

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

TATIANE AKEMI TODA

**Minimização de Resíduos do Processamento do Café Solúvel
através do Reaproveitamento da Borra para Extração de Óleo
utilizando Solvente Renovável**

TATIANE AKEMI TODA

**Minimização de Resíduos do Processamento do Café Solúvel
através do Reaproveitamento da Borra para Extração de Óleo
utilizando Solvente Renovável**

Versão Corrigida

Dissertação apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Ciências da Engenharia de Alimentos

Orientadora: Profa. Dra. Christianne Elisabete da Costa Rodrigues

Ficha catalográfica elaborada pelo Serviço
de Biblioteca e Informação, FZEA/USP,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

T633m Toda, Tatiane Akemi
Minimização de Resíduos do Processamento do Café Solúvel através do Reaproveitamento da Borra para Extração de Óleo utilizando Solvente Renovável / Tatiane Akemi Toda ; orientador Christianne Elisabete da Costa Rodrigues. -- Pirassununga, 2016.
111 p.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos) -- Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo.

1. extração com solvente. 2. borra de café. 3. etanol. 4. isopropanol. 5. pré-tratamento enzimático. I. Rodrigues, Christianne Elisabete da Costa, orient. II. Título.

*Dedico este trabalho a Thiago
e a minha amada família.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus por sempre estar presente em todos os momentos da minha vida!

A minha família, meus pais, Masayoshi e Anna, e meus irmãos, Mayumi, Junior e Neto, por todo o apoio, carinho e paciência em todos os momentos.

A minha querida orientadora Christianne Elisabete da Costa Rodrigues, pela confiança e apoio desde a iniciação científica em 2009 e pela ajuda em todos os momentos até mesmo quando não era sua orientada.

A Thiago, pela compreensão e paciência nos momentos difíceis.

A Keila e a Priscila, por sua amizade e conselhos.

A todos do Laboratório de Engenharia de Separações.

A toda a comunidade da FZEA/USP, professores, funcionários e alunos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

Aos professores membros da banca examinadora, por aceitarem o convite e pelas importantes contribuições para melhoria deste trabalho.

A FAPESP pela concessão da bolsa de mestrado (2013/25142-2) e o financiamento do auxílio a pesquisa (2014/09446-4).

A Profa. Dra. Cynthia Ditchfield e colaboradores do Laboratório de Operações Unitárias e Fenômenos de Transportes (ZEA) e Laboratório de Processos de Engenharia de Alimentos (ZEA), pela utilização do agitador de peneiras Tyler.

A Profa. Dra. Maria Teresa de Alvarenga Freire e colaboradores do Laboratório de Tecnologia de Sistemas de Embalagem (ZEA), pela utilização do rotaevaporador.

A Profa. Dra. Carmen Silvia Fávoro Trindade e colaboradores do Laboratório de Produtos Funcionais.

Ao Prof. Dr. Rodrigo Rodrigues Petrus e colaboradores da Planta de Processamento de Alimentos, pela utilização da seladora a vácuo.

A empresa Nestlé Brasil Ltda pela doação de borra de café essencial para a realização deste trabalho.

A Novozymes Latin America Ltda, Sr. Rodrigo Matsushita pela contribuição e auxílio na realização deste trabalho.

Resumo

TODA, T. A. Minimização de Resíduos do Processamento do Café Solúvel através do Reaproveitamento da Borra para Extração de Óleo utilizando Solvente Renovável. 2016. 111 p. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2016.

O principal resíduo da indústria de café solúvel é a borra de café, gerada após a extração de sólidos solúveis com água, sendo usualmente queimada em caldeiras para geração de energia para a própria indústria. Entretanto, este co-produto pode conter de 15 a 20 % de óleo, componente de grande interesse na indústria alimentícia. Em paralelo, na indústria de produção de óleos vegetais o solvente frequentemente utilizado é o hexano. Contudo, por este ser um derivado de combustíveis fósseis, alternativas para sua substituição por solventes mais amigáveis ao meio ambiente, que podem ser obtidos por via biotecnológica, estão sendo estudadas. Deste modo, o objetivo principal desta dissertação de mestrado foi a viabilização técnica do emprego de solventes alcoólicos no processo de extração de óleo de borra de café proveniente da indústria de processamento de café solúvel. Foram realizadas extrações sólido-líquido em um estágio para estudar a influência das variáveis de processo temperatura (60 a 90 °C), tipo de solvente (etanol, ET ou isopropanol, IPA) e a hidratação do solvente (absoluto ou azeotrópico) nas características das fases extrato e refinado, em termos de rendimento de extração de óleo, de ácidos clorogênicos (ACG), de carboidratos totais, teor de proteínas e índice de solubilidade de nitrogênio (ISN) da fase refinado. Pré-tratamento enzimático ao processo de extração também foi realizado para investigar a sua atuação sobre o rendimento de extração de óleo e ACG, além do ISN das fases refinado obtidas na temperatura de 70 °C. De forma geral, pode-se inferir que a temperatura favorece a extração de compostos lipídicos, mas a hidratação do solvente prejudica a extração destes compostos pelo aumento da polaridade do solvente. Do mesmo modo, como o ET é mais polar que o IPA, o primeiro solvente proporcionou a obtenção de menores rendimentos de extração de óleo. A temperatura de processo também influenciou a extração de ACG, a qual foi beneficiada a temperaturas mais baixas pelo aumento da polaridade dos solventes

utilizados. De tal forma, que a 60 °C, nos experimentos utilizando etanol azeotrópico obteve-se os menores rendimentos de extração de óleo, porém maior rendimento de extração de ACG. O pré-tratamento enzimático apresentou diferenças significativas nas características das fases extrato e refinado. No entanto, somente os experimentos com etanol absoluto resultaram em rendimentos de extração de óleo economicamente viáveis. De fato, será relevante um estudo mais aprofundado das variáveis de pré-tratamento enzimático para obter resultados mais expressivos em relação à extração de compostos lipídicos. Diante dos dados experimentais obtidos, conclui-se que é tecnicamente viável o emprego de solventes alcoólicos no processo de extração de óleo de borra de café. Entretanto, nota-se que as condições de processo devem ser avaliadas minuciosamente com o objetivo de se obter altos rendimentos de extração de óleo com maior teor de ACG.

Palavras Chave: Extração com solvente; Borra de café; Etanol; Isopropanol; Ácidos Clorogênicos; Pré-tratamento enzimático.

Abstract

TODA, T. A. Minimization of residues of soluble coffee processing by reuse of spent coffee grounds in oil extraction with a renewable solvent. 2016. 111 p. Master's degree dissertation – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2016.

Spent coffee grounds are the main residues of the soluble coffee industry, which are generated after the extraction of soluble solids with water. They are generally burned in boilers to generate energy for the coffee industry. However, this residue may contain 15 to 20 % oil, a component of interest to the food industry. Hexane is the most common solvent used in the vegetable oil industry; however, as it is a fossil fuel byproduct, biotechnology alternatives that replace it by more environmental-friendly solvents are being studied. Therefore, the main objective of this study was to determine technical viability of alcoholic solvents in oil extraction of spent coffee grounds. Solid-liquid extractions were carried out in one stage in order to analyze the influence of the variables of the process (temperature, 60 to 90 °C; type of solvent, ethanol, ET or isopropanol, IPA; and solvent hydration level, absolute or azeotropic degree) in the characteristics of extract and raffinate phases, in terms of yield of oil extraction, chlorogenic acids (CGA), total carbohydrates, protein content, and nitrogen solubility index (NSI) of the raffinate phase. Enzymatic pre-treatment in the extraction process was also carried out to assess its effect on the oil and CGA yields, as well as NSI in the raffinate phase obtained at 70 °C. In general, it could be inferred that temperature favored lipid extraction, but solvent hydration level negatively affected extraction due to the increased polarity of the solvent. Similarly, as ET is more polar than IPA, the former solvent enabled lower yield of oil. The temperature of the process also influenced CGA extraction, which was favored by lower temperatures and increased solvent polarity. Therefore, at 60 °C, in the trials using azeotropic ethanol, oil extraction yield was lower, and CGA yield was greater. Enzymatic pre-treatment showed significant differences in the characteristics of the extract and raffinate phases. However, only the trials with absolute ethanol led to economically viable oil yields. In fact, further studies on pre-treatment variables of the enzymatic treatment should be carried out for more relevant results in relation to lipid

compound extraction. Given the experimental data obtained here, it was concluded that the use of alcoholic solvents in oil extraction of spent coffee grounds is technically viable. However, the conditions of the process should be carefully analyzed for high yields of oil with greater levels of CGA to be obtained.

Keywords: Solvent extraction; Spent coffee grounds; Ethanol; Isopropanol; Chlorogenic acids; Enzymatic pre-treatment.

Lista de Figuras

Figura 1.1 Fluxograma de produção de café solúvel granulado.**Erro! Indicador não definido.**

Figura 3.1 Estrutura molecular dos ácidos clorogênicos e produtos de sua degradação: 1 - ácido quínico, 2 – Ácido 5-O-Cafeoilquínico, 3 – ácido cafeico, 4 – Ácido 3-O-Cafeoilquínico, 5 – Ácido 4-O-Cafeoilquínico e 6 – Ácido cis-5-O-Cafeoilquínico.....23

Figura 4.1 (a) Extrator confeccionado em aço inoxidável. (b) Detalhe do cesto utilizado para acomodação da borra de café.....40

Figura 4.2. Parâmetros temperatura, pH e concentração enzimática dos pré-tratamentos enzimáticos.....45

Figura 5.1 Parâmetros investigados nos ensaios de determinação do Índice de Solubilidade de Nitrogênio (ISN) da borra de café.53

Figura 5.2 Distribuição granulométrica da borra de café pela peneira Tyler.56

Figura 5.3 Distribuição granulométrica da borra de café por difração a laser.57

Figura 5.4 Teor de água (% em massa) na fase extrato em função da temperatura de processo.....61

Figura 5.5 Rendimento de extração (%) de óleo de borra de café para os diferentes condições experimentais.63

Figura 5.6 Densidade do etanol e isopropanol, em graus absoluto e azeotrópico, de 293,15 a 343,15 K.64

Figura 5.7 Viscosidade de etanol e isopropanol, em graus absoluto e azeotrópico, de 293,15 a 343,15 K.65

Figura 5.8 Teor de ácidos clorogênicos totais (%) no óleo extraído em função da temperatura de processo.....66

Figura 5.9 Rendimento de extração de ácidos clorogênicos totais (%) no óleo obtido das extrações sólido-líquido nos diferentes solventes utilizados.....68

Figura 5.10 Teor de proteínas (%) na fase refinado em função da temperatura de processo.....70

Figura 5.11 Rendimento de extração de carboidratos totais (%) em função da temperatura de processo.....71

Figura 5.12 Índice de retenção (Kg solução aderida/Kg sólidos inertes) como função da temperatura de processo.....79

Figura 5.13 Rendimento de extração de óleo (%) e de carboidratos (%) para as extrações utilizando etanol absoluto como solvente, a 70 °C, com e sem pré-tratamento enzimático.	83
Figura 5.14 Rendimento de extração de óleo (%) e de carboidratos (%) para as extrações utilizando etanol azeotrópico como solvente, a 70 °C, com e sem pré-tratamento enzimático.	84
Figura 5.15 Rendimento de extração de óleo (%) utilizando diferentes solventes, a 70 °C, com e sem pré-tratamento enzimático.	85
Figura 5.16 Rendimento de extração de carboidratos (%) utilizando diferentes solventes, a 70 °C, com e sem pré-tratamento enzimático.	87
Figura 5.17 Teor de ácidos clorogênicos totais (%) no óleo de borra de café obtido das extrações com e sem pré-tratamento enzimático.	88
Figura 5.18 Índice de Solubilidade de Nitrogênio (%), no pH 11, para as fases refinado provenientes das extrações a 70 °C utilizando etanol e isopropanol, nos graus absoluto e azeotrópico como solventes, com e sem pré-tratamento enzimático.	91
Figura 9.1 Curva de calibração de ácidos clorogênicos totais.....	109
Figura 10.1 Efeito do pH sobre a atividade da Celluclast® 1.5 L.	110
Figura 10.2 Efeito da temperatura sobre a atividade da Celluclast® 1.5 L.....	110
Figura 10.3 Efeito do pH sobre a atividade da Viscozyme® L com diferentes substratos.....	111
Figura 10.4 Efeito da temperatura sobre a atividade da Viscozyme® L com diferentes substratos.....	111

Lista de Tabelas

Tabela 3.1 Parâmetros utilizados em estudos com tratamento enzimático para rompimento da parede celular de diferentes materiais.....	30
Tabela 5.1 Composição centesimal da borra de café após adequação de umidade.	49
Tabela 5.2 Composição em ácidos graxos do óleo da borra de café.....	52
Tabela 5.3 Índice de Solubilidade de Nitrogênio (%) da borra de café para as dispersões em água deionizada na razão sólido/líquido de 5/50.	54
Tabela 5.4 Constantes dielétricas (ϵ) dos solventes utilizados nos experimentos de extração sólido-líquido.	58
Tabela 5.5 Condições experimentais e desvios do balanço de massa para os ensaios de extração sólido-líquido em um estágio.....	59
Tabela 5.6 Teor de água na fase extrato (% em massa) para diferentes solventes de extração.....	60
Tabela 5.7 Rendimento (g de óleo extraído/ 100 g de borra de café) das extrações realizadas para diferentes condições experimentais.....	62
Tabela 5.8 Teor de ácidos clorogênicos totais (%) no óleo de borra de café obtido das extrações sólido-líquido utilizando os solventes etanol ou isopropanol, nos graus absoluto ou azeotrópico.	67
Tabela 5.9 Teor de proteínas (% em base seca) na fase refinado das extrações sólido-líquido realizadas utilizando como solventes, etanol ou isopropanol, nos graus absoluto ou azeotrópico.	69
Tabela 5.10 Rendimento de extração de carboidratos totais (%) para diferentes condições experimentais.....	71
Tabela 5.11 Composição em ácidos graxos para os óleos de borra de café obtidos a 60 °C com diferentes solventes.....	74
Tabela 5.12 Composição em ácidos graxos para os óleos de borra de café obtidos a 70 °C com diferentes solventes.....	75
Tabela 5.13 Composição em ácidos graxos para os óleos de borra de café obtidos a 80 °C com diferentes solventes.....	76
Tabela 5.14 Composição em ácidos graxos para os óleos da borra de café obtidos a 90 °C com diferentes solventes.....	77
Tabela 5.15 Índice de retenção (Kg solução aderida/Kg inertes) para diferentes condições experimentais.....	79

Tabela 5.16 Rendimento de extração de óleo (%) das extrações sólido-líquido com e sem pré-tratamento enzimático.	85
Tabela 5.17 Rendimento de extração de carboidratos (%) das extrações sólido-líquido com e sem pré-tratamento enzimático.	86
Tabela 5.18 Teor de ácidos clorogênicos totais do óleo (%) obtido das extrações sólido-líquido com e sem pré-tratamento enzimático.	89
Tabela 5.19 Composição em ácidos graxos do óleo de borra de café obtida, a 70 °C, com pré-tratamento enzimático.	90
Tabela 5.20 Índice de solubilidade de nitrogênio (%) das fases refinado das extrações sólido-líquido a 70 °C, com e sem pré-tratamento enzimático.	92

Sumário

1	INTRODUÇÃO	16
2	OBJETIVOS	20
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	21
3.1	Perspectivas para utilização de borra de café.....	21
3.2	Obtenção de óleo de borra de café utilizando extração com solvente	24
3.3	Obtenção de óleo de borra de café utilizando tratamento enzimático prévio à etapa de extração	28
3.4	Avaliação do impacto das condições de processo de extração sobre a fração proteica do material desengordurado	32
4	MATERIAIS E MÉTODOS	34
4.1	Materiais.....	34
4.1.1	Reagentes	34
4.1.2	Equipamentos.....	35
4.1.3	Diversos.....	36
4.2	Metodologia.....	37
4.2.1	Caracterização da matéria-prima.....	37
4.2.2	Determinação de dados de extração sólido-líquido em um estágio.....	40
4.2.3	Análises da fase extrato	41
4.2.4	Análises da fase refinado	42
4.2.5	Determinação experimental de dados de densidade e viscosidade dos solventes.....	43
4.2.6	Pré-tratamento enzimático ao processo de extração sólido-líquido.....	44
4.2.7	Cálculo das constantes dielétricas dos solventes utilizados nos experimentos de extração de óleo.	46
4.2.8	Verificação da qualidade dos dados experimentais através de cálculos de balanço de massa	46
4.2.9	Análise estatística.....	48

5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
5.1	Caracterização da matéria-prima	48
5.1.1	Composição centesimal.....	49
5.1.2	Composição em ácidos graxos do óleo contido na borra de café.....	51
5.1.3	Determinação do índice de solubilidade de nitrogênio da fração proteica presente na borra de café	52
5.1.4	Determinação da distribuição granulométrica e do tamanho médio das partículas.....	55
5.2	Cálculo das constantes dielétricas dos solventes utilizados nos experimentos de extração de óleo	57
5.3	Avaliação da qualidade dos dados experimentais de extração	58
5.4	Estudo do processo de extração sólido-líquido em batelada	59
5.4.1	Análises da fase extrato e refinado.....	59
5.4.2	Índice de retenção	78
5.5	Estudo do processo de extração sólido-líquido em batelada com pré-tratamento enzimático	80
5.6	Estudo do índice de solubilidade de nitrogênio (ISN) das fases refinado obtidas das extrações sólido-líquido.....	91
6	CONCLUSÕES	94
7	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	96
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	97
9	Apêndice	109
10	Anexo	110

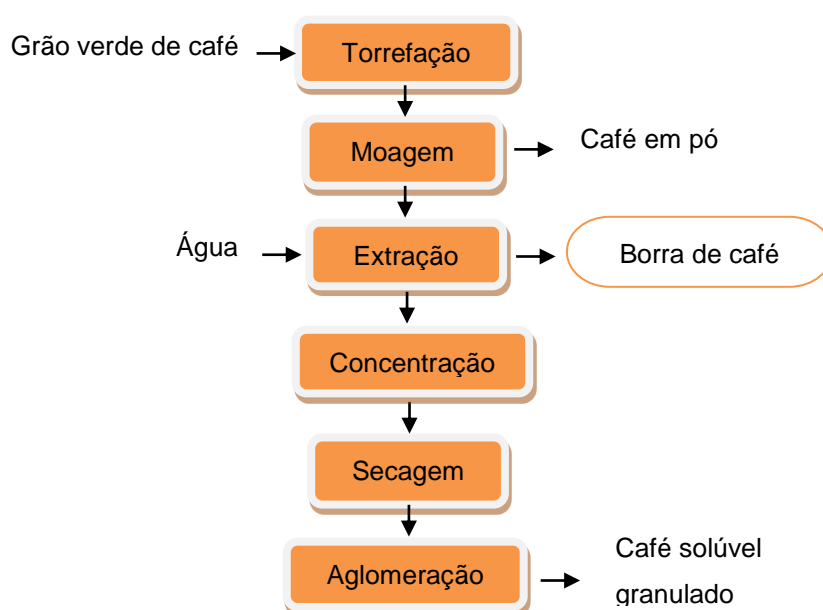
1 INTRODUÇÃO

O café é um dos produtos primários mais valiosos no comércio global, sendo que no ano de 2014 o consumo atingiu a marca de quase nove milhões de toneladas de café verde (ICO, 2016). Segundo a Associação Brasileira da Indústria do Café, ABIC, no ano de 2014, o consumo de café em grãos no Brasil foi de 20 milhões de sacas, sendo que este material vegetal é usualmente comercializado na forma de grãos, em pó ou como café solúvel (ABIC, 2016).

Nos últimos 50 anos, a produção e o consumo de café têm aumentado significativamente. Em 2013, mais de 70 países produziam café, sendo o Brasil considerado o principal produtor (FAO, 2016).

No processo de beneficiamento os grãos verdes são torrados a 200 °C e moídos para obtenção do café em pó, o qual pode ser comercializado como café regular ou enviado para a produção de café solúvel. Para a produção de café solúvel, o café moído passa por um processo de extração sólido-líquido utilizando-se água como solvente. O extrato de café obtido é concentrado, seco (alcançando aproximadamente 3 % de umidade) e aglomerado para a produção de um produto granulado (RAMALAKSHMI e RAGHAVAN, 2003). Este processamento está representado esquematicamente na Figura 1.1.

Figura 1.1 Fluxograma de produção de café solúvel granulado.



Fonte: Própria autoria.

No Brasil, cerca de 1 milhão de sacas de grãos de café foram utilizadas para a produção de café solúvel em 2014 (ABIC, 2016). A extração dos sólidos solúveis utilizando-se água como solvente a partir do café moído produz uma quantidade considerável de sólidos insolúveis a qual é comumente nomeada de borra de café, caracterizando-se como um resíduo industrial e, também, doméstico.

De fato, considerando-se que o processamento de uma tonelada de café verde leva a geração de aproximadamente 650 kg de borra de café (CLAUDE, 1979 apud VEGRO & CARVALHO, 2016), pode-se realizar uma projeção quanto à geração de borra de café no Brasil. Como reportado anteriormente, no ano de 2014 o consumo de grãos de café para a produção de café solúvel foi de aproximadamente 1 milhão de sacas de 60 kg, o que levou a uma geração aproximada de 43 mil toneladas de borra de café úmida, naquele ano.

Tokimoto et al. (2005) apresentaram que, mundialmente, são produzidos 6 milhões de toneladas de borra de café por ano sendo que, geralmente, a borra de café é queimada em caldeiras para a produção de energia a qual é utilizada na própria indústria. Ou ainda este material pode ser direcionado para diferentes locais especializados como a compostagem, jardinagem, produção de bioenergia ou a produção de cogumelos (CAMPOS-VEGA et al., 2015).

No entanto, diversas pesquisas têm mostrado que este resíduo possui características que podem torná-lo interessante do ponto de vista econômico e tecnológico.

Pesquisas recentes reportam o desenvolvimento de métodos para a obtenção de etanol (CHOI et al., 2012), ésteres etílicos (KONDAMUDI et al., 2008; SANTOS, 2010), manitol (JOOSTE et al., 2013), compostos antioxidantes (ACEVEDO et al., 2013; ANDRADE et al., 2012; BRAVO et al., 2013; CRUZ et al., 2012; MUSSATTO et al., 2011a; PANUSA et al., 2013; RANIC et al., 2014; ZUORRO e LAVECCHIA, 2012), biodiesel (CAETANO et al., 2014; JENKINS et al., 2014; KWON et al., 2013; ROCHA et al., 2014), diterpenos (BARBOSA et al., 2014), açúcares (MUSSATTO et al., 2011b) e poliésteres biodegradáveis (CRUZ et al., 2014; OBRUCA et al., 2014) a partir da borra de café.

Componentes bastante valorizados na indústria alimentícia como o óleo e a proteína são significativamente encontrados na borra de café. O teor de lipídeos está

entre 9 e 18 % em base seca (COUTO et al., 2009; CRUZ et al., 2012; OBRUCA et al., 2014) e o teor de proteínas entre 10 a 17 % em base seca (ACEVEDO et al., 2013; BALLESTEROS et al., 2014; CRUZ et al., 2012). Alguns trabalhos obtiveram teores de óleo acima de 20 % em base seca utilizando éter de petróleo como solvente (ACEVEDO et al., 2013; LAGO et al., 2001).

De fato, pode-se inferir que o óleo contido na borra de café, se extraído através de metodologia adequada, pode se tornar uma matéria-prima para a indústria de alimentos e, desta forma, a borra de café poderia não mais ser considerada como um simples resíduo do processamento do grão.

Os métodos mais utilizados de extração de óleo são por prensagem ou utilizando solventes. A escolha por um ou outro método, ou ainda pela combinação destes depende do teor de compostos lipídicos no material oleaginoso. No caso de matérias-primas com teores de lipídeos abaixo de 20 %, como a borra de café, é recomendado o processo de extração utilizando solventes (WAKELYN e WAN, 2005).

Na indústria de óleos vegetais o hexano é o solvente usualmente utilizado. Entretanto, este composto é considerado uma neurotoxina a altas concentrações, além de ser um derivado de petróleo e altamente inflamável (HAMMOND et al., 2005). Pesquisadores têm estudado solventes e métodos alternativos para diminuir ou evitar o uso deste solvente no processo de extração (HAMMOND et al., 2005; HU et al., 1996; JOHNSON e LUSAS, 1983; TIR et al., 2012).

Os álcoois de cadeia curta como o etanol (álcool etílico) e o isopropanol (álcool isopropílico) apresentam vantagens consideráveis com relação ao hexano pela sua possível produção por via biotecnológica, por apresentarem menor grau de inflamabilidade, por não gerarem resíduos tóxicos e por serem considerados mais seguros para a saúde humana (JOHNSON e LUSAS, 1983; REGITANO-D'ARCE, 1985; RODRIGUES, 2011; SCHARLACK, 2015).

Com base nas informações listadas, a presente dissertação de mestrado objetivou não somente a viabilização técnica do emprego de solventes alternativos na indústria de óleos vegetais, mas também a minimização de resíduos provenientes da indústria de processamento de café solúvel.

Deste modo, avaliou-se a influência das variáveis de processo, temperatura e tipo de solvente no rendimento de extração de compostos lipídicos e compostos

minoritários presentes na borra de café proveniente de processo industrial de produção de café solúvel, empregando solventes alcoólicos, etanol e isopropanol, nos graus absoluto e azeotrópico. Em adição, nesta dissertação de mestrado foi também realizado estudo preliminar de pré-tratamento enzimático da borra de café com o objetivo de potencializar o rendimento de extração de compostos lipídicos.

2 OBJETIVOS

A presente dissertação de mestrado tem como objetivo principal avaliar a viabilidade técnica do emprego de solventes alcoólicos no processo de extração de óleo de borra de café, bem como a avaliação da influência das variáveis de processo, teor de água no solvente alcoólico e temperatura, nas características do óleo (composição em ácidos graxos e teor de ácidos clorogênicos totais) e na qualidade da fração proteica do material desengordurado obtido pela extração.

Em adição, este trabalho também objetivou avaliar o efeito do tratamento enzimático prévio ao processo de extração utilizando os solventes alcoólicos nas características das fases extrato e refinado obtidas.

Desta maneira, para atingir os objetivos propostos, foram realizadas as seguintes atividades:

- Experimentos de extração sólido-líquido em um estágio utilizando como solventes os álcoois de cadeia curta, etanol com 0 e 6 % de água e isopropanol com 0 e 12 % de água, e caracterização das fases extrato e refinado, a fim de se avaliar a influência da hidratação e tipo de solvente e da temperatura de processo (60, 70, 80 e 90 °C) sobre o rendimento de extração;
- Experimentos de extração sólido-líquido em um estágio com pré-tratamento enzimático para investigar a influência do tratamento enzimático na qualidade e rendimento do óleo, teor de ácidos clorogênicos totais no óleo, rendimento de extração de carboidratos e solubilidade proteica da fase refinado.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Perspectivas para utilização de borra de café

Pesquisas recentes reportam o desenvolvimento de métodos para a obtenção de energia a partir da borra de café (SANTOS, 2010; CHOI et al., 2012; KONDAMUDI et al., 2008). Santos (2010) em sua dissertação de mestrado utilizou o extrator do tipo Soxhlet para a extração do óleo da borra de café, sendo este utilizado para a produção de ésteres etílicos através de transesterificação por via ácida (catalisador ácido sulfúrico) e via alcalina (catalisador metóxido de sódio). Os experimentos foram realizados didaticamente para um Curso Técnico em Química e o óleo extraído foi analisado em termos de densidade, umidade e índice de acidez para investigar a possibilidade de utilização deste óleo para produção de biodiesel.

Choi et al. (2012) realizaram um estudo para a utilização da borra de café na produção de etanol. Os autores realizaram um pré-tratamento da borra de café, no qual a matéria-prima é submetida a pressões de 0,49 a 1,96 MPa por 10 min e, então, é exposta rapidamente a pressão atmosférica. Após este pré-tratamento uma subsequente fermentação utilizando *Saccharomyces cerevisiae* foi aplicado. O procedimento utilizado resultou em um rendimento de 87,2 % (baseado no conteúdo de açúcares) e uma concentração de etanol de 15,3 g/L.

Kondamudi et al. (2008) submeteram a borra de café a um contato, sob refluxo, durante uma hora, com solventes orgânicos de baixo ponto de ebulição, tais como n-hexano, éter e diclorometano. Após este processo, os autores submeteram o óleo extraído ao processo de transesterificação utilizando hidróxido de potássio como catalisador da reação. Os autores otimizaram o processo de produção de ésteres metílicos de ácidos graxos avaliando a quantidade de metanol, a quantidade de catalisador e o tempo de reação.

