



FLÁVIO VIEIRA MARTINS DE ALMEIDA

**COMPOSTOS FENÓLICOS OBTIDOS DA PIRÓLISE DE
RESÍDUOS DE CAFÉ**

LAVRAS – MG

2017

FLÁVIO VIEIRA MARTINS DE ALMEIDA

COMPOSTOS FENÓLICOS OBTIDOS DA PIRÓLISE DE RESÍDUOS DE CAFÉ

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Mário César Guerreiro

Orientador

LAVRAS – MG

2017

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Almeida, Flávio Vieira Martins de.

Compostos fenólicos obtidos da pirólise de resíduos de café /
Flávio Vieira Martins de Almeida. - 2017.

88 p. : il.

Orientador(a): Mário César Guerreiro.

.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2017.

Bibliografia.

1. Biomassa de café - compostos fenólicos. 2. Lignina de café
pirolisada. 3. Ácido clorogênico. I. Guerreiro, Mário César. . II.
Título.

FLÁVIO VIEIRA MARTINS DE ALMEIDA

COMPOSTOS FENÓLICOS OBTIDOS DA PIRÓLISE DE RESÍDUOS DE CAFÉ

PHENOLIC COMPOUND OBTAINED FROM PYROLYSIS OF COFFEE RESIDUES

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 27 de março de 2017.

Dr. Márcio Pozzobon Pedroso UFLA

Dr^a. Priscila Ferreira de Sales IFMG - Campus Bambuí

Prof. Dr. Mário César Guerreiro

Orientador

LAVRAS – MG

2017

A meu pai Fábio e minha mãe Maria Francisca que tanto amo e sou grato. Pelos exemplos e ensinamentos sobre os desafios da vida. A importância de estar preparado mesmo quando tudo parece calma, ou quando os objetivos ainda não são tangíveis. Dar o melhor de si, investindo tempo, suor e dedicação no que acreditamos ou almejamos.

Sábias palavras: “Guardar o que comer e não o que fazer” ou ainda “Descansar carregando pedras” além de “Carro apertado é que canta”.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus agradeço, além do dom da vida, pela oportunidade de trilhar os caminhos do conhecimento; pelas pessoas que coloca em minha vida; pela família; pelas bênçãos concedidas.

À Universidade Federal de Lavras, especialmente ao Departamento de Química, pela oportunidade.

Aos amigos e colegas da UFLA, professores, técnicos e estudantes dos diversos setores e departamentos. No DZO: Maria das Graças, Gudesteu, Saad, Cleto, Bertechini. No DQI: Luciana, Adelir, Wil, Marcos, Cristina, Juliana, Joalis, Roseni e demais funcionários. Pelos conselhos, auxílios, ensinamentos e paciência.

Agradeço em especial ao professor Mário Guerreiro pelos ensinamentos, disposição para ajudar e orientações.

Agradeço aos meus pais, meus maiores impulsionadores, que me ensinaram os valores e as maiores riquezas da vida. A amar ao próximo, a cuidar da família, a trabalhar incessantemente, a desfrutar os momentos de distração, aproveitando cada instante de alegria. Pelas vibrações positivas. Obrigado pela presença, dedicação, atenção, cuidados, amor!

Aos meus irmãos Fernando e Franciana, pelo companheirismo, convívio, amizade, auxílios, pela compreensão e união nos vários momentos adversos, pela presença nos inúmeros momentos de alegria. Pelas brincadeiras dentro do carro ou na rua.

À neném Debóra, pela luz e alegria que trouxe à nossa família.

À Rayssa, minha companheira de caminhada, pela dedicação, zelo, compromisso, paciência, paixão, carinhos, conselhos, amor.

Aos familiares, que como meus pais, propiciaram etapas de formação da vida de modo afetivo, amoroso e harmônico. Pelos votos de boas bênçãos de avôs e tios.

Aos meus amigos de Bom Sucesso, pela amizade vindoura e constante ao longo das várias fases de nossas vidas, pelo suporte que os amigos nós propiciam, companheirismo e aventuras, momentos de muitas alegrias.

Aos amigos das várias etapas da vida, sejam colegas, vizinhos, professores, parentes: na infância, adolescência e fase adulta. Amigos e colegas das escolas do maternal, Protásio, Benjamim, Cejen, faculdade em Lavras e Belo Horizonte, empresas nas cidades de Anápolis, Belo Horizonte e Pouso Alegre.

"Se caíste, não recues,

Nem te lamentes em vão.

O erro, frequentemente,

É necessário à lição.

Não te acolhas à fraqueza,

Desânimo nada faz.

Ergue-te e segue pensando

Na força de que és capaz."

(Casimiro Cunha)

RESUMO

Os compostos fenólicos estão presentes em grande abundância na natureza inclusive na biomassa de café. O resíduo resultante do processamento do café equivale a uma grande quantidade em massa, compreendendo casca, polpa e borra, sendo primordial o seu reaproveitamento em atenção à utilização da biomassa por uma alternativa ambientalmente correta. No presente trabalho pretendeu-se avaliar a formação e obtenção de compostos fenólicos utilizando a pirólise como processo de transformação. Empregou-se os grãos de café (*Coffea arabica*) verde, ardido e preto como amostra, sendo submetidos a pirólise com arraste de gás N₂ e condensação por resfriamento. As porções condensadas foram coletadas nas temperaturas de 250°C, 500°C e 650°C, no intuito de selecionar classes de componentes de acordo com as quebras moleculares e volatilização desses componentes. Uma vez que os compostos fenólicos apresentam grupos ionizáveis e diferenças de solubilidade, cada uma das amostras condensadas foram extraídas com diclorometano e acetato de etila, com auxílio de modificadores de pH, e analisadas por métodos capazes de identificar e quantificar os constituintes fenólicos empregando técnicas complementares de cromatografia líquida, determinação total de compostos fenólicos por via úmida e espectroscopia IR. Os métodos de análise confirmaram a presença de ácidos graxos e proporcionaram a verificação dos compostos fenólicos: ácidos clorogênicos, ácido gálico, catequina, ácido *t*-cinâmico, rutina, trigonelina e cafeína. Foi evidenciado a presença de diferentes compostos fenólicos nas 3 faixas de temperaturas de pirólise coletadas. O teor total de compostos fenólicos foi obtido, demonstrando que o processo de pirólise realizado apresenta cerca de 1% de rendimento, indicando uma alternativa ao aproveitamento da biomassa como foco na lignina.

Palavras-chave: Biomassa de café. Lignina pirolisada. Café fenólico. Pirólise de café. Ácido clorogênico.

ABSTRACT

Phenolic compounds are present in great abundance in nature including coffee biomass. The residue resulting from the processing of coffee is equivalent to a large quantity in mass, comprising bark, pulp and sludge, and being primordial its reutilization in attention to the use of biomass by an environmentally correct alternative. In the present work we intend to evaluate the formation and obtaining of phenolic compounds using pyrolysis as a transformation process. The green, arid and black coffee beans (*Coffea arabica*) were used as sample, being submitted to pyrolysis with entrainment of N₂ gas and condensation by cooling. The condensed portions were collected at temperatures of 250°C, 500°C and 650°C in order to select classes of components according to the molecular breaks and volatilization of these components. Once the phenolic compounds had ionizable groups and differences in solubility, each of the condensed samples were extracted with dichloromethane and ethyl acetate using pH modifiers and analyzed by methods capable of identifying and quantifying the phenolic constituents using complementary techniques of liquid chromatography, total determination of wet phenolic compounds and IR spectroscopy. The methods of analysis confirmed the presence of fatty acids and provided the verification of some phenolic compounds: chlorogenic acids, gallic acid, catechin, *t*-cinnamic acid, rutin, trigonelline and caffeine. It was evidenced the presence of different phenolic compounds in the 3 ranges of pyrolysis temperatures collected. The total content of phenolic compounds was obtained, demonstrating that the pyrolysis process performed presents about 1% of yield, indicating an alternative to the use of biomass as a focus on lignin.

Keywords: Coffee Biomass. Lignin pyrolyzed. Coffee phenolic. Coffee pyrolysis. Chlorogenic acid.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Camadas que compõem a fruta do café.	13
Figura 2 - Representação estrutural da teobromina (1), teofilina (2) e cafeína (3).	13
Figura 3 - Unidades de estrutura da lignina e tipos de ligações.	18
Figura 4 - Estruturas dos derivados da lignina.	19
Figura 5 - Estruturas do ácido nicotínico e da trigonelina.	22
Figura 6 - Estrutura geral do ácido clorogênico.	22
Figura 7 - Espectro IR com ATR do café puro e da casca após processo de torração.	26
Figura 8 - Espectro IR de 5 ácidos graxos metilados.	27
Figura 9 - Curvas de TG, DTG e DTA da cafeína.	28
Figura 10 - Espectro IR da cafeína.	28
Figura 11 - Estruturas de compostos fenólicos presentes no café torrado.	30
Figura 12 - Etapas envolvidas no preparo da amostra.	34
Figura 13 - Sistema de pirólise e coleta das frações.	35
Figura 14 - Programa de aquecimento.	36
Figura 15- Espectro de IR da fração 1 alcalinizada e extraída com diclorometano.	45
Figura 16 - Espectro de IR da fração 1 acidificada e extraída com diclorometano.	46
Figura 17 - Espectro de IR da fração 1 acidificada e extraída com acetato de etila.	47
Figura 18 - Espectro de IR da fase aquosa fração 1.	48
Figura 19 - Espectro de IR da fração 2 alcalinizada e extraída com diclorometano.	48
Figura 20 - Espectro de IR da fração 2 acidificada e extraída com diclorometano.	49
Figura 21 - Espectro de IR da fração 2 acidificada e extraída com acetato de etila.	50
Figura 22 - Espectro de IR da fase aquosa da fração 2.	51
Figura 23- Espectro de IR da fração 3 alcalinizada e extraída com diclorometano.	51
Figura 24- Espectro de IR da fração 3 acidificada e extraída com diclorometano.	52
Figura 25 - Espectro de IR da fração 3 acidificada e extraída com acetato de etila.	53
Figura 26 - Espectro de IR da fase aquosa fração 3.	54
Figura 27 - Cromatograma da amostra fração 2 alcalinizada e extraída com diclorometano. .	57
Figura 28 - Espectro UV referente ao pico em 12,4 minutos do cromatograma.	58
Figura 29 - Cromatograma da amostra fração 2 acidificada e extraída com diclorometano. .	58
Figura 30 - Espectros UV referentes aos picos do cromatograma.	59

Figura 31 - Cromatograma da amostra fração 2 acidificada e extraída com acetato etila.....	59
Figura 32 - Espectros UV referentes aos picos do cromatograma.	60
Figura 33 - Cromatograma da amostra fração 2 na fase aquosa.....	61
Figura 34 - Espectro UV referente ao pico do cromatograma.....	61
Figura 35 - Cromatograma do "resíduo retido".	62
Figura 36 - Espectros UV referentes aos picos do cromatograma.	62
Figura 37 - Cromatograma da amostra fração 2 alcalinizada e extraída com diclorometano. .	65
Figura 38 - Espectros UV referentes aos picos do cromatograma.	66
Figura 39 - Cromatograma da amostra fração 2 acidificada e extraída com diclorometano. ...	66
Figura 40 - Espectro UV referente ao pico do cromatograma.....	67
Figura 41 - Cromatograma da amostra fração 2 acidificada e extraída com acetato etila.....	67
Figura 42 - Cromatograma da fase aquosa da fração 2.	68
Figura 43 - Espectros UV referentes aos picos do cromatograma.	69
Figura 44 - Cromatograma do "Condensado retido".	69
Figura 45 - Espectro UV referente ao pico do cromatograma.....	70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Teor de ácidos graxos em café verde variedade Mundo Novo.	14
Tabela 2 - Teor relativo de ácidos graxos em café verde e torrado variedade Mundo Novo...	15
Tabela 3 - Condições e produtos gerados dos tratamentos térmicos.	20
Tabela 4 - Quantidades de reagentes e processos de extração.	36
Tabela 5 - Dados do teor de compostos fenólicos totais, massa correspondente e suas relações.	42
Tabela 6 - Somatório do teor de fenólicos na extrações e de suas massas, em cada faixa de temperatura.	43
Tabela 7 - Possíveis moléculas presentes em cada amostra baseado nas bandas de IR.	56
Tabela 8 - Compostos fenólicos quantificados pelo Método de Compostos Fenólicos.	63
Tabela 9 - Quantificação das amostras pelo Método de Compotos Fenólicos.	64
Tabela 10 - Concentração de fenólicos determinados pelo Método de Compotos Fenólicos. .	64
Tabela 11 - Compostos fenólicos quantificados pelo Método de Café.	70
Tabela 12 - Concentração de fenólicos determinados pelo Método de Café.	71

LISTA DE SIGLAS

3-CQA	Ácido 3-Cafeilquínico
4-CQA	Ácido 4-Cafeilquínico
5-CQA	Ácido 5-Cafeilquínico
ACG	Ácido Clorogênico
ATR	Reflectância Total Atenuada
CAPQ	Centro de Análises e Prospecção Química
DAD	Detector de Arranjo de Diodos
DTA	Análise Térmica Diferencial
DTG	Termogravimetria Derivada
FE	Fase Estacionária
FM	Fase Móvel
FTIR	Infravermelho com Transformada de Fourier
GC	Cromatografia Gasosa
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
IR	Espectroscopia no Infravermelho
RP	Fase Reversa
RT	Tempo de retenção
TG	Termogravimetria
UV	Espectroscopia no Ultravioleta
UV-Vis	Espectroscopia no Ultravioleta e Visível

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	REFERENCIAL TEÓRICO	12
2.1	Considerações sobre o café	12
2.2	Resíduos do café.....	15
2.3	Biomassa e lignina	16
2.4	Processo térmico	19
2.5	Análise via úmida.....	23
2.6	Análise por espectroscopia na região do Infravermelho (IR).....	25
2.7	Cromatografia.....	29
3	OBJETIVOS	32
3.1	Gerais	32
3.2	Específico	32
4	MATERIAIS E MÉTODOS	33
4.1	Reagentes	33
4.2	Equipamentos e materiais.....	33
4.3	Amostra	33
4.4	Preparo da amostra	33
4.5	Conteúdo total de fenóis.....	37
4.6	Análise de IR	37
4.7	Análise cromatográfica	38
4.7.1	Preparo da amostra cromatográfica.....	38
4.7.2	Preparo do padrão.....	39
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	41
5.1	Extração dos componentes.....	41
5.2	Determinação de fenóis totais	42

5.3	Análise de IR	44
5.3.1	1ª fração de coleta do tratamento térmico:	44
5.3.2	2ª fração de coleta do tratamento térmico:	48
5.3.3	3ª fração de coleta do tratamento térmico:	51
5.4	Avaliação cromatográfica	57
5.4.1	Método de Compostos Fenólicos	57
5.4.2	Método Café	65
5.5	Comparação dos resultados dos métodos empregados	72
6	CONCLUSÃO.....	73
	REFERÊNCIAS.....	74
	APÊNDICE A - Dados físicos dos ácidos graxos	78
	APÊNDICE B - Padrão de ácido tânico para determinação de compostos fenólicos	79
	APÊNDICE C - Cromatograma do padrão pelo método de compostos fenólicos e espectros de UV dos picos.....	80
	APÊNDICE D - Cromatograma do padrão pelo método de compostos fenólicos e espectros de UV dos picos.....	82

1 INTRODUÇÃO

O café é um cultivar de grande importância na economia e sociedade brasileira. Para a produção de grãos de café e o preparo da bebida são gerados grandes quantidades de resíduos, que apresentam riscos ambientais como a alteração do pH do solo. Esses resíduos podem ser aproveitados para a obtenção de compostos fenólicos através de processos térmicos, como a pirólise, necessitando-se de métodos de análise capazes de determiná-los. O interesse nos compostos fenólicos é decorrente de sua posterior utilização como matéria-prima com diferentes aplicações. A avaliação da composição química do material pirolisado é de grande importância pois permite a correlação entre um processo e o produto gerado com sua posterior utilização. A determinação dos compostos fenólicos presentes na biomassa e dos gerados dos processos térmicos é alcançada através de métodos capazes de separá-los, caracterizá-los e quantificá-los.

Existe grande interesse na obtenção de compostos fenólicos à partir da biomassa no intuito de gerar precursores para a indústria química e de medicamentos. Há também a necessidade de avaliar a influência do tratamento térmico e a caracterização dos compostos fenólicos gerados.

A pirólise é uma reação de ruptura da estrutura molecular original de um determinado material pela ação do calor. Trata-se de uma reação de oxirredução na qual uma parte da biomassa é reduzida a carbono e outra parte é oxidada e hidrolisada dando origem a fenóis, carboidratos, alcoóis, aldeídos, cetonas e ácidos carboxílicos.

O emprego de apenas um método de análise geralmente não é suficiente para gerar informações a respeito dos analitos presentes na amostra, quer por falta de dados ou limitação de padrões. Assim a complementação de informação por diferentes métodos analíticos contribui para a avaliação e caracterização dos compostos fenólicos gerados por tratamento térmico.

Diferentes técnicas têm sido utilizadas e estudadas para a separação, identificação e quantificação dos constituintes do café e de compostos fenólicos de origem vegetal. A análise química via úmida proporciona a determinação do conteúdo total de fenóis, mas apresenta a desvantagem de não ser seletiva. A verificação do espectro de infravermelho (IR) (do inglês, Infra Red) fornece as bandas referentes aos grupos funcionais das moléculas presentes na amostra e auxiliam na caracterização dessas. A cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) (do inglês, High Performance Liquid Chromatography) permite a separação de

diferentes moléculas, podendo identificá-las e quantificá-las frente a padrões, já que os compostos fenólicos possuem grupos cromóforos sendo detectados por comprimento de onda na região do espectro ultravioleta e visível (UV-Vis).

No presente trabalho pretende-se avaliar a formação e obtenção de compostos fenólicos em amostra de resíduos verde, ardido e preto de café submetidos a pirólise como processo de transformação. Para tal avaliação, que também abrange os fenólicos e outros componentes presentes no café verde, utilizará métodos cromatográficos, além da determinação de compostos fenólicos pelo método de Folin-Denis e a verificação dos grupos funcionais por IR. Ao fim, determinam-se o rendimento e a seletividade do tratamento térmico de café para a obtenção de compostos fenólicos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Considerações sobre o café

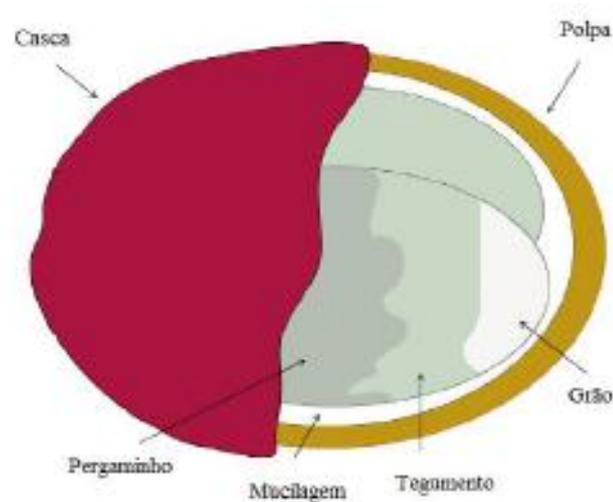
O Brasil se tornou um dos maiores produtores mundiais de biomassa, compreendendo madeira e produtos agrícolas, sendo reconhecido como "o celeiro do mundo" (PAULA et al., 2011). O café se destaca a nível nacional apresentando um parque cafeeiro estimado em 2,25 milhões de hectares, inclusive com grande cultivo na região sul de Minas Gerais, apresentando produção em torno de 51,37 milhões de sacas de café em 2016, valor que corresponde a cerca de 3.082.200 toneladas de grão de café. Juntamente com essa grande produção de café, há geração de grandes quantidades de resíduo, que são tóxicos, representando graves problemas ambientais (MAPA, 2016).

O café, uma das bebidas mais populares no mundo, é consumido por milhões de pessoas diariamente. Inicialmente, os efeitos benéficos do café eram atribuídos exclusivamente ao seu mais conhecido ingrediente, a cafeína (uma metilxantina). Entretanto, é compreendido que outros compostos também contribuem para as propriedades valiosas desta bebida. As informações sobre as propriedades funcionais do café e seus subprodutos em termos dos benefícios potenciais associados para a saúde são estudadas continuamente. Estudos apontam que tais propriedades são determinadas diretamente pela composição dos grãos e as mudanças que ocorrem durante a torrefação (ESQUIVEL; JIMÉNEZ, 2012).

Por outro lado, os subprodutos da fruta e do processamento do grão também podem ser considerados como potenciais ingredientes funcionais para a indústria alimentícia. A casca e polpa do café, que compreendem cerca de 45% da cereja, são um dos principais subprodutos da agroindústria do café e pode ser um material valioso para vários fins, incluindo a extração de cafeína e polifenóis. Outros subprodutos do processamento de café têm sido menos estudados, que incluem a mucilagem e o pergaminho. No entanto, eles podem ter um elevado potencial como uma fonte de importantes ingredientes. Também tem sido avaliado a utilização do café torrado contendo a camada película prateada (espermoderma) como uma fibra dietética rica com propriedades antioxidantes. A borra do café tem sido estudada principalmente por suas propriedades antioxidantes (ESQUIVEL; JIMÉNEZ, 2012).

A fruta do café, denominada cereja, é ovóide e constituída pelo grão que é envolto por camadas de diferentes características compondo a casca, conforme ilustrado na Figura 1 (ESQUIVEL; JIMÉNEZ, 2012).

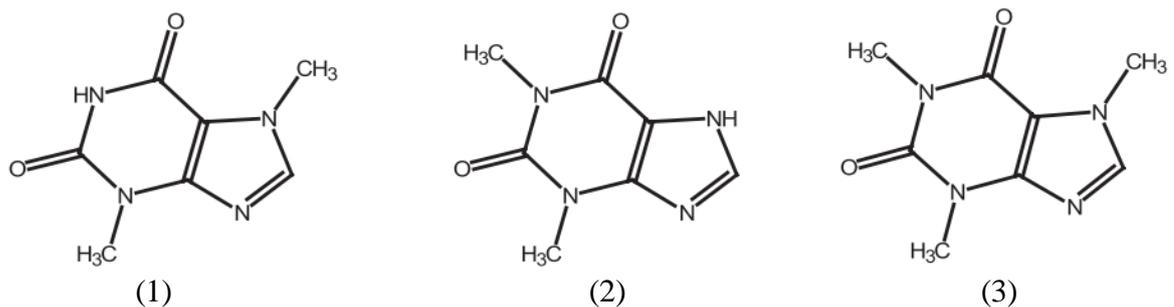
Figura 1 - Camadas que compõem a fruta do café.



Fonte: Esquivel (2012).

O principal componente químico do café é a cafeína, cujo teor varia de 0,8 a 4,0% (m/m) dependendo da espécie e região de cultivo. Existem ainda outras metilxantinas como a teofilina e a teobromina. A Figura 2 apresenta a representação estrutural das metilxantinas presentes no café.

Figura 2 - Representação estrutural da teobromina (1), teofilina (2) e cafeína (3).



Fonte: Alonso-Sances (2009).

