

AVALIAÇÃO DE PARTÍCULAS DE CAFÉ VERDE OBTIDAS NO PROCESSO DE RECOBRIMENTO COM SOLUÇÃO POLIMÉRICA DE LIBERAÇÃO ENTÉRICA

Mirella Jorge ¹; Maria Paula Maciel Pinto ²; Kaciane Andreola ³; Tatiana Guinoza Matuda Masaoka ³; Marcello Nitz ³; Luciane Franquelin Gomes de Souza ³

¹ Aluna de Iniciação Científica da Escola de Engenharia Mauá (EEM/CEUN-IMT);

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

³ Professor da Escola de Engenharia Mauá (EEM/CEUN-IMT).

Resumo. *O café é uma das commodities mais comercializadas no mundo, sendo o Brasil um dos maiores produtores de café. Aliado a isto, o café verde apresenta muitas propriedades químicas, devido a presença do ácido clorogênico (ACG) em sua composição. O processo de recobrimento entérico é uma alternativa para superar as limitações impostas a degradação em condições fisiológicas do trato gastrointestinal superior. O objetivo desse trabalho foi estudar o processo de recobrimento de grãos in natura de café verde com o polímero Eudragit® L100 e avaliar, por meio de testes de dissolução in vitro, se o ganho de camada adquirido conferiu o perfil de liberação entérica do ACG aos grãos revestidos. O ganho de camada nos processos de recobrimento variou entre 14,3% e 19,8%, o teor de ACG entre 4,6% e 6,6%, a perda do teor de ACG variou de 13,2% a 37,9% e a eficiência entre 66,6% e 92,8%. Os ganhos de camada de 17,0% e de 38% não foram suficientes para conferir o perfil entérico aos grãos de café verde recobertos, sugerindo a necessidade de um ganho maior para esse fim, o uso de outros polímeros para o recobrimento ou a mudança da faixa granulométrica a ser utilizada.*

Introdução

O café é uma das bebidas mais comercializadas pelo mundo, justificando sua importância econômica e incentivo a estudos referentes a sua composição e propriedades (Tavares A., 2002). Dentre as *comodities* negociadas pelo Brasil o *Coffea robusta* L, popularmente conhecido como café verde, se encontra em segundo lugar. A exportação de café do Brasil durante o período de maio de 2020 e 2021, atingiram um volume físico total equivalente a 45,88 milhões de sacas de 60 kg, mantendo-se na posição de líder mundial na exportação de café (EMBRAPA, 2021). As plantas desta espécie são arbustos multicaules, que apresentam inicialmente um desenvolvimento mais lento do que o C. arábica, entretanto quando atingem a maturidade possuem copas mais desenvolvidas e porte mais elevado (Tavares & Ferreira, 2006). O café verde apresenta em sua composição química a cafeína, teobromina, teofilina, taninos, flavonoides e o ACG (Tavares & Ferreira, 2006; Abrahão, *et al.*, 2008).

Os ACGs, agentes antioxidantes naturais, são os principais compostos fenólicos não voláteis no café, chegando a 12% da composição do café verde *in natura* (Alcantara, 2019). Este ácido é formado através da condensação do ácido cafeico e do ácido (L)-quínico, sendo o composto fenólico mais presente na dieta humana (El- Seedi, *et al.*, 2012). Durante o processo de torrefação, devido à alta temperatura os ACGs sofrem degradação, formando os compostos fenólicos voláteis que dão características sensoriais como os níveis de amargor do café, e os fenólicos livres responsáveis pela cor característica do grão torrado (Farah, *et al.*, 2005). Contudo, as propriedades antioxidantes atribuídas ao ACG não estão diretamente relacionadas com os compostos fenólicos livres formados com a degradação térmica (Turgo & Macrae, 1984).

Dentre as propriedades conferidas ao ACG pela literatura destacam-se os efeitos antioxidantes (Yashin, *et al.*, 2013), anti-inflamatório (Moreira, *et al.*, 2013), auxílio no metabolismo, anti- hipertensiva (Iniesta & Al-Dujaili, 2014; Garambone & Glorimar, 2008), anticarcinogênica (Gaascht, *et al.*, 2015) de diabetes tipo 2 e da obesidade (Cho, *et al.*, 2010; Ong, *et al.*, 2013) justificando o interesse de suplementação dietética de ACG como agente

nutracêutico (Fuentes, *et al.*, 2014). Todavia, apenas um terço dos ACGs são absorvidos pelo trato gastrointestinal inferior e chegam à circulação sanguínea para posterior metabolização no fígado após a ingestão (Cho, *et al.*, 2010; Ong, *et al.*, 2013).

Como alternativas as limitações impostas pela degradação térmica e à degradação em condições fisiológicas do trato gastrointestinal superior, tem-se os processos de encapsulação e o recobrimento entérico, que sejam capazes de garantir a estabilidade e funcionalidade antioxidante do ACG (Shi, *et al.*, 2007).