De acordo com Jooste et al. (2013) a borra de café é composta por polissacarídeos como a celulose e galactomananas as quais são insolúveis na água durante o processo de produção de café solúvel, permanecendo no sólido residual do processo de extração (borra de café; vide Figura 1.1). Os autores utilizaram um coquetel enzimático composto por diferentes enzimas (mananase, endoglucanase, exoglucanase, pectinase e xilanase) para solubilizar/hidrolisar a borra e, por

consequência, aumentar o rendimento de sólidos solúveis no processo de produção do café instantâneo. Em adição, os autores citam que o material hidrolisado via utilização do coquetel de enzimas pode ser utilizado como matéria-prima na produção de etanol e aditivos alimentares, tal como o manitol.

Fan e Soccol (2005) estudaram o potencial nutritivo de diferentes resíduos do processamento do grão de café, tais como cascas provenientes do processo de secagem, polpa proveniente do processo de separação dos grãos e a borra do café proveniente do processo de produção de café solúvel. Os autores comentam que os resíduos foram utilizados no estudo por serem altamente nutritivos para o crescimento de cogumelos, tal como o Shiitake. Os autores sugerem que é necessária a etapa de remoção de substâncias tóxicas presentes nos resíduos, tal como a cafeína, uma vez que esta não favorece o crescimento dos cogumelos.

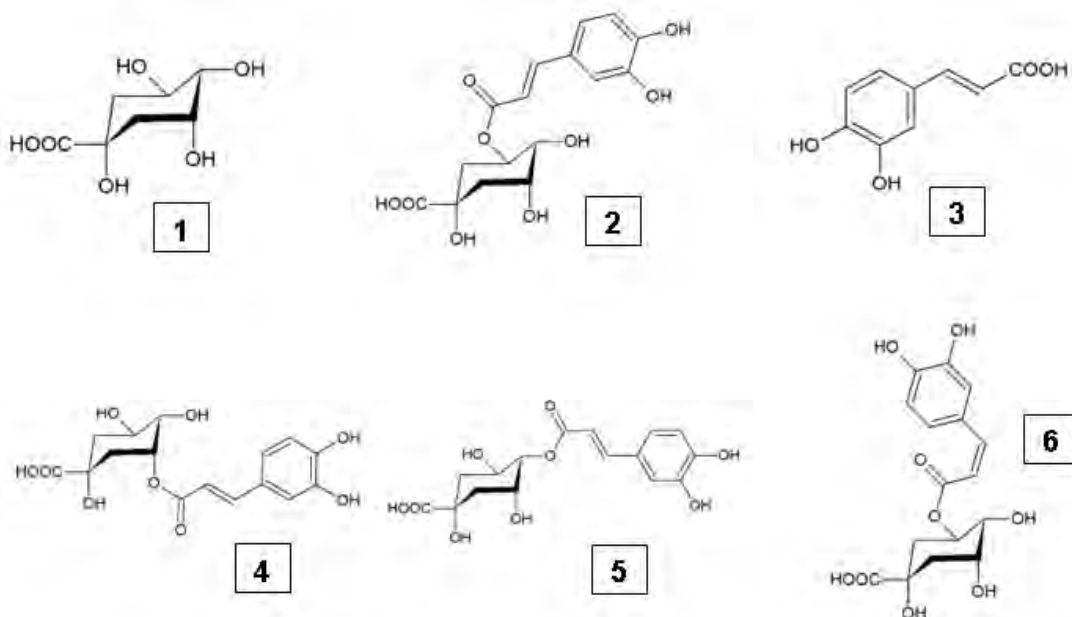
Fan e Soccol (2005) ainda determinaram a composição da casca, polpa e borra de café. A borra de café apresentou aproximadamente de 10 a 12 % de proteínas, 15 a 17 % de lipídeos, 13 a 18 % de celulose, 41 a 49 % de extrato não nitrogenado, sendo que estes valores variam dependendo da variedade do café e das condições do processo de extração aquosa utilizado no processo de produção de café solúvel. Deste conteúdo total de lipídeos, 75 % são triacilgliceróis, 18 % ésteres diterpênicos, 1,4-3,4 % ésteres de esteróis, 1,5 % esteróis livres, 0,1-1,2 % diterpenos livres, vestígios de fosfatídios e 0,3-0,7 % são tocoferóis (FAN e SOCCOL, 2005; RINCON, 2011).

Os óleos vegetais são amplamente utilizados na indústria alimentícia com diversas aplicações tais como emulsificantes, modificadores de viscosidade, dispersantes, entre outras importantes funções. O óleo contido na borra de café, se extraído através de metodologia adequada, pode se tornar uma matéria-prima para a indústria de alimentos e não mais ser considerado como um simples resíduo.

Segundo Acevedo et al. (2013), os principais ácidos graxos presentes no óleo extraído da borra de café industrial pelo método de Soxhlet são ácido palmítico (32,45 %) e ácido linoléico (45,04 %), sendo que, de acordo com Fonseca & Gutierrez (1971), os teores de óleo nas borras de café e a composição em ácidos graxos destes apresentaram pouca variação entre o processo industrial de produção de café solúvel e o processo caseiro de produção de café.

Os compostos fenólicos do café possuem propriedades benéficas à saúde, não só devido a sua atividade antioxidante, mas também como agentes hepatoprotetores, hipoglicemantes e antivirais. Além disso, estas substâncias estabelecem a qualidade do café nos aspectos relacionados ao sabor e aroma da bebida. Os ácidos clorogênicos, um dos maiores conjuntos de compostos fenólicos, representam de 6 a 12 % em massa do grão de café e conferem pigmentação e adstringência à bebida. Durante a etapa de torrefação dos grãos de café estes ácidos podem se degradar e formar substâncias que contribuem para a amargura da bebida, além de compostos aromáticos que são indesejáveis para as características sensoriais do café (DUARTE et al., 2010). A Figura 3.1 apresenta a estrutura molecular dos ácidos clorogênicos e seus compostos de degradação (DAWIDOWICZ e TYPEK, 2014).

Figura 3.1 Estrutura molecular dos ácidos clorogênicos e produtos de sua degradação: 1 - ácido quínico, 2 - Ácido 5-O-Cafeoilquínico, 3 - ácido cafeico, 4 - Ácido 3-O-Cafeoilquínico, 5 - Ácido 4-O-Cafeoilquínico e 6 - Ácido cis-5-O-Cafeoilquínico.



Fonte: DAWIDOWICZ e TYPEK (2014)

Andrade (2011) realizou a extração do óleo da borra de café utilizando diferentes solventes em extrator do tipo Soxhlet, extração assistida por ultrassom, além de extração com dióxido de carbono supercrítico. Neste trabalho, o autor determinou também o teor de compostos fenólicos totais, expressos em

equivalentes de ácidos clorogênicos (EAC), obtendo maior teor, 587 mg EAC/g de extrato, no óleo extraído da borra de café pelo método de ultrassom utilizando como solvente o etanol. Segundo o autor, o baixo teor de ácidos clorogênicos detectado no óleo da borra de café pode estar associado à degradação destes compostos durante o processo de torrefação dos grãos para o preparo da bebida.

Cruz et al. (2012) caracterizaram quimicamente resíduos de máquinas de café expresso para fundamentar a possibilidade da utilização da borra de café como uma potencial fonte de compostos bioativos. Os autores determinaram o teor de substâncias na borra de café, tais como os ácidos clorogênicos (478,9 mg/100g) e a cafeína (452,6 mg/100g), pela capacidade antioxidante e pela ampla utilização nas indústrias de alimentos e farmacêutica, respectivamente.

Rincon (2011) estudou o fracionamento do óleo de café verde por meio de destilação molecular com o objetivo de obter frações com maior teor de diterpenos. Os diterpenos cafestol e caveol são substâncias que estimulam a produção de colesterol causando hipercolesterolemia no corpo. No entanto, estes compostos também possuem propriedades de quimioproteção contra toxinas de ação carcinogênica e propriedades de proteção contra os raios solares, sendo utilizados na formulação de filtros solares.

De maneira geral pode-se inferir que a borra de café possui um teor de óleo considerado baixo, assim como outras matérias-primas oleaginosas, tal como a soja que apresenta de 15 a 20 % de lipídeos. Nestes casos, estas matérias-primas devem ser submetidas ao processo de extração sólido-líquido utilizando-se um solvente adequado. Aspectos relacionados à extração com solventes serão abordados no item a seguir.

3.2 Obtenção de óleo de borra de café utilizando extração com solvente

O processo de extração com solvente consiste na utilização de um solvente adequado com capacidade de dissolver o óleo contido no material oleaginoso. O óleo é extraído do material sólido por transporte de massa sendo as etapas de lixiviação, lavagem, difusão e diálise partes deste processo (JOHNSON e LUSAS, 1983; WAKELYN e WAN, 2005).

O solvente mais utilizado comercialmente na indústria de extração de óleos vegetais é a hexana, a qual consiste de 50 a 80 % de n-hexano e outros isômeros

de parafinas de 6 carbonos (WAKELYN e WAN, 2005). Na fase vapor, o hexano se misturado ao ar, pode ser altamente explosivo, fato que causa cautela e especial atenção em termos de segurança na construção e operação de indústrias de extração de óleos vegetais (KEMPER, 2005). Além disso, o custo do hexano depende da flutuação de preços do mercado de combustíveis fósseis (GANDHI et al., 2003; JOHNSON e LUSAS, 1983; RUSSIN et al., 2011).

O n-hexano é considerado como uma neurotoxina nos Estados Unidos da América, sendo que o limite de exposição do ser humano ao n-hexano é de 500 mg/kg (1,8 mg/m³) podendo causar depressão do sistema nervoso central, náuseas, dores de cabeça e irritação nos olhos e garganta (HAMMOND et al., 2005; OSHA, 2016). Apesar de este solvente ser altamente estável e ter baixa perda por evaporação, apresenta desvantagens que vem motivando pesquisadores a estudar alternativas para sua substituição (FRANCO et al., 2007, 2009; GANDHI et al., 2003; MAGNE e SKAU, 1953; RUSSIN et al., 2011; SINEIRO et al., 1998; SINICHI e DIOSADY, 2014).

Do ponto de vista ambiental, os solventes alcoólicos, tal como o etanol e o isopropanol apresentam maiores vantagens em relação ao hexano, pois não geram resíduos tóxicos, podem ser produzidos por via biotecnológica, possuem menor grau de inflamabilidade e são considerados menos prejudiciais para a saúde humana (RODRIGUES, 2011; SAWADA, 2012).

De modo geral, os alcoóis de cadeia curta têm apresentado bom desempenho na extração de óleos vegetais. Hu et al. (1996) otimizaram as condições de extração do óleo de farelo de arroz utilizando como solventes o hexano e o isopropanol, sendo que o isopropanol apresentou a maior capacidade de extração de vitamina E, um composto minoritário e nutracêutico do óleo, quando comparado ao hexano. Segundo Johnson & Lusas (1983), os alcoóis são mais polares que o hexano e, por isso, tendem a extrair maior quantidade de compostos não-glicerídeos. Geralmente os óleos extraídos com álcool contêm também maior quantidade de fosfatídeos e compostos insaponificáveis (JOHNSON e LUSAS, 1983).

O emprego do etanol na extração de óleos vegetais torna-se bastante interessante uma vez que este solvente apresenta baixo custo e grande

disponibilidade no Brasil, além de ser um solvente menos prejudicial ao meio ambiente que o hexano.

Rodrigues (2011) utilizou o etanol em processos de extração e desacidificação de óleos vegetais. A autora estudou as matérias-primas soja laminada e farelo de arroz em *pellets*, analisando o índice de retenção, extração de compostos minoritários de interesse (ácidos graxos livres e compostos antioxidantes), densidade e viscosidade dos extratos obtidos e o rendimento da extração. O estudo demonstrou a viabilidade técnica e econômica da utilização de solventes biorenováveis como o etanol na substituição do hexano nos processos de extração de óleos vegetais (RODRIGUES e OLIVEIRA, 2010; RODRIGUES et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2012a,b).

A extração de óleo de soja utilizando etanol como solvente foi avaliada por Sawada (2012) que estudou a influência da hidratação do solvente e temperatura em termos de rendimento de óleo. Além disso, a autora avaliou o impacto destas mesmas variáveis na qualidade da fração proteica do farelo desengordurado (SAWADA et al., 2014). Toda et al. (2016) realizaram o estudo cinético da extração de óleo de soja utilizando etanol como solvente e monitorando o rendimento de extração de óleo e de ácidos graxos livres. Através dos dados experimentais pode-se calcular os coeficientes de transferência de massa e os coeficientes de difusividade.

Tir et al. (2012) investigaram as propriedades do óleo extraído de sementes de gergelim como função das características físico-químicas, em especial a polaridade, de diferentes solventes. As extrações foram realizadas em extrator do tipo Soxhlet utilizando os seguintes solventes: hexano, etanol, acetona, diclorometano, isopropanol, mistura de hexano/isopropanol e mistura de clorofórmio/metanol. Os autores consideraram o isopropanol um solvente eficaz e vantajoso para a extração de óleo de gergelim. Além de este solvente ser menos inflamável e exibir menor toxicidade, a estrutura anfifílica permite a extração de um óleo com maior teor de esteróis e tocoferóis comparado aos outros solventes.

Capellini (2013) avaliou as características do óleo e da fração proteica resultantes da extração sólido-líquido à partir do farelo de arroz utilizando como solventes o etanol e o isopropanol, com ou sem hidratação. Na extração utilizando o isopropanol como solvente observou-se maior quantidade de triacilgliceróis no

material lipídico extraído (cerca de 60 %). Quando o etanol azeotrópico foi utilizado, verificou-se maior extração de ácidos graxos livres com quantidades próximas a 30 %.

Scharlack (2015) estudou a extração de óleo da massa prensada de sementes de girassol utilizando os solventes etanol e isopropanol em grau absoluto e azeotrópico, avaliando o rendimento de extração de óleo, teor de ácidos clorogênicos, teor de tocoferóis, estabilidade oxidativa e teor de fosfolipídeos do óleo extraído. A autora verificou que o solvente que mais extraiu ácidos clorogênicos foi o etanol em grau azeotrópico enquanto os outros tipos de solventes estudados apresentaram capacidade similar de extração de óleo.

No que diz respeito à utilização de solventes alternativos ao hexano na extração de óleo de borra de café pode ser citado o estudo reportado por Matos et al. (2010). Neste trabalho os autores reportaram a realização de extração assistida por ultrassom de óleo de borra de café utilizando diferentes solventes orgânicos. Os autores também analisaram a composição em ácidos graxos dos óleos obtidos pelos diferentes métodos. A maior quantidade de lipídeos totais pode ser observada na extração utilizando hexano em relação à utilização do etanol. Os autores constataram, também, que independente do solvente utilizado, os ésteres obtidos em sua maioria são compatíveis para a produção de biocombustível.

A extração de óleo da borra de café por Soxhlet é o método mais utilizado em pesquisas recentes para o aproveitamento deste tipo de lipídeo (SANTOS, 2010; LAGO e ANTONIASSI, 2000; BRAVO et al., 2013; ANDRADE, 2011).

Al-Hamamre et al. (2012) obtiveram a mesma conclusão que Matos et al. (2010) quando investigaram o efeito da aplicação de diferentes solventes polares (isopropanol, etanol e acetona) e não polares (tolueno, clorofórmio, hexano e n-pentano) na extração do óleo à partir de borra de café. Segundo os autores, o hexano foi o solvente que resultou no maior rendimento de óleo (15,3 %) após 30 minutos de tempo de extração.

Abdullah e Koc (2013) extraíram óleo da borra de café pelos métodos de Soxhlet tradicional e o assistido por ultrassom utilizando hexano e uma combinação de metanol e hexano como solventes. Comparando-se os rendimentos das extrações realizadas, os experimentos com ultrassom resultaram em maiores

valores de rendimento. Os autores reportaram que o aumento do rendimento pode ser devido à diminuição do tamanho de partícula pela ação do ultrassom.

Com base nas considerações enumeradas, a presente dissertação de mestrado visa avaliar a viabilidade técnica do emprego de solventes alcoólicos, etanol e isopropanol, absoluto ou hidratado, no processo de obtenção de óleo de borra de café. Além disso, este trabalho avaliou a influência de tratamento enzimático prévio ao processo de extração utilizando solventes no rendimento de extração e qualidade do óleo obtido. Aspectos relacionados ao pré-tratamento enzimático são discutidos no item 3.3.

3.3 Obtenção de óleo de borra de café utilizando tratamento enzimático prévio à etapa de extração

Como comentado anteriormente, a extração de óleos vegetais normalmente é realizada por prensagem ou utilizando solventes. Alguns estudos têm utilizado hidrólise enzimática para romper a parede celular e liberar o óleo contido nos corpos lipídicos, auxiliando o processo de extração (DOMÍNGUEZ et al., 1994, 1995; JIAO et al., 2014; LI et al., 2012; LONG et al., 2011; YUSOFF et al., 2015; PASSOS et al., 2009; YOU et al., 2011). Deste modo, a estrutura celular destes materiais oleaginosos é estudada para entender a ação enzimática que levará à obtenção de maior rendimento de extração de óleo.

Os materiais oleaginosos vegetais, normalmente, possuem células que são envoltas de paredes celulares que consistem, principalmente, de celulose, hemicelulose e lignina e ainda, dependendo do vegetal, podem conter pectina em sua composição (ROSENTHAL et al., 1996).

De acordo com Ballesteros et al. (2014) a borra de café é composta majoritariamente por polissacarídeos, ou seja, cerca de 12,40 % de celulose, 39,10 % de hemicelulose e 23,90 % de lignina em base seca, além de 60,40 % de fibras dietéticas.

Corpos lipídicos ou esferossomos são os principais locais de armazenamento de lipídeos em células vegetais, os quais podem variar de 0,2 a 20 μm de diâmetro dependendo do vegetal (ROSENTHAL et al., 1996; TZEN et al., 1993). Essas organelas são estabilizadas por proteínas estruturais específicas que atuam como

emulsificantes naturais protegendo o óleo da oxidação e hidrólise lipídica (CAPUANO et al., 2007; PURKRTOVA et al., 2008).

Tais informações indicam a utilização de enzimas carboidrases para a degradação da parede celular e, além disso, o uso de enzimas proteolíticas para hidrolisar a proteína estrutural presente nos corpos lipídicos (ROSENTHAL et al., 1996).

Entretanto, o pré-tratamento enzimático é influenciado por diversos fatores além da enzima utilizada, como a concentração enzimática, o pH do meio, a temperatura, a razão sólido:líquido e o tempo de contato. A Tabela 3.1 apresenta breve revisão da literatura com a faixa de valores dos parâmetros explorados por cada estudo.

O teor de umidade no tratamento enzimático desempenha um papel importante na mobilidade das enzimas e, conseqüentemente no rompimento da parede celular. A mesma importância é observada para os parâmetros tempo e concentração enzimática, no qual tempos prolongados de tratamento de 10 horas e alta concentração enzimática de 3 g enzima/100 g de semente de girassol seco beneficiam o tratamento, segundo Domínguez et al. (1996).

Em relação ao tempo de contato, Passos et al. (2009) avaliaram este parâmetro de processo e concluíram que tratamentos enzimáticos prolongados podem melhorar a extração de óleo, uma vez que os autores obtiveram um aumento de 106 para 163 % de rendimento de extração de óleo, nos tempos de 24 e 120 horas, respectivamente.

Li et al. (2012) otimizaram o pré-tratamento enzimático para a extração de óleo de semente de *Silybum marianum* utilizando um coquetel enzimático com concentração enzimática de 2 %, tempo de reação de 5,6 horas, a 42,8 °C e pH 4,8 e obtiveram um rendimento de extração de óleo maior que a amostra sem tratamento enzimático (10,46 a mais que a porcentagem de rendimento de extração de óleo com a amostra sem tratamento enzimático). Os autores avaliaram também a microestrutura das sementes após a extração de óleo com e sem tratamento enzimático. A observação visual das imagens de MEV, microscópio eletrônico de varredura, demonstrou claramente a diferença das estruturas submetidas ou não ao tratamento enzimático.

Tabela 3.1 Parâmetros utilizados em estudos com tratamento enzimático para rompimento da parede celular de diferentes materiais.

Referência	Matéria-prima	Tipo de enzima	Concentração enzimática	Proporção entre sólido e líquido	Temperatura (°C)	Tempo (horas)	pH	Método de extração de óleo
Li et al., 2012	Planta <i>Silybum marianum</i>	Celulase, xylanase, pectinase e protease	1 a 3 % (w/w)	4 mL de líquido por g sólido seco	24 a 56	3 a 7	2,5 a 6,5	Extração por Soxhlet com hexano
Passos et al., 2009	Semente de uva	Celulase, xylanase (hemicelulase), pectinase e protease	29, 21, 569, 1191 U/g de semente	4 mL de líquido por g de sólido seco	30 a 50	8 a 120	3 a 7	Extração por Soxhlet com hexano
Soto et al., 2007	Semente de borage	Olivex® (pectinase, celulase e hemicelulase) e Celluclast® (celulase e hemicelulase)	0,25 % (enzima:sólido)	20 a 50 % de umidade na dispersão sólido/líquido	35 a 55	3 a 12	n.r.	Prensagem
Long et al., 2011	Linhaça	Celulase, pectinase e hemicelulase	10-220 U/g	1 parte de sólido para dez partes de líquido	25 a 55	3 a 21	3 a 7,5	Extração assistida por ultrassom usando água duplamente destilada
Li et al., 2013	Planta <i>Xanthoceras sorbifolia</i>	Celulase, hemicelulase e pectinase	1,3 a 2,5 mg/g de suspensão	1 parte de sólido para dez partes de líquido	45	1	6	Extração assistida por micro-ondas usando água deionizada

Fonte: Própria autoria.

Tabela 3.1 Continuação.

Referência	Matéria-prima	Tipo de enzima	Concentração enzimática	Proporção entre sólido e líquido	Temperatura (°C)	Tempo (horas)	pH	Método de extração
Dominguez et al., 1996	Sementes de girassol	Celluclast® e pectinase	0,1 a 3 g enzima/g semente	20 a 40 % de umidade na dispersão sólido/líquido	50	2 a 10	6,6 a 6,8	Prensagem
Bisht et al., 2015	Amêndoas de damasco em pó	Pectazyme® e Mashzyme® (celulase)	0,1 a 0,7 %	n.r.	50	2	n.r.	Prensagem
You et al., 2011	Fungo <i>Mortierella alpina</i>	papaina, pectinase, snailase, alcalase, neutrase e celulase	0.5 a 2.5 g/l	n.r.	40 a 60	5 a 6	Sem ajuste de pH	n.r.
Hanmoungjai et al., 2002	Farelo de arroz	Celluclast 1.5L®, alcalase, hemicelulase, papaina, pectinex e viscozyme	1, 2 e 3 % (w/w)	1:10 até 2,5:10 partes de sólido por parte de líquido	50	1 a 4	4,5 a 9,0	n.r.

n.r. = não reportado pelo autor.

Fonte: Própria autoria.

No estudo realizado por Domínguez et al. (1996) sobre a extração de óleo de sementes de girassol por prensagem com pré-tratamento enzimático observou-se um aumento no rendimento de extração de óleo de 13 % quando comparado com as amostras de semente não tratadas enzimaticamente. Além disso, os autores avaliaram o coeficiente de digestibilidade aparente *in vitro* e o teor de fibras totais da fase refinado. No caso do coeficiente de digestibilidade, o tratamento enzimático melhorou os seus resultados e o teor de fibras totais diminuiu após o tratamento. Segundo os autores a redução no teor de fibras demonstra a degradação da parede celular o que facilitou a extração do óleo pelo uso da pressão.

Passos et al. (2009) avaliaram a extração de óleo de semente de uva utilizando coquetel enzimático para degradar a parede celular. Para os parâmetros otimizados, tanto do ponto de vista tecnológico como econômico, os autores obtiveram um aumento de 106 % no rendimento de extração de óleo em comparação com as amostras sem o tratamento enzimático.

De maneira geral, pode-se inferir que a utilização de pré-tratamento enzimático pode ser satisfatória se os parâmetros desta etapa de processo forem corretamente avaliados para a matéria-prima de interesse.

3.4 Avaliação do impacto das condições de processo de extração sobre a fração proteica do material desengordurado

Como comentado anteriormente, o processamento do grão de café em larga escala gera, conseqüentemente, a produção de uma grande quantidade de borra de café, a qual poderia ser mais bem utilizada como fonte de proteínas e gordura para alimentação humana. Segundo Fan e Soccol (2005) a borra de café pode conter em média 11 % de proteína, 16 % de lipídeos, 15 % de celulose, 5 % de cinzas e 45 % de extratos não nitrogenados, sendo este material passível de aplicação em produtos de panificação, cereais matinais e outros.

O perfil de aminoácidos dos grãos de café verdes e torrados, e borra de café foram avaliados por Lago et al. (2001). Os autores observaram maiores teores de ácido glutâmico, aspártico e leucina nos grãos, enquanto que na borra de café prevaleceram os ácidos glutâmico e a leucina. Além disso, os autores verificaram

que o teor da maioria dos aminoácidos é menor na borra de café em relação ao teor determinado nos grãos verdes ou torrados de café.

Segundo Kelner et al. (2003), os principais mecanismos de instabilidade de proteínas são a degradação química e física, sendo que estes podem variar dependendo do tipo de proteína. Os mecanismos de degradação física mais comuns são a temperatura, o pH e a força iônica. Na maioria das proteínas a degradação pode ocorrer na faixa de 40 a 80 °C, mas para algumas proteínas termofílicas a temperatura pode ser superior a 100 °C.

Wanasundara e Shahidi (1997) elaboraram isolados proteicos de linhaça por complexação de hexametáfosfato de sódio e acidulado com ácido acético ou ácido succínico no intuito de melhorar as propriedades funcionais dos isolados proteicos. Os autores verificaram que a solubilidade proteica e a emulsificação dos isolados proteicos foram melhoradas pela acidulação, entretanto o mesmo não acontece com a formação de espuma das proteínas.

Sawada et al. (2014) avaliaram o desempenho do etanol como solvente de extração de óleo de soja. O estudo indicou que a fração proteica presente na fase refinado (soja desengordurada) é fortemente influenciada pela presença de água no solvente e pela temperatura do processo de extração, assim valores menores de solubilidade proteica foram observados com o aumento do teor de água no etanol e com o aumento da temperatura do processo.

Capellini (2013) realizou extrações de óleo de farelo de arroz utilizando etanol e isopropanol como solventes. A autora observou que o isopropanol em grau absoluto foi o solvente que apresentou maiores valores de solubilidade proteica para a fase refinado (farelo de arroz desengordurado).

Sessa et al. (1998) relataram que os solventes alcoólicos apresentam características hidrofílicas e hidrofóbicas e que assim desestabilizam as proteínas pelo enfraquecimento das interações hidrofóbicas dos componentes não-polares e pela interação com a água presente em torno da molécula proteica.

