



## OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO DE TRIGONELINA A PARTIR DE CASCAS DE CAFÉ PROVENIENTES DO PROCESSAMENTO A SECO

Lais Brito Cangussu (\*), Leandro Soares de Oliveira, Washington Moreira Cavalcanti, Pâmella Fronza Câmara, Rômulo Maziero

\* UFMG, Universidade Federal de Minas Gerais – lai.sbc1@hotmail.com

### RESUMO

O café é uma das bebidas mais populares do mundo e é a segunda maior *commodity* comercializada, depois do petróleo, sendo muito importante para a economia de países em desenvolvimento e para pequenos produtores que, muitas vezes, o tem como única fonte de renda. Além disso, mais de 50% do fruto de café é descartado na produção a seco, levando a uma quantidade elevada de resíduos, tais como cascas de café, que podem trazer prejuízos ao meio ambiente. Assim, alternativas para o melhor aproveitamento desses resíduos se torna essencial. A extração de trigonelina, composto bioativo presente no café, pode ser uma possível alternativa de aproveitamento desses subprodutos. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi otimizar um método para extração de trigonelina em cascas de café provenientes do processamento a seco. Foi realizado um delineamento experimental com dois níveis e dois fatores (número de extrações e tempo de extração) e três pontos centrais. Os resultados foram analisados utilizando o teste de Tukey (nível significância 5%) e o diagrama de Pareto dos efeitos padronizados. Os resultados mostraram que o melhor tratamento é o que envolve duas extrações com cinco minutos cada, uma vez que o tempo mostrou não ter interferência e os tratamentos com duas e três extrações apresentaram valores semelhantes estatisticamente. Em escala industrial, a aplicação desse método é interessante, uma vez que não demanda muito tempo, não utiliza reagentes tóxicos e apresenta baixo custo. Além disso, esse método também extrai compostos, como a cafeína, que são associados aos efeitos tóxicos das cascas de café. Assim, esses resíduos podem ser mais bem aproveitados para diversos fins. As cascas de café apresentam quantidades significativas de trigonelina em relação ao conteúdo total dos grãos. Assim, as mesmas têm grande potencial para serem utilizadas como fonte desse composto, sendo, portanto, uma forma de agregar valor a estes resíduos que não possuem valor econômico atualmente.

**PALAVRAS-CHAVE:** Café arábica, composto bioativo, cromatografia líquida, agroindústria, uso de resíduo agrícola.

### ABSTRACT

Coffee is one of the most popular drinks in the world and is the second-largest commodity traded, after oil. It is very important for the economy of developing countries and for small producers who often have it as their only source of income. Besides, more than 50% of the coffee fruit is discarded in dry processing, leading to a high amount of waste such as coffee husks, which can harm the environment. Thus, alternatives for the best use of these residues become essential. The extraction of trigonelline, a bioactive compound present in coffee, can be a possible alternative to use these by-products. Thus, this research aimed was to optimize a method for trigonelline extraction from coffee husks obtained by dry processing. An experimental design was carried out with two levels and two factors (number of extractions and time of extraction) and three central points. The results were analyzed by the Tukey test (significance level 5%) and the Pareto diagram of the standardized effects. The results showed that the best treatment is the one that involves two extractions with five minutes each. The time showed no interference and the treatments with two and three extractions showed statistically similar values. On an industrial scale, the application of this method is interesting, since it does not require much time, does not use toxic reagents and has a low cost. Besides, this method also extracts compounds such as caffeine, which is associated with the toxic effects of coffee husks. Thus, these residues can be better used for different purposes. The coffee husks have significant amounts of trigonelline in relation to the total content of the beans. Thus, they have great potential to be used as a source of this compound and is a way to add value to these residues that currently have no economic value.

