

AVALIAÇÃO DO PERFIL DE LIBERAÇÃO DE MICROGRÂNULOS CONTENDO SUBPRODUTO DA EXTRAÇÃO DO ÓLEO DOS GRÃOS DE CAFÉ VERDE EM MEIO ÁCIDO E BÁSICO

Pedro Bissolotti Vendrasco¹; Maria Paula Maciel Pinto²; Kaciane Andreola³;
Marcello Nitz da Costa³; Luciane Franquelin Gomes de Souza³

¹ Aluno de Iniciação Científica do Instituto Mauá de Tecnologia (IMT);

² Aluna de Doutorado da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP);

³ Professor do Instituto Mauá de Tecnologia (IMT).

Resumo. *O café verde é um importante produto da economia brasileira. Este grão é rico em compostos fenólicos, dentre eles, o ácido clorogênico (ACG) que possui efeito antioxidante. Em seu processo de extração de óleo, ocorre a formação de um subproduto denominado biomassa, que é rica em ACG. Devido a sua rápida liberação em meio ácido, o ACG não é totalmente absorvido pela corrente sanguínea. O objetivo deste trabalho é avaliar se o ganho de camada real obtido no processo de recobrimento irá conferir aos microgrânulos, contendo subproduto da extração do óleo dos grãos de café verde, um perfil de liberação entérico dos (ACGs). A pelletização e o ganho de camada conferido no processo de recobrimento com polímero Kollicoat MAE não foram suficientes para retardar a liberação do ACG em meio ácido, possibilitando 100% de liberação em menos de 2 horas. Entretanto, quando os pellets foram inseridos em cápsulas vegetais gastroresistentes, o perfil de liberação entérica foi conferido, impedindo a liberação do ACG em meio ácido (pH 1,2) durante duas horas e possibilitando a liberação de mais de 80% do ativo em uma hora, em meio básico (pH 7,2).*

Introdução

O café verde é uma *commodity* brasileira com enorme importância para a economia nacional, assim como para o consumo de seu produto pela população. Desde a época da monarquia o café verde ou *Coffea robusta* já era cultivado no Brasil, principalmente na região sudeste e, a partir do século XIX, a exportação começou a crescer muito, mantendo-se até hoje com grande relevância. O Brasil é considerado o maior exportador de café do mundo (Nakazone, 2004). Apenas em junho de 2021 exportou cerca de 3 milhões de sacas de café, arrecadando aproximadamente 423,3 milhões de dólares (Embrapa, 2021).

O café verde arábica in natura é composto por 11,79% de água, 14,49% de proteínas, 18,19% de fibra bruta, 5,69% de lipídeos, 3,96% de cinzas e 64,08% de carboidratos (Lago *et al.*, 2001), em base úmida. Além disso, cerca de 12% dessa composição são compostos fenólicos (Alcantara, 2019), sendo o ACG um dos principais. É formado pela esterificação do ácido quínico com um ácido trans-cinâmico (Oliveira e Bastos, 2011), que propicia diversos benefícios para a saúde, pois dispõe de atividade antioxidante, o que causa efeito neuroprotetor, anticancerígeno e que combate a diabetes tipo II (Gatto *et al.*, 2018).

Segundo Alves *et al.* (2009), o café verde é uma das matérias-primas mais importantes do comércio internacional, além de ser uma das bebidas mais consumidas em todo mundo devido a suas características benéficas e seu efeito estimulante. Além de sua grande importância na exportação brasileira, o café verde também se faz muito presente na dieta da população. Segundo Sousa (2014), um brasileiro consome em média cerca de 163 mL de café por dia o que o torna o segundo produto alimentício mais consumido no Brasil.

Para a obtenção do óleo essencial, os grãos de café verde são submetidos a um processo de extração por prensagem a frio, gerando dois resíduos principais: um resíduo sólido denominado torta de prensagem (90%, p/p dos resíduos totais) e um sedimento produzido após a clarificação do óleo bruto, ambos ricos em ACGs e óleo (Lombo Vidal *et al.*, 2020; Oliveira *et al.*, 2019; Castro *et al.*, 2018). Segundo Vidal *et al.* (2022) e Resende Oliveira *et al.* (2019), a torta de prensagem (biomassa)

contém respectivamente 74,2 mg/g (b.s) e 65,0 mg/g (b.s) de ACG em sua composição, e acaba sendo descartada pelas indústrias (Resende Oliveira *et al.*, 2019).

O ACG é degradado quando é exposto a luz ou a elevadas temperaturas (Redgwell *et al.*, 2002). Como consequência, durante o processo de torra do café, muito do ACG presente no grão acaba se degradando, reduzindo, assim, sua disponibilidade no produto (Komes & Bušić, 2014). Durante a digestão, somente 33% do ACG é absorvido pelo intestino e levado para a corrente sanguínea, enquanto o restante é absorvido no estômago (Olthof *et al.*, 2001). Destarte, para a absorção de uma maior quantidade de ACG no organismo, seria necessária uma liberação com características diferentes, como a liberação retardada definida por Allen Jr *et al.* (2007).