Nestes termos, a influência das variáveis do processo de extração de óleo de borra de café, temperatura, teor de água no solvente alcoólico e tipo de álcool, foi avaliada sobre as características funcionais da fração proteica contida no material desengordurado em termos de índice de solubilidade de nitrogênio.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

4.1.1 Reagentes

- Borra de café proveniente de produção industrial de café solúvel gentilmente cedida pela empresa Nestlé Brasil Ltda, Araras/SP;
- Etanol absoluto (Merck, Darmstadt, Alemanha, pureza $\geq 99,9$ %, CAS 64-17-5);
- 2-Propanol absoluto (Merck, Darmstadt, Alemanha, pureza $\geq 99,5$ %, CAS 67-63-0);
- Hexanol absoluto (Merck, Hohenbrunn, Alemanha, pureza ≥ 98 %, CAS 111-27-3);
- Solução Karl Fischer isenta de piridina (Sigma-Aldrich, Sant Louis, Missouri, EUA, mínimo 4,5-5,5 mg/mL);
- Metanol PA (Merck, Darmstadt, Alemanha, pureza $\geq 99,9$ %, CAS 67-56-1);
- Clorofórmio (Synth, Diadema/SP, Brasil, pureza $\geq 99,8$ %, CAS 67-66-3);
- Hidróxido de Sódio (Synth, Diadema/SP, Brasil, pureza $\geq 97,0$ %, CAS 1310-73-2);
- Cloreto de Sódio PA (Synth, Diadema/SP, Brasil, pureza $\geq 99,0$ %, CAS 7647-14-5);
- Reagente de esterificação BF₃ (Merck, Darmstadt, Alemanha, 20 % em metanol);
- n-Hexano (Merck, Darmstadt, Alemanha, pureza $\geq 98,5$ %, CAS 110-54-3);
- Sulfato de sódio (Synth, Diadema/SP, Brasil, pureza $\geq 99,0$ %, CAS 7757-82-6);
- Mistura de 37 padrões de ésteres metílicos (Sigma-Aldrich, Bellefonte, Pensilvânia, EUA);
- Padrão interno metil tridecanoato (Sigma-Aldrich, Sant Louis, Missouri, EUA, pureza $\geq 97,0$ %, CAS 1731-88-0);
- Ácido clorídrico (Synth, Diadema/SP, Brasil, pureza $\geq 36,5$ -38,0 %, CAS 7647-01-0);
- EDTA (Leco, Sant Joseph, Michigan, EUA);
- COM-AID™ (Leco, Sant Joseph, Michigan, EUA);

- Ácido clorogênico cristalino (Sigma-Aldrich, Sant Louis, Missouri, EUA, pureza $\geq 95\%$, CAS 327-97-9);
- Enzima Celluclast 1.5 L (Novozymes Latin America Ltda, Araucária, Brasil);
- Enzima Viscozyme L (Novozymes Latin America Ltda, Araucária, Brasil);
- Solução tampão pH 5,00 \pm 0,05 (Haloquímica Ind. e Com. Ltda, São Paulo, Brasil).

4.1.2 Equipamentos

- Extrator sólido-líquido (Tecnal, modelo TE-139-E4, Piracicaba/SP, Brasil ou Marconi, modelo MA483/EC2, Piracicaba/SP, Brasil);
- Tacômetro digital (Icel, modelo TC-5010, Manaus/AM, Brasil);
- Balança semi analítica eletrônica de 2 casas decimais (Adam, modelo PGW-1502i, Denbigh East, Milton Keynes, Reino Unido);
- Balança analítica eletrônica de 4 casas decimais (Adam, modelo PW-254, Denbigh East, Milton Keynes, Reino Unido);
- Balança analítica eletrônica de 5 casas decimais (Sartorius, modelo CPA225D, Gottingen, Alemanha);
- Estufa de convecção forçada (Marconi, modelo MA 035/150/E, Piracicaba/SP, Brasil);
- Bomba de vácuo (Tecnal, modelo TE0581, Piracicaba/SP, Brasil);
- Sistema completo para determinação de nitrogênio/proteína por combustão (Leco, modelo FP528, Sant Joseph, Michigan, EUA);
- Centrífuga de bancada com refrigeração (Thermo, modelo CR3i, Waltham, Massachusetts, EUA);
- Agitador magnético com aquecimento (Heidolph, modelo MR Hei-Tec, Schwabach, Alemanha);
- pHmetro (Mettler, modelo Seven CompactTM pH/Ion S220, Schwerzenbach, Suíça);
- Células de equilíbrio encamisadas em vidro tipo Pyrex (FGG, São Paulo/SP, Brasil);
- Banho termostático digital (Marconi, modelo MA184, Piracicaba/SP, Brasil);

- Sistema de extração de gordura a alta temperatura (Ankom, modelo XT10, Macedon, New York, EUA);
- Sistema de secagem a alta temperatura – Dryer HCl filter (Ankom, modelo RD, Macedon, New York, EUA);
- Cromatógrafo gasoso com detector de ionização em chama (Shimadzu, modelo GC-2010, Kyoto, Japão) e injetor automático (Shimadzu, mod. AOC-20i, Kyoto, Japão);
- Rotaevaporador (Heidolph, modelo Hei-Vap Precision acoplado a bomba à vácuo de 2.0 mbar, Schwabach, Alemanha);
- Sistema de ultrapurificação de água (Millipore, modelo Direct 3Q, Molsheim, França);
- Titulador Karl Fischer potenciométrico automático (Metrohm, modelo 787KF Titrino, Herisau, Suíça);
- Titulador Karl Fischer coulométrico (Metrohm, modelo 899 Coulometer, Herisau, Suíça);
- Bureta automática (Metrohm, modelo Dosimat 775, Herisau, Suíça);
- Espectrofotômetro UV-visível (Shimadzu, modelo UV 1650PC, Japão);
- Densímetro (Anton Paar, modelo DMA 4500, Áustria);
- Viscosímetro (Anton Paar, modelo AMVn, Áustria);
- Agitador eletro-magnético e peneiras granulométricas (Bertel, Caieiras, SP);
- Agitador de tubos (Heidolph, modelo Multi Reax, Schwabach, Alemanha);
- Agitador mecânico (IKA, modelo Eurostar Power Control Visc P7, Staufen, Alemanha);
- Analisador de tamanho de partícula por difração a laser (Shimadzu, modelo SALD-201V, Kyoto, Japão).

4.1.3 Diversos

- Papel filtro XT 4 (Ankom, modelo XT10, Macedon, New York, EUA);
- Papel filtro (Whatman nº 1);
- *Vials* para cromatografia gasosa;
- Cubetas de quartzo para espectrofotometria UV/visível;

- Vidrarias em geral (béqueres, *erlenmeyers*, placas de Petri, balões volumétricos calibrados, frascos de penicilina, etc);
- Termômetros calibrados;
- Seringas com agulhas para amostragem;
- Gases especiais para cromatografia gasosa (Linde Gases, Sertãozinho, São Paulo, Brasil): Ar Sintético (Pureza: 20 ppm), Hélio (Pureza: 99,995%) e Hidrogênio (99,995 %);
- Gases para o determinador de proteínas por combustão (Leco) (Linde Gases, Sertãozinho, São Paulo, Brasil): Ar sintético super seco (Pureza: 20 % de oxigênio em nitrogênio), Hélio (Pureza: 99,995 %) e Oxigênio (Pureza: 99,999 %);
- Cápsulas de gel e estanho (Leco);
- Tubos de centrífuga de polipropileno tipo Falcon com tampa;
- Fita de vedação tipo *Parafilm*.

4.2 Metodologia

4.2.1 Caracterização da matéria-prima

A matéria-prima fornecida generosamente pela empresa Nestlé Brasil Ltda, Araras/SP, foi analisada em termos de teor de umidade e lipídeos totais no sistema de extração de gordura a alta temperatura Ankom, obtendo-se $62,62 \pm 0,05$ % de umidade em base úmida e $19,3 \pm 0,2$ % de lipídeos em base seca. Após esta análise realizou-se a secagem da borra de café em estufa com convecção forçada, a 45 °C, para a adequação do valor de umidade, máxima de 10 %. E, após este procedimento, a borra foi submetida às demais caracterizações.

4.2.1.1 Composição centesimal

A matéria-prima borra de café previamente submetida a secagem para adequação de umidade foi caracterizada em termos de umidade (Ac 2-41, AOCS, 1998), teor de lipídeos (Am 5-04, AOCS, 1998), proteína bruta (Ba 4f-00, AOCS,

1998), cinzas (AOAC, 2007), fibras (ASP et al., 1983), ácidos graxos livres (2201, IUPAC, 1979) e ácidos clorogênicos totais (GONZÁLEZ-PÉREZ et al., 2002).

4.2.1.2 Determinação do teor de ácidos clorogênicos na borra de café

Para determinação do teor de ácidos clorogênicos totais na borra de café foi utilizada a metodologia sugerida por González-Pérez et al. (2002). Os autores determinaram o teor de ácidos clorogênicos presentes em sementes de girassol.

Para a determinação dos ácidos clorogênicos na borra de café realizou-se extração sequencial com 4 estágios, solvente metanol com 20 % de água e uma razão sólido:solvente de 1:80, a temperatura constante de 60 °C. Em seguida, determinou-se o teor de ácidos clorogênicos no extrato reunido dos 4 estágios (item 4.2.3.3, espectrofotometria na região do UV) e realizaram-se os cálculos para determinação dos ácidos clorogênicos totais presentes na matéria-prima, considerando que todo o ácido clorogênico foi extraído pelo solvente metanólico na extração sequencial.

4.2.1.3 Composição em ácidos graxos

O óleo contido na borra de café, o qual foi extraído a frio pelo método sugerido por Bligh e Dyer (1959) foi submetido à análise da composição em ácidos graxos por cromatografia gasosa dos ésteres metílicos de ácidos graxos, de acordo com os métodos oficiais Ce 1-62 e Ce 2-66 da AOCS (1998), utilizando como padrão interno metiltridecanoato (ZENEBON et al., 2008).

A coluna capilar altamente polar de bis-cianopropil polisiloxano 0,20 µm, 100 m x 0,25 mm diâmetro interno (SP-2560, Supelco, EUA) foi utilizada no cromatógrafo gasoso com detector de ionização em chama (Shimadzu, 2010, Japão) e injetor automático (Shimadzu, modelo AOC 20i, Japão). A injeção da amostra foi realizada tipo Split 100:1 com volume de 1,0 µL. Como gás de arraste utilizou-se o gás hélio com velocidade linear de 19,5 cm/segundo. A temperatura do detector de 260 °C e injetor automático a 250 °C. Além disso, a seguinte programação de temperatura foi utilizada na coluna, 140 °C (durante 5 minutos), 140 a 240 °C (a uma taxa de 4 °C/min) e 240 °C (durante 15 minutos).

A identificação dos ácidos graxos foi realizada por comparação com padrões externos (mistura de 37 padrões de ésteres metílicos). A quantificação foi realizada com base nas relações de área de cada ácido graxo com a área do padrão interno metil tridecanoato, considerando os fatores de correção de resposta do detector e a conversão de ésteres metílicos para ácidos graxos.

4.2.1.4 Determinação do índice de solubilidade de nitrogênio da fração proteica presente na borra de café

O Índice de Solubilidade de Nitrogênio (ISN) foi determinado de acordo com o método sugerido por Morr et al. (1985). A borra de café foi colocada em contato com 50 g dos solventes água deionizada ou NaCl 0,1 M. Razões sólido:solvente de 1:50, 2:50 e 5:50 foram utilizadas para realização dos experimentos de determinação do ISN. Os pHs das dispersões foram ajustados aos valores 2,0; 4,5; 9,0 e 11,0 com HCl 0,1 N e/ou NaOH 0,1 N, e as dispersões foram mantidas sob agitação com auxílio de um agitador magnético a 900 rpm, por 2 horas. Nestes experimentos foram utilizadas células de equilíbrio de vidro pyrex que possibilitam o controle da temperatura, a qual foi mantida em 25 °C ao longo do período de agitação. Em seguida, as dispersões foram transferidas para tubos de centrifuga e centrifugadas (5.000 x g durante 30 min) a temperatura de 4 °C e, após, foram filtradas em papel filtro. Alíquotas foram tomadas para determinação do teor de nitrogênio pelo método de combustão (AOCS, 1998). O índice de solubilidade de nitrogênio foi calculado de acordo com a Equação 4.1.

$$\text{ISN (\%)} = \frac{\text{Nitrogênio}^{\text{Filtrado}} (\%) \times \text{massa solução NaCl (g)}}{\text{Nitrogênio}^{\text{Amostra}} (\%) \times \text{massa amostra (g)}} \times 100 \quad (4.1)$$

4.2.1.5 Determinação da distribuição granulométrica e do tamanho médio das partículas da borra de café

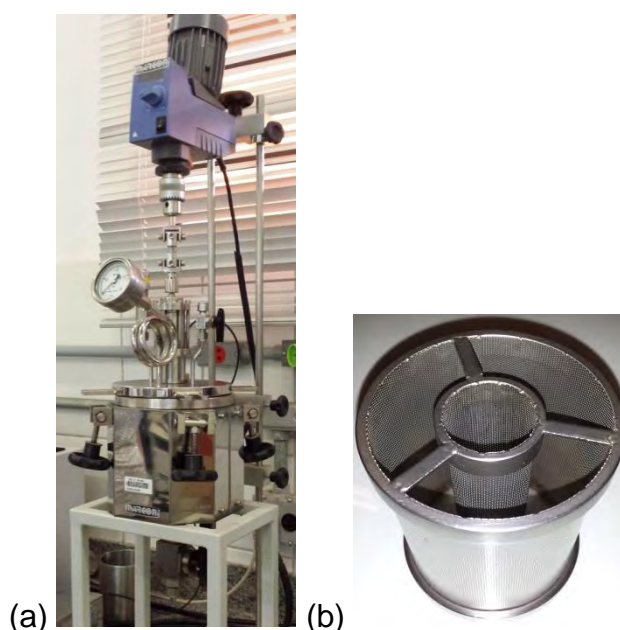
A determinação da distribuição granulométrica e do tamanho médio das partículas da borra de café foi realizada utilizando peneiras Tyler, com *meshs* 10, 14, 20, 28, 35 e 48, e o equipamento de difração a laser, respectivamente.

4.2.2 Determinação de dados de extração sólido-líquido em um estágio

Para a obtenção de dados de extração sólido-líquido em um estágio foi utilizado um extrator, Figura 4.1, construído em aço inoxidável. Este equipamento possui um tampo dotado de manômetro, válvula de escape (sistema de segurança) e rotor, além de ser vedado hermeticamente para evitar perdas de massa por evaporação. Os controles de temperatura e de rotação são realizados por controladores próprios do equipamento. Uma massa conhecida de borra de café foi acondicionada em papel de filtro e este acomodado dentro de um cesto de aço inoxidável, resistente ao ataque do solvente e da temperatura, permeável ao solvente e ao extrato. Em seguida, massa conhecida de solvente foi adicionada ao extrator. O extrator foi submetido à agitação (175 rpm) até a temperatura atingir o valor desejado (60, 70, 80 ou 90 °C) e mantido sob agitação constante por uma hora.

Após este tratamento, amostras da fase extrato foram retiradas pela válvula localizada na parte inferior do extrator e submetidas às análises de composição. A fase refinado foi submetida à pesagem após 5 minutos de repouso, em balança semi-analítica e, posteriormente, submetida às análises de composição.

Figura 4.1 (a) Extrator confeccionado em aço inoxidável. (b) Detalhe do cesto utilizado para acomodação da borra de café.



Fonte: Própria autoria.

4.2.3 Análises da fase extrato

4.2.3.1 Determinação de água na fase extrato

O teor de água na fase extrato foi determinado pelo método oficial de titulação Karl Fischer Ca 2e 55 (AOCS, 1998).

Amostras de 0,01 a 1,0 g foram tituladas com solução de Karl Fischer (KF) utilizando-se como solvente metanol/clorofórmio na proporção 4:1, em volume. O título do reagente KF foi determinado no início de cada titulação e a porcentagem mássica de água nas amostras, fornecida automaticamente pelo aparelho, foi calculada através da Equação 4.2.

$$\text{Água (\%)} = \frac{(\text{volume KF utilizado} \times \text{título KF})}{\text{massa da amostra}} \times 100 \quad (4.2)$$

Todas as análises foram realizadas pelo menos em triplicata.

4.2.3.2 Determinação do teor de solvente na fase extrato

O teor de solvente, etanol ou isopropanol, hidratado ou não, foi determinado, em quintuplicata, por evaporação em estufa com convecção forçada, a 60 °C, até peso constante.

A porcentagem de solvente na fase extrato é dada pela Equação 4.3.

$$\text{Solvente (\%)} = \frac{(\text{massa inicial} - \text{massa final}) \times 100}{\text{massa inicial}} \quad (4.3)$$

4.2.3.3 Determinação de ácidos clorogênicos nos óleos obtidos das diferentes extrações

O teor de ácidos clorogênicos totais, tanto na matéria-prima bem como nos extratos obtidos das extrações com álcoois, foi estimado pelo método de espectrofotometria na região do ultravioleta a 324 nm (AOAC, 1995).

Primeiramente realizou-se uma varredura da solução de ácido clorogênico padrão em etanol em toda a faixa do espectro UV-visível para se conhecer o comprimento de onda característico onde ocorre a máxima absorção. No caso específico do solvente etanol absoluto este comprimento de onda é de 324 nm. Uma curva de calibração (do tipo $y = a \cdot x$, em que y é a absorbância, x é a concentração em $\mu\text{g/g}$ e a é o coeficiente angular da reta) foi construída com soluções de composições conhecidas de ácido clorogênico padrão em etanol no comprimento de onda de máxima absorção. A quantificação dos ácidos clorogênicos foi realizada pesando-se a amostra (aproximadamente 0,02 g) em balões volumétricos de 5 mL e diluindo-se com 8 g de etanol absoluto. Posteriormente, a solução foi transferida para cubetas de 1 cm de caminho ótico, sendo a leitura da absorbância realizada a 324 nm contra o branco.

A composição em ácidos clorogênicos expressa em % é dada pela Equação 4.4.

$$AC (\%) = \frac{Abs}{10000 \times a_{\text{coeficiente angular}}} \times \frac{massa_{\text{amostra}}}{(massa_{\text{amostra}} + massa_{\text{solvente}})} \quad (4.4)$$

No caso dos extratos provenientes das diferentes extrações, estes foram submetidos a rotaevaporação, a 50 °C e 600 mmHg, e o material residual foi diluído com etanol absoluto. A absorbância foi medida para calcular o teor de ácidos clorogênicos totais na amostra.

4.2.4 Análises da fase refinado

4.2.4.1 Determinação do teor de óleo residual

O teor de óleo residual nas fases refinado obtidas dos experimentos de extração com solventes alcoólicos foi determinado utilizando-se um sistema de extração com solvente à alta temperatura (método Am 5-04, AOCS, 1998). Amostras de em torno de 1,5 g foram pesadas em papel de filtro próprio para extração, secas

em secador Dryer HCl filter (Ankom, modelo RD) a 105 °C, durante 3 horas e, após, acondicionadas em um dessecador até atingir a temperatura ambiente.

Em seguida, os papéis de filtro foram pesados novamente e colocados no extrator (Ankom, modelo XT-10). O solvente hexano foi utilizado para a extração em temperatura de 90 °C por uma hora.

Após a extração, as amostras foram secas durante 30 minutos a 105 °C, acomodadas no dessecador e novamente pesadas. O teor de óleo residual nas amostras, expresso em porcentagem em massa, foi calculado a partir da Equação 4.5.

$$\text{Óleo Residual (\%)} = \frac{(\text{Massa Inicial} - \text{Massa Final}) \times 100}{\text{Massa Inicial}} \quad (4.5)$$

4.2.4.2 Índice de retenção

O teor de solução extrato aderida à massa de sólidos inertes, expresso em Kg de solução aderida/ Kg de sólidos inertes, nomeado como índice de retenção, foi determinado logo após a extração. O cesto de aço inoxidável contendo a fase refinado foi removido do extrator, mantido suspenso, em repouso, por 5 minutos para escoamento do líquido, e submetido a pesagem em balança de precisão para avaliação da massa da fase refinado e posterior realização de balanços de massa para estimativa do índice de retenção de solução.

4.2.5 Determinação experimental de dados de densidade e viscosidade dos solventes

Densidade

Os valores de densidade dos solventes foram determinados em densímetro digital de bancada (Anton Paar, modelo DMA 4500). As amostras foram injetadas diretamente no equipamento calibrado com água, que após estabilização na temperatura desejada ($\pm 0,03$ °C) forneceu o resultado direto da densidade em g/cm³

(precisão 0,00005 g/cm³). Todas as medidas foram realizadas pelo menos em triplicata.

Viscosidade

Os dados de viscosidade foram determinados em micro viscosímetro automático de queda de esfera (Anton Paar, modelo AMVn). As amostras foram injetadas em capilar de vidro com diâmetro de 1,6 mm calibrado com água, colocado no equipamento que fornece o resultado em quadruplicata, em mPa.s, em 3 ângulos diferentes, totalizando 12 medidas por amostra. Em cada análise a temperatura possui uma precisão de 0,005 °C e o limite de tolerância do equipamento é de 0,3 %.

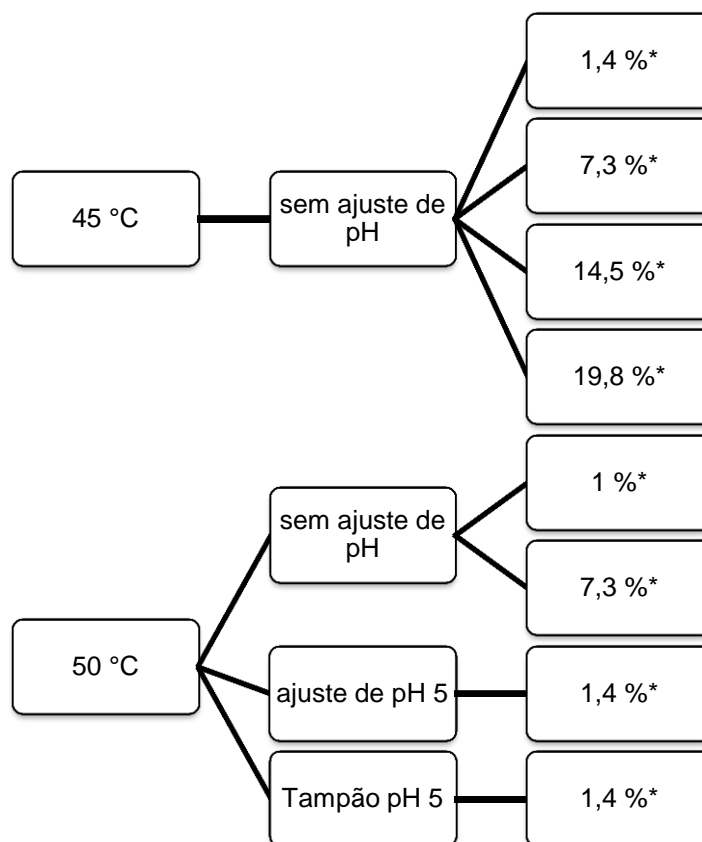
4.2.6 Pré-tratamento enzimático ao processo de extração sólido-líquido

A borra de café, após secagem prévia em estufa para adequação de umidade da matéria-prima, foi submetida à hidrólise enzimática para ruptura da parede celular e, assim, maior disponibilidade do óleo presente no material.

Para a realização desta etapa do trabalho, a empresa Novozymes Latin America Ltda forneceu gentilmente as enzimas Celluclast® 1.5 L (preparação enzimática líquida de celulase) e Viscozyme® L (complexo multi-enzimático líquido com β -glucanase, xilanase e pectinase). Neste trabalho estas preparações enzimáticas foram utilizadas juntas, conforme sugerido por técnico da Novozymes, em cada tratamento na razão mássica de enzimas Celluclast:Viscozyme de 1:1.

Para todos os tratamentos enzimáticos foi mantida uma agitação de 280 rpm, razão sólido:líquido de 1:5 e tempo de contato enzimático de 6 horas. Os parâmetros temperatura, pH e concentração enzimática foram variadas de acordo com a Figura 4.2. O parâmetro pH teve como variações o não ajuste/monitoramento do pH, ajuste de pH das dispersões no valor de 5 com HCl 0,1 N e/ou NaOH 0,1 N, ou a utilização de uma solução tampão com pH 5. A concentração enzimática foi expressa como a porcentagem de massa de mistura enzimática em relação à massa de borra de café sem umidade.

Figura 4.2. Parâmetros temperatura, pH e concentração enzimática dos pré-tratamentos enzimáticos.



*% de massa de mistura enzimática em relação à massa de borra de café sem umidade.

Fonte: Própria autoria.

Após estes experimentos preliminares realizou-se pré-tratamento enzimático para as extrações sólido-líquido nas seguintes condições de tratamento enzimático: agitação de 280 rpm, razão sólido:líquido de 1:5, tempo de contato enzimático de 6 horas, ajuste de pH da dispersão no valor de 5, 50 °C e concentração enzimática de 1,4 % (massa de mistura enzimática em relação a massa de borra de café sem umidade).

4.2.7 Cálculo das constantes dielétricas dos solventes utilizados nos experimentos de extração de óleo.

As constantes dielétricas dos solventes utilizados na etapa de extração sólido-líquido foram calculadas para avaliar o efeito desta propriedade nos resultados de rendimento de extração obtidos.

A determinação dos valores de constante dielétrica (ε , adimensional) para os solventes em grau absoluto e para a água foi realizada segundo equação 4.6 proposta por Wohlfarth (2015).

$$\varepsilon = A + BT + CT^2 + DT^3 \quad (4.6)$$

Na qual, T é a temperatura em Kelvin e A, B, C e D são constantes da equação para cada composto.

No caso dos solventes hidratados foi utilizada a equação 4.7, proposta por Tir et al. (2012).

$$\varepsilon = \varepsilon_a w_a + \varepsilon_b w_b \quad (4.7)$$

Onde, w_a e w_b são as frações mássicas dos componentes água (a) e álcool (b). E ε_a e ε_b são as constantes dielétricas para os componentes puros água (a) e álcool (b) em função da temperatura.

4.2.8 Verificação da qualidade dos dados experimentais através de cálculos de balanço de massa

A qualidade dos dados experimentais de extração sólido-líquido foi verificada através da metodologia sugerida por Marcilla et al. (1995) e adaptada por Rodrigues e Oliveira (2010) para os sistemas de extração sólido-líquido.

No processo de extração sólido-líquido, o material oleaginoso, borra de café, entra em contato com o solvente e após o período determinado para a extração é retirada a fase extrato a qual é submetida a análises para determinação de composição enquanto a fase refinado é pesada e, após, submetida também a caracterização.

A fase extrato caracteriza-se pela fase líquida, rica em solvente e acrescida de compostos extraídos; a fase refinado apresenta todos os sólidos que são insolúveis no solvente utilizado, além disso, esta fase contém uma parte da fase extrato que ficou retida nos sólidos insolúveis.

Deste modo, podem ser escritos n balanços independentes por componente do sistema de extração sólido-líquido (Marcilla et al., 1995):

$$M^{PM}w_n^{PM} = M^{FE}w_n^{FE} + M^{FR}w_n^{FR} \quad (4.8)$$

Onde, M^{PM} é a massa da mistura inicial ou ponto de mistura, M^{FE} e M^{FR} são as massas das fases extrato e refinado, respectivamente; w_n^{PM} é a fração mássica do componente n na mistura inicial e w_n^{FE} e w_n^{FR} são as frações mássicas do componente n nas fases extrato e refinado, respectivamente.

Através das n equações formadas, torna-se possível calcular os valores de w_n^{FR} com base nos valores experimentais de w_n^{FE} e M^{FR} , pelo método dos mínimos quadrados:

Se \mathbf{M} é a matriz formada pelos valores de w_n^{PM} , \mathbf{B} é a matriz transformação (composta pelos valores de w_n^{FE} e w_n^{FR}) e \mathbf{P} é a matriz formada pela massa de cada fase (M^{FR} e M^{FE}), o sistema pode ser escrito como

$$\mathbf{M} = \mathbf{B} \cdot \mathbf{P} \quad (4.9)$$

Cálculos matemáticos levam à seguinte expressão:

$$\mathbf{P} = (\mathbf{B}^T \mathbf{B})^{-1} \mathbf{B}^T \mathbf{M} \quad (4.10)$$

Onde, \mathbf{B}^T é a matriz transposta de \mathbf{B} e $(\mathbf{B}^T \mathbf{B})^{-1}$ é a matriz inversa de $(\mathbf{B}^T \mathbf{B})$. Desta forma, os valores de M^{FE} e w_n^{FR} que minimizam os erros do sistema podem ser calculados.

Deste modo, o valor de M^{FR} é determinado experimentalmente para cada sistema e, pelo balanço de massa global,

$$M^{PM} = M^{FE} + M^{FR} \quad (4.11)$$

O desvio relativo global, δ , entre a soma ($M^{FE} + M^{FR}$) e M^{PM} , pode ser calculado de acordo com a expressão:

$$\delta = (|(M^{FE} + M^{FR}) - M^{PM}| / M^{PM}) \times 100 \quad (4.12)$$

4.2.9 Análise estatística

Os resultados provenientes dos experimentos de extração foram comparados por análise de variância utilizando o teste de Duncan (1955) ao nível de significância de 5 %, com auxílio do programa SAS[®] (Versão 9.2, SAS Institute Inc., EUA).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização da matéria-prima

Neste trabalho a borra de café, gentilmente cedida pela empresa Nestlé Brasil Ltda, foi adquirida em 2 lotes. Inicialmente a borra de café foi caracterizada através da determinação de umidade e teor de lipídeos resultando em 19 ± 1 % e $22,5 \pm 0,4$ % de lipídeos, respectivamente para o Lote 1 e Lote 2, sendo estes valores em concordância com o resultado obtido por Fan e Soccol (2005). Os valores de umidade das borras de café referentes aos Lotes 1 e 2 foram $62,62 \pm 0,05$ % e $65,1 \pm 0,2$ %.