Os componentes majoritários do grão do café são os polissacarídeos insolúveis, como celulose e hemicelulose com teor de aproximadamente 50% da massa total. Já a lignina apresenta um conteúdo de 1 a 3% (m/m). Outros constituintes são: açúcares, tanino, compostos fenólicos, minerais, proteínas (9 a 12% m/m) e lipídeos (8 a 18% m/m). Existem

também ácidos alifáticos não voláteis como cítrico e málico, e ácidos voláteis como acético, propanóico, butanóico, isovalérico, hexanóico e decanóico (ESQUIVEL; JIMÉNEZ, 2012).

Os açúcares que compõem o café são os sacarídeos: sacarose, glicose, frutose, arabinose, galactose e manose, contribuindo para conferir aroma e sabor. Quanto aos minerais presentes no café, representam cerca de 3 a 5%, incluindo potássio, magnésio, cálcio, sódio, ferro, manganês, rubídio, zinco, cobre, estrôncio, bário, níquel, cobalto, molibdênio. Vale ressaltar que diversos aminoácidos compõem os grãos do café: alanina, arginina, asparagina, cisteína, ácido glutâmico, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, tirosina e valina. Contém ainda vitaminas do complexo B e ácidos clorogênicos (6,7 a 9,2% m/m) (MUSSATTO et al., 2011a).

Os óleos que compõem o grão do café são constituídos por ácidos graxos. Pensando nesse sentido, (GUTIERREZ, 1976) avaliou o teor dos ácidos graxos, por 3 processos de metilação, obtendo resultados parecidos entre si. Os resultados foram comparados com de outros autores empregando diferentes técnicas de preparo de amostra. A Tabela 1 apresenta os dados desses estudos evidenciando a alta porcentagem de ácidos graxos saturados do óleo do café. Os dados físicos dos ácidos graxos são representados no Apêndice A.

Tabela 1 - Teor de ácidos graxos em café verde variedade Mundo Novo.

Ácido graxo	Representação	Gut. Est 1	Gut. Est 2	Gut. Est 3	ECKEY	HARTMAN	TANGO
Ácido mirístico	C14:0	0,2	0,2	0,1	3,1	0,1	0,1
Ácido palmítico	C16:0	32,2	31,9	34,7	28,2	35,4 a 41,3	35,5
Ácido esteárico	C18:0	8,8	9,2	9,8	12,7	7,5 a 10,6	8,4
Ácido araquídico	C20:0	4,3	3,9	4,2	2,9	4,3 a 6,4	3,0
Ácido oléico	C18:1	10,6	10,0	10,9	17,3	8,1 a 9,6	9,4
Ácido linoléico	C18:2	41,6	42,8	38,7	35,8	36,6 a 43,1	41,9
Ácido linolênico	C18:3	2,4	2,1	1,6	-	-	1,6

Fonte: Adaptado de Gutierrez (1976).

Após a colheita do fruto do café (cereja), inicia-se a etapa de processamento, normalmente realizada nas próprias lavouras cafeeiras. Existem diferentes métodos para o processamento do café, sendo os principais a via seca e a via úmida. Tais procedimentos resultam nos grãos de café que são torrados e moídos. O pó de café torrado é embalado sendo destinado ao consumo ou encaminhado para as linhas de produção do café instantâneo (EMBRAPA, 2016).

Durante o processo de torrefação, qualquer película prateada remanescente no grão é removida. A etapa de torrefação provoca sucessivas reações com modificações na composição

química conferindo o odor e sabor da bebida (ESQUIVEL; JIMÉNEZ, 2012). Os ácidos clorogênicos, juntamente com outros constituintes, também determinam o aroma e sabor do café, contribuindo na acidez, adstringência e amargura da bebida (FARAH; DONANGELO, 2006).

Em trabalho realizado (FONSECA; GUTIERREZ, 1971), foram determinados os teores de óleo e as porcentagens relativas dos ácidos graxos de 19 variedades de café, no estado verde, torrado (de 200 a 230°C) e nas borras. Os teores aproximados de ácidos graxos no café verde e torrado são resumidos na Tabela 2. Verificou-se que a torrefação promoveu leve aumento do teor dos ácidos graxos, razão do seu aumento relativo resultante da pirólise de aminoácidos e outros compostos, com perda de água e CO₂. Avaliando a borra, observou-se grande decréscimo do ácido palmítico, leve redução do ácido linoléico e aumento dos ácidos oléico, esteárico, linolênico e araquídico. Os ácidos graxos com redução do teor após extração pelo preparo da infusão podem ter sido extraídos.

Tabela 2 - Teor relativo de ácidos graxos em café verde e torrado variedade Mundo Novo.

Ácido graxo	Representação	Verde %	Torrado %
Ácido palmítico	C16:0	33,25	35,07
Ácido esteárico	C18:0	5,50	5,72
Ácido oléico	C18:1	5,87	5,81
Ácido linoléico	C18:2	54,15	52,08
Ácido araquídico	C20:0	1,05	0,75
Ácido linolênico	C18:3	0,57	0,54

Fonte: Adaptado de Fonseca e Gutierrez (1971).

2.2 Resíduos do café

Existe um potencial de utilização de resíduos agroindustriais para obtenção de produtos de valor agregado decorrente da necessidade de utilização racional do recursos naturais, do uso correto da biomassa em atenção à questão ambiental e do desenvolvimento e aplicação de tecnologias a essas demandas.

A aplicação de resíduos agroindustriais em processos, além de fornecer substratos alternativos para a indústria, ajudam a resolver o problema da poluição que o seu depósito pode causar. Com o advento das inovações tecnológicas, muitas possibilidades de utilização

têm surgido. A polpa e a casca do café, gerados na etapa de processamento, contêm cafeína e tanino que são tóxicos ao ambiente e possíveis de serem aproveitados em processos tecnológicos (PANDEY et al., 2000).

A produção de café gera grande quantidade de resíduos, sendo os principais: a casca, produzida no tratamento da cereja de café pela via seca; a polpa, gerada no processamento pela via úmida; e a borra, oriunda do processo de obtenção do café solúvel. A borra do café é o principal subproduto do processo de fabricação da bebida e uma fonte potencial de compostos bioativos, principalmente ácidos fenólicos facilmente extraídos com água (MONENTE et al., 2015).

Os resíduos do beneficiamento da cereja de café contêm compostos fenólicos que acidificam o solo e a água contaminando-os. A palha do café não se degrada por ser recalcitrante, mantendo-se no ambiente por tempo indefinido. Na etapa de produção do grão de café, o resíduo equivale a cerca de 50 % em massa é constituído pela casca. Além disso, na etapa de seleção dos grãos de café, são escolhidos os grãos sadios para seguirem para a torrefação, enquanto os grãos considerados como inadequados (preto, verde e ardido) são separados e segregados por não terem aceitação de mercado. Tais grãos são denominados resíduos "preto, verde e ardido" do café. Já na indústria de produção do café instantâneo (café solúvel) cerca de 650 kg de borra são gerados à partir de uma tonelada de grão de café verde (MUSSATTO et al., 2011).

A película prateada e a borra café são resíduos industriais do café, obtidos durante a sua torrefação e o processamento para produção de "café instantâneo", respectivamente. Por ser um produto agrícola de grande cultivo e consumo, aliado à necessidade de reduzir o impacto ambiental decorrente da cafeína, dos taninos e dos polifenóis, algumas tentativas têm sido realizadas para utilizar estes resíduos na geração de energia ou produtos de valor agregado tais como: combustível, ingrediente funcional com propriedades antioxidantes, substratos na área de biotecnologia, tratamento biológico por fungos, produção de hidrogênio e etanol (MUSSATTO et al., 2011).

2.3 Biomassa e lignina

O café assim como seu resíduo são uma biomassa, denominado como todo material orgânico que está disponível em uma base renovável ou recorrente, incluindo colheitas de

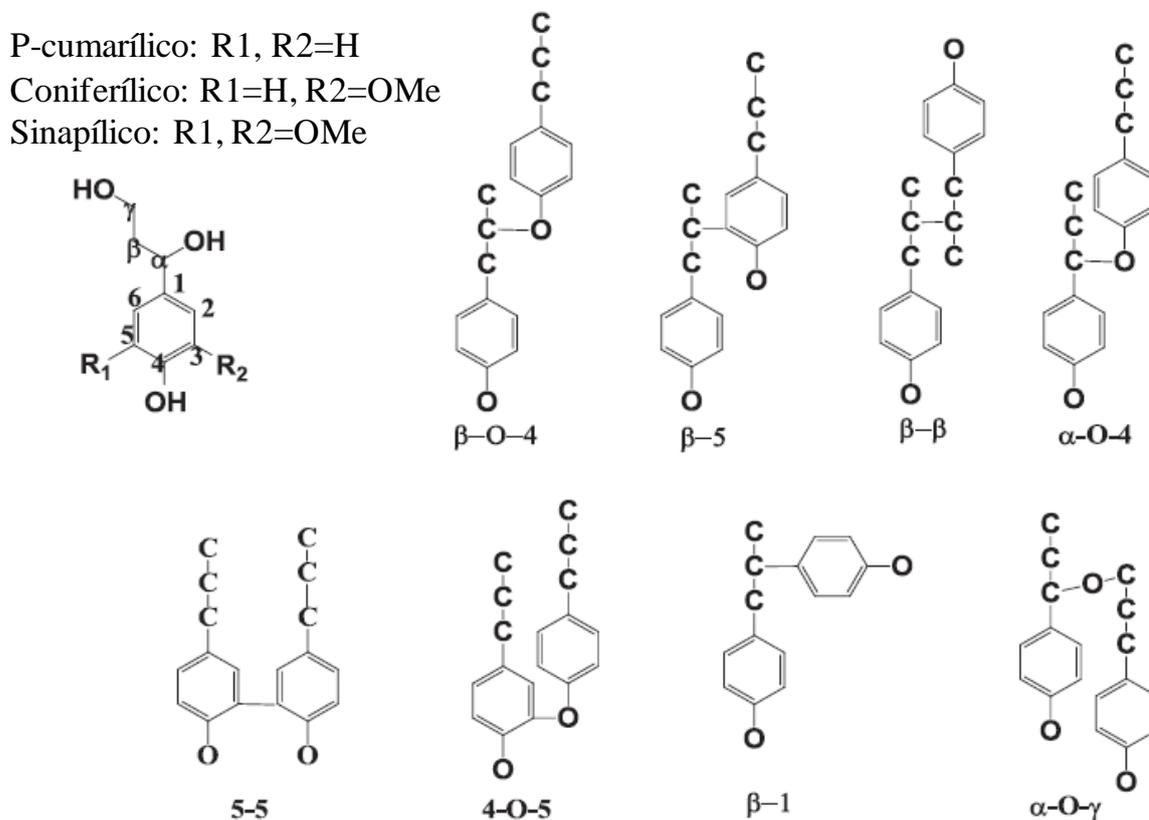
agricultura e árvores, madeiras e resíduos, plantas, fibras e dejetos de animais, detritos municipais e outro rejeitos orgânicos (ZHOU et al., 2011).

A biomassa lignocelulósica é considerada como um recurso renovável interessante que pode ser potencialmente usada para fornecer biocombustíveis de segunda geração ou para a produção de produtos químicos. O seu aproveitamento pode ser feito utilizando processos termoquímicos (ZHOU et al., 2011).

Materiais lignocelulósicos são constituídos por diferentes proporções de três biopolímeros: celulose, hemicelulose e lignina. A celulose é um polímero linear de glicose ligadas por ligação tipo β -1,4. A hemicelulose exibe uma estrutura amorfa, e ramificada formada por carboidratos com cinco e seis carbonos (xilose, manose, galactose, arabinose e glicose).

A lignina, fonte renovável de compostos aromáticos e fenólicos, é um polímero de fenilpropano sintetizado à partir de três monômeros aromáticos: álcool p-cumarílico, álcool coniferílico e álcool sinapílico. Estas unidades estruturais são ligadas por ligações éter e C-C, conforme apresentado na Figura 3. Por ser um abundante e sustentável polímero fenólico, a lignina é uma boa fonte de produtos químicos valiosos se dividida em unidades moleculares menores. Uma vez que a lignina é termicamente mais estável do que outros componentes da biomassa, como a celulose e hemicelulose, apresenta dificuldade de degradação no ambiente, o que ocasiona a necessidade de condições mais drásticas de tratamento. A lignina constitui 30% do peso e 40% do valor de combustível de biomassa (KANG et al., 2013).

Figura 3 - Unidades de estrutura da lignina e tipos de ligações.

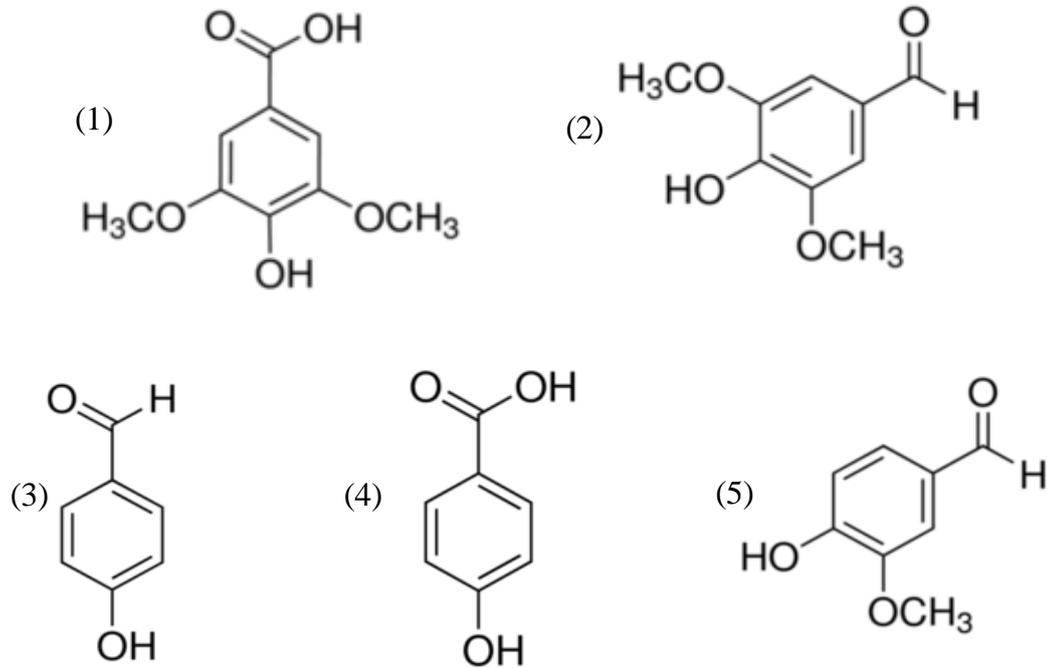


Fonte: Adaptado de Kang (2013).

A fim de utilizar a lignina como precursor de novas moléculas, torna-se útil obter processos cada vez mais viáveis para aproveitar a biomassa em sua totalidade e ainda assim minimizar problemas com o desperdício de resíduos no meio ambiente. O objetivo do processamento da lignina é clivar as ligações entre as três unidades estruturais fenólicas da lignina e inibir a condensação, sem decompor a estrutura do anel benzênico, que é estável. O uso de produtos obtidos de tratamento térmico da lignina é estudado principalmente considerando a abundante presença de compostos fenólicos (KANG et al., 2013).

Com a quebra da lignina ocorre a formação de moléculas mais simples. Um dos principais compostos fenólicos derivados da lignina, quando hidrolisada por ácido sob aquecimento, é o ácido siríngico (1), juntamente com o siringaldeído (2), 4-hidroxibenzaldeído (3), ácido 4-hidroxibenzóico (4) e vanilina (5) (CHEN et al., 2006), como apresentados na Figura 4.

Figura 4 - Estruturas dos derivados da lignina.



2.4 Processo térmico

Além de fontes de energia aplicada à combustão, os resíduos agroindustriais podem servir como matéria-prima para a produção de uma grande variedade de produtos químicos e combustíveis líquidos através de processos de pirólise, gaseificação ou liquefação (CORTEZ; LORA; GÓMEZ, 2008).

Esses tratamentos térmicos se diferenciam em relação à temperatura aplicada, ao ambiente reacional e ao tipo de produto desejado. A Tabela 3 apresenta as diferenças e condições geralmente empregadas de cada tipo de tratamento.

Tabela 3 - Condições e produtos gerados dos tratamentos térmicos.

Processo térmico	Liquefação	Pirólise	Gaseificação
Temperatura	250 a 400° C	280 a 450° C	800 a 1000° C
Condição	Água ou solvente	Atmosfera não oxidante	Oxidação parcial
Produtos	Sólido Bio-óleo Gás	Carvão Licor pirolenhoso	Calor e Energia Gás de síntese

Fonte: Do autor (2017).

De modo geral, na pirólise ocorre a decomposição térmica do material lignocelulósico na faixa de temperatura de 280 a 450°C, em ausência total ou parcial de oxigênio, com formação dos gases hidrogênio (H₂), monóxido de carbono (CO) e metano (CH₄), um produto líquido denominado bio-óleo e uma fração sólida denominada carvão ou cinzas. O bio-óleo formado é constituído pelo alcatrão e pelo ácido pirolenhoso. Durante o aquecimento ocorre, inicialmente a evaporação da água, seguida da decomposição carboidratos (250 a 350°C) e posteriormente a produção de alcatrão e ácidos leves (350 a 430°C).

O alcatrão é um dos produtos obtidos da queima de materiais lignocelulósicos, correspondendo à fração líquida condensada. Sua formação ocorre na queima, com volatilização de compostos de elevada massa molecular na temperatura da pirólise e posterior condensação à temperatura ambiente. É constituído por uma mistura de diversas substâncias formadas pela combustão incompleta dos materiais orgânicos.

Os principais produtos que compõem o bio-óleo são: hidrocarbonetos alifáticos, hidrocarbonetos aromáticos (um anel benzênico ou policíclicos), oxigenados alifáticos (ácidos carboxílicos), oxigenados aromáticos (alcoóis, aldeídos, cetonas, fenóis, cresóis benzofuranos), compostos nitrogenados (nitrilas, amidas, aminas, piridinas) dentre outros.

Diversos fatores influenciam na formação de diferentes produtos e suas concentrações, como: i. presença de oxidantes e redutores; ii. presença e concentração de oxigênio; iii. taxa de aquecimento. A pirólise rápida ocorre a uma temperatura de cerca de 500°C originando principalmente alcatrão e óleos; já em processos cuja temperaturas chegam a 700 e 900°C, o principal produto é o gás (CORTEZ; LORA; GÓMEZ, 2008).

Os gases formados na pirólise de resíduo de café (pergaminho) foram avaliados quanto a sua composição, quando o resíduo do café foi pirolisado às temperaturas de 600° e 900°C,

por TGA, FTIR, microGC (BECIDAN; SKREIBERG; HUSTAD, 2007). Comprovou-se que o aumento da temperatura tem efeito positivo na formação de gases, favorecido por reações de cracking, depolimerização, decarboxilação e oxidação, sendo os principais produtos CO₂, CO, CH₄, hidrocarbonetos C₂ e H₂.

A pirólise da lignina gera diversos compostos classificados por famílias químicas: fenóis voláteis, aldeídos fenólicos e cetonas fenólicas. A depolimerização da lignina produz aldeídos fenólicos, em aproximadamente 450°C. Os aldeídos geram intermediários instáveis por oxidação térmica, provavelmente ácidos fenólicos, que produzem fenóis voláteis por termodecarboxilação (NONIER et al., 2006).

A torrefação que é utilizada no processamento do café é também um processo térmico, assim as observações e constatações das modificações ou degradações dos componentes do café podem ser extrapolados para a pirólise auxiliando na interpretação dos eventos envolvidos durante o aquecimento.

De acordo com Mussato (2011), somente a cafeína é termoestável durante a torrefação do café. Outras substâncias incluindo compostos fenólicos e os óleos podem ser preservados ou degradados durante a torração.

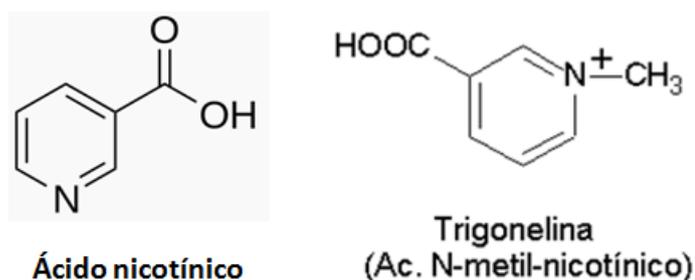
Os ACG são instáveis termicamente podendo ser degradados em derivados fenólicos. Durante a torrefação, uma parte dos ACG pode ser isomerizada, outra pode sofrer desidratação formando quinolactonas e outra é hidrolisada e degradada formando compostos de baixo peso molecular. Pode, ainda, ocorrer polimerização dos ACG com outros componentes do café para formar melanoidinas, que são moléculas com estrutura complexa de alto peso molecular oriundas da combinação de aminoácidos e carboidratos (FARAH; DONANGELO, 2006).

Após a torrefação dos grãos do café, cuja temperatura aproxima de 200 °C, os níveis de 5-CQA (ácido 5-cafeilquínico) diminuem enquanto os de 3-CQA e 4-CQA aumentam. Esse comportamento dos isômeros também é verificado para o ácido ferulilquínico (FARAH et al., 2005).

Na avaliação do aroma de café, os compostos voláteis obtidos da torrefação foram analisados por Maria e colaboradores (1996) utilizando HS-GC-MS (do inglês, Head Space-Gas Chromatography-Mass Spectrometry). O processo térmico promoveu a degradação da trigonelina, da sacarose e de aminoácidos, com a formação de pirrol, furanos, pirazinas e piridinas que são responsáveis pelo aroma. Foi evidenciado que o ácido nicotínico é formado

pela degradação da trigonelina e pela pirólise de proteína. A representação estrutural das moléculas de ácido nicotínico e trigonelina são apresentadas na Figura 5.

Figura 5 - Estruturas do ácido nicotínico e da trigonelina.

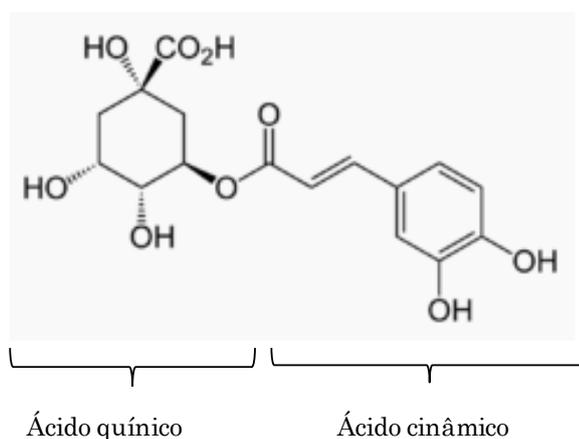


2.5 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários geralmente envolvidos na adaptação da planta ao estresse ambiental. Compõem uma grande gama de moléculas como: ácidos clorogênicos, fenóis simples, ácidos fenólicos, cumarina, flavonóides, ligninas, taninos, lignanas, antocianinas. Os mesmos podem estar livres ou ligados a macromoléculas como proteína e carboidratos (FARAH; DONANGELO, 2006).