A forma farmacêutica de liberação retardada é desenvolvida para liberar o fármaco em um tempo diferente daquele imediatamente após a administração. A lenta liberação do ativo pode ser determinada pelo tempo ou pela influência das condições do meio, como o pH gastrointestinal. Durante as primeiras duas horas a dissolução do ativo é realizada em meio ácido, simulando o pH do estômago ($\text{pH} \cong 1,2$) e a liberação do ativo incorporado na forma farmacêutica é muito lenta e muito pequena. Após a segunda hora, a dissolução do ativo é realizada em meio básico, simulando o pH do trato intestinal ($\text{pH} \cong 7,2$) e a liberação do ativo é imediata. Essa liberação é destinada, principalmente, às formas farmacêuticas gastrorresistentes ou entéricas (Veiga, 1988; Allen Jr *et al.*, 2007). Dessa maneira, o desenvolvimento de *pellets* contendo biomassa e o recobrimento polimérico sugeridos por Sousa (2014), podem ser uma alternativa para conferir a liberação entérica do ACG.

O objetivo do presente trabalho é avaliar se o ganho de camada real obtido no processo de recobrimento irá conferir aos microgrânulos, contendo subproduto da extração do óleo dos grãos de café verde, um perfil de liberação entérico dos ácidos clorogênicos (ACGs).

Materiais e Métodos

Esta pesquisa foi realizada concomitantemente a outro trabalho de iniciação científica, no qual foram produzidos os *pellets*. Os microgrânulos foram produzidos pelo processo de extrusão e esferonização, a partir de uma inclusão de 70% do subproduto da extração do óleo do café verde, denominado biomassa, cedida pela Cooperativa Regional dos Cafeicultores de Guaxupé (COOXUPÉ, Guaxupé, MG). Os *pellets* foram desenvolvidos seguindo a metodologia de Santos *et al.* (2004) e foram produzidos com duas formulações distintas (F0 e FIII). Formulação F0 com 20% de celulose microcristalina pH 101 moída, 3% de polivinilpirrolidona (PVP – K30), 7% de polietilenoglicol (PEG 4000) e água como via úmida. Formulação FIII com 5% de etil celulose, 25% de celulose microcristalina pH 101 e solução IPA 70:30 como via úmida. Ambas com 70% de inclusão de biomassa. O recobrimento polimérico dos microgrânulos foi realizado em um leito fluidizado/jorro FBD 1.0 (LabMaq) com o polímero Kollicoat® MAE 30 DP (dispersão com 97% de ácido metacrílico e copolímero de etilacrilato (1: 1)), da BASF, conferindo 18% de ganho de camada real. A suspensão polimérica foi preparada conforme recomendações do fabricante, constituída de 52% do polímero, 2,34% de Trietil-citrato, 2,06% de talco e 43,6% de água.

Composição centesimal

As análises de composição centesimal foram realizadas para a biomassa, em triplicata. O teor de umidade foi determinado baseado na metodologia descrita por Mendonça *et al.* (2007), o teor de lipídeos baseado na metodologia de Bligh e Dyer (1959), o teor de cinzas baseado na metodologia do Instituto Adolfo Lutz (1976), o teor de proteínas baseado no método de Kjeldahl (1950) com fator de correção 6,25 e o teor de carboidratos por diferença.

Teor de ACG

Para determinar o teor de ACG tanto da biomassa quanto dos *pellets* foi estabelecida a curva de calibração com o padrão de ACG ($\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$; CAS 327-97-9; pureza $\geq 97,3\%$), adquirido de *The*

United States Pharmacopeial Convention (USP), seguindo a metodologia de Gonçalves *et al.* (2017) com adaptações. Preparou-se uma solução mãe com $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ em água destilada. A partir dessa solução foram preparadas outras soluções mais diluídas, com concentrações iguais a 5, 10, 15, 20, e $25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. As absorvâncias de cada uma das soluções foram lidas em um espectrofotômetro UV/Vis em comprimento de onda de 324 nm. A partir dessas leituras foi possível fazer o ajuste de curvas, utilizando o aplicativo Microsoft Excel. A validação do método analítico foi feita por meio da determinação do R^2 .

O preparo das amostras de biomassa e *pellets* seguiram a metodologia de Belay *et al.* (2008), com adaptações. Alíquotas de 40 g de cada amostra (biomassa e *pellets*) foram moídas em moedor modelo básico A11 da marca IKA, e separados por uma peneira com abertura de 0,177 mm, para obter uma maior superfície de contato. As amostras passantes por essa peneira foram devidamente pesadas de acordo com suas formulações e colocadas em béqueres juntamente com 160 mL de água destilada. Essas misturas foram agitadas em agitadores mecânicos por 1 h na faixa de temperatura de $65 \text{ }^\circ\text{C}$ a $70 \text{ }^\circ\text{C}$. Em seguida, as absorvâncias das amostras foram lidas em um espectrofotômetro UV/Vis em um comprimento de onda de 324 nm.