Um dos processos para o recobrimento de uma partícula é utilizando o leito fluidizado. Este processo consiste na aspersão de uma suspensão de recobrimento sobre um leito de sólidos que é movimentado utilizando-se uma corrente gasosa ascendente (Costa, 2003). A rápida evaporação do solvente acarreta no molhamento e secagem simultâneo das partículas, formando uma camada uniforme da suspensão na superfície da partícula. A escolha para a solução de recobrimento deve se levar em consideração as características dos materiais e o meio de liberação onde deverá ocorrer a degradação da camada de recobrimento. Dentre os polímeros comerciais a serem utilizados para se realizar o recobrimento entérico, tem-se o Eudragit® L100 (Freire *et al.*, 2006), um copolímero de ácido metacrílico (Remington, 2004), devido à sua capacidade de formar uma suspensão de alta flexibilidade, alta taxa de adesão, fácil processamento e baixo tempo de preparação. Estas características permitem a melhora nas propriedades de liberação entéricas, uma vez que aumentam a resistência da camada de recobrimento nos sucos gástricos e permitem a liberação do princípio ativo nos fluidos intestinais (Silva, 2003). Para que o recobrimento seja considerado adequado ele deve resistir as condições adversas do trato gastrointestinal superior, sendo estas o pH ácido do estômago e atividade enzimática intensa no intestino delgado, e atingir regiões específicas do cólon mais adequadas para a liberação, sendo estas o cego e a região do cólon ascendente (Freire *et al.*, 2006). Os sistemas responsáveis por liberar seletivamente os fármacos no cólon são os sistemas pH- dependentes, que exploram essa diferença de pH ao longo do trato gastrointestinal para a liberação controlada. Estes sistemas empregam o revestimento das partículas com polímeros insolúveis a pH ácido e solúveis a pH neutro ou geralmente alcalino, por consequência preservando o ativo do meio ácido estomacal e liberando no meio básico do intestino (Freire *et al.*, 2006; Brunton *et al.*, 2010). Entre os possíveis recobrimentos do ACG na literatura tem-se uso de *Yeast-cells*, que preservam o ACG em meios ácidos e básicos melhorando sua absorção no organismo (Shi, *et al.*, 2007).

O objetivo do presente trabalho é estudar o processo de recobrimento de grãos *in natura* de café verde com o polímero Eudragit® L100 e avaliar, por meio de testes de dissolução *in vitro*, se o ganho de camada adquirido conferiu o perfil de liberação entérica do ACG aos grãos revestidos. Testes de dissolução *in vitro* dos grãos recobertos foram realizados em meio ácido (pH 1,2) e meio básico (pH 7,2), seguindo os parâmetros estabelecidos na farmacopeia americana (USP XXXII, 2009).

Material e Métodos

Caracterização física dos grãos de café verde *in natura*

As partículas utilizadas como matéria-prima foram grãos de café verde moídos, tipo arábica, após beneficiamento, adquiridos do Armazém de Café Bernardes LTDA (Machado, MG). As partículas foram classificadas quanto a sua granulometria, por meio de um conjunto de peneiras com base vibratória (Abronzinox), frequência de 15 Hz por 15 minutos. A faixa granulométrica dos grãos *in natura*, utilizada no recobrimento, apresenta diâmetro entre 1,40 mm e 2,00 mm, o que corresponde ao diâmetro médio de *Sauter* de 1,70 mm. A determinação da esfericidade dos grãos de café verde *in natura* foi realizada segundo Paulo (2017), pela análise de imagens obtidas no Microscópio Estéreo (National, DC4-456H) (Schertz, EUA), com o auxílio do *software* ImageJ. Foram realizadas 508 medidas aleatórias, sendo considerado

o valor da esfericidade média. As imagens foram obtidas no modo luz incidente, com ampliações de 10 vezes e régua-padrão com escala de 2000 um para medição.

Teor de ACG

Para a quantificação do teor de ACG nos grãos de café verde, foi estabelecida a curva de calibração utilizando-se o padrão de ACG da *The United States Pharmacopeial Convention* (USP). A solução mãe foi preparada com uma concentração de $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ em água destilada, da qual foram preparadas soluções diluídas de concentrações de 5, 10, 15, 20 e $25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, em vidrarias envoltas com papel alumínio e protegidas da luz. As absorvâncias das soluções foram lidas no espectrofotômetro UV/Vis em comprimento de onda 324 nm. Com o auxílio do Microsoft Excel realizou-se o ajuste da reta aos pontos experimentais.

A extração da cafeína dos grãos de café verde foi realizada seguindo o método de (BELAY *et al.*, 2008) com adaptações. As amostras compostas por 40 g de grãos de café verde, com faixa granulométrica de 1,40 mm a 2,00 mm foram trituradas em um Moedor (Hamilton Beach) no modo grãos finos por um período aproximado de 2 minutos, e então, peneirados em uma peneira de $425 \mu\text{m}$. Alíquotas de 12 mg de café verde moídos foram pesados em uma balança analítica e adicionados 60 mL de água destilada. As soluções foram colocadas em um béquer e mantidas sob agitação com auxílio de um agitador magnético por 60 min, com a temperatura sendo mantida na faixa de 60°C a 70°C . Seguidamente, as soluções foram filtradas em funil de vidro com filtro de papel, para remoção das partículas de café.

Com o uso do solvente orgânico diclorometano (Sigma-Aldrich) foi realizada a extração da cafeína, com o objetivo de se evitar a sobreposição espectral da cafeína no ACG. Adicionou-se a solução 60 mL do diclorometano que foi mantida sob agitação por um agitador magnético por 10 minutos à temperatura ambiente. Com um funil de separação, a diferença de densidade do diclorometano e da água destilada permitiu a separação de fases e assim a remoção da cafeína. Este processo foi repetido 4 vezes com objetivo de garantir maior remoção da cafeína. A absorvância da amostra foi lida utilizando-se o espectrofotômetro no comprimento de onda 324 nm, que corresponde à máxima absorção do ACG.