Quando se analisa o café, verifica-se que os compostos fenólicos são principalmente encontrados nos grãos de café verde como os ácidos clorogênicos, que são ésteres dos diferentes ácidos cinâmicos e dos ácidos quínicos, de acordo com a Figura 6 (ESQUIVEL; JIMÉNEZ, 2012).

Figura 6 - Estrutura geral do ácido clorogênico.



Os ACG encontrados nos grãos de café verde incluem ácidos cafeilquínico, ferulilquínico, p-cumarilquínico, dimetoxicinamilquínico, dicafeilquínico, diferulilquínico, di-p-cumarilquínico, ferulilcafeilquínico, dimetoxicinamilcafeilquínico, dimetoxicinamilferulilquínico, p-cumarilcafeilquínico, p-cumarilferulilquínico e p-cumarildimetoxicinamilquínico. Existem ainda isômeros dos ACG, sendo os mais comuns 5-CQA, 3-CQA e 4-CQA (ALONSO-SALCES; GUILLOU; BERRUETA, 2009).

Pequenas quantidades de ácidos caféicos, ferúlicos, p-cumárico e quínico na forma livre também podem ser encontrados em grãos de café verde. Vale reportar que o conteúdo total de ACG e a sua composição variam de acordo com os cultivares, as espécies e o grau de maturação da fruta do café, além de processo de torrefação. Os ACG afetam a qualidade da bebida e atuam em diversos sistemas biológicos, apresentando propriedades benéficas para a saúde evidenciadas por atividades antioxidante, hipoglicêmica, antiviral, hepatoprotetora e antiespasmódicas (FARAH; DONANGELO, 2006).

Considerando-se outros aspectos dos compostos fenólicos, sua solubilidade é controlada pelo solvente utilizado, grau de polimerização dos fenólicos e as suas interações com outros constituintes da amostra. Não há um procedimento totalmente satisfatório para a extração de todos os compostos fenólicos seja no café ou na borra. Alguns solventes empregados são: metanol, etanol, acetona, água e acetato de etila (NACZK; SHAHIDI, 2004).

De acordo com (MUSSATTO et al., 2011b) a extração usando metanol como solvente orgânico foi mais eficiente para remoção dos compostos fenólicos em borra de café. Fatores que influenciam a taxa de extração são a concentração de metanol, a razão solvente/amostra e o tempo de extração. Como os compostos fenólicos são ácidos fracos e quanto à polaridade são moléculas relativamente neutras, é possível separá-los de forma seletiva dos demais componentes presentes na amostra pela modificação do pH do meio e uso de solventes para extração.

2.5 Análise via úmida

A análise química via úmida empregada consiste na determinação do conteúdo total de fenóis através de uma reação química de oxirredução e quantificação colorimétrica.

Não há uma padronização para o método de determinação de compostos fenólicos. Existem diferentes métodos aplicáveis à sua quantificação, dependendo das propriedades de cada composto, da amostra e da reação desejada. Os variados compostos podem apresentar

diferentes extensões para reagir com: i. agentes oxidantes, como fosfomolibdato ou permanganato; ii. reagentes de acoplamento, como p-nitroanilina; iii. metais, como ferro; iv. por seus espectros UV e Vis (SWAIN; HILLIS, 1959).

Os métodos mais utilizados são baseados no uso de oxidantes por apresentarem menores variações entre compostos individuais. O método Folin-Denis se baseia nas reações de oxirredução entre os compostos fenólicos e íons metálicos, gerando produtos de coloração azulada. É um método indicado para a quantificação de fenóis totais, não distinguindo diferentes fenóis e taninos, apresentando intensidade de coloração proporcional à concentração. A redução de fosfomolibdato e fosfotungstato, em presença dos fenóis, ocorre em meio alcalino originando íons molibdênio de coloração azul, permitindo a detecção colorimetricamente na região do espectro visível. O padrão utilizado é o ácido tânico, um tanino hidrolisável (SWAIN; HILLIS, 1959).

Além do reagente de Folin-Denis, há o método de Folin-Ciocalteu, que também é sensível à redução pelos fenóis e diminui a tendência à precipitação, mas apresenta maior dificuldade durante o preparo, com tempo de aquecimento de 12 horas sob refluxo. Para ambos os ensaios, o número de grupos hidroxilas ou oxidáveis determina a intensidade da coloração. O grupo fenólico deve estar na forma de fenolato para os ânions do molibdênio e tungstênio produzirem a oxidação. As moléculas reduzidas são azuis e as não reduzidas são amarelas. Estas últimas se decompõem vagarosamente em pH alcalino, o qual é necessário para a manutenção do fenol na forma de fenolato (NACZK; SHAHIDI, 2004).

Existem dois fatores que limitam a proporcionalidade da reação nos métodos de Folin-Denis e Folin-Ciocalteu: a reação não é completa, necessitando de excesso de reagente, e turbidez, decorrente da formação de sais insolúveis de sódio. A inclusão de sais de lítio no reagente de Folin-Ciocalteu desloca o sódio, minimizando a turbidez.

Uma vez que o método se fundamenta na reação de oxirredução, verifica-se que o mesmo não é específico para fenóis, podendo reagir com outras substâncias redutoras presentes na amostra. Assim, os reagentes de Folin-Denis e Folin-Ciocalteu não fornecem um valor preciso da quantidade de fenóis, mas indicam a capacidade de redução da amostra (APPEL et al., 2001).

2.6 Análise por espectroscopia na região do Infravermelho (IR)

A radiação infravermelha não possui energia suficiente para produzir transições eletrônicas. Para que uma molécula absorva essa radiação ela deve sofrer uma variação no momento de dipolo durante seu movimento rotacional ou vibracional. Somente sob estas circunstâncias o campo elétrico alternado da radiação pode interagir com a molécula e causar variações na amplitude de um de seus movimentos. O processo de absorção é quantizado e o espectro das moléculas consiste em uma série de linhas, para rotação, ou bandas, para vibração. As vibrações entre as ligações da molécula podem ser de estiramento ou deformação angular, simétricas ou assimétricas (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2006).

Para a realização da análise por IR, pode-se utilizar o acessório de reflectância total atenuada (ATR), que usa a propriedade da reflexão interna total permitindo a obtenção de espectros IR pela análise direta da amostra sólida ou líquida. O feixe de radiação que entra no cristal de diamante sofre reflexão interna quando o ângulo de incidência na interface entre a amostra e o cristal é maior do que o ângulo crítico, que é função dos índices de refração das duas superfícies. A atenuação da luz ocorre nos comprimentos de onda onde há a absorção decorrente da perda de energia do feixe (MENDHAM et al., 2002). Essa técnica é de grande vantagem pela praticidade de realização da leitura de amostra e consequente rapidez.

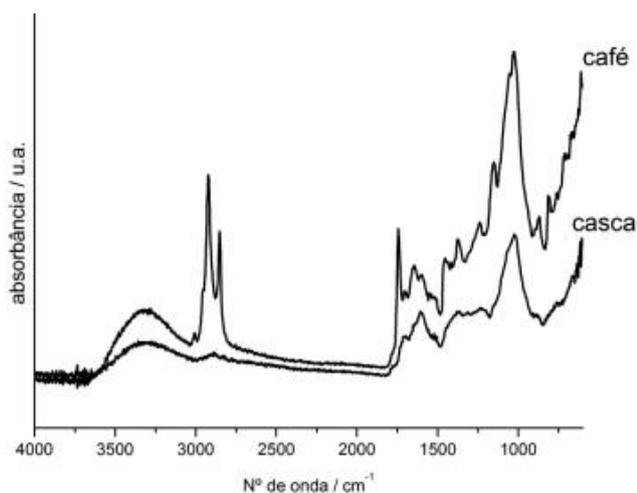
As análises de IR são realizadas para verificar os grupos funcionais presentes na amostra e assim estabelecer a categoria que as moléculas se enquadram ou confirmar sua identificação. Nesse sentido, são reportados alguns trabalhos na literatura.

Em trabalhos desenvolvidos por Santos et al., (2007) verificou-se a modificação na intensidade das bandas de absorção infravermelho das amostras de café após torrefação quando comparados aos do café verde, principalmente nas bandas de 1700 e 1054 cm^{-1} . Essas alterações podem ser correspondentes a grupos carboxílicos de ácidos livres nas amostras após torrefação, e estiramento C-O no café verde, respectivamente. Desta forma, conclui-se que a torrefação pode provocar a ruptura de ligações C-O dos ácidos clorogênicos, liberando o ácido quínico esterificado. Por outro lado, este processo pode promover a liberação de ácidos carboxílicos, evidenciado pelo aumento da banda em 1700 cm^{-1} .

A avaliação dos espectros das amostras torradas de café e da sua casca revela uma diminuição e o quase desaparecimento dos sinais nas regiões entre 2852 e 2923 cm^{-1} no espectro da casca (FIGURA 7). Este fato pode ter ocorrido devido às reações de pirólise nas

diferentes estruturas físicas da casca e do grão de café. A casca apresenta estrutura fina quando comparada ao café e, portanto, sua torração acontece de forma muito intensa, favorecendo a sua carbonização (TAVARES et al., 2012).

Figura 7 - Espectro IR com ATR do café puro e da casca após processo de torração.

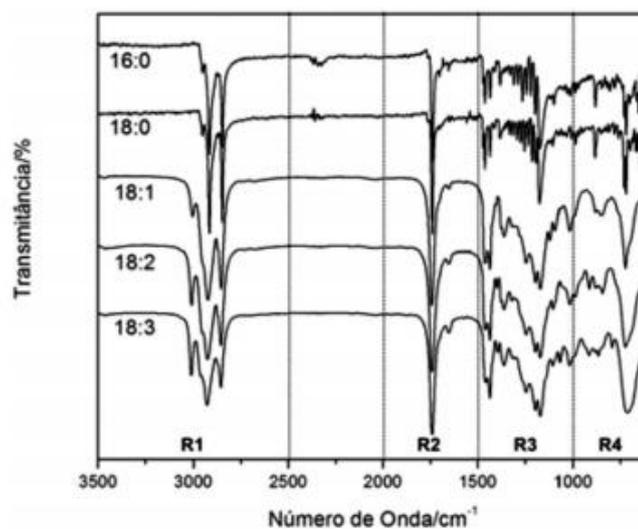


Fonte: Adaptado de Tavares (2012).

A técnica de IR pode ser aplicada para a avaliação e diferenciação de ácidos ou ésteres graxos. Assim como o café, o óleo de soja apresenta o ácido linoléico como principal ácido graxo, com cerca de 64% (CASTILHO-ALMEIDA; SANTOS, 2012). Nesse estudo foram obtidos os espectros de IR de ésteres metílicos de ácidos graxos saturados e insaturados, sendo divididos em quatro regiões para facilitar a análise: R1 (2500-3500 cm^{-1}), R2 (1500-2000 cm^{-1}), R3 (1000-1500 cm^{-1}) e R4 (<1000 cm^{-1}). Em R1, pode-se notar a existência de três bandas relativas a estiramento simétrico e assimétrico para a ligação C-H de grupos metílicos (ν_s C-H e ν_{as} C-H) (2850-2960 cm^{-1}) e estiramento simétrico e assimétrico das ligações C-H em grupos olefinicos (ν_s C-H_{olef} e ν_{as} C-H_{olef}) (3000-3015 cm^{-1}) para os derivados insaturados (18:1, 18:2 e 18:3). A análise da segunda região espectral (R2, 1500-2000 cm^{-1}) mostra uma banda intensa em 1740 cm^{-1} atribuída ao estiramento da ligação C=O de ésteres (ν (C=O)). Para os derivados insaturados é também observada uma banda de absorção próxima a 1650 cm^{-1} , relativa ao estiramento da ligação dupla C=C (ν (C=C)). Em R3 (1000 – 1500 cm^{-1}), são observadas 2 bandas próximas entre 1430-1480 cm^{-1} , que se relacionam aos modos de deformação angular simétrica no plano para CH₂ – δ_s (CH₂) – e deformação assimétrica de CH₃ – δ_{as} (CH₃). Na região R4, as bandas em 720 cm^{-1} são atribuídos às deformações

angulares fora do plano dos grupamentos $C=C-H - \tau(C-H \text{ olefínico})$ e $\omega(C-H \text{ olefínico})$ para os derivados insaturados (FIGURA 8). Verificam-se que as absorções próximas a 3000 e 720 cm^{-1} são características de ésteres insaturados.

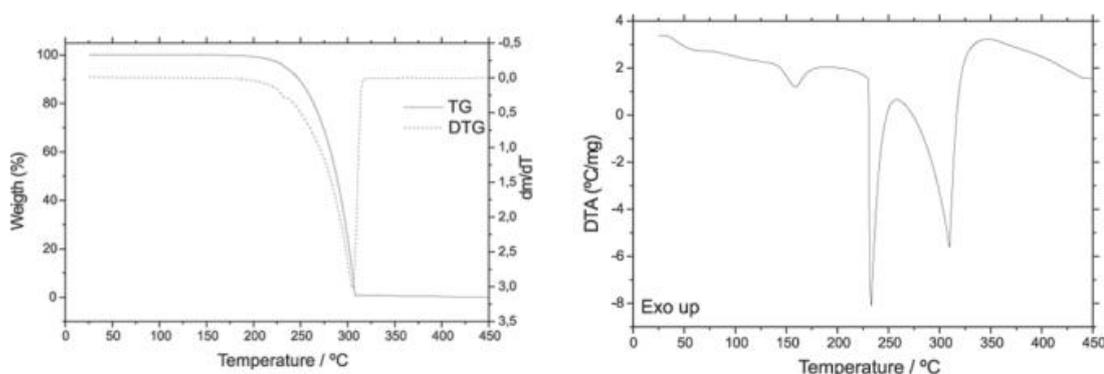
Figura 8 - Espectro IR de 5 ácidos graxos metilados.



Fonte: Adaptado de Almeida (2012).

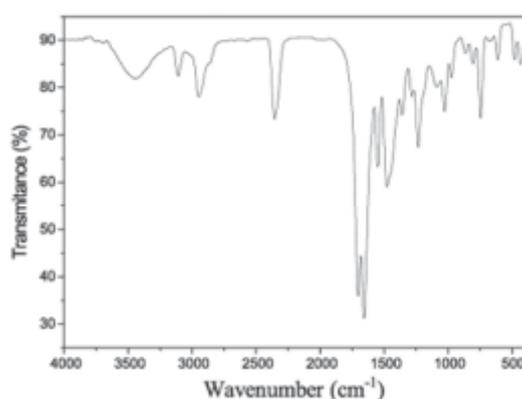
A cafeína foi analisada por Schnitzler et al., (2004) utilizando TG-DTA e IR. A Figura 9 apresenta as curvas de TG, DTG e DTA. As curvas mostraram que a cafeína é estável acima de 175°C e entre $175-315^{\circ}\text{C}$ ocorre a perda de massa total. Pela curva DTA, verifica-se o pico endotérmico em 163°C devido a mudança da estrutura cristalina. Na endoterma entre $225-320^{\circ}\text{C}$, os picos em 230°C e 312°C são decorrentes da fusão e evaporação. A evaporação da cafeína ocorre sem decomposição, em conformidade com espectro IR da cafeína (FIGURA 10).

Figura 9 - Curvas de TG, DTG e DTA da cafeína.



Fonte: Adaptado de Schnitzler (2004).

Figura 10 - Espectro IR da cafeína.



Fonte: Adaptado de Schnitzler (2004).

De maneira geral, os compostos fenólicos são identificados principalmente por banda de absorção em torno de 3200 a 3600 cm^{-1} , relativo à absorção de estiramento provocado pela ligação O–H, outra banda entre 1000 e 1260 cm^{-1} de estiramento C–O e por banda entre 675 e 900 cm^{-1} , relativo à deformação angular C–H. Os alcanos são identificados por banda entre 2840 e 3000 cm^{-1} , relativo ao estiramento C–H. Os alquenos são identificados por banda entre 1640 e 1667 cm^{-1} , relativo ao estiramento C=C e por banda acima de 3000 cm^{-1} , relativo ao estiramento C–H. Ácidos carboxílicos e ésteres apresentam banda próximo a 1750 cm^{-1} relativo a estiramento C=O, sendo difícil distingui-los. Ressalta-se que a banda de estiramento O–H de ácido carboxílico (2500 a 3200 cm^{-1}) é mais larga que a de alcoóis e fenóis (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2006).

2.7 Cromatografia

A cromatografia por HPLC é uma técnica de separação fundamentada na distribuição dos componentes de uma mistura entre duas fases imiscíveis, a fase móvel, líquida, e a fase estacionária sólida, contida em uma coluna cilíndrica. As separações são alcançadas por partição, adsorção, troca iônica, exclusão por tamanho ou interações estereoquímicas, dependendo do tipo de fase estacionária utilizada. A técnica de HPLC apresenta vantagens sobre a cromatografia a gás para as análises de combinações orgânicas em que os analitos da amostra não são voláteis e termolábeis. A maioria das análises químicas está baseada no método de separação por partição e devem ocorrer em tempo curto de análise, viabilizando o uso na rotina e reduzindo o custo. Vários fatores químicos e físico-químicos influenciam na separação cromatográfica, os quais dependem da natureza química das substâncias a serem separadas, da composição e vazão da fase móvel, da composição e área superficial da fase estacionária (HOLLER; SKOOG; CROUCH, 2009).

O sistema mais utilizado é composto por fases móveis (FM) polares e fases estacionárias (FE) apolares, denominado de cromatografia em fase reversa (RP). Essa é a técnica mais utilizada em pesquisas envolvendo componentes do café.

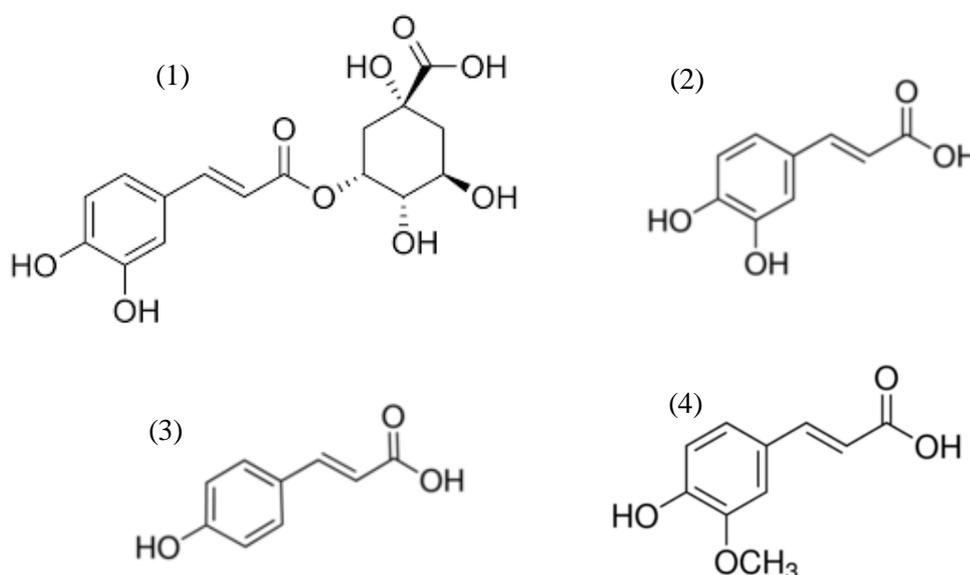
As amostras de café contêm os compostos fenólicos que são os analitos a serem detectados, estes possuem grupos cromóforos em suas moléculas. Assim é possível a detecção utilizando detectores UV-Vis ou DAD (do inglês, Diode Array Detector). Para fins de pesquisa quanto aos constituintes químicos, emprega-se o DAD que permite a verificação do espectro de UV e Vis dos analitos, identificando-os por comparação frente a uma substância química de referência. A faixa linear para uma substância é aquela na qual a resposta do detector é diretamente proporcional à sua concentração.

O preparo de amostra para as análises dos compostos fenólicos, no café ou nos seus resíduos, é realizado utilizando a técnica de extração, por água ou mistura com solventes, em diferentes amostras: o grão verde ou a borra do café ou ainda o pó do café instantâneo. Alguns trabalhos sobre aplicações da cromatografia por HPLC em diferentes amostras de café são reportados na literatura.

O teor de compostos fenólicos presentes na borra do café foi determinado utilizando a técnica de HPLC, no intuito de avaliar a influência dos diferentes tratamentos químicos para avaliação da extração: alcalino, ácido e solução salina. Os compostos fenólicos foram

determinados em sistema constituído por FE apolar e FM acidificada. Para os ácidos clorogênicos, cafeilquínico (3-CQA, 4-CQA, 5-CQA), dicafeilquínico (3,4-diCQA, 3,5-diCQA, 4,5-diCQA), utilizou coluna C18 (250 x 4,6 mm; 2,7 um) e FM de água e metanol pH 3, com eluição em gradiente. Já os ácidos hidroxicinâmicos e derivados do ácido benzóico (ácidos caféico, ferúlico, p-cumárico, sinápico, e 4-hidroxibenzóico) utilizou coluna C18 (250 x 4,6 mm; 5 um) e como FM água e metanol pH 2,5, com eluição em gradiente. A detecção foi realizada por DAD, possibilitando a identificação das moléculas, e os cromatogramas foram registrados em 260 nm para o ácido 4-hidroxibenzóico, e em 325 nm para os demais ácidos hidroxicinâmicos e ácidos clorogênicos. Constatou-se que os ácidos clorogênicos livres correspondem aos mais abundantes compostos fenólicos e o principal ácido clorogênico presente nas amostras é o cafeilquínico (MONENTE et al., 2015). A Figura 11 apresenta as estruturas das moléculas ácido cafeilquínico (1), ácido caféico (2), ácido p-cumárico (3) e ácido ferúlico (4).

Figura 11 - Estruturas de compostos fenólicos presentes no café torrado.



Amostras de grãos de café verde foram utilizadas na caracterização de polifenóis e metilxantinas, através HPLC- DAD acoplada à espectrometria de massas, evidenciando o poder analítico resultante do acoplamento desses detectores na identificação de produtos naturais. Os ácidos fenólicos, os ácidos clorogênicos e as metilxantinas foram determinadas em mesma corrida cromatográfica, utilizando coluna C18 (250 x 4,6 mm; 5 um) e FM

constituída por solução de ácido acético 0,2% e metanol, com eluição em gradiente. Os ACG encontrados nos grãos de café verde incluem ácidos cafeilquínico, ferulilquínico, p-cumarilquínico, dimetoxicinamilquínico, dicafeilquínico, diferulilquínico, di-p-cumarilquínico, ferulilcafeilquínico, dimetoxicinamilcafeilquínico, dimetoxicinamilferulilquínico, p-cumarilcafeilquínico, p-cumarilferulilquínico e p-cumarildimetoxicinamilquínico sendo monitorados a 320 nm. Os ácidos fenólicos que incluem os ácidos caféico, ferúlico e dimetoxicinâmico também foram monitorados a 320 nm. Já as metilxantinas, cafeína, teobromina e teofilina foram monitoradas em 280 nm (ALONSO-SALCES; GUILLOU; BERRUETA, 2009).