Dissolução in vitro

Para avaliar o perfil de liberação do ACG nos *pellets* de biomassa, em meio ácido (fluido simulando o estômago, pH: 1,2) e em meio básico (fluido simulando o intestino, pH: 7,2), foram estabelecidas curvas de calibração baseadas na farmacopeia americana (USP XXXII, 2009). O padrão utilizado foi o mesmo descrito para a determinação do teor de ACG. Preparou-se uma solução mãe com concentração $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, e a partir desta foram preparadas soluções mais diluídas de 5, 10, 15, 20, e $25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. As absorvâncias foram lidas em espectrofotômetro UV/Vis em 324 nm. A partir dessas leituras foi possível fazer o ajuste de curvas, utilizando o aplicativo Microsoft Excel. A validação dos métodos analíticos foi feita por meio da determinação do R^2 .

As análises foram realizadas em um dissolutor da marca Nova Ética (Brasil). Cerca de 135 mg de microgrânulos sem recobrimento e 189 mg de microgrânulos recobertos foram imersos em cubas contendo 900 mL de fluido gástrico sem enzima com 0,5% de sulfato lauril de sódio - pH 1,2 durante 2 horas e em seguida foram imersos em cubas contendo 900 mL de solução de fosfato de potássio monobásico com hidróxido de sódio (pH 7,2), por 1 hora. O cesto contendo os *pellets* foi mantido em uma rotação de 100 rpm e a temperatura das cubas foi mantida em $37 \text{ }^\circ\text{C}$. Alíquotas de 5 mL foram retiradas em 5, 10, 15, 30, 40, 60, 80, 100, e 120 min e lidas em espectrofotômetro UV/Vis com comprimento de onda de 324 nm. A faixa granulométrica dos microgrânulos utilizada nas análises de dissolução foi de 1,00 mm a 1,18 mm com *diâmetro médio de Sauter* de 1,09 mm.

O perfil de liberação do ACG nos *pellets* de biomassa inseridos em cápsulas vegetais gastroresistentes também foram realizados e comparados com microgrânulos recobertos com solução polimérica entérica. As cápsulas utilizadas foram *AR Caps*® (base hipromelose (HPMC) e ftalato de hipromelose (HPMCP); tamanho 0; capacidade 500 mg) e *DR Caps*® (base hipromelose (HPMC); tamanho 0; capacidade 500 mg), fabricadas por Farmacapsulas e Lonza Cápsulas e Ingredientes de Saúde, respectivamente.

Resultados e discussão

Composição centesimal

Os resultados das análises de composição centesimal da biomassa evidenciaram $5,3\pm 0,2\%$ de lipídeos, $4,65\pm 0,01\%$ de cinzas, $13,9\pm 0,1\%$ de proteínas, $3,7\pm 0,7\%$ de umidade e 72,5 % de carboidratos. Vidal *et al.* (2022) obtiveram resultados semelhantes ao realizarem a caracterização da biomassa de café verde, 4,4% de umidade e 5,5% de lipídeos. Observa-se que a biomassa contém um teor substancial de óleo, visto que o processo de prensagem a frio não é eficiente para a remoção completa do óleo dos grãos, corroborando com Oliveira *et al.* (2019).

Teor de ACG

Os valores de teor de ACG da biomassa e dos *pellets* com e sem recobrimento polimérico estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Teor de ACG da biomassa e dos *pellets* com e sem recobrimento polimérico

Amostra	Teor de ACG (%) (b.u)
Biomassa	8,44 ± 0,04
<i>Pellets</i> F0 – Sem Recobrimento	6,0 ± 0,1
<i>Pellets</i> F0 – Com Recobrimento	4,6 ± 0,1
<i>Pellets</i> FIII – Sem Recobrimento	5,7 ± 0,2
<i>Pellets</i> FIII – Com Recobrimento	4,3 ± 0,1

O teor de ACG na biomassa (86,1 mg/g – 9,21%; b.s) é ligeiramente superior ao relatado por Vidal *et al.* (2022) (74,2 mg/g; b.s). Os resultados de composição centesimal e de teor de ACG sugerem que a biomassa de café verde é um subproduto quimicamente rico e com alto potencial de aproveitamento na indústria farmacêutica, corroborando com Oliveira *et al.* (2019).

Os *pellets* F0 e FIII sem recobrimento apresentaram teor de ACG na faixa de 5,7% a 6,0% (Tabela 1). Esses valores estão de acordo com o teor ACG na biomassa (8,44 %) e a quantidade de biomassa incorporada nas formulações dos microgrânulos (70%). Os *pellets* F0 e FIII com recobrimento apresentaram teor de ACG na faixa de 4,3% a 4,6%, ligeiramente inferior ao teor de ACG dos microgrânulos sem recobrimento. Isto se deve ao fato de que no processo de recobrimento em leito de jorro foi conferido 18% de ganho de camada real aos microgrânulos, proporcionando uma redução no teor de ACG.