A concentração de ACG nos grãos de café verde foi calculada a partir da equação obtida na curva de calibração do ACG padrão. Com as absorvâncias medidas no comprimento de onda de 324 nm, foi possível determinar a quantidade de ACG presente nas amostras, por meio das equações (1), (2) e (3).

$$\text{Massa}_{ACG}(\text{mg}) = \frac{C_{ACG} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}}\right) * V_{amostra}(\text{mL})}{1000} \quad (1)$$

$$\text{Teor de ACG}(b.u)\% = \frac{\text{Massa}_{ACG}(\text{mg})}{\text{massa de café da amostra}(\text{mg})} * 100 \quad (2)$$

$$\text{Teor de ACG}(b.s)\% = \frac{\text{Massa}_{ACG}(\text{mg})}{\text{massa seca de café da amostra}(\text{mg})} * 100 \quad (3)$$

Recobrimento

O polímero utilizado para o recobrimento visando a um perfil de liberação entérica é o Eudragit® L100, da Evonik. O preparo da suspensão polimérica seguiu as recomendações do fabricante. A concentração de sólidos utilizada foi de 15%, conforme Tabela 1. As partículas foram recobertas utilizando o leito fluidizado (Zelus, LF-50). O ar de fluidização foi fornecido pelo compressor radial (IBRAM, CR6), que é aquecido através de uma resistência elétrica controlada pelo regulador PID (Novus, N1100). A temperatura do ar de entrada é monitorada utilizando-se o termopar e deve ser mantida na faixa de 35°C a 45°C . A solução polimérica de Eudragit L100 foi bombeada através de uma bomba peristáltica (IPC/IPC-N, Ismatec), até um aspersor do tipo duplo fluido, com vazão com 15% de sólidos (1,5 g/min a 3,5 g/min).

Tabela 1 - Base da formulação polimérica

Substância	Fabricante	Quantidade (%)
Eudragit®L100	Evonik	10
Hidróxido de amônio	Haloquímica	5
Trietil-Citrato	Jungbunzlauer	5
Talco puro	Synth	5
Água		75

Com base no conhecimento adquirido nos ensaios exploratórios foi proposto um planejamento fatorial completo, com triplicata no ponto central, totalizando 7 experimentos, para o estudo do processo de recobrimento. As variáveis de entrada estudadas foram a temperatura do ar de entrada (35 °C a 45 °C) e a vazão de alimentação da suspensão (2,5 g/min a 3,5 g/min). As variáveis operacionais massa de material (0,210 g), pressão de atomização do ar (1,5 kgf·cm²) foram mantidas em valores fixos. A vazão média do ar de fluidização variou de 197 N·m³·h⁻¹ a 230 N·m³·h⁻¹. Como respostas foram analisadas a umidade das partículas, a eficiência do processo, o ganho de camada real, o teor de ACG e a perda do teor de ACG. Para cada variável de resposta foi proposto um modelo matemático. A significância estatística dos modelos e a qualidade do ajuste foram determinadas pela análise de variância (ANOVA), realizando-se o teste F de Fischer. De acordo com esse teste, para um modelo ser considerado significativo, o valor de F calculado para verificar a significância da regressão deve ser maior do que o valor de F tabelado. Para o modelo ser considerado preditivo, o valor de F calculado para verificar a falta de ajuste deve apresentar um valor menor que o valor de F tabelado.

Dissolução *in vitro*

Para a quantificação da liberação de ACG dos grãos de café verde em meio ácido (pH 1,2) e meio básico (pH 7,2), nos ensaios de dissolução *in vitro*, foram estabelecidas as curvas de calibração utilizando-se o padrão de ACG da *The United States Pharmacopeial Convention (USP)*. A preparação do fluido gástrico (meio ácido pH 1,2) e intestinal (meio básico pH 7,2), utilizados na dissolução *in vitro*, seguiu o padrão da farmacopeia americana (USP XXXII, 2009). As soluções estoques foram preparadas com uma concentração de 100 mg·L⁻¹ em meio ácido e meio básico, das quais foram preparadas soluções diluídas de concentrações de 5, 10, 15, 20 e 25 mg·L⁻¹, em vidrarias envoltas em papel alumínio e protegidas da luz. As absorbâncias das soluções foram lidas no espectrofotômetro UV/Vis em comprimento de onda 324 nm. Os testes de dissolução foram baseados na farmacopeia americana (USP XXXII, 2009). Nestes testes são simuladas as condições do trato gastrointestinal, com objetivo de analisar o comportamento de liberação de ativos presentes nos grãos. As análises foram realizadas no dissolutor (Nova Ética, Brasil), com o auxílio de uma balança analítica, cubetas de quartzo e seringas. Para o ensaio em meio ácido, preparou-se 6 litros de fluido gástrico conforme a farmacopeia americana. Cada cuba do dissolutor foi preenchido com 900 mL de fluido gástrico e foram pesadas 100 mg de amostras de café verde para cada cesto do dissolutor. O dissolutor foi previamente programado para manter a temperatura em 37 °C, pelo período de 2 horas para as análises do meio ácido, com rotação em 100 rpm para cada cesto. As alíquotas foram retiradas nos tempos (5, 10, 15, 30, 40, 60, 80, 100, 120) minutos após o início do ensaio de cada cuba utilizando-se seringas de 5 mL. Estas amostras foram analisadas no espectrofotômetro UV/VIS, comprimento de onda 324 nm. O meio básico seguiu as mesmas configurações do dissolutor que o meio ácido. Para o preenchimento das 6 cubas foram preparados 6 litros do meio básico com pH 7,2 e pesados 100 mg de café verde para cada cesto. As amostras foram retiradas nos tempos 5, 10, 15, 30, 40, 60, 80, 100, 120 minutos após o início do ensaio e analisadas no espectrofotômetro UV/Vis, comprimento de onda 324 nm.

