

# EXTRAÇÃO DE ÁCIDO CLOGÊNICO DO CAFÉ ARÁBICO VERDE E ERVA MATE A PARTIR DO DESENVOLVIMENTO DE NOVOS SOLVENTES EUTÉTICOS

**Palavras-Chave:** ÁCIDO 5-CAFEOLQUÍNICO, COSMO-RS, SOLVENTE EUTÉTICO PROFUNDO

**Autores(as):**

**GIOVANNA OLIVEIRA DO CARMO, FCA – UNICAMP**

**Dr. FELIPE SANCHEZ BRAGAGNOLO, FCA – UNICAMP**

**Prof. Dr. MAURÍCIO ARIEL ROSTAGNO (Coorientador), FCA – UNICAMP**

**Dr<sup>a</sup>. MONIQUE MARTINS STRIEDER (Orientadora), FCA- UNICAMP**

---

## INTRODUÇÃO:

O ácido 5-cafeoilquínico (5-CQA), popularmente conhecido como ácido clorogênico é um dos compostos fenólicos mais abundantes em matrizes vegetais (Nguyen, et al., 2024), o qual tem sido amplamente relacionado a efeitos benéficos à saúde humana, como a redução do risco de doenças neurodegenerativas (Gallardo-Ignacio et al., 2023) e a modulação dos metabolismos da glicose e dos lipídios. Sua aplicação como aditivo alimentar funcional pode, portanto, oferecer benefícios relevantes aos consumidores, por meio do enriquecimento do produto a ser consumido. Fontes vegetais como o café arábico verde (Rozas, et al., 2024) e a erva-mate (Vieira, et al., 2009) são particularmente ricas em 5-CQA, o que as torna matrizes promissoras para a obtenção desse composto. Além de amplamente disponíveis, essas matérias-primas representam oportunidades estratégicas para a valorização de biomassa vegetal nacional.

Na indústria, o aumento da conscientização sobre a importância da adoção de métodos e procedimentos sustentáveis na produção tem impulsionado diversas iniciativas voltadas à transição de processos convencionais a alternativas verdes, caracterizadas por seu menor impacto ambiental (Kim Ung Ling, et al., 2022). Nesse cenário, os solventes eutéticos profundos naturais (NADES) vêm se consolidando como soluções promissoras frente aos solventes orgânicos sintéticos, especialmente nos setores alimentício e farmacêutico, por apresentarem composição biodegradável, baixa toxicidade e elevada eficiência na extração de compostos bioativos (Kim Ung Ling, et al., 2022).

Dessa forma, para aprimorar o processo de seleção e otimização de NADES, técnicas de modelagem molecular como o COSMO-RS (*Conductor-like Screening MOdel for Real Solvents*) têm sido empregadas. Esse modelo computacional permite prever o comportamento termodinâmico de misturas líquidas e avaliar a afinidade entre solvente e soluto (Klamt, et al., 2010). Neste caso, visando à interação com o 5-CQA, constituinte do café arábico verde e da erva-mate, reduzindo etapas experimentais e garantindo maior eficiência na formulação dos solventes. Diante disso, o objetivo desse estudo foi o desenvolvimento de novos solventes naturais para extração de 5-CQA a partir do café arábico verde e a erva-mate, de modo que possam ser aplicados diretamente em produtos alimentícios, sem a necessidade de etapas adicionais de separação.

## **METODOLOGIA:**

### **Materiais**

A erva-mate e café arábico verde foram comprados em comercio local de Limeira-SP e foram moídos a partículas de diâmetros entre 180 e 500  $\mu\text{m}$ . Os componentes dos solventes foram adquiridos da Dinâmica e da Sigma.