Dissolução *in vitro*

As curvas de calibração em meio ácido (pH 1,2) e em meio básico (pH 7,2) são apresentadas na Figura 1 e na Figura 2, respectivamente. Observa-se que os métodos analíticos são válidos, uma vez que os valores de R^2 são próximos da unidade (0,9995 a 0,9997).

Figura 1 – Curva de calibração no meio ácido (pH 1,2)

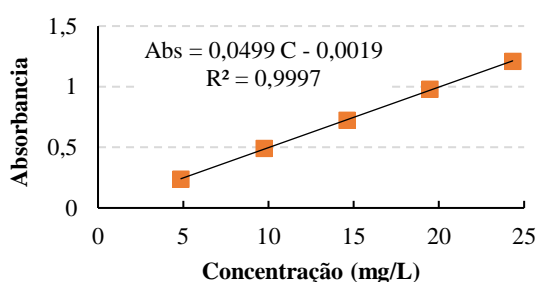
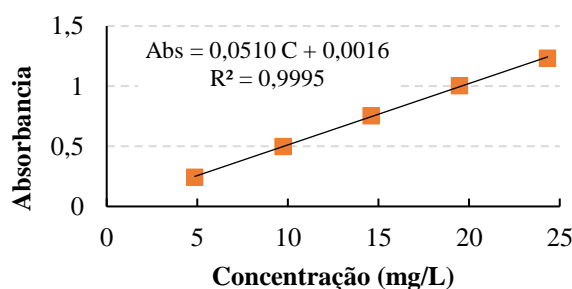


Figura 2 – Curva de calibração no meio básico (pH 7,2)

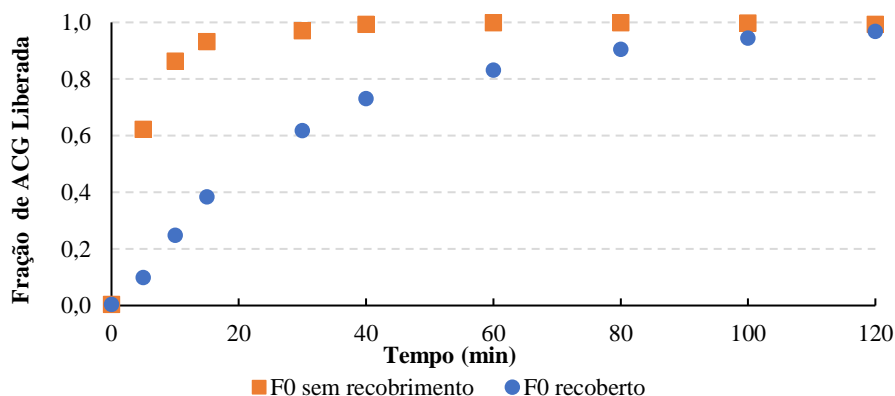


Os perfis de liberação do ACG nos *pellets* F0 com e sem recobrimento, em meio ácido (pH 1,2), estão apresentados na Figura 3. Observa-se que após 20 minutos de dissolução, mais de 90 % do teor de ACG nos *pellets* F0 sem recobrimento foram liberados. Gonçalves *et al.* (2017) avaliaram o perfil de liberação do ACG (3-CQA) em micropartículas (dp 3µm) de alginato de sódio, quitosana modificada, ambas contendo ACG (3-CQA) e produzidas por spray-dryer. Observaram que em apenas 10 minutos de dissolução, em meio ácido (pH 2,0), mais de 80 % do teor de ACG já havia sido liberado e concluíram que as partículas seriam parcialmente ou totalmente destruídas antes de chegarem ao intestino. Cerqueira *et al.* (2020) estudaram o perfil de liberação, em meio ácido (pH 2,0), de micropartículas (dp 498 µm) encapsuladas com quitosana-tripolifosfato de sódio e com goma

xantana-quitosana, ambas contendo extrato de café verde e produzidas por coacervação complexa. Os perfis de liberação mostraram que valores superiores a 25% de ACG (5-CQA) já haviam sido liberados após 20 minutos de dissolução, em ambas as partículas. As partículas produzidas por Gonçalves *et al.* (2017) e Cerqueira *et al.* (2020) foram produzidas por processos distintos da extrusão e esferonização utilizados no presente trabalho, no entanto o teor de ACG presente nelas também foi liberado em menos de duas horas quando submetidas a dissolução no meio que simula o fluido gástrico (pH 2,0).