Em consequência destes elevados valores de umidade, foi necessário realizar uma secagem da matéria-prima para diminuir a tendência a deterioração do material durante o seu armazenamento.

Os parâmetros do processo de secagem da borra de café foram definidos através de informações obtidas de revisão de literatura e, também, experimentalmente. A temperatura e o tipo de estufa, 45 °C e estufa com convecção forçada, foram definidos de acordo com Panusa et al. (2013) e Andrade (2011), respectivamente. O tempo necessário para secar cerca de 4 Kg de borra de café até o teor de umidade máximo de 10 % foi de aproximadamente 4 horas e 20 minutos.

Após este procedimento o material apresentou $10,4 \pm 0,2$ % e $8,6 \pm 0,2$ % de umidade, respectivamente, para os Lotes 1 e 2 os quais foram armazenados em sacos de polietileno sob vácuo, em freezer até a utilização nos experimentos de extração.

5.1.1 Composição centesimal

A borra de café, após a adequação do teor de umidade foi então caracterizada em termos de proteínas, cinzas, fibras solúveis e insolúveis, carboidratos não fibrosos, ácidos clorogênicos totais e ácidos graxos livres. Os resultados estão expressos na Tabela 5.1.

Tabela 5.1 Composição centesimal da borra de café após adequação de umidade.

Componente (% em massa)	lote 1		lote 2	
	média	desvio	média	desvio
Umidade ^a	10,4	0,2	8,6	0,2
Lipídeos ^b	19	1	22,5	0,4
Proteínas ^{b,c}	15,3	0,2	17,7	0,2
Cinzas ^b	0,34	0,01	0,34	0,01
Carboidratos totais ^d	65	1	59,5	0,6
Fibras totais ^b	73,1	0,5	74,6	0,1
Fibras solúveis ^b	0,45	0,06	0,55	0,06
Fibras insolúveis ^b	72,6	0,4	74,0	0,1
Ácidos clorogênicos totais ^b	0,41	0,03	0,58	0,03
Ácidos graxos livres no óleo contido na borra	9,4	0,4	9,8	0,4

^a Componente em base úmida. ^b Componente em base seca. ^c Teor de nitrogênio x 6,25

^d Determinado por diferença

Fonte: Própria autoria.

De forma geral, pode-se verificar que os resultados da composição centesimal apresentados na Tabela 5.1, para o teor de lipídeos e proteínas, estão um pouco mais altos que os resultados disponíveis na literatura. De acordo com Al-Hamamre et al. (2012), a borra de café possui de 11 a 15 % de lipídeos e segundo Caetano et al. (2014), 13,7 % de proteínas.

No que se refere aos resultados para o teor de cinzas, Mussatto et al. (2011a) e Caetano et al. (2014) apresentaram valores de 2 a 5,4 % para o grão verde de café, valores estes mais elevados que o determinado para a borra de café disponibilizada pela Nestlé. No entanto, os valores obtidos nesta dissertação estão

próximos ao resultado obtido por Acevedo et al. (2013), 0,47 % de cinzas em base seca.

No presente estudo, o total de carboidratos fibrosos e não fibrosos calculados por diferença, contabilizou cerca de 65 %, valor comparável ao resultado obtido por Caetano et al. (2014), de 67 % de carboidratos totais. Contudo, estes resultados estão menores que o teor de fibras totais determinado experimentalmente. Segundo Murthy e Naidu (2012) a determinação de fibras dietéticas pode contabilizar outros constituintes como proteínas e antioxidantes. Deste modo, o elevado teor de fibras dietéticas obtido neste trabalho pode ser decorrente do somatório de demais constituintes. Em adição, como observado na Tabela 5.1, os resultados de fibra solúvel e insolúvel são cerca de 0,5 e 73 % em base seca, respectivamente, da borra de café. Ballesteros et al. (2014) determinaram 10 ± 3 e 51 ± 2 % em base seca de fibras solúveis e insolúveis na borra de café. Entretanto estes resultados são adversos aos obtidos por Murthy e Naidu (2012) de 35 ± 1 e 8 ± 1 %, respectivamente, para fibras solúvel e insolúvel.

Para determinação do teor de ácidos clorogênicos na borra de café, através de espectrofotometria na região do ultravioleta, obteve-se experimentalmente uma curva de calibração utilizando padrão de ácido clorogênico cristalino, conforme apresentado no Apêndice A.

Pode-se inferir que os valores de ácidos clorogênicos determinados para os Lotes 1 e 2 de borra de café estão de acordo com a literatura.

Cruz et al. (2012) determinaram o teor de ácidos clorogênicos em amostras de borra de café coletadas em cafeterias na região Noroeste de Portugal. Neste estudo os valores variam de 0,21 a 0,76 % de ácidos clorogênicos. Mussatto et al. (2011a) determinaram o teor de ácidos clorogênicos totais em borra de café industrial e obtiveram de 0,37 a 1,39 mg de ácido clorogênico/g de borra de café o que equivale a 0,04 a 0,14 % de ácidos clorogênicos.

Os teores de ácidos graxos livres (AGL) determinados nos óleos provenientes dos Lotes 1 e 2 da borra de café utilizada neste trabalho são elevados. Al-Hamamre et al. (2012) analisaram o óleo obtido da borra de café utilizando etanol e isopropanol como solventes e obtiveram 3,85 e 6,40 % de AGL, respectivamente.

Como mencionado anteriormente, a temperatura de torra do grão verde é bastante elevada (200-250 °C). Durante este processo, reações químicas como

oxidação, redução, hidrólise, polimerização e descarboxilação ocorrem para a formação do gosto ácido e/ou amargo da bebida (RAMALAKSHMI e RAGHAVAN, 2003). De fato, as matérias-primas que passam pelo processo de torra podem conter elevado teor de ácidos graxos livres, produtos da hidrólise dos triacilgliceróis.

5.1.2 Composição em ácidos graxos do óleo contido na borra de café

A Tabela 5.2 apresenta a composição em ácidos graxos do óleo extraído da borra de café fornecida pela empresa Nestlé Brasil Ltda utilizando o método de extração a frio sugerido por Bligh e Dyer (1959). Os óleos provenientes dos Lotes 1 e 2 apresentaram teores similares e consideráveis de ácido palmítico e ácido linoleico, os quais representaram mais de 70 % dos ácidos graxos presentes no óleo da borra de café. Nesta tabela também são apresentados dados de composição em ácidos graxos fornecidos por Obruca et al. (2014) do óleo da borra de café extraído com extrator Soxhlet utilizando n-hexano como solvente, para fins de comparação.

De maneira geral os resultados de composição em ácidos graxos estão de acordo com dados disponíveis na literatura (ACEVEDO et al., 2013; CRUZ et al., 2012; MELO et al., 2014). Os principais ácidos graxos saturados presentes no óleo da borra de café são os ácidos palmítico e esteárico e os principais insaturados são o linoleico e oleico. O ácido graxo araquídico apresentou-se em maior quantidade na borra de café fornecida pela Nestlé em comparação com os resultados obtidos por Cruz et al. (2012) e Melo et al. (2014).

Firestone (2006) apresenta a composição em ácidos graxos para o grão de café verde. De modo geral, observa-se que na borra de café, segundo Cruz et al. (2012), a composição em termos dos ácidos graxos C20:1, C22:0, C22:1, C24:0 e C24:1 diminui ou estes não estão mais presentes no óleo devido, provavelmente, ao processo de fabricação de café solúvel, o qual compreende a etapa de processamento térmico de torragem a 200 – 250 °C, segundo Ramalakshmi e Raghavan (2003).

Os resultados de Obruca et al. (2014) em termos da razão entre ácidos graxos insaturados e saturados do óleo da borra de café são estatisticamente menores que os resultados obtidos nesta dissertação. Isto é devido a quantidade

inferior de ácido palmítico presente nos óleos extraídos pelo método a frio proposto por Bligh e Dyer (1959), utilizado nesta dissertação.

Couto et al. (2009), em óleo extraído da borra de café por extrator Soxhlet com n-hexano obtiveram, também, uma razão entre ácidos insaturados e saturados em torno de 0,6, menor que os resultados obtidos neste trabalho. Esta diferença de resultados se deve a maior presença de ácido palmítico e menor quantidade de ácido linoleico obtida por Couto et al. (2009) em comparação com os resultados obtidos para o óleo da borra de café fornecida pela Nestlé.

Tabela 5.2 Composição em ácidos graxos do óleo da borra de café.

Símbolo	Ácidos graxos	Cx:y ^a	Massa (%)		
			Lote 1	Lote 2	Obruca et al. (2014)
P	Palmítico	C16:0	27,4 ± 0,7 B	27,5 ± 0,7 B	35,7 A
S	Esteárico	C18:0	8,0 ± 0,2 A	8,4 ± 0,1 A	7,1 B
O	Oleico	C18:1	10,93 ± 0,09 A	10,0 ± 0,1 B	9,4 C
Li	Linoleico	C18:2	45,3 ± 0,2 B	47,4 ± 0,2 A	43,7 C
Le	Linolênico	C18:3	1,5 ± 0,2 AB	1,8 ± 0,1 A	1,1 B
A	Araquídico	C20:0	5,10 ± 0,02 A	3,1 ± 0,1 B	2,2 C
Ga	Eicosanóico	C20:1	0,82 ± 0,05 A	0,81 ± 0,04 A	0,3 B
Be	Behenico	C22:0	0,99 ± 0,04 B	1,14 ± 0,00 A	0,4 C
Insaturado/Saturado			1,41 ± 0,03 B	1,50 ± 0,03 A	1,2 C
Índice de Iodo			96,0 ± 0,6 A	98,2 ± 0,8 A	70,3 B

^a Cx:y, x = número de carbonos e y = número de duplas ligações

*médias seguidas por letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si ao nível de 5 % de significância pelo Teste de Duncan.

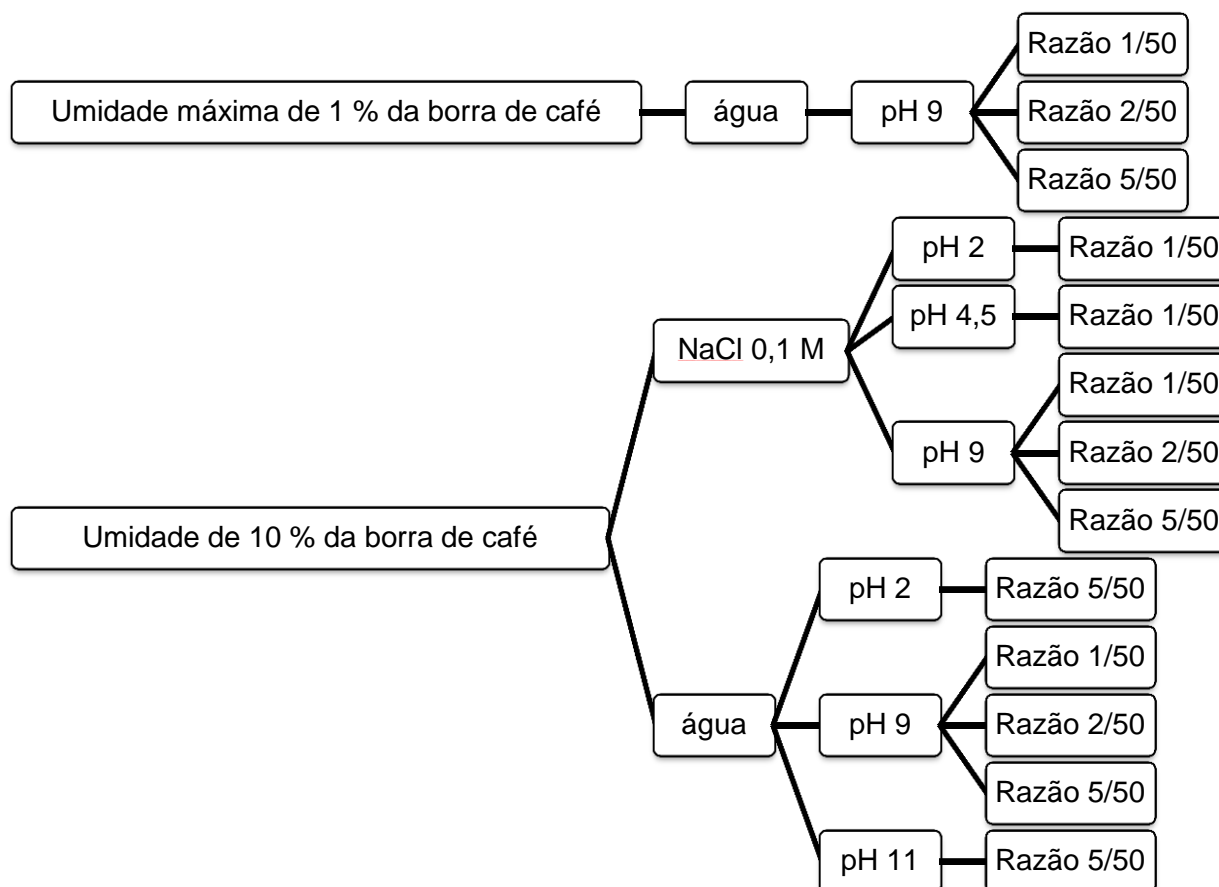
Fonte: Própria autoria.

5.1.3 Determinação do índice de solubilidade de nitrogênio da fração proteica presente na borra de café

O índice de solubilidade de nitrogênio (ISN) fornece uma estimativa sobre as possíveis aplicações da fração proteica, principalmente, na indústria de alimentos de acordo com a solubilidade das proteínas presentes no material em análise.

Os dados experimentais de ISN para a borra de café foram obtidos próximos ao limite inferior de detecção do equipamento (0,01 % ou 0,02 a 100 mg de Nitrogênio, segundo a Leco Instrumentos). Deste modo realizaram-se experimentos com diferentes parâmetros para avaliar as melhores condições de análise. Dentre os parâmetros avaliados, diferenciou-se o solvente utilizado, o pH da dispersão sólido/solvente e a condição inicial do material analisado, com ou sem secagem prévia em estufa com convecção forçada a 60 °C por 24 horas. Todas as condições avaliadas podem ser observadas na Figura 5.1.

Figura 5.1 Parâmetros investigados nos ensaios de determinação do Índice de Solubilidade de Nitrogênio (ISN) da borra de café.



Fonte: Própria autoria.

Todos os experimentos realizados utilizando NaCl como solvente sob diferentes condições de pH resultaram em valores de nitrogênio inferiores ao limite inferior de detecção do equipamento. Verificou-se, também, que somente a razão

sólido/solvente (em massa) de 5/50 levou a obtenção de resultados válidos. Para investigar a influência do pH da dispersão, experimentos com diferentes valores de pH utilizando água como solvente na razão sólido/solvente (em massa) de 5/50 foram realizados. Somente os pHs 9 e 11 conduziram a resultados favoráveis quanto ao ISN da matéria-prima, os quais podem ser observados na Tabela 5.3.

De maneira geral, pode-se inferir que os baixos valores de ISN determinados para a borra de café são decorrentes, provavelmente, do processamento do café solúvel, o qual compreende condições drásticas de temperatura, que podem levar a desnaturação das proteínas. Entretanto, Shen (1976) reporta que a solubilidade de nitrogênio nem sempre é um critério para a desnaturação proteica, visto que as reações que ocorrem em pH 12 desnaturam as proteínas e provocam o aumento da solubilidade de nitrogênio.

Tabela 5.3 Índice de Solubilidade de Nitrogênio (%) da borra de café para as dispersões em água deionizada na razão sólido/líquido de 5/50.

pH	Borra com 10 % de umidade	Borra com até 1 % de umidade
9	5 ± 1	3,3
11	7,3 ± 0,6	

Fonte: Própria autoria.

As condições experimentais que possibilitaram a maior detecção de nitrogênio foram pH 11, água como solvente, razão mássica 5:50 de sólido/solvente, sem secagem da matéria-prima.

De acordo com Shen (1976), a solubilidade de nitrogênio é influenciada, principalmente, por dois fatores, pH e força iônica. A solubilidade de nitrogênio é menor em pHs de 2 a 6 e, de modo geral, a solubilidade é maior em pHs mais básicos. Este autor reportou, também, que em pH básico, o aumento da força iônica diminui a solubilidade de nitrogênio, sendo estas informações coerentes com os resultados obtidos neste estudo.

Com base nestas observações, definiu-se que as condições mais favoráveis para determinação do ISN na borra de café são o pH 11, utilizando água deionizada como solvente, razão mássica borra: solvente de 5:50 e sem secagem prévia de borra de café.

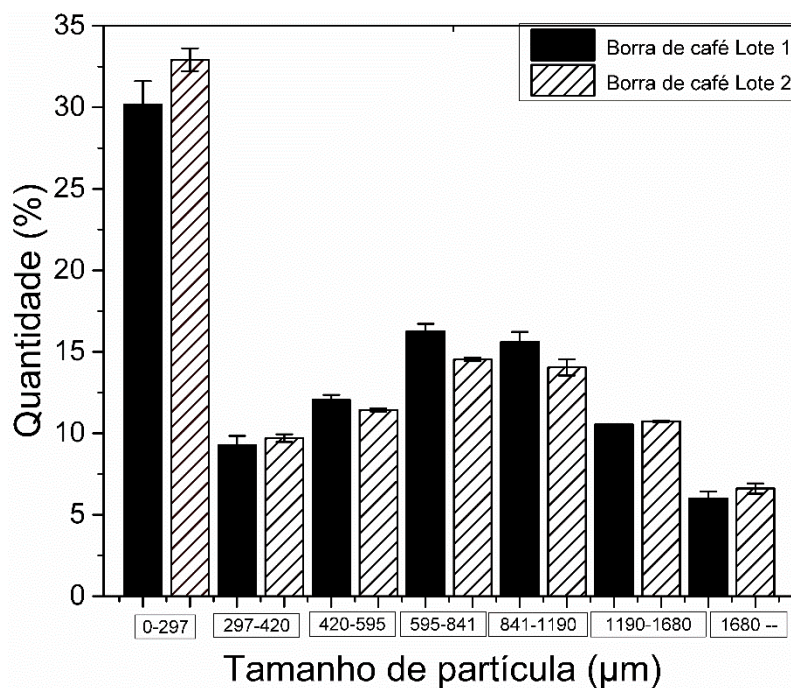
5.1.4 Determinação da distribuição granulométrica e do tamanho médio das partículas

A determinação da distribuição granulométrica e do tamanho médio das partículas de borra de café foi realizada através da utilização de peneiras Tyler e difração a laser, respectivamente. O primeiro método analisa de uma forma geral a matéria-prima, de 297 a 1680 μm de tamanho de partícula, enquanto que o equipamento por difração a laser disponível no Laboratório de Processos de Engenharia de Alimentos do ZEA/ FZEA/ USP possibilita a determinação de tamanhos de partícula na faixa de 0,25 a 350 μm .

Distribuição granulométrica

A distribuição granulométrica foi realizada utilizando peneiras Tyler com *meshs* de 10, 14, 20, 28, 35 e 48. A distribuição dos tamanhos de partícula pela peneira Tyler está apresentada na Figura 5.2, através da qual se pode observar que a maior porcentagem de valores de tamanho de partícula se concentrou na faixa de 0 a 297 μm , para os dois lotes de borra de café cedidos pela Nestlé. Deste modo, realizou-se a análise por difração a laser para averiguar a granulometria nesta fração.

Figura 5.2 Distribuição granulométrica da borra de café pela peneira Tyler.



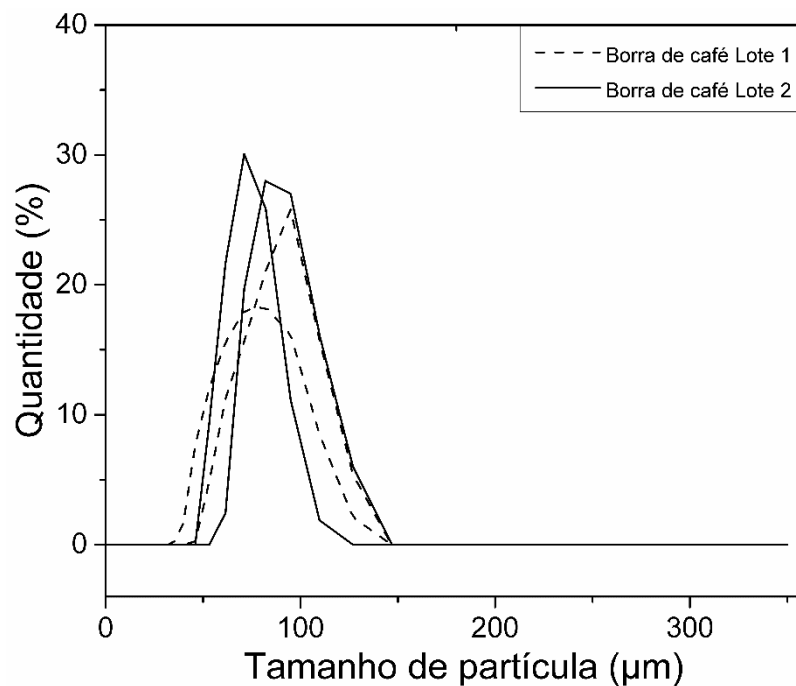
Fonte: Própria autoria.

Tamanho médio das partículas

A análise para averiguar o tamanho médio das partículas na fração de 0 a 297 µm, resultado da análise de distribuição granulométrica utilizando peneiras Tyler, foi realizada através de difração a laser, sendo os resultados apresentados na Figura 5.3. Pode-se observar que o tamanho médio das partículas é de 60 a 100 µm dentro da faixa limite de detecção do equipamento, e que a borra de café possui tamanhos de 40 a 150 µm segundo este método.

De acordo com Ramalakshmi e Raghavan (2003), a borra de café oriunda do processamento do café solúvel possui uma granulometria entre 2380 e 841 µm. Para esta pesquisa a borra de café apresentou uma granulometria média menor que a da literatura.

Figura 5.3 Distribuição granulométrica da borra de café por difração a laser.



Fonte: Própria autoria.

5.2 Cálculo das constantes dielétricas dos solventes utilizados nos experimentos de extração de óleo

A Tabela 5.4 apresenta os resultados dos cálculos das constantes dielétricas (adimensional) dos solventes utilizados nos experimentos de extração sólido-líquido segundo metodologia proposta por Wohlfarth (2015), para os solventes em grau absoluto e, para os solventes hidratados, segundo equação proposta por Tir et al. (2012).

Pode-se observar que os valores calculados foram mais baixos para o solvente isopropanol em relação ao etanol e, deste modo, pode-se inferir que o solvente etanol é mais polar que o isopropanol. No caso do efeito da hidratação dos solventes, as constantes dielétricas aumentaram com a presença da água em todas as condições estudadas.

Em relação a temperatura do solvente, as constantes dielétricas diminuíram com o aumento da temperatura para todos os solventes avaliados.

Tabela 5.4 Constantes dielétricas (ϵ) dos solventes utilizados nos experimentos de extração sólido-líquido.

	Temperatura (°C)			
	60	70	80	90
ET0	21,45	20,70	19,96	19,29
ET6	24,16	23,46	22,48	21,66
IPA0	14,23	13,00	11,85	10,73
IPA12	20,40	19,10	17,63	16,21

Fonte: Própria autoria.

5.3 Avaliação da qualidade dos dados experimentais de extração

A qualidade dos dados experimentais de extração do óleo de borra de café pode ser avaliada pelo método proposto por Marcilla et al. (1995), o qual calcula o desvio experimental de cada experimento realizado através da equação 4.10. Para o cálculo é necessário o conhecimento da fração mássica de cada composto monitorado na fase extrato e, também, a massa da fase refinado, ou seja, a comparação entre as massas de entrada e saída do sistema de extração sólido-líquido.

A Tabela 5.5 apresenta os desvios experimentais calculados, as condições experimentais e o número de repetições para cada condição experimental estudada. O número de repetições não foi padronizado, mas realizaram-se no mínimo duas repetições para cada condição experimental.

Através da Tabela 5.5, pode-se observar que os valores de desvio relativo (δ) médio variaram de 0,05 a 1,41 %. Estes valores são menores que 5 %, o que demonstra que os experimentos realizados apresentaram dados com boa repetibilidade e precisão.

Tabela 5.5 Condições experimentais e desvios do balanço de massa para os ensaios de extração sólido-líquido em um estágio.

T (°C)	Solvente	% de água no solvente	δ (desvio relativo médio) (%)	Repetições
60	etanol	0,13 ± 0,03	0,35	3
		6,1 ± 0,1	0,05	3
	isopropanol	0,07 ± 0,00	0,41	2
		11,8 ± 0,0	0,18	2
70	etanol	0,22 ± 0,01	0,64	5
		6,6 ± 0,0	0,39	3
	isopropanol	0,1 ± 0,0	0,66	2
		12,1 ± 0,4	0,24	3
80	etanol	0,18 ± 0,03	1,41	2
		6,3 ± 0,2	0,59	3
	isopropanol	0,16 ± 0,07	1,04	3
		11,9 ± 0,4	0,62	3
90	etanol	0,14 ± 0,01	0,82	3
		6,2 ± 0,0	0,96	3
	isopropanol	0,11 ± 0,01	0,55	3
		11,6 ± 0,3	0,78	3

Fonte: Própria autoria.

5.4 Estudo do processo de extração sólido-líquido em batelada

Neste trabalho objetivou-se a avaliação do efeito da temperatura e do tipo de solvente alcoólico sobre o rendimento de extração de óleo de borra de café. Deste modo foram realizados 46 experimentos de extração sólido-líquido de óleo da borra de café do Lote 1 conforme as condições experimentais apresentadas na Tabela 5.5.

Após cada experimento as fases extrato e refinado foram reservadas e submetidas às análises físico-químicas.

5.4.1 Análises da fase extrato e refinado

A fase extrato dos experimentos de extração sólido-líquido foi avaliada em termos de teor de água, rendimento de óleo, teor de ácidos clorogênicos totais e rendimento de carboidratos. Na fase refinado analisou-se o teor de proteína, teor de

óleo residual e a solubilidade proteica, através da determinação do Índice de Solubilidade de Nitrogênio.

A Tabela 5.6 apresenta o teor de água presente nas fases extrato obtidas das extrações sólido-líquido do óleo de borra de café. Verificou-se que mesmo para as fases extrato obtidas de sistemas utilizando solventes em grau absoluto, a presença de água é considerável. O teor de água em cada solvente utilizado está disponível na Tabela 5.5.

A Tabela 5.6 apresenta, ainda, a comparação estatística entre os valores médios de teor de água nas fases extrato ao nível de 95 % de confiança pelo Teste de Duncan. Os resultados da Tabela 5.6 comprovam a diferença entre os extratos obtidos de solventes em grau absoluto e azeotrópico, em termos de conteúdo de água.

A composição da fase extrato em termos de teor de água pode também ser observada na Figura 5.4, em função da temperatura de processo.

Tabela 5.6 Teor de água na fase extrato (% , em massa) para diferentes solventes de extração.

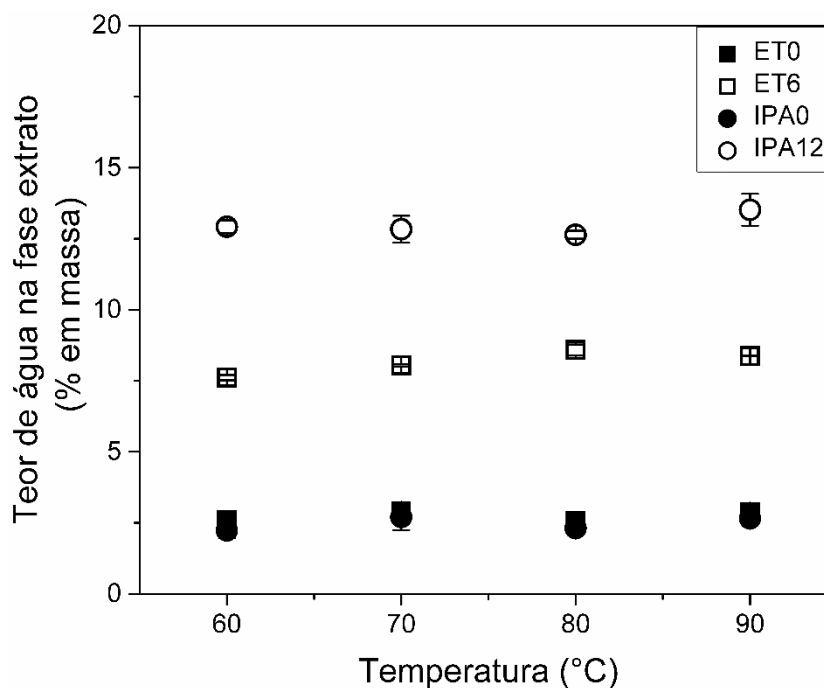
T (°C)	Etanol		Isopropanol	
	0 %	6 %	0 %	12 %
60	2,6 ± 0,2 bC	7,6 ± 0,1 aB	2,2 ± 0,3 aC	12,9 ± 0,2 aA
70	2,9 ± 0,2 aC	8,05 ± 0,04 aB	2,7 ± 0,5 aC	12,8 ± 0,5 aA
80	2,6 ± 0,2 bC	8,6 ± 0,2 aB	2,3 ± 0,1 aC	12,6 ± 0,1 aA
90	2,9 ± 0,1 aC	8,37 ± 0,00 aB	2,65 ± 0,09 aC	13,5 ± 0,6 aA

*médias seguidas por letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si ao nível de 5 % de significância pelo Teste de Duncan. Médias seguidas por letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si ao nível de 5 % de significância pelo Teste de Duncan.