### **Seleção e preparação dos Solventes**

Inicialmente, para realizar o preparo dos solventes, formulações foram propostas pelo software COSMO-RS considerando diferentes proporções molares e diferentes compostos alimentícios, resultando no solvente eutético profundo utilizado neste projeto, constituído por um poliol e um aminoácido (não divulgada devido à natureza confidencial e ao potencial de proteção por patente). A composição do solvente foi definida buscando misturas de compostos com solubilidade para extrair o 5-CQA. Seguiu-se, portanto, o desenvolvimento do solvente de mesma composição em proporções molares distintas, sendo: 1:1; 1:2; 1:3; 1:4 e 1:5, com adição de 10% de água em base mássica. As misturas foram pesadas de acordo com sua relação molar, adicionadas de 10% de água e homogeneizadas em agitador magnético sob aquecimento de  $\sim 80^\circ\text{C}$ .

### **Extração do 5-CQA**

Antes de iniciar o processo de extração foi montado um sistema simples de filtração com a utilização de um suporte universal, garras, funis de vidro e filtro qualitativo. O procedimento se iniciou a partir da pesagem de 15 g de solvente, o qual foi conduzido à chapa de aquecimento para que alcançasse a temperatura de  $70^\circ\text{C}$ , controlada por termômetro digital. Além disso, houve a pesagem de 1,5 gramas de material (café verde ou erva-mate), e 10 g de água, ambos em béqueres de 50 ml. Quando o solvente atingiu a temperatura de  $70^\circ\text{C}$ , o material sólido foi adicionado a ele e então iniciou-se o período de extração sob agitação magnética por 5 min. Ao final desse tempo, o béquer foi retirado da chapa e então houve a adição da água, posteriormente havendo a mistura da solução com uso de uma espátula visando a facilitação da filtração. A mistura foi então filtrada com papel filtro e diluída para análise de 5-CQA. Todas as extrações, das diferentes frações molares, foram realizadas pelo menos em duplicata. A extração também foi realizada com um solvente convencional, uma solução de etanol:água 85:15 em base mássica para que houvesse comparação com a extração feita com uso dos solventes produzidos.

### **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 ( $100 \times 4,6$  mm di,  $2,6 \mu\text{m}$ , 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).

### **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 DISCUSSÃO:**

### **Identificação do 5-CQA**

A Figura 1 apresenta os cromatogramas obtidos a 350 nm para identificação e quantificação de 5-CQA nos extratos obtidos de café (Figura 1A) e de erva-mate (Figura 1B). 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 2. Além disso, pode-se observar que os perfis dos cromatogramas foram os mesmos, variando apenas na sua intensidade, independentemente do solvente empregado para a extração.

