

UNIVERSIDADE VILA VELHA-ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA VEGETAL

**ESTUDO DA OTIMIZAÇÃO DE EXTRAÇÃO DE CAFEÍNA E ÁCIDOS
CLOROGÊNICOS EM GRÃOS DE CAFÉ**

SCHIRLEY ALVES DE FREITAS STRAFACCI PEVIDOR DE BARROS

VILA VELHA-ES
JANEIRO/2025

UNIVERSIDADE VILA VELHA-ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA VEGETAL

**ESTUDO DA OTIMIZAÇÃO DE EXTRAÇÃO DE CAFEÍNA E ÁCIDOS
CLOROGÊNICOS EM GRÃOS DE CAFÉ**

Dissertação apresentada à Universidade Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Vegetal para a obtenção do título de Mestra em Biotecnologia Vegetal.

SCHIRLEY ALVES DE FREITAS STRAFACCI PEVIDOR DE BARROS

VILA VELHA-ES
JANEIRO/2025

Catálogo na publicação elaborada pela Biblioteca Central / UVV-ES

B277 Barros, Schirley Alves de Freitas Strafacci Pevidor de.
Estudo da otimização de extração de cafeína e Ácidos
Clorogênicos em grãos de café / Schirley Alves de Freitas Strafacci
Pevidor de Barros – 2025.
49 f. : il.

Orientador: Rodrigo Scherer.
Dissertação (Mestrado em Biotecnologia vegetal) – Universidade
Vila Velha 2025.
Inclui bibliografias.

1. Biotecnologia vegetal. 2. Café. 3. Ácido Clorogênico.
I. Scherer, Rodrigo. II. Universidade Vila Velha. III. Título.

CDD 660.603

**SCHIRLEY ALVES DE FREITAS STRAFACCI PEVIDOR DE
BARROS**

**ESTUDO DA OTIMIZAÇÃO DE EXTRAÇÃO DE CAFEÍNA E ÁCIDOS
CLOROGÊNICOS EM GRÃOS DE CAFÉ**

Dissertação apresentada à Universidade Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Vegetal para a obtenção do título de Mestra em Biotecnologia Vegetal.

Aprovada em 31 de janeiro de 2025.

Banca Examinadora:

Documento assinado digitalmente
gov.br DANIELE ALVES MARINHO
Data: 03/09/2025 09:09:38-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

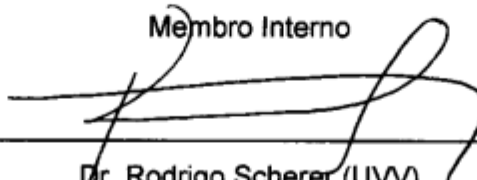
Dra. (a) Daniele Alves Marinho (IFES)

Membro Externo

Documento assinado digitalmente
gov.br FERNANDO FONTES BARCELOS
Data: 03/09/2025 10:33:00-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Dr. Fernando Fontes Barcelos (UVV)

Membro Interno



Dr. Rodrigo Scherer (UVV)

Orientador

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus por essa grande vitória, por todas as pessoas que estiveram envolvidas na produção deste trabalho, especialmente a todos os discentes de graduação e pós-graduação da Universidade Vila Velha (UVV) e Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF) que disponibilizaram a contribuir com esta pesquisa e com a produção de ciência no país. O meu orientador, Prof.^o Dr. ^o Rodrigo Scherer, por toda contribuição, construção, realização e conclusão deste trabalho. Desde o incentivo a realização do mestrado quando tudo isso parecia um sonho hoje realizado de fato. Sem os seus ensinamentos essa pesquisa não teria sido realizada e atuação de seus alunos mestres e doutores do laboratório de cromatografia de café. Aos membros da banca, Prof.^a Dr. ^a Daniele Alves Marinho e Prof.^o Dr. ^o Fernando Fontes Barcelos, muito obrigada por terem aceitado participar da avaliação desta dissertação, suas considerações e contribuições foram essenciais para o desenvolvimento deste trabalho. A todos os professores do programa de Pós-graduação em Biotecnologia Vegetal e aos colegas das disciplinas, gratidão pelos ensinamentos e experiências trocadas. As nossas trocas foram essenciais ao meu crescimento acadêmico e pessoal. A Universidade Vila Velha, através da coordenadora do curso de Pós-Graduação e Extensão Prof.^a Dr. ^a Christiane Mileib, obrigada pelas contribuições disponibilizadas para que esta dissertação pudesse se concretizar. Ao meu marido, minha família e amigos que sempre acreditaram em mim e souberem compreender as minhas ausências durante essa jornada acadêmica, muito obrigada. À FAPES, pela concessão da bolsa de estudos. O presente trabalho foi realizado com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES) através do Programa de Capacitação de Recursos Humanos na Pós-graduação (PROCAP) - Edital FAPES nº 11/2021 - PROCAP Mestrado 2022.

RESUMO

BARROS, Schirley A. F. S. P. de, Universidade Vila Velha – ES, janeiro de 2025. **Estudo da otimização de extração de cafeína e Ácidos Clorogênicos em grãos de café.**

Orientador: Rodrigo Scherer.

A bioprospecção de produtos naturais a partir de diferentes métodos de extração pode utilizar as condições ideais de extração, e com isso, o rendimento de extração nem sempre é o esperado, além de não atender as boas práticas de otimização de tempo e redução no uso de solventes. O café é uma das bebidas mais consumidas mundialmente, possui compostos bioativos, que incluem ácidos clorogênicos (CGAs) e cafeína, que são de grande interesse de indústrias farmacêuticas e de alimentos. O objetivo deste trabalho foi otimizar as condições de extração de cafeína e CGAs em café Arábica e Conilon por meio da aplicação de um método de superfície de resposta. De acordo com o objetivo foram realizadas as extrações em grãos de café torrados, que utiliza três variáveis: granulometria (MESH 20, MESH 40 e MESH 60), tempo (5, 20 e 35 minutos) e relação sólido-líquido (1:200, 1:800 e 1:1.400). A quantificação foi realizada por cromatografia líquida (UHPLC-DAD). A análise da metodologia de superfície de resposta RSM revelou que os parâmetros utilizados já estão no valor de otimização não sendo significativo. A maior extração de cafeína de 2,59g /100g no conilon e menor no café arábica foi de 1,94g/100g. O melhor desempenho de CQAs Total foi de 3,68g/100g para conilon, sendo que o arábica foi de 3,47g/100g. Para ambos cafés o total de CQAs que atingiu maior extração, foi de 3, 4 e 5-CQA, 3,4 e 5-FQA e 3,4 e 3,5-diCQA, obteve resultados de cafeína maiores que 50%, 5CQA de 62% e 3CQA de 89% na extração em café conilon e no café arábica, a cafeína de até 20%, 5CQA de 50% e 3CQA de pelo menos 74%. Houve a extração de Cafeína e CGAs nos extratos de café, em todas as faixas estudadas, de acordo com método de superfície de resposta não houve resultados significativos na otimização da extração e sugere reproduzir novos parâmetros para análise que evidencie essa busca.

Palavras chaves: Café, Extração, Cafeína, Ácidos Clorogênicos, Metodologia de Superfície de resposta.

ABSTRACT

BARROS, Schirley A. F. S. P. de, Vila Velha University- ES, janeiro de 2025. **Study of the optimization of caffeine and chlorogenic acid removal in coffee beans.** Advisor: Rodrigo Scherer.

Bioprospecting of natural products from different extraction methods may use ideal extraction conditions, and therefore, the extraction yield is not always as expected, in addition to not meeting good practices for optimizing time and reducing the use of solvents. Coffee is one of the most consumed beverages worldwide and contains bioactive compounds, including chlorogenic acids (CGAs) and caffeine, which are of great interest to the pharmaceutical and food industries. The objective of this study was to optimize the extraction conditions for caffeine and CGAs in Arabica and Conilon coffee by applying a response surface method. According to the objective, extractions were performed on roasted coffee beans, using three variables: granulometry (MESH 20, MESH 40, and MESH 60), time (5, 20 and 35 minutes) and solid-liquid ratio (1:200, 1:800 and 1:1.400). Quantitation was performed by liquid chromatography (UHPLC-DAD). Analysis of the RSM response surface methodology revealed that the parameters used are already at the optimization value and are not significant. The highest caffeine extraction of 2.59g/100g in conilon and the lowest in Arabic coffee was 1.94g/100g. The best Total CQAs performance was 3.68g/100g for conilon, while Arabica was 3.47g/100g. For both coffees, the Total CQAs that achieved the highest extraction were 3, 4 and 5-CQA, 3.4 and 5-FQA and 3.4 and 3.5-diCQA, obtaining caffeine results greater than 50%, 5CQA of 62% and 3CQA of 89% in the extraction in conilon coffee and in Arabica coffee, caffeine of up to 20%, 5CQA of 5-% and 3CQA of at least 74%. There was extraction of caffeine and CGAs in the coffee extracts, in all the ranges studied, according to the response surface method there were no significant results in the optimization of the extraction and suggests reproducing new parameters for analysis that evidence this search.