Resultados e Discussão

Caracterização física dos grãos de café verde *in natura*

O valor médio de esfericidade dos grãos de café verde é de $0,66 \pm 0,12$. Belay *et al.* (2014) encontraram valores próximos (entre 0,64 e 0,67) para grãos de café verde com 10,22% de umidade em base úmida. Huamaní-Meléndez *et al.* (2021) e Araujo (2019) encontraram faixas de valores ligeiramente maiores, $0,695 \pm 0,009$ a $0,732 \pm 0,007$ e 0,72 a 0,81, respectivamente. As imagens de micrografia obtidas no Microscópio Estéreo (Figura 1) confirmam o formato não esférico das partículas.

Figura 1 - Grãos de café verde *in natura* (ampliação 10 x)

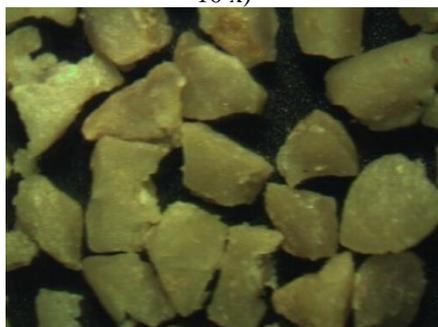
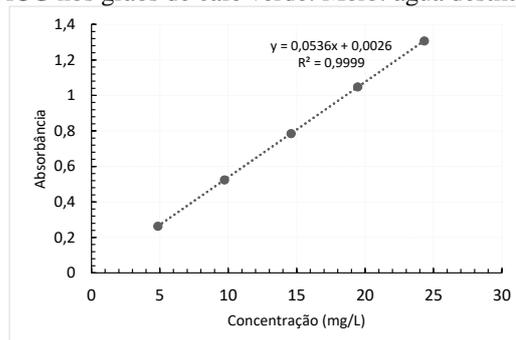


Figura 2 - Curva de calibração para quantificação do ACG nos grãos de café verde. Meio: água destilada



Teor de ACG

A curva de calibração para determinação do teor de ACG nos grãos de café verde *in natura* e recobertos é apresentada na Figura 2. O ajuste linear apresentou boa qualidade, com R^2 próximo da unidade (0,9999). A Equação 4 determina a concentração de ACG presente nas amostras de café verde.

$$C_{ACG} (mg/L) = \frac{ABS - 2,6 \cdot 10^{-3}}{5,5 \cdot 10^{-2}} \quad (4)$$

O teor de ACG nos grãos de café verde *in natura* obtido por meio do processo de extração foi de $8,88 \pm 0,09\%$, em base seca, correspondendo a $81,47 \pm 0,81$ mg/g, em base úmida. Este teor está próximo ao maior valor (8,4 %) da faixa relatada por Farah *et al.* (2006), e superior em aproximadamente três pontos percentuais ao valor médio (6,2%) encontrado por (Dado *et al.* 2019), para grãos de café arábica. O teor de ACG determinado no presente estudo também corrobora com a faixa de $61,15 \pm 1,40$ mg/g a $86,42 \pm 2,04$ mg/g encontrada por (Moon *et al.*, 2009), em grãos de café verde orgânicos.

Recobrimento

As variáveis respostas analisadas no processo de recobrimento (umidade das partículas, a eficiência do processo, o ganho de camada real, o teor de ACG e a perda do teor de ACG) estão apresentadas na Tabela 2. O teor de umidade das partículas recobertas variou entre 6,91% e 15,47% (b.u.), o ganho de camada real variou entre 14,26% e 19,77%, o teor de ACG entre 4,60% e 6,58%, a perda do teor de ACG variou de 13,20% a 37,95 % e a eficiência do processo de recobrimento entre 66,60% e 92,80%. Os valores dos teores de ACG nos grãos recobertos variaram entre 4,6% e 6,58%, inferiores aos encontrados nos grãos de café *in natura* (8,88%), devido ao ganho polimérico conferido no processo de recobrimento. Observa-se que há perdas do teor de ACG em todos os ensaios. Dentre as possíveis causas para este fenômeno está a degradação do ACG à exposição a luz (Turgo & Macrae, 1984), uma vez que durante o recobrimento os grãos são expostos a luz por um período aproximado de 2 horas. Outro fator é a presença do polímero de recobrimento, que cria uma barreira dificultando a extração do ACG

em grãos recobertos. Além disso, o ACG sofre decomposição oxidativa em contato com o ar, sendo que sob aquecimento esta taxa de decomposição aumenta (Owusu-Ware *et al.*, 2013). Além disso, fatores ambientais ou mecânicos que alterem a estrutura da membrana externa do café ativam a polifenoloxidase, que oxidam os ácidos clorogênicos à quinonas (Amorim, 1978), desta forma a perda de ACG nos grãos recobertos, pode estar correlacionada com a atividade enzimática da polidenoloxidase.