Fonte: Própria autoria.

Para os solventes em grau azeotrópico, 6 % de água no caso do etanol e 12 % de água para o isopropanol, observou-se que a água presente no solvente permanece na fase extrato, enquanto que para os solventes em grau absoluto, a água presente inicialmente na matéria-prima foi extraída para a fase rica em solvente (fase extrato). Este fenômeno de hidratação da fase extrato foi previamente observado para sistemas com farelo de arroz (CAPELLINI, 2013; RODRIGUES e OLIVEIRA, 2010) e massa prensada de sementes de girassol (SCHARLACK, 2015).

Figura 5.4 Teor de água (% em massa) na fase extrato em função da temperatura de processo.



Fonte: Própria autoria.

Com relação a temperatura de processo, pode-se inferir que este parâmetro não interfere na transferência de água do sólido para a fase extrato, como pode ser conferido pela análise estatística apresentada na Tabela 5.6.

Os resultados para a extração de compostos lipídicos foram expressos na forma de rendimento, em porcentagem, de acordo com os balanços de massa global e por componente, considerando principalmente os resultados das análises de determinação do teor de solvente na fase extrato e a determinação do teor de óleo residual na fase refinado.

A Figura 5.5 mostra os resultados de rendimento de extração para cada tipo de solvente, enquanto a Tabela 5.7 apresenta a comparação estatística entre os valores médios de rendimento de extração de óleo pelo Teste de Duncan, ao nível de 5 % de significância.

Tabela 5.7 Rendimento (g de óleo extraído/ 100 g de borra de café) das extrações realizadas para diferentes condições experimentais.

T (°C)	Rendimento (g de óleo extraído/ 100 g de borra de café Lote 1)			
	Etanol		Isopropanol	
	0 %	6 %	0 %	12 %
60	4,25 ± 0,05 cB	-1,13 ± 0,01* cD	11,1 ± 0,9 bA	2,56 ± 0,01 dC
70	7,8 ± 0,1 bB	2,9 ± 0,1 bD	13,5 ± 0,2 aA	5,6 ± 0,2 cC
80	12,3 ± 0,1 aB	5,0 ± 0,8 aD	14,6 ± 0,2 aA	8,5 ± 0,2 bC
90	12,2 ± 0,4 aB	5,5 ± 0,2 aD	13,9 ± 0,4 aA	11,6 ± 0,4 aC

* o valor médio negativo é decorrente da baixa concentração de óleo no extrato e alta variabilidade da análise.

**médias seguidas por letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si ao nível de 5 % de significância pelo Teste de Duncan. Médias seguidas por letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si ao nível de 5 % de significância pelo Teste de Duncan.

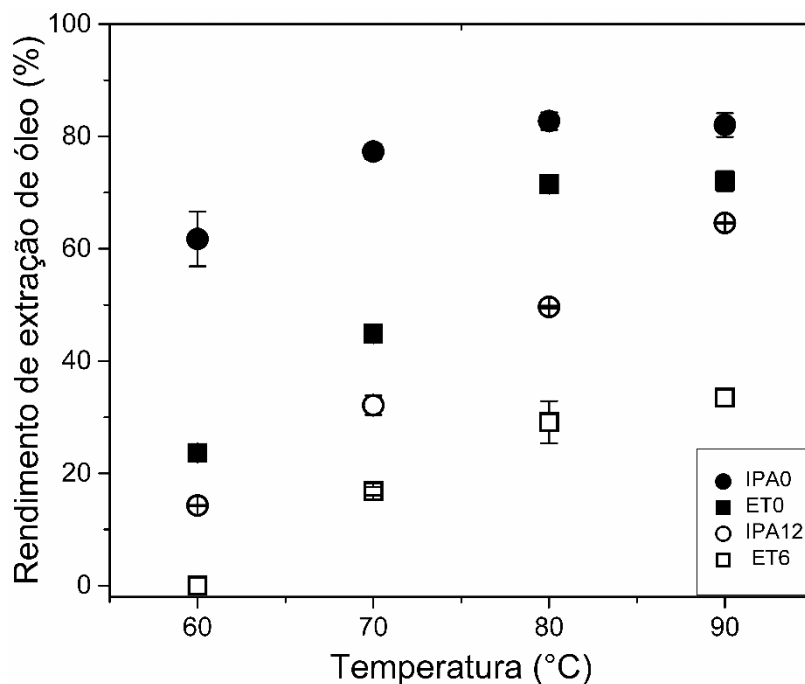
Fonte: Própria autoria.

Através dos dados apresentados na Figura 5.5 e na Tabela 5.7 pode-se concluir que as extrações utilizando solventes em grau absoluto resultaram em um rendimento maior com relação aos solventes em grau azeotrópico, ou seja, para os solventes com maior hidratação há uma influência negativa para a extração de compostos lipídicos. Capellini (2013) observou o mesmo efeito da hidratação do solvente em experimentos de extração de óleo de farelo de arroz utilizando etanol e isopropanol, em grau absoluto e azeotrópico como solventes. Este efeito pode ser decorrente da diminuição da solubilidade dos componentes lipídicos nos solventes com maior quantidade de água.

Johnson e Lusas (1983) confirmam a menor extração de compostos lipídicos com o aumento da hidratação do solvente. Este efeito é atribuído ao aumento da polaridade do solvente com o acréscimo da água, diminuindo sua afinidade com os compostos lipídicos que são apolares.

Na extração de óleo de gérmen de milho, utilizando etanol como solvente, realizado por Navarro e Rodrigues (2014), o rendimento de extração de óleo foi consideravelmente maior em etanol absoluto comparado ao solvente em grau azeotrópico.

Figura 5.5 Rendimento de extração (%) de óleo de borra de café para os diferentes condições experimentais.



Fonte: Própria autoria.

Na Tabela 5.7, com relação aos solventes etanol e isopropanol, de maneira geral, independentemente do nível de hidratação do solvente, pode-se observar que o etanol resultou em valores de rendimento estatisticamente menores quando comparados ao isopropanol.

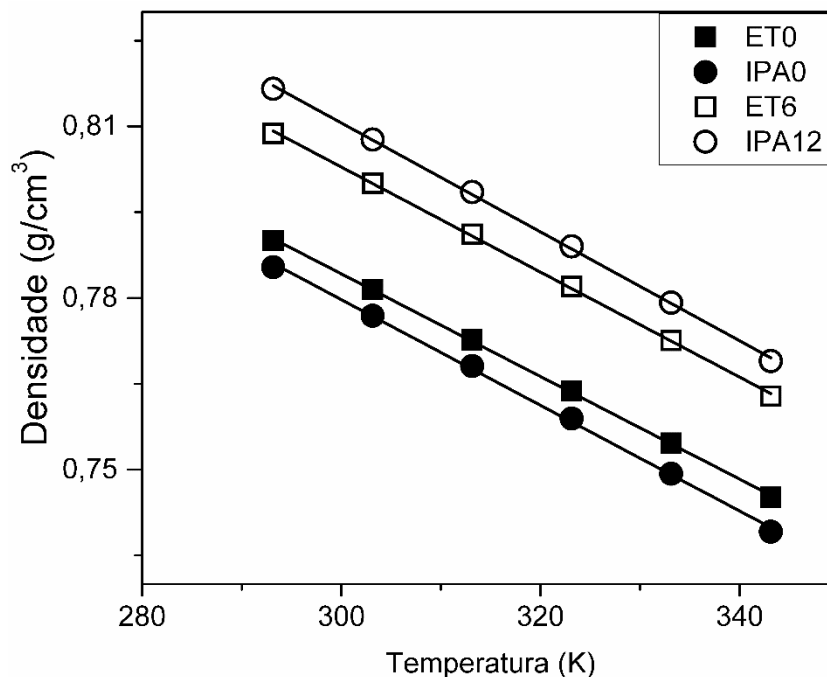
Neste contexto, em estudo realizado por Capellini (2013) para as temperaturas de 50, 70 e 80 °C não houve diferença estatisticamente significativa entre os solventes etanol e isopropanol, em grau absoluto, na extração de óleo de farelo de arroz. Porém em estudo realizado por Li et al. (2014) para extração de óleo de sementes de colza utilizando Soxhlet, o solvente isopropanol apresentou maior extração de óleo em comparação com o etanol.

Oliveira et al. (2013) avaliaram os mesmos solventes para a extração de óleo de sementes de maracujá utilizando, também, o extrator Soxhlet. A extração utilizando etanol como solvente resultou em valores de rendimento estatisticamente menores que a extração utilizando isopropanol.

Com o objetivo de verificar se as propriedades físicas, densidade e viscosidade dos solventes poderiam interferir no rendimento da extração, realizou-se

a determinação experimental destas propriedades nas temperaturas de 20 a 70 °C (293,15 a 343,15 K).

Figura 5.6 Densidade do etanol e isopropanol, em graus absoluto e azeotrópico, de 293,15 a 343,15 K.

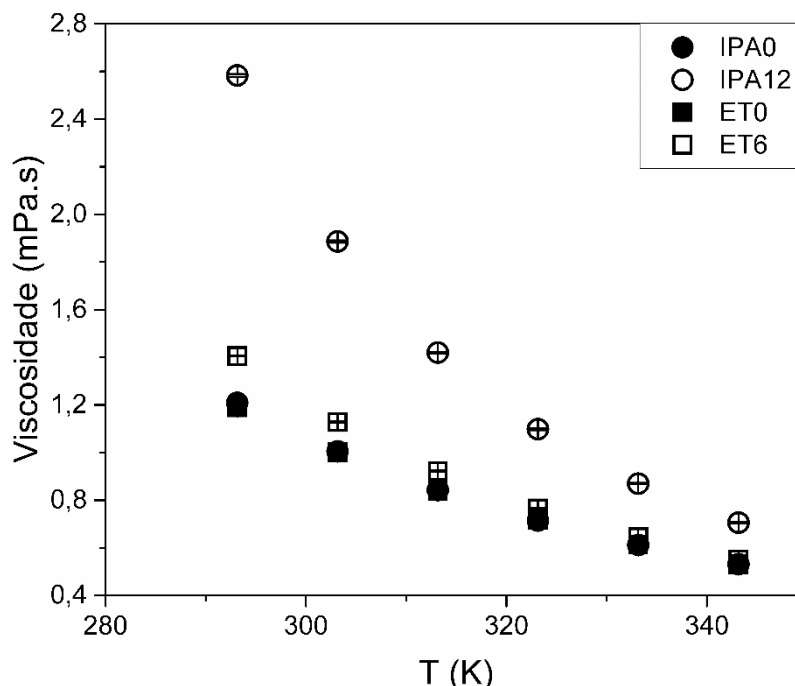


Fonte: Própria autoria.

A Figura 5.6 apresenta as densidades dos solventes etanol e isopropanol, em graus absoluto e azeotrópico em função da temperatura. O solvente isopropanol com 0 % de água apresentou os menores valores de densidade, seguido pelo solvente etanol absoluto, etanol com 6 % de água e isopropanol com 12 % de água.

A Figura 5.7 apresenta a viscosidade em função da temperatura absoluta. Neste caso pode ser observado que os valores de viscosidade referentes aos solventes absolutos não apresentaram diferença estatisticamente significativa. No caso dos solventes em grau azeotrópico, a viscosidade do isopropanol azeotrópico é maior que a dos outros solventes alcoólicos, para toda a faixa de temperatura estudada.

Figura 5.7 Viscosidade de etanol e isopropanol, em graus absoluto e azeotrópico, de 293,15 a 343,15 K.



Fonte: Própria autoria.

Wisniak et al. (1987) estudou a influência da viscosidade no rendimento das extrações de óleo de farinha de jojoba utilizando hexano e isopropanol como solventes. Os autores reportaram que os extratos com maior viscosidade resultaram em menor taxa de extração dos compostos lipídicos.

Em estudo do equilíbrio líquido-líquido de óleo de gergelim e solventes isopropanol e etanol realizado por Capellini et al. (2014), os autores observaram que a solubilidade do óleo aumenta com a utilização do isopropanol, em relação ao etanol, decorrente da presença de um átomo a mais de carbono na molécula.

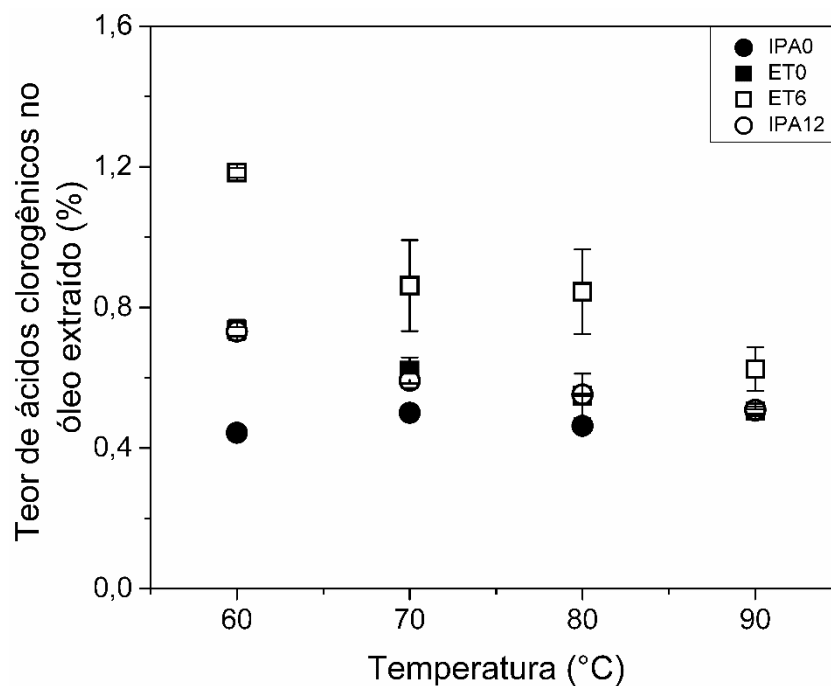
Em vista dessas informações, pode-se inferir que, apesar da maior viscosidade do solvente isopropanol azeotrópico, a qual poderia ocasionar uma diminuição na taxa de extração, a presença de um átomo de carbono a mais neste solvente em relação ao etanol, leva a um aumento da solubilidade dos compostos lipídicos e, conseqüentemente a um aumento do rendimento de extração.

Em adição, pode-se sugerir que o rendimento de extração de óleo também pode ter sido influenciado pela polaridade dos solventes empregados nas extrações sólido-líquido. A polaridade dos solventes pode ser representada pelas constantes

dielétricas de cada solvente. De acordo com os valores de constantes dielétricas apresentadas na Tabela 5.4, pode-se observar que o etanol, tanto em grau absoluto como em grau azeotrópico apresentaram maiores valores de constantes dielétricas que o isopropanol em graus absoluto e azeotrópico. Os menores valores de constante dielétrica apresentados pelo isopropanol absoluto podem ter contribuído para a obtenção de altos valores de rendimento de extração de óleo.

A transferência de ácidos clorogênicos totais da borra de café para o óleo extraído também foi monitorada neste trabalho. A Figura 5.8 apresenta o teor de ácidos clorogênicos totais no óleo de borra de café obtido com os diferentes solventes, em função da temperatura de processo enquanto a Figura 5.9 apresenta o rendimento de extração de ácidos clorogênicos totais para todos os solventes estudados, em função da temperatura de processo. Estes compostos minoritários possuem caráter antioxidante contribuindo para a estabilidade oxidativa dos óleos vegetais (MARINOVA et al., 2009; SATO et al., 2011; VERZELLONI et al., 2011; XIANG e NING, 2008).

Figura 5.8 Teor de ácidos clorogênicos totais (%) no óleo extraído em função da temperatura de processo.



Fonte: Própria autoria.

A Tabela 5.8 apresenta os valores médios dos teores de ácidos clorogênicos totais presentes nos óleos de borra de café obtidos utilizando os solventes alcoólicos, além do tratamento estatístico destes valores médios pelo Teste de Duncan, ao nível de 95 % de confiança.

Pode-se observar pelas Figuras 5.8 e 5.9 que o aumento da temperatura do processo de extração influencia negativamente a extração de ácidos clorogênicos totais da borra de café.

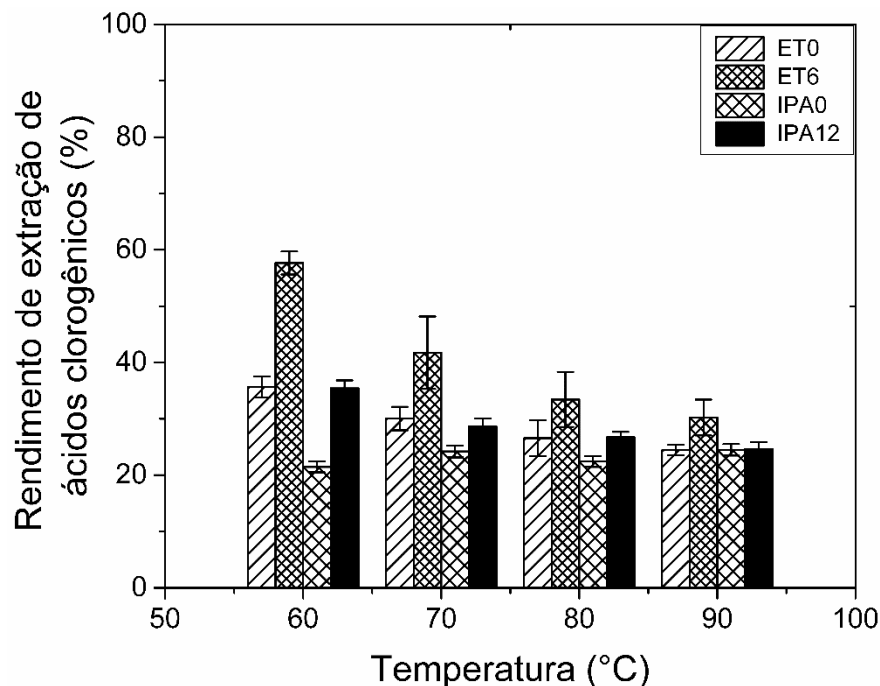
Tabela 5.8 Teor de ácidos clorogênicos totais (%) no óleo de borra de café obtido das extrações sólido-líquido utilizando os solventes etanol ou isopropanol, nos graus absoluto ou azeotrópico.

T (°C)	Etanol		Isopropanol	
	0 %	6 %	0 %	12 %
60	0,74 ± 0,03 aB	1,18 ± 0,01 aA	0,44 ± 0,01 bC	0,73 ± 0,01 aB
70	0,62 ± 0,04 abB	0,9 ± 0,1 bA	0,50 ± 0,01 aB	0,61 ± 0,04 bB
80	0,55 ± 0,06 bAB	0,7 ± 0,1 bcA	0,46 ± 0,01 bB	0,55 ± 0,00 cAB
90	0,50 ± 0,01 bB	0,62 ± 0,06 cA	0,51 ± 0,01 aB	0,51 ± 0,02 dB

*médias seguidas por letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si ao nível de 5 % de significância pelo Teste de Duncan. Médias seguidas por letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si ao nível de 5 % de significância pelo Teste de Duncan.

Fonte: Própria autoria.

Figura 5.9 Rendimento de extração de ácidos clorogênicos totais (%) no óleo obtido das extrações sólido-líquido nos diferentes solventes utilizados.



Fonte: Própria autoria.

Diferentes estudos relatam que o tipo de solvente e sua polaridade tem grande influência na extração de compostos fenólicos. Os compostos fenólicos são altamente polares e, por isso, são mais facilmente extraídos por solventes com maior polaridade (CAPELLINI, 2013; MOURE et al., 2001; SCHARLACK, 2015).

Como visto anteriormente no item 5.2 (Tabela 5.4), a ordem de aumento de polaridade dos solventes utilizados neste estudo é isopropanol absoluto, isopropanol azeotrópico seguidos de etanol absoluto e etanol azeotrópico. Desta forma, pode-se inferir que o solvente etanol azeotrópico (ET6) por ser o solvente mais polar extrai maior teor de ácidos clorogênicos da borra proporcionando a obtenção de óleo mais rico nestes compostos minoritários.

Bosch et al. (1996), estudou a variação do índice de polaridade com a temperatura. Com a escala de polaridade os autores observaram que a polaridade diminui com o aumento da temperatura para todos os solventes propostos, o que está de acordo com os dados apresentados na Tabela 5.4.

Deste modo, a menor extração de ácidos clorogênicos com o aumento da temperatura pode estar diretamente relacionada com a diminuição da polaridade dos solventes.

Neste trabalho monitorou-se o teor de proteínas nas fases refinado provenientes das extrações sólido-líquido para os diferentes solventes. Na Figura 5.10 pode-se observar os teores de proteínas nas fases refinado, em função da temperatura de processo, e também o teor de proteínas na matéria-prima. A Tabela 5.9 apresenta os valores médios de teores de proteínas nas fases refinado e a análise estatística pelo Teste de Duncan, ao nível de 95 % de confiança.

Como pode ser observado através da Figura 5.10, os teores de proteínas na fase refinado dos sistemas com o etanol azeotrópico como solvente estão próximos do teor de proteínas da borra de café inicial, antes de ser submetida ao processo de extração.

De maneira geral, nos sistemas de extração com os solventes absolutos, principalmente no caso do isopropanol absoluto, pode-se observar um maior enriquecimento da fase refinado em termos da fração proteica, com o aumento da temperatura de processo.

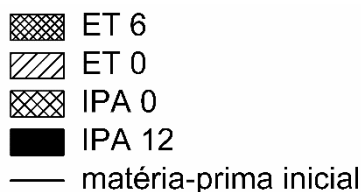
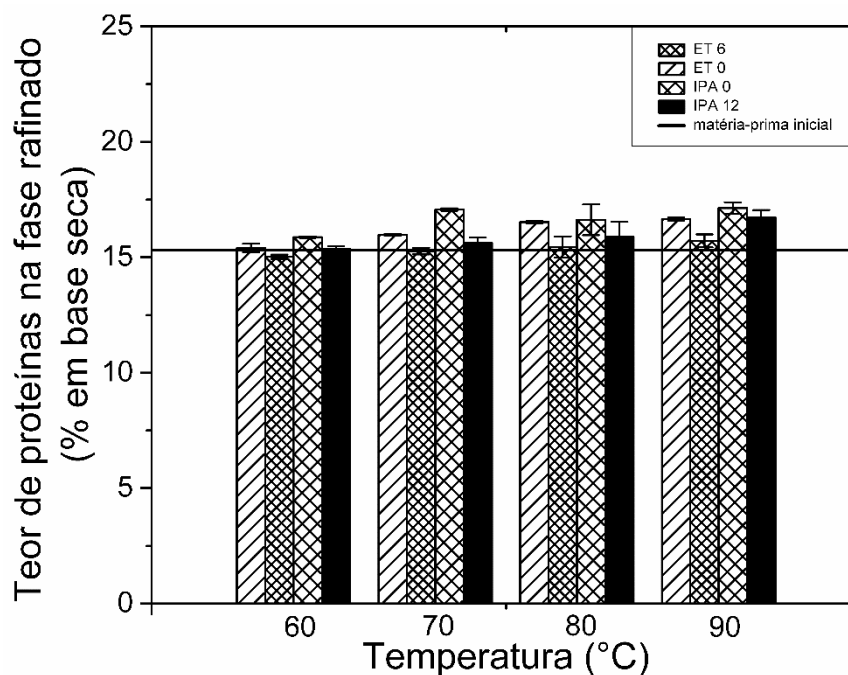
Tabela 5.9 Teor de proteínas (% em base seca) na fase refinado das extrações sólido-líquido realizadas utilizando como solventes, etanol ou isopropanol, nos graus absoluto ou azeotrópico.

T (°C)		Etanol		Isopropanol	
		0 %	6 %	0 %	12 %
	Matéria-prima	15,3 ± 0,2 cA	15,3 ± 0,2 abA	15,3 ± 0,2 cA	15,3 ± 0,2 bA
60	15,3 ± 0,2 aBC	15,4 ± 0,2 cB	15,0 ± 0,1 bC	15,87 ± 0,03 bcA	15,4 ± 0,1 bB
70	15,3 ± 0,2 aC	15,97 ± 0,04 bB	15,3 ± 0,1 abC	17,06 ± 0,05 aA	15,6 ± 0,2 bBC
80	15,3 ± 0,2 aC	16,52 ± 0,04 aAB	15,4 ± 0,4 abBC	16,6 ± 0,7 abA	15,9 ± 0,6 abABC
90	15,3 ± 0,2 aB	16,65 ± 0,06 aA	15,7 ± 0,3 aB	17,1 ± 0,2 aA	16,7 ± 0,3 aA

*médias seguidas por letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si ao nível de 5 % de significância pelo Teste de Duncan. Médias seguidas por letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si ao nível de 5 % de significância pelo Teste de Duncan.

Fonte: Própria autoria.

Figura 5.10 Teor de proteínas (%) na fase refinado em função da temperatura de processo.

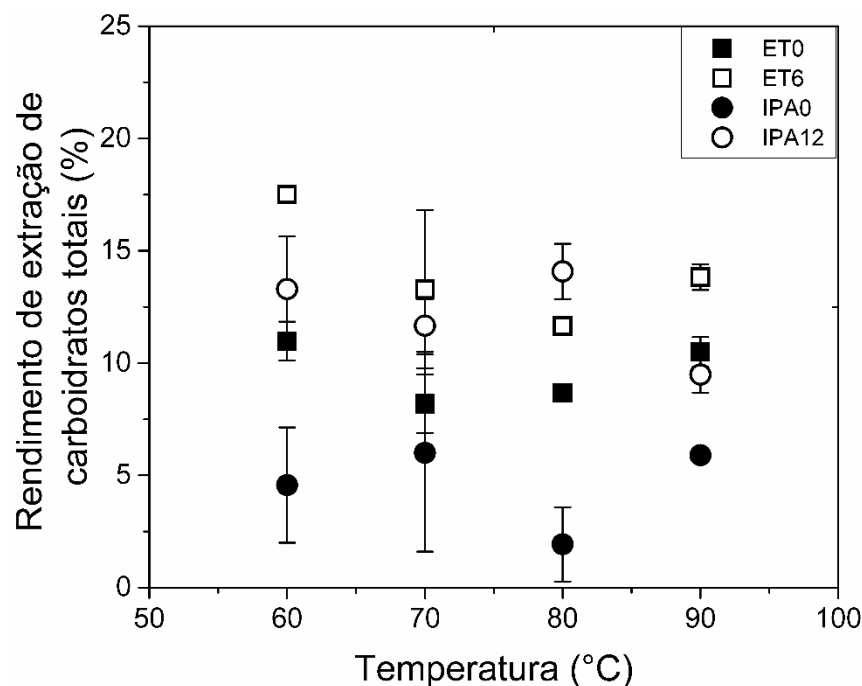


Fonte: Própria autoria.

Ainda com base nos dados mostrados na Tabela 5.9 e na Figura 5.10, pode-se observar que a fase refinado proveniente da extração com isopropanol em grau azeotrópico na temperatura de 90 °C apresenta teor proteico similar ao presente nas fases refinado oriundas das extrações com os solventes absolutos. Este comportamento é decorrente do alto rendimento de extração de óleo proporcionado pelo isopropanol azeotrópico na temperatura de 90 °C (vide Figura 5.5).

