



III CIBAP Azores 2013

III Congresso Iberoamericano de Peloides
III Congreso Iberoamericano de Peloides
3rd Iberoamerican Congress of Peloids

Ponta Delgada, São Miguel, Açores
1-7.10.2013

LIVRO DE ACTAS LIBRO DE ACTAS PROCEEDINGS



João Carlos Nunes, João Baptista Silva, Celso Figueiredo Gomes
(editores)





III Congresso Iberoamericano de Peloides
III Congreso Iberoamericano de Peloides
3rd Iberoamerican Congress of Peloids

Ponta Delgada, São Miguel, Açores
1-7.10.2013

LIVRO DE ACTAS LIBRO DE ACTAS PROCEEDINGS



João Carlos Nunes, João Baptista Silva, Celso Figueiredo Gomes
(editores)

Pele de prata do café como fonte de compostos bioativos para incorporação em peloides

Anabela Costa¹, Ana F. Vinha², M. Antónia Nunes³,
Rita C. Alves⁴ & M. Beatriz P. P. Oliveira⁵

¹ Engenheira Química (MSc), REQUIMTE/ Dep. Ciências Químicas, Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, Rua de Jorge Viterbo Ferreira, 228, 4050-313 Porto, Portugal, acosta@ff.up.pt

² Engenheira Alimentar (PhD), REQUIMTE/ Dep. Ciências Químicas, Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, Rua de Jorge Viterbo Ferreira, 228, 4050-313 Porto, Portugal; FCS, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, 296, 4200-150, Porto, Portugal, anafvinha@gmail.com

³ Nutricionista (MSc), REQUIMTE/ Dep. Ciências Químicas, Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, Rua de Jorge Viterbo Ferreira, 228, 4050-313 Porto, Portugal, antonianun@gmail.com

⁴ Farmacêutica (PhD), REQUIMTE/ Dep. Ciências Químicas, Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, Rua de Jorge Viterbo Ferreira, 228, 4050-313 Porto, Portugal/ Instituto Superior de Engenharia do Porto, Rua Dr. António Bernardino de Almeida, 431, 4200-072 Porto Portugal, rita.c.alves@gmail.com

⁵ Farmacêutica (PhD), Prof. Associada, REQUIMTE/ Dep. Ciências Químicas, Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, Rua de Jorge Viterbo Ferreira, 228, 4050-313 Porto, Portugal, beatoliv@ff.up.pt

RESUMO

A valorização de resíduos agroalimentares em subprodutos de valor acrescentado é uma necessidade premente numa sociedade que visa a sustentabilidade ambiental, social e económica. Deste modo, promove-se a redução dos lixos a tratar, obtendo-se mais-valias onde só se tinha despesa.

Neste estudo usou-se a pele de prata do café, um subproduto sem valor acrescentado da indústria de torrefação do café como fonte de compostos bioativos com ação antioxidante. Estudou-se o efeito das principais variáveis que afetam os rendimentos de extração e a atividade antioxidante dos extratos.

Quantificou-se o teor em compostos fenólicos totais e flavonoides, bem como a atividade antioxidante (FRAP) e anti-radicalar (DPPH•).

A composição dos extratos variou significativamente com as condições utilizadas. No entanto, é possível obter uma solução de compromisso entre os vários métodos de extração e os parâmetros analisados. A extração com 50% de etanol e 50% de água, durante 60 minutos, à temperatura de 40°C, permitiu a obtenção dos extratos mais ricos em compostos fenólicos e, simultaneamente, com uma elevada capacidade antioxidante. Estas condições permitem, comparativamente com outras "mais eficazes" para um ou outro parâmetro, uma redução de custos, por economia de tempo e de energia.

A atividade antioxidante determinada sugere que a incorporação deste tipo de extratos em peloides poderá ter efeito benéfico.

Palavras chave

Pele de prata, Compostos bioativos, Atividade antioxidante, Sustentabilidade.

ABSTRACT

The recovery and transformation of waste from food industry into value added byproducts is an essential issue to accomplish in such a demanding society that aims environmental, social and economic sustainability. Therefore, the reduction of waste to be treated results in capital gains rather than costs.

We studied coffee silverskin, a non-value added byproduct of the coffee roasting industry, as a potential source of bioactive compounds with antioxidant activity. Besides that, we also studied the effect of the main variables that may affect the yield of extraction and the antioxidant activity of the extracts.

Total phenolic compounds and flavonoids were quantified, as well as the antioxidant (FRAP) and radical scavenging (DPPH•) activities.