A metodologia analítica por HPLC-UV-Vis foi utilizada para a determinação simultânea de cafeína, trigonelina, ácido nicotínico e o ácido cafeilquínico (5-ACQ) em cafés torrados. Estes compostos fenólicos foram determinadas em mesma corrida cromatográfica, utilizando coluna C18 (250 x 4,6 mm; 5 µm) e FM constituída por solução acidificada e solvente orgânico. Foram avaliados diferentes ácidos orgânicos e inorgânicos bem como diferentes solventes orgânicos para a definição da FM. Foi verificado melhores resultados cromatográficos ao utilizar solução de ácido acético 5% e acetonitrila como FM. De acordo com o espectro de absorção de cada analito, as detecções foram monitoradas em 272 nm para a cafeína, a trigonelina e o ácido nicotínico enquanto que para o 5-ACQ foi monitorado em 320 nm. Os parâmetros foram manipulados durante o desenvolvimento do método de análise cromatográfica, para garantir a separação da trigonelina e de seu produto de degradação, o ácido nicotínico (ALVES; DIAS; BENASSI, 2006).

De maneira geral, os métodos de cromatografia líquida aplicados a determinação de compostos fenólicos de café utilizam FM com pH ajustado para a faixa ácida (a fim de manter os compostos fenólicos na forma não ionizada melhorando sua retenção) e metanol ou acetonitrila para proporcionar a força eluotrópica, e FE com caráter apolar, principalmente coluna C18.

3 OBJETIVOS

3.1 Gerais

O projeto tem como objetivo a avaliação dos compostos fenólicos em amostra de resíduo de café após tratamento térmico.

3.2 Específico

- Realizar a pirólise com acompanhamento do efeito da temperatura nos produtos formados;
- Avaliar o conteúdo de compostos fenólicos por método de Folin-Denis da amostra de café após pirólise;
- Avaliar os compostos fenólicos nas frações do pirolisado por IR e HPLC.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Reagentes

Tungstato de sódio dihidratado, ácido fosfomolibdico, ácido fosfórico, carbonato de sódio anidro, ácido tânico, ácido acético glacial, diclorometano, acetato de etila, gás nitrogênio, água tipo I, acetonitrila (grau HPLC), metanol (grau HPLC). Todos reagentes usados que não tiveram grau de pureza citado foram P.A.

4.2 Equipamentos e materiais

Estufa de secagem (Quimis), moinho de bolas (Marconi), forno de aquecimento e queima com temperatura programável (Sanchis), rotavapor (Fisatom), infravermelho (Varian) com acessório ATR GladiATR, balança analítica com 6 casas (Mettler Toledo) MX5, balança analítica (Shimadzu), espectrofotômetro (Espectro Vision), membrana filtrante 0,45 µm (Millex), pipeta automática, sistema cromatográfico (Shimadzu) constituído por degaseificador DGU-20, bomba quaternária LC-20AT, auto-amostrador SIL-20A, módulo de comunicação CBM-20A, detector DAD SPD-M20A, forno de coluna CTO-20AC, coluna cromatográfica (Supelco) C18 (250 x 4,6 mm x 5 µm).

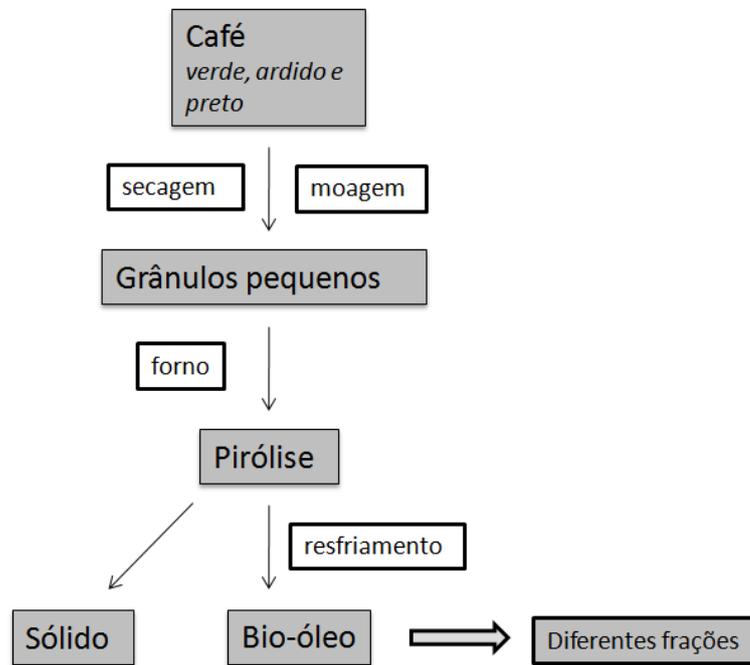
4.3 Amostra

As amostras de café (*Coffea arabica*) beneficiado verde, ardido e preto foram obtidas do Setor de Café da UFLA.

4.4 Preparo da amostra

Os grãos de café (verde, ardido e preto) foram secos em estufa, a 60°C durante 24 horas, e posteriormente moídos em moinho de bola. Cerca de 1,8 g do pó do café moído e seco foi transferido para “barca de porcelana” e queimado no forno de pirólise nas condições detalhadas adiante. A fração gasosa desprendida pela queima da amostra foi coletada em erlenmeyers contendo água, após resfriamento em gelo. Na Figura 12 estão ilustradas as etapas do preparo da amostra.

Figura 12 - Etapas envolvidas no preparo da amostra.



Fonte: Do autor (2017).

Durante o aquecimento, manteve-se fluxo de gás N_2 numa vazão de aproximadamente 5mL/min para manter a atmosfera reacional livre de O_2 e carrear os vapores e gases liberados. Na saída do forno, acoplou-se tubulação que conduz material para erlenmeyers contendo 100 mL de água para coleta. A tubulação passa através de condensador com resfriamento em banho de gelo para promover a condensação do óleo e minimizar perda de material por escape. Na Figura 13 está apresentado o sistema de aquecimento utilizado para a pirólise da amostra.

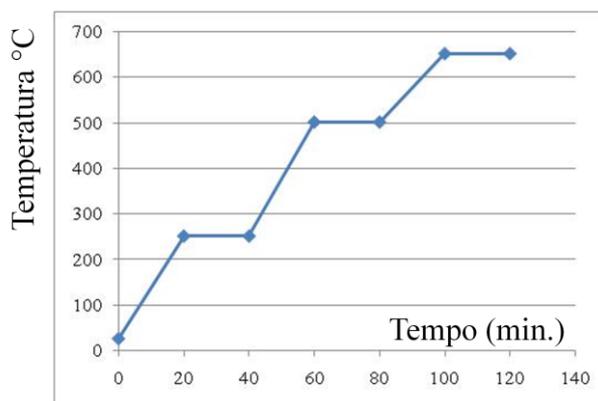
Figura 13 - Sistema de pirólise e coleta das frações.



Fonte: Do autor (2017).

Os pontos de coleta das frações foram nos platôs da rampa de aquecimento referentes a temperaturas em que se pretende obter diferentes produtos da pirólise. Assim a primeira coleta foi realizada em 250°C, em que se objetivou obter moléculas voláteis e vapor de água. A segunda coleta foi realizada em 500°C, com vistas a obter os produtos de degradação dos carboidratos e alguns produtos de degradação da lignina. Na terceira coleta, realizada em 650°C, pretendeu-se obter os produtos de degradação oriunda da lignina remanescente e assim termicamente mais estável. Na Figura 14 está representada a programação de aquecimento do forno.

Figura 14 - Programa de aquecimento.



Fonte: Do autor (2016).

As diferentes frações gasosas desprendidas foram coletadas separadamente conforme temperaturas descritas anteriormente obtendo-se 3 soluções, algumas apresentando gotículas e turvação.

Em seguida, procedeu-se a extração em solventes orgânicos mediante o uso de modificadores de pH. Utilizou-se solução de carbonato de sódio 2% (pH 9,51) para ajuste alcalino e solução de ácido acético 1% (pH 0,64) para ajuste ácido. Na Tabela 4 são apresentados os volumes dos reagentes empregados e os valores de pH na realização das extrações.

Tabela 4 - Quantidades de reagentes e processos de extração.

Condição	Fração 1 (250 °C)	Fração 2 (500 °C)	Fração 3 (650 °C)	Etapa
pH	4,76	5,57	6,32	Início
pH	9,42	8,81	9,6	Alcalimização (30 mL)
2 x 30 mL		Extração diclorometano		
pH	1,86	1,87	1,84	Acidificação (10 mL)
2 x 30 mL		Extração diclorometano		
2 x 30 mL		Extração acetato de etila		
Fase aquosa				

Fonte: Do autor (2017).

As massas de cada amostra nas três frações, compreendendo os solventes extratores e a fase aquosa resultante, foram estimadas por pesagem. Assim utilizou-se a balança analítica com precisão de 1 µg, e procedeu-se a determinação da massa pela secagem de uma alíquota de 1 mL de cada amostra, em vial previamente pesado.

Foram realizados 2 experimentos de queima da amostra seguida das extrações com intervalo de 6 meses entre ambas.

4.5 Conteúdo total de fenóis

A concentração total de fenóis foi medida com o método colorimétrico de Folin-Denis (AOAC, 2012). Utilizou-se ácido tânico como padrão, assim pesou-se 100 mg e dissolveu-se em 1000 mL de água destilada. A curva padrão de ácido tânico foi obtida por diluições da solução estoque a 0,1 mg/mL.

Após adição dos reagentes e homogeneização, os tubos foram deixados em repouso por 30 minutos na ausência de luz. As soluções desenvolveram coloração azul com intensidades variadas. Procedeu-se a leitura das absorbâncias em espectrofotômetro a 760 nm (APÊNDICE B).

Para a análise das amostras, coletaram-se alíquotas de cada uma das frações extraídas e aquosas. Nas amostras, após adição dos reagentes e tempo de reação de 30 minutos, verificou-se que a solução estava turva e com presença de precipitado. Assim, as amostras foram centrifugadas, a 2000 rpm por 5 minutos, gerando um precipitado branco. Os sobrenadantes foram transferidos para cubeta e as leituras realizadas em espectrofotômetro UV-Vis a 760 nm.

4.6 Análise de IR

A análise direta das amostras foi realizada no acessório ATR. Os espectros foram gerados da análise das amostras em que o branco foi realizado sem adição de solvente, com o prisma de cristal de diamante vazio para leitura do “background”. Amostras nos solventes diclorometano e acetato de etila foram distribuídas no cristal de leitura e aguardado o tempo para evaporação (cerca de 15 segundos). As amostras aquosas foram previamente secas em estufa e o pó foi analisado.

O equipamento utiliza o software Varian Resolutions Pro para as configurações de parâmetros e aquisições dos espectros.

4.7 Análise cromatográfica

Para a realização do presente trabalho, as amostras foram analisadas por HPLC em dois métodos distintos no laboratório CAPQ/UFLA. A detecção dos compostos fenólicos foi realizada em toda a faixa do espectro UV utilizando o DAD para avaliar os comprimentos de onda máximos de cada pico cromatográfico. Tais métodos diferem na composição da FM, no tempo de corrida e no comprimento de onda de detecção.

Método de Compostos Fenólicos: Fase móvel constituída por mistura A (água:ácido acético 98:2 v/v) e Mistura B (metanol:água:ácido acético 70:28:2 v/v) eluição em gradiente com variação da proporção do canal B: 0% no início, 30% em 5 minutos, 40% em 25 minutos, 45% em 43 minutos, 80% em 50 minutos, 0% em 55 minutos. Tempo corrida de 65 min. Detecção a 280 nm. Aplicável para determinação de ácido gálico (RT 6,8); catequina (RT 10,8); ácido clorogênico (RT 12,56), ácido caféico (RT 15,05); vanilina (RT 16,65); ácido p-cumárico (RT 21,81); ácido ferúlico (RT 24,79); ácido m-cumárico (RT 27,62); ácido o-cumárico (RT 34,62); quercetina (RT 37,59); ácido trans-cinâmico (RT 51,66) e rutina (RT 53,49).

Método de Café: Fase móvel constituída por mistura metanol:água:ácido acético (50:49,5:0,5 v/v) eluição isocrática. Tempo corrida de 20 min. Detecção a 272 nm. Aplicável para determinação de trigonelina, ácido clorogênico e cafeína com os RT 2,8 ; 9,7 e 10,9 minutos.

4.7.1 Preparo da amostra cromatográfica

Procedeu-se uma avaliação cromatográfica das moléculas presentes utilizando as amostras referentes à fração 2, obtida a 500° C, nos três solventes de extração (diclorometano alcalino, diclorometano ácido e acetato de etila) e na fase aquosa. A fração 2 foi selecionada pois estima-se que contenha as moléculas de interesse.

Uma alíquota de aproximadamente 15 mL de cada extrato foi retirada e levada ao rotavapor para remoção do solvente. Em seguida, o óleo foi solubilizado em 20 mL de metanol (grau HPLC). As soluções metanólicas referentes aos extratos de diclorometano

foram diluídas 10 vezes em metanol, por apresentarem coloração marrom intensa indicativo de alta concentração dos componentes.

Uma alíquota de 15 mL da solução do “Condensado retido” (condensado na tubulação de saída do forno) foi filtrado através de papel de filtro. O pH verificado foi de 5,0. Procedeu-se a diluição de 10 vezes utilizando metanol (grau HPLC), resultando em solução límpida e sem coloração. Assim, procedeu-se outra diluição do filtrado (solução estoque) de 5 vezes a fim de verificar a concentração mais adequada.

A amostra “fase aquosa”, por apresentar aspecto límpido e subentender-se que os componentes já teriam sido extraídos, conteria apenas moléculas polares não extraídas e/ou resíduos, portanto não foi diluída.

Em seguida filtraram-se as amostras através de um filtro de 0,45 µm de ponta de seringa para vial apropriado e 20 µL deste filtrado foi injetado no cromatógrafo líquido.

As amostras injetadas tiveram seus picos integrados com base no RT dos cromatogramas do padrão.

4.7.2 Preparo do padrão

Para fins de comparação dos cromatogramas e espectros UV, utilizou-se uma injeção do padrão nas mesmas condições de análise salva no banco de dados do software LC-Solution. Como apresentado abaixo, os valores dos RT dos picos nos cromatogramas variam um pouco em relação às retenções teóricas. Tais variações decorrem de possíveis diferenças da FM ou mesmo da coluna cromatográfica.

Os espectros de UV de cada pico foram obtidos através do DAD e são importantes por permitirem uma comparação com os picos da amostra auxiliando na sua identificação.

4.7.2.1 Método de Compostos Fenólicos

Os picos do padrão se referem aos analitos: ácido gálico (RT 6,792); catequina (RT 10,761); ácido clorogênico (RT 12,550), ácido caféico (RT 14,997); vanilina (RT 17,623); ácido p-cumárico (RT 21,762); ácido ferúlico (RT 24,803); ácido m-cumárico (RT 27,588); ácido o-cumárico (RT 34,581); quercetina (RT 37,739); ácido trans-cinâmico (RT 51,666) e rutina (RT 53,476). O cromatograma do padrão e os respectivos espectros UV dos picos dos compostos fenólicos são apresentados no Apêndice C.

4.7.2.2 Método de Café

Os picos do padrão se referem aos analitos: trigonelina (RT 2,883), ácido clorogênico (RT 10,110) e cafeína (RT 10,960). O cromatograma do padrão e os respectivos espectros UV dos picos dos compostos fenólicos são apresentados no Apêndice D.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A amostra de café moída e seca, foi pirolisada em forno com temperatura programada. Optou-se por realizar sub-coletas do licor pirolenhoso em diferentes temperaturas no intuito de obter produtos com certo grau de semelhança química em cada coleta, e garantir uma limitação de espécies moleculares diferentes, provavelmente geradas entre as distintas temperaturas de formação. Assim, a coleta em 250°C visa recolher a água desprendida e substâncias voláteis. A correspondente em 500°C visa coletar o alcatrão, contendo os resíduos lignocelulósicos como os produtos de degradação de carboidratos e ácidos gerados. E uma última coleta a 650°C com vistas a obter outras moléculas mais difíceis de degradar e com maior peso molecular.

Ressalta-se que a amostra utilizada foi o grão de café verde (não torrado) submetido ao tratamento térmico. Assim, espera-se obter moléculas volatizadas do óleo do café verde, como os ácidos clorogênicos, cafeína e ácidos graxos, além das moléculas resultantes da clivagem de macromoléculas e de outras reações.

5.1 Extração dos componentes

No experimento não foi utilizado metanol como extrator pois a amostra estava solubilizada em água, e eles são miscíveis. Como as moléculas de interesse são os compostos fenólicos, que apresentam grupos ionizáveis, as 3 frações da pirólise coletadas foram extraídas utilizando modificadores de pH, no intuito de melhorar a extração, e solventes orgânicos (diclorometano e acetato de etila) em funis de separação. Com vistas a remover moléculas muito apolares e extrair seletivamente os ácidos fracos, realizou-se a alcalinização e acidificação anterior às extrações.

Primeiramente as frações foram alcalinizadas para valor de pH entre 9 e 10, visando ionizar os compostos fenólicos e a remover moléculas muito apolares utilizando diclorometano. Posteriormente a fase aquosa alcalina foi acidificada até pH próximo de 2, para manter os fenólicos na forma não ionizada, e serem extraídos em diclorometano. Utilizando a fase aquosa acidificada, realizou-se a extração com acetato de etila, solvente com maior caráter polar, momento dipolo (M) de 1,78, em relação ao diclorometano (M = 1,60).

Assim obteve-se, para cada coleta da pirólise, 3 fases orgânicas (diclorometano alcalino, diclorometano ácido e acetato de etila) e a fase aquosa remanescente.

5.2 Determinação de fenóis totais

A fração 1, correspondente à coleta em 250 °C, apresentou compostos fenólicos que foram extraídos em diclorometano, nos pH alcalino e ácido, e em acetato de etila. A ausência de fenólicos na fase aquosa indicou que a extração foi eficiente.

A fração 2, correspondente à coleta em 500 °C, apresentou compostos fenólicos em todas soluções: que foram extraídos em diclorometano, nos pH alcalino e ácido, em acetato de etila e remanescentes na fase aquosa residual.

A fração 3, correspondente à coleta em 650 °C, apresentou compostos fenólicos que foram extraídos em diclorometano, nos pH alcalino e ácido, e em acetato de etila. A Tabela 5 apresenta os resultados do teste contendo a quantidade de fenólicos em cada amostra, bem como a massa correspondente e as relações entre a quantidade de fenólicos com as massas pirolisadas e da amostra inicial.

Tabela 5 - Dados do teor de compostos fenólicos totais, massa correspondente e suas relações.

AMOSTRAS	Compostos Fenólicos (mg)	Massa pirolisada (g)	Fenóis/ fração pirolisada (mg/g)	Fenóis/ amostra inicial (mg/g)
Fração 1 alcalino, dicloro	0,445	0,067796	6,564	0,247
Fração 1 ácido, dicloro	0,600	0,046717	12,843	0,333
Fração 1 ácido, acet etila	0,947	0,019055	49,698	0,526
Fração 1 fase aquosa	0,000	0,996120	0,000	0,000
Fração 2 alcalino, dicloro	0,960	0,016464	58,309	0,533
Fração 2 ácido, dicloro	1,364	0,040416	33,749	0,758
Fração 2 ácido, acet etila	1,831	0,005334	343,270	1,017
Fração 2 fase aquosa	0,390	1,259882	0,310	0,217
Fração 3 alcalino, dicloro	0,989	0,056416	17,530	0,549
Fração 3 ácido, dicloro	0,489	0,029370	16,650	0,272
Fração 3 ácido, acet etila	0,605	0,055093	10,981	0,336
Fração 3 fase aquosa	0,000	0,894740	0,000	0,000
"Condensado" retido	3,892	0,019902	195,558	2,162
TOTAL	12,512	3,507305	202,767	6,951

Fonte: Do autor (2017).

Os resultados obtidos na análise do conteúdo total de fenóis mostram que duas amostras não apresentaram presença de compostos fenólicos, tal fato pode ser decorrente da

pequena concentração de fenólicos, uma vez que se trata de duas frações aquosas com maiores diluições.

Com base nesses resultados, constata-se que são gerados diferentes compostos fenólicos, contemplando diferentes solubilidades, nas 3 faixas de temperatura coletadas.

Considerando-se a quantidade de fenólicos em cada amostra avaliada, obteve-se maior concentração na “Fração 2 acetato de etila” com valor de 1,831 mg de compostos fenólicos, seguida da “Fração 2 diclorometano ácido” com 1,364 mg e da “Fração 3 diclorometano alcalino” com 0,989 mg. Tal constatação da maior quantidade de compostos fenólicos na Fração 2 era esperada por corresponder à faixa de temperatura de clivagem e volatilização dos componentes da amostra.

Pela determinação da massa das amostras por pesagem, obteve-se o valor em massa de cada fração. Dentre os solventes, a “Fração 1 diclorometano alcalino” apresentou maior proporção de material com 67,796 mg, seguido da “Fração 3 diclorometano alcalina” com 56,416 mg. Comparando-se os dados das massa com as quantidade de fenólicos, as amostras com maior quantidade de fenólicos não correspondem às maiores quantidades de massa, visto que “Fração 2 acetato de etila” e “Fração 2 diclorometano ácido” apresentam massa 5,334 mg e 40,416 mg, respectivamente.

Como pode ser observado, a maior quantidade de compostos fenólicos foi verificada na menor quantidade em massa do material pirolisado e extraído em acetato de etila.

A Tabela 6, subdividida conforme as temperaturas de pirólise, apresenta o somatório do conteúdo de compostos fenólicos e suas massas da fração e relaciona esses valores entre si e com a massa de amostra utilizada (1,8 g).

Tabela 6 - Somatório do teor de fenólicos na extrações e de suas massas, em cada faixa de temperatura.

Amostra Pirólise	Compostos Fenólicos (mg)	Massa fração (g)	Fenóis (mg)/ massa fração (g)	Fenóis (mg)/ massa amostra (g)
Fração 1 250 °C	1,992	1,129688	1,764	1,107
Fração 2 500 °C	4,545	1,322096	3,438	2,525
Fração 3 650 °C	2,083	1,035619	2,012	1,158
“Condensado” retido	3,892	0,019902	195,554	2,162
Total			3,568	6,952

Fonte: Do autor (2017).

Comparando-se a quantidade de fenólicos nas faixas de temperatura coletadas, a maior concentração de compostos fenólicos foi obtida na fração 2 equivalente a $2,525 \text{ mg g}^{-1}$ amostra. Tal observação era esperada por representar uma faixa de temperatura de maior clivagem da lignina, e de volatilização de componentes do óleo de café verde. As frações 1 e 3 apresentaram valores próximos de concentração de compostos fenólicos, $1,107$ e $1,158 \text{ mg g}^{-1}$ de amostra. O "Condensado retido", correspondente ao vapor que se condensou na saída do forno e não coletado em nenhuma das frações, representou uma quantidade alta de fenóis, de $2,162 \text{ mg g}^{-1}$ amostra. Não é possível saber em qual faixa de temperatura foi gerado esse "Condensado retido" motivo de não ser submetido às extrações e de não ter os resultados discutidos.

Pela avaliação dos resultados apresentados, a quantidade de fenóis determinada pode ser relacionada à massa correspondente de amostra utilizada, gerando o rendimento, bem como ser relacionada à massa de cada fração coletada da pirólise, gerando a seletividade. Assim, ao considerar a quantidade de fenóis em todo o processo de pirólise, obteve-se 0,7% de rendimento e 0,5% de seletividade na formação de compostos fenólicos.