Keywords: Coffee, Extractions, Caffeine, Chlorogenic Acids, Response Surface Methodology.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1- Estrutura química da caffeine	10
FIGURA 2- Estrutura química do chlorogenic acid	11
FIGURA 3- Estruturas químicas de 3-O-caffeoylquinic acid (3-CQA), 4-O-caffeoylquinic acid (4-CQA), and 5-O-caffeoylquinic acid (5-CQA)	12
FIGURA 4- Estrutura química de 3 feruloylquinic acid (3 FQA)	12
FIGURA 5- Estrutura química de 4 feruloylquinic acid (4 FQA)	13
FIGURA 6- Estrutura química de 5 feruloylquinic acid (5 FQA)	13
FIGURA 7- Estrutura química de 3,4-di caffecylquinic acid (3,4-di CQA)	14
FIGURA 8- Estrutura química de 3,5-di caffecylquinic acid (3,5-di CQA)	14
FIGURA 9- Cromatogramas das análises de UHPLC-DAD de café conilon e identificação da cafeína em extrato de café	24
FIGURA 10- Cromatogramas de identificação da cafeína em extrato de café arábica	25
FIGURA 11- Cromatogramas das análises de UHPLC-DAD de café arábica	26
FIGURA 12- Teor de cafeína e ácidos clorogênicos (CGAS) totais em café conilon em diferentes variáveis	27
FIGURA 13- Teor de cafeína e ácidos clorogênicos (CGAS) totais em café arábica em diferentes variáveis	28
FIGURA 14- Gráficos de superfície de resposta dos compostos cafeína e CGAs Totais-conilon	29
FIGURA 15- Gráficos de superfície de resposta dos compostos Cafeína e CGAs Totais-arábica	32

LISTA DE TABELAS

TABELA 1- Planejamento de superfície de resposta do café Arábica e Conilon	18
TABELA 2- Teor de ácidos clorogênicos e cafeína de café conilon submetidos à metodologia de superfície de resposta	22
TABELA 3- Teor de ácidos clorogênicos e cafeína de café arábica submetidos à metodologia de superfície de resposta	23

Sumário

1. INTRODUÇÃO	7
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	9
2.1. Café Arábica e Conilon	9
2.2. Cafeína	10
2.3. Ácidos clorogênicos	10
2.4. Técnicas de Extração	15
2.5. Metodologia de superfície de resposta (RSM)	15
3. OBJETIVOS	16
3.1. Objetivo geral	16
3.2. Objetivos específicos	16
4. METODOLOGIA	17
4.1. Cafés utilizados nos experimentos	17
4.2. Delineamento experimental	17
4.3. Preparo dos extratos	17
4.4. Análises por UHPLC-DAD	19
4.5. Análises estatísticas	19
5. RESULTADOS	19
6. DISCUSSÃO	33
7. CONCLUSÃO	37
8. REFERENCIAS	38

1. INTRODUÇÃO

O café por ser uma bebida muito conhecida mundialmente, vem ganhando destaque quanto aos seus componentes de ação antioxidantes presentes, e que tem atraído a atenção do mercado investidor em potencializar essa perspectiva de avanços na melhoria da saúde humana, a fim de introduzir diversos coprodutos do café para fins diversos. É uma das bebidas mais populares, seu preparo a partir dos grãos torrados e moídos, sua origem uma planta da espécie da família Rubiaceae, gênero *Coffea* (FREITAS, 2024).

Uma das variedades mais conhecidas *Coffea canephora* no mercado mundial do gênero *Coffea* em relação ao *coffea arabica* possui melhor valor quanto ao comercio, onde se destaca como mais rústico, resistente ao estresse climático, baixa sensibilidade ao ciclo bisanual e sua variação de produtividade menor (CONAB 2020; CONAB 2021). O café Conilon possui plantas de menor porte, tem precoce floração e maior resistência aos períodos de seca, sendo que o Robusta precisa de maior quantidade de água, gera maiores custos na produção (TEIXEIRA, 2020).

Cerca de 141 plantas de *C.arabica* L. estão dentro dos registros de venda no país, de acordo com o registro nacional de cultivares, órgão fiscalizador MAPA- Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento, suas características de maturação, resistência a pragas, doenças, estrutura da planta entre outros. No Brasil cerca de 90% da área, produz o cafeeiro arábica de cultivares da espécie Catuaí e Mundo Novo. As variedades mais recentes os 10% restantes, começaram a ser comercializadas atualmente, como os Catucaí, Acauãs, Arara, entre outros (MATIELLO *et al.*, 2020).

O Brasil é o segundo maior produtor da espécie e em 2022 *C. canephora* obteve 1,7% de crescimento na produção em comparação a 2021 (CONAB, 2022). A espécie *Coffea arabica* L. se destaca na produção de café do Brasil, cerca de 1,50 milhão de hectares plantados e produção de 45 milhões de sacas para o ano de 2018. Entre julho de 2021 a abril de 2022 final do ano-safra as exportações de café arábica foram de 27,49 milhões de sacas (60 kg), representando 82,7% da participação nas exportações de café no período (CECAFE, 2022).

A produção no Estado do Espírito Santo em 2021 foi de cerca de 14,17 milhões de sacas beneficiadas, com área de produção de 400.442 hectares (CONAB, 2022).

Os estados que representam mais de 90% da produção brasileira são os Estados de Minas Gerais, São Paulo e Espírito Santo, respectivamente, considerados como os maiores produtores do país (CONAB, 2022).

Considerado um país com maior biodiversidade, o equador é um dos países que possui identidade geográfica estratégica, clima favorável e obtém variedades de culturas (MIHAI, 2024).

Entre as bebidas mais consumidas no mundo está o café, recorde de consumo de 176,6 milhões de sacas de café em 2021/22 (ICO, 2023).

A organização internacional do café, apresentou dados da produção global de café, de cerca de 172 milhões de sacas (60kg/ saca) (DE CARVALHO, 2021). Nas etapas de secagem, descascamento e torrefação dos grãos são gerados os resíduos de café e são usados para fertilizar as plantações de café e ração animal (KLINGEL, 2020). Esses extratos possuem moléculas biotivas, compostas de polifenóis e cafeína (GARCÍA-ROLDÁN, 2023; VANDEPONSEELE, 2021), a extração de antioxidantes de resíduos de café tem sido utilizada na aplicação de produtos cosméticos e fórmulas alimentares como tratamento ou fase de enriquecimento (MIRÓN-MÉRIDA, 2023). A maior parte desses resíduos são compostos essenciais fenólicos, cafeína, proteína e fibras (GEMECHU, 2020).

Os resíduos gerados do café representam aproximadamente 50% do fruto, o que representa cerca de 5 milhões de toneladas de resíduos gerados (FIGUEROA, 2021). A composição dos resíduos das etapas de tratamento do café não é fixa, dependendo do processo que foram obtidos (úmido ou seco), do clima, da composição do solo de cada ambiente e dos nutrientes ofertados à planta (HEINA, 2021). A extração dos compostos químicos fenólicos torna de difícil acesso por serem instáveis e pode ser afetada sua atividade biológica em relação ao processo (tempo de extração e temperatura), presença de luz e oxigenação (OSORIO-TOBÓN, 2020).

A matéria prima do café nos CGAs pode ser de grande utilidade, porém as condições de torrefação podem determinar a sua qualidade (DEHOND *et al.*, 2020).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Café Arábica e Conilon

O Brasil é o maior produtor mundial de café, com 47,7 milhões de sacas vendidas ao ano, e o maior exportador de grãos (VELOSO, 2020; CONAB, 2022). As duas principais espécies cultivadas no mundo e no Brasil são o café arábica (*Coffea arabica*) e o conilon e robusta (*Coffea canephora*) (VELOSO, 2020). No Espírito Santo, a produção de café é um dos grandes elementos do setor agronegócio, compreendendo uma área de cerca de 460.000 hectares (CONAB, 2020).

Os acúmulos de precursores químicos podem influenciar na qualidade sensorial do café como bebida, por isso a importância da forma de colheita dos grãos de café, o conhecimento pelo processo de amadurecimento da fruta é de grande relevância nos resultados finais (LEMOS, 2020). Existe uma série de fatores atrelados a qualidade do café, como: características químicas, sensoriais, fatores genéticos e questões ambientais (FREITAS, 2020). A colheita com menor impacto físico e social, é mais viável e agrega valores, como a colheita seletiva para agricultores familiares, com plantio em pequenos lotes. Deste modo o mercado de café especiais é um mercado promissor e de boa opção para o agricultor (BORÉM *et al.*, 2020).

O consumo moderado de café está ligado a benefícios a saúde, levam a resultados da melhora no sistema cognitivo, melhor condição nas atividades físicas e redução do risco de muitas doenças (KENNEDY, 2022).

A presença de antimicrobianas, anticâncer e antidiabéticas, com as aplicações vitais em industriais alimentícias, indústrias domésticas, como também desenvolvimento de fertilizantes, tintas, plásticos, etc (DE ARAUJO *et al.*, 2021; SINGH & YADAV, 2022). Sendo assim utilizar de metodologias ainda melhores na extração e a obtenção da cafeína e CGAs, para oferecer o que o mercado mais procura, um produto de alto valor e de alto potencial nutritivo e perspectivas de mais saúde, que atendam às necessidades pela procura de produtos que contenham esses elementos de forma isolada ou não, pode ser interessante. O intuito é oferecer técnicas de extração em café com menor número de gradientes como solventes e reduzir o tempo em cada análise. Justifica-se pela necessidade de avançar com novas metodologias e reprodutíveis de forma analisadas e testadas, a extração por

maceração assistida por ultrassom pode ser uma alternativa mais sustentável e ecológica.

2.2. Cafeína

O Café possui várias substâncias ativas, a cafeína é o mais característico alcaloide presente, responsável pela melhora do humor (OLECHNO *et al.*, 2021; SAFE *et al.*, 2023). Essa composição tem influência de muitos fatores, incluindo as espécies de café, para cultivo, o método de preparo e a intensidade da bebida (GÓRECKI *et al.*, 2020; BASTIAN *et al.*, 2021). No organismo efeitos dependem da quantidade consumida (SAIMAITI *et al.*, 2023).

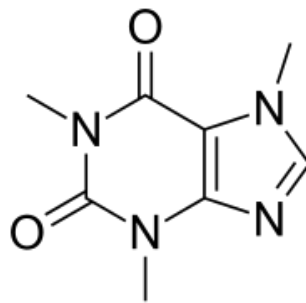


Figura 1. Estrutura química da cafeína

Fonte: <https://pt.wikipedia.org/wiki/Cafe>

A estrutura química da cafeína representa um composto essencial de alto valor presente no café. Neste experimento foi realizada a separação desse composto cafeína para análise em aparelho de UHPLC-DAD no café conilon e arábica.

2.3. Ácidos clorogênicos

Uma variedade de compostos, incluindo ácidos clorogênicos, pirazinas, furanos, alcalóides, melanoidinas e outros são responsáveis pelas características organolépticas do café (ANDRADE, 2024).

Os ácidos cafeoilquínicos são os encontrados como compostos que podem apresentar muitas vantagens (BEAUDOR, 2023). No café encontramos fontes de antioxidantes, onde testes experimentais têm demonstrado que podem proteger o DNA de estruturas de células da oxidação (TOMAC, 2020). No café as três mais importantes classes de CGAs são os ácidos cafeoilquínicos (CQA), os ácidos feruloilquínicos (FQA) e os ácidos dicafeoilquínicos (diCQA) (SANTOS *et al.*, 2021).