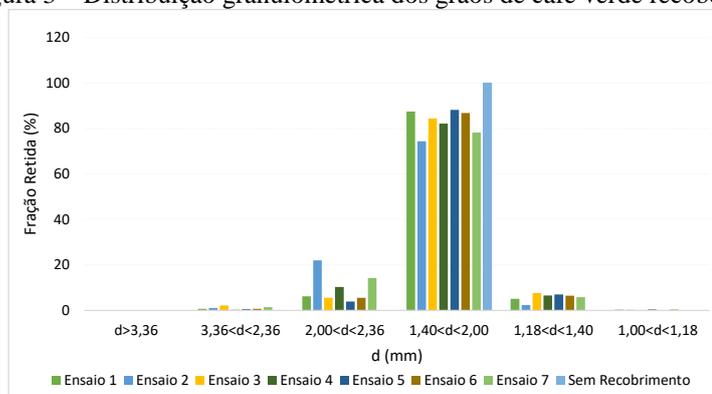
Tabela 2 - Resultados dos ensaios de recobrimento dos grãos de café verde

Ensaio	T (°C)	Vazão	η (%)	Ganho camada real (%)	U (b.u) (%)	Perda de Teor ACG (%)	Teor ACG exp (%) (b.s)
1	35	2,5	84,23	18,30	11,01	17,68	6,18
2	35	3,5	88,91	19,43	15,47	13,99	6,39
3	45	2,5	66,60	14,26	6,91	31,52	5,32
4	45	3,5	92,80	19,77	8,15	37,95	4,60
5	40	3,0	77,19	15,98	8,64	20,70	6,07
6	40	3,0	76,00	16,32	8,47	16,90	6,34
7	40	3,0	80,11	17,03	8,58	13,20	6,58

Observa-se que que menores temperaturas resultaram em menores perdas do teor de ACG (T= 35°C, ensaio 1 e ensaio 2) e que altas temperaturas (T=45 °C, ensaio 3 e ensaio 4) estão relacionadas com maiores perdas de teor. Pode-se observar que o ensaio 4 (T=45 °C e Q=3,5 g/min) resultou em uma maior eficiência (92,80%) e ganho de camada real (19,77%). A vazão de suspensão polimérica favoreceu o umedecimento das partículas, já a temperatura favoreceu a secagem da suspensão. Verifica-se também que o uso de alta temperatura aliada à baixa vazão (T = 45 °C e Q = 2,5 g·min⁻¹, ensaio 3), resultou em menor umidade (6,91%), menor ganho de camada polimérica (14,26%) e menor eficiência de processo (66,6%). Esse resultado pode ser atribuído ao uso de alta temperatura do ar aliada à baixa vazão de suspensão, que proporcionam menor umidade no interior do leito aumentando a taxa de secagem. Com isso, a secagem da suspensão pode ter ocorrido antes de entrar em contato com as partículas. Tais condições, dificultam a formação de uma camada uniforme da suspensão sobre a superfície das partículas, implicando em menor eficiência, ganho de camada e umidade das partículas.

A distribuição granulométrica antes e após o recobrimento das partículas é apresentada na Figura 3. Observa-se um aumento no tamanho das partículas, o que é representado pelo surgimento de partículas com tamanho maior que 2,36 mm. Contudo a maior porcentagem de fração retida permaneceu na faixa granulométrica inicial de 1,40 mm a 2,00 mm. A presença de partículas com diâmetros menores pode ser justificada por meio da quebra dos grãos dentro do leito fluidizado, devido ao atrito entre as partículas durante o processo.

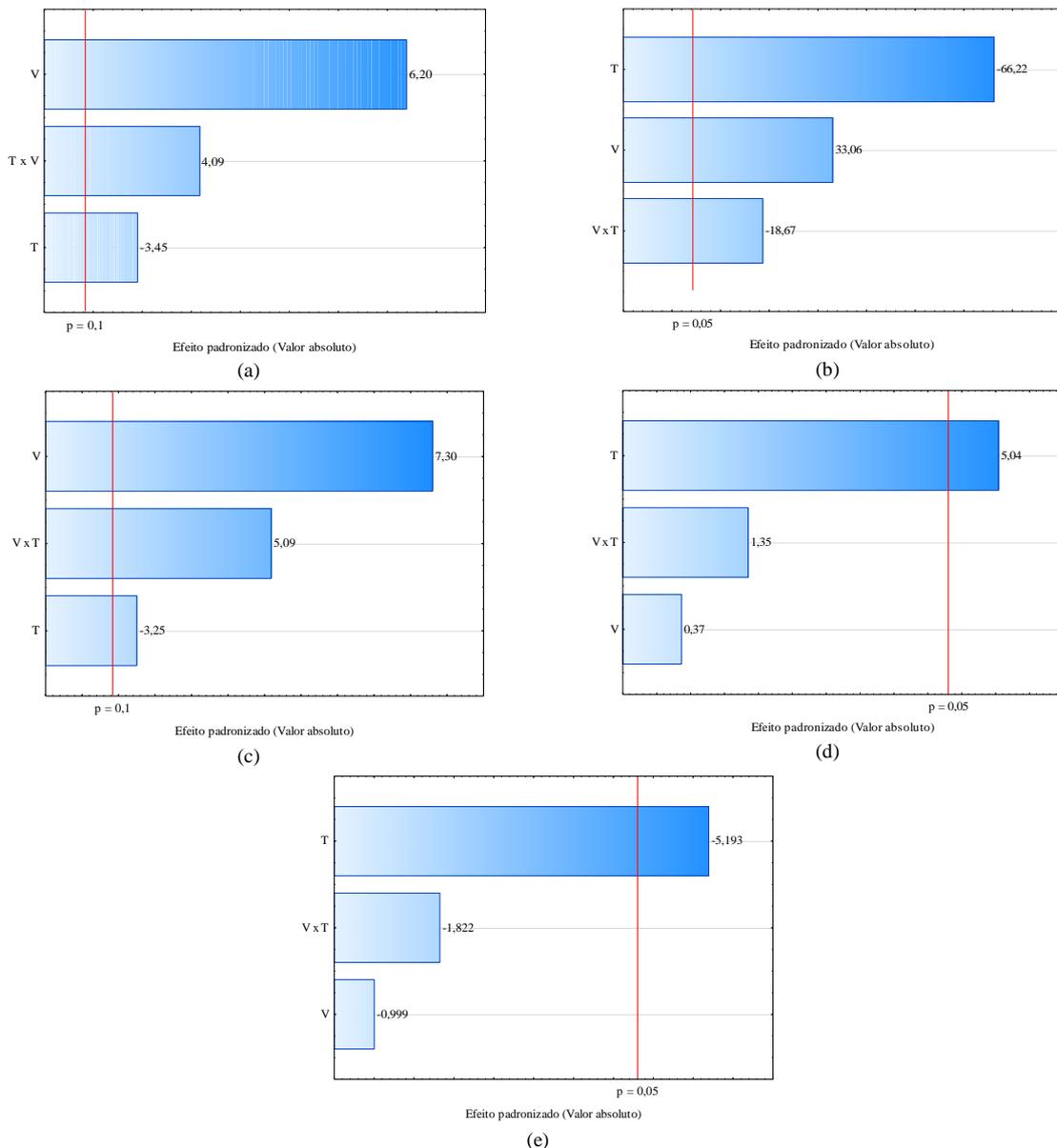
Figura 3 – Distribuição granulométrica dos grãos de café verde recobertos