**KEYWORDS:** Arabica coffee, bioactive compound, liquid chromatography, agribusiness, use of agricultural waste.

### INTRODUÇÃO

O café é o segundo produto comercial mais importante do mundo, depois do petróleo, e é consumido por cerca de um terço da população mundial, sendo uma das bebidas mais consumidas no mundo. Pequenos produtores de várias partes do globo dependem do café para o seu sustento e mais de 90% da sua produção ocorre nos países em desenvolvimento, enquanto que o consumo é principalmente nas economias industrializadas (ICO, 2017; PONTE, 2002). O café é cultivado em cerca de 80 países, sendo que os principais produtores no mundo são Brasil, seguido por Vietnã, Colômbia, Indonésia, Etiópia e Índia. De acordo com a *International Coffee Organization* (ICO, 2017), a produção global de café em 2016 foi



de 151.624.000 sacas de 60 kg, sendo o Brasil, Vietnã e Colômbia responsáveis por mais da metade da produção mundial. Em 2018, a produção de café no Brasil foi de 3.750.000 toneladas, seguido do Vietnã com 1.530.000 toneladas (ICO, 2017). Além do Brasil ser o maior produtor, o mesmo é o segundo maior consumidor. De acordo com a Associação Brasileira de Indústria de Café (ABIC, 2018), o consumo per capita de café cru e torrado no Brasil em 2018 foi de 6,02 e 4,82 kg por habitante, respectivamente.

As espécies arábica e robusta são as mais importantes mundialmente, representando cerca de 75 e 24% da produção global, respectivamente. A arábica é considerada superior devido suas propriedades sensoriais, sendo responsável pelos maiores preços no mercado internacional (ESQUIVEL; JIMÉNEZ, 2012). O processamento a seco é a técnica mais simples e comum de beneficiamento de frutos de café, e que representa quase 90% da forma como os grãos colhidos são beneficiados. O principal subproduto do processamento a seco é composto de casca, polpa e pergaminho, todos juntos em uma única fração, denominado cascas de café, sendo que, para cada quilograma de grãos de café produzido, é gerado, aproximadamente, um quilograma de cascas no processamento a seco (FRANCA; OLIVEIRA, 2009), das quais apenas um ligeiro percentual é reutilizado. Além disso, os resíduos da indústria de café representam um sério problema ambiental para os países produtores, devido ao descarte indevido, causando poluição da água e da terra (ESQUIVEL; JIMÉNEZ, 2012).

A utilização dos resíduos agrícolas é atraente, pois são abundantes e apresentam valor econômico baixo, além de seu uso evitar a concorrência direta e indireta com a alimentação humana e animal (BONILLA-HERMOSA; DUARTE; SCHWAN, 2014). Além disso, aplicações no campo de gestão de resíduos industriais promovem o desenvolvimento sustentável da economia do País. Assim, é de grande importância que a produção de café seja realizada com destinação adequada dos resíduos resultantes a fim de contribuir para sistemas de produção e consumo mais sustentáveis. Uma alternativa para aproveitamento desses resíduos é o isolamento dos seus compostos bioativos de interesse para indústrias farmacêuticas, biomédicas, de cosméticos e de alimentos. A casca e a polpa do café apresentam em sua composição constituintes importantes para essa aplicação, como a trigonelina (CAMPOS-VEGA et al., 2015).

A trigonelina, N-metil betaína, é um composto com elevada capacidade biológica e é um dos principais componentes do café cru, estando presente em torno de 1% na espécie arábica e 0,7% na robusta (CAMPOS-VEGA et al., 2015). A mesma é obtida na forma de cristais incolores, mono-higroscópicos com ponto de fusão (p.f.) a 130 °C, quando cristalizada a partir do etanol aquoso. Também pode ser obtida como a forma anidra quando se decompõe em fusão com temperatura de aproximadamente 218 °C. É muito solúvel em água, mas moderadamente solúvel em solventes orgânicos, tais como clorofórmio ou diclorometano (MACRAE, 1987). A trigonelina é amplamente distribuída no reino vegetal, sendo que autores já relataram maior concentração da mesma em sementes de trevo (*Trifolium incarnatum*, 10,1 mg/g), café (*Coffea arabica*, 9,1 mg/g) e alfafa (*Medicago sativa*, 2,1 mg/g) (MATSUI et al., 2007; ASHIHARA, 2015). Dentre suas atividades biológicas, pode-se destacar ação anticancerígena e contra cárie dentária (ASHIHARA, 2015). Além disso, estudos têm mostrado que o extrato de café tem atividade antibacteriana contra vários microrganismos, tais como *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus mutans* e várias cepas de enterobactérias, provavelmente devido a atividade antibacteriana de vários componentes característicos do café, como a trigonelina (ESQUIVEL; JIMÉNEZ, 2012). Métodos de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e métodos com base na ressonância magnética nuclear são muito utilizados para determinação desse composto em diversos alimentos (MACRAE, 1987). No entanto, a cromatografia líquida é mais rápida para determinar a presença de trigonelina em bebidas, obtendo resultados em 5 minutos (MEYER, 2010).