The composition of the extracts was significantly affected by the conditions used. However, it is possible to attain a compromise solution between the various extraction methods and determined parameters. The extraction with 50% ethanol and 50% water, during 60 minutes, at 40°C, originated extracts with higher phenolic compounds contents and, simultaneously, improved antioxidant activity.

Compared with other conditions, “more efficient” for some parameters, these allow a cost reduction, with time and energy savings.

The antioxidant activity determined in silverskin extracts suggests that its incorporation in peloids may have potential beneficial effects.

Keywords

Silverskin, Bioactive compounds, Antioxidant activity, Sustainability.

INTRODUÇÃO

Atingir um desenvolvimento sustentável que responda às necessidades das gerações atuais sem comprometer o futuro das próximas (Bond e Morrison-Saunders, 2011) tornou-se uma prioridade. Encontrar novas fontes sustentáveis, matérias-primas e processos para responder às necessidades crescentes é fundamental. Urge criar sinergias e oportunidades entre os diversos sectores da indústria agroalimentar. A utilização de processos sustentáveis deve ter repercussão na redução de custos ou aumento de receita (Wognum et al., 2011).

Os compostos bioativos, de natureza antioxidante, presentes naturalmente nos subprodutos, têm despertado interesse devido aos efeitos benéficos na saúde e bem-estar. A pele de prata é a película que está diretamente em contacto com o grão de café. Fortemente ligada ao grão verde, esta película só se destaca após a torra, por não se expandir da mesma forma que o grão, perante as elevadas temperaturas desta etapa do processamento (Esquivel e Jiménez, 2012). Embora seja o resíduo maioritário da torrefação do café, a pele de prata é talvez o subproduto da indústria do café menos estudado e explorado, com grande viabilidade para ser incorporado em produtos da indústria alimentar e cosmética.

A Sociedade Internacional de Hidrologia Médica definiu peloides como “produtos naturais, consistindo na mistura de uma água mineral (água mineral natural, água do mar, ou água salgada de um lago) com matérias orgânicas ou inorgânicas, resultantes de processos geológicos ou biológicos, ou conjuntamente de uns e outros, utilizados com fins terapêuticos sob a forma de cataplasmas ou de banhos”. Os peloides são sistemas vivos em constante alteração. O interesse terapêutico não está simplesmente nos seus constituintes sólidos ou líquidos, mas também na possibilidade de “enriquecimento” natural ou artificial (Teixeira, 2011).

Este trabalho visa valorizar a pele de prata como fonte de antioxidantes naturais, a sua possível incorporação em coloides e produtos cosméticos, contribuindo para a redução dos resíduos da indústria de torrefação do café.

METODOLOGIA

Reagentes

Acetato de sódio, ácido gálico, cloreto férrico, cloreto de alumínio, DPPH• (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo), epicatequina, reagente de Folin–Ciocalteu, nitrito de sódio, sulfato ferroso, trolox e TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazina) foram adquiridos à Sigma-Aldrich (St. Louis, U.S.A). Carbonato de sódio, etanol absoluto e hidróxido de sódio foram adquiridos à Merck (Darmstadt, Alemanha).

Amostras e preparação das amostras

A amostra analisada foi cedida por uma indústria de torrefação (Bicafé - Torrefacção e Comércio de Café, Lda) e era constituída por 51% de café arábica e 49% de café robusta. Após receção, a amostra foi moída em moinho Retsch GM200, e posteriormente utilizada na obtenção dos diferentes extratos.

Extração de compostos bioativos

De modo a estudar as condições ótimas de extração testaram-se diferentes misturas de solventes (diferentes polaridades), tempos e temperaturas de extração.

Misturou-se 1 g de amostra e 50 ml solvente (100% água, 75% água/25% etanol, 50% água/50% etanol, 25% água/75% etanol e 100% etanol) a diferentes temperaturas (25°C, 30°C, 40°C, 50°C e 60°C) durante 30 min, 60 min, 90 min e 180 min.

A extração foi efetuada em triplicado, em placa de aquecimento, com agitação constante de 600 rpm, e os extratos obtidos filtrados para posterior análise. Os extratos foram congelados a -25°C até análise.

Neste trabalho foram determinados os teores em compostos fenólicos totais e flavonoides, bem como a atividade antioxidante (FRAP) e anti-radicalar (DPPH•) dos extratos.

Compostos fenólicos totais

O teor de compostos fenólicos totais dos extratos foi determinado por um método espectrofotométrico, utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu (RFC), segundo metodologia previamente descrita (Alves *et al.*, 2010). Resumidamente, colocaram-se 500 µl de extrato num tubo de ensaio adicionando 2,5 ml de RFC diluído em água desionizada (1:10). Adicionaram-se 2,0 ml de carbonato de sódio (7,5% m/v) para alcalinizar a solução e colocou-se em banho-maria a 45°C durante 15 minutos ao abrigo da luz. Deixou-se em repouso à temperatura ambiente durante 30 minutos. Efetuaram-se as leituras a 765 nm.

