

APLICAÇÃO DE FERRAMENTA *IN SILICO* PARA EXPLORAÇÃO DE NOVOS SOLVENTES VISANDO A EXTRAÇÃO DE ÁCIDO CLOROGÊNICO A PARTIR DE CAFÉ ARÁBICO VERDE E DE ERVA-MATE

Palavras-Chave: ÁCIDO 5-CAFEOILQUÍNICO, SOLVENTE EUTÉTICO, COSMO-RS

Autores:

ÉRICA KAORI MATSUSAKA IJICHI, FCA – UNICAMP

ANNA GIULIA CORREIA MENINO, FCA – UNICAMP

Dr. FELIPE SANCHEZ BRAGAGNOLO, FCA – UNICAMP

Dr^a. MONIQUE MARTINS STRIEDER (Coorientadora), FCA - UNICAMP

Prof. Dr. MAURICIO ARIEL ROSTAGNO (Orientador), FCA - UNICAMP

INTRODUÇÃO:

A utilização de tecnologias *in silico* para o desenvolvimento de novos solventes com intuito de extrair compostos bioativos, os quais tem a finalidade de enriquecimento de alimentos, tem representado uma estratégia promissora na área da indústria alimentícia. Neste cenário, este projeto visa o desenvolvimento de um novo solvente natural para a extração do ácido 5-cafeoilquínico (5-CQA), também conhecido como ácido clorogênico, a partir do café arábico verde e da erva-mate.

O 5-CQA é um composto fenólico amplamente encontrado em plantas, especialmente no café verde (Gallardo-Ignacio et al., 2023). No entanto, uma quantidade considerável desse composto é perdida durante a torra do café, devido à hidrólise, que resulta em sua degradação em compostos fenólicos simples (Gallardo-Ignacio et al., 2023).

Por outro lado, o 5-CQA está em uma maior quantidade na erva-mate pós-processada, quando comparado com ela *in natura*, devido à inativação das enzimas polifenol oxidase e

peroxidases, as quais degradam o ácido clorogênico (dos Santos et al., 2023).

Estudos apontam benefícios à saúde ligados ao ácido 5-CQA, como: a redução do risco de doenças neurodegenerativas (Gallardo-Ignacio et al., 2023) e a regulação do metabolismo da glicose e dos lipídios. Portanto, utilizá-los como um aditivo alimentar pode ser uma estratégia promissora para a indústria, trazendo benefícios aos seus consumidores.

Para a extração de 5-CQA a partir do café e da erva-mate, com posterior aplicação em alimentos, diferentes estratégias têm sido avaliadas. Em geral, essas abordagens envolvem a utilização de solventes orgânicos, como água, etanol, metanol entre outros para a extração do composto. Após a obtenção do extrato, este é submetido a um processo de secagem, resultando em um extrato seco que pode ser incorporado a alimentos.

No entanto, com o objetivo de simplificar o processo e reduzir o número de etapas, uma estratégia promissora é o uso de solventes que

possam ser diretamente incorporados em formulações alimentícias, eliminando a necessidade de etapas adicionais de separação ou purificação.

Para este propósito, a seleção de solventes empregando técnicas *in silico* como o software COSMO-RS (*C*Onductor-like *S*creening *M*Odels *f*or *R*ealistic *S*olvents) auxiliam a definir potenciais misturas de compostos alimentícios para produção de solventes eutéticos com alta solubilidade para o composto alvo: ácido clorogênico.

Dessa forma, o objetivo desse estudo foi desenvolver solventes eutéticos a partir de compostos alimentícios e a predição do COSMO-RS para extrair 5-CQA de café verde e erva-mate. Para tal fim, diferentes relações molares dos compostos naturais selecionados por COSMO-RS foram testadas em comparação ao solvente convencional empregando (85:15 água:etanol, v/v). Assim, o extrato que apresentou o maior teor de 5-CQA será futuramente caracterizado quanto a sua estabilidade em produtos alimentícios.

METODOLOGIA:

2.1 Materiais

Os materiais utilizados foram o café arábico verde (Figura 1A) e a erva-mate (Figura 1B), comprados em comércio local em Limeira – SP. Eles foram moídos e as frações retidas nas peneiras de diâmetro de 180 mm, 300 mm e 500 mm foram misturadas e utilizadas nesse estudo.



Figura 1 - Café arábico verde (A) e erva-mate (B) empregados nesse estudo.