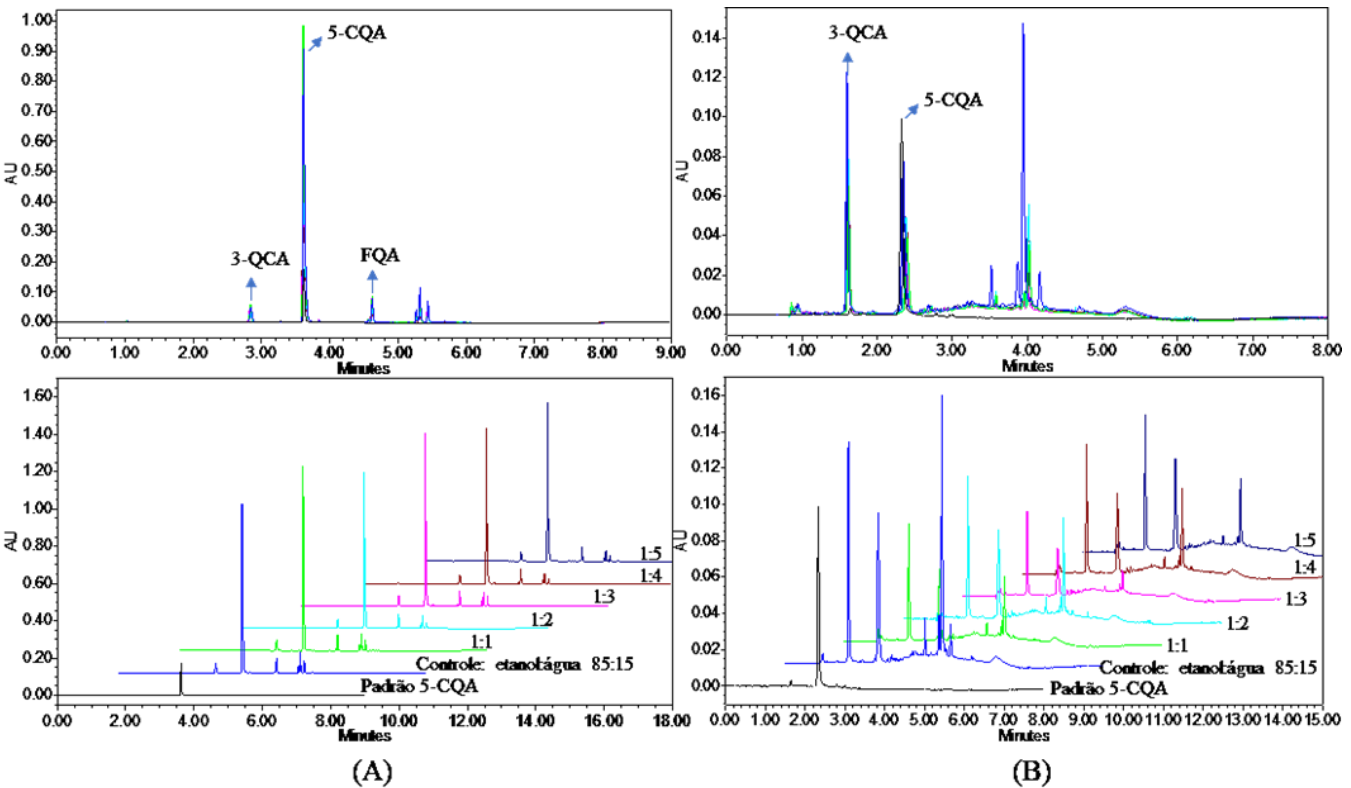
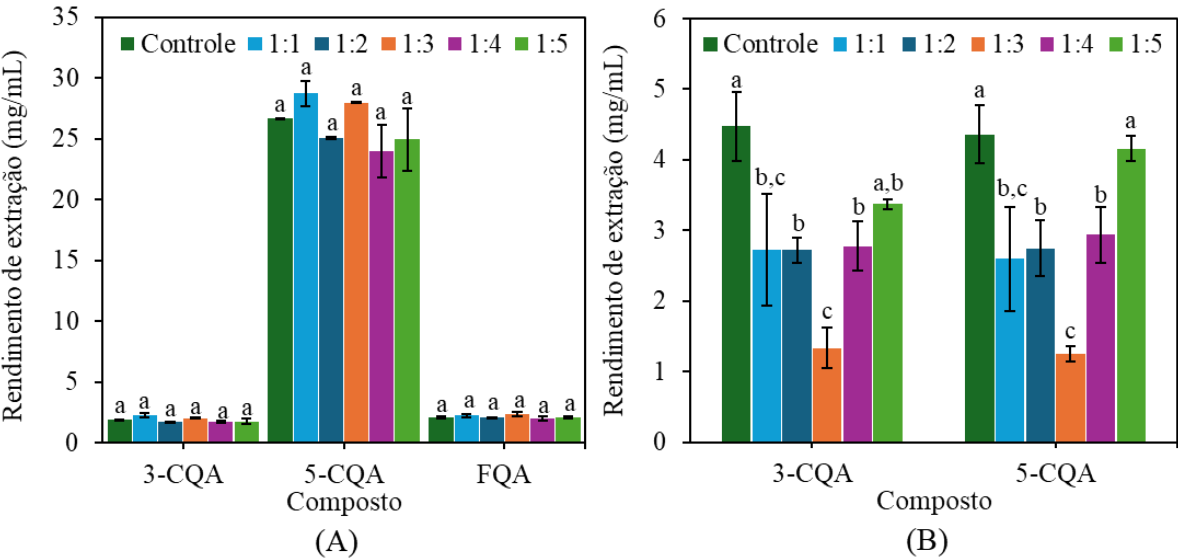