Para elaborar a curva de calibração utilizou-se um padrão de ácido gálico (10-100 mg/L; $r=0,9997$) e os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico por L de extrato.

Flavonoides totais

Os flavonoides totais foram determinados por um método espectrofotométrico seguindo uma metodologia previamente descrita (Barroso *et al.*, 2011) com ligeiras modificações.

Num tubo de ensaio colocou-se 1 ml de extrato, 4 ml de água destilada e 300 µl de nitrito de sódio a 25%. Após 5 minutos adicionaram-se 300 µl de $AlCl_3$ a 10% e aguardou-se 1 minuto. Adicionaram-se 2 ml de solução de hidróxido de sódio 1mol/L e 2,4 ml de água destilada. Efetuaram-se as leituras a 510 nm.

Os flavonoides totais foram calculados utilizando uma reta de calibração de epicatequina (50-450 mg/L; $r=0,9998$) e os resultados foram expressos em mg de equivalentes de epicatequina por L de extrato.

Atividade antioxidante

Capacidade de neutralização do radical DPPH•

Efetuaram-se algumas alterações ao método descrito por Barroso *et al* (2011). O método consistiu em adicionar a 14 µl de extrato, 186 µl de solução etanólica de DPPH• ($9,3 \times 10^{-5}$ mol/L), agitar

e efetuar as leituras a 525 nm, de 10 em 10 minutos, até a reação estabilizar. Baixos valores de absorvência indicam maior capacidade de neutralizar radicais livres.

Foi preparada uma curva de calibração com trolox (25-175 mg/L; $r=0,9995$) e os resultados foram expressos em mg de equivalentes de trolox por L de extrato.

Poder antioxidante por redução do ião férrico (Método FRAP)

O método consiste na redução do complexo Fe(III)/ferricianeto $[\text{FeCl}_3/\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6]$ a Fe(II), forma ferrosa, pela presença do composto antioxidante na solução. Assim, determinou-se o poder antioxidante por redução do ião férrico, segundo metodologia previamente descrita (Benzie e Strain, 1996).

Num tubo de ensaio colocaram-se 90 μl de extrato, 270 μl de água destilada e 2,7 ml de reagente FRAP (750 ml de tampão acetato 0,3 M, 75 ml solução TPTZ 10 mM e 75 ml cloreto férrico 20 mM). Homogeneizou-se e colocou-se em banho-maria a 37°C. Após 30 minutos efetuaram-se as leituras a 595 nm. Foi preparada uma curva de calibração com sulfato ferroso (50-450 mg/L; $r=0,9998$) e os resultados foram expressos em mg de equivalentes de sulfato ferroso por L de extrato.

Análise estatística

Todos os ensaios foram efetuados em triplicado. Os valores foram expressos como médias aritméticas \pm desvio padrão. As diferenças estatísticas foram avaliadas seguindo a análise da variância (ANOVA) a três fatores. Foram fixados os fatores: solventes (100, 75, 50, 25 e 0% de água), tempo de extração (30, 60, 90 e 180 minutos) e temperaturas (25, 30, 40, 50 e 60°C). As médias foram comparadas utilizando um teste de Tukey para comparações entre grupos, utilizando o programa IBM SPSS Statistics 20. Consideraram-se diferenças significativas para $p < 0,05$ (com um intervalo de confiança de 95%).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com os vários métodos de extração utilizados, obtiveram-se extratos com colorações distintas, o que comprova a sua diferente composição química. De facto, de acordo com os resultados obtidos para os parâmetros analisados, verificou-se que a variação das condições de extração influenciava significativamente a quantidade e a qualidade dos compostos bioativos extraídos.

Os solventes (água e etanol) isoladamente apresentaram o pior comportamento na extração, para todas as temperaturas estudadas. Com as misturas de solventes, verificaram-se comportamentos variáveis com o aumento da temperatura. Assim, à temperatura ambiente a melhor mistura, foi 75% etanol/25% água. Nas restantes temperaturas ensaiadas, prevaleceu a mistura 50% etanol/50% água.