Pelos balanços de massa global e por componentes das fases refinado e extrato, pode-se determinar o rendimento de extração de carboidratos totais. A Figura 5.11 apresenta o rendimento de extração de carboidratos totais em função da temperatura de processo, para os solventes etanol e isopropanol, nos graus absoluto e azeotrópico.

Figura 5.11 Rendimento de extração de carboidratos totais (%) em função da temperatura de processo.



Fonte: Própria autoria.

A Tabela 5.10 apresenta os valores médios de rendimento de extração de carboidratos totais para os diferentes solventes, além da análise estatística pelo Teste de Duncan, ao nível de 95 % de confiança.

Tabela 5.10 Rendimento de extração de carboidratos totais (%) para diferentes condições experimentais.

T (°C)	Etanol		Isopropanol	
	0 %	6 %	0 %	12 %
60	11,0 ± 0,9 aB	17,5 ± 0,3 aA	4,6 ± 2,6 aC	13 ± 2 abB
70	8 ± 1 aA	11 ± 4 bA	6 ± 4 aA	12,3 ± 0,7 abA
80	8,6 aB	11,7 ± 0,4 bAB	2 ± 2 aB	14 ± 1 aA
90	10,5 ± 0,7 aB	13,8 ± 0,6 abA	5,9 ± 0,2 aC	9,5 ± 0,8 bB

*médias seguidas por letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si ao nível de 5 % de significância pelo Teste de Duncan. Médias seguidas por letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si ao nível de 5 % de significância pelo Teste de Duncan.

Fonte: Própria autoria.

De maneira geral, os solventes hidratados levaram a obtenção de maiores valores de rendimento de extração de carboidratos totais para todas as temperaturas avaliadas, como se pode observar pela Figura 5.11. Nesta figura pode-se observar,

também, que as barras de erros para alguns dados experimentais estão elevadas, principalmente nas temperaturas de 60 e 70 °C, e isto pode ser decorrente da propagação de erros das análises experimentais consideradas para o cálculo do rendimento de extração de carboidratos totais. Em adição, pela Tabela 5.10 pode-se verificar que a temperatura de processo não influencia significativamente os resultados para a maioria dos solventes empregados.

Scharlack (2015) em estudo de extração de óleo de girassol utilizando os solventes etanol e isopropanol, absoluto e azeotrópico, observou que o maior teor de óleo extraído estava diretamente relacionado com o maior teor de proteínas na fase refinado.

Analisando as Figuras 5.5 (rendimento de extração de óleo), 5.10 (teor de proteínas na fase refinado) e 5.11 (rendimento de extração de carboidratos totais) pode-se verificar que os resultados mostrados nestas estão diretamente relacionadas. De maneira geral, o maior enriquecimento em termos proteicos da fase refinado é proporcionado pelo maior rendimento de extração de óleo, principalmente nos casos em que os rendimentos de extração de óleo resultaram em valores acima de 40 %.

Resultados das análises de composição em ácidos graxos dos óleos de borra de café provenientes das extrações com os solventes etanol e isopropanol, nos graus absoluto e azeotrópico, estão apresentados nas Tabelas 5.11 a 5.14. Nestas tabelas estão reportadas as composições em ácidos graxos dos óleos obtidos das extrações realizadas nas temperaturas de 60 a 90 °C, respectivamente. Estas análises permitiram verificar a influência de diferentes variáveis (temperatura, tipo de solvente e grau de hidratação do solvente) na composição em ácidos graxos dos óleos extraídos.

Com base nas análises estatísticas dos dados experimentais obtidos, pode-se inferir que há algumas diferenças significativas, entre a composição em ácidos graxos do óleo obtido das extrações deste trabalho em relação aos dados de composição em ácidos graxos do óleo obtido por extrator Soxhlet com n-hexano por Obruca et al. (2014). Entretanto esta diferença pode ter sido ocasionada pela diferença de matéria-prima como pode-se observar no item 5.1.2. E ainda vale ressaltar que, a borra de café avaliada por Obruca et al. (2014) é originada de

cafeteira automática, diferente da borra de café utilizada nesta dissertação que é originada de processo industrial de produção de café solúvel.

Pelos dados experimentais e estatísticos apresentados nas Tabelas 5.11 a 5.14, pode-se verificar que há diferenças significativas entre alguns dados, mas nenhum padrão de comportamento por influência da temperatura de processo ou o tipo de solvente utilizado na extração.

Ahangari e Sargolzaei (2013) realizaram extração de óleo de borra de café utilizando solventes n-hexano e benzeno utilizando diferentes métodos de extração de óleo (extrator Soxhlet, extração assistida por ultrassom e extração assistida por microondas). Os autores verificaram que não há diferenças na composição em ácidos graxos dos óleos obtidos através dos diferentes métodos. Estes autores realizaram, também, a extração de óleo utilizando dióxido de carbono supercrítico e observaram que, neste caso, há diferenças nas composições em ácidos graxos oriundos dos óleos, assim como observado por Couto et al. (2009).

De maneira geral pode-se inferir que os óleos obtidos neste trabalho apresentam maiores valores de razão ácidos insaturados/ácidos saturados e, conseqüentemente, maiores valores de índice de iodo que os óleos extraídos com hexano. É possível mencionar, também, que as variáveis tipo e grau de hidratação de solvente e temperatura não apresentaram efeito estatisticamente significativo sobre a composição dos óleos. Estes resultados estão de acordo com os dados apresentados por Capellini (2013) e Scharlack (2015), que avaliaram a extração de óleo de farelo de arroz e sementes de girassol, respectivamente, utilizando diferentes solventes alcoólicos e diferentes temperaturas.

Tabela 5.11 Composição em ácidos graxos para os óleos de borra de café obtidos a 60 °C com diferentes solventes.

		ET 0 %		ET 6 %		IPA 0 %		IPA 12 %		Obruca et al. (2014)
		Média	Desvio	Média	Desvio	Média	Desvio	Média	Desvio	Massa (%)
Palmítico	C16:0	27,6	0,1 B	28,5	0,4 B	26,3	0,6 C	27,5	0,2 B	35,7 A
Estearico	C18:0	8,21	0,07 A	7,9	0,1 A	8,3	0,4 A	8,5	0,2 A	7,1 B
Oleico	C18:1	11,3	0,5 AB	11,0	0,1 AB	12,2	1,1 A	11,41	0,06 A	9,4 B
Linoleico	C18:2	46,7	0,4 A	45,9	0,1 B	47,02	0,01 A	46,3	0,3 AB	43,7 C
Araquídico	C20:0	2,91	0,05 AB	3,4	0,7 A	3,0	0,1 AB	2,9	0,1 AB	2,2 B
Eicosanóico	C20:1	0,87	0,02 A	0,8	0,0 A	0,84	0,07 A	0,9	0,1 A	0,3 B
Linolenico	C18:3	1,39	0,02 A	1,39	0,02 A	1,2	0,3 A	1,5	0,1 A	1,1 A
Behênico	C22:0	1,1	0,1 A	1,00	0,01 A	1,09	0,04 A	1,03	0,01 A	0,4 B
Insaturado/saturado**		1,52	0,03 AB	1,45	0,04 B	1,58	0,06 A	1,51	0,02 AB	1,2 C
Índice de Iodo		97,0	0,3 B	95,7	0,2 C	97,9	0,4 A	96,7	0,2 B	70,3 D

*médias seguidas por letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si ao nível de 5 % de significância pelo Teste de Duncan.

** Razão mássica dos ácidos graxos insaturados em relação aos ácidos graxos saturados.

Fonte: Própria autoria.

Tabela 5.12 Composição em ácidos graxos para os óleos de borra de café obtidos a 70 °C com diferentes solventes.

		ET 0 %		ET 6 %		IPA 0 %		IPA 12 %		Obruca et al. (2014)
		Média	Desvio	Média	Desvio	Média	Desvio	Média	Desvio	Massa (%)
Palmítico	C16:0	27,2	0,1 B	27,34	0,04 B	26,3	0,4 C	27,34	0,04 B	35,7 A
Estearico	C18:0	8,25	0,03 B	8,4	0,3 B	9,4	0,2 A	8,4	0,3 B	7,1 C
Oleico	C18:1	11,1	0,1 B	11,6	0,2 A	11,4	0,1 AB	11,6	0,2 A	9,4 C
Linoleico	C18:2	47,1	0,3 A	46,2	0,7 AB	45,4	0,2 B	46,2	0,7 AB	43,7 C
Araquídico	C20:0	2,98	0,05 B	3,1	0,2 B	4,5	0,2 A	3,1	0,2 B	2,2 C
Eicosanóico	C20:1	0,86	0,02 A	0,81	0,02 A	0,85	0,02 A	0,81	0,02 A	0,3 B
Linolenico	C18:3	1,5	0,1 A	1,47	0,08 A	1,1	0,1 B	1,47	0,08 A	1,1 B
Behênico	C22:0	1,04	0,01 B	1,02	0,01 B	1,14	0,02 A	1,02	0,01 B	0,4 C
Insaturado/saturado**		1,53	0,02 A	1,51	0,03 A	1,42	0,03 B	1,51	0,03 A	1,2 C
Índice de Iodo		97,9	0,1 A	96,8	0,2 A	95,1	0,1 B	96,8	0,2 A	70,3 C

*médias seguidas por letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si ao nível de 5 % de significância pelo Teste de Duncan.

**Razão mássica dos ácidos graxos insaturados em relação aos ácidos graxos saturados.

Fonte: Própria autoria.

Tabela 5.13 Composição em ácidos graxos para os óleos de borra de café obtidos a 80 °C com diferentes solventes.

		ET 0 %		ET 6 %		IPA 0 %		IPA 12 %		Obruca et al. (2014)
		Média	Desvio	Média	Desvio	Média	Desvio	Média	Desvio	Massa (%)
Palmítico	C16:0	27,36	0,00 B	27,1	0,5 B	26,3	0,6 B	26,4	0,9 B	35,7 A
Estearico	C18:0	8,47	0,01 AB	8,6	0,8 A	8,2	0,2 AB	8,3	0,3 AB	7,1 B
Oleico	C18:1	11,2	0,5 A	11,3	0,1 A	11,9	0,6 A	12,7	0,6 A	9,4 B
Linoleico	C18:2	46,7	0,4 A	46,5	0,6 A	46,4	0,4 A	46,7	0,8 A	43,7 B
Araquídico	C20:0	3,01	0,04 A	4	1 A	4	1 A	2,8	0,1 A	2,2 A
Eicosanóico	C20:1	0,84	0,02 A	0,4	0,6 A	0,90	0,09 A	0,82	0,04 A	0,3 A
Linolenico	C18:3	1,37	0,01 A	1,2	0,3 A	1,3	0,4 A	1,33	0,03 A	1,1 A
Behênico	C22:0	1,05	0,03 A	1,01	0,02 A	1,07	0,01 A	1,0	0,1 A	0,4 B
Insaturado/saturado**		1,51	0,03 A	1,5	0,1 A	1,5	0,1 A	1,60	0,07 A	1,2 B
Índice de Iodo		96,9	0,1 A	96,5	0,4 A	97,5	0,4 A	97,9	0,2 A	70,3 B

*médias seguidas por letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si ao nível de 5 % de significância pelo Teste de Duncan.

** Razão mássica dos ácidos graxos insaturados em relação aos ácidos graxos saturados.

Fonte: Própria autoria.

Tabela 5.14 Composição em ácidos graxos para os óleos da borra de café obtidos a 90 °C com diferentes solventes.

		ET 0 %		ET 6 %		IPA 0 %		IPA 12 %		Obruca et al. (2014)
		Média	Desvio	Média	Desvio	Média	Desvio	Média	Desvio	Massa (%)
Palmítico	C16:0	27,1	0,4 B	27,0	0,7 B	27,0	0,7 B	27,5	0,2 B	35,7 A
Estearico	C18:0	8,6	0,3 A	8,08	0,03 A	7,92	0,06 A	8,5	0,1 A	7,1 B
Oleico	C18:1	11,1	0,2 AB	12	1 AB	13	1 A	11,1	0,1 AB	9,4 B
Linoleico	C18:2	47	1 A	47,2	0,4 A	46,4	0,4 A	46,6	0,3 A	43,7 B
Araquídico	C20:0	3,0	0,1 A	2,8	0,1 A	2,9	0,1 A	3,01	0,04 A	2,2 B
Eicosanóico	C20:1	0,86	0,02 A	0,82	0,02 A	0,82	0,04 A	0,84	0,01 A	0,3 B
Linolenico	C18:3	1,37	0,04 A	1,35	0,05 A	1,30	0,06 A	1,4	0,0 A	1,1 B
Behênico	C22:0	1,03	0,02 A	1,0	0,0 A	1,1	0,1 A	1,04	0,01 A	0,4 B
Insaturado/saturado**		1,52	0,05 A	1,57	0,05 A	1,57	0,07 A	1,49	0,02 A	1,2 B
Índice de Iodo		97,3	0,2 A	98,0	0,2 A	97,4	0,3 A	96,70	0,07 A	70,3 B

*médias seguidas por letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si ao nível de 5 % de significância pelo Teste de Duncan.

** Razão mássica dos ácidos graxos insaturados em relação aos ácidos graxos saturados.

Fonte: Própria autoria.

5.4.2 Índice de retenção

A Figura 5.12 apresenta os resultados de índice de retenção de solução em função do tipo de solvente enquanto a Tabela 5.15 apresenta os valores médios e a comparação estatística pelo teste de Duncan, ao nível de 95 % de confiança.

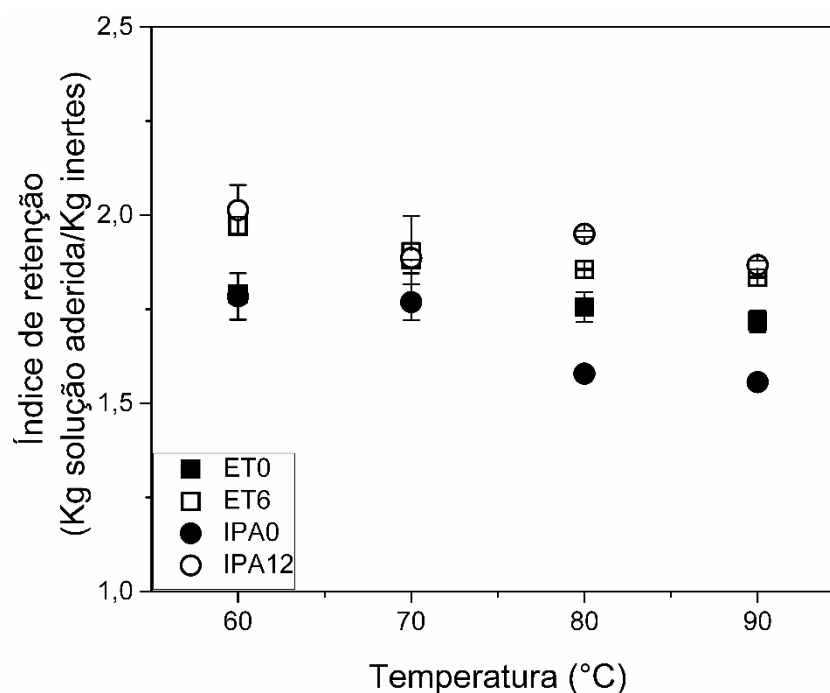
Com base na análise estatística dos valores médios pode-se inferir que há diferença estatisticamente significativa para os diferentes solventes e temperaturas. De modo geral, os solventes com hidratação apresentaram valores superiores de índice de retenção quando comparados aos solventes em grau absoluto.

Rodrigues e Oliveira (2010) estudaram a extração de óleo de farelo de arroz na forma de pellets, utilizando etanol com diferentes níveis de hidratação como solventes. Os autores determinaram índices de retenção de 0,77 a 1,12 Kg de solução aderida/ Kg de sólidos inertes. Neste trabalho os autores sugerem que o aumento da hidratação do solvente leva a um aumento dos valores de índice de retenção.

A influência da hidratação do solvente no índice de retenção também pode ser verificada em trabalho publicado por Navarro e Rodrigues (2014), no qual foram realizadas extrações sólido-líquido do gérmen de milho, em pellets, utilizando etanol absoluto e azeotrópico como solventes. Neste trabalho foi observado que para as extrações com o solvente etanol azeotrópico os valores de índice de retenção foram mais elevados que os determinados para as extrações com o etanol absoluto, independentemente da temperatura de extração.

Capellini (2013) realizou estudo sobre o processo de extração de óleo de pellets de farelo de arroz utilizando os solventes etanol e isopropanol, em grau absoluto e azeotrópico. Os valores de índice de retenção de acordo com a autora diferiram significativamente ao nível de 5 % de significância pelo Teste de Duncan, sendo maiores para os solventes hidratados em comparação com os solventes em grau absoluto. Ainda no trabalho de Capellini (2013) é possível observar, que os valores de solução aderida por massa de sólidos inertes variaram de 0,36 a 0,69 (Kg/Kg) sendo, de modo geral, valores menores que os resultados obtidos neste trabalho.

Figura 5.12 Índice de retenção (Kg solução aderida/Kg sólidos inertes) como função da temperatura de processo.



Fonte: Própria autoria.

Tabela 5.15 Índice de retenção (Kg solução aderida/Kg inertes) para diferentes condições experimentais.

T (°C)	Etanol		Isopropanol	
	0 %	6 %	0 %	12 %
60	1,79 ± 0,02 aB	1,97 ± 0,02 aA	1,78 ± 0,06 aB	2,01 ± 0,07 aA
70	1,9 ± 0,1 aA	1,90 ± 0,02 bA	1,77 ± 0,05 aA	1,89 ± 0,04 bA
80	1,75 ± 0,04 aC	1,86 ± 0,00 cB	1,58 ± 0,00 bD	1,95 ± 0,01 aA
90	1,72 ± 0,03 aB	1,84 ± 0,00 cA	1,56 ± 0,00 bC	1,87 ± 0,01 bA

*médias seguidas por letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si ao nível de 5 % de significância pelo Teste de Duncan. Médias seguidas por letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si ao nível de 5 % de significância pelo Teste de Duncan.

Fonte: Própria autoria.

Zhang et al. (2002) estudaram o tempo de retenção de solução no processo de extração de óleo de algodão na forma de pellets e lâminas, utilizando como solvente álcool isopropílico com 5 % de hidratação. Os autores reportam que o índice de retenção para as matérias-primas na forma de lâminas é maior que o índice de retenção na forma de pellets. Deste modo, a extração de compostos

lipídicos da estrutura em pellets foi mais eficiente que na estrutura em lâminas, devido a melhor drenagem da solução do sistema.

De maneira geral, os índices de retenção obtidos neste trabalho apresentaram valores maiores que os valores citados na literatura. Isto pode ser decorrente, provavelmente, da forma física da matéria-prima, borra de café em granulometria fina, que retêm maior quantidade de solução no material por mais tempo.

É também importante comentar que as propriedades físicas, densidade e viscosidade dos solventes podem influenciar a quantidade de solução aderida à massa de sólidos inertes. Como observado nas Figuras 5.6 e 5.7, os solventes em grau azeotrópico são aqueles que apresentam os maiores valores de densidade e viscosidade. Desta forma, pode-se inferir que estes fatores também contribuíram para a obtenção de maiores valores de índice de retenção para os solventes hidratados.

5.5 Estudo do processo de extração sólido-líquido em batelada com pré-tratamento enzimático

Esta etapa do trabalho foi realizada com o objetivo de melhorar o rendimento de extração de óleo de borra de café através da utilização de um pré-tratamento enzimático. O pré-tratamento proposto teve como finalidade favorecer a liberação do óleo pela hidrólise das paredes celulares utilizando enzimas (BISHT et al., 2015; DOMÍNGUEZ et al., 1996; LI et al., 2012; PASSOS et al., 2009; SOTO et al., 2007). Além disso, este pré-tratamento poderia possibilitar a utilização de condições mais brandas, em termos de temperatura, na etapa de extração utilizando solventes (DOMÍNGUEZ et al., 1994; YUSOFF et al., 2015).

As enzimas foram gentilmente cedidas pela empresa Novozymes Latin America Ltda. Pela composição da borra de café a empresa sugeriu a utilização das enzimas Celluclast® e Viscozyme®, além do fornecimento das curvas de atividade enzimática em função do pH e temperatura de cada enzima (Anexo A). De acordo com estas informações, o pH favorável a atividade das enzimas é de 4,5 a 5,0 e a temperatura de 45 a 50 °C. A empresa recomendou, também, a utilização de menor quantidade possível de água, zelando pela otimização do processo. Deste modo, a

razão sólido/líquido de 1/5 foi definida por ser a maior razão que possibilita a manutenção da agitação do sistema.

Através da realização da pesquisa bibliográfica apresentada na Tabela 3.1 alguns parâmetros foram definidos, como o tempo de tratamento enzimático de 6 horas, de acordo com os estudos de Li et al. (2012) e You et al. (2011).

O pH da dispersão de borra de café em água deionizada apresenta valor na faixa de pH de 4,0 a 4,5. Devido a este fato optou-se por não controlar o pH em alguns sistemas. De fato, segundo You et al. (2011) o ajuste do pH e a adição de água não são industrialmente desejáveis.

Neste trabalho foram realizados alguns testes para otimizar os parâmetros do tratamento enzimático como a concentração enzimática (1,4 a 14 % em massa com relação a borra de café seca), o pH (4,5 a 5,0) e a temperatura do sistema (45 a 50 °C). Nas Figuras 5.13 e 5.14 estão apresentados os rendimentos de extração de óleo e de carboidratos para extrações realizadas a 70 °C utilizando como solventes o etanol absoluto e etanol azeotrópico, respectivamente, com pré-tratamentos enzimáticos em diferentes condições. As Figuras apresentam, também, os resultados de rendimento de extração de óleo e de carboidratos das extrações sem o pré-tratamento enzimático, para fins de comparação.

Na Figura 5.13, observando os dados experimentais para os sistemas com pré-tratamento enzimático sem o ajuste de pH, na temperatura de 45 °C e a diferentes valores de concentração enzimática, pode-se verificar que a concentração enzimática a partir de 7 % de enzimas em relação a massa de borra seca não interfere significativamente no rendimento de extração de óleo. O mesmo comportamento foi constatado por Bisht et al. (2015) que avaliou o pré-tratamento enzimático de amêndoas de damasco em pó antes da extração de óleo por prensagem. Os autores utilizaram as enzimas Pectazyme® e Mashzyme®, isoladamente ou em conjunto no pré-tratamento enzimático, e variaram a concentração enzimática de 0,1 a 0,7 % de enzimas na dispersão. Neste caso obtiveram um aumento do rendimento de extração de óleo até a concentração enzimática de 0,3 a 0,4 % nas dispersões com as enzimas atuando isoladamente e em conjunto, respectivamente.

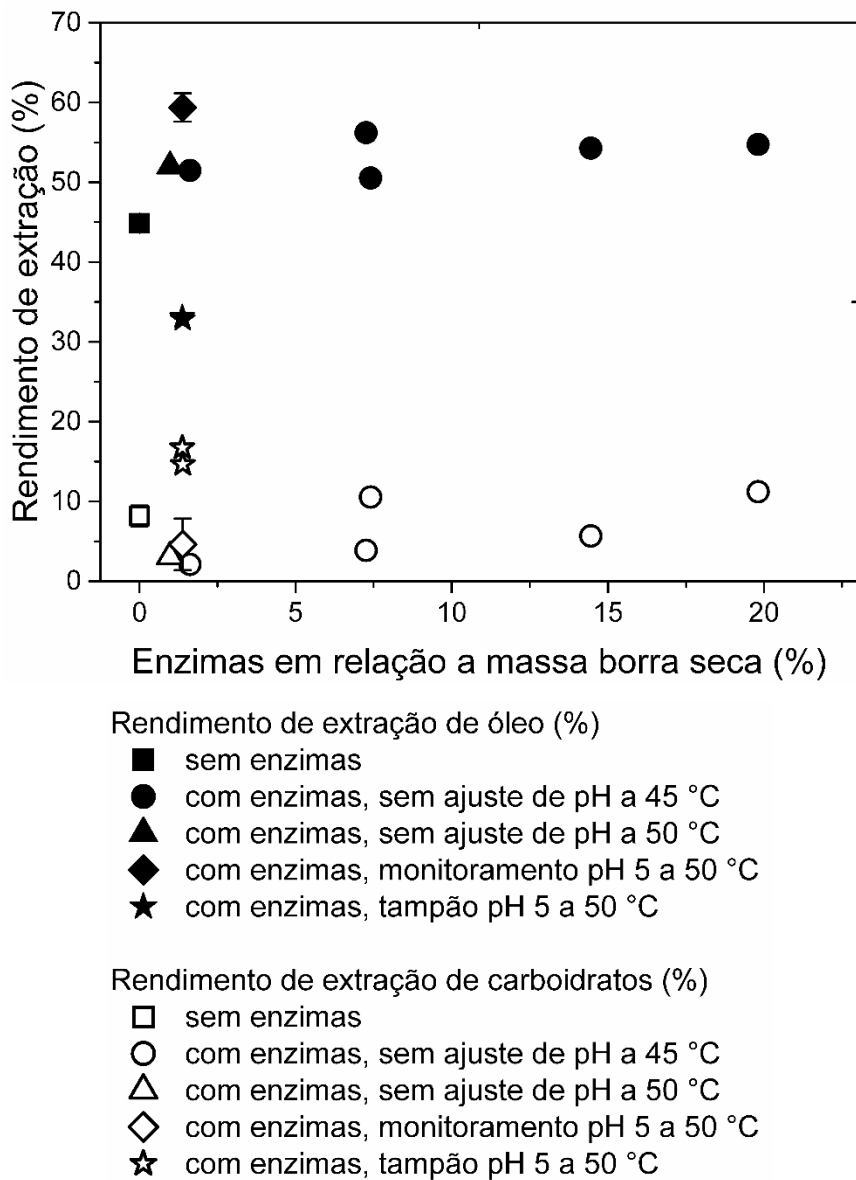
Pela Figura 5.14 pode-se observar que todos os experimentos com pré-tratamento enzimático resultaram em maiores valores de rendimento de extração de carboidratos, enquanto os valores de rendimento de extração de óleo obtidos foram abaixo de 5 %.

De acordo com as Figuras 5.13 e 5.14, pode-se observar que os experimentos nos quais a solução tampão de pH 5 foi utilizada no tratamento enzimático resultaram em menores valores de rendimento de extração de óleo e maiores valores de rendimento de extração de carboidratos. Este comportamento de favorecimento da extração de carboidratos foi observado nos experimentos utilizando etanol azeotrópico como solvente de extração (Figura 5.14) com pré-tratamento enzimático sem ajuste de pH a 45 °C ou com monitoramento do pH 5 a 50 °C. O mesmo comportamento foi observado por Hanmoungjai et al. (2002) que realizaram o tratamento enzimático, centrifugaram a dispersão para separar a solução do material sólido e determinaram o teor de açúcares na solução e o teor de óleo residual no material sólido para obter o valor de rendimento de extração de óleo. Estes autores avaliaram o efeito de várias enzimas no rendimento de extração de óleo e a ação das enzimas Celluclast® 1.5 L, hemicellulase, Pectinex ultra SP-L® e Viscozyme® L não afetaram significativamente o rendimento de extração de óleo mas resultaram no aumento do nível de açúcares na solução separada por centrifugação após tratamento enzimático.

Através da Figura 5.13 pode-se inferir que os parâmetros de pré-tratamento enzimático que resultaram em melhores rendimentos de extração de óleo foram: com ajuste de pH da dispersão no valor de 5 com soluções de NaOH 0,1 N e/ou HCl 0,1 N, 50 °C e concentração enzimática de 1,4 % de enzimas em relação a massa seca de borra de café.

