



## DESENVOLVIMENTO DE INSUMO FARMACÊUTICO ATIVO ANTIOXIDANTE DE EXTRATO SECO DE BORRA DE *Coffea arabica*

Ana Carolina de Oliveira, Gizelle Inacio Almerindo, Ruth Meri Lucinda da Silva

Farmácia - Farmacotecnia

### Resumo

O Brasil destaca-se como maior produtor mundial de café, no entanto, este status também implica em uma elevada geração de resíduos provenientes desta atividade, como a borra, a qual tem atraído atenção dos pesquisadores devido sua ação antioxidante. O presente trabalho teve por objetivo desenvolver um insumo farmacêutico ativo antioxidante de extrato seco de borra de *Coffea arabica*. A borra seca passou por análise microbiológica para controle da qualidade da matéria-prima. Obteve-se o extrato por maceração dinâmica durante 4 horas, com solução hidroalcolica 50%. Concentrou-se o extrato em rotaevaporador. Os extratos secos foram produzidos através da técnica de spray drying, avaliando a utilização de diferentes adjuvantes de secagem puros e misturas destes. A caracterização dos extratos secos consistiu nas análises de resíduo seco, teor de fenólicos totais (FT), atividade antioxidante (CE50), teor de ácido clorogênico por CLAE-DAD, análise termogravimétrica (TGA), calorimetria exploratória diferencial (DSC) e microscopia eletrônica de varredura (MEV). Os extratos obtidos apresentaram um elevado teor de FT ( $297,40 \pm 0,06$  mgEAG/g) e atividade antioxidante ( $EC_{50} = 253,96 \pm 13,59$   $\mu$ g/mL). O armazenamento dos extratos em estufa à 40 °C apresentou alterações na cor e no aspecto do pó para todos os excipientes empregados, com exceção da mistura binária amido modificado:celulose microcristalina (H). Os resultados da análise térmica (TGA e DSC) mostraram melhora em sua estabilidade térmica, no que se refere a perda de massa ( $\Delta m$  %). A mistura binária H foi a única que apresentou o primeiro evento térmico em temperatura superior à 82 °C (Tonset = 145,1 °C; T<sub>pico</sub> = 176,3 °C;  $\Delta H = -29,3$  J/g), ainda, ocorrem outros dois eventos exotérmicos (Tonset = 432,9 e 559,0 °C), mostrando que este tratamento exhibe estabilidade até temperaturas próximas à 400 °C. A análise morfológica das partículas revelou sistemas polidispersos, com partículas esféricas de diâmetro médio variando de 1,11 a 6,75  $\mu$ m para os diferentes excipientes empregados, porém com aspectos semelhantes entre si. Dessa forma, visando sua utilização como insumo farmacêutico antioxidante, o sistema composto por amido modificado e celulose microcristalina, apresentou-se com propriedades físicas, composição química e atividade antioxidante promissoras para aplicação como insumo farmacêutico ativo.

### Introdução

O café é uma das matérias-primas da agroindústria mais importante e de maior valor comercial em todo o mundo e, conforme o último relatório divulgado pela CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento), em maio de 2023, a produção de café arábica totalizou 37,93 mil sacas, representando ganho de 15,9% em relação ao mesmo período da safra anterior (Brasil, 2023). No entanto, sabe-se que uma tonelada de café cru



origina em média 480 kg de borra, tornando o processo desde a colheita até o preparo da bebida fonte de geração de uma grande quantidade de resíduos (Durán et al., 2017). O relatório da ABRELPE (Associação Brasileira de Empresas de Limpeza Pública e Resíduos Especiais) revelou que 81,8 milhões de toneladas de resíduos sólidos urbanos (RSU) foram geradas no ano de 2022 no Brasil (Brasil, 2022).

Neste sentido, a borra de café, apresenta um número significativo de pesquisas voltadas para a extração de seus compostos antioxidantes (Mussatto et al., 2011; Okur et al., 2021; Seo; Park, 2019), devido à sua composição, que contém cafeína, taninos e polifenóis, como o ácido clorogênico (ACG) (Durán et al., 2017). Sabendo da problemática enfrentada quanto à geração de resíduos sólidos urbanos, diversas alternativas têm sido buscadas para o reaproveitamento de materiais como a borra, visando minimizar os impactos negativos dos resíduos no meio ambiente. Desta forma, a presente pesquisa objetivou desenvolver extrato seco de borra de *C. arabica* como insumo farmacêutico ativo com potencial antioxidante.