Na escolha da temperatura que permitisse obter o extrato com maior teor de compostos fenólicos e poder redutor, verificou-se que as temperaturas de 50°C e 40°C foram as que permitiram a obtenção dos melhores resultados. Dada a similaridade de valores, a escolha ficou dependente do tempo de extração. À temperatura de 40°C, a mistura 50% etanol/50% água apresentou o melhor desempenho aos 60 minutos para os compostos fenólicos e para o poder redutor (Figuras 1 e 3). Em relação aos teores de flavonoides totais estes compostos são mais eficazmente extraídos com solventes menos polares e temperaturas mais elevadas. No entanto, verificou-se um comportamento atípico. Inicialmente, aos 30 minutos, os teores determinados foram elevados, baixaram ao fim de 1 hora e subiram ligeiramente ao fim de 90 e 180 minutos. Pelos resultados obtidos, parece possível inferir que para a obtenção de extratos ricos em flavonoides é suficiente um tempo de extração de 30 minutos (fig.2).

No caso da capacidade anti-radicalar, verifica-se que a relação de solventes 25% água/75% etanol à temperatura de 30°C com 60 min. de extração é a que tem melhor comportamento (fig.4).

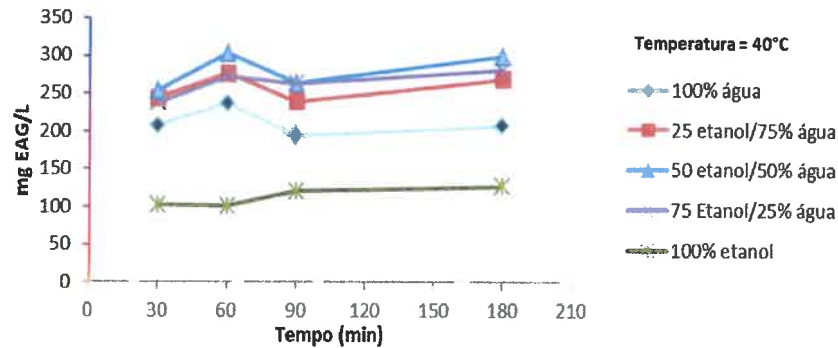


Figura 1 - Extração de compostos fenólicos, fazendo variar o solvente à temperatura de 40°C, e ao longo do tempo de extração.

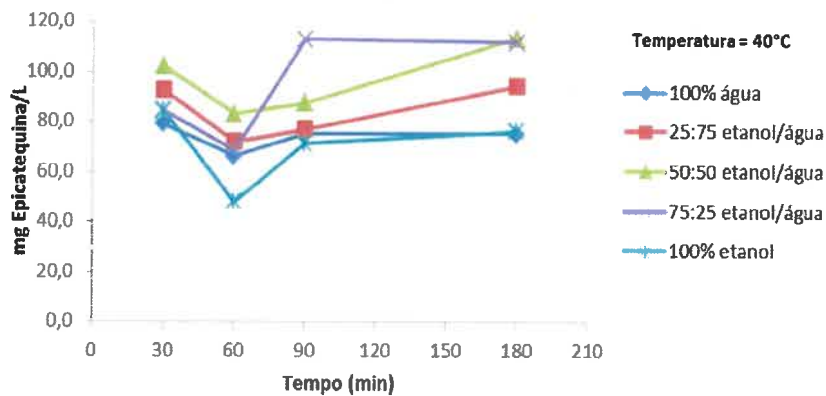


Figura 2 - Extração de flavonoides à temperatura de 40°C e ao longo do tempo de extração, fazendo variar o solvente.

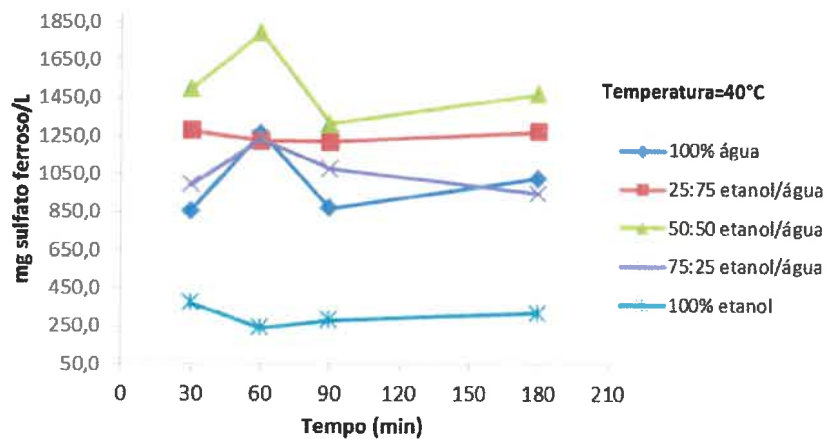


Figura 3 - Extração de compostos com poder redutor, fazendo variar o solvente à temperatura de 40°C, e ao longo do tempo de extração.