Os gráficos de Pareto para as respostas estudadas são apresentados na Figura 4. Os efeitos estatisticamente significativos se localizam à direita do limiar de significância ($p < 0,05$) para o teor de umidade (b), perda de teor de ACG (d) e teor de ACG (e). Já para o ganho de

camada real (a) e eficiência (c), os gráficos normais indicaram que todos os efeitos são significativos, o que foi observado com 90 % de confiança ($p < 0,1$). Na Figura 4 (a), (b) e (c) verifica-se que o efeito da vazão de suspensão é positivo, indicando que o aumento da vazão proporciona maior ganho de camada, maior teor de umidade e maior eficiência de processo. O efeito negativo da temperatura foi observado na Figura 4 (a), (b), (c) e (e), sugerindo que o aumento da temperatura proporciona menores valores de ganho de camada real, teor de umidade, eficiência de processo e teor de ACG. A perda do teor de ACG, Figura 4 (d), está diretamente relacionada ao efeito positivo da temperatura, sendo que o aumento da temperatura proporciona maior perda do teor de ACG.

Figura 4 - Gráficos de Pareto para: (a) Ganho de camada real (b) Teor de umidade (c) Eficiência (d) Perda do Teor de ACG (e) Teor de ACG



Os valores do teste F de Fisher estão apresentados na Tabela 3. Observa-se que o modelo linear proposto não é significativo para o ganho de camada e o teor de umidade (F calculado $<$ F tabelado para a regressão de resíduos). Além disso, o modelo não é preditivo para o teor de umidade e eficiência de processo (F calculado $>$ F tabelado para a falta de ajuste). O modelo linear também não é adequado para a perda de teor e o teor de ACG, apesar de ser significativo e preditivo, uma vez que os resíduos não se distribuem aleatoriamente.

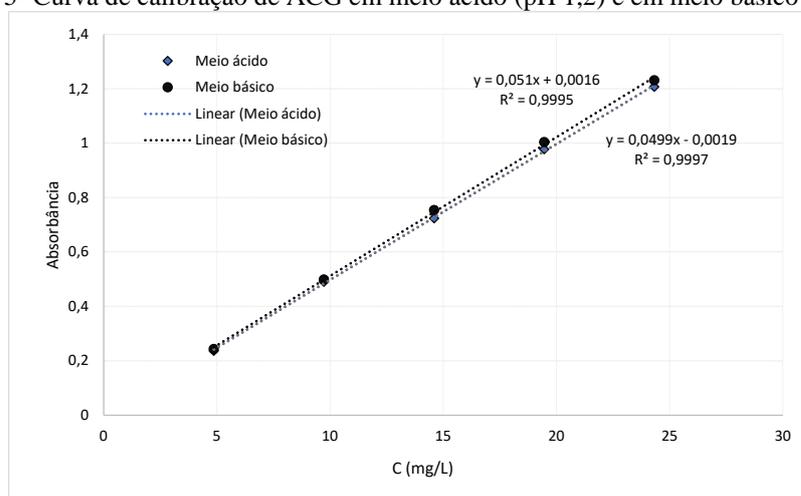
Tabela 3 - Valores de Fisher calculados e tabelados para as respostas

Variável	Regressão de resíduos		Falta de Ajuste	
	F calculado	F tabelado	F calculado	F tabelado
Ganho de camada Real	4,36	5,39	13,38	8,53
Teor de umidade	7,59	9,28	765,65	18,51
Eficiência	6,88	5,39	11,05	8,53
Perda de teor ACG	10,2	6,61	3,48	19,614
Teor de ACG	6,91	6,61	5,84	19,614

Curva de calibração meio ácido e básico

As curvas de calibração para a quantificação de ACG liberado no meio ácido (pH 1,2) e no meio básico (pH 7,2) estão representadas na Figura 5. O ajuste linear apresentou boa qualidade para os dois meios (R^2 próximos da unidade).