O valor total de compostos fenólicos obtido da recuperação da pirólise da amostra corresponde a cerca de 0,7 % da massa da amostra. Tal valor pode ser comparado em relação às quantidades dos constituintes lignina e compostos fenólicos presentes no grão de café verde com valores de 1 a 3% e 7 a 9%, respectivamente, já que se toda a lignina fosse degradada gerando compostos fenólicos e os mesmos presente no café verde totalizam cerca de 10% da massa da amostra.

5.3 Análise de IR

As soluções obtidas das extrações (diclorometano e acetato de etila) e a fase aquosa resultante de cada uma das 3 frações da coleta do forno foram analisadas no ATR gerando os seguintes dados:

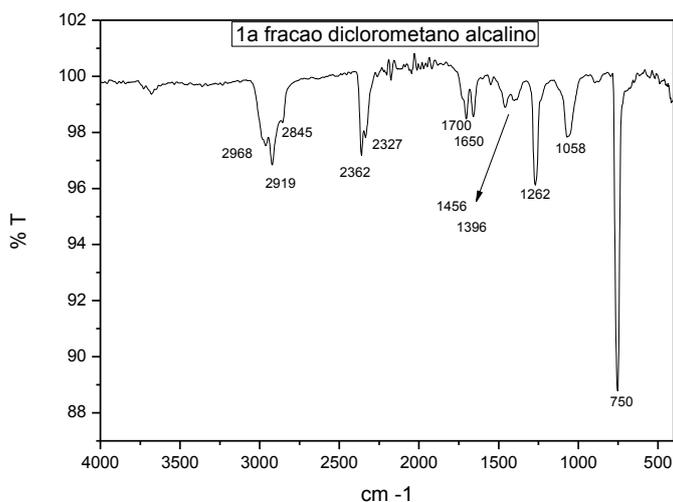
5.3.1 1ª fração de coleta do tratamento térmico:

- a) extração com diclorometano da fase aquosa alcalinizada

O gráfico de IR apresenta picos que indicam ser de hidrocarbonetos. As bandas em 2362 e 2327 cm^{-1} se referem a CO_2 , componente do ar atmosférico. Verifica-se pico discreto próximo a 3600 cm^{-1} .

As bandas na região de 2900 cm^{-1} são relativas a estiramento C–H de alcano. A banda em 1700 cm^{-1} se encontra na faixa provável de vibração de deformação axial de C=O, possivelmente de éster insaturado. A banda em 1650 cm^{-1} se encontra na faixa estiramento C=C de alqueno. As bandas em 1396 e 1456 cm^{-1} se encontram na faixa de deformação angular C–H de alcano. As bandas em 1058 e 1262 cm^{-1} se encontram na faixa provável de estiramento C–O de fenol. A banda em 750 cm^{-1} pode ser atribuída a deformação angular C–H de fenóis (FIGURA 15).

Figura 15- Espectro de IR da fração 1 alcalinizada e extraída com diclorometano.

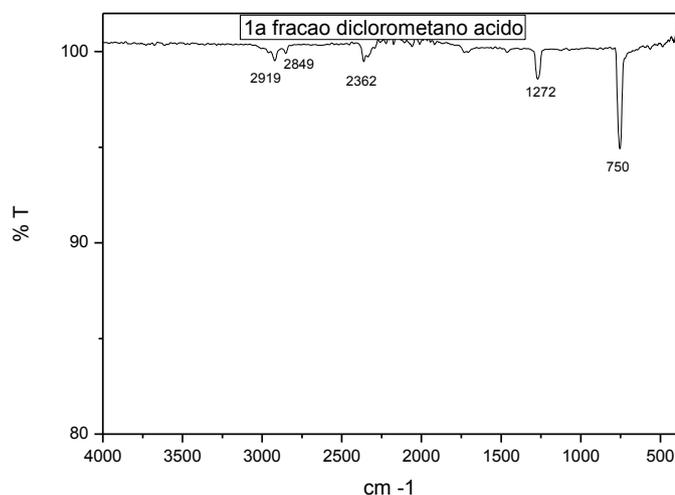


Fonte: Do autor (2017).

b) extração com diclorometano da fase aquosa acidificada

As bandas na região de 2900 cm^{-1} são relativas a estiramento C–H de alcano. A banda em 1272 cm^{-1} se encontra na faixa de estiramento C–O de fenol. A banda em 750 cm^{-1} pode ser atribuída a deformação angular C–H de fenóis (FIGURA 16).

Figura 16 - Espectro de IR da fração 1 acidificada e extraída com diclorometano.



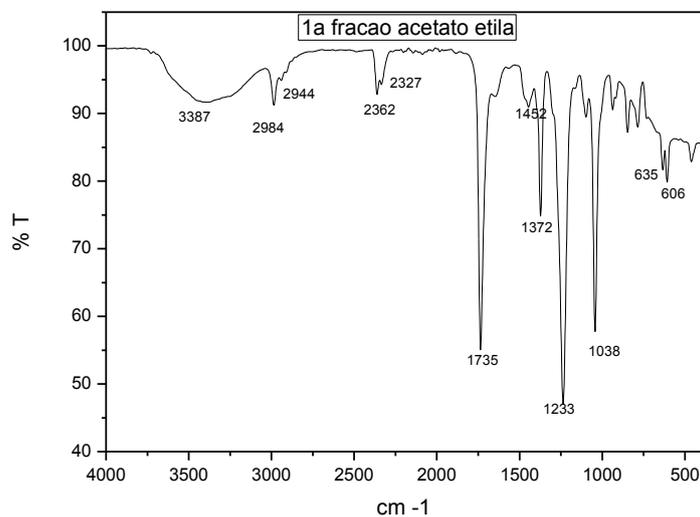
Fonte: Do autor (2017).

Constatou-se o desaparecimento das bandas de 1058, 1650 e 1700 cm^{-1} possivelmente relativas a fenol, alqueno e éster.

c) extração com acetato de etila da fase aquosa acidificada

O pico largo em 3387 cm^{-1} é indicativo de OH decorrente de vibração de deformação axial de O-H fenólico, mas com ocorrência de interação intermolecular. As bandas na região de 2959 cm^{-1} são relativas a estiramento C-H de alcano. A banda em 1735 cm^{-1} se encontra na faixa provável de vibração de deformação axial de C=O. As bandas em 1372 e 1452 cm^{-1} se encontram na faixa de deformação angular C-H de alcano. As bandas em 1038 e 1233 cm^{-1} se encontram na faixa provável de estiramento C-O de fenol (FIGURA 17).

Figura 17 - Espectro de IR da fração 1 acidificada e extraída com acetato de etila.

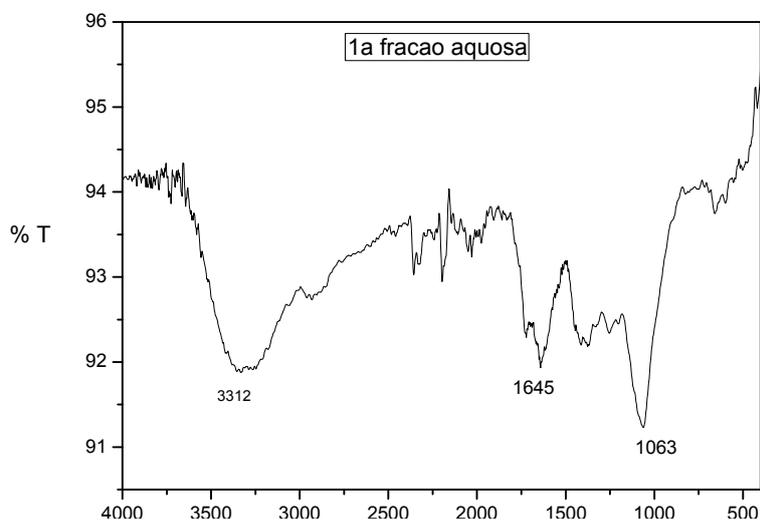


Fonte: Do autor (2017).

d) fase aquosa após extrações

A banda em 3312 cm^{-1} está na região de estiramento O-H de fenol ou álcool. A banda em 1645 cm^{-1} pode ser atribuída a estiramento C=C de alqueno. A banda em 1063 cm^{-1} se encontra na faixa provável de vibração de deformação axial de C-O de alcoóis e fenóis (FIGURA 18).

Figura 18 - Espectro de IR da fase aquosa fração 1.



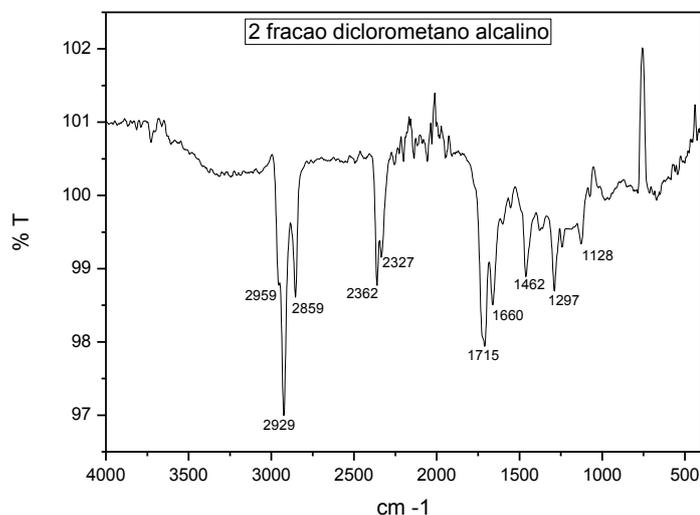
Fonte: Do autor (2017).

5.3.2 2ª fração de coleta do tratamento térmico:

a) extração com diclorometano da fase aquosa alcalinizada

As bandas na região de 2859 a 2959 cm^{-1} são relativas a estiramento C–H de alcano. A banda em 1715 cm^{-1} se encontra na faixa provável de vibração de deformação axial de C=O possivelmente éster insaturado. A banda em 1660 cm^{-1} pode ser atribuída a estiramento C=C de alqueno. A banda em 1297 e 1462 cm^{-1} pode ser relativo a C–H de alcano (FIGURA 19).

Figura 19 - Espectro de IR da fração 2 alcalinizada e extraída com diclorometano.



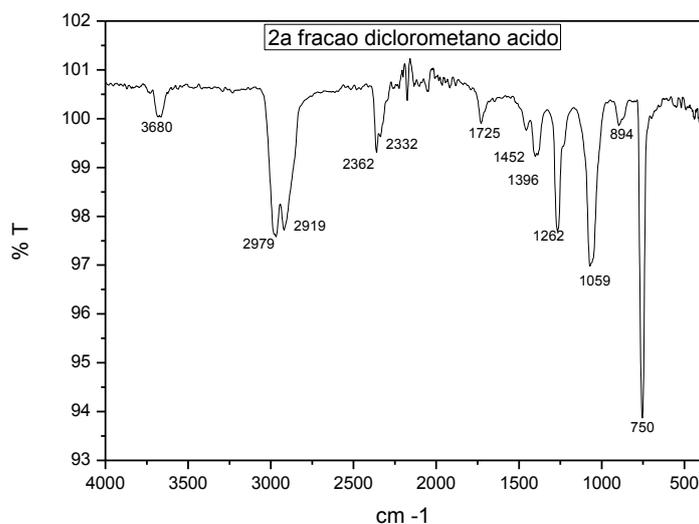
Fonte: Do autor (2017).

Constatou-se o desaparecimento da bandas em 750 cm^{-1} evidenciando a ausência de fenóis. Verificaram-se bandas de absorção sugestivas da presença de hidrocarbonetos e ácidos graxos.

b) extração com diclorometano da fase aquosa acidificada

A banda em 3680 cm^{-1} está na região de estiramento fenol O–H diluído. As bandas na região de 2919 a 2979 cm^{-1} são relativas a estiramento C–H de alcano. A banda em 1725 cm^{-1} se encontra na faixa provável de vibração de deformação axial de C=O possivelmente éster insaturado. A banda em 1396 cm^{-1} pode ser atribuída a deformação angular C–H de alcano. As bandas em 1059 e 750 cm^{-1} podem ser relativo a C–O e C–H de fenol, respectivamente. A banda em 750 cm^{-1} pode ser atribuída a deformação angular C–H de fenóis (FIGURA 20).

Figura 20 - Espectro de IR da fração 2 acidificada e extraída com diclorometano.



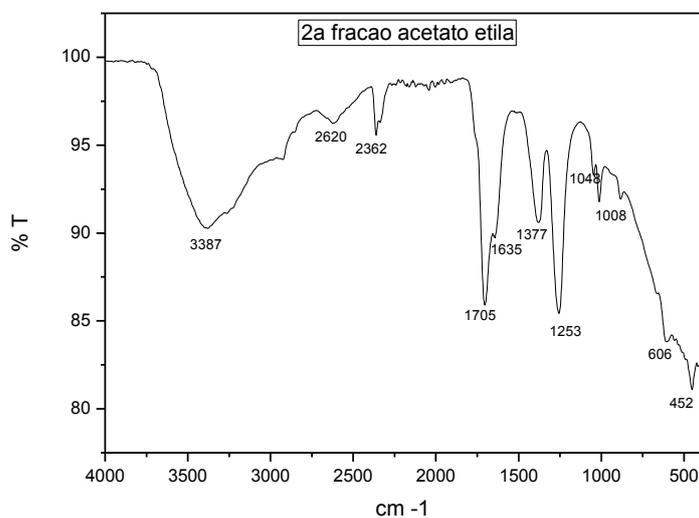
Fonte: Do autor (2017).

Constataram-se a presença de bandas relativas a hidrocarbonetos e fenóis na amostras pirolisada a 500°C , acidificada e extraída com diclorometano diferentemente da amostra pirolisada a 250°C nas mesmas condições. Tal evidência indica a presença de diferentes compostos gerados pelo tratamento térmico.

c) extração com acetato de etila da fase aquosa acidificada

A banda em 3387 cm^{-1} está na região de estiramento O–H, de fenol ou ácido carboxílico. As bandas na região de 2900 cm^{-1} são relativas a estiramento C–H de alcano. A banda em 1705 cm^{-1} se encontra na faixa provável de vibração de deformação axial de C=O possivelmente éster insaturado. A banda em 1635 cm^{-1} pode ser atribuída a estiramento C=C de alqueno. A banda em 1377 cm^{-1} pode ser atribuída a deformação angular C–H de alcano. A banda em 1253 cm^{-1} pode ser relativo a C–O de fenol (FIGURA 21).

Figura 21 - Espectro de IR da fração 2 acidificada e extraída com acetato de etila.

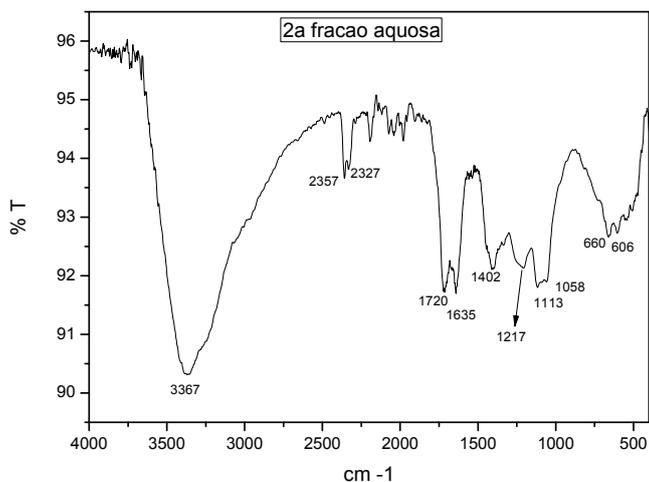


Fonte: Do autor (2017).

d) fase aquosa após extrações

A banda em 3367 cm^{-1} está na região de estiramento O–H possivelmente de fenol. A banda em 1720 cm^{-1} se encontra na faixa provável de vibração de deformação axial de C=O possivelmente éster insaturado. A banda em 1635 cm^{-1} pode ser atribuída a estiramento C=C de alqueno. As bandas em 1402 e 1217 cm^{-1} podem ser atribuídas a deformação angular C–H de alcanos. As bandas em 1113 e 1058 cm^{-1} podem ser atribuídas a estiramento C–O de fenóis (FIGURA 22).

Figura 22 - Espectro de IR da fase aquosa da fração 2.



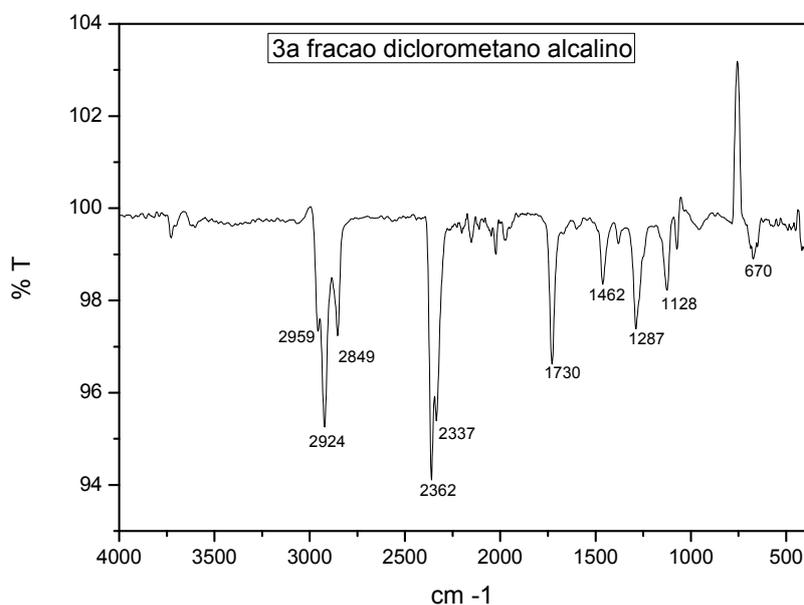
Fonte: Do autor (2017).

5.3.3 3ª fração de coleta do tratamento térmico:

a) extração com diclorometano da fase aquosa alcalinizada

As bandas na região de 2900 cm^{-1} são relativas a estiramento C–H de alcano. A banda em 1730 cm^{-1} se encontra na faixa provável de vibração de deformação axial de C=O. As bandas em 1462 e 1287 cm^{-1} se encontram da faixa provável de deformação angular C–H de alcano. A banda em 1058 cm^{-1} pode ser atribuída a C–O de fenol (FIGURA 23).

Figura 23- Espectro de IR da fração 3 alcalinizada e extraída com diclorometano.



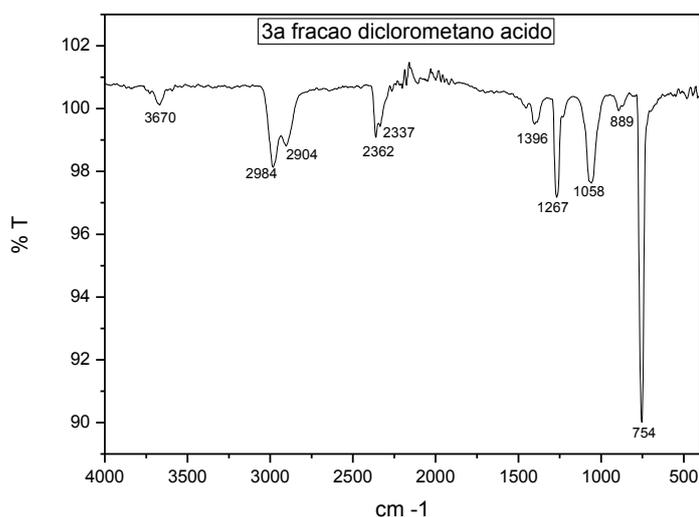
Fonte: Do autor (2017).

O espectro de IR da amostra (pirolisada a 650°C) apresentou-se semelhante ao da fração 2 (temperatura de 500°C) nas mesmas condições, sugerindo a presença de moléculas com os mesmos grupos funcionais e assim com características semelhantes.

b) extração com diclorometano da fase aquosa acidificada

A banda em 3670 cm^{-1} está na região de estiramento O–H de fenol diluído. As bandas na região de 2900 cm^{-1} são relativas a estiramento C–H de alcano. As bandas em 1267 e 1058 cm^{-1} podem ser atribuídas a C–O de fenol. A banda em 754 cm^{-1} pode ser atribuída a deformação angular C–H de fenóis (FIGURA 24).

Figura 24- Espectro de IR da fração 3 acidificada e extraída com diclorometano.



Fonte: Do autor (2017).

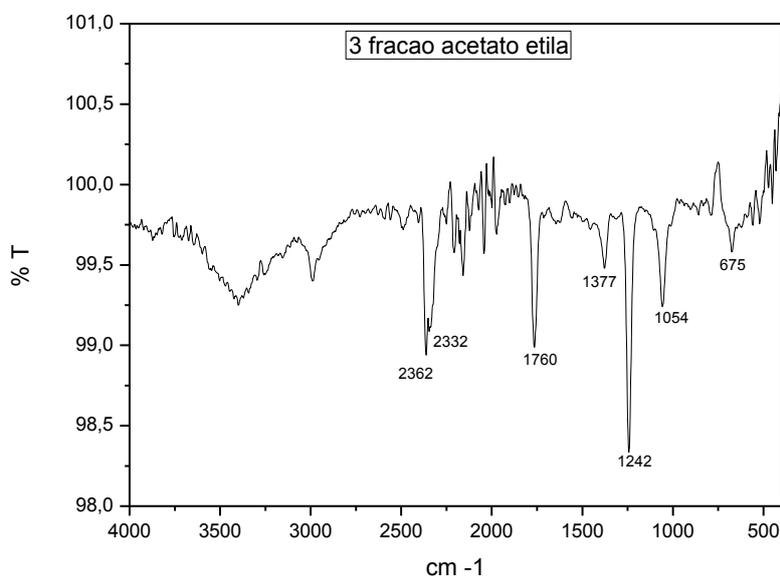
O espectro de IR da amostra (pirolisada a 650°C) apresentou-se semelhante ao da fração 2 (temperatura de 500°C) nas mesmas condições, sugerindo a presença de moléculas com os mesmos grupos funcionais e assim com características semelhantes.

c) extração com acetato de etila da fase aquosa acidificada

Ressalta-se a baixa absorção dos componentes pela pequena concentração. A banda em 1760 cm^{-1} se encontra na faixa provável de vibração de estiramento C=O provavelmente de ácido carboxílico. As bandas em 1377 e 1242 cm^{-1} se encontram da faixa provável de deformação angular C–H de alcano, entretanto a banda em 1242 cm^{-1} também se encontra na

região de deformação axial C–O de fenol. A banda em 1054 cm^{-1} pode ser atribuída a C–O de fenol (FIGURA 25).

Figura 25 - Espectro de IR da fração 3 acidificada e extraída com acetato de etila.