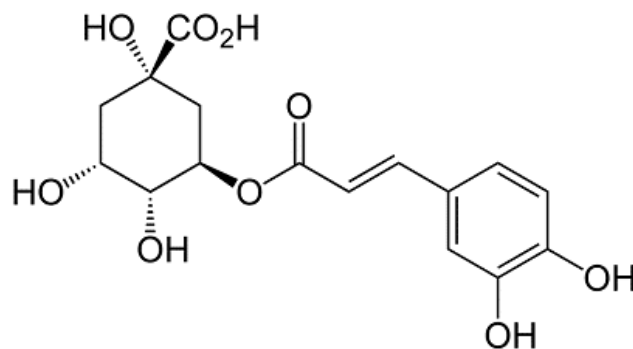


Figura 2. Estrutura química do clorogenic acid (CGAS)

Fonte: www.lineaysalud.com

Os CGAs são moléculas complexas que possuem características e propriedades físico-químicas, que por causa da esterificação posicional na fração do ácido quínico, levando a regi isômeros (RAMABULANA *et al.*, 2020).

A estrutura química do ácido clorogênico são os antioxidantes essenciais e que agregam sabor entre outros no café. Neste experimento foi realizada a separação dos compostos CGAs para análise em aparelho de UHPLC-DAD no café conilon e arábica.

Para serem usadas na formulação de dietas (NZEKOUÉ, 2020). O material rico em cafeína e 5-cafeioilquinico (5CQA), tem sido aplicado na formulação de iogurtes funcionais, bebidas e medicamentos (PRANDI, 2021).

Os resíduos de café anteriores após extração possuem bioativos como compostos (BALZANO, 2020; SEVERINI, 2020). No café existem os principais compostos fenólicos que são os ácidos clorogênicos (CGA), cafeico e ferúlico (MUNOZ *et al.*, 2020; LIAO *et al.*, 2022). São importantes os antioxidantes por isso o

interesse crescente, pois possuem capacidade de inibir reações oxidativas, eliminar radicais livres e na preservação de alimentos (AHMAD *et al.*, 2023).

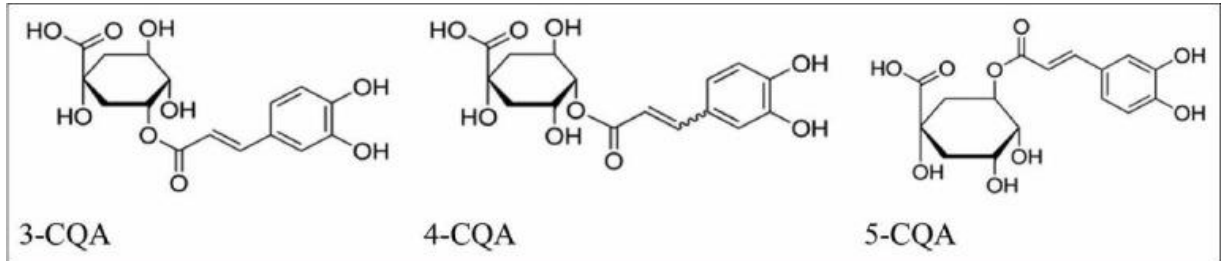


Figura 3. Estrutura químicas de 3-O-caffeoylquinic acid (3-CQA), 4-O-caffeoylquinic acid (4-CQA), and 5-O-caffeoylquinic acid (5-CQA)

Fonte: <https://www.researchgate.net/figure>

As estruturas químicas caffeoylquinic acid são antioxidantes de maior expressão no café, em vários estudos evidenciados. Neste experimento foi realizada a separação desses 3 compostos 3, 4 e 5 caffeoylquinic acid para análise em aparelho de UHPLC-DAD no café conilon e arábica.

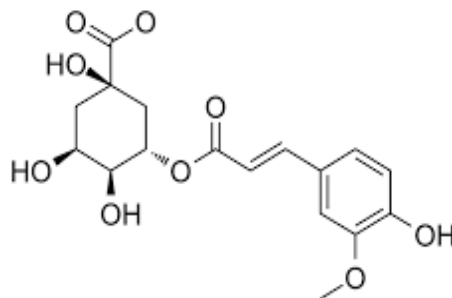


Figura 4. Estrutura química de 3 feruloylquinic acid (3 FQA)

Fonte: <https://www.medchemexpress.com>

Os fenólicos são uma das classes que compõem o mais abundante elemento nas plantas, caracterizadas pela presença de um ou mais grupos de hidroxila fenólicos (SINGH & YADAV, 2022).

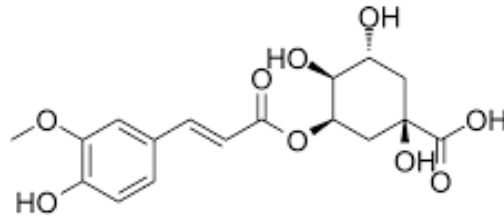


Figura 5. Estrutura química de 4 feruloylquinic acid (4 FQA)

Fonte: <https://www.medchemexpress.com>

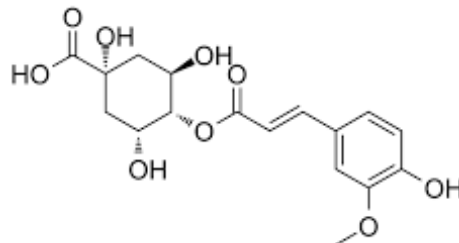


Figura 6. Estrutura química de 5 feruloylquinic acid (5 FQA)

Fonte: <https://www.medchemexpress.com>

As estruturas químicas feruloylquinic acid presentes no café são importantes antioxidantes, repletos de funções excelentes para o organismo humano e colaboram em diversos fatores em sua composição. Neste experimento foi realizada a separação desses 3 compostos 3, 4 e 5 feruloylquinic acid para análise no café conilon e arábica. Existem vários estudos sobre a composição de diversos compostos fenólicos em

várias fontes ambientais, do valor agregado a saúde humana (MUDGAL & SINGH, 2022; GAO *et al.*, 2023; KUMAR *et al.* 2023a, 2023b).

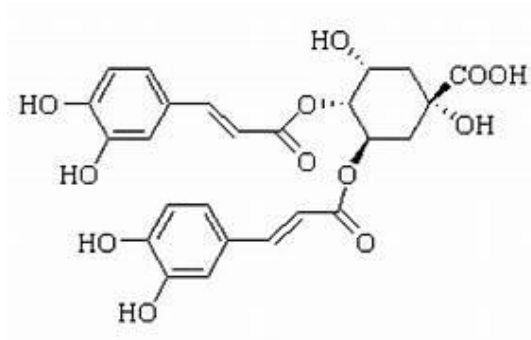


Figura 7. Estrutura química de 3,4-di caffeoylquinic acid (3,4-di CQA)

Fonte: <https://www.medchemexpress.com>

As estruturas químicas caffeoylquinic acid são antioxidantes presentes no café, e tem inúmeras funções importantes que elevam o fator de propriedades funcionais excelentes no café. Neste experimento foi realizada a separação desses 2 compostos 3,4 e 3,5 di- caffeoylquinic acid para análise em aparelho de UHPLC-DAD no café conilon e arábica.

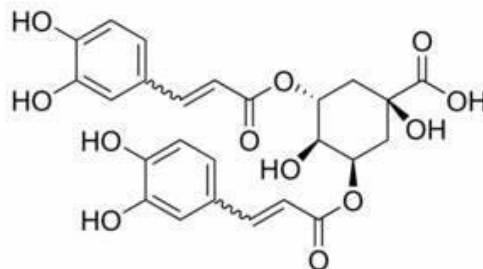


Figura 8. Estrutura química de 3,5-di caffeoylquinic acid (3,5-di CQA)

Fonte: <https://www.medchemexpress.com>

2.4. Técnicas de Extração

A técnica utilizada no experimento em maceração assistida por ultrassom na extração de elementos químicos em extrato de café, tem sido muito empregada em análises é um dos exemplos de métodos como, decocção, extração de Soxhlet chamados convencionais e consideradas desfavoráveis, exige, portanto, meios alternativos seguros e menos demorados, com menores quantidades de solventes e matriz vegetal.

Assim, tendo o nome de “métodos de extração verde” devido à sua segurança indicativa, extração assistida por micro-ondas, extração assistida por ultrassom, extração líquida pressurizada são exemplos claros desses métodos. Alguns métodos convencionais usavam maiores quantidades de solventes orgânicos como metanol, que não são indicados para uso térmico direto (BELWAL, 2023; MARIJAN *et al.*, 2022).

As várias técnicas para extração de polifenóis e cafeína, como extração por ultrassom assistida por micro-ondas, extração de Soxhlet, tratamento hidrotérmico e outros, porém, a mais utilizada é extração sólido-líquido, não exige equipamentos de maior custo (BOUHZAM, 2023; CHATZIMITAKOS, 2023), na perspectiva de sustentabilidade de evitar solventes tóxicos. Há recomendação de alguns autores do uso de solventes polares na extração de polifenóis, como etanol, acetona e metanol (BEAUDOR, 2023).

O método de extração fenólica influencia diretamente na construção dos compostos bioativos e os diferentes métodos de extração fenólica e de cafeína, os métodos convencionais (extração sólido-líquido) e não convencionais (ultrassom, micro-ondas, fluido supercrítico, água subcrítica ou extração assistida por campo elétrico pulsado), usando solventes seguros como água e etanol em diferentes proporções (BONDAM *et al.*, 2022).

2.5. Metodologia de superfície de resposta (RSM)

A metodologia de superfície de resposta, foi escolhida para essa pesquisa por ser um método de excelente avaliação e de fácil compreensão, muito utilizada em

análises de substâncias químicas, biológicas e em diversos seguimentos, para esse modelo, de análise da extração de cafeína e ácidos clorogênicos em extrato de café para uma avaliação de alta performance.

A RSM, atua nas relações entre variáveis explicativas entre outras de resposta. Foi introduzida por George EP Box e KB Wilson, em 1951 e a ideia principal é usar uma sequência de experimentos planejados para obter resposta. Um modelo polinomial de segundo grau para fazer isto, é sugerido por Box e Wilson, sendo um modelo apenas de aproximação, fácil de estimar e aplicação (KARMOKER, 2019), também é um dos vários métodos que servem para aplicações e suas vantagens e atender os objetivos e requisitos específicos da pesquisa e pode combinar a otimização geral ou meta-heurística, como otimização do exame de partículas (RPSO) e o algoritmo dragon fly (RMODA) para utilizar a otimização a resposta das equações (VISWANATHAN *et al*, 2022; AFZAL *et al.*,2021; POURES *et al.*, 2023).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

- Realizar a otimização de extração de cafeína e ácidos clorogênicos de grãos de café torrados arábica e conilon por meio da metodologia de superfície de resposta.