2.2 Seleção do Solvente

A escolha dos componentes utilizados para alimentar o COSMO-RS baseou-se na seleção de compostos com potencial aplicação em alimentos, com o objetivo de viabilizar a obtenção de extratos prontos para uso, sem a necessidade de remoção do solvente. Esses compostos foram selecionados das bases de dados apresentadas nos estudos de Omar, et al. (2023) e Bragagnolo, et al. (2024) os quais reúnem potenciais compostos naturais para a formulação de solventes eutéticos. A composição dos solventes foi definida buscando misturas de compostos com solubilidade para extrair 5-CQA. As combinações de cada composto foram escolhidas com base nos valores do coeficiente de atividade de diluição infinita ($\ln \gamma_\infty$) em relação ao 5-CQA.

2.3 Preparo do Solvente

As misturas sugeridas por COSMO-RS que apresentaram menor $\ln \gamma_\infty$ em relação ao 5-CQA foram tentativamente formulados na relação molar de 1:1, pesando as respectivas massas. Após pesadas as composições, elas foram homogeneizadas sob aquecimento $\sim 80^\circ\text{C}$ até a formação de uma mistura translúcida. Caso a mistura não se formasse, 10% de água (em base mássica) era adicionada à formulação para verificar a formação de um sistema solvente translúcido.

A primeira formulação que permaneceu translúcida após o preparo foi selecionada para ser estudada para extração de 5-CQA. Essa mistura (não divulgada devido à natureza confidencial e ao potencial de proteção por patente) foi formulada e testada para extração nas relações molares de 1:1, 1:2 e 2:1. Todas com adição de 10% (em base mássica) de água destilada. Um solvente convencional (85:15 água:etanol) foi empregada como controle.

A Figura 2 apresenta a imagem dos solventes obtidos.

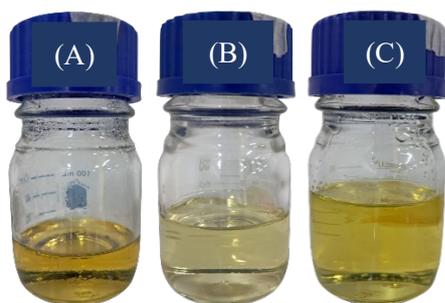


Figura 2 - Solvente produzido nas proporções: 1:1 (A), 1:2 (B) e 2:1 (C).

2.4 Extração

Em um becker de 50 mL, foi pesado 15 g do solvente. Ele foi aquecido na placa agitadora magnética até atingir 70°C. Após atingida a temperatura, 1,5g do material (café arábico verde e erva-mate) foi adicionada ao solvente, sendo magneticamente agitado por 5 min.

Após a extração, 10 g de água foi adicionada a mistura para favorecer a filtração para separação do material sólido. Assim, essa mistura foi filtrada empregando papel filtro e logo foi diluída e preparada para análise de 5-CQA.

2.5 Identificação e quantificação do 5-CQA

O método para identificação e quantificação de 5-CQA nos extratos de café seguiu o protocolo descrito por Strieder, et al. (2024) por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detector de Arranjo de Diodos (HPLC-PDA). Já o empregado para as amostras de erva-mate seguiu o método descrito por Souza, et al. (2021). Os compostos foram separados em uma coluna Kinetex C18 (100 × 4,6 mm di, 2,6 µm, Phenomenex, Torrance, EUA) usando um de fluxo de 1 ml/min. A fase móvel consistiu de 0,1% de ácido acético (v/v) em água (solvente A) e 0,1% ácido acético (v/v) em acetonitrila (solvente B). O 5-CQA foi detectado e quantificado em 350 nm, A identificação do composto foi realizada comparando seu tempo de retenção e espectros UV-vis com seu padrão de referência e a quantificação empregando uma curva padrão (0,5 a 200 ppm).

2.6 Análise estatística

A diferença das médias foi verificada por análise de variância (ANOVA) utilizando o software Minitab 18 com nível de confiança de 95% (valor de $p \leq 0,05$). O teste de médias de Tukey foi realizado com nível de confiança de 95% (valor de $p \leq 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

3.1 Identificação do 5-CQA

As figuras 3 e 4 apresentam os cromatogramas obtidos a 350 nm para identificação e quantificação de 5-CQA nos extratos obtidos de café verde e de erva-mate. Além da identificação do 5-CQA, outros dois compostos previamente tentativamente identificados na amostra de café: ácido 3-cafeoilquínico (3-CQA) e ácido 3-O-feruloil-D-quínico ou ácido 4-O-feruloil-D-quínico (FQA) foram quantificados (Strieder et al., 2024). Na amostra de erva-mate também foi tentativamente identificado o 3-CQA, como indicado na Figura 4.

