D. P. et al. Contribution of chlorogenic acids to the iron-reducing activity of coffee beverages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 53, n. 5, p. 1399-1402, 2005.
- MOREIRA, I. et al. Efeito do solvente na extração de ácidos clorogênicos, cafeína e trigonelina em *Coffea arabica*. *Química nova*, v. 37, p. 39-43, 2014.
- MORGANA, N. M. et al. NADES for food industry innovation: Novel bioadditives based on olive oil byproducts. *Food and Bioproducts Processing*, v. 134, p. 193-201, 2022.

- MOURE, A. et al. Natural antioxidants from residual sources. *Food chemistry*, v. 72, n. 2, p. 145-171, 2001.
- MURTHY, P. S.; MADHAVA NAIDU, M. Sustainable management of coffee industry by-products and value addition—A review. *Resources, Conservation and recycling*, v. 66, p. 45-58, 2012.
- MUZAIFA, M. et al. Chemical composition of green and roasted coffee bean of Gayo arabica civet coffee (kopi luwak). *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. IOP Publishing. p. 012001, 2020.
- NAIDU, M. Madhava et al. Studies on extraction and antioxidant potential of green coffee. *Food Chemistry*, v. 107, n. 1, p. 377-384, 2008.
- NATELLA, F. et al. Coffee drinking influences plasma antioxidant capacity in humans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 50, n. 21, p. 6211-6216, 2002.
- NAVARRA, G. et al. Simultaneous determination of caffeine and chlorogenic acids in green coffee by UV/Vis spectroscopy. *Journal of Chemistry*, v. 2017, 2017.
- NAVEED, M. et al. Chlorogenic acid (CGA): A pharmacological review and call for further research. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, v. 97, p. 67-74, 2018.
- NOBRE, G. W. et al. composição química de frutos imaturos de café arábica (*coffea arabica* L.) processados por via seca e via úmida. *Coffee Science*, v. 6, n. 2, 2011.
- NOGAIM, Q. A. et al. The chemical composition of Yemeni green coffee. *Journal of Food Chemistry and Nutrition*, v. 1, n. 2, p. 42-48, 2013.
- NOGUEIRA, M. F. M.; RENDEIRO, G. Caracterização energética da biomassa vegetal. RENDEIRO, G. et al. *Combustão e Gasificação de Biomassa Sólida-Soluções Energéticas para a Amazônia*, p. 52-63, 2008.
- NOVAES, C. G. et al. Otimização de métodos analíticos usando metodologia de superfícies de resposta-Parte I: variáveis de processo. *Revista Virtual Química*, v. 9, n. 3, p. 1284-1215, 2017.
- OIC, Organização Internacional do Café, Consumo Mundial de Café, (2023). Disponível em: <https://www.ico.org/documents/cy2022-23/cmr-1222-e.pdf>. Acesso em: 02 mar. 2023.
- OIC, Organização Internacional do Café, Consumo Mundial de Café, (2021). Disponível em: https://www.ico.org/pt/botanical_p.asp. Acesso em: 14 out. 2021.

OIC, Organização Internacional do Café, Consumo Mundial de Café, (2021). Disponível em: https://www.ico.org/pt/field_processing_p.asp. Acesso em: 16 out. 2021.

OIV. Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis International Organisation of Vine and Wine, v. 1, 2021.

OLIVEIRA, L. S. et al. Proximate composition and fatty acids profile of green and roasted defective coffee beans. *LWT-Food Science and Technology*, v. 39, n. 3, p. 235-239, 2006.

PAIVA, A. et al. Natural deep eutectic solvents - Solvents for the 21st century. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, v. 2, n. 5, p. 1063-1071, 2014.

PENA-PEREIRA, F.; NAMIEŚNIK, J. Ionic liquids and deep eutectic mixtures: sustainable solvents for extraction processes. *ChemSusChem*, v. 7, n. 7, p. 1784-1800, 2014.

PERNA, F. M.; VITALE, P.; CAPRIATI, V. Deep eutectic solvents and their applications as green solvents. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, v. 21, p. 27-33, 2020.

PERRUT, M. Supercritical fluid applications: industrial developments and economic issues. *Industrial & engineering chemistry research*, v. 39, n. 12, p. 4531-4535, 2000.

PRADO, R. Avaliação comparativa entre a extração do óleo de soja com hexano e com álcool anidro e as diferenças físico-químicas no farelo. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2014.

Revista Cafeicultura, Composição química do café, (2005). Disponível em: <https://revistacafeicultura.com.br/?mat=3407>. Acesso em: 30 out. 2021.

RICHELLE, M.; TAVAZZI, I.; OFFORD, E. Comparison of the antioxidant activity of commonly consumed polyphenolic beverages (coffee, cocoa, and tea) prepared per cup serving. *Journal of agricultural and food chemistry*, v. 49, n. 7, p. 3438-3442, 2001.

RODRIGUES, I. R. Composição química do café do Alto Vale do Jequitinhonha e comparação dos efeitos sub-crônicos da cafeína e do café em ratos. 2012.

RODRÍGUEZ-JUAN, E. et al. Phenolic compounds from virgin olive oil obtained by natural deep eutectic solvent (NADES): effect of the extraction and recovery conditions. *Journal of Food Science and Technology*, v. 58, p. 552-561, 2021.

ROSTAGNO, M. A.; PALMA, M.; BARROSO, C. G. Microwave assisted extraction of soy isoflavones. *Analytica Chimica Acta*, v. 588, n. 2, p. 274-282, 2007.