## OBJETIVOS

Levando em consideração que a agroindústria do café gera uma quantidade expressiva de resíduos de cascas de café em seu processo produtivo, o objetivo deste trabalho foi aperfeiçoar um método para extração de trigonelina em cascas de café obtidas pelo processamento a seco, uma vez que a trigonelina apresenta diversas atividades biológicas, podendo ser utilizada por indústrias farmacêuticas, alimentícias e biomédicas, sendo uma forma de agregar valor a esses resíduos que atualmente são subutilizados.

## METODOLOGIA

Para a realização dos experimentos, foram utilizadas cascas de café da espécie arábica provenientes do processamento a seco dos frutos (Figura 1). Foram utilizadas cascas de café secas, compostas por 80% de pele exterior e polpa e 20% de pergaminho, fornecidas pelo Sindicato da Indústria de Café do Estado de Minas Gerais (SINDICAFÉ-MG). As cascas foram armazenadas em recipientes plásticos e mantidas a 26 °C, para determinações posteriores.



**Figura 1: Amostra de cascas de café secas. Fonte: Autores do trabalho.**

O preparo da amostra e demais etapas foram realizadas no Laboratório do Grupo de Aproveitamento de Resíduos Agroindustriais/DEMEC no Departamento de Engenharia Mecânica da Universidade Federal de Minas Gerais. Para o preparo da amostra, foram retiradas, manualmente, sujidades grosseiras presentes nas cascas como galhos e pedras. Em seguida, as cascas de café foram lavadas em água corrente para garantir melhor eliminação de possíveis sujidades provenientes da colheita de café. O excesso de água foi retirado por meio de peneira. Posteriormente, a amostra foi seca em estufa convectiva New Lab por um período de 6 horas à temperatura de  $60 \pm 2$  °C. Em seguida, as cascas de café foram transformadas em pó com auxílio do moedor de café doméstico Cadence Modelo MDR 301. Os pós foram classificados em uma peneira de 35 *mesh* (série Tyler), acondicionados em sacos plásticos com lacre e armazenados sob congelamento em freezer doméstico a -18 °C até o momento da realização das análises.

Para otimização da extração de trigonelina foi realizado um delineamento experimental com dois níveis e dois fatores (número de extrações e tempo de extração) e três pontos centrais (duas extrações e 10 minutos) (ALCHEIKHHAMDON; DARWISH; HILAL, 2015). A metodologia utilizada para extração de trigonelina, como base para montagem do delineamento experimental, foi realizada conforme Perrone, Donangelo e Farah (2008) em grãos de café verde e torrado. Na Tabela 1 são mostrados os tratamentos realizados para montagem do delineamento.