Figura 5- Curva de calibração de ACG em meio ácido (pH 1,2) e em meio básico (pH 7,2)



Dissolução in vitro

Os perfis de liberação do ACG nos grãos de café verde *in natura* estão apresentados nas Figura 6 e Figura 7, para o meio ácido (pH 1,2) e meio básico (pH 7,2), respectivamente. Nos primeiros 5 minutos de dissolução no meio ácido (pH 1,2) há a liberação de 21,2% do ACG e após 2 horas, mais de 80 % do teor de ACG, sugerindo a necessidade de realizar o recobrimento dos grãos de café verde com polímero de liberação entérica. Nos primeiros 5 minutos de dissolução no meio básico (pH 7,2) há a liberação de 20,7% do ACG e após 2 horas aproximadamente de 75 % do teor de ACG presentes nos grãos de café verde já havia sido liberado.

Figura 6 – Liberação de ACG em meio ácido (pH 1,2) em grãos de café verde *in natura*

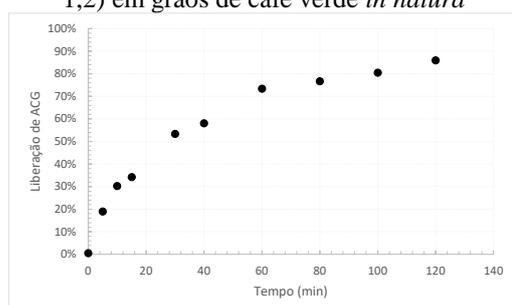
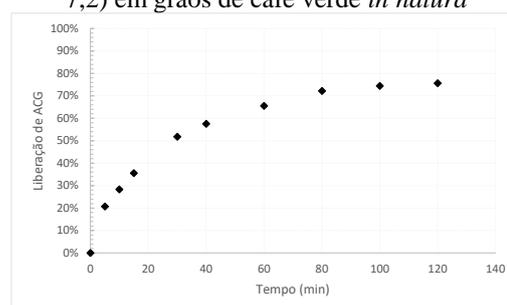


Figura 7 - Liberação de ACG em meio básico (pH 7,2) em grãos de café verde *in natura*



Os testes de dissolução em meio ácido e básico foram realizados nos grãos recobertos no ensaio 7 e estão apresentados na Figura 8. Observa-se que em meio ácido a liberação foi reduzida em 50% aproximadamente nos 15 primeiros minutos quando comparado com o perfil de liberação dos grãos sem recobrimento, contudo ocorreu a liberação completa do ACG no período de 120 minutos, sugerindo que o ganho de camada real não foi suficiente para conferir o perfil de liberação entérico. Este resultado corrobora com Shi *et al.* (2007) que estudaram o perfil de liberação do ACG encapsulado pela levedura *Yeast-cells*. Os autores observaram que ocorre a liberação significativa do ACG nos primeiros minutos em ambos os meios.

Figura 8 - Teste de dissolução em meio ácido e básico de grãos recobertos

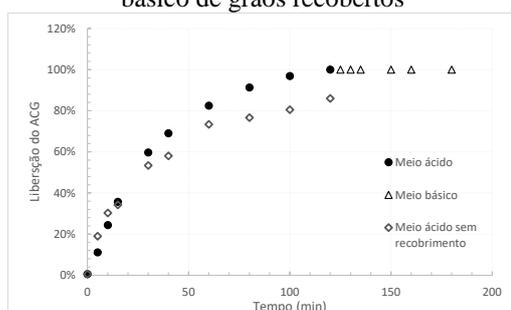
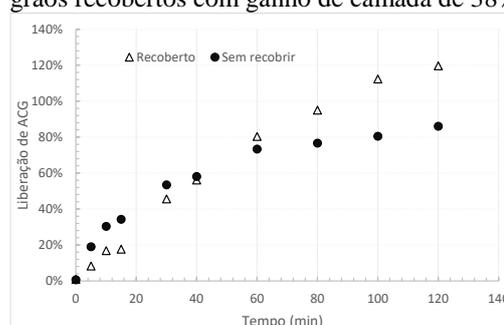


Figura 9 - Liberação do ACG em meio ácido dos grãos recobertos com ganho de camada de 38%



O ganho de camada de 17%, adquirido no processo de recobrimento, não conferiu o perfil de liberação entérica aos grãos de café verde *in natura*. Portanto, como alternativa realizou-se um novo recobrimento visando adquirir um ganho de camada superior, visto que ganhos de camada superiores conferem uma liberação mais lenta dos ativos (Azeem, *et al.*, 2016; Algerate, *et al.*, 2014). O ganho de camada nas novas condições de processo foi de 38,42%, com uma eficiência de processo de 86,98%. As amostras foram submetidas ao ensaio de dissolução para verificar se o perfil entérico foi conferido aos grãos recobertos. Observa-se na Figura 9 que ocorreu a liberação no meio ácido de 17% do ACG em 10 min, portanto não conferindo o perfil de liberação entérico desejado.

Conclusões

O perfil de liberação do ACG nos grãos de café verde em fluido gástrico simulado sugere a necessidade do recobrimento polimérico para uma liberação entérica. Os ganhos de camada polimérica de 17% e 38% nos processos de recobrimento com Eudragit L100 não conferiram o perfil de liberação entérico nos grãos de café verde com diâmetro médio de *Sauter* de 1,70 mm.