3.2. Objetivos específicos

- Preparar extratos de café pelo método de extração por ultrassom assistida de acordo com as variáveis granulometria, tempo, relação sólido-líquido e concentração de solvente;

- Avaliar a concentração de cafeína nos extratos preparados pelo aparelho de UHPLC-DAD;

- Analisar a concentração de CGAs nos extratos preparados no aparelho de análise UHPLC-DAD;

- Verificar pelo método de extração por ultrassom assistida e RSM a melhor condição para extração de cafeína e CGAs.

4. METODOLOGIA

4.1. Cafés utilizados nos experimentos

Foram utilizados grãos torrados de café conilon “Conquista ES 8132” e arábica Catuai 81. Os cafés foram produzidos pelas fazendas experimentais do Incaper de Marilândia - ES (Conilon) e Venda Nova do Imigrante – ES (Arábica). Os cafés foram secos ao natural em terreiro suspenso com cobertura plástica e solo impermeabilizado com cimento até umidade $11 \pm 1\%$. Os cafés foram torrados em um torrador modelo Probatino (Probat©), e para determinar o grau de torra, o sistema de disco de cor de classificação de torra da Agtron / SCAA foi usado (Agtron 55). Os cafés foram moídos em moedor de bolas e peneirados em agitador de peneiras (Bertel), até atingir a granulometria desejada.

Os valores utilizados nos 15 experimentos e os parâmetros para análise de testes em amostra de extrato de café torrados.

4.2. Delineamento experimental

Foi utilizada a metodologia de superfície de resposta no presente trabalho para a avaliação das três variáveis escolhidas, cada uma contendo três níveis, por meio da elaboração da matriz utilizando o delineamento Box–Behnken (BBD).

4.3. Preparo dos extratos

Os extratos foram preparados em ultrassom nos tempos e concentrações descritos na Tabela 1. Os extratos serão preparados de forma aleatória. A extração foi realizada com água fervente em balão volumétrico de 10 mL. Foram utilizadas as proporções de amostra e água, e tamanho de partícula de café conforme descrito na Tabela 1. O conteúdo foi submetido a ultrassom (Cristófoli P 50/60 HZ) de acordo com os tempos previamente estipulados na Tabela 1, e o volume foi ajustado (10 mL) após

a ambientação da solução. Após o extrato foi filtrado (0,45 μm) para um vial e levado para as análises cromatográficas.

Tabela 1. Planejamento superfície de resposta de café Arábica e Conilon.

Experimento	Granulometria (MESH)	X1	Tempo (min)	X2	Relação sólido/líquido	X3
1	20	-1	5	-1	1:800	0
2	60	1	5	-1	1:800	0
3	20	-1	35	1	1:800	0
4	60	1	35	1	1:800	0
5	20	-1	20	0	1:200	-1
6	60	1	20	0	1:200	-1
7	20	-1	20	0	1:1400	1
8	60	1	20	0	1:1400	1
9	40	0	5	-1	1:200	-1
10	40	0	35	1	1:200	-1
11	40	0	5	-1	1:1400	1
12	40	0	35	1	1:1400	1
13	40	0	20	0	1:800	0
14	40	0	20	0	1:800	0
15	40	0	20	0	1:800	0

4.4. Análises por UHPLC-DAD

As análises dos compostos 3-CQA, 4-CQA, 5-CQA, 3,4-diCQA, 3,5-diCQA, 3-FQA, 4-FQA, 5-FQA e cafeína foram realizadas de acordo com Costa *et al.* (2024) em um UHPLC (Dionex Ultimate 3000rs - Thermo Scientific) equipado com bomba quaternária, desgaseificador, injetor automático e forno de coluna, acoplado a um detector DAD. Para separação, foi usada uma coluna C18 de núcleo fundido (50 x 2.1 mm, 2.6 μm - ACE Generix) a 35°C. As amostras foram injetadas no UHPLC e a fase móvel utilizada foi uma solução aquosa de ácido acético 1% (A), e metanol (B), em um fluxo de 0,5 mL/min. Foi utilizado um modo gradiente de eluição, detecção dos compostos foi feita em um detector DAD nos comprimentos de onda 325 nm, para os ácidos clorogênicos, e 270 nm para a cafeína. A quantificação foi realizada por

padronização externa de 5 pontos. Os resultados foram expressos em porcentagem (%) do composto por grama de café torrado.

4.5. Análises estatísticas

A normalidade de todos os dados obtidos foi analisada por meio do teste Shapiro-Wilk. Foi realizada uma análise de superfície de resposta para a observação da melhor condição para a extração dos compostos. Para isso, foi utilizado o pacote rsm (LENTH, 2009) no software RStudio. Utilizou-se um valor de $p < 0,05$.

5. RESULTADOS

O mercado de café cada vez mais exigente busca por novas tecnologias para o melhoramento da qualidade do fruto e da bebida. O país que tem bons cafeicultores segue as boas práticas e tecnologias inovadoras desenvolvidas por órgãos de ensino, pesquisa e extensão, que participam da cultura e vivencia os resultados do aumento da sustentabilidade ligados produtividade do café (GUERRA, 2021). Nesta pesquisa foi utilizada a fase móvel composta por uma solução aquosa de ácido acético 1% (A), e metanol (B), em um fluxo de 0,5 mL/min. e eluição gradiente nas proporções de 0–11 min: 95% A; 11–15 min: 80% A; 15–18: 80% A; 18–20 min: 70% A; 20–25 min: 70% A; e 25–28 min: 95% A; 28-35min: 95% A.

A detecção dos compostos foi realizada em um detector DAD nos comprimentos de onda 325 nm para os ácidos clorogênicos, e 270 nm para a cafeína. O resultado esperado da otimização de cafeína e ácidos clorogênicos em grãos de café torrados em processo de extração por ultrassom assistida, obteve extração nas diversas faixas estudadas e identificada por imagens cromatográficas a cafeína e os CGAs. Os valores obtidos na análise da metodologia de superfície utilizados apresentam resultados não significativos.

Os resultados encontrados na (Tab.2) café conilon foram: 3CQAs: (1,55g), 4 CQAs: (0,73g) e 5 CQAs: (0,62g) obtiveram excelente percentual de concentração desses ácidos clorogênicos presentes no extrato de café, cerca de (2,59g) de cafeína e CQAs Totais de 3,68g. Os resultados encontrados na (Tab.3) café arábica foram:

3CQAs: (1,80g), 4 CQAs: (0,76g) e 5 CQAs: (0,60g) obtiveram excelente percentual de concentração desses ácidos clorogênicos presentes no extrato de café, cerca de (1,94g) de cafeína e CQAs Totais de 3,47g. permanecendo de acordo com o limite pré-estabelecido – por meio da Portaria nº 377, de 26 de abril de 1999 – de 0,05). De acordo com o Teste de suposições, levando em conta os erros relacionados ao delineamento Box–Behnken (BBD), no processo de extração dos componentes químicos, por análise de cada experimento, não foi significativa para otimização encontrada nos cafés estudados.

5.1 Café conilon

Este valor de extração de cafeína encontrado está acima do relatado em estudos prévios para *C. canephora*, com teores de cafeína entre 1,69 a 2,45 g/100g (KALSCHNE, 2019; REIS, 2019; PINHEIRO, 2019). No estudo, observa o conteúdo de 5-CQA variando de 0,35g a 0,62g/100g (Tab.2) conilon e arábica 0,32g a 0,60g/100g (Tab.3) arábica. Neste estudo o café conilon apresentado na (Tab.2) no Experimento (11), mostra os maiores valores e menores extração de cafeína: 2,59g e CQAs Totais de 3,68g conilon, esses valores estão superiores na faixa superior daquele relatado para cafés *C. canephora* com diferentes graus de torrefação como de 0,21 a 2 g/100g (KLIKAROVA, 2022). O teor de CGAs Totais em cafés de *C. canephora* de torra média foram descritos valores de 2 a 2,32 g de CGAs 100 g/100g (KALSCHNE, 2019; Reis *et al.*, 2019). PORTELA *et al.* 2021, neste estudo os CGAs totais encontrados no café 2,4g polpa, 2,5g cascas, 3,0g borra de café.

5.2 Café arábica

Neste estudo o café arábica apresentado na Tabela 3 no Experimento (1), mostra os maiores valores e menores extração de cafeína: 1,94g e CQAs Totais de 3,47g. Na Tabela 3 os CQAs de maior proporção no café arábica foram: 3CQAs: (1,80g), 4 CQAs: (0,76g) e 5 CQAs: (0,60g). A análise atual tem identificado no potencial de qualidade sensorial e tamanho dos grãos das novas cultivares de café arábica, as várias condições edafoclimáticas.

Comparando-se o café conilon Tabela 2, com o arábica Tabela 3, observou-se que o café conilon apresentou teores superiores de cafeína ao café arábica. Estes resultados são condizentes com alguns dados da literatura (KLIKAROVA, 2022), que descreve o café conilon com valores de cafeína superior ao café arábica.

No país, ainda que em sua maioria como as cultivares de *C. arabica* sejam originadas de uma base genética complexa, expressa grande similaridade genética e deste modo dificulta a diferenciação, apesar de suas variações, diversos autores relatam que possuem potencial para produzir cafés especiais (FERNANDES *et al.*, 2020).

Resistência as mudanças climáticas e análise sensorial (2022), contribui para melhor qualidade e produtividade do café arábica, apoio micro agricultores e preserva identidade genética única do café, e revela tendências emergentes, atua na perspectiva global, em análises bibliométricas para pesquisas futuras em café arábica (RASERA, 2023; B'ERDI, 2023; SANTANA, 2021; AFUYE, 2021; ANSHORI, 2023).

O café arábica uma das características que as plantam crescem e alguns anos até amadurecer e produzir e frutificar e são sensíveis a fatores biológicos, grãos que passam por colheita cuidadosa para manter a qualidade (NAJIMI *et al.*, 2024; KEMIRA *et al.*, 2023; BIRATU *et al.*, 2024).

Realizar a colheita do grão no ideal grau de amadurecimento é muito importante no processo produtivos, independente da técnica adotada, pois nesta fase ocorrem os precursores químicos que podem contribuir na qualidade sensorial da bebida (LE MOS *et al.*, 2020).