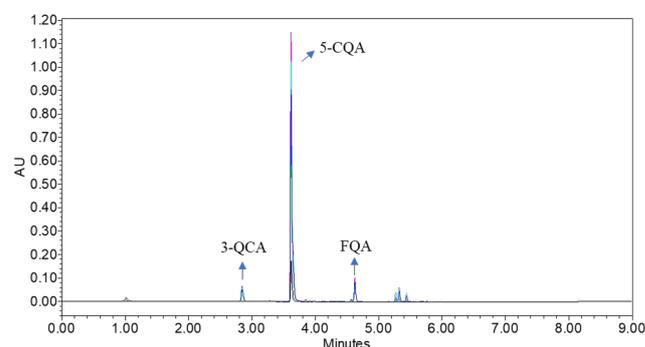


Figura 3 - Cromatogramas obtidos para os extratos de café verde e padrão.

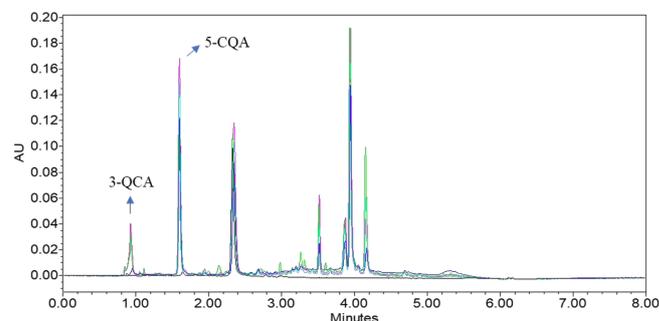


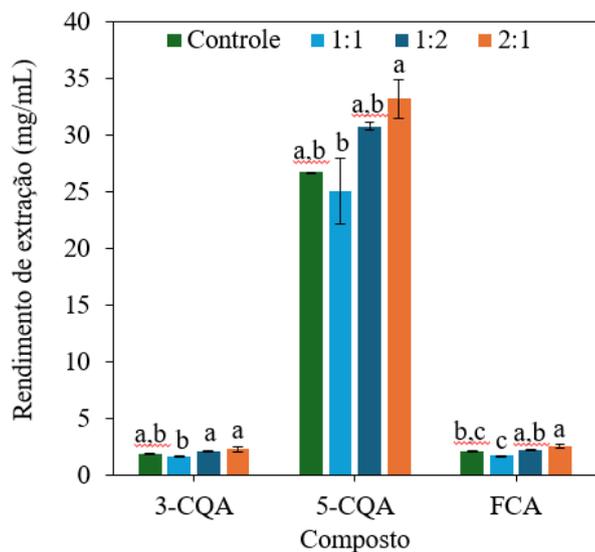
Figura 4 - Cromatogramas obtidos para os extratos de erva-mate e padrão.

Os perfis dos cromatogramas foram os mesmos, variando apenas na sua intensidade,

independentemente do solvente empregado para a extração.

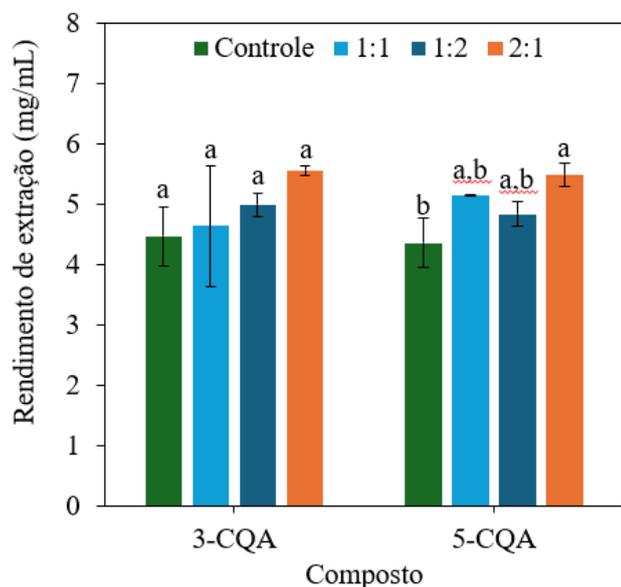
3.2 Rendimento de extração

As Figuras 5 e 6 apresentam o rendimento de extração obtido por cada solvente para cada composto extraído do café verde e da erva-mate.



Barras com letras diferentes apresentam diferença pelo teste de Tukey com 95% de significância (valor de $p \leq 0,05$).