**Tabela 1. Tratamentos realizados para montagem do delineamento experimental para otimização da extração de trigonelina em casca de café.**

Tratamento	Número de extrações	Tempo de extração (minutos)
1*	2	10
2*	2	10
3	3	5
4*	2	10
5	1	5
6	1	15
7	3	15

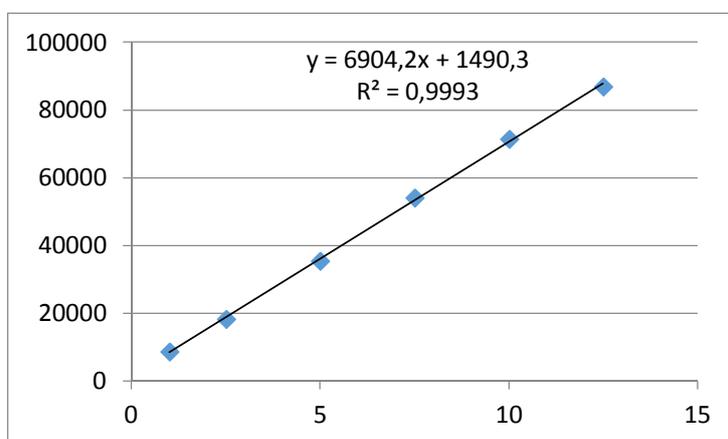
\*Ponto Central

Para cada extração, foi pesado 0,1 grama de amostra em tubo Falcon de 50 mL, em seguida, foram adicionados 10 mL de água Milli-Q-purificada em ebulição. Os tubos foram acondicionados em banho tipo Dubnoff (100 °C) com agitação por 5, 10 ou 15 minutos. Em seguida, os tubos foram centrifugados por 10 minutos e os sobrenadantes foram recolhidos em balões volumétricos de 50 mL. Nos tratamentos com mais de uma extração, foram adicionados 10 mL de água Milli-Q-purificada ao resíduo resultante e o processo de extração foi repetido. Os sobrenadantes foram adicionados aos obtidos na extração anterior. No fim das extrações, os balões tiveram o volume completado com água Milli-Q-purificada até o menisco. Os extratos obtidos foram filtrados com filtros de 0,2 µm e injetados no cromatógrafo de fase líquida marca Shimadzu modelo Prominence. As condições cromatográficas estão apresentadas na Tabela 2.

**Tabela 2. Condições cromatográficas.**

Coluna	Fase reversa C-18 marca Shimadzu (4,6 µm x 150 mm), tamanho de partículas 5 µm e pré coluna com as mesmas condições
Volume de injeção	5 µL
Temperatura do forno	27 °C
Fase móvel	Água:Metanol (95:5)
Sistema de corrida	Isocrático
Fluxo	1,0 mL/min
Duração da corrida	10 minutos
Sistema de detecção	DAD (264 nm)

A identificação da trigonelina na amostra foi realizada utilizando o tempo de retenção e o espectro do padrão individual e a quantificação foi realizada pela curva de calibração do padrão de trigonelina (Figura 2). O padrão foi preparado pesando 25 mg de trigonelina em balão volumétrico de 50 mL. O balão foi completado com água Milli-Q-purificada até o menisco. Da solução preparada, foram realizadas diluições para a construção da curva de calibração, nas seguintes concentrações: 0,001; 0,0025; 0,005; 0,0075; 0,01 e 0,0125 mg/mL.

**Figura 2: Curva de calibração da trigonelina. Fonte: Autores do trabalho.**

As análises foram conduzidas em triplicata, calculando-se média e desvio padrão para cada resultado obtido. Foi feita a análise de variância (ANOVA) e os resultados foram analisados utilizando o teste de Tukey (nível de significância 5%) e o diagrama de Pareto dos efeitos padronizados obtidos pelo *software* Minitab 17.

## RESULTADOS

Na Figura 3 estão representados os cromatogramas e os espectros do padrão de trigonelina e da amostra de casca de café. O tempo de retenção da trigonelina no método utilizado foi  $2,053 \pm 3,23$  minutos.