Tabela 2. -Teor de cafeína e ácidos clorogênicos (g/100 g) em café conilon submetidos a metodologia de superfície de resposta.

Experimento	Cafeína	3-CQA	4-CQA	5-CQA	3-FQA	4-FQA	5-FQA	3,4-diCQA	3,5-diCQA	Total CQA
1	2,06	1,19	0,56	0,43	0,21	0,18	0,08	0,02	0,02	2,69
2	1,71	0,99	0,47	0,35	0,18	0,15	0,06	0,02	0,04	2,26
3	2,13	1,30	0,60	0,46	0,22	0,19	0,08	0,02	0,03	2,90
4	2,08	1,25	0,57	0,43	0,21	0,18	0,08	0,03	0,07	2,82
5	2,12	1,26	0,59	0,46	0,23	0,20	0,08	0,02	0,03	2,89
6	2,17	1,20	0,56	0,43	0,21	0,18	0,08	0,02	0,05	2,74
7	2,46	1,47	0,69	0,54	0,26	0,23	0,10	0,02	0,03	3,34
8	2,34	1,38	0,65	0,51	0,24	0,21	0,09	0,03	0,31	3,40
9	2,36	1,39	0,62	0,49	0,26	0,22	0,10	0,02	0,04	3,14
10	2,13	1,23	0,57	0,44	0,24	0,20	0,09	0,03	0,05	2,85
11	2,59	1,55	0,73	0,62	0,28	0,24	0,12	0,04	0,10	3,68
12	2,34	1,42	0,66	0,51	0,26	0,23	0,09	0,02	0,05	3,24
13	2,11	1,26	0,59	0,46	0,24	0,20	0,09	0,03	0,05	2,92
14	2,29	1,33	0,62	0,51	0,25	0,21	0,10	0,02	0,03	3,05
15	2,34	1,42	0,66	0,51	0,27	0,23	0,10	0,03	0,06	3,28

Tabela 3. -Teor de cafeína e ácidos clorogênicos (g/100 g) em café arábica submetidos a metodologia de superfície de resposta.

Experimento	Cafeína	3-CQA	4-CQA	5-CQA	3-FQA	4-FQA	5-FQA	3,4-diCQA	3,5-diCQA	Total CQA
1	1,94	1,80	0,76	0,60	0,16	0,08	0,06	ND	ND	3,47
2	1,12	1,02	0,43	0,33	0,11	0,05	0,03	0,02	ND	2,00
3	1,26	1,13	0,49	0,38	0,12	0,06	0,04	ND	ND	2,23
4	1,07	0,99	0,43	0,33	0,11	0,05	0,03	ND	ND	1,93
5	1,10	1,01	0,44	0,33	0,11	0,05	0,03	ND	ND	1,97
6	1,08	0,99	0,43	0,32	0,10	0,05	0,03	ND	ND	1,93
7	1,18	0,96	0,42	0,32	0,11	0,05	0,03	ND	ND	1,90
8	1,23	1,18	0,52	0,39	0,12	0,06	0,04	0,04	0,01	2,36
9	1,01	0,92	0,39	0,30	0,10	0,05	0,03	ND	ND	1,80
10	1,09	0,98	0,42	0,32	0,11	0,05	0,03	ND	ND	1,92
11	1,24	1,11	0,48	0,37	0,12	0,06	0,04	0,02	ND	2,19
12	1,32	1,20	0,51	0,40	0,13	0,07	0,04	0,02	0,01	2,38
13	1,18	1,04	0,45	0,35	0,11	0,06	0,04	ND	ND	2,05
14	1,16	1,03	0,44	0,34	0,11	0,06	0,04	ND	ND	2,02
15	1,10	0,97	0,42	0,32	0,11	0,05	0,03	ND	ND	1,91

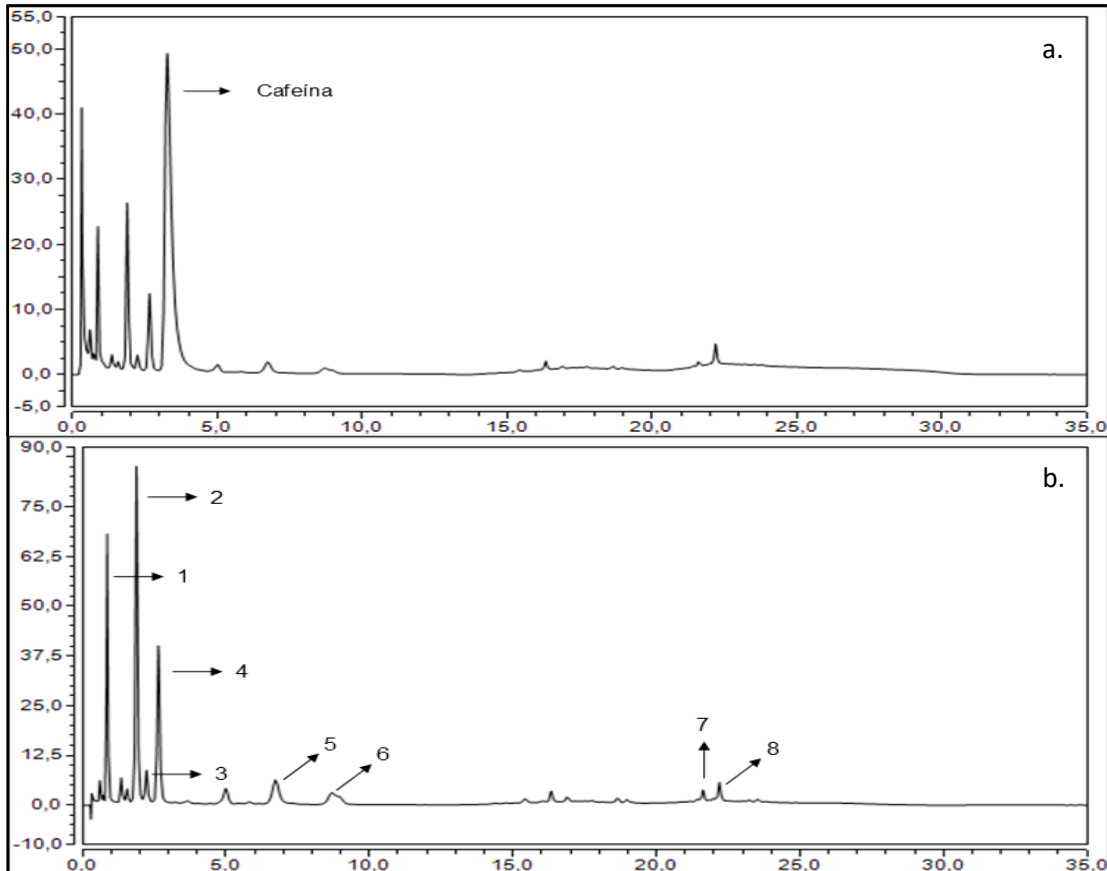


Figura 9: Cromatogramas de café conilon (experimento 8) obtido em (a.) 270 nm para a identificação da cafeína; e (b.) 325 nm para a identificação dos padrões 5-CQA (1); 3-CQA (2); 5-FQA (3); 4-CQA (4); 3-FQA (5); 4-FQA (6); 3,5-diCQA (7); e 3,4-diCQA (8)

Os teores dos ácidos clorogênicos 3-CQA, 4-CQA, 5-CQA, 3-FQA, 4-FQA (5); 5-FQA; 3,4-diCQA, 3,5-diCQA e de cafeína, quantificados nos extratos aquosos das amostras preparados a partir do café, análise por UHPLC-DAD, estão dispostos na Tabela 2, em % de compostos no café torrado, bem como as equações obtidas por meio da curva de calibração (ER), os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) de cada um dos padrões. Os cromatogramas dos (8) experimentos nos diferentes comprimentos de onda utilizados estão dispostos na Figura 9 como demonstração visual das corridas cromatográficas obtidas em (a) e (b). Todos os compostos apresentaram distribuição normal e homogeneidade.

Foi encontrado nessa análise um teor de ácidos clorogênicos totais entre 2,69% e 3,47% e entre 2,40% e 9,33%, com valores mais elevados nas torras claras, seguido pela torra média e, por último, torra escura (COSTA *et al.*, 2022). Dentre os

CGAs, o composto 3-CQA foi encontrado nesse experimento em maior quantidade, variando entre 0,92% e 1,80% conilon Tabela 2 e 1,19% e 1,55% arábica Tabela 3 e entre 1,41% e 5,94% (COSTA *et al.*, 2022). Foi encontrado nesse experimento maior quantidade de 3,5-diCQA entre 0,02% e 0,10% conilon Tabela 2, porém di-CQA no arábica não foi encontrado em nenhuma das amostras.

Os teores dos CQAs foram superiores aos di-CQAs e, além disso, foi observada uma quantidade superior de ácidos clorogênicos. Foi encontrado um teor de cafeína entre 1,71% e 2,59% conilon Tabela 2, entre 1,01 e 1,94 % arábica na Tabela 3 e entre 2,16 e 2,41% (C100 e M60, respectivamente), (COSTA *et al.*, 2022), sem diferenças significativas entre as amostras, estando acima do mínimo exigido de 0,7% (BRASIL, 1999).

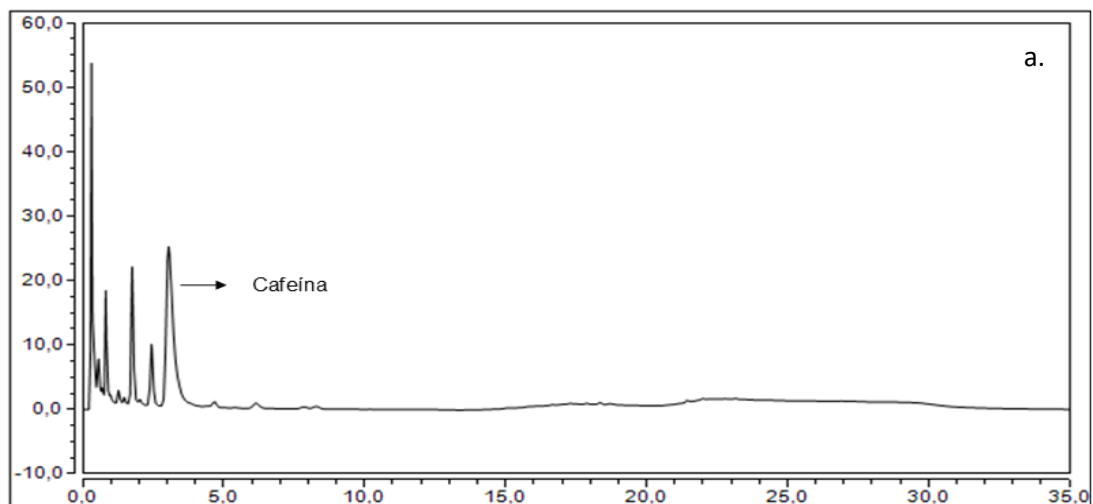


Figura 10: Cromatogramas de identificação da cafeína em extrato de café arábica.