- RUESGAS-RAMÓN, M.; FIGUEROA-ESPINOZA, M. C.; DURAND, E. Application of deep eutectic solvents (DES) for phenolic compounds extraction: Overview, challenges, and opportunities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 65, n. 18, p. 3591-3601, 2017.
- RUESGAS-RAMÓN, M. et al. Biomolecules extraction from coffee and cocoa by-and co-products using deep eutectic solvents. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 100, n. 1, p. 81-91, 2020.
- SANTOS, L. Solvente eutéctico profundo. *Revista de Ciência Elementar*, v. 5, n. 2, 2017.
- SANTOS, M. H. et al. Influência do processamento e da torrefação sobre a atividade antioxidante do café (*Coffea arabica*). *Química Nova*, v. 30, p. 604-610, 2007.
- SATO, Y. et al. In vitro and in vivo antioxidant properties of chlorogenic acid and caffeic acid. *International journal of pharmaceutics*, v. 403, n. 1-2, p. 136-138, 2011.
- SCALIA, S.; GIUFFREDA, L.; PALLADO, P. Analytical and preparative supercritical fluid extraction of chamomile flowers and its comparison with conventional methods. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, v. 21, n. 3, p. 549-558, 1999.
- SILVA, D. T. DA et al. Natural deep eutectic solvents as a biocompatible tool for the extraction of blueberry anthocyanins. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 89, p. 103470, 2020.
- SILVA, M. L. C. et al. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 31, n. 3, p. 669-681, 2010.
- SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965.
- SKARPALEZOS, D.; DETSI, A. Deep eutectic solvents as extraction media for valuable flavonoids from natural sources. *Applied Sciences*, v. 9, n. 19, p. 4169, 2019.
- SMITH, E. L.; ABBOTT, A. P.; RYDER, K. S. Deep eutectic solvents (DESs) and their applications. *Chemical reviews*, v. 114, n. 21, p. 11060-11082, 2014.
- SOUSA, M. S. B.; VIEIRA, L. M.; LIMA, A. Total phenolics and in vitro antioxidant capacity of tropical fruit pulp wastes. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 14, p. 202-210, 2011.

- SPEER, K.; KÖLLING-SPEER, I. The lipid fraction of the coffee bean. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, v. 18, p. 201-216, 2006.
- SUAREZ-QUIROZ, M. L. et al. Isolation of green coffee chlorogenic acids using activated carbon. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 33, n. 1, p. 55-58, 2014.
- SYAKFANAYA, A. M.; SAPUTRI, F. C.; MUN'IM, A. Simultaneously extraction of caffeine and chlorogenic acid from *Coffea canephora* bean using natural deep eutectic solvent-based ultrasonic assisted extraction. *Pharmacognosy Journal*, v. 11, n. 2, 2019.
- TOCI, A.; FARAH, A.; TRUGO, L. C. Efeito do processo de descafeinação com diclorometano sobre a composição química dos cafés arábica e robusta antes e após a torração. *Química nova*, v. 29, p. 965-971, 2006.
- TSAO, R.; DENG, Z. Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals. *Journal of chromatography B*, v. 812, n. 1-2, p. 85-99, 2004.
- TUCKER, K. L. et al. Potassium, magnesium, and fruit and vegetable intakes are associated with greater bone mineral density in elderly men and women. *The American journal of clinical nutrition*, v. 69, n. 4, p. 727-736, 1999.
- UPADHYAY, R.; RAMALAKSHMI, K.; RAO, L. J. M. Microwave-assisted extraction of chlorogenic acids from green coffee beans. *Food Chemistry*, v. 130, n. 1, p. 184-188, 2012.
- VASCONCELOS, A. L. S. et al. Caracterização físico-química de grãos defeituosos e sadios de café. 2005.
- VIGNOLI, J. A. et al. Roasting process affects differently the bioactive compounds and the antioxidant activity of arabica and robusta coffees. *Food Research International*, v. 61, p. 279-285, 2014.
- WILLCOX, J. K.; ASH, S. L.; CATIGNANI, G. L. Antioxidants and prevention of chronic disease. *Critical reviews in food science and nutrition*, v. 44, n. 4, p. 275-295, 2004.
- YUNIARTI, E.; SAPUTRI, F. C.; MUN'IM, A. Natural deep eutectic solvent extraction and evaluation of caffeine and chlorogenic acid from green coffee beans of *Coffea canephora*. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 81, n. 6, p. 1062-1069, 2019.
- YUNIARTI, Erlin et al. Application of the natural deep eutectic solvent choline chloride-sorbitol to extract chlorogenic acid and caffeine from green coffee beans (*Coffea canephora*). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, v. 9, n. 3, p. 082-090, 2019.

ZHANG, Q. et al. Deep eutectic solvents: syntheses, properties and applications. *Chemical Society Reviews*, v. 41, n. 21, p. 7108-7146, 2012.

ZHANG, W.; XU, S. Microwave-assisted extraction of secoisolariciresinol diglucoside from flaxseed hull. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 87, n. 8, p. 1455-1462, 2007.

ZHOU, H. Y.; LIU, C. Z. Rapid determination of solanesol in tobacco by high-performance liquid chromatography with evaporative light scattering detection following microwave-assisted extraction. *Journal of chromatography B*, v. 835, n. 1-2, p. 119-122, 2006.