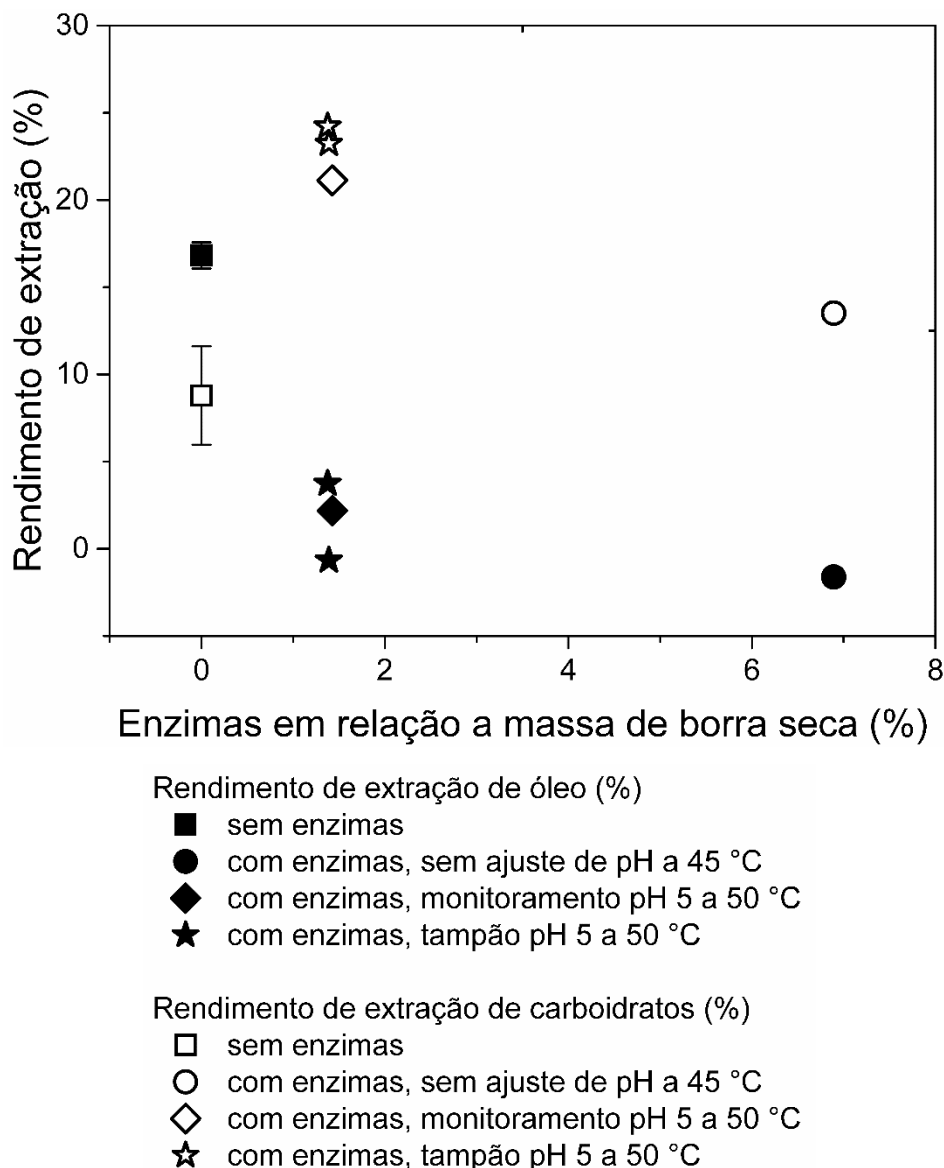
Para avaliar a influência do pré-tratamento enzimático nos rendimentos de extração de óleo e ácidos clorogênicos, além do impacto no índice de solubilidade da fração proteica da fase refinado, realizou-se pré-tratamento enzimático na borra de café do Lote 2 com ajuste de pH da dispersão no valor de 5, 50 °C e concentração enzimática de 1,4 % de enzimas em relação a massa seca de borra de café. Em seguida, o material pré-tratado enzimaticamente foi submetido às extrações sólido-líquido utilizando os solventes etanol e isopropanol, nos graus absoluto e azeotrópico, a 70 °C.

Figura 5.13 Rendimento de extração de óleo (%) e de carboidratos (%) para as extrações utilizando etanol absoluto como solvente, a 70 °C, com e sem pré-tratamento enzimático.



Fonte: Própria autoria.

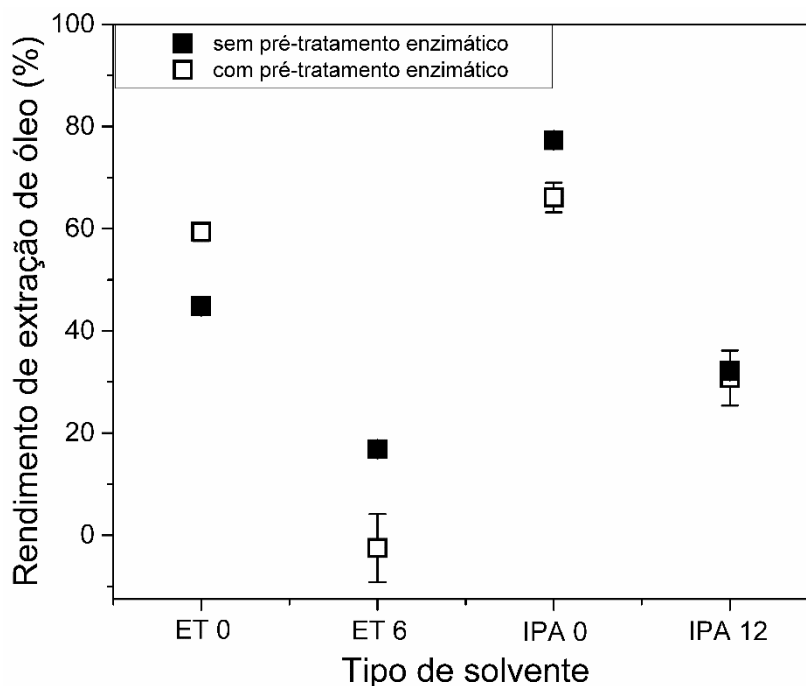
Figura 5.14 Rendimento de extração de óleo (%) e de carboidratos (%) para as extrações utilizando etanol azeotrópico como solvente, a 70 °C, com e sem pré-tratamento enzimático.



Fonte: Própria autoria.

A Figura 5.15 e a Tabela 5.16 apresentam os resultados de extração de óleo, a 70 °C, utilizando como solventes etanol e isopropanol, nos graus absoluto e azeotrópico, com tratamento enzimático a 50 °C, pH ajustado no valor de 5 e concentração enzimática de 1,4 % de enzimas em relação a massa seca de borra de café. A Tabela 5.16 apresenta, ainda, a análise estatística dos valores médios de rendimento de extração de óleo pelo Teste de Duncan, ao nível de 95 % de confiança.

Figura 5.15 Rendimento de extração de óleo (%) utilizando diferentes solventes, a 70 °C, com e sem pré-tratamento enzimático.



Fonte: Própria autoria.

Tabela 5.16 Rendimento de extração de óleo (%) das extrações sólido-líquido com e sem pré-tratamento enzimático.

	Etanol		Isopropanol	
	0 %	6 %	0 %	12 %
Sem pré-tratamento enzimático	44,8 ± 0,8 bB	16,8 ± 0,7 aD	77 ± 1 aA	32 ± 2 aC
Com pré-tratamento enzimático	59,4 ± 1,8 aA	0 ± 0 bC	66 ± 3 bA	30 ± 5 aB

*médias seguidas por letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si ao nível de 5 % de significância pelo Teste de Duncan. Médias seguidas por letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si ao nível de 5 % de significância pelo Teste de Duncan.

Fonte: Própria autoria.

O rendimento de óleo obtido das extrações utilizando etanol absoluto como solvente foi o que resultou em valor acima do rendimento de óleo sem o pré-tratamento enzimático. Para o solvente isopropanol azeotrópico não foi notada diferença estatisticamente significativa em comparação com o dado sem tratamento enzimático.

Kwon et al. (2013) realizaram um estudo da produção sequencial de biodiesel e bioetanol com borra de café e obtiveram resultado semelhante com relação a obtenção de maior teor de açúcares no óleo extraído de borra de café utilizando hidrólise enzimática. Os autores sugeriram que há duas razões para estes resultados: primeiramente o alto teor de carboidratos na borra de café e, segundo, que as enzimas utilizadas necessitam de um tempo maior para a hidrólise enzimática.

Com os resultados apresentados na Figura 5.15 pode-se concluir que os parâmetros do pré-tratamento enzimático ainda não estão adequadamente otimizados. Pode-se supor que o tempo de tratamento enzimático e, também, os tipos de enzimas empregadas precisam ser mais bem avaliados para se obter aumentos expressivos no rendimento de extração de óleo.

A Figura 5.16 apresenta os resultados de extração de carboidratos, a 70 °C, utilizando como solventes etanol e isopropanol, nos graus absoluto e azeotrópico, com tratamento enzimático a 50 °C, pH ajustado no valor de 5 e concentração enzimática de 1,4 % de enzimas em relação a massa seca de borra de café. A Tabela 5.17 apresenta os valores médios de rendimento de extração de carboidratos e a análise estatística pelo Teste de Duncan, ao nível de 95 % de confiança.

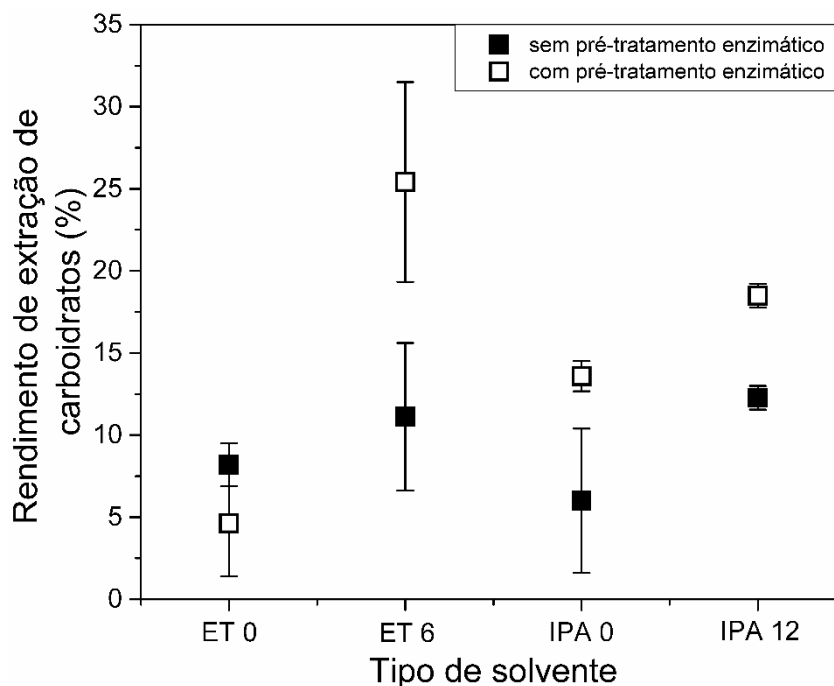
Tabela 5.17 Rendimento de extração de carboidratos (%) das extrações sólido-líquido com e sem pré-tratamento enzimático.

	Etanol		Isopropanol	
	0 %	6 %	0 %	12 %
Sem pré-tratamento enzimático	8 ± 1 aA	11 ± 4 aA	6 ± 4 aA	12,3 ± 0,7 bA
Com pré-tratamento enzimático	5 ± 3 aC	25 ± 6 aA	13,6 ± 0,9 aBC	18,5 ± 0,7 aAB

*médias seguidas por letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si ao nível de 5 % de significância pelo Teste de Duncan. Médias seguidas por letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si ao nível de 5 % de significância pelo Teste de Duncan.

Fonte: Própria autoria.

Figura 5.16 Rendimento de extração de carboidratos (%) utilizando diferentes solventes, a 70 °C, com e sem pré-tratamento enzimático.



Fonte: Própria autoria.

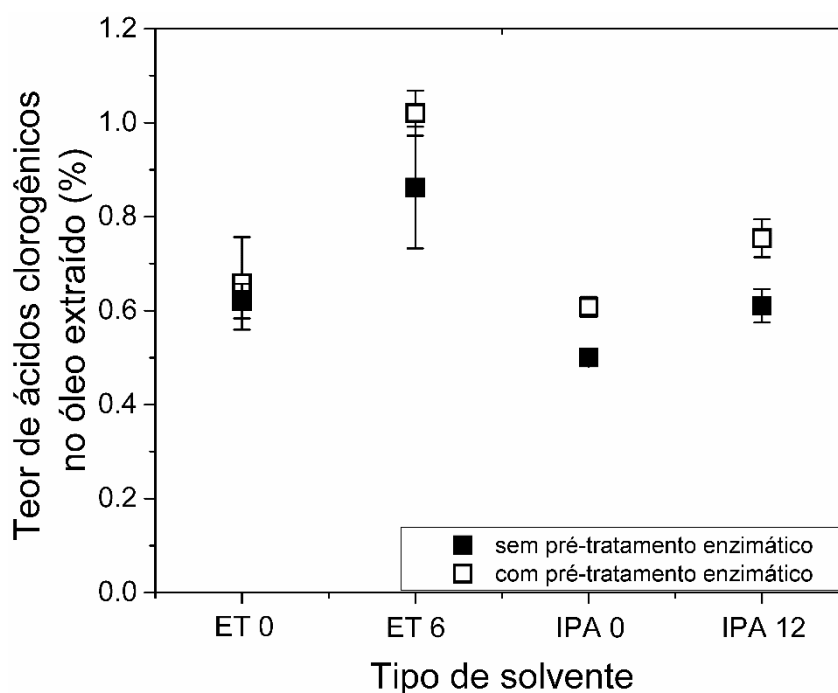
Os valores médios de rendimento de carboidratos das extrações sem o pré-tratamento enzimático não mostraram diferenças estatisticamente significativas, já os valores médios de rendimento de carboidratos das extrações com pré-tratamento enzimático mostraram variações significativas, com maior rendimento no processo de extração quando o etanol azeotrópico foi utilizado como solvente. Este solvente também foi o que resultou em valores negativos de rendimento de extração de óleo, mais baixos que os decorrentes dos experimentos sem tratamento enzimático.

A Figura 5.17 e a Tabela 5.18 apresentam os resultados de extração de ácidos clorogênicos totais, a 70 °C, utilizando como solventes etanol e isopropanol, nos graus absoluto e azeotrópico, com pré-tratamento enzimático a 50 °C, pH ajustado no valor 5 e concentração enzimática de 1,4 % de enzimas em relação a massa de borra de café seca.

Em relação aos dados experimentais de extração de ácidos clorogênicos totais das extrações com e sem pré-tratamento enzimático, pode-se inferir que não houve diferença estatisticamente significativa para os solventes etanol em grau absoluto e azeotrópico. Deste modo, pode-se afirmar que o tratamento enzimático

não influencia na composição do óleo extraído, com relação aos ácidos clorogênicos totais, para estes solventes. Por outro lado, observou-se que para os solventes isopropanol em grau absoluto e azeotrópico o pré-tratamento enzimático favoreceu a extração dos ácidos clorogênicos, sendo estas observações compatíveis com os aumentos de rendimento de extração de carboidratos notados na Figura 5.16 para os solventes IPA0 e IPA12. De fato, pode-se inferir que para o caso da utilização do isopropanol o uso do pré-tratamento enzimático tornou o sistema solvente mais polar, o que favoreceu a extração de carboidratos e ácidos clorogênicos.

Figura 5.17 Teor de ácidos clorogênicos totais (%) no óleo de borra de café obtido das extrações com e sem pré-tratamento enzimático.



Fonte: Própria autoria.

Tabela 5.18 Teor de ácidos clorogênicos totais do óleo (%) obtido das extrações sólido-líquido com e sem pré-tratamento enzimático.

	Etanol		Isopropanol	
	0 %	6 %	0 %	12 %
Sem pré-tratamento enzimático	0,62 ± 0,04 aB	0,9 ± 0,1 aA	0,50 ± 0,01 bB	0,61 ± 0,04 bB
Com pré-tratamento enzimático	0,7 ± 0,1 aB	1,02 ± 0,05 aA	0,61 ± 0,02 aB	0,75 ± 0,04 aB

*médias seguidas por letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si ao nível de 5 % de significância pelo Teste de Duncan. Médias seguidas por letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si ao nível de 5 % de significância pelo Teste de Duncan.

Fonte: Própria autoria.

A Tabela 5.19 apresenta os resultados de composição em ácidos graxos dos óleos obtidos das extrações a 70 °C utilizando como solventes etanol e isopropanol, nos graus absoluto e azeotrópico, com pré-tratamento enzimático a 50 °C, pH controlado de 5 e concentração enzimática de 1,4 % de enzimas com relação a massa seca de borra de café.

As composições em ácidos graxos dos óleos obtidos das extrações com pré-tratamento enzimático apresentaram diferenças sutis com relação a composição dos óleos extraídos sem pré-tratamento enzimático, como pode ser observado na Tabela 5.19. Estes dados experimentais comprovam que o processo de extração e o tratamento enzimático não influenciam significativamente a composição do óleo em ácidos graxos. Segundo Bisht et al. (2015) o tratamento enzimático não afeta a qualidade do óleo obtido.

Tabela 5.19 Composição em ácidos graxos do óleo de borra de café obtida, a 70 °C, com pré-tratamento enzimático.

		ET 0 %		ET 6 %		IPA 0 %		IPA 12 %		Obruca et al. (2014)
		Média	Desvio	Média	Desvio	Média	Desvio	Média	Desvio	Massa (%)
Palmítico	C16:0	27,87	0,02 CB	28,3	0,3 B	27,4	0,1 D	27,62	0,04 CD	35,7 A
Estearico	C18:0	8,4	0,1 AB	8,22	0,03 B	8,41	0,01 A	8,37	0,04 AB	7,1 C
Oleico	C18:1	10,36	0,03 A	10,6	0,9 A	10,2	0,3 A	9,9	0,1 A	9,4 A
Linoleico	C18:2	46,76	0,07 A	46	1 A	47,5	0,1 A	47,68	0,04 A	43,7 B
Araquídico	C20:0	3,0	0,1 A	3,0	0,1 A	2,91	0,01 A	2,89	0,01 A	2,2 B
Eicosanóico	C20:1	0,81	0,01 A	0,79	0,04 A	0,80	0,02 A	0,77	0,00 A	0,3 B
Linolenico	C18:3	1,68	0,06 A	1,7	0,1 A	1,75	0,06 A	1,63	0,01 A	1,1 B
Behênico	C22:0	1,16	0,05 A	1,11	0,01 A	1,10	0,01 A	1,10	0,01 A	0,4 B
Insaturado/saturado **		1,48	0,01 AB	1,46	0,06 B	1,51	0,01 A	1,5	0,0 AB	1,2 C
Índice de Iodo		97,08	0,04 A	96,6	0,4 A	98,31	0,07 A	98,08	0,02 A	70,3 B

*médias seguidas por letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si ao nível de 5 % de significância pelo Teste de Duncan.

** Razão mássica dos ácidos graxos insaturados em relação aos ácidos graxos saturados.

Fonte: Própria autoria.

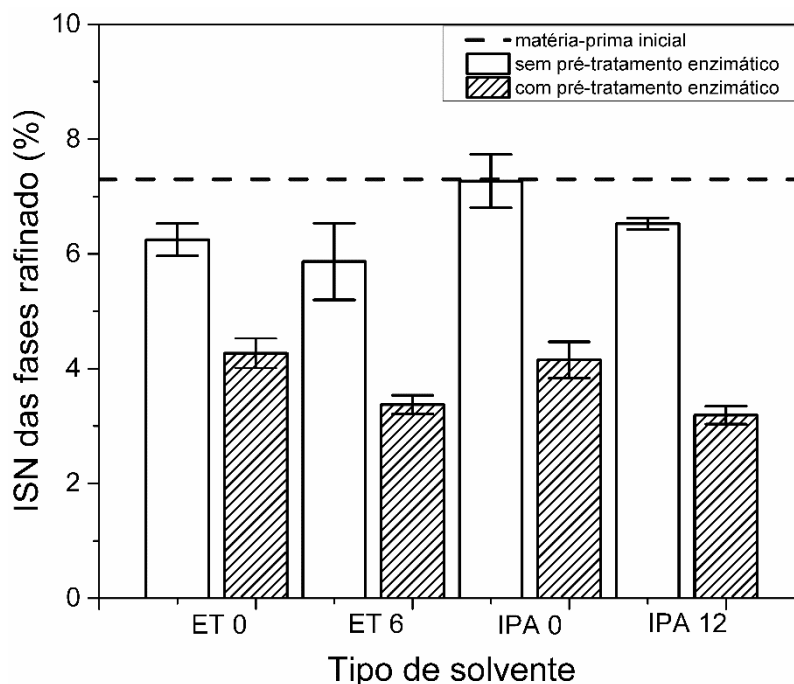
5.6 Estudo do índice de solubilidade de nitrogênio (ISN) das fases refinado obtidas das extrações sólido-líquido

Nesta dissertação avaliou-se também o impacto das condições de extração e tratamento enzimático sobre a solubilidade da fração proteica presente na fase refinado. Deste modo, determinou-se o ISN das fases refinado oriundas das extrações, a 70 °C, para todos os solventes avaliados neste trabalho, com e sem pré-tratamento enzimático.

Os parâmetros utilizados na determinação de ISN foram definidos de acordo com o item 5.1.3, no qual as condições mais favoráveis para determinação do ISN na borra de café foram: pH 11, água deionizada como solvente, razão mássica sólido:solvente de 5:50 e sem tratamento térmico prévio do material avaliado (sem redução adicional de umidade).

A Figura 5.18 apresenta os dados de ISN para as fases refinado provenientes das extrações sólido-líquido utilizando etanol e isopropanol, nos graus absoluto e azeotrópico, a 70 °C, sem e com pré-tratamento enzimático.

Figura 5.18 Índice de Solubilidade de Nitrogênio (%), no pH 11, para as fases refinado provenientes das extrações a 70 °C utilizando etanol e isopropanol, nos graus absoluto e azeotrópico como solventes, com e sem pré-tratamento enzimático.



Fonte: Própria autoria.

A Tabela 5.20 apresenta os valores médios de ISN das fases refinado e a análise estatística pelo Teste de Duncan ao nível de 95 % de confiança.

Tabela 5.20 Índice de solubilidade de nitrogênio (%) das fases refinado das extrações sólido-líquido a 70 °C, com e sem pré-tratamento enzimático.

	Etanol		Isopropanol	
	0 %	6 %	0 %	12 %
Sem tratamento enzimático	6,2 ± 0,3 aAB	5,9 ± 0,7 aB	7,3 ± 0,5 aA	6,5 ± 0,1 aAB
Com tratamento enzimático	4,3 ± 0,3 bA	3,4 ± 0,2 bB	4,1 ± 0,3 bA	3,2 ± 0,2 bB

*médias seguidas por letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si ao nível de 5 % de significância pelo Teste de Duncan. Médias seguidas por letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si ao nível de 5 % de significância pelo Teste de Duncan.

Fonte: Própria autoria.

Verifica-se, primeiramente, que as determinações de ISN para as fases refinado, independentemente das condições, resultaram em valores iguais ou inferiores ao ISN determinado para a matéria-prima borra de café ($7,3 \pm 0,6$ %, conforme apresentado na Tabela 5.3). Capellini (2013) observou o mesmo efeito para as fases refinado obtidas de extrações sólido-líquido de farelo de arroz utilizando etanol e isopropanol como solventes.

As fases refinado obtidas das extrações sem pré-tratamento enzimático apresentaram valores de ISN estatisticamente iguais. No caso das fases refinado resultantes de extrações com pré-tratamento enzimático, pode-se observar que os valores de ISN obtidos foram estatisticamente menores que os valores de ISN das fases refinado sem pré-tratamento enzimático.

Em relação a influência dos solventes nos valores de ISN das fases refinado obtidas com pré-tratamento enzimático, diferenças significativas entre os solventes em grau absoluto e os solventes em grau azeotrópico foram observadas, sendo menores os valores de ISN para as fases obtidas com os solventes hidratados. Este efeito foi, também, observado por Sessa et al. (1998), os quais reportaram que os sistemas de solventes com características hidrofílicas e hidrofóbicas podem enfraquecer as interações hidrofóbicas das proteínas, causando a diminuição do ISN para os solventes mais hidrofílicos.

Sawada et al. (2014) avaliaram o efeito de diferentes condições de extração de óleo de soja no índice de solubilidade da fração proteica obtida. Os autores concluíram que a solubilidade de nitrogênio da fase refinado é bastante afetada pela presença de água no solvente e, este mesmo efeito não ocorre pelo teor de óleo residual na fase refinado. Deste modo, pode-se inferir que a presença de água no solvente utilizado na extração influencia negativamente o índice de solubilidade de nitrogênio.

6 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos para as extrações sólido-líquido em um estágio de óleo de borra de café utilizando como solventes etanol e isopropanol, em grau absoluto e azeotrópico, nas temperaturas de operação de 60, 70, 80 e 90 °C, pode-se verificar que o aumento da temperatura e a não hidratação do solvente influenciaram positivamente no rendimento de extração de compostos lipídicos, sendo que o solvente que resultou em maior rendimento de extração de óleo foi o isopropanol absoluto. Para este solvente pode ser observado que a partir de 80 °C, a temperatura não influencia significativamente no rendimento de extração de óleo.

A presença de água nos solventes beneficiou a extração de compostos antioxidantes como os ácidos clorogênicos, possivelmente em razão do aumento da polaridade do solvente. Desta maneira, o solvente mais polar dentre os avaliados nesta dissertação, etanol azeotrópico resultou na obtenção de maiores valores de rendimento de extração de ácidos clorogênicos. Entretanto, este foi o solvente que resultou em menor rendimento de extração de óleo.

Em adição, observou-se que a temperatura do processo de extração está inversamente relacionada a polaridade dos solventes alcoólicos, ou seja, os processos realizados sob menores valores de temperatura favorecem a extração de ácidos clorogênicos, mas prejudicam a extração de óleo. Deste modo, os processos utilizando pré-tratamento enzimático foram avaliados com o objetivo de se obter um aumento de extração de compostos lipídicos em condições mais brandas de temperatura.

De modo geral, a utilização do pré-tratamento enzimático resultou em diferenças significativas nas características das fases extrato e refinado. Porém, o pré-tratamento enzimático para a maior parte dos solventes não foi favorável para o rendimento de extração de óleo sendo, desta forma, relevante um estudo mais aprofundado das variáveis deste tratamento para obtenção de resultados mais expressivos em relação à extração de compostos lipídicos.

A análise de solubilidade de nitrogênio das frações proteicas do material desengordurado provenientes das extrações, a 70 °C, com e sem pré-tratamento enzimático permite inferir que o pré-tratamento enzimático impactou significativamente na solubilidade de nitrogênio da fração proteica. Além disso, os

solventes hidratados resultaram em menores valores de índice de solubilidade de nitrogênio em comparação com os solventes absolutos.

Perante os dados experimentais obtidos, conclui-se que é tecnicamente viável o emprego de solventes alcoólicos no processo de extração de óleo de borra de café. No entanto, as condições de processo em termos de temperatura e tipo de solvente alcoólico devem ser avaliadas minuciosamente para que seja possível a obtenção de altos valores de rendimento de extração de óleo com quantidades apreciáveis de compostos minoritários de interesse, tais como os ácidos clorogênicos.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Para trabalhos futuros, sugere-se o refinamento e otimização do pré-tratamento enzimático para a extração de óleo da borra de café.

Além disso, sugere-se o monitoramento de compostos minoritários como os diterpenos caveol e cafestol e o perfil de ácidos clorogênicos nos óleos obtidos de diferentes condições experimentais.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDULLAH, M.; KOC, A. B. Oil removal from waste coffee grounds using two-phase solvent extraction enhanced with ultrasonication. **Renewable Energy**, v. 50, p. 965–970, 2013.

ABIC. **Associação Brasileira da Indústria do Café**. Disponível em: < <http://www.abic.com.br/publique/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=61#4178> >. Acesso em janeiro de 2016.

ACEVEDO, F. et al. Spent coffee grounds as a renewable source of bioactive compounds. **Journal of Biobased Materials and Bioenergy**, v. 7, n. 3, p. 420–428, 2013.

AHANGARI, B.; SARGOLZAEI, J. Extraction of Lipids From Spent Coffee Grounds Using Organic Solvents and Supercritical Carbon Dioxide. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 37, p. no–no, 2013.

AL-HAMAMRE, Z. et al. Oil extracted from spent coffee grounds as a renewable source for fatty acid methyl ester manufacturing. **Fuel**, v. 96, n. x, p. 70–76, 2012.

ANDRADE, K. S. **Avaliação das técnicas de extração e do potencial antioxidante dos extratos obtidos a partir da casca e da borra de café (*Coffea arabica* L.)**. 2011. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina – Florianópolis, 2011.

ANDRADE, K. S. et al. Supercritical fluid extraction from spent coffee grounds and coffee husks: Antioxidant activity and effect of operational variables on extract composition. **Talanta**, v. 88, p. 544–552, 2012.

A.O.A.C. **Official methods of analysis**. 18th ed. Washington, D.C.: A.O.A.C. 1051 p., 2007.

A.O.A.C. **Official methods of analysis of A.O.A.C. international**, 16th ed., v. 2, 1995.