Foi observado na Figura10 os cromatogramas de cafeína (a) para café arábica, respectivamente apresentou resultados menores em relação a cafeína (a) comparado a Figura 9 de cromatogramas de café conilon. Apresentou valor superior a 55%, onde a cafeína no café arábica próximo de 30%.

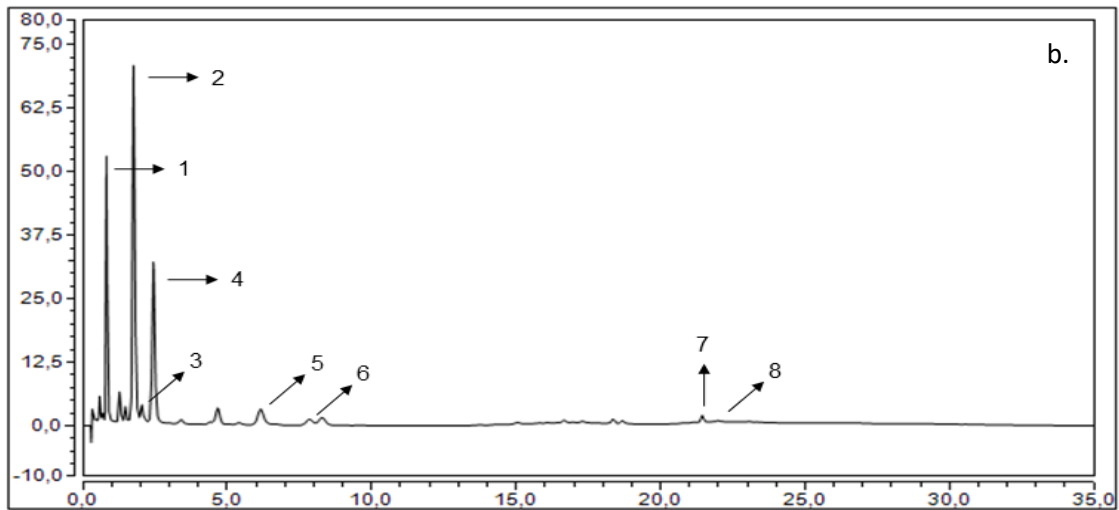
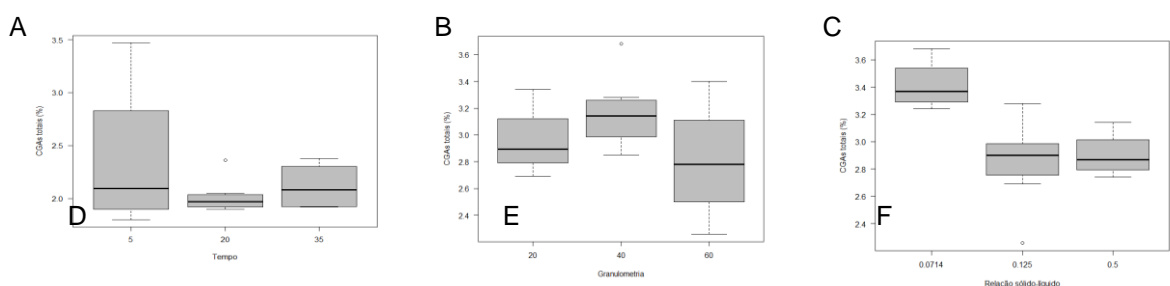


Figura 11: Cromatogramas de café arábica (experimento 8) obtido em (a.) 270 nm para a identificação da cafeína; e (b.) 325 nm para a identificação dos padrões 5-CQA (1); 3-CQA (2); 5-FQA (3); 4-CQA (4); 3-FQA (5); 4-FQA (6); 3,5-diCQA (7); e 3,4-diCQA (8).

Os teores dos ácidos clorogênicos 3-CQA, 4-CQA, 5-CQA, 3-FQA, 4-FQA (5); 5-FQA; 3,4-diCQA, 3,5-diCQA e de cafeína, quantificados nos extratos aquosos das amostras preparados a partir do café, análise por UHPLC-DAD, estão dispostos na Tabela 3, em % de compostos no café torrado, bem como as equações obtidas por meio da curva de calibração (ER), os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) de cada um dos padrões. Os cromatogramas dos (8) experimentos nos diferentes comprimentos de onda utilizados estão dispostos na Figura 9 como demonstração visual das corridas cromatográficas obtidas. Todos os compostos apresentaram distribuição normal e homogeneidade.

Os extratos de café conilon e arábica preparados foram colocados em pequenos frascos após filtrados em um estojo interno do aparelho UHPLC-DAD, para análise e separação dos compostos propostos neste estudo. Houve resultados de extração desses elementos expressos na Figura 11 de cromatografia (b), através dos picos, sendo os de maior concentração foi 5CQA em 50% e 3CQA de cerca de 74% de extração no café arábica.



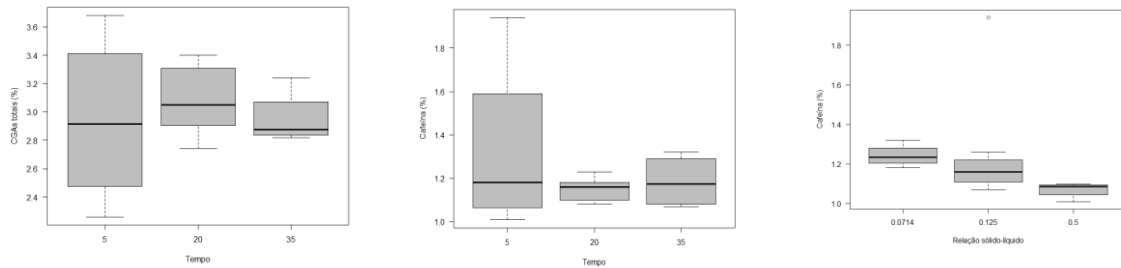


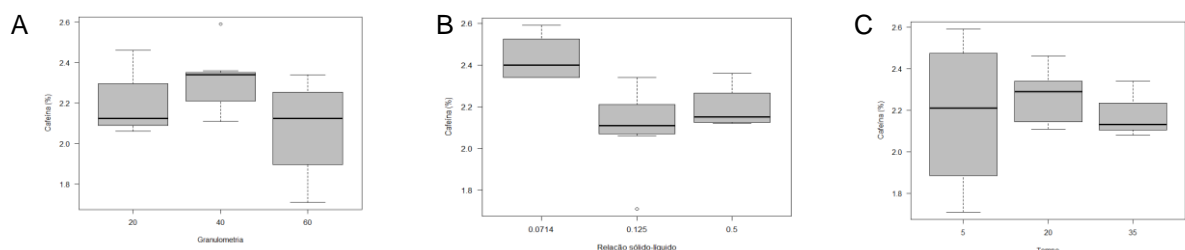
Figura 12: Teor de cafeína e ácidos clorogênicos (CGAs) totais em café conilon em diferentes variáveis.

O Teor de cafeína em infusões de café conilon e arábica, torrados e moídos (preparados em laboratório); * representam diferenças estatisticamente significativa ($p < 0,0001$). Valores marcados com letras diferentes forma significativamente diferentes. Em relação ao tipo de café, dos dois estudados, o café conilon apresentou o maior teor de cafeína, e menor teor o café arábica Figura 12. As diferenças encontradas foram estatisticamente significativas ($p < 0,05$).

O café conilon nas Figuras 12 A- F em análise das três variáveis escolhidas, por matriz de delineamento Box–Behnken (BBD); utilizados no exercício das atividades laboratoriais, em pesquisa de extratos de café conilon e arábica que foram preparados para esse estudo. No café conilon apresentaram teores de extração, porém não houve resultados significativos observados na Figura 12.

Conforme a Figura 12 A- CGAs totais % o > valor encontrado foi o Tempo de 5'- (2,8 e 1,9). Na Figura 12 B- CGAs totais % o > valor foi a granulometria de 40- (3,0 e 3,3) e na Figura 12 C- CGAs totais % o > valor foi na Relação sólido líquido de 0,0714- (3,3 e 3,5). As Figuras apresentam extração de CGAs totais, com características de extração entre eles, porém não houve resultado significativo.

De acordo a Figura 12 D- CGAs totais % o > valor encontrado foi o Tempo de 5'- (2,5 e 3,4). Na Figura 12 E- CGAs totais % o > valor foi o Tempo de 5'- (1,1 e 1,6) e na Figura 12 F- CGAs totais % o > valor foi na Relação sólido líquido de 0,0714- (1,2 e 1,3). As Figuras D e E mostram mesmo valor de Tempo 5', porém não houve diferença significativa.