Figura 1. Cromatogramas obtidos para (A) os extratos obtidos a partir de café verde e o padrão de 5-CQA e (B) os extratos obtidos de erva-mate e o padrão de 5-CQA.

### Rendimento de extração

A Figura 2 apresenta os rendimentos de extração obtidos com os diferentes solventes utilizados na extração dos compostos do (A) café e da (B) erva-mate.



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

Figura 2 - Efeito do solvente no rendimento de extração dos compostos obtidos do (A) café verde e da (B) erva-mate.

O tipo de solvente não teve um efeito significativo na extração de 3-CQA, 5-CQA e FQA a partir do café verde (Figura 2A), indicando que qualquer um dos solventes avaliados permitiu a mesma eficiência de extração. Por outro lado, para erva-mate o solvente preparado pela mistura 1:5 permitiu os maiores rendimentos considerando os solventes desenvolvidos, mas sua eficiência não foi melhor do que o solvente convencional (15:85 etanol:água) para extração de 3-CQA, isômero do 5-CQA. A diferença de eficiência dos solventes para extrair o mesmo composto de materiais diferentes pode estar relacionada a fatores relacionadas as características físicas das duas biomassas, uma vez que teoricamente, considerando os resultados de solubilidade determinados por COSMO-RS as solubilidades dos solventes para o composto alvo deveria ser a mesma. Outro aspecto bastante importante que pode ter afetado a transferência de massa do 5-CQA e do 3-CQA das biomassas para os solventes está relacionada a viscosidade dos solventes. As misturas desenvolvidas apresentaram uma viscosidade visualmente muito maior do que o solvente convencional, o que reduz contato solvente-soluto, reduzindo eficiência de extração. Futuramente iremos analisar a viscosidade de cada um dos solventes para melhor avaliar esse efeito.

A maior eficiência do solvente formado pela mistura 1:5 na extração de 5-CQA da erva-mate pode estar relacionada à maior afinidade e solubilidade do composto-alvo no segundo componente da mistura. Esse comportamento é ilustrado na Figura 3, que apresenta a predição dos perfis e potenciais sigma ( $\sigma$ ) obtidos pelo COSMO-RS para os componentes dos solventes e para o 5-CQA. Observa-se que o segundo componente da mistura (linha verde) possui um perfil  $\sigma$  mais semelhante ao do 5-CQA (linha azul) do que o componente 2 (linha vermelha), o que pode indicar uma maior solubilidade do 5-CQA no solvente 1:5.