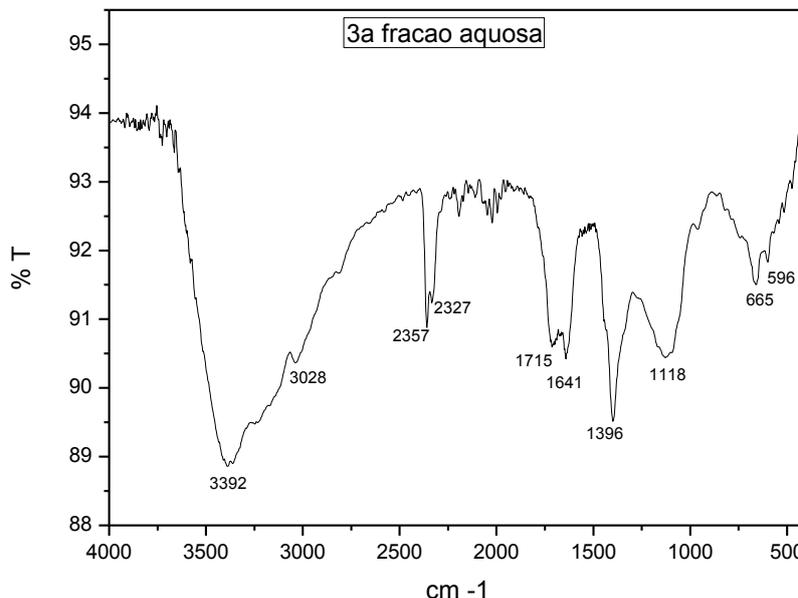


Fonte: Do autor (2017).

d) fase aquosa após extrações

A banda em 3392 cm^{-1} está na região de estiramento O–H possivelmente de fenol. A banda em 3028 cm^{-1} se encontra na faixa de absorção de estiramento C–H de alquenos. A banda em 1715 cm^{-1} se encontra na faixa provável de vibração de deformação axial de C=O possivelmente éster insaturado. A banda em 1641 cm^{-1} pode ser atribuída a estiramento C=C de alqueno. A banda em 1396 cm^{-1} pode ser atribuídas a deformação angular C–H de alcanos. A banda em 1118 cm^{-1} pode ser atribuída a estiramento C–O de fenóis (FIGURA 26).

Figura 26 - Espectro de IR da fase aquosa fração 3.



Fonte: Do autor (2017).

Os espectro de IR das 3 frações aquosas (obtidos nas temperaturas 250, 500 e 650°C) são semelhantes, indicando a presença de moléculas com grupos funcionais em comum.

De acordo com a verificação dos espectros IR, nas frações 1 e 2 foram evidenciados a presença banda de O–H de fenol na extração com acetato de etila e na fase aquosa. Na fração 3, foi evidenciado a banda de O–H de fenol apenas na fase aquosa. Tais verificações indicam que apenas nessas amostras existem os compostos fenólicos.

Nas frações alcalinas que foram extraídas com diclorometano evidenciaram-se bandas correspondentes a hidrocarbonetos, indicando que a separação de moléculas apolares pretendida foi alcançada.

Extrapolando-se as observações ocorridas na torrefação, em que não houve degradação significativa dos ácidos graxos, para a pirólise realizada no presente trabalho, pode-se supor que os lipídios não degradam na temperatura até 230 °C. Assim, infere-se que durante o aquecimento os ácidos graxos ou seus ésteres foram evaporados sem sofrer decomposição sendo coletados após resfriamento.

Comparando-se com os espectros obtidos no experimento com os dados da literatura, constata-se que as bandas na região de 2845 a 2979 cm^{-1} são decorrentes de deformação axial (estiramento) C-H de alcanos. Tal fato é verificado nos espectros: fração 1 solventes (diclorometano ácido e alcalino, acetato de etila); fração 2 solventes (diclorometano alcalino e

ácido, acetato de etila); fração 3 solventes (diclorometano alcalino e ácido). A banda acima de 3000 cm^{-1} foi verificada na fração 3 aquosa, supondo ser decorrente de insaturação.

De acordo com a literatura, verificam-se máximos próximos a 1650 e 1700 cm^{-1} no espectro IV da cafeína. Pela avaliação dos espectros obtidos no experimento, observa-se similaridade com as frações aquosas nas 3 temperaturas de coleta, indicando sua presença em toda a faixa do processo térmico adotado. A Tabela 7 resume os grupos funcionais verificados referentes às bandas de absorção de IR em cada amostra.

Tabela 7 - Possíveis moléculas presentes em cada amostra baseado nas bandas de IR.

Amostra	Nº de onda (cm ⁻¹)	Grupos funcionais verificados	Possíveis moléculas
Fração 1 alcalinizada e extraída com diclorometano	1058 e 1262, 750	C-O, C-H	Fenol
	1700	C=O	Éster
	1396 e 1456	C-H	Alcano
	1650	C=C	Alqueno
Fração 1 acidificada e extraída com diclorometano	1272, 750	C-O, C-H	Fenol
	2900	C-H	Alcano
Fração 1 acidificada e extraída com acetato de etila	3387, 1038 e 1233	O-H, C-O	Fenol
	1735	C=O	Éster ou ácido
	1372 e 1452	C-H	Alcano
Fração 1 fase aquosa	3312, 1063	O-H, C-O	Fenol ou álcool
	1645	C=C	Alqueno
Fração 2 alcalinizada e extraída com diclorometano	1715	C=O	Éster
	2859 e 2959, 1297 e 1462	C-H	Alcano
	1660	C=C	Alqueno
	3680, 1059, 750	O-H, C-O, C-H	Fenol
Fração 2 acidificada e extraída com diclorometano	1725	C=O	Éster
	2919 e 2979, 1396	C-H	Alcano
	3387, 1253	O-H, C-O	Fenol
Fração 2 acidificada e extraída com acetato de etila	11705	C=O	Éster
	2900, 1377	C-H	Alcano
	1635	C=C	Alqueno
	3367, 1058 e 1113	O-H, C-O	Fenol
Fração 2 fase aquosa	1720	C=O	Éster
	1217 e 1402	C-H	Alcano
	1635	C=C	Alqueno
	1058	C-O	Fenol
Fração 3 alcalinizada e extraída com diclorometano	1730	C=O	Éster
	1287 e 1462	C-H	Alcano
	3670, 1058 e 1267, 754	O-H, C-O, C-H	Fenol
Fração 3 acidificada e extraída com diclorometano	2900	C-H	Alcano
	1054	C-O	Fenol
Fração 3 acidificada e extraída com acetato de etila	1760	C=O	Éster ou ácido
	1242 e 1377	C-H	Alcano
	3392, 1118	O-H, C-O	Fenol
Fração 3 fase aquosa	1715	C=O	Éster
	1396	C-H	Alcano
	3028, 1641	C-H, C=C	Alqueno

Fonte: Do autor (2017).

5.4 Avaliação cromatográfica

Alguns picos verificados nos cromatogramas, possivelmente de compostos fenólicos, não foram identificados devido à baixa concentração dificultando a detecção e comparação ao pico correspondente no padrão.

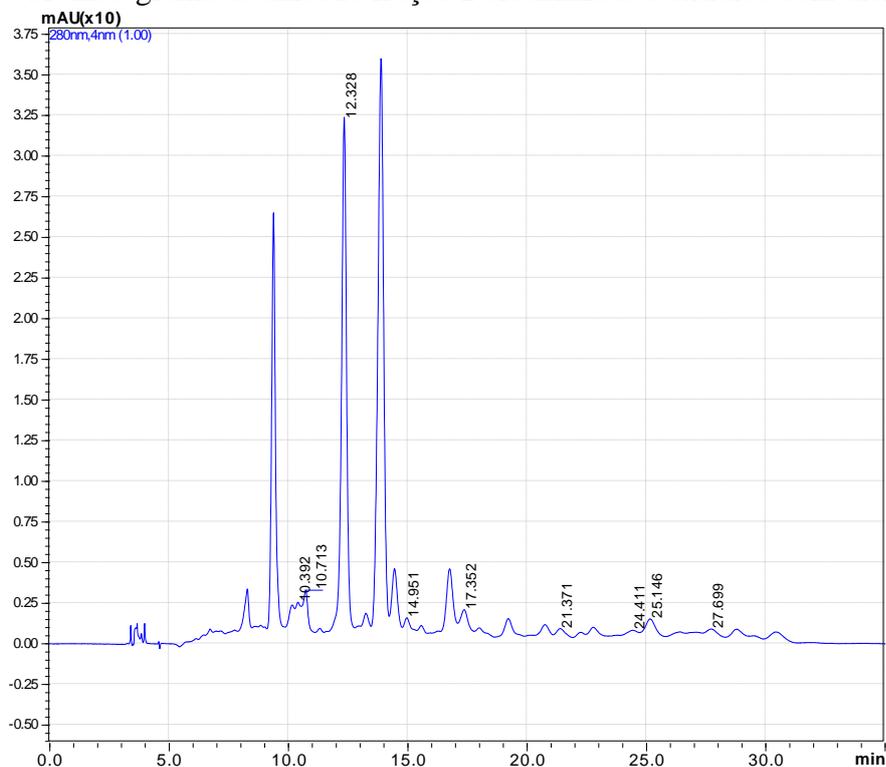
5.4.1 Método de Compostos Fenólicos

A fim de verificar seus constituintes, os cromatogramas das amostras foram obtidos e suas verificações seguem descritos a seguir:

a) Cromatograma da Fração 2 alcalinizada e extraída com diclorometano

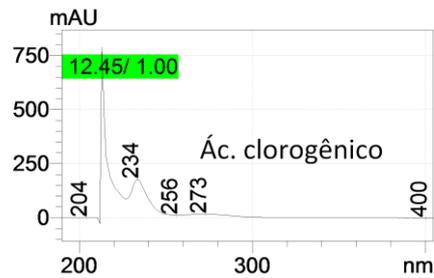
Pela análise do cromatograma, Figura 27, verificou-se o pico com RT relativo ao ácido clorogênico (12,3) e regiões que eluem ácido caféico, vanilina, ácido p-cumárico e ácido ferúlico. O espectro UV obtido no RT em que elui ácido clorogênico, Figura 28, é semelhante ao observado no padrão, confirmando a identidade do pico.

Figura 27 - Cromatograma da amostra fração 2 alcalinizada e extraída com diclorometano.



Fonte: Do autor (2017).

Figura 28 - Espectro UV referente ao pico em 12,4 minutos do cromatograma.

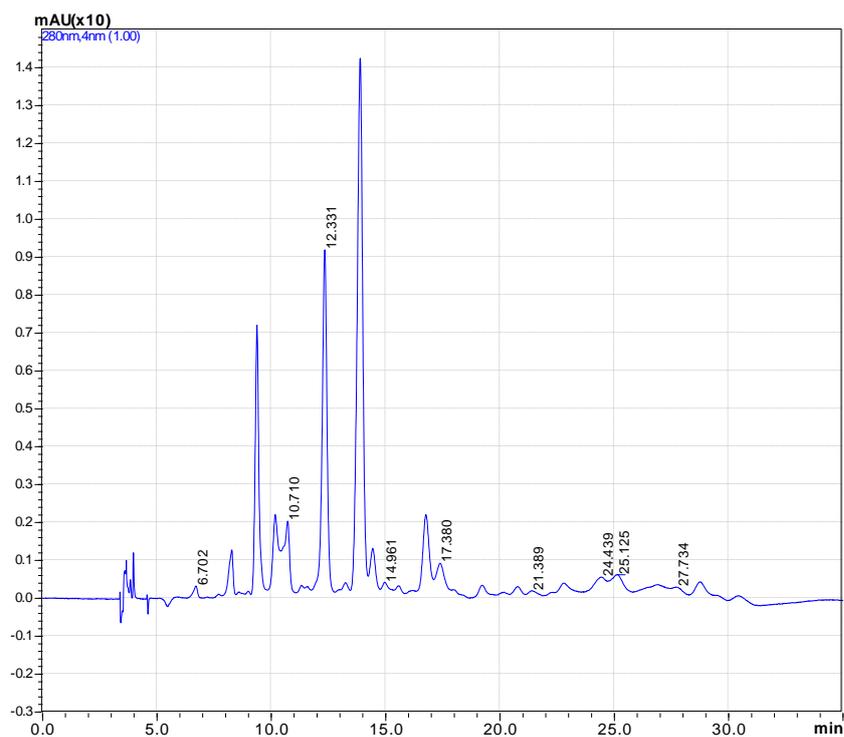


Fonte: Do autor (2017).

b) Cromatograma da Fração 2 acidificada e extraída com diclorometano

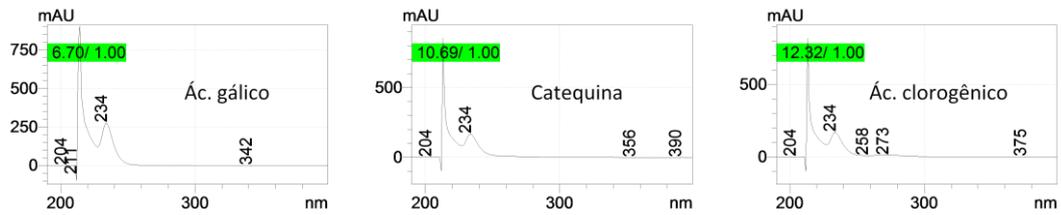
Pela análise do cromatograma, Figura 29, verificaram-se os picos com RT relativos ao ácido gálico (6,7), catequina (co-eluição em 10,7), ácido clorogênico (12,3) e regiões que eluem ácido caféico, vanilina, ácido ferúlico e ácido m-cumárico. Os espectros UV obtidos nesses RT, Figura 30, são semelhantes ao observado no padrão, confirmando a identidade dos picos.

Figura 29 - Cromatograma da amostra fração 2 acidificada e extraída com diclorometano.



Fonte: Do autor (2017).

Figura 30 - Espectros UV referentes aos picos do cromatograma.

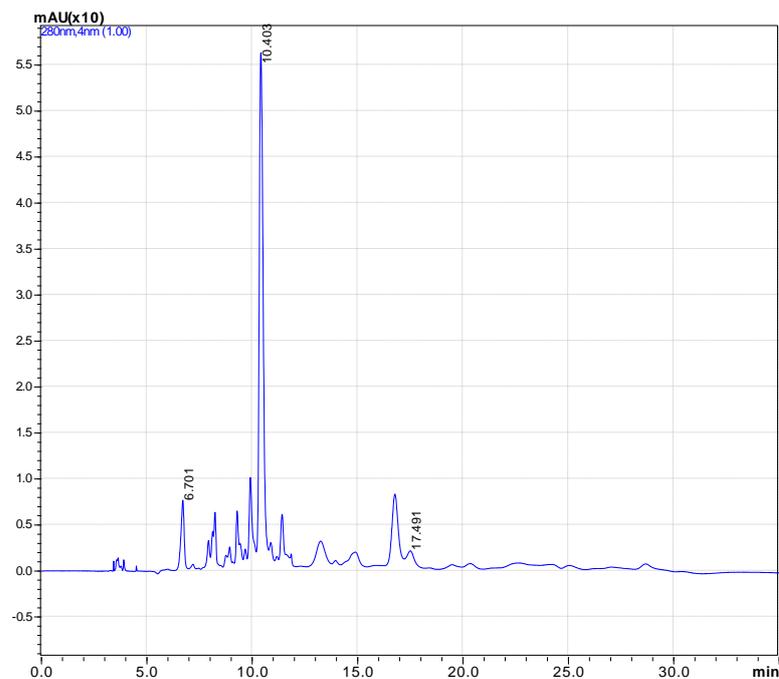


Fonte: Do autor (2017).

c) Cromatograma da Fração 2 acidificada e extraída com acetato de etila

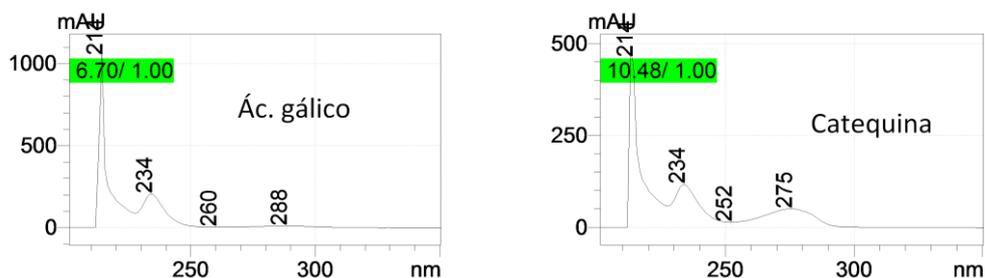
Pela análise do cromatograma, Figura 31, verificaram-se os picos com RT relativos ao ácido gálico (6,7) e catequina (10,4) e regiões que eluem ácido caféico e vanilina. O espectro UV obtido em 10,4 minutos revela 2 bandas características a catequina em 214 e 234 nm, e outra banda em 275 nm indicativo da presença de outra molécula, sugerindo coeluição de picos (FIGURA 32).

Figura 31 - Cromatograma da amostra fração 2 acidificada e extraída com acetato etila.



Fonte: Do autor (2017).

Figura 32 - Espectros UV referentes aos picos do cromatograma.



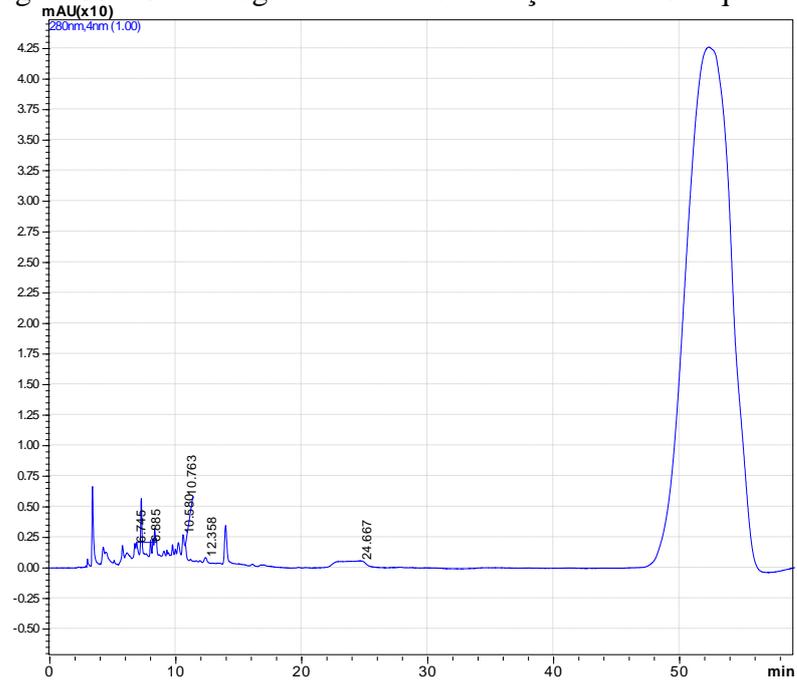
Fonte: Do autor (2017).

d) Cromatograma da Fração 2 na fase aquosa

Pela análise do cromatograma, Figura 33, verificaram-se os picos pequenos com RT relativos ao ácido gálico (6,7) e catequina (co-eluição em 10,7). Os espectros UV obtidos nesses RT são semelhantes ao observado no padrão, confirmando a identidade dos picos.

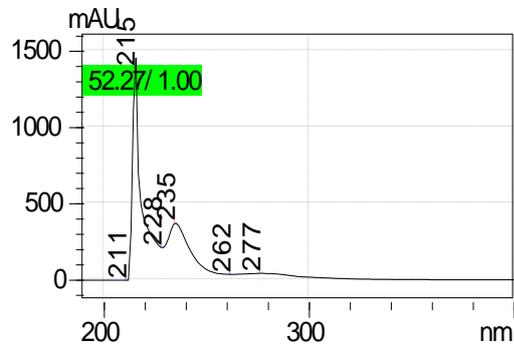
Observou-se também a presença de pico em grande concentração na região de eluição do ácido trans-cinâmico e rutina. O espectro UV, Figura 34, obtido em 52,3 minutos revela os máximos de absorção coincidentes a ambas moléculas (215 e 235 nm) e outro máximo em 277 nm semelhante ao do ácido trans-cinâmico. Pela avaliação do RT e dos espectros, verifica-se a coeluição de moléculas diferentes.

Figura 33 - Cromatograma da amostra fração 2 na fase aquosa.



Fonte: Do autor (2017).

Figura 34 - Espectro UV referente ao pico do cromatograma.

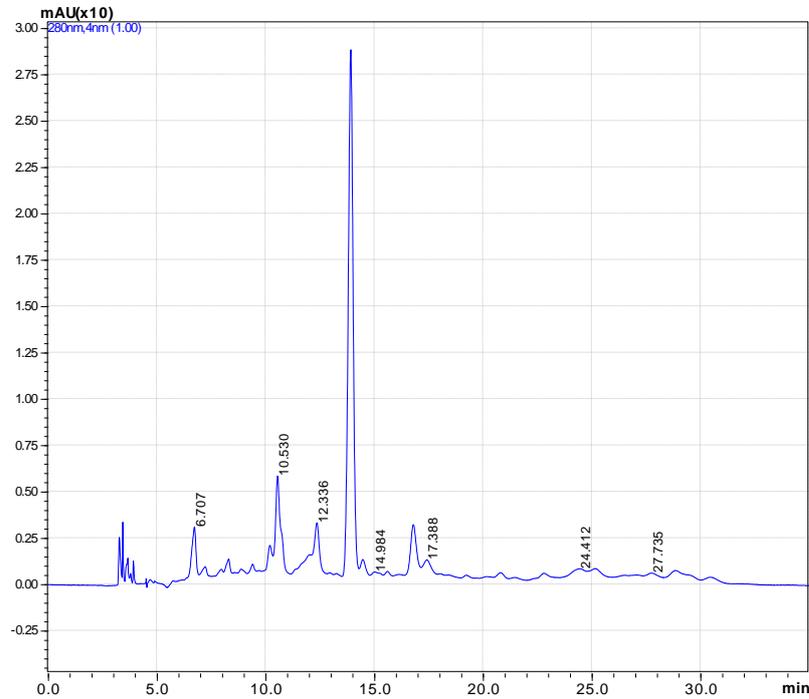


Fonte: Do autor (2017).

e) Cromatograma do "resíduo retido" (diluído 5 vezes)

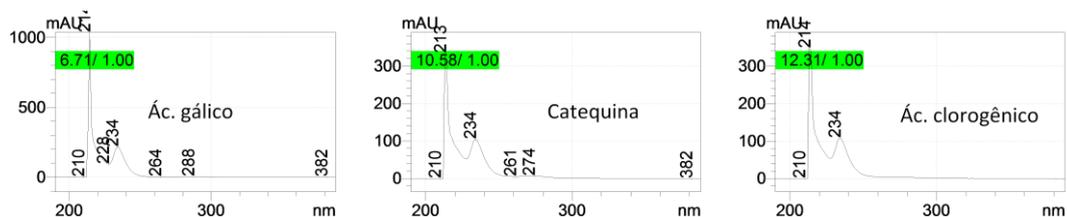
Pela análise do cromatograma, Figura 35, verificaram-se os picos com RT relativos ao ácido gálico (6,7), catequina (10,5), ácido clorogênico (12,3) e regiões que eluem vanilina, ácido ferúlico e ácido m-cumárico. Os espectros UV obtidos nesses RT, Figura 36, são semelhantes ao observado no padrão, confirmando a identidade dos picos.

Figura 35 - Cromatograma do "resíduo retido".



Fonte: Do autor (2017).

Figura 36 - Espectros UV referentes aos picos do cromatograma.



Fonte: Do autor (2017).

Foi calculado o Fator de Resposta (FR) de cada analito, que é a relação entre concentração e área de absorção do pico cromatográfico. Procedeu-se a quantificação dos compostos fenólicos identificados pela obtenção da área do pico, referente à absorção de cada analito, corrigido pelo FR.