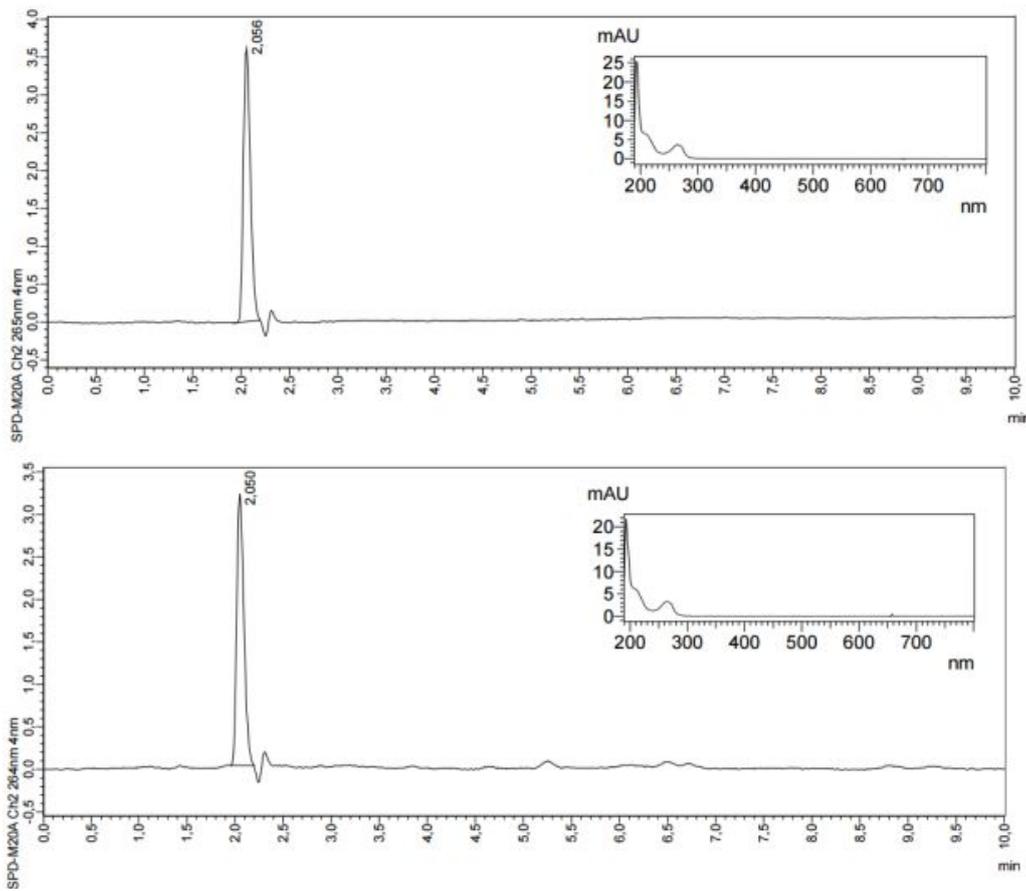


Figura 3: Cromatograma e espectro do padrão de trigonelina e da amostra de casca de café, respectivamente.  
Fonte: Autores do trabalho.

Os resultados obtidos para cada tratamento estão apresentados na Tabela 3. Pelo teste de Tukey, os tratamentos com uma extração apresentaram valores menores que os tratamentos com duas e três, sendo que estes não apresentaram diferença significativa entre si. Nenhum dos tratamentos apresentou diferença significativa de acordo com o tempo de extração pelo teste de Tukey.

Tabela 3. Quantidade de trigonelina em casca de café para diversos tratamentos de extração.

Treatment	Trigonelline mg/100g
1	538,22 ± 6,50 <sup>a</sup>
2	513,30 ± 6,40 <sup>a</sup>
3	519,98 ± 5,90 <sup>a</sup>
4	547,72 ± 6,20 <sup>a</sup>
5	433,81 ± 4,90 <sup>b</sup>
6	457,92 ± 5,20 <sup>b</sup>
7	539,33 ± 6,30 <sup>a</sup>

O diagrama de Pareto dos efeitos padronizados (Figura 4) mostra que o número de extrações tem influência significativa na obtenção de trigonelina em cascas de café. Já o tempo de extração e os dois fatores juntos não apresentaram influência significativa. O diagrama de Pareto avalia a relação ação-benefício, desta maneira, prioriza-se a ação que resultará em um melhor resultado. Assim, pelos resultados obtidos pelo diagrama de Pareto e pelo teste de Tukey, pode-se inferir que o melhor tratamento é o que envolve duas extrações com cinco minutos cada, uma vez que o tempo não teve interferência e os tratamentos com duas e três extrações apresentaram valores semelhantes estatisticamente.