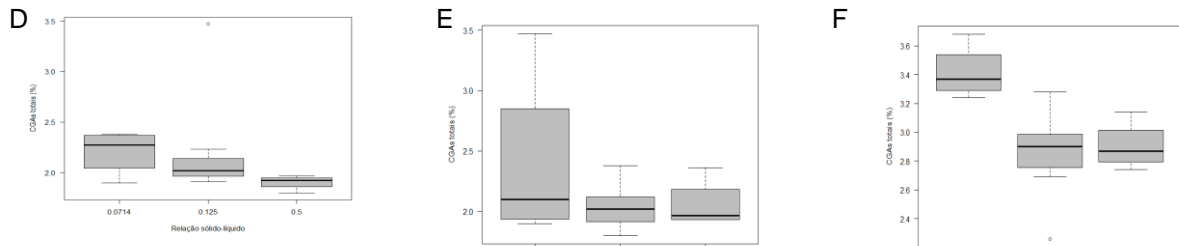
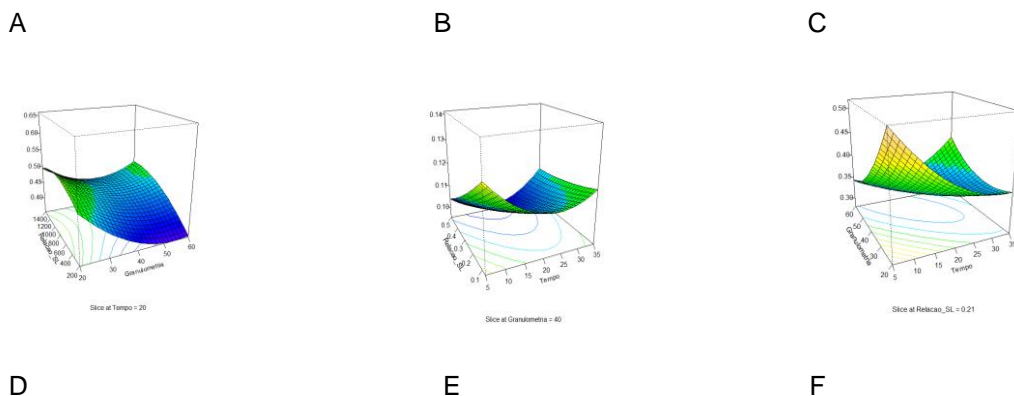


Figura 13: Teor de cafeína e ácidos clorogênicos (CGAs) totais em café arábica em diferentes variáveis.

O café arábica nas figuras 13 A-F, em análise das três variáveis escolhidas, por matriz de delineamento Box–Behnken (BBD); utilizados no exercício das atividades laboratoriais, em pesquisa de extratos de café conilon e arábica que foram preparados para esse estudo. A Análise apesar de apresentar teores diferentes de extração no café arábica não houve resultados significativos nas Figuras 13 para otimização de CGAs e cafeína.

A disposição da Figura 13 A- Cafeína % o > valor encontrado foi a granulometria de 40 - (2,2 e 2,4). Na Figura 13 B- Cafeína % o > valor foi na relação Sólido líquido (SL) de 0,714 – (2,3 e 2,5) e na Figura 13 C- Cafeína % o > valor foi o Tempo de 5' – (1,9 e 2,5). É possível observar que houve extração de cafeína % em todas as figuras, sem resultado significativo entre eles.

Verificamos na Figura 13 D- CGAs totais % > valor foi encontrado na Relação Sólido líquido (SL) de 0,0714 - (2,1 e 2,4). Na Figura 13 E- CGAs totais % > valor foi a Granulometria de 20 – (1,9 e 2,8) e na Figura 13 F- CGAs totais % > valor foi na Relação Sólido líquido (SL) de 0,714 - (3,1 e 3,5). As Figuras D e F apresentaram mesmo valor de 0,0714 de extração para SL.



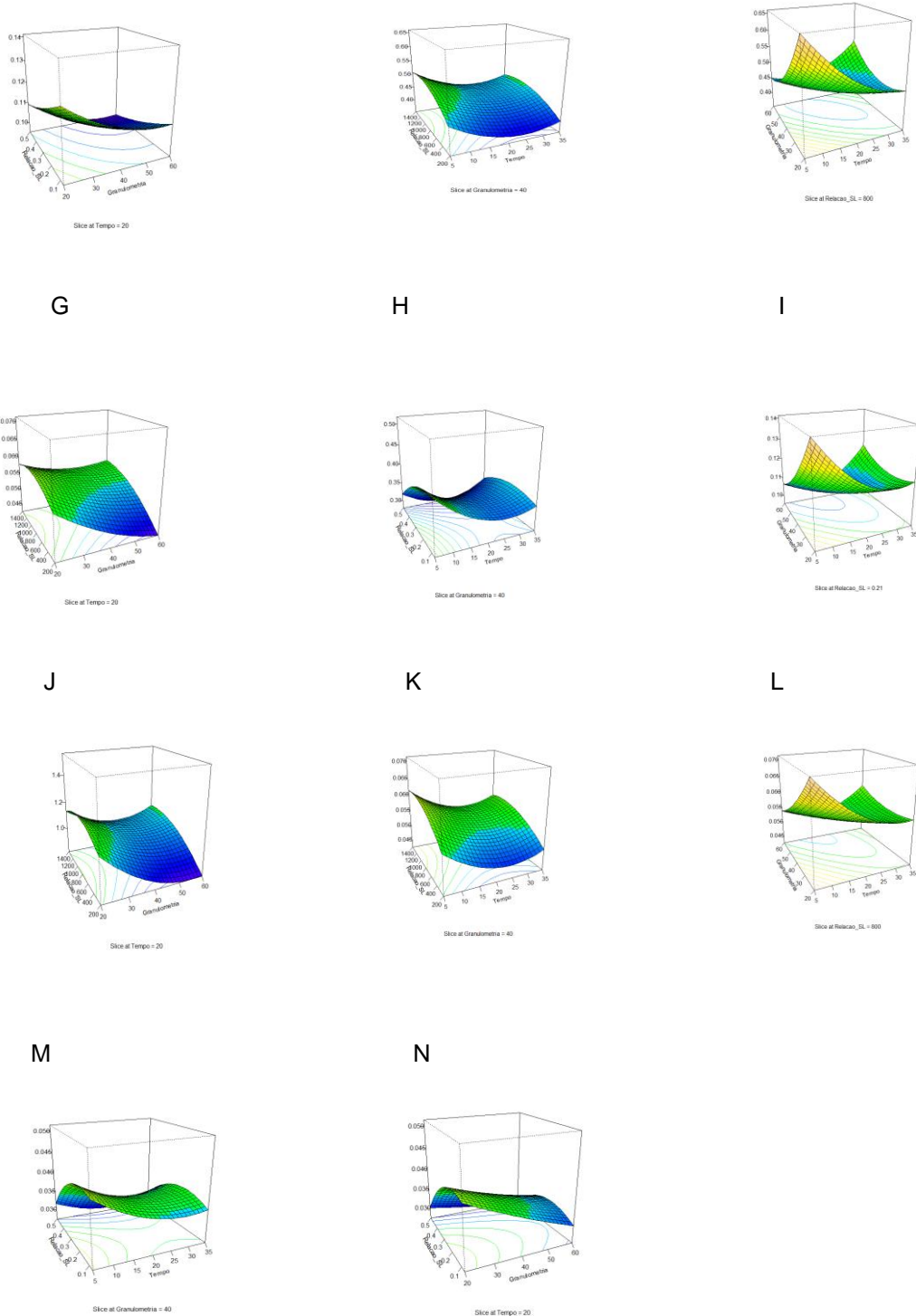


Figura 14: Gráficos de superfície de resposta dos compostos MSR caféina e CGAs totais conilon.

As figuras de análise MRS apresentam movimentos de ampliação de extração nas faixas estudadas. Porém não houve um resultado significativo nas Figuras 14 A-

N, apresentaram o mesmo perfil de imagens que não atingiram o ângulo de curvatura de otimização dessas extrações.

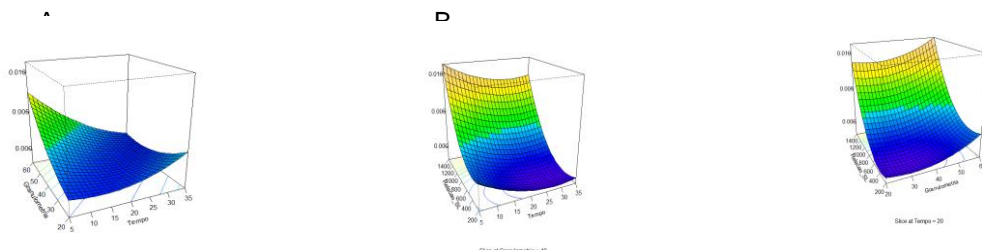
Verificamos na Figura 14 A- Relação Sólido líquido (SL) e granulometria em relação ao Tempo de 20' – (0,5 e 20). Na Figura 14 B- Relação Sólido líquido (SL) e Tempo em relação a granulometria de 40 – (0,10 e 5'). Na Figura 14 C- Granulometria e Tempo em relação SL de 0,21 – (0,35 e 5'). As Figura B e C apresentaram mesmo valor de 5' de extração para granulometria e SL.

De acordo com a Figura 14 D- Relação Sólido líquido (SL) e granulometria em relação ao Tempo de 20' – (0,11 e 20). Na Figura 14 E- Relação Sólido líquido (SL) e Tempo em relação a granulometria de 40 – (0,5 e 5'). Na Figura 14 F- Granulometria e Tempo em relação SL de 0,800 – (0,45 e 5'). As Figura E e F apresentaram mesmo valor de 5' de extração para granulometria e SL. Todas as figuras demonstram em suas imagens um perfil de extração visível, porém não chegam a intensidade de maior extração que evidencie ângulos de curvatura esperados na técnica de MSR.

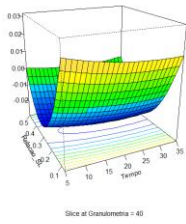
Apresentado na Figura 14 G- Relação Sólido líquido (SL) e granulometria em relação ao Tempo de 20' – (0,05 e 20). Na Figura 14 H- Relação Sólido líquido (SL) e Tempo em relação a granulometria de 40 – (0,30 e 5'). Na Figura 14 I- Granulometria e Tempo em relação SL de 0,21 – (0,10 e 5'). As Figura H e I apresentaram mesmo valor de 5' de extração para granulometria e SL.

Foi observado na Figura 14 J- Relação Sólido líquido (SL) e granulometria em relação ao Tempo de 20' – (0,11 e 20). Na Figura 14 K- Relação Sólido líquido (SL) e Tempo em relação a granulometria de 40 – (0,06 e 5'). Na Figura 14 L- Granulometria e Tempo em relação SL de 0,800 – (0,05 e 5'). As figuras 14 K e L ambos mesmo valor de tempo em 5'.

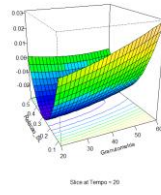
Ao analisar a Figura 14 M- Relação Sólido líquido (SL) e Tempo e relação a granulometria de 40 – (0,31 e 5'). Na Figura 14 N- Relação Sólido líquido (SL) e granulometria em relação ao Tempo de 20' – (0,30 e 20). As imagens do perfil de extração, as cores não se intensificam, não apresentam características de maior extração que evidencie ângulos de curvatura de MSR.