Os dados obtidos dos cromatogramas, pelo método de compostos fenólicos, estão compilados na Tabela 8 que apresenta os picos identificados com suas respectivas áreas e teores.

Tabela 8 - Compostos fenólicos quantificados pelo Método de Compostos Fenólicos.

Amostra	Composto Fenólico	Tempo retenção (min)	Área	FR	Concentração (mg)	Fenois/ m. fração (mg/g)	Fenois/ massa amostra (mg/g)
Fração 2 alcalinizada e extraída com diclorometano	Ácido clorogênico	12,328	455584	5,41E-05	9,859	598,812	5,477
Fração 2 acidificada e extraída com diclorometano	Ácido gálico	6,702	3937	2,54E-05	0,043	1,056	0,024
	Catequina	10,71	17300	8,48E-05	0,626	15,487	0,348
Fração 2 acidificada e extraída com acetato de etila	Ácido clorogênico	12,331	129949	5,41E-05	3,000	74,217	1,666
	Ácido gálico	6,701	79849	2,54E-05	0,108	20,279	0,060
Fração 2 fase aquosa	Catequina	10,403	668674	8,48E-05	3,024	566,965	1,680
	Ácido gálico	6,745	10019	2,54E-05	0,036	0,028	0,020
"Condensado retido"	Catequina	10,763	7211	8,48E-05	0,086	0,068	0,048
	Ácido gálico	6,707	34820	2,54E-05	0,221	11,110	0,123
	Catequina	10,5	66273	8,48E-05	1,405	70,595	0,781
	Ácido clorogênico	12,336	26593	5,41E-05	0,360	18,072	0,200

Fonte: Do autor (2017).

Na amostra coletada a 500°C alcalinizada e extraída em diclorometano, foi verificado a presença do Ácido clorogênico com teor de 9,859 mg. Considerando-se a massa dessa fração (0,016464 g) verifica-se cerca de 600 mg de Ácido clorogênico por grama do produto pirolisado. Já, ao se relacionar a quantidade de Ácido clorogênico com a quantidade de amostra utilizada no processo (1,8 g) obtém cerca de 5 mg por grama de café verde (do resíduo verde, ardido e preto).

Na amostra coletada a 500°C acidificada e extraída em diclorometano, foi verificado o Ácido clorogênico como componente majoritário com teor de 3,0 mg. Tal quantidade corresponde a cerca de 74 mg de Ácido clorogênico em cada grama do produto pirolisado e a cerca de 2 mg por grama de amostra.

O extrato obtido em acetato de etila, foi verificado a Catequina como componente majoritário com teor de cerca de 3,0 mg. Tal quantidade corresponde a cerca de 570 mg de Ácido clorogênico em cada grama do produto pirolisado e a cerca de 2 mg por grama de amostra.

Já na fase aquosa, foram verificados pequenas quantidades de Ácido gálico e de Catequina, ambos com teores inferiores a 0,1 mg.

No líquido que se condensou na saída do forno ("Condensado retido") foi verificado a Catequina como componente majoritário, com teor de cerca de 1,4 mg.

Considerando a amostra avaliada, que foi pirolisada a 500°C, a maior quantidade de fenólicos determinada por HPLC e comparada ao padrão foi a condição que teve o pH alcalinizado e submetida a extração com diclorometano, apresentando teor de cerca de 10 mg. Ao relacionar essa quantidade com as massas do produto pirolisado e da amostra utilizada no

processo térmico, obtém-se cerca de 600 mg de compostos fenólicos por grama de produto e 5 mg por grama de amostra (TABELA 9).

Tabela 9 - Quantificação das amostras pelo Método de Compotos Fenólicos.

Amostra	Concentração (mg)	Fenois/ m. fração (mg/g)	Fenois/ massa amostra (mg/g)
Fração 2 alcalinizada e extraída com diclorometano	9,859	598,812	5,477
Fração 2 acidificada e extraída com diclorometano	3,668	90,760	2,038
Fração 2 acidificada e extraída com acetato de etila	3,132	587,244	1,740
Fração 2 fase aquosa	0,121	0,096	0,067
"Condensado retido"	1,986	99,777	1,103

Fonte: Do autor (2017).

Ao comparar os compostos fenólicos identificados na amostra pirolisada a 500°C, constata-se a maior quantidade do Ácido clorogênico com teor de aproximadamente 13 mg. A totalidade de compostos fenólicos foi de aproximadamente 17 mg, equivalente a cerca de 13 mg por grama de pirolisado a 500°C e cerca de 9 mg por grama de café verde (do resíduo verde, ardido e preto) (TABELA 10).

Tabela 10 - Concentração de fenólicos determinados pelo Método de Compotos Fenólicos.

Composto fenólico	Quantidade (mg)	Fenol / m. fração (mg/g)	Fenol / m. amostra (mg/g)
Ácido gálico	0,186	0,141	0,104
Catequina	3,736	2,826	2,075
Ácido clorogênico	12,858	9,726	7,144
Total	16,781	12,692	9,323

Fonte: Do autor (2017).

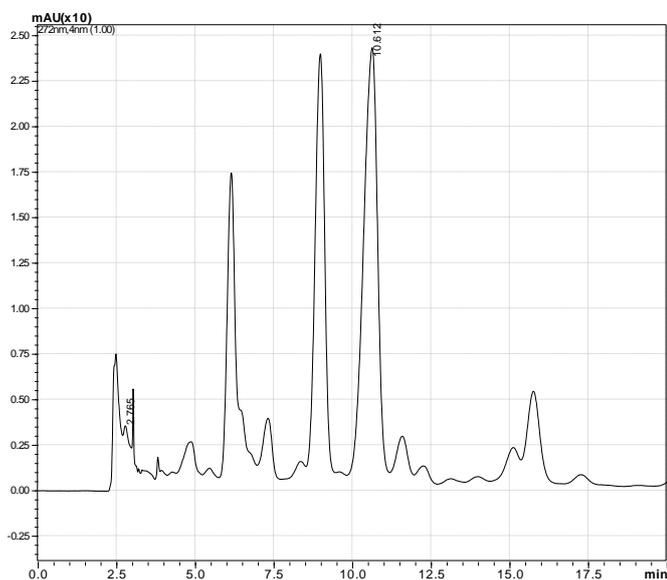
5.4.2 Método Café

Os cromatogramas das amostras e suas verificações seguem descritos. Ressalta-se que não foi verificado pico do ácido clorogênico nas amostras, possivelmente decorrente de alteração no RT, e com isso não foi obtido seu espectro UV.

a) Cromatograma da Fração 2 alcalinizada e extraída com diclorometano

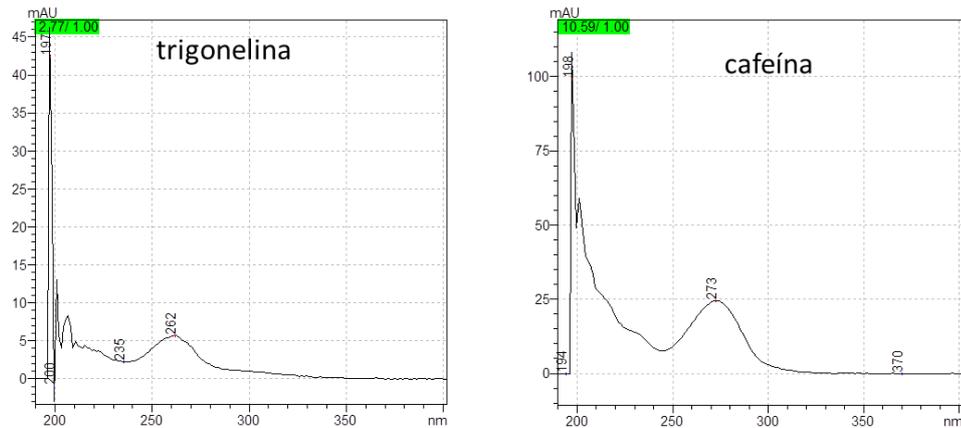
Pela análise do cromatograma, Figura 37, verificou-se o pico com RT relativo a cafeína (10,6) e outro pico evidente com RT de aproximadamente 9 minutos que possivelmente está associado ao ácido clorogênico. Pico muito pequeno em 2,7 minutos, possivelmente referente a trigonelina. Os espectros UV, Figura 38, são semelhantes aos do padrão confirmando a identidade desses picos.

Figura 37 - Cromatograma da amostra fração 2 alcalinizada e extraída com diclorometano.



Fonte: Do autor (2017).

Figura 38 - Espectros UV referentes aos picos do cromatograma.

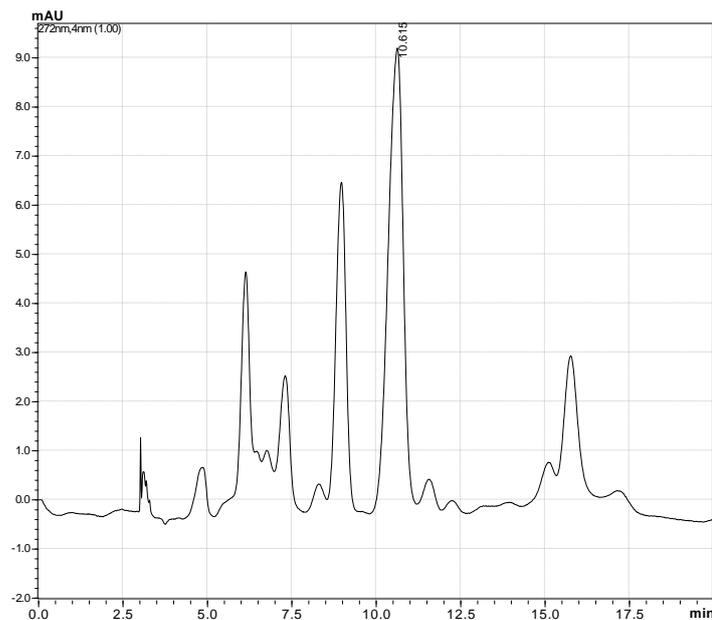


Fonte: Do autor (2017).

b) Cromatograma da Fração 2 acidificada e extraída com diclorometano

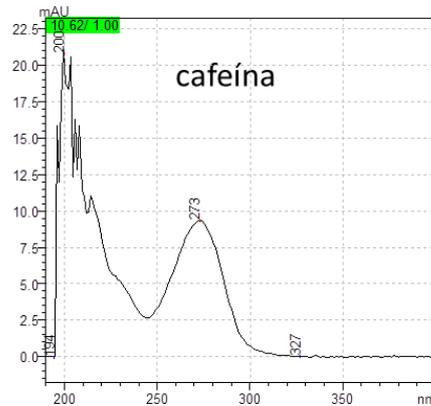
Pela análise do cromatograma, Figura 39, verificou-se o pico com RT relativo a caféina (10,6) e outro pico evidente com RT de aproximadamente 9 minutos que poderia ser ácido clorogênico. O espectro UV, Figura 40, é semelhante aos do padrão confirmando a identidade da caféina.

Figura 39 - Cromatograma da amostra fração 2 acidificada e extraída com diclorometano.



Fonte: Do autor (2017).

Figura 40 - Espectro UV referente ao pico do cromatograma.

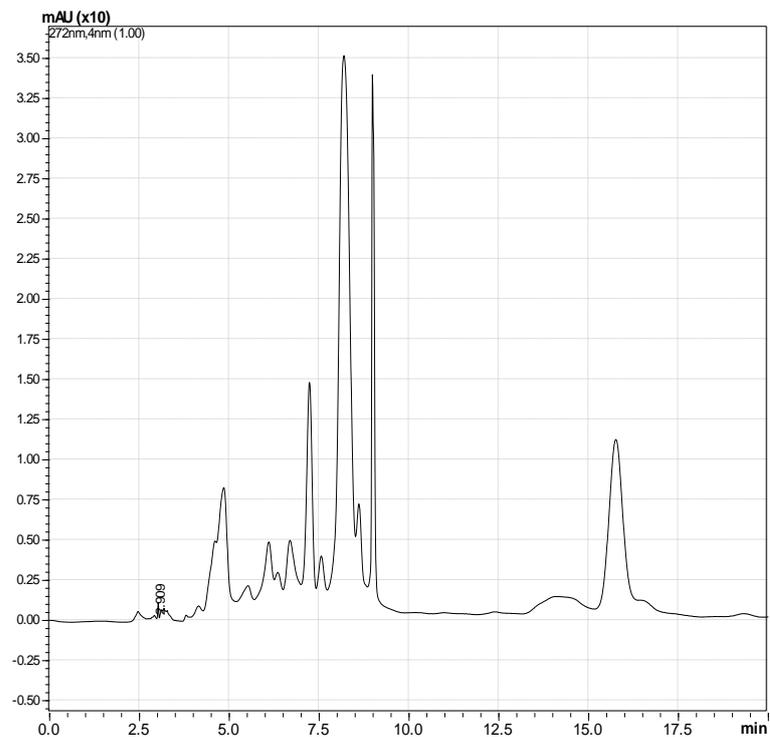


Fonte: Do autor (2017).

c) Cromatograma da Fração 2 acidificada e extraída com acetato de etila

Nenhum pico referente aos analito do padrão foi verificado nessa amostra (FIGURA 41).

Figura 41 - Cromatograma da amostra fração 2 acidificada e extraída com acetato etila.

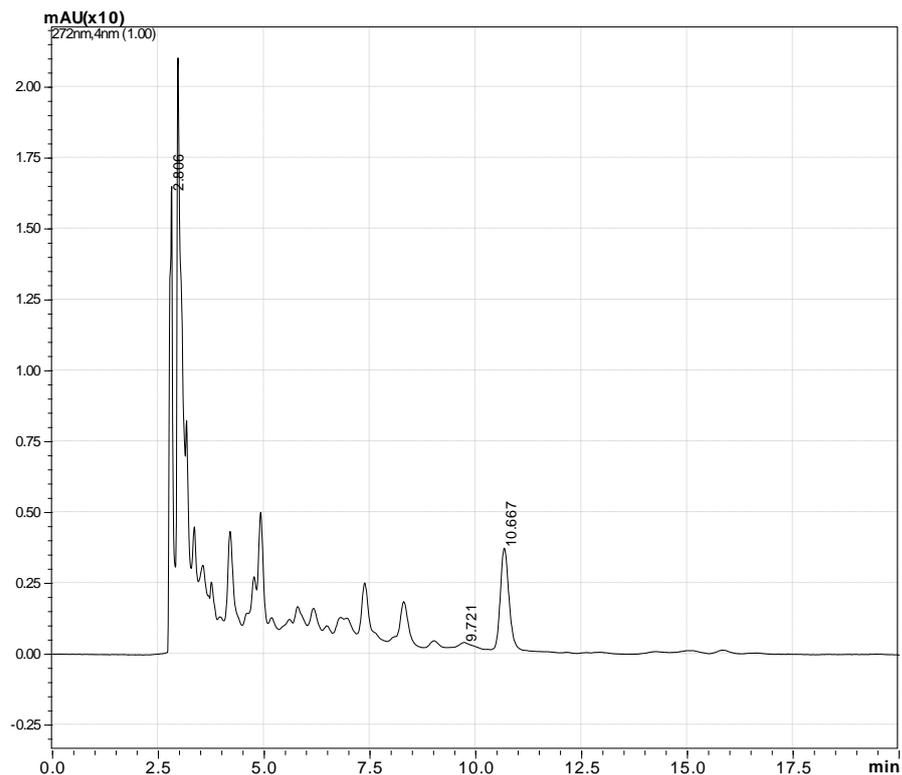


Fonte: Do autor (2017).

d) Cromatograma da Fração 2 na fase aquosa

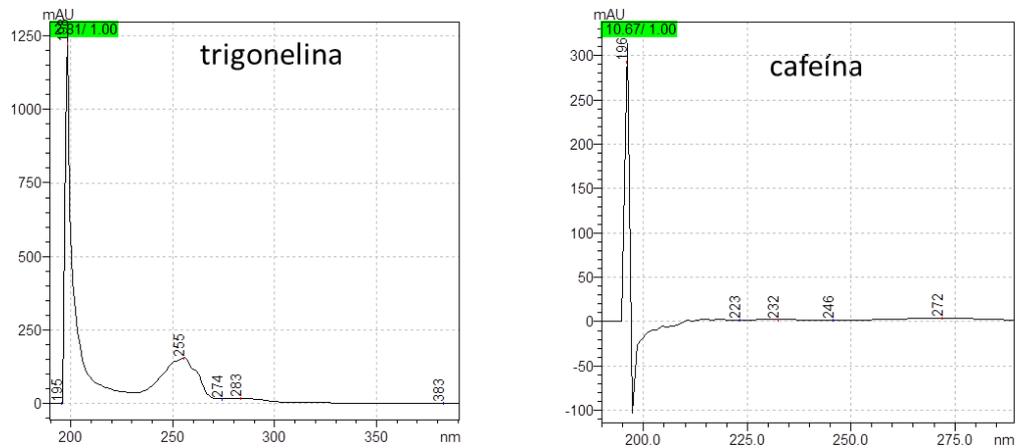
Pela análise do cromatograma, Figura 42, verificou-se o pico com RT relativo a trigonelina (2,8) e cafeína (10,6). Pico muito pequeno em 9,7 minutos pode ser atribuído ao ácido clorogênico. O espectro UV para a trigonelina apresenta máximo de absorção em 255 nm, diferente do espectro do padrão que apresenta máximo em 265 nm. Como a trigonelina é um pico que elui próximo ao volume morto a possibilidade de ocorrer co-eluição de picos é grande, tal fato é verificado pela análise do pico no cromatograma. O espectro UV da cafeína não está nítido possivelmente devido a baixa concentração desse analito na amostra (FIGURA 43).

Figura 42 - Cromatograma da fase aquosa da fração 2.



Fonte: Do autor (2017).

Figura 43 - Espectros UV referentes aos picos do cromatograma.

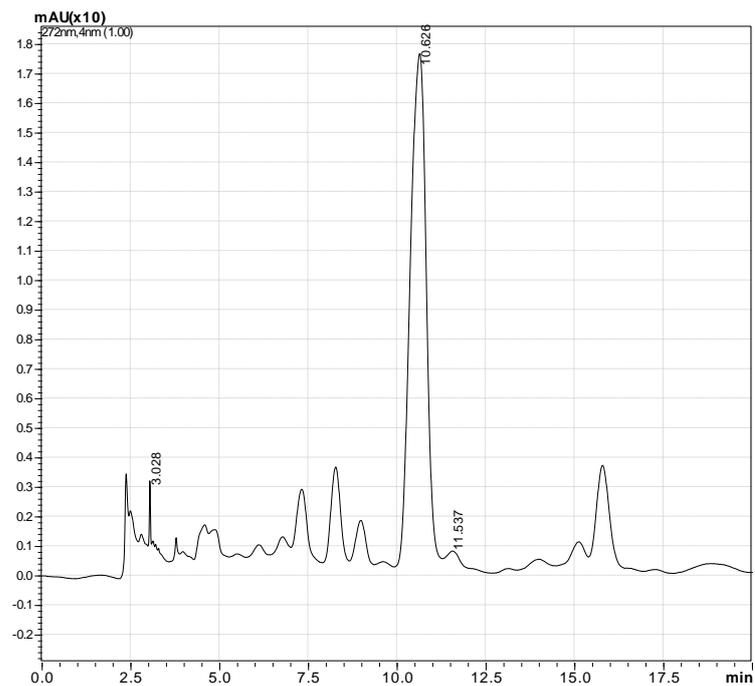


Fonte: Do autor (2017).

e) Cromatograma do "Condensado retido" (diluído 5 vezes)

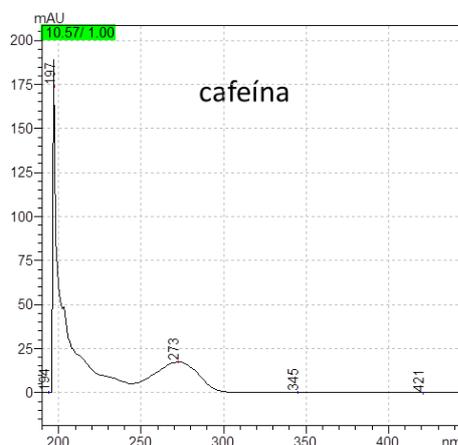
Pela análise do cromatograma, Figura 44, verificou-se o pico com RT relativo a cafeína (10,6). O espectro UV para a cafeína é semelhante ao observado no padrão, confirmando a identidade do pico (FIGURA 45).

Figura 44 - Cromatograma do "Condensado retido".



Fonte: Do autor (2017).

Figura 45 - Espectro UV referente ao pico do cromatograma.



Fonte: Do autor (2017).

Para o método de café, foi calculado o Fator de Resposta (FR) de cada analito, que é a relação entre concentração e área de absorção do pico cromatográfico. Procedeu-se a quantificação dos compostos fenólicos identificados pela obtenção da área do pico, referente à absorção de cada analito, corrigido pelo FR.

Os dados obtidos dos cromatogramas, pelo método de compostos fenólicos, estão compilados na Tabela 11 que apresenta os picos identificados com suas respectivas áreas e teores.

Tabela 11 - Compostos fenólicos quantificados pelo Método de Café.

Amostras	Composto Fenólico	Tempo retenção (min)	Área	FR	Concentração (mg)	Fenois/ m. fração (mg/g)	Fenois/ massa amostra (mg/g)
Fração 2 alcalinizada e extraída com diclorometano	Trigonelina	2,765	4948	4,19E-05	0,000	5,037	0,046
	Cafeína	10,612	711344	2,35E-05	0,017	406,137	3,715
Fração 2 acidificada e extraída com diclorometano	Cafeína	10,615	287180	2,35E-05	0,007	71,246	1,600
Fração 2 acidificada e extraída com acetato de etila	Trigonelina	2,909	1039	4,19E-05	0,000	0,435	0,001
Fração 2 fase aquosa	Trigonelina	2,806	73357	4,19E-05	0,003	0,342	0,239
	Cafeína	10,667	50534	2,35E-05	0,001	0,132	0,092
"Condensado retido"	Cafeína	10,626	541999	2,35E-05	0,013	159,996	1,769

Fonte: Do autor (2017).

Na amostra coletada a 500°C alcalinizada e extraída em diclorometano, foi verificado pequeno pico da Trigonelina em baixa concentração ($2,1 \times 10^{-4}$ mg). A cafeína foi determinada apresentando teor de aproximadamente 0,02 mg. Considerando-se a massa dessa fração (0,016464 g) verifica-se cerca de 400 mg de Cafeína por grama do produto pirolisado.

Já, ao se relacionar a quantidade de Cafeína com a quantidade de amostra utilizada no processo (1,8 g) obtém-se cerca de 4 mg por grama de café verde (do resíduo verde, ardido e preto).

Na amostra coletada a 500°C acidificada e extraída em diclorometano, foi verificado apenas a Cafeína, com teor de aproximadamente 0,01 mg. Tal quantidade corresponde a cerca de 71 mg de Cafeína em cada grama do produto pirolisado e a cerca de 2 mg por grama de amostra.

No extrato em acetato de etila, foi verificado apenas a Trigonelina com baixa concentração ($4,4 \times 10^{-5}$ mg). Já na fase aquosa, foram verificados pequenas quantidades de Trigonelina (0,003 mg) e Cafeína (0,001 mg).