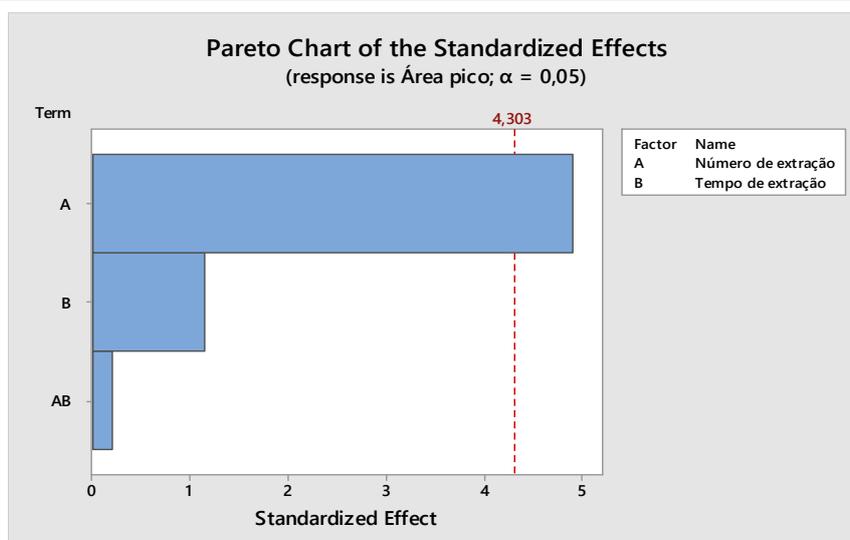


Figura 4: Diagrama de Pareto dos efeitos padronizados de tratamentos para extração de trigonelina com 2 fatores. Fonte: Autores do trabalho.

No método otimizado, foi possível obter o máximo de trigonelina com 30 minutos, sendo 20 minutos de centrifugação e 10 minutos de extração. Em escala industrial, a aplicação desse método é interessante, uma vez que não demanda muito tempo, não utiliza reagentes tóxicos e apresenta baixo custo. O efeito tóxico das cascas de café é associado à presença de compostos como a cafeína, que é extraída juntamente com trigonelina (MURTHY; D'SA; KAPUR, 2004). Desta forma, espera-se que com a extração desses compostos, as cascas de café podem ser destinadas à alimentação animal e ao adubo do solo sem causar efeitos negativos.

Matsui et al. (2007) encontraram maior concentração de trigonelina em amostras de trevo (*Trifolium incarnatum*, 1.010 mg/100 g), café (*Coffea arabica*, 910 mg/100 g) e alfafa (*Medicago sativa*, 210 mg/100 g). Estes resultados mostram o potencial do café como fonte de trigonelina. As cascas de café analisadas neste estudo apresentaram valores superiores que o valor encontrado por Matsui et al. (2007) em alfafa e em algumas amostras de café instantâneo (302 – 976 mg/100 g) encontradas por Arai et al. (2015), mostrando também o potencial das cascas de café como fonte desse composto bioativo. Com os resultados obtidos neste estudo e com os obtidos por Perrone, Donangelo e Farah (2008) (1029,9 mg de trigonelina em 100 g de café) e por Matsui et al. (2007), pode-se dizer que quantidades significativas de trigonelina ficam nos resíduos obtidos no processamento a seco dos grãos de café (cascas de café). Assim, esses resíduos têm grande potencial para serem utilizados como fonte de trigonelina, sendo, portanto, uma forma de agregar valor a estes materiais que não possuem valor econômico atualmente.