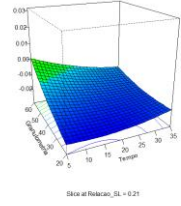
D



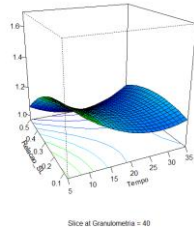
E



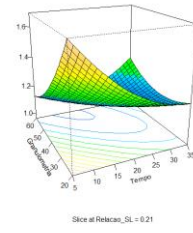
F



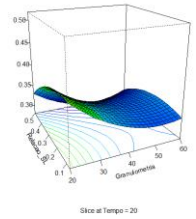
G



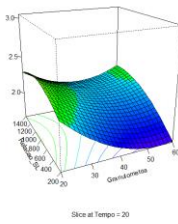
H



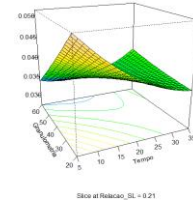
I



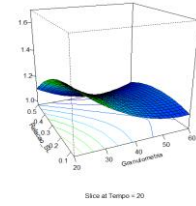
J



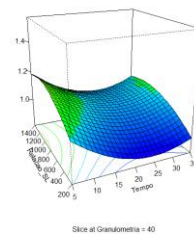
K



L



M



N

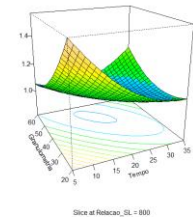


Figura 15: Gráficos de superfície de resposta dos compostos cafeína e CGAs totais arábica.

Na análise da metodologia de superfície de resposta, e também considerando a extração de cafeína e CGAs por parâmetros: granulometria, tempo e relação sólido líquido. Apresentam um leve movimento nas faixas estudadas que caracteriza a extração dos componentes químicos. As Figuras 15 de A-N apresentaram o mesmo perfil de imagens que não atingiram o ângulo de curvatura superior que apresentam o maior ponto de extração, normalmente visto com a coloração avermelhada para apresentar a otimização dessas extrações.

De acordo com a Figura 15 A- Granulometria e Tempo em relação SL de 0,800 – (0,006 e 35'). Na Figura 15 B- Relação Sólido líquido (SL) e Tempo em relação a granulometria de 40 – (0,010 e 5'). Figura 15 C- Relação Sólido líquido (SL) e granulometria em relação ao Tempo de 20' – (0,009 e 40).

Verificamos que a Figura 15 D- Relação Sólido líquido (SL) e Tempo em relação a granulometria de 40 – (0,00 e 5'). Figura 15 E- Relação Sólido líquido (SL) e granulometria em relação ao Tempo de 20' – (0,00 e 60). Na Figura 15 F- Granulometria e Tempo em relação SL de 0,21 – (0,00 e 35').

Em relação a Figura 15 G- Relação Sólido líquido (SL) e Tempo em relação a granulometria de 40 – (1,10 e 35'). A Figura 15 H- Granulometria e Tempo em relação SL de 0,21 - (1,10 e 5'). Na Figura 15 I- Relação Sólido líquido (SL) e granulometria em relação ao Tempo de 20' – (0,34 e 20).

Observamos na Figura 15 J- Relação Sólido líquido (SL) e Tempo em relação a granulometria de 40 – (1,10 e 35'). Figura 15 K- Granulometria e Tempo em relação SL de 0,21 - (1,10 e 5'). Na Figura 15 L- Relação Sólido líquido (SL) e granulometria em relação ao Tempo de 20' – (0,34 e 20).

Foi apresentado na Figura 15 M- Relação Sólido líquido (SL) e Tempo em relação a granulometria de 40 – (1,10 e 5'). Figura 15 N- Granulometria e Tempo em relação SL de 0,800 – (1,10 e 5'). As Figuras M e N apresentaram mesmo valor de 1,10 e 5' de extração para granulometria e SL.

Obtemos nas Figuras a seguinte análise: que as atividades de extração dos compostos, houve grande contribuição para transformações bioquímicas sofridas no processo de extração nos extratos de café. As principais alterações que ocorreram

durante a extração foram: movimentos de curvatura inicial na figura; variações de valores; extração dos compostos CGAs e cafeína, mudança dos pigmentos entre outros.

No entanto houve uma série de fatores que contribuem para a rápida extração dos compostos: como sua composição, atividade do solvente água, granulometria, tempo e relação sólido líquido, portanto, nesse processo de extração não foi encontrado valores significativos para otimização desses compostos.

6. DISCUSSÃO

O Estado do Espírito Santo vem ganhando destaque como segundo maior produtor e exportador do país. O desenvolvimento e cultivo de café a décadas gera renda, e traz novos imigrantes, conhecimento de agronegócio, solidez em seus produtos, que parte atendem o nosso mercado nacional, cada vez mais forte em exportações de café para o mundo.

Para encontrar maiores concentrações dos compostos químicos nos grãos de café, é importante obter uma variedade de café de boa procedência e qualidade. Podemos observar que de acordo com os resultados das análises em relação ao teor encontrado de cafeína neste experimento no extrato de café conilon foi de 2,59g/100g e no café arábica 1,94g/100g, foi possível encontrar bons resultados para ambos, pois foi acima da média recomendada (BRASIL, 1999), como também nesta pesquisa foi encontrado um teor de cafeína entre 2,16 e 2,41% (C100 e M60, respectivamente) (COSTA, 2022), e sem diferenças significativas entre as amostras, acima do mínimo exigido de 0,7% (BRASIL, 1999).

Ao analisar os Gráficos de Teor de cafeína e CGAs conilon e arábica apresentados nas Figuras 12 e 13.

- O Parâmetro de Tempo (5, 20 e 35 min), observa-se resultados: O café conilon- CGAs totais % os > valores encontrados foram o Tempo de 5' - Figura 12 A, (2,5 e 3,4) na Figura 12 D e (1,1 e 1,6) na Figura 12 E; O café arábica- Cafeína % os > valores encontrados foram o Tempo de 5' - Figura 13 C- (1,9 e 2,5), o que permite entender, essa leitura para ambos cafés, onde ocorre a extração em tempo > 5' para ambos cafés e CGAs totais % e Cafeína %.

Ao analisar os Gráficos de Superfície de resposta dos compostos MSR cafeína e CGAs totais conilon e arábica apresentados nas Figuras 14 e 15.

Observa-se resultados: O café conilon- Os > valores encontrados foram o Tempo de 5'- (SL) e Tempo em relação a granulometria de 40 – (0,10 e 5') na Figura 14 B e Granulometria e Tempo em relação SL de 0,21 – (0,35 e 5') na Figura 14 C. As Figuras B e C apresentaram mesmo valor de 5' de extração para granulometria e SL. Relação Sólido líquido (SL) e Tempo em relação a granulometria de 40 – (0,5 e 5') na Figura 14 E e Granulometria e Tempo em relação SL de 0,800 – (0,45 e 5') na Figura 14 F. As Figuras 14 E e 14 F apresentaram mesmo valor de 5' de extração para granulometria e SL. Relação Sólido líquido (SL) e Tempo em relação a granulometria de 40 – (0,30 e 5') na Figura 14 H e Granulometria e Tempo em relação SL de 0,21 – (0,10 e 5') Na Figura 14 I. As Figuras H e I apresentaram mesmo valor de 5' de extração para granulometria e SL. Relação Sólido líquido (SL) e Tempo em relação a granulometria de 40 – (0,06 e 5') na Figura 14 K e Granulometria e Tempo em relação SL de 0,800 – (0,05 e 5') na Figura 14 L. As Figuras 14 K e L ambos mesmo valor de tempo em 5'. Relação Sólido líquido (SL) e Tempo e relação a granulometria de 40 – (0,31 e 5') na Figura M. Na granulometria de 40, relação SL 0,21 e 800, encontramos > valores de tempo 5'.

Observa-se resultados: O café arábica- Os > valores encontrados foram: Granulometria e Tempo em relação SL de 0,800 – (0,006 e 35') na Figura 15 A e Relação Sólido líquido (SL) e Tempo em relação a granulometria de 40 – (0,010 e 5') na Figura 15 B e Relação Sólido líquido (SL) e Tempo em relação a granulometria de 40 – (0,00 e 5') na Figura 15 D e Granulometria e Tempo em relação SL de 0,21 – (0,00 e 35') na Figura 15 F e Relação Sólido líquido (SL) e Tempo em relação a granulometria de 40 – (1,1 e 35') na Figura 15 G e Granulometria e Tempo em relação SL de 0,21 - (1,1 e 5') na Figura 15 H e Relação Sólido líquido (SL) e Tempo em relação a granulometria de 40 – (1,1 e 35') na Figura 15 J e Granulometria e Tempo em relação SL de 0,21 - (1,1 e 5') na Figura 15 K e Relação Sólido líquido (SL) e Tempo em relação a granulometria de 40 – (1,1 e 5') na Figura M e Granulometria e Tempo em relação SL de 0,800 – (1,1 e 5') na Figura 15 N.

As Figuras M e N apresentaram mesmo valor de 1,1 e 5' de extração para granulometria e SL. Na granulometria de 40 encontramos > valores de tempo 35' e

relação SL 0,21 > valores de tempo 5'; Relação SL 800 > valores de tempo 5' e 35'. Houve extração também utilizando MSR o que favorece > fluxo sendo favorável esse método na indústria, quanto aos > volumes de produção, gera otimização de tempo e < custo de equipamentos e matéria prima.

Ao analisar os Gráficos de Teor de cafeína e CGAs conilon e arábica apresentados nas Figuras 12 e 13.

- O Parâmetro de Granulometria entre (MESH 20, 40 e 60), observa-se resultados: O café conilon- CGAs totais % os > valores encontrados foram na Granulometria de 40- (3,0 e 3,3) na Figura 12 B. O café arábica- Cafeína % os > valores encontrados foram na granulometria de 40 - (2,2 e 2,4) na Figura 13 A e CGAs totais % > valor foi a Granulometria de 20 – (1,9 e 2,8) na Figura 13 E. Nas Figuras B e E apresentaram valores similares em granulometria de 40.

Ao analisar os Gráficos de Superfície de resposta dos compostos MSR cafeína e CGAs totais conilon e arábica apresentados nas Figuras 14 e 15.

Observa-se resultados: O café conilon- Os > valores encontrados foram a Relação Sólido líquido (SL) e granulometria em relação ao Tempo de 20' – (0,5 e 20) na Figura 14 A e Relação Sólido líquido (SL) e granulometria