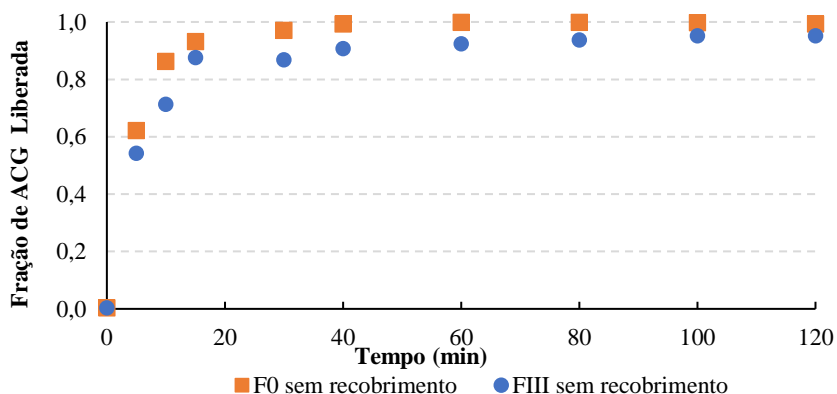
O ganho de camada de 18% de polímero entérico proporcionou uma liberação mais lenta do teor de ACG nos *pellets* F0 recobertos quando comparados com os microgrânulos sem recobrimento, liberando 90 % de ACG após 80 minutos (Figura 3). No entanto, o recobrimento polimérico não foi suficiente para conferir o perfil gastrorresistente, uma vez que após 2 horas de dissolução, todo ACG já havia sido liberado no meio ácido que simula o fluido gástrico.

Figura 3 – Perfis de liberação do ACG nos *pellets* F0 com e sem recobrimento, meio ácido (pH 1,2)



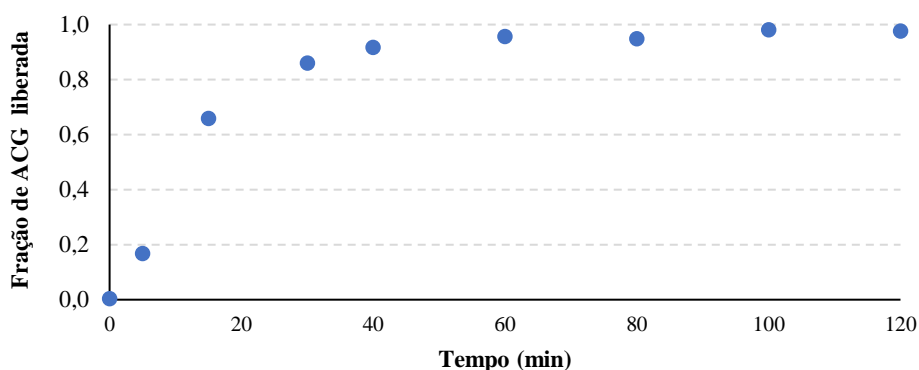
O perfil de liberação do ACG dos *pellets* FIII sem recobrimento, em meio ácido (pH 1,2), é apresentado na Figura 4. Observa-se que a liberação do teor de ACG nos *pellets* FIII foi ligeiramente mais lento quando comparado com os *pellets* F0. Entretanto, cerca de 90% do teor de ACG presente nos *pellets* FIII foi liberado em apenas 40 minutos de dissolução.

Figura 4 – Perfis de liberação do ACG nos *pellets* F0 e FIII sem recobrimento, meio ácido (pH 1,2)



Com o objetivo de retardar o perfil de liberação, o recobrimento polimérico com 18% de ganho de camada também foi realizado nos *pellets* FIII, conforme é apresentado na Figura 5. O ganho de camada polimérico adquirido no processo de recobrimento não evitou a liberação do ACG no meio ácido. Após 40 minutos de dissolução, cerca de 90 % do ativo já havia sido liberado.

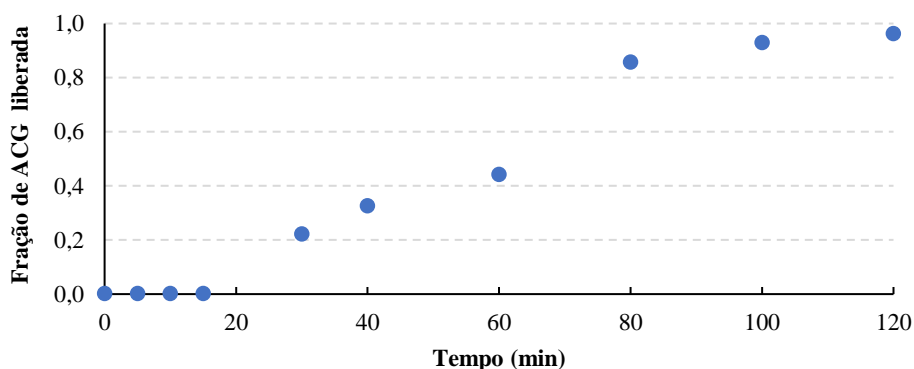
Figura 5 – Perfil de liberação do ACG nos *pellets* FIII com recobrimento, meio ácido (pH 1,2)



Diante do exposto, conclui-se que mesmo com diferentes ingredientes na formulação dos *pellets* o ganho de camada entérica de 18% não conferiu aos microgrânulos, contendo subproduto da extração do óleo dos grãos de café verde, o perfil de liberação entérico dos ACGs. Dessa maneira, com o objetivo de evitar a liberação do ACG em fluido que simula o estômago, os *pellets* recobertos de F0 foram inseridos em cápsulas resistentes ao ácido *AR-Caps®* e *DRCaps®*.