Referências Bibliográficas

- Abrahão, S., Pereira, R., Lima, A., Ferreira, E., & Malta, M. (2008). Compostos bioativos em café integral e descafeinado e qualidade sensorial da bebida. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, **43**.
- Algerate, N., Olalde, B., Atorrasagasti, G., Valero, J., Cifuentes, S., Benavente, R., Lieblich, M., Gonzalez-Carrasco, J.L., Biodegradable Bi-layered M coating on polymeric orthopaedic implants. *Materials Letters*, n. 132, p. 193-195, 2014.
- Azeem, B., KuShaaria, K., & Man, Z. (2016). Effect of Coating Thickness on Release Characteristics of Controlled Release Urea Produced in Fluidized Bed Using Waterborne Starch Biopolymer as Coating Material. *Procedia Engineering*, **148**, 282-289.
- Belay, A.; Ture, K.; Redi, M.; Asfaw, A. Measurement of Caffeine in Coffee Beans with UV/Vis Spectrometer. *Food Chemistry*, **108**, p. 310-315, 2008.
- Brunton, L., Parker, K., Blumenthal, D., & Buxton, I. (2010). *Goodman & Gilman: manual de farmacologia e terapêutica*. Porto Alegre: AMGH.

- Cho, A., Jeon, S., Kim, M., Yeo, J., Seo, K., Choi, M., & Lee, M. (2010). Chlorogenic acid exhibits anti-obesity property and improves lipid metabolism in high-fat diet-induced-obese mice. *Food and Chemical Toxicology*, **48**, 937-943.
- Costa, M. (2003). *Peletização de Sementes de Brócolos em Leite de Jorro Cônico*. Universidade Estadual de Campinas. Tese de Doutorado em Engenharia Química.
- Dado, A., Asresahegn, Y., & Gorova, G. (2019). Determination of chlorogenic acid content in beans and leaves of coffee arabica using UV/Vis spectrometer. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*, **13**, 58-63.
- El- Seedi, H., El-Said, A., Khalifa, S., Goransson, U., Bohlin, L., Borg-Karlson, A., & Verrpoorte, R. (2012). Biosynthesis, natural sources, dietary intake, pharmacokinetic properties, and biological activities of hydroxycinnamic acids. *Food Chem*, **60**, 10877-10895.
- Farah, A., Paulis, T., Turgo, C., & Martin, R. (2005). Effect of roasting on the formation of chlorogenic acid lactones in coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**, 1505-1513.
- Fuentes, E., Caballero, J., Alarcón, M., Rojas, A., & Palomo, I. (2014). Chlorogenic acid inhibits human platelet activation and thrombus formation. *PLOS One*, **9**.
- Gaascht, F., Dicato, M., & Diederich, M. (2015). Coffee provides a natural multitarget pharmacopeia against the hallmarks of cancer. *Genes and Nutrition*, **10**, 1-17.
- Garambone, E., & Glorimar, R. (2008). Possíveis benefícios do ácido clorogênico à saúde. *Alimentos e Nutrição*, **18**, 229-235.
- Iniesta, R., & Al-Dujaili, E. (2014). Consumption of green coffee reduces blood pressure and body composition by influencing 11 β -HSD1 enzyme activity in healthy individuals: A pilot crossover study using green and black coffee. *BioMed Research International*, 1-10.
- Moon, J., Yoo, H., & Shibamoto, T. (2009). Role of roasting conditions in the level of chlorogenic acid content in coffee beans: correlation with coffee acidity. *Journal of Agricultural and food chemistry*, **57**, 5365-5369.
- Moreira, M., Pereira, R., Dias, D., Gontijo, V., Vilela, F., de Moares, G., . . . Santos, M. (2013). Anti-inflammatory effect of aqueous extracts of roasted and green *Coffea arabica* L. *Journal of Functional foods*, **5**, 466-474.
- Ong, K., Hsu, A., & Tan, B. (2013). Anti-diabetic and anti-lipidemic effects of chlorogenic acid are mediated by ampk activation. *Biochemical Pharmacology*, **85**, 1341-1351.
- OWusu-Ware, S., Chowdhry, B., Leharne, S., & Antonijevic, M. (2013). Quantitative analysis of overlapping process in the non-isothermal decomposition of chlorogenic acid by peak fitting. *Thermochimica Acta*, **565**, 27-33.
- Remington, J. (2004). *A ciência e a prática da farmácia*. Guanabara Koogan, **20**, 2208.
- Shi, G., Liquin, r., Huazhong, Y., Hua, X., Pen, G., Long, S., & Yang, C. (2007). Yeast-cell-based microencapsulation of chlorogenic acid as a water-soluble antioxidant. *Journal of Food Engineering*, **80**, 1060-1067.
- Silva, S. (2003). *Desenvolvimento do processo de recobrimento e secagem de microgranulos em leite fluidizado*. Tese de Doutorado em Engenharia Química.
- Tavares, A. (2002). *A questão do café commodity e sua precificação: o "C Market" e a classificação, Remuneração, e qualidade do café*. Universidade Estadual de Campinas.
- Tavares, L., & Ferreira, A. (2006). Análises quali e quantitativa de cafés comerciais via ressonância magnética nuclear. *Química nova*, **29**.
- Turgo, L., & Macrae, R. (1984). A study of the effect of roasting on the chlorogenic acid composition of coffee using HPLC. *Food Chemistry*, **15**, 219-227.
- Vardanyan, R., & Hruby, V. (2016). *Hypolipidemic and Antihyperlipidemic Drugs. Synthesis of Best-Seller Drugs* (1 ed., pp. 285-315). Academic Press.
- Yashin, A., Yashin, Y., Wang, J., & Nemzer, B. (2013). Antioxidant and antiradical activity of coffee. *Antioxidant*, **2**, 230-245.