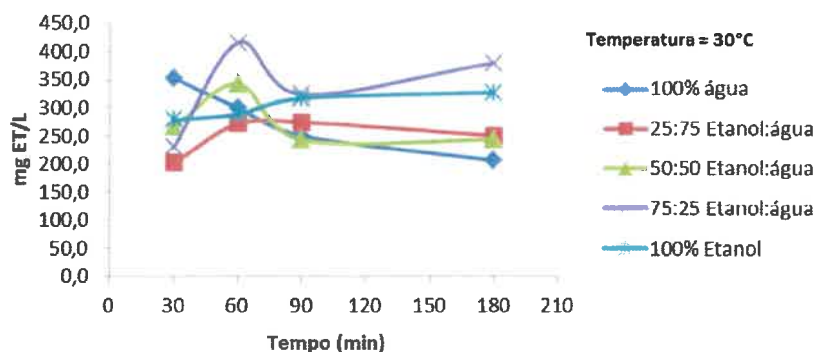


Figura 4 - Extração de compostos com atividade antioxidante, fazendo variar o solvente à

CONCLUSÃO

A produção de resíduos da indústria agroalimentar é um dilema que preocupa a sociedade atual. Estão descritos vários processos de valorização de resíduos, contudo nem sempre são tidas as condições de sustentabilidade do processo. Cientificamente são trabalhos com interesse, no entanto, sem viabilidade a nível energético, económico e, frequentemente, ambiental.

O estudo apresentado visou selecionar as condições ótimas de extração de um resíduo da indústria torrefatora de café, a pele de prata. Trata-se do resíduo maioritário desta indústria, contudo são escassos os estudos que visam a sua valorização e reutilização.

Para colmatar esta lacuna, procedeu-se ao trabalho apresentado, dando prioridade ao estudo da capacidade antioxidante e de alguns compostos relacionados (DPPH[•], FRAP, compostos fenólicos totais e flavonoides totais). As variáveis estudadas incluíram solventes (água e etanol em diferentes proporções), temperatura e tempo de extração.

As condições ótimas de extração variaram consoante o parâmetro analisado. No entanto, de acordo com os resultados obtidos, é possível obter uma solução de compromisso entre os vários métodos de extração e os referidos parâmetros. Assim, uma mistura de 50% de etanol e 50% de água, à temperatura de 40°C, submetida a extração durante 60 minutos, permite obter um extrato rico em compostos fenólicos e com elevada capacidade antioxidante, com economia de tempo e energia, comparativamente com outras condições analisadas.

O desenvolvimento destas condições em microescala parece cumprir o pressuposto inicial de valorização de um resíduo de forma sustentável. O ideal seria implementar o processo à escala industrial e confirmar o que se verificou a nível laboratorial.

A fase seguinte deste trabalho será a aplicação dos extratos em peloides e avaliar os efeitos resultantes da sua incorporação nestes produtos.

AGRADECIMENTOS

R. C. Alves agradece à FCT a bolsa de pós-doutoramento (SFRH/BPD/68883/2010) financiada por POPH - QREN - Tipologia 4.1 - Formação Avançada, subsidiada pelo FSE e MCTES. Este trabalho foi financiado pela FCT (PEst-C/EQB/LA0006/2011).

Os autores agradecem à BICAFÉ a cedência da amostra.

REFERÊNCIAS

- Alves, R., Costa, A., Jerez, M., Casal, S., Sineiro, J., Núñez, M. & Oliveira, B. 2010. Antiradical activity, phenolics profile, and hydroxymethylfurfural in espresso coffee: influence of technological factors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **58**: 12221-12229.
- Barroso, M., Noronha, J., Delerue-Matos, C. e Oliveira, B. (2011). Flavored waters: influence of ingredients on antioxidant capacity and terpenoid profile by HS-SPME/ GC-MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **59**: 5062-5072.
- Benzie, I. & Strain, J. 1996. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*. **239**: 70-76.
- Bond, A. & Morrison-Saunders, A. 2011. Re-evaluating sustainability assessment: aligning the vision and the practice. *Environmental Impact Assessment Review*. **31**: 1-17.
- Esquivel, P. & Jiménez, M. 2012. Functional Properties of Coffee and Coffee By-products. *Food Research International*. **46**: 488-495.
- Teixeira, F. 2011. A utilização das lamas em Portugal: passado e presente. *Anales de Hidrología Médica*. **4**: 129-141.
- Wognum, P.M. (Nel), Bremmers, H., Trienekens, J., Vorst, J. & Bloemhof, J. 2011. Systems for sustainability and transparency of food supply chains - Current status and challenges. *Advanced Engineering Informatics*. **25**: 65-76.