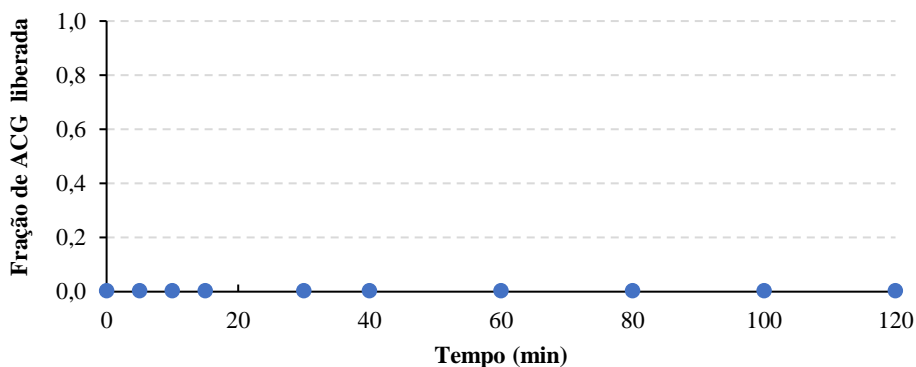
Os perfis de liberação do ACG em meio ácido (pH 1,2) nos *pellets* inseridos nas cápsulas *AR-Caps®* e *DRCaps®* são apresentados na Figura 6 e na Figura 7, respectivamente.

Figura 6 – Perfil de liberação do ACG nas cápsulas *AR-Caps®* com *pellets* F0 recobertos, meio ácido (pH 1,2)



Observa-se que as cápsulas *AR-Caps®* retardaram o perfil de liberação do ACG nos primeiros 20 minutos (Figura 6). No entanto, após esse período as cápsulas começaram a se degradar permitindo o contato direto do meio ácido com os microgrânulos recobertos, favorecendo a transferência de massa e a liberação total do ACG em duas horas.

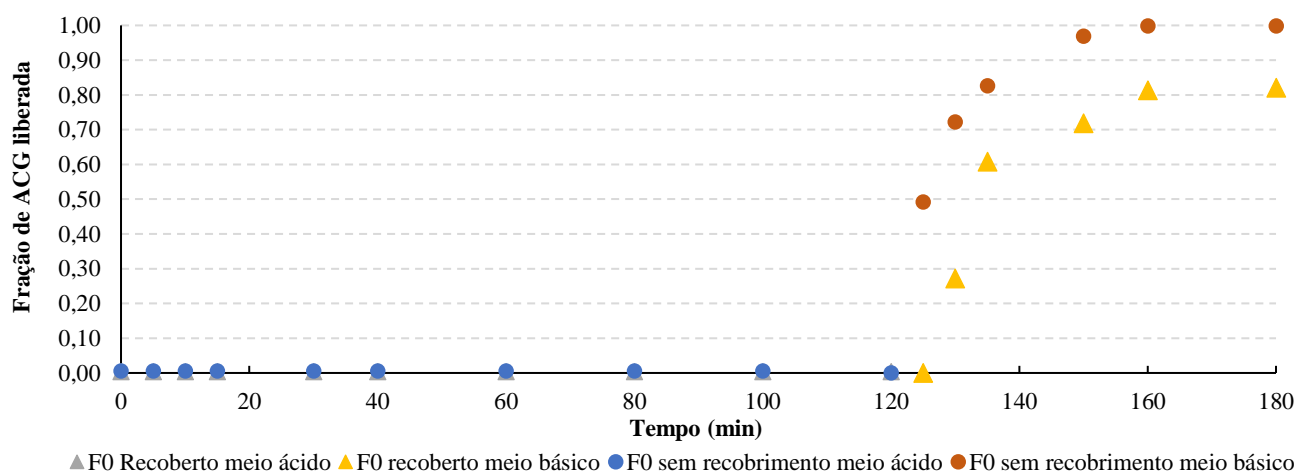
Figura 7 – Perfil de liberação do ACG nas cápsulas *DR-Caps®* com *pellets* F0 recobertos, meio ácido (pH 1,2)



Na Figura 7 é possível observar que não houve liberação do ACG durante duas horas no meio ácido nas cápsulas *DR-Caps®* com *pellets* F0 recobertos. Entretanto, para assegurar o perfil de liberação entérico é necessário também que mais de 80% do ativo seja liberado no meio básico (pH 7,2). Dessa maneira, após a dissolução em meio ácido, as cápsulas *DR-Caps®* com *pellets* F0 com e

sem recobrimento foram submetidas na dissolução em meio básico durante uma hora. Os perfis de liberação de ACG, em meio ácido e básico, são apresentados na Figura 8.