## Método

A borra de café empregada nesta pesquisa, tem origem de grãos 100% arábica, das variedades Catuaí 62 amarelo e Catuaí 44 vermelho, cultivados na Serra do Caparaó-MG. Os produtores possuem reconhecimento e certificação pelo Certifica Minas e 4C Association, órgão que atesta as boas práticas de manejo do café. Obteve-se a borra de café na Cafeteria Sun Coffee, localizada na cidade de Itajaí - SC, sendo elas, resultantes do acúmulo dos diferentes métodos de preparo que utilizam grãos 100% arábica.

Inicialmente, secou-se o material em estufa com recirculação de ar, a temperatura de 60 °C, até umidade inferior a 5% (Peshev et al., 2018). A análise microbiológica do material seco foi realizada conforme a matriz "Produtos farmacêuticos - Substâncias para uso farmacêutico" da Farmacopeia Brasileira (Brasil, 2019). Obteve-se o extrato por maceração dinâmica durante 4 horas, com solução hidroalcolica 50%, proporção de 1:10 (borra:solvente) e velocidade de rotação ajustada em 400 rpm. Filtrou-se o extrato à vácuo e concentrou-se utilizando rotaevaporador a 50°C.

Na obtenção do extrato seco utilizou-se como técnica a secagem por aspersão em spray dryer. Os adjuvantes de secagem puros (dióxido de silício coloidal, amido modificado, maltodextrina e celulose microcristalina) e suas misturas, foram testados na concentração de 20% em relação ao resíduo seco. O spray dryer operou nas seguintes condições: vazão de ar comprimido 40 L/min, vazão de alimentação 4 mL/min, taxa de aspiração 90% e temperatura de entrada do ar 150 °C. A caracterização dos extratos secos consistiu nas análises de resíduo seco, teor de fenólicos totais (FT), atividade antioxidante (CE50), teor de ácido clorogênico por CLAE-DAD, análise termogravimétrica (TGA), calorimetria exploratória diferencial (DSC) e microscopia eletrônica de varredura (MEV).

Na determinação de resíduo seco, transferiu-se 2 mL de extrato para cadinhos de porcelana, os quais foram secos em estufa a 105 °C por 3 horas, resfriados em dessecador e pesados (Brasil, 2019). Expressou-se o resíduo seco em % (g/100mL). Na quantificação de compostos fenólicos, adicionou-se uma alíquota de 0,3 mL de cada



extrato em um tubo de ensaio, acrescentando-se 0,3 mL do reagente Folin-Ciocalteau e 4,5 mL de água destilada. A mistura foi homogeneizada em vórtex e após 5 minutos, adicionou-se 0,9 mL de carbonato de sódio 12,5%. Colocou-se os tubos em banho a 30 °C por 30 minutos e quantificou-se a absorvância em 755 nm (Bonoli et al., 2004). Expressou-se o teor em mgEAG/g.

Avaliou-se a atividade antioxidante dos extratos através da sua capacidade sequestradora de radicais DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazila). Assim, transferiu-se uma alíquota de 0,05 mL de cada diluição (2,5 - 12,5 % v/v) do extrato para tubos de ensaio com 1,95 mL de solução DPPH 0,06 mM. Quantificou-se a absorvância em 515 nm, expressando a atividade antioxidante em termos de CE50 (Rufino et al., 2007). Já a quantificação de ácido clorogênico por CLAE se deu pela adaptação da metodologia descrita por Naegele (2013), baseada na German National Standard DIN 10767. Para isto, utilizou-se cromatógrafo equipado com um detector de matriz de Diodo, coluna C18 Luna, com temperatura fixa de 35 °C e fase móvel gradiente, composta por ácido fosfórico 1% (A) e acetonitrila (B).