No líquido que se condensou na saída do forno ("Condensado retido") foi verificado a presença de Cafeína, com teor de cerca de 0,013 mg.

Ao comparar os compostos fenólicos identificados na amostra pirolisada a 500°C, constata-se a maior quantidade da Cafeína com teor de aproximadamente 0,03 mg. A totalidade de compostos fenólicos (Trigonelina e Cafeína) é cerca de 0,03 mg, equivalente a cerca de 0,02 mg por grama de pirolisado a 500°C e de café verde (do resíduo verde, ardido e preto), como apresentado na Tabela 12.

Tabela 12 - Concentração de fenólicos determinados pelo Método de Café.

Composto fenólico	Quantidade (mg)	Fenol / m. fração (mg/g)	Fenol / m. amostra (mg/g)
Trigonelina	0,003	0,003	0,002
Cafeína	0,025	0,019	0,014
Total	0,028	0,021	0,016

Fonte: Do autor (2017).

Pela avaliação dos resultados cromatográficos, a quantidade de fenóis determinada pode ser relacionada à massa correspondente de amostra utilizada, gerando o rendimento, bem como ser relacionada à massa de cada fração coletada da pirólise, gerando a seletividade, ambos considerando apenas a fração 2 (coletada a 500°C). Assim, ao considerar a quantidade de fenóis em todo o processo de pirólise, obteve-se 0,9% de rendimento e 1,3% de seletividade na formação de compostos fenólicos para o Método de Compostos Fenólicos. Já pelo Método de Café, os valores de rendimento e seletividade são inferiores a 0,1%.

5.5 Comparação dos resultados dos métodos empregados

Os resultados obtidos na análise do conteúdo total de fenóis mostram que duas amostras não apresentaram presença de compostos fenólicos. Tal fato pode ser decorrente da pequena concentração de fenólicos, uma vez que se trata de duas frações aquosas com maiores diluições.

Na avaliação dos resultados de IR, algumas amostras não tiveram os grupos característicos de fenólicos detectados, por não estarem evidentes ou mesmo ausentes. Nas amostras alcalinizadas, que foram posteriormente extraídas com solvente orgânico, não foi observado a banda de fenólicos indicando que esses permaneceram ionizados na fase aquosa, assim confirmada pelos espectros IR. Nas amostras acidificadas, e posteriormente extraídas com diclorometano, verificou-se pequena absorção da banda de fenólicos, possivelmente pela extração parcial e sua conseqüente absorção reduzida. Outra constatação é a presença de bandas características de hidrocarbonetos como alcanos e alquenos, evidenciando a presença de outras classes de moléculas.

As análises cromatográficas confirmam a existência dos compostos fenólicos nas amostras, em que são evidenciados picos com mesmo tempo de retenção e espectro UV dos padrões. Ambas evidências, RT e UV garantem a identidade do pico numa corrida cromatográfica. Esses compostos fenólicos foram quantificados e os valores relacionados ao obtido pela via úmida, indicando que o método de Folin-Denis gera valores adequados para avaliação dos fenólicos. Outra observação obtida dos cromatogramas é a verificação de outros picos não identificados mas que podem ser compostos fenólicos diferentes dos padrões utilizados.

A determinação de teor de fenólicos obtida pelo método de Folin-Denis apresentou valores semelhantes ao método cromatográfico de compostos fenólicos indicando a possibilidade de utilização de um método mais simples. Para fins de avaliação de rendimento e seletividade foram considerados os valores obtidos pelo método de Folin-Denis uma vez que apenas as amostras da Fração 2 (pirolisado a 500°C) foram analisadas pelo método cromatográfico e devido a ausência de padrões de outros compostos fenólicos por ventura presentes e não quantificados.

As diferentes técnicas analíticas empregadas na caracterização e determinação de compostos fenólicos são complementares, confirmando sua presença e sugerindo quais moléculas constituem cada amostra.

6 CONCLUSÃO

O tratamento térmico é uma alternativa ao aproveitamento da biomassa, inclusive de café, aplicado à formação de produtos de valor agregado. Não há um método padronizado para a avaliação de compostos fenólicos gerados por pirólise do café e sua análise é dificultada pela grande variedade de produtos formados. Existem poucos trabalhos acerca da avaliação de compostos fenólicos gerados da pirólise para o café.

Diferentes compostos fenólicos foram obtidos nas três faixas de temperatura de pirólise constatados na determinação pelo método de Folin-Denis. Entretanto, não foi possível determinar uma classificação desses de acordo com a faixa de temperatura aplicada.

De acordo com os dados obtidos, a pirólise do café gera compostos fenólicos que podem ser caracterizados e quantificados. No processo realizado obteve-se um rendimento de conversão da amostra para compostos fenólicos de aproximadamente 1%. Tal rendimento pode ser considerado satisfatório já que a quantidade de fenólicos no café verde é cerca de 9% e o teor de lignina varia entre 1 a 3%, assim o valor de 1% obtido após a pirólise dos grãos de café representa aproximadamente 10% de todos os componentes que pudessem gerar os compostos fenólicos.

Esse estudo indicou uma maneira de determinar os compostos fenólicos advindos da pirólise de café que possibilita a utilização desse processo como forma viável de utilização dessa biomassa com foco no aproveitamento da lignina.

REFERÊNCIAS

ALONSO-SALCES, R. M.; GUILLOU, C.; BERRUETA, L. A. Liquid chromatography coupled with ultraviolet absorbance detection, electrospray ionization, collision-induced dissociation and tandem mass spectrometry on a triple quadrupole for the on-line characterization of polyphenols and methylxanthines in green c. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 23, n. 3, p. 363–383, 15 fev. 2009.

ALVES, S. T.; DIAS, R. C. E.; BENASSI, M. DE T. Metodologia para análise simultânea de ácido nicotínico, trigonelina, ácido clorogênico e cafeína em café torrado por cromatografia líquida de alta eficiência. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1164–1168, 2006.

AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL. In: GEORGE W. LATIMER, J. (Ed.). . **AOAC**. 19. ed. Gaithersburg: AOAC, 2012. p. 3000.

BECIDAN, M.; SKREIBERG, Ø.; HUSTAD, J. E. Products distribution and gas release in pyrolysis of thermally thick biomass residues samples. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 78, n. 1, p. 207–213, 2007.

CASTILHO-ALMEIDA, E. W.; SANTOS, H. F. DOS. Estudo teórico e experimental de espectros infravermelho de ésteres de ácido graxo presentes na composição do biodiesel de soja. **Química Nova**, v. 35, n. 9, p. 1752–1757, 2012.

CHEN, S. et al. High-performance liquid chromatography method for simultaneous determination of aliphatic acid , aromatic acid and neutral degradation products in biomass pretreatment hydrolysates. **Journal of Chromatography A**, v. 1104, p. 54–61, 2006.

CORTEZ, J. A. B.; LORA, E. S.; GÓMEZ, E. O. **Biomassa para energia**. Campinas- SP: UNICAMP, 2008.

DE MARIA, C.A.B., TRUGO, L.C., NETO, MOREIRA, R.F.A., ALVIANO, C. S. Composition of green coffee water soluble fractions and identification of volatile formed during roasting. **Food Chemistry**, v. 55, n. 3, p. 203–207, 1996.

EMBRAPA. **Processamento café - Embrapa.** Disponível em: <https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Cafe/CafeOrganico_2ed/poscolheita.htm>. Acesso em: 14 mar. 2016.

ESQUIVEL, P.; JIMÉNEZ, V. M. Functional properties of coffee and coffee by-products. **Food Research International**, v. 46, n. 2, p. 488–495, 2012.

FARAH, A. et al. Effect of Roasting on the Formation of Chlorogenic Acid Lactones in Coffee. **J.Agric.Food Chem**, v. 53, p. 1505–1513, 2005.

FARAH, A.; DONANGELO, C. M. Phenolic compounds in coffee. **Braz. J. Plant Physiol.**, v. 18, n. 1, p. 23–36, 2006.

FONSECA, H.; GUTIERREZ, L. E. Estudo do teor e composição do óleo de algumas variedades de café (*Coffea arabica* L.). **Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, v. 28, p. 313–322, 1971.

GUTIERREZ, L. E. Composição em ácidos graxos de óleo de café: comparação de métodos de esterificação. **Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, v. 33, n. 1971, p. 79–83, 1976.

HOLLER, F. J.; SKOOG, D. A.; CROUCH, S. R. **Princípios de análise instrumental**. 6. ed. Porto Alegre, RS: Bookman, 2009.

KANG, S. et al. Hydrothermal conversion of lignin : A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 27, p. 546–558, 2013.

MAPA. **Cultura de café - Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento.** Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/cafe>>. Acesso em: 14 mar. 2016.

MENDHAM, J. et al. **Vogel Análise química quantitativa**. 6. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2002.

MONENTE, C. et al. Assessment of Total (Free and Bound) Phenolic Compounds in Spent

Coffee Extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 17, p. 4327–4334, 2015.

MUSSATTO, S. I. et al. Production , Composition , and Application of Coffee and Its Industrial Residues. **Food Bioprocess Technol**, v. 4, p. 661–672, 2011a.

MUSSATTO, S. I. et al. Extraction of antioxidant phenolic compounds from spent coffee grounds. **Separation and Purification Technology**, v. 83, n. 1, p. 173–179, 2011b.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, v. 1054, n. 1–2, p. 95–111, 2004.

NONIER, M. F. et al. Pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry of *Quercus* sp. wood: Application to structural elucidation of macromolecules and aromatic profiles of different species. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 75, n. 2, p. 181–193, 2006.

PANDEY, A. et al. Biotechnological potential of coffee pulp and coffee husk for bioprocesses. **Biochemical Engineering Journal**, v. 6, n. 2, p. 153–162, 2000.

PAULA, L. E. R. E et al. Characterization of residues from plant biomass for use in energy generation. **Cerne**, v. 17, n. 2, p. 237–246, 2011.

SANTOS, M. H. DOS et al. Influência do processamento e da torrefação sobre a atividade antioxidante do café (*Coffea arabica*). **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 604–610, 2007.

SCHNITZLER, E. et al. Thermoanalytical study of purine derivatives compounds. **Eclética Química**, v. 29, n. 1, p. 71–78, 2004.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 7^a ed. Rio de Janeiro: LTC, 2006.

TAVARES, K. M. et al. Espectroscopia no infravermelho médio e análise sensorial aplicada à detecção de adulteração de café torrado por adição de cascas de café. **Química Nova**, v. 35, n. 6, p. 1164–1168, 2012.

ZHOU, C.-H. et al. Catalytic conversion of lignocellulosic biomass to fine chemicals and fuels. **Chemical Society Reviews**, v. 40, n. 11, p. 5588, 2011.

APÊNDICE A - Dados físicos dos ácidos graxos

Ácido graxo	Representação	Ponto de fusão	Ponto de ebulição
Ácido palmítico	C16:0	63	351
Ácido esteárico	C18:0	69	383
Ácido oléico	C18:1	13	360
Ácido linoléico	C18:2	-5	230*
Ácido araquídico	C20:0	75,5	328
Ácido linolênico	C18:3	-11	443

Nota: Os valores de PF e PE estão em °C em 1atm, com exceção do ácido linoléico a 21hPa.

APÊNDICE B - PADRÃO DE ÁCIDO TÂNICO PARA DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS

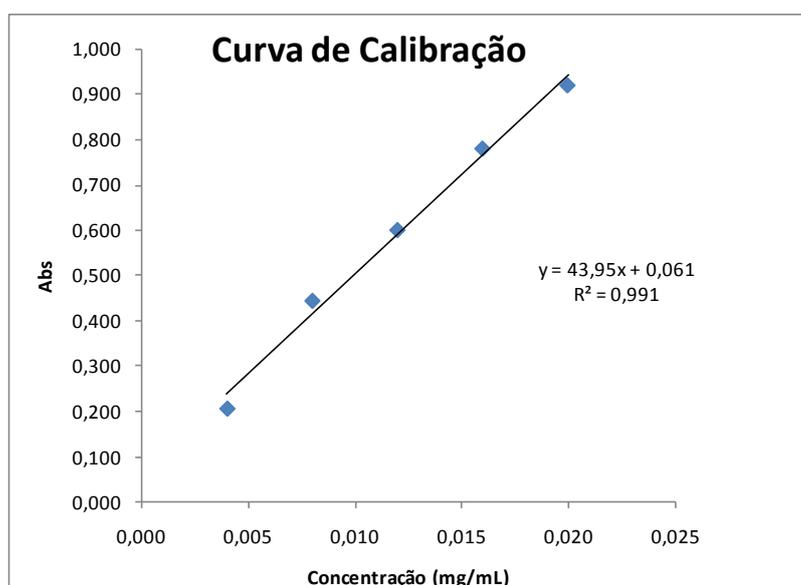
A solução estoque de ácido tânico foi diluída em cinco concentrações, sendo realizadas as leituras da absorbância, de modo a obter a curva de calibração do padrão de ácido tânico.

Valores obtidos das leituras de absorbância do padrão.

Tubos	Leitura Média	DPR	Concentração (mg/mL)
1	0,206	9,96	0,004
2	0,444	4,60	0,008
3	0,599	3,38	0,012
4	0,779	1,29	0,016
5	0,918	3,07	0,020

Fonte: Do autor (2017).

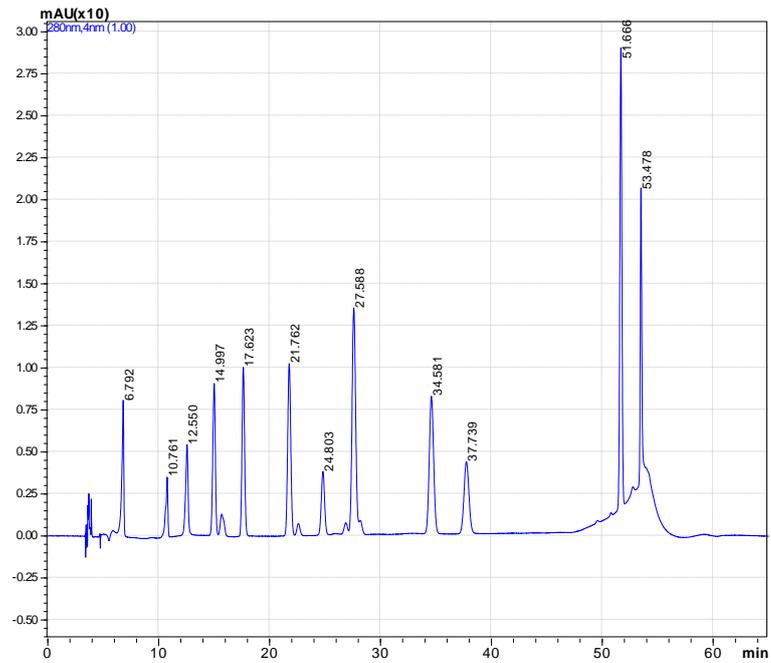
Curva de calibração do ácido tânico.



Fonte: Do autor (2017).

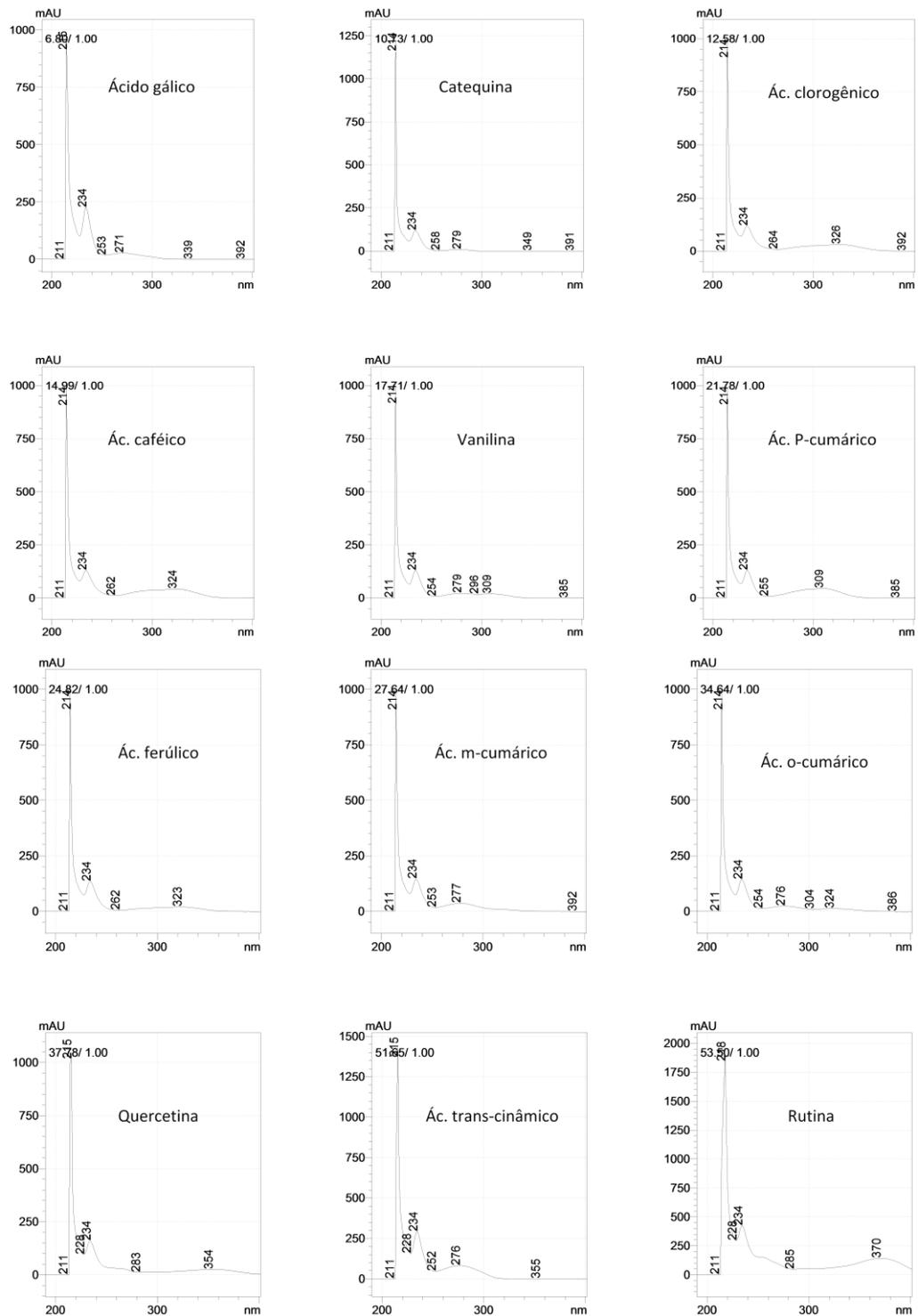
APÊNDICE C - CROMATOGRAMA DO PADRÃO PELO MÉTODO DE COMPOSTOS FENÓLICOS E ESPECTROS DE UV DOS PICOS

Cromatograma do padrão segundo método de compostos fenólicos.



Fonte: Do autor (2017).

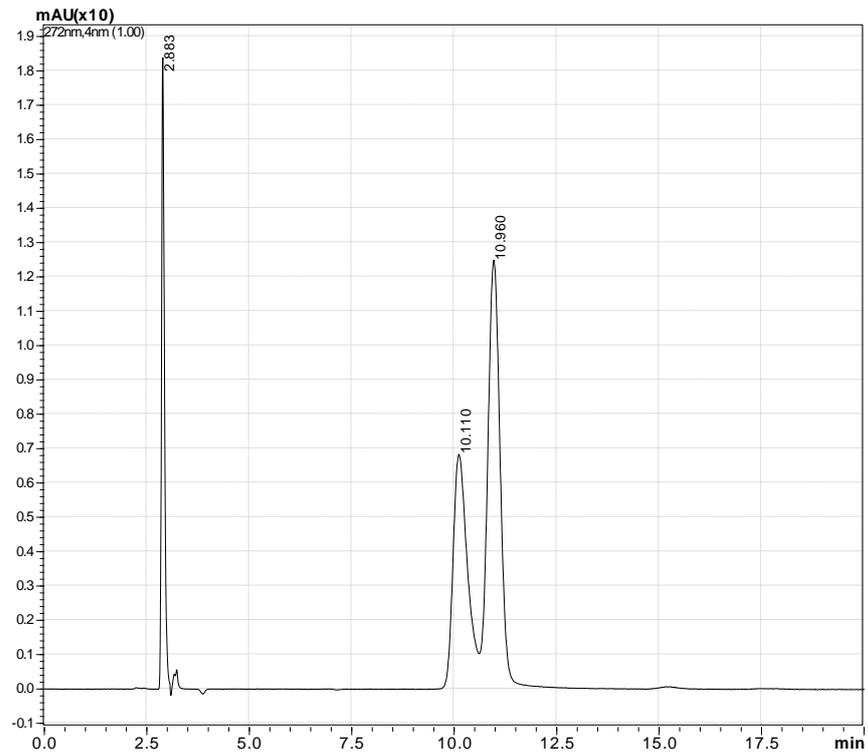
Espectros UV dos picos do padrão no método compostos fenólicos.



Fonte: Do autor (2017).

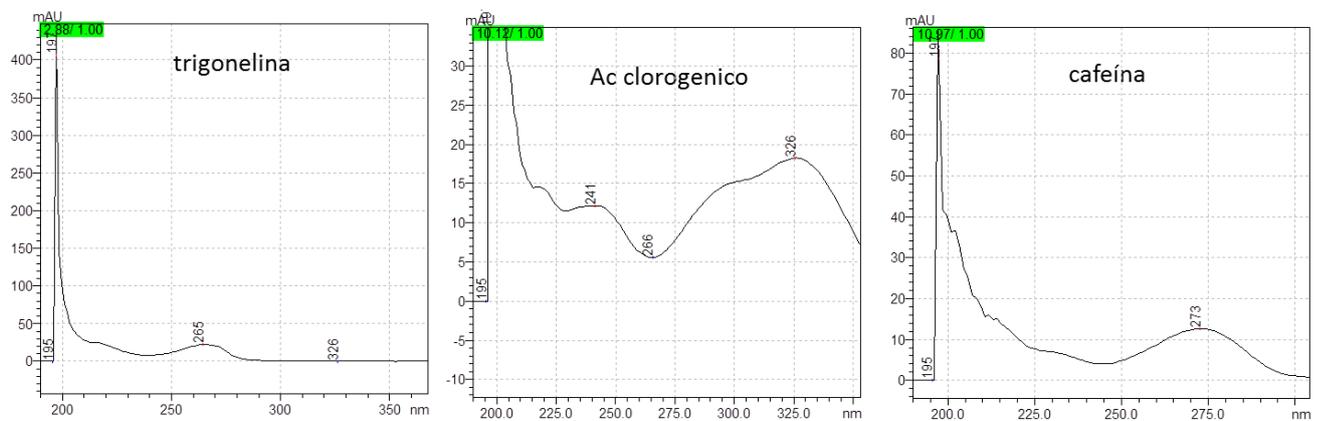
APÊNDICE D - CROMATOGRAMA DO PADRÃO PELO MÉTODO DE CAFÉ E ESPECTROS DE UV DOS PICOS

Cromatograma do padrão segundo método de café.



Fonte: Do autor (2017).

Espectros UV dos picos do padrão no método de café.



Fonte: Do autor (2017).