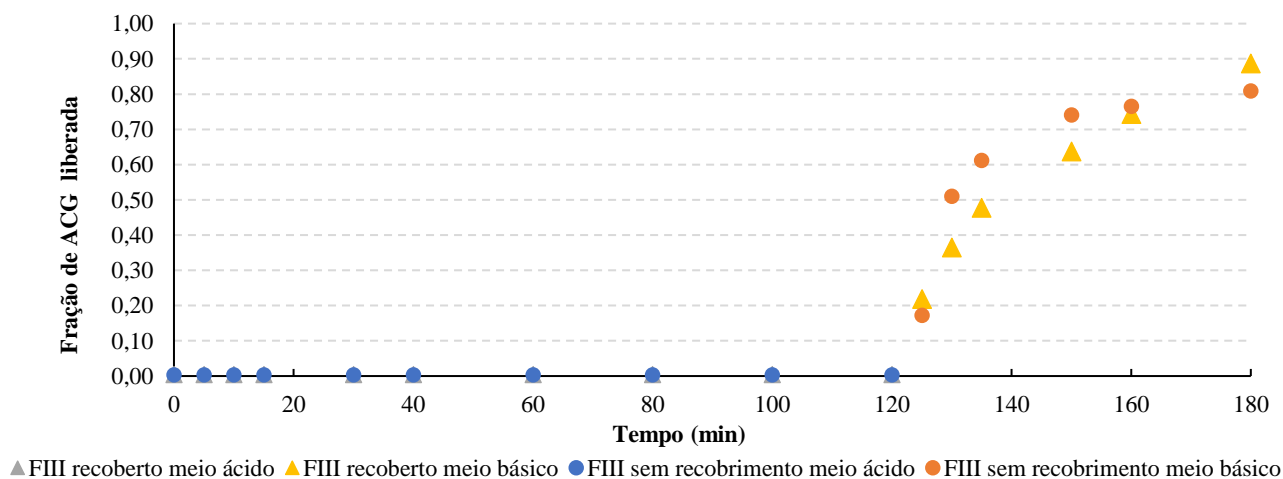
Figura 8 – Perfis de liberação do ACG nas cápsulas *DR-Caps*® com *pellets* F0 recobertos e sem recobrimento, meio ácido (pH 1,2) e meio básico (pH 7,2)



As cápsulas *DR-Caps*® com *pellets* F0 impediram a liberação do ACG no meio ácido (pH 1,2) e possibilitaram a liberação de 80% do ACG nas cápsulas com *pellets* recobertos e a liberação de 100 % do ACG nos *pellets* sem recobrimento em meio básico (pH 7,2). Esses resultados sugerem que quando os microgrânulos são inseridos nas cápsulas *DR-Caps*® não precisam ser submetidos ao processo de recobrimento para que o perfil de liberação gastrorresistente seja conferido.

As cápsulas *DR-Caps*® também foram avaliadas para os *pellets* FIII com e sem recobrimento. Os perfis de liberação do ACG, em meio ácido e básico, são apresentados na Figura 9.

Figura 09 – Perfis de liberação do ACG nas cápsulas *DR-Caps*® com *pellets* FIII recobertos e sem recobrimento, meio ácido (pH 1,2) e meio básico (pH 7,2)



Observa-se que o perfil de liberação entérica do ACG também foi conferido nas cápsulas *DR-Caps*® com *pellets* FIII com e sem recobrimento.

Conclusão

A biomassa de café verde é um subproduto quimicamente rico e com alto potencial de aproveitamento na indústria farmacêutica para a produção de suplementos alimentares contendo ACG.

O perfil de liberação do ACG, em meio ácido, nos *pellets* contendo 70% de biomassa mostrou que é necessário protegê-lo para que alcance o intestino. O ganho de camada do recobrimento entérico (18%) com o polímero Kollicoat® MAE 30 DP não foi suficiente para conferir o perfil de liberação entérica, permitindo a liberação total do ACG em fluido gástrico simulado durante duas horas.

Para conferir a liberação entérica do ACG, a melhor opção avaliada foi a inserção dos *pellets* em cápsulas de liberação retardada *DR-Caps*®, uma vez que evitaram a liberação do ACG em meio ácido (pH 1,2) durante duas horas e permitiram a liberação de mais de 80% do ACG em meio básico (pH 7,2), durante uma hora.