Na análise térmica, aproximadamente 10 mg de amostra foram colocadas em uma panela de alumínio, utilizando uma panela vazia como referência. O ensaio ocorreu entre as temperaturas de 25 e 600 °C, com aumento linear de 10 °C/min, sob atmosfera de nitrogênio. A entalpia foi calculada utilizando a área dos picos entre o início e as temperaturas finais ajustadas. Foram avaliadas as temperaturas de início, a temperatura de pico e as entalpias de cada evento (Ballesteros; Teixeira; Mussatto, 2017). Ainda, visando avaliar a estabilidade frente a temperatura fixa, as amostras foram levadas à estufa à 40 °C durante 30 dias em embalagem de plástico. A análise por microscopia eletrônica de varredura foi realizada com fita de carbono e recobrimento em ouro, observando os aumentos de x2000, 5000 e 1000.

## Resultados e discussões

Os resultados obtidos do controle microbiológico da borra de *C. arabica* permitiram observar que não houve crescimento microbiano de *Pseudomonas aeruginosa*, *Satphylococcus coagulase positiva* e *Escherichia coli*, considerados microrganismos patogênicos. O crescimento de bactérias, bolores e leveduras esteve dentro dos limites permitidos (Brasil, 2019), apresentando resultados de crescimento inferior a 10 UFC/g.

A secagem utilizando-se dióxido de silício (A) apresentou o menor teor de fenólicos totais, porém a maior atividade antioxidante (36,46%), diferindo-se dos demais tratamentos. O tratamento com a mistura binária de amido e celulose microcristalina (H) foi o único capaz de manter o teor de compostos fenólicos semelhante ao do extrato concentrado (238,37 mgEAG/g) diferindo de todos os outros tratamentos. No entanto, sua atividade antioxidante apresentou-se estatisticamente igual a maioria dos tratamentos. Nenhum tratamento foi capaz de atingir a CE50 do extrato, tal fato pode estar associado a uma pequena degradação de compostos fenólicos antioxidantes presentes nos extratos (Souza et al., 2015).

Quanto aos aspectos visuais, todos os extratos tratavam-se de um pó muito fino, com odor fraco de café. O tratamento com celulose microcristalina e as misturas binárias,



apresentaram coloração levemente mais clara que os demais. Após 30 dias em estufa à 40 °C observou-se alterações na coloração ou no aspecto do pó para todas as amostras avaliadas, com exceção da amostra H, obtida com a mistura de amido modificado e celulose microcristalina.

No que tange à análise termogravimétrica, todos os extratos, apresentaram dois eventos de perda de massa. O primeiro ocorre até 110 °C, sendo referente a perda de água e o segundo variou de acordo com a estabilidade dos excipientes empregados. Os extratos secos apresentaram melhora em sua estabilidade térmica quando comparados ao extrato concentrado, no que se refere a perda de massa ( $\Delta m$  %). Os extratos secos B e G tiveram o início da segunda perda de massa em aproximadamente 150 °C, enquanto os demais iniciaram em temperaturas superiores a 220 °C. Por sua vez, a análise de calorimetria exploratória diferencial revelou que a mistura binária H foi a única que apresentou o primeiro evento em temperatura superior à 82 °C (Tonset = 145,1 °C; T<sub>pico</sub> = 176,3 °C;  $\Delta H$  = -29,3 J/g) e outros dois eventos exotérmicos (Tonset = 432,9 559,0 °C), mostrando que este tratamento exibe estabilidade até temperaturas próximas à 400 °C.

A análise morfológica das partículas revelou sistemas polidispersos, com partículas esféricas. O extrato obtido com dióxido de silício e maltodextrina (E) apresentou o maior diâmetro médio de partícula ( $6,75 \pm 3,01 \mu\text{m}$ ) enquanto o extrato obtido com amido modificado e celulose microcristalina (H) apresentou o menor ( $1,11 \pm 0,44 \mu\text{m}$ ). Os demais tratamentos exibiram diâmetros semelhantes, em torno de  $2,37 \mu\text{m}$ . Todos os sistemas apresentaram as aspectos morfológicos semelhantes sendo esféricos, com superfície lisa e não aglomerados.