## CONCLUSÕES

O método obtido neste estudo para extração de trigonelina em cascas de café é atraente, uma vez que é rápido, simples e de baixo custo. Além disso, a extração desse composto apresenta-se como uma alternativa para aproveitamento desses resíduos, reduzindo os efeitos negativos que trazem ao ambiente e agregando valor, tendo em vista que no cenário atual, as cascas de café não apresentam valor comercial considerável. A trigonelina pode ser amplamente aplicada em indústrias farmacêuticas, cosméticas e biomédicas devido seus efeitos antibacterianos, anticancerígeno e contra cárie dentária. Estudos futuros sobre a toxicidade do resíduo da extração de trigonelina em cascas de café devem ser realizados, visando sua aplicação como adubo do solo e em alimentação animal.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE CAFÉ. ABIC. **Evolução do consumo interno de café no Brasil**, 2018. Disponível em: <<https://www.abic.com.br/estatisticas/indicadores-da-industria/>>. Acesso: 26 de maio de 2020.
- ALCHEIKHHAMDON, A. A.; DARWISH, N. A.; HILAL, N. The use of factorial design in the analysis of air-gap membrane distillation data. **Desalination**, v. 367, n. 1, p. 90-102, 2015.



3. ARAI, K.; TERASHIMA, H.; AIZAWA, S.; TAGA, A.; ATSUSHI, Y.; TSUTSUMIUCHI, S. K. Simultaneous determination of trigonelline, caffeine, chlorogenic acid and their related compounds in instant coffee samples by HPLC using an acidic mobile phase containing octanesulfonate. **Analytical Sciences**, v. 31, n. 8, p. 831-835, 2015.
4. ASHIHARA, H. Plant biochemistry trigonelline biosynthesis in *Coffea Arabica* and *Coffea canephora*. In: PREEDY, V. R. **Coffee in health and disease prevention**. Elsevier, 2015.
5. BONILLA-HERMOSA, V. A.; DUARTE, W. F.; SCHWAN, R. F. Utilization of coffee by-products obtained from semi-washed process for production of value-added compounds. **Bioresource Technology**, v. 166, p. 142-150, 2014.
6. CAMPOS-VEGA, R.; LOARCA-PIÑA, G.; VERGARA-CASTAÑEDA, H. A.; OOMAH, B. D. Spent coffee grounds: a review on current research and future prospects. **Trends in Food Science & Technology**, v. 45, p. 24-36, 2015.
7. ESQUIVEL, P.; JIMÉNEZ, V. M. Functional properties of coffee and coffee by-products. **Food Research International**, v. 46, p. 488-495, 2012.
8. FRANCA, A. S.; OLIVEIRA, L. S. Coffee processing solid wastes: current uses and future perspectives. In: ASHWORTH, G. S.; AZEVEDO, P. **Agricultural Wastes** (Agricultural issues and Policies Series). 1. ed. p. 155-189, 2009.
9. INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION. ICO. **World coffee production**, 2017. Disponível em: <[http://www.ico.org/pt/trade\\_statisticsp.asp](http://www.ico.org/pt/trade_statisticsp.asp)>. Acesso em: 26 de maio de 2020.
10. MACRAE, R. Nitrogenous components. In: CLARKE, R. J.; MACRAE, R. **Coffee Technology**. v. 2, London, 1987.
11. MATSUI, A.; YIN, Y.; YAMANAKA, K.; IWASAKI, M.; ASHIHARA, H. Metabolic fate of nicotinamide in higher plants. **Physiologia Plantarum**, v. 131, p. 191-200, 2007.
12. MEYER, V. R. **Practical High-Performance Liquid Chromatography**. 5 ed. Wiley, 2010.
13. MURTHY, K. N.; D'SA, A.; KAPUR, G. J. A. An effluent treatment-cum-electricity generation option at coffee states: is it financially feasible? **International Energy Initiative**, Bangalore, 2004.
14. PERRONE, A.; DONANGELO, C. M.; FARAH, A. Fast simultaneous analysis of caffeine, trigonelline, nicotinic acid and sucrose in coffee by liquid chromatography-mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 110, n. 4, p. 1030-1035, 2008.
15. PONTE, S. The 'Latte Revolution' regulation, markets and consumption in the global coffee chain. **World Development**, v. 30, p. 1099-1122, 2002.