A.O.C.S. **Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society**, Press, 3rd ed. Champaign, v. 1-2, 1998.

ASP, N. G. et al. Rapid enzymatic assay of insoluble and soluble dietary fiber. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 31, n. 3, p. 476–482, 1983.

BALLESTEROS, L. F.; TEIXEIRA, J. A.; MUSSATTO, S. I. Chemical, Functional, and Structural Properties of Spent Coffee Grounds and Coffee Silverskin. **Food and Bioprocess Technology**, v. 7, n. 12, p. 3493–3503, 2014.

BARBOSA, H. M. A et al. Optimization of the supercritical fluid coextraction of oil and diterpenes from spent coffee grounds using experimental design and response surface methodology. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 85, p. 165–172, 2014.

BISHT, T. S. et al. Improvement of efficiency of oil extraction from wild apricot kernels by using enzymes. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 3, p. 1543–1551, 2015.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v.37, p. 911-917, 1959.

BOSCH, E. et al. Solute-solvent and solvent-solvent interactions in binary solvent mixtures. 2. Effect of temperature on the ET(30) polarity parameter of dipolar hydrogen bond acceptor-hydrogen bond donor mixtures. **Journal of Physical Organic Chemistry**, v. 9, n. 6, p. 403–410, 1996.

BRAVO, J. et al. Influence of extraction process on antioxidant capacity of spent coffee. **Food Research International**, v. 50, n. 2, p. 610–616, 2013.

CAETANO, N. S. et al. Potential of spent coffee grounds for biodiesel production and other applications. **Clean techn Environ Policy**, v. 35, p. 1063–1068, 2014.

CAMPOS-VEGA, R. et al. Spent coffee grounds: A review on current research and future prospects. **Trends in Food Science & Technology**, v. 45, n. 1, p. 24–36, 2015.

CAPELLINI, M. C. **Extração de óleo de farelo de arroz utilizando solventes alcoólicos: Avaliação de alterações na fração proteica e na composição do óleo**. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, 2013.

CAPELLINI, M. C.; MARGOTO, C.; RODRIGUES, C. E. C. Dados de equilíbrio líquido-líquido para sistemas compostos por óleo de gergelim e solventes alcoólicos. **XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química-COBEQ**: Florianópolis, SC, 2014.

CAPUANO, F. et al. Properties and exploitation of oleosins. **Biotechnology Advances**, v. 25, n. 2, p. 203–206, 2007.

CHOI, I. S. et al. Conversion of coffee residue waste into bioethanol with using popping pretreatment. **Bioresource Technology**, v. 125, p. 132–137, 2012.

CLAUDE, B. **Étude bibliographique: utilisation des sous-produits du café**. Café Cacao Thé, Paris, 23 (2): 146-152, avril-juin, 1979.

COUTO, R. M. et al. Supercritical fluid extraction of lipids from spent coffee grounds. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 51, n. 2, p. 159–166, 2009.

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

CRUZ, M. V. et al. Production of polyhydroxyalkanoates from spent coffee grounds oil obtained by supercritical fluid extraction technology. **Bioresource Technology**, v. 157, p. 360–363, 2014.

DAWIDOWICZ, A. L.; TYPEK, R. Transformation of 5-O-caffeoylquinic acid in blueberries during high-temperature processing. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 62, n. 45, p. 10889–95, 2014.

DOMÍNGUEZ, H.; NÚÑEZ, M. J.; LEMA, J. M. Enzymatic pretreatment to enhance oil extraction from fruits and oilseeds: a review. **Food Chemistry**, v. 49, n. 3, p. 271–286, 1994.

DOMÍNGUEZ, H. et al. Enzymatic treatment of sunflower kernels before oil extraction. **Food Research International**, v. 28, n. 6, p. 537–545, 1996.

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

DUNCAN, D. Multiple range and multiple F tests. *Biometrics*, v. 11, p. 1-42, 1955.

FAN, L.; SOCCOL, C. **Shiitake bag cultivation**. Parte I Shiitake. Coffee Residues. Mushroom Grower's Handbook. Mushworld All 2, 92-94, 2005.

FAO. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. FAO Statistical Coffee Pocketbook 2015. Disponível em:<<http://www.fao.org/economic/ess/ess-publications/ess-yearbook/en/#.Vo7cYPkrLIU>>. Acesso em: jan. 2016.

FIRESTONE, D. **Physical and chemical characteristics of oils, fats, and waxes**. Champaign: AOCS Press, 2006.

FONSECA, H.; GUTIERREZ, L. E. Estudo do teor e composição do óleo de algumas variedades de café (*Coffea arábica* L.). **Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, v. XXVIII, p. 313-322, 1971.

FRANCO, D. et al. Ethanolic extraction of *Rosa rubiginosa* soluble substances: Oil solubility equilibria and kinetic studies. **Journal of Food Engineering**, v. 79, n. 1, p. 150–157, 2007.

FRANCO, D.; SINEIRO, J.; NÚÑEZ, M. J. Analysis of Variables and Modeling of *Gevuina avellana* Oil Extraction With Ethanol Near Azeotrope Conditions. **Journal of Food Process Engineering**, v. 32, n. 5, p. 664–681, 2009.

GANDHI, A. P. et al. Studies on alternative solvents for the extraction of oil- soybean. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 38, n. 3, p. 369–375, 2003.

GONZÁLEZ-PÉREZ, S. et al. Isolation and characterization of undenatured chlorogenic acid free sunflower (*Helianthus annuus*) proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 6, p. 1713–1719, 2002.

HANMOUNGJAI, P.; PYLE, D. L.; NIRANJAN, K. Enzyme-assisted water-extraction of oil and protein from rice bran. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 77, n. 7, p. 771–776, 2002.

HAMMOND, E.G., JOHNSON, L.A., SU, C., WANG, T., WHITE, P.J. Soybean Oil. In: **Bailey's Industrial Oil and Fat Products**. Vol 02 (Sixth ed., six volume set). Shahidi, F. (Ed.). John Wiley and Sons, New Jersey, 2005.

HU, W. et al. Comparison of isopropanol and hexane for extraction of vitamin E and oryzanols from stabilized rice bran. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 73, n. 12, p. 1653–1656, 1996.

ICO. **International Coffee Organization**. World Coffee Consumption. Disponível em: <http://www.ico.org/trade_statistics.asp?section=Statistics>. Acesso em: jan. 2016.

IUPAC. **Standard methods for the analysis of oils, fats and derivatives**. 6 th edition, part 1 (sections I and II). PAQUOT, C. editor, Pergamon Press, 1979.

JENKINS, R. W. et al. Effect of the type of bean, processing, and geographical location on the biodiesel produced from waste coffee grounds. **Energy and Fuels**, v. 28, n. 2, p. 1166–1174, 2014.

JIAO, J. et al. Microwave-assisted aqueous enzymatic extraction of oil from pumpkin seeds and evaluation of its physicochemical properties, fatty acid compositions and antioxidant activities. **Food Chemistry**, v. 147, p. 17–24, 2014.

JOHNSON, L. A.; LUSAS, E. W. Comparison of alternative solvents for oils extraction. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 60, n. 2, p. 229–242, 1983.

JOOSTE, T. et al. Enzymatic hydrolysis of spent coffee ground. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 169, n. 8, p. 2248–2262, 2013.

KELNER, D. N.; WANG, W.; WANG., D. Q. Protein formulation. In: HUTTI-KAUL, R.; MATTIASSON, B. (Ed.). **Isolation and Purification of Proteins**. CRC Press, 2003.

KEMPER, T. G. Oil Extraction. In: SHAHIDI, F. (Ed.) **Bailey's industrial oil and fat products**. New Jersey: John Wiley & Sons, 2005. 6th ed., v.5., Cap. 2, p. 57-98, 2005.

KONDAMUDI, N.; MOHAPATRA, S. K.; MISRA, M. Spent coffee grounds as a versatile source of green energy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 24, p. 11757–11760, 2008.

KWON, E. E.; YI, H.; JEON, Y. J. Sequential co-production of biodiesel and bioethanol with spent coffee grounds. **Bioresource Technology**, v. 136, p. 475–480, 2013.

LAGO, R. C. A.; ANTONIASSI, R. Composição de esteróis em óleos de café por cromatografia gasosa de alta resolução. **Simpósio de Pesquisas dos cafés do Brasil**, 2000.

LAGO, R. C.; ANTONIASSI, R.; FREITAS, S. C. Composição centesimal e de aminoácidos de café verde, torrado e de borra de café solúvel. **II Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil**, pg 1473-1478, 2001.

LI, F. et al. Optimization of enzymatic pretreatment for n-hexane extraction of oil from *Silybum marianum* seeds using response surface methodology. **Food and Bioproducts Processing**, v. 90, n. 2, p. 87–94, 2012.

LI, J. et al. Aqueous enzymatic process assisted by microwave extraction of oil from yellow horn (*Xathoceras sorbifolia* Bunge.) seed kernels and its quality evaluation. **Food Chemistry**, v. 138, p. 2152-2158, 2013.

LI, Y.; FINE, F.; FABIANO-TIXIER, A.; ABERT-VIAN, M.; CARRE, P.; PAGES, X.; CHEMAT, F. Evaluation of alternative solvents for improvement of oil extraction from rapeseeds. **Comptes Rendus Chimie**, v. 17, p. 242-251, 2014.

LONG, J. J. et al. Ultrasound-assisted extraction of flaxseed oil using immobilized enzymes. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 21, p. 9991–9996, 2011.

MAGNE, F.; SKAU, E. Phase equilibrium data pertaining to the extraction of cottonseed oil with ethanol and 2-propanol. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 30, n. 7, p. 288–291, 1953.

MARCILLA, A.; RUIZ, F.; GARCÍA, A. N. Liquid-Liquid-Solid Equilibria of the Quaternary System Water-Ethanol-Acetone-Sodium Chloride at 25 °C. **Fluid Phase Equilibria**, v.112, p. 273-289, 1995.

MARINOVA, E. M.; TONEVA, A.; YANISHLIEVA, N. Comparison of the antioxidative properties of caffeic and chlorogenic acids. **Food Chemistry**, v. 114, n. 4, p. 1498–1502, 2009.

MATOS, L. J. B. L.; COSTA, E.; LIMA, L. P.; FERNANDES, F. A. N. Estudo comparativo da extração do óleo da borra de café. **V Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica**, 2010.

MELO, M. M. R. et al. Supercritical fluid extraction of spent coffee grounds: Measurement of extraction curves, oil characterization and economic analysis. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 86, p. 150–159, 2014.

MORR, C. V.; GERMAN, B.; KINSELLA, J. E.; REGENSTEINS, J. M.; VAN BUREN, J. M.; KILARA, A.; LEWIS, B. A.; MANGINO, M. E. A collaborative study to develop a standardized food protein solubility procedure. **Journal of Food Science**, v. 50, p. 1715-1718, 1985.

MOURE, A. et al. Natural antioxidants from residual sources. **Food Chemistry**, v. 72, n. 2, p. 145–171, 2001.

MURTHY, P. S.; NAIDU, M. M. Recovery of Phenolic Antioxidants and Functional Compounds from Coffee Industry By-Products. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, n. 3, p. 897–903, 2012.

MUSSATTO, S. I.; MACHADO, E. M. S.; MARTINS, S.; TEIXEIRA, J. A. Production, composition, and application of coffee and its industrial residues. **Food Bioprocess Technol**, v. 4, p. 661-672, 2011a.

MUSSATTO, S. I. et al. A study on chemical constituents and sugars extraction from spent coffee grounds. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, n. 2, p. 368–374, 2011b.

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

NAVARRO, S. L. B.; RODRIGUES, C. E. C. Estudo do processo de extração de óleo de germen de milho utilizando etanol como solvente. **XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química-COBEQ**: Florianópolis, SC, 2014.

OBRUCA, S. et al. Utilization of oil extracted from spent coffee grounds for sustainable production of polyhydroxyalkanoates. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 98, n. 13, p. 5883–5890, 2014.

OLIVEIRA, C. M.; GARAVAZO, B. R.; RODRIGUES, C. E. C. Liquid-liquid equilibria for systems composed of rice bran oil and alcohol-rich solvents: application to extraction and deacidification of oil. **Journal of Food Engineering**, v. 110, p. 418-427, 2012a.

OLIVEIRA, R.; OLIVEIRA, V.; ARACAVA, K. K.; RODRIGUES, C. E. C. Effects of the extraction conditions on the yield and composition of rice bran oil extracted with ethanol. A response surface approach. **Food and Bioproducts Processing**, v. 90, p. 22-31, 2012b.

OLIVEIRA, R. C.; BARROS, S. T. D.; GIMENES, M. L. The extraction of passion fruit oil with green solvents. **Journal of Food Engineering**, v. 117, p. 458-463, 2013.

OSHA, **Occupational Safety and Health Administration**. Chemical Sampling Information Hexane (n-Hexane). United States, Department of Labour, Washington DC, USA. Disponível em: <https://www.osha.gov/dts/chemicalsampling/data/CH_245400.html>. Acesso em: jan. 2016.

PANUSA, A. et al. Recovery of Natural Antioxidants from Spent Coffee Grounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, p. 4162-4168, 2013.

PASSOS, C. P. et al. Enhancement of grape seed oil extraction using a cell wall degrading enzyme cocktail. **Food Chemistry**, v. 115, n. 1, p. 48–53, 2009.

PURKRTOVA, Z. et al. Structure and function of seed lipid body-associated proteins. **Comptes Rendus Biologies**, v. 331, n. 10, p. 746–754, 2008.

RAMALAKSHMI, K.; RAGHAVAN, B. Chapter 24. Coffee: A perspective on processing and products. In: RAMASWAMY H. S. et al. (Ed.). **Handbook of Postharvest Technology**. CRC Press, 2003.

RANIC, M. et al. Optimization of microwave-assisted extraction of natural antioxidants from spent espresso coffee grounds by response surface methodology. **Journal of Cleaner Production**, v. 80, p. 69–79, 2014.

REGITANO-D'ARCE, M. A. B. **Ensaio de Extração de Óleo de Girassol (*Helianthus annuus L.*) com Álcool Etílico**. 1985. 133 p. Dissertação de Mestrado – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, 1985.

RINCON, M. A. D. **Fracionamento do óleo do café verde por destilação molecular**. 2011. Tese (Doutorado). – Universidade Estadual de Campinas – Campinas, 2011.

ROCHA, M. V. P. et al. Ultrasound-assisted production of biodiesel and ethanol from spent coffee grounds. **Bioresource Technology**, v. 167, p. 343–348, 2014.

RODRIGUES, C. E. C.; OLIVEIRA, R. Response surface methodology applied to the analysis of rice bran oil extraction process with ethanol. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 45, n. 4, p. 813–820, 2010.

RODRIGUES, C. E. C.; ARACAVALA, K. K.; ABREU, F. N. Thermodynamic and statistical analysis of soybean oil extraction process using renewable solvent. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 45, p. 2407-2414, 2010.

RODRIGUES, C. E. C. **Utilização de solvente biorenovável nos processos de extração e desacidificação de óleos vegetais**. Tese (Livre-Docência) – Universidade de São Paulo, 2011.

ROSENTHAL, A.; PYLE, D. L.; NIRANJAN, K. Aqueous and enzymatic processes for edible oil extraction. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 19, n. 6, p. 402–420, 1996.

RUSSIN, T. A. et al. Alternative Techniques for Defatting Soy: A Practical Review. **Food and Bioprocess Technology**, v. 4, n. 2, p. 200–223, 2011.

SANTOS, D. M. **Desenvolvimento de método para a obtenção de energia a partir da produção de biodiesel via extração de óleo de borra de pó de café em escala laboratorial**, 2010. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, 2010.

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.

SAWADA, M. M. **Estudo da viabilidade técnica da substituição do hexano por etanol no processo de extração de óleo de soja: cinética da extração e índices de qualidade**. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, 2012.

SAWADA, M. M.; VENÂNCIO, L. L.; TODA, T. A.; RODRIGUES, C. E. C. Effects of different alcoholic extraction conditions on soybean oil yield, fatty acid composition and protein solubility of defatted meal. **Food Research Internacional**, v. 62, p. 662-670, 2014.

SCHARLACK, N. K. **Estudo do efeito do tipo e grau de hidratação de solventes alcoólicos na extração simultânea de óleo e de ácidos clorogênicos de torta de sementes de girassol.** Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, 2015.

SESSA, D. J.; NELSEN, T. C.; SNYDER, J. M. Effect of Salts on Soy Storage Proteins Defatted with Supercritical CO₂ and Alcohols. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 75, n. 8, p. 911–916, 1998.

SHEN, J. L. Solubility profile, intrinsic viscosity, and optical rotation studies of acid precipitated soy protein and of commercial soy isolate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 24, n^o 4, 1976.

SINEIRO, J. et al. Ethanolic extraction of sunflower oil in a pulsing extractor. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 75, n. 6, p. 753–754, 1998.

SINICHI, S.; DIOSADY, L. L. Isopropyl Alcohol Extraction of De-hulled Yellow Mustard Flour. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 91, n. 12, p. 2143–2153, 2014.

SOTO, C.; CHAMY, R.; ZÚÑIGA, M. E. Enzymatic hydrolysis and pressing conditions effect on borage oil extraction by cold pressing. **Food Chemistry**, v. 102, n. 3, p. 834–840, 2007.

TIR, R.; DUTTA, P. C.; BADJAH-HADJ-AHMED, A. Y. Effect of the extraction solvent polarity on the sesame seeds oil composition. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 114, n. 12, p. 1427–1438, 2012.

TODA, T. A.; SAWADA, M. M.; RODRIGUES, C. E. C. Kinetics of soybean oil extraction using ethanol as solvent: Experimental data and modeling. **Food and Bioproducts Processing**, v. 98, p. 1–10, 2016.

TOKIMOTO, T.; KAWASAKI, N.; NAKAMURA, T.; AKUTAGAWA, J.; TANADA, S. Removal of lead ions in drinking water by coffee grounds as vegetable biomass. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 281, p. 56-61, 2005.

TZEN, J. T. C. et al. Lipids, proteins, and structure of seed oil bodies from diverse species. **Plant Physiology**, v. 101, p. 267–276, 1993.

VEGRO, C. L. R.; CARVALHO, F. C. **Disponibilidade e utilização de resíduos gerados no processamento agroindustrial do café**. Instituto de Economia Agrícola, 1994. Disponível em: <<http://www.iea.sp.gov.br/out/LerTexto.php?codTexto=1132>>. Acesso em: jan. 2016.

VERZELLONI, E. et al. Antiglycative and antioxidative properties of coffee fractions. **Food Chemistry**, v. 124, n. 4, p. 1430–1435, 2011.

WAKELYN, P. J.; WAN, P. J. Solvent extraction to obtain edible oil products. In: AKOH, C. C. **Handbook of Functional Lipids**. CRC Press, 2005.

WANASUNDARA, P. K. J. P. D.; SHAHIDI, F. Functional Properties of Acylated Flax Protein Isolates. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, n. 7, p. 2431–2441, 1997.

WLSNIAK, J.; HLLLEL, J.; KATZ, O. Holdup and Extraction Characteristics of Jojoba Meal. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 64, n. 9, 1987.

WOHLFARTH, C. Section 6: Fluid Properties. Permittivity (Dielectric constant) of liquids. In: HAYNES, W. M. (Ed.). **Handbook of Chemistry and physics**, CRC Press, 2015.

XIANG, Z.; NING, Z. Scavenging and antioxidant properties of compound derived from chlorogenic acid in South-China honeysuckle. **Food Science and Technology**, v. 41, n. 7, p. 1189–1203, 2008.

YOU, J. Y. et al. Enzymatic hydrolysis and extraction of arachidonic acid rich lipids from *Mortierella alpina*. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 10, p. 6088–6094, 2011.

YUSOFF, M. M.; GORDON, M. H.; NIRANJAN, K. Aqueous enzyme assisted oil extraction from oilseeds and emulsion de-emulsifying methods: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 41, n. 1, p. 60–82, 2015.

ZENEBON, O.; PASCUET, N. S.; TIGLEA, P.- **Instituto Adolfo Lutz (São Paulo). Métodos físico-químicos para análises de alimentos** São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008, p. 148-154, 1º Edição Digital.

ZHANG, F.; RHEE, K.C.; KOSEOGLU, S.S. Isopropyl Alcohol Extraction of Cotton seed Collets: Efficiency and Performance. **Journal of Food Lipids**, v.9, p.147-160, 2002.

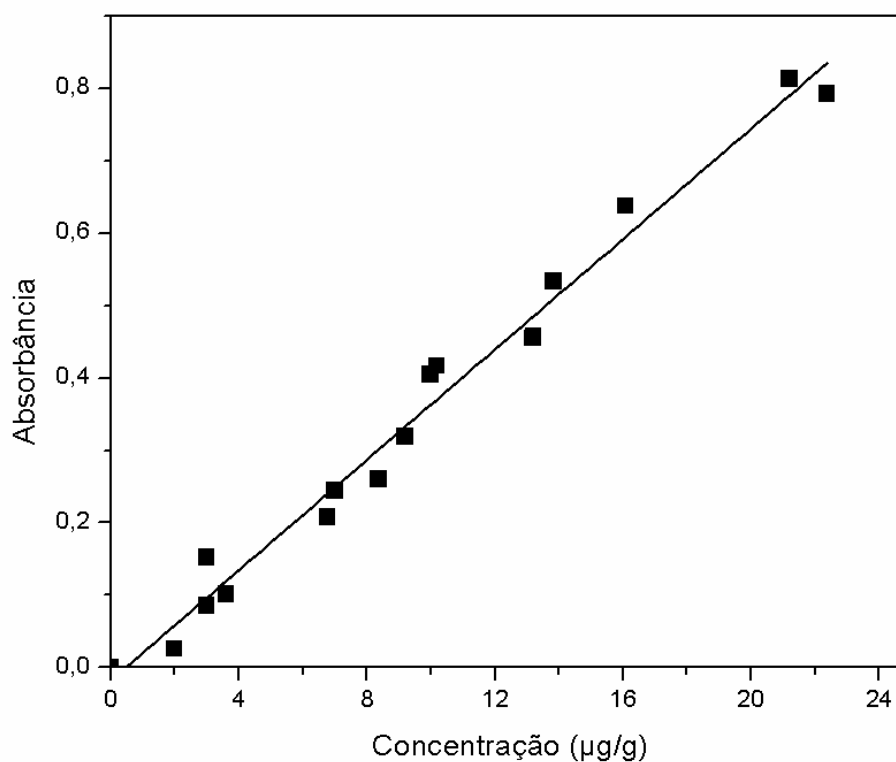
ZUORRO, A.; LAVECCHIA, R. Spent coffee grounds as a valuable source of phenolic compounds and bioenergy. **Journal of Cleaner Production**, v. 34, p. 49–56, 2012.

9 Apêndice

A Figura 9.1 apresenta a curva de calibração de ácidos clorogênicos totais no espectrofotômetro na região ultravioleta, a 324 nm. A equação 9.1 representa a curva de calibração obtida com coeficiente de correlação (R^2) igual a 0,9801.

$$\text{Absorbância} = 3,68 \times 10^{-2} \times \text{Concentração } (\mu\text{g/g}) \quad (9.1)$$

Figura 9.1 Curva de calibração de ácidos clorogênicos totais.

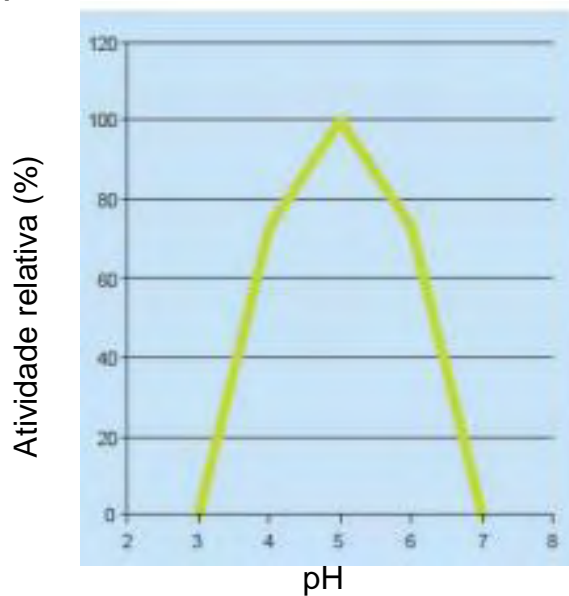


Fonte: Própria autoria.

10 Anexo

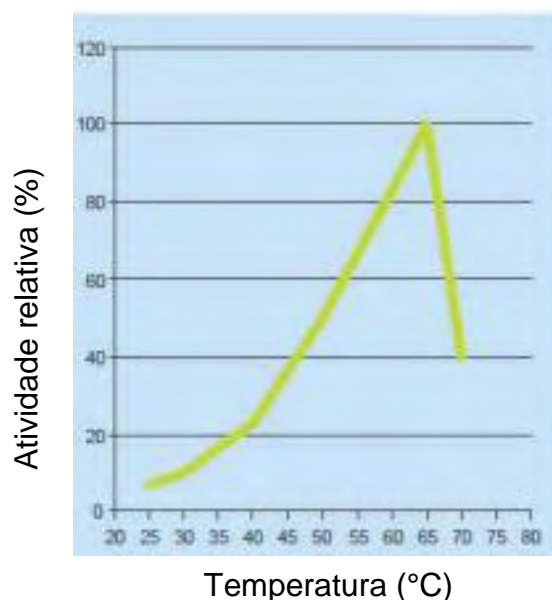
Os gráficos foram gerados em condições de laboratório em soluções tamponadas e podem não refletir o desempenho na aplicação (NOVOZYMES, 2015).

Figura 10.1 Efeito do pH sobre a atividade da Celluclast® 1.5 L.



Fonte: Novozymes Latin America Ltda (informação pessoal)¹.

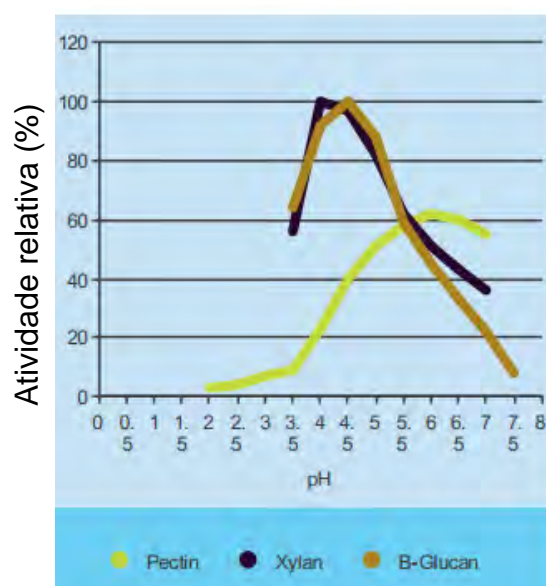
Figura 10.2 Efeito da temperatura sobre a atividade da Celluclast® 1.5 L.



Fonte: Novozymes Latin America Ltda (informação pessoal)¹.

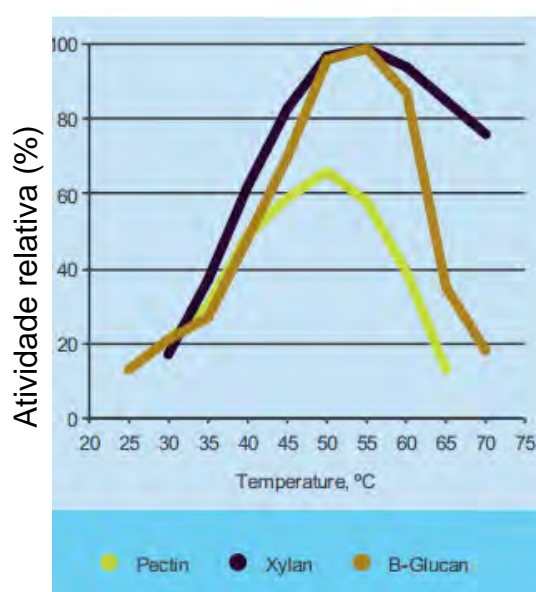
¹Novozymes Latin America Ltda. Informação recebida via email em 2015.

Figura 10.3 Efeito do pH sobre a atividade da Viscozyme® L com diferentes substratos.



Fonte: Novozymes Latin America Ltda (informação pessoal)¹.

Figura 10.4 Efeito da temperatura sobre a atividade da Viscozyme® L com diferentes substratos.



Fonte: Novozymes Latin America Ltda (informação pessoal)¹.

¹Novozymes Latin America Ltda. Informação recebida via email em 2015.