Referências bibliográficas

- Allen JR., L. V.; Popovich, N. G.; Ansel, H. C. Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos. Tradução Eleonora Lemos Senna. 8. ed. Porto Alegre: Artmed, 2007, 776 p.
- Alves, R. C.; Casal, S.; Oliveira, B. Benefícios do café na saúde: mito ou realidade? *Química Nova*, v. 32, n. 8, p. 2169–2180, 2009.
- Belay, A. et al. Measurement of caffeine in coffee beans with UV/vis spectrometer. *Food Chemistry*, v. 108, n. 1, p. 310–315, maio 2008.
- Bligh, E. G.; Dyer, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, v. 37, n. 1, p. 911–917, 1 jan. 1959.
- Castro, A. C. C. M., Oda, F. B., Almeida-Cincotto, M. G. J., Davanço, M. G., Chiari-Andréo, B. G., Cicarelli, R. M. B., ... Santos, A. G. (2018). Green coffee seed residue: A sustainable source of antioxidant compounds. *Food Chemistry*, 246, 48–57.
- DE SOUSA, M, L. Estudo Comparativo Entre os Processos de Obtenção de *Pellets* e sua Aplicação na Industria Farmacêutica. Monografia—Faculdade de Ceilândia: [s.n.], 2014.
- Gonçalves, B.; Moeenfarid, M.; Rocha, F.; Alves, A. (2017). Microencapsulation of a Natural Antioxidant from Coffee—Chlorogenic Acid (3-Caffeoylquinic Acid). *Food and Bioprocess Technology*, 10, 1521-1530
- Instituto Adolfo Lutz. Normas analíticas do instituto Adolfo Lutz. [s.l: s.n.]. 1976.
- Lago, R.; Antoniassi R.; Freitas S. Composição centesimal e de aminoácidos de café verde, torrado e de borra de café solúvel. SBICafé, 2001.
- Lawall Werneck Cerqueira, A. F., Neiva, G. P., Fernandes, M. F., Mota Conegundes, J. L., Stephani, R., Cappa de Oliveira, L. F., ... Rodarte, M. P. (2020). Influence of the xanthan gum as a crosslinking agent on the physicochemical properties of chitosan microparticles containing green coffee extract. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 101782.
- Lombo Vidal, O., Tsukui, A., Garrett, R., Miguez Rocha-Leao, ~ M.H., Piler Carvalho, C.W., Pereira Freitas, S., Moraes de Rezende, C., Simoes ~ Larraz Ferreira, M., 2020. Production of bioactive films of carboxymethyl cellulose enriched with green coffee oil and its residues. *Int. J. Biol. Macromol.* 146, 730–738.
- Mendonça, J. C. F.; Franca, A. S.; Oliveira, L. S. A comparative evaluation of methodologies for water content determination in green coffee. *LWT - Food Science and Technology*, v. 40, n. 7, p. 1300–1303, set. 2007.
- Nakazone, D.; Saes, M. O Agronegócio Café Do Brasil No Mercado Internacional. *FAE Business*, v. Número 9, set. 2004.
- Oliveira, D. M. DE; Bastos, D. H. M. Biodisponibilidade de ácidos fenólicos. *Química Nova*, v. 34, n. 6, p. 1051–1056, 2011.
- Oliveira, R., Carvalho, G.R., Cirillo, M., Queiroz, F., 2019. Effect of ecofriendly bio-based solvents on oil extraction from green coffee bean and its industrial press cake. *Braz. J. Chem. Eng.* 36, 1739–1753.
- Olthof, M. R.; Hollman, P. C.; Katan, M. B. Chlorogenic acid and caffeic acid are absorbed in humans. *The Journal of Nutrition*, v. 131, n. 1, p. 66 –71, 1 jan. 2001.

- Redgwell, R.J.; Trovato, V.; Curti, D.; Fischer, M. (2002) Effect of roasting on degradation and structural features of polysaccharides in Arabica coffee beans. *Carbohydrate Research*, 337, 421–431.
- Resende Oliveira, É., Fonseca da Silva, R., Ribeiro Santos, P., & Queiroz, F. (2019). An investigation into green coffee press cake as a renewable source of bioactive compounds. *International Journal of Food Science & Technology*. doi:10.1111/ijfs.14074
- Santos, H. M. M. et al. Obtenção de pellets por extrusão e esferonização farmacêutica: parte I. avaliação das variáveis tecnológicas e de formulação. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 40, n. 4, p. 455 – 470, dez. 2004
- Sousa, Alessandra Gaspar. Consumo usual de café no Brasil. 2014. xiv, 58 f., il. Dissertação (Mestrado em Nutrição Humana)-Universidade de Brasília, Brasília, 2014.
- USP XXXII. *The United States Pharmacopeia*, NF 27, 3rd ed, p. 3083-3089, 2009.
- Veiga, F. J. B. Medicamentos orais de liberação controlada: comprimidos matriciais hidrófilos. *Boletim Faculdade de Farmácia de Coimbra, Coimbra*, v. 12, p. 17-87, 1988.
- Vidal, O. L., Barros Santos, M. C., Batista, A. P., Andriago, F. F., Baréa, B., Lecomte, J., ... Larraz Ferreira, M. S. (2022). Active packaging films containing antioxidant extracts from green coffee oil by-products to prevent lipid oxidation. *Journal of Food Engineering*, 312, 110744.