Figura 5 - Efeito do solvente no rendimento de extração dos compostos do café verde.



Barras com letras diferentes apresentam diferença pelo teste de Tukey com 95% de significância (valor de $p \leq 0,05$).

Figura 6 – Efeito do solvente no rendimento de extração dos compostos da erva-mate.

Os maiores rendimentos de 5-CQA foram obtidos com o solvente preparado pela mistura

2:1, independente da fonte (café e erva-mate). Além disso, ele permitiu maior rendimento que o controle, solvente que têm apresentado maiores rendimentos para extração de 5-CQA de café.

Esse comportamento pode ser explicado pela predição dos potenciais sigmas (σ) pelo COSMO-RS apresentados na Figura 7.

Pode-se observar que o composto 1 apresenta perfil mais similar ao 5-CQA do que o composto 2, o que pode indicar a maior solubilidade do solvente 2:1 para extração do 5-CQA.

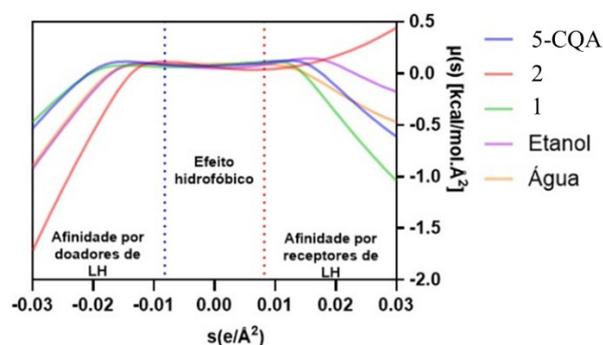


Figura 7 – Potencial σ gerado por COSMO-RS para o 5-CQA e os componentes dos solventes.

CONCLUSÕES:

Foi possível produzir um solvente com ingredientes naturais com alta eficiência para extração de 5-CQA do café e da erva-mate. Além disso, o programa COSMO-RS, demonstrou-se eficiente nas predições, uma vez que os resultados experimentais seguiram o predito. Futuros estudos envolverão a otimização da extração empregando a tecnologia de ultrassom de alta eficiência e a aplicação do extrato em produtos alimentícios.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a FAPESP, (#2021/12264-9, #2022/10469-5, #2018/14582-5, #2019/13496-0) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (108581/2025-0).

BIBLIOGRAFIA

Bragagnolo, F. S., et al. *Revisiting natural deep eutectic solvents (NADES) as extraction media and ready-to-use purposes*. TrAC Trends in Analytical Chemistry, (2024) 175, 117726. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2024.117726>.

dos Santos D. F. et al., *Yerba Mate (Ilex paraguariensis) Processing and Extraction: Retention of Bioactive Compounds*. Plant Foods for Human Nutrition (2023) 78:526-532. <https://doi.org/10.1007/s11130-023-01082-6>.

Gallardo-Ignacio J., et al. *Chemical and Biological Characterization of Green and Processed Coffee Beans from Coffee arabica Varieties*. Molecules (2023), 28(12), 4685. <https://doi.org/10.3390/molecules28124685>.

Omar, K. A., and Sadeghi, R. *Database of deep eutectic solvents and their physical properties: A review*. Journal of Molecular Liquids, (2023) 384, 121899. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2023.121899>.

Souza, M. C. *Simultaneous extraction and separation of compounds from mate (Ilex paraguariensis) leaves by pressurized liquid extraction coupled with solid-phase extraction and in-line UV detection*. Food Chemistry: Molecular Sciences, (2021), 2. <https://doi.org/10.1016/j.fochms.2020.200008>.

Strieder M. M., et al. *Screening and Characterization of 1,8-Cineole-Based Solvents as an Plant-Based Milk Coproducts*. ACS Sustainable Chem. Eng. (2024), 12, 16052-16063. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.4c05897>.

Strieder M. M., et al. *The impact of using an expansion gas with high-intensity ultrasound on the pressurized liquid extraction of bioactive compounds from an industrial coffee solid residue*. Innovative Food Science and Emerging Technologies (2024), 92, 103575. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2024.103575>.

Strieder M. M., et al. *Simultaneous extraction, separation, and analysis of 5-caffeoylquinic acid and caffeine from coffee co-product by PLE-SPE × HPLC-PDA two-dimensional system*. Food Research

International (2024), 175, 113690. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113690>.

Wen, C., et al. *Advances in ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from cash crops – A review*; Ultrasonic – Sonochemistry 48 (2018) 538-549. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.07.018>.