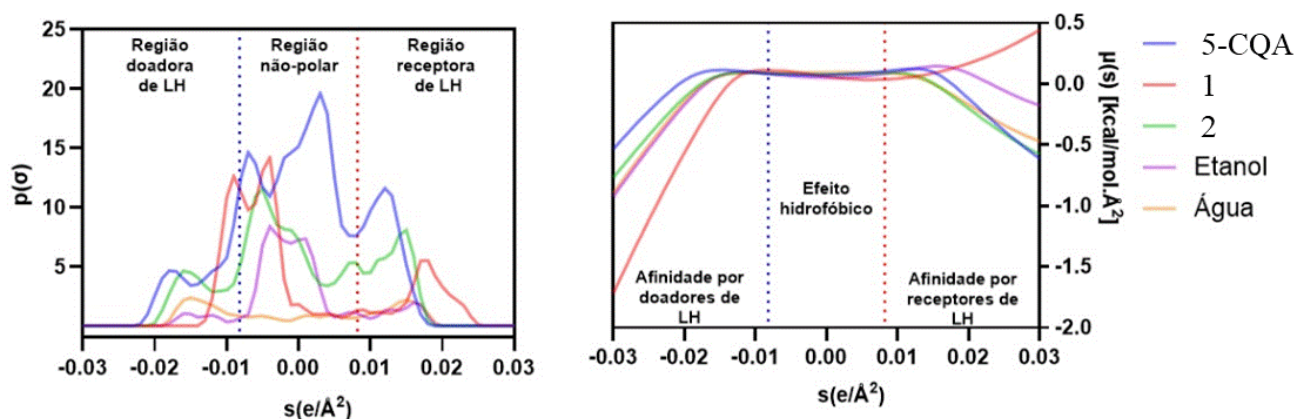


Figura 3 - Perfil e potencial  $\sigma$  gerado por COSMO-RS para o 5-CQA e os componentes dos solventes.

## CONCLUSÕES:

Após seguir adequadamente as etapas apresentadas na metodologia deste projeto, foi possível produzir novos solventes baseados em compostos naturais que podem ser diretamente aplicados em formulações alimentícias. Além disso, os solventes alternativos demonstraram desempenho comparável ao do solvente convencional na extração de 3-CQA, 5-CQA e FCA a partir do café verde, reforçando seu potencial como substitutos sustentáveis. Por outro lado, para extração de 3-CQA e 5-CQA de erva-mate o solvente produzido na proporção molar 1:5 foi o que apresentou melhor desempenho, mas menor eficiência para extração do 3-CQA do que a mistura convencional de 15:85 etanol:água. Essas diferenças ainda serão melhor exploradas, mas as características físicas dos materiais, bem como a viscosidade dos solventes podem ter contribuído para a diferenciação. Além disso, de acordo com os perfis e potenciais  $\sigma$  gerados por COSMO-RS a maior quantidade do segundo componente na mistura 1:5 pode ter favorecido a solubilidade do 5-CQA nesse solvente. Etapas futuras serão direcionadas à otimização do processo

extrativo utilizando tecnologia de ultrassom de alta eficiência, além da aplicação do extrato obtido no desenvolvimento de produtos alimentícios.

---

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos a FAPESP (#2021/12264-9, #2022/10469-5) pelo financiamento da pesquisa.

## 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>.
- 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>.
- Klamt A, Eckert F, Arlt W. COSMO-RS: an alternative to simulation for calculating thermodynamic properties of liquid mixtures. *Annu Rev Chem Biomol Eng*. 2010;1:101-22. doi: 10.1146/annurev-chembioeng-073009-100903. PMID: 22432575.
- Ling JKU, Hadinoto K. Deep Eutectic Solvent as Green Solvent in Extraction of Biological Macromolecules: A Review. *Int J Mol Sci*. 2022 Mar 21;23(6):3381. doi: 10.3390/ijms23063381. PMID: 35328803; PMCID: PMC8949459.
- Lu, H., Tian, Z., Cui, Y., Liu, Z., and Ma, X. (2020). Chlorogenic acid: A comprehensive review of the dietary sources, processing effects, bioavailability, beneficial properties, mechanisms of action, and future directions. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 19(6), 3130-3158.
- Nguyen V, Taine EG, Meng D, Cui T, Tan W. Chlorogenic Acid: A Systematic Review on the Biological Functions, Mechanistic Actions, and Therapeutic Potentials. *Nutrients*. 2024 Mar 23;16(7):924. doi: 10.3390/nu16070924. PMID: 38612964; PMCID: PMC11013850.
- 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>.
- Vieira, M. A., et al. "Análise de compostos fenólicos, metilxantinas, tanino e atividade antioxidante de resíduo do processamento da erva-mate: uma nova fonte potencial de antioxidantes." *International Workshop—Advances In Cleaner Production*. Vol. 2. 2009.