#### Considerações finais

Os resultados obtidos revelaram a qualidade microbiológica da borra de *C. arabica* conforme estabelecido para matérias-primas de uso farmacêutico. O tratamento com a mistura binária de amido e celulose microcristalina (H) destacou-se frente aos demais tratamentos, apresentando o maior teor de fenólicos totais (238,37 mg EAG/g) e ácido clorogênico ( $68,44 \pm 0,03$ ). Ainda, o mesmo extrato apresentou estabilidade por 30 dias em estufa a 40 °C, primeiro evento térmico superior à 82 °C e estabilidade até temperaturas próximas à 400 °C. Ainda, na análise morfológica das partículas, todos os sistemas revelaram-se polidispersos, com partículas esféricas, onde o extrato H apresentou o menor diâmetro médio de partícula ( $1,11 \pm 0,44 \mu\text{m}$ ). Dessa forma, visando sua utilização como insumo farmacêutico antioxidante, o sistema composto por amido modificado e celulose microcristalina, apresentou-se com propriedades físicas, composição química e atividade antioxidante promissoras para aplicação como insumo farmacêutico ativo.

Palavras-chave: Café (*Coffea arabica*); Resíduo sólido; Spray Dryer

BALLESTEROS, L. F.; TEIXEIRA, J. A.; MUSSATTO, S. I. Chemical, functional, and structural properties of spent coffee grounds and coffee silverskin. *Food Bioprocess Technology*, v. 7, p. 3493-3503, 2014.

BONOLI, M.; VERARDO, V.; MARCONI, E.; CABONI, M. F. Antioxidant Phenols in Barley



(*Hordeum vulgare* L.) Flour: Comparative Spectrophotometric Study among Extraction Methods of Free and Bound Phenolic Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 52, p. 5195 - 5200, 2004.

BRASIL. Associação Brasileira de Empresas de Limpeza Pública e Resíduos Especiais (ABRELPE). Panorama dos resíduos sólidos no Brasil - 2022. Brasília, dez - 2023.

BRASIL. Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB). Acompanhamento safra brasileira de café - Segundo levantamento. *Observatório Agrícola*, v. 10, n.2, p. 1 - 45, Brasília, maio - 2023.

BRASIL. Farmacopeia Brasileira. 6. ed. Brasília: Anvisa, 2019. Volume I.

DURÁN, C. A. A.; TSUKUI, A.; SANTOS, F. K. F.; MARTINEZ, S. T.; BIZZO, H. R.; REZENDE, C. M. Café: aspectos gerais e seu aproveitamento para além da bebida. *Revista Virtual de Química*, v. 9, n. 1, p. 107-134, jan./fev. 2017.

MUSSATTO, S. I.; CARNEIRO, L. M.; SILVA, J. P. A.; ROBERTO, I. C.; TEIXEIRA, J. A. A study on chemical constituents and sugars extraction from spent coffee grounds. *Carbohydrate Polymers*, v. 83, 2011.

NAEGELE, E. Determination of chlorogenic acid in coffee products according to DIN 10767. Agilent Technologies, Inc. Waldbronn, Germany, 2016. Disponível em: <<https://www.gimitec.com/file/5991-2852EN.pdf>>.

OKUR, I.; SOYLER, B.; SEZER, P.; OZTOP, M. H.; ALPAS, H. improving the recovery of phenolic compounds from spent coffee grounds (scg) by environmentally friendly extraction techniques. *Molecules*, v. 26, n. 613, 2021.

SEO, H. S.; PARK, B. H. Phenolic compound extraction from spent coffee grounds for antioxidant recovery. *Korean Journal of Chemical Engineering*, v. 36, n. 2, p. 186 - 190, 2019.

PESHEV, D.; MITEVB, D.; PEEVAC, L.; PEEVA, G. Valorization of spent coffee grounds - A new approach. *Separation and Purification Technology*, v. 192, p. 271-277, 2018.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J. SAURA-CALIXTO, F. D. Comunicado técnico - Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH. Embrapa, 2007. ISSN 1679-6535.

SOUZA, C. A. G.; SIQUEIRA, S. M. C.; AMORIM, A. F. V.; MORAIS, S. M.; GONÇALVES, T.; GOMES, R. N.; CUNHA, A. P.; RICARDO, N. M. P. S. Encapsulação do ácido l-ascórbico no biopolímero natural galactomanana por spray-drying: preparação, caracterização e atividade antioxidante. *Química Nova*, v. 38, n. 7, p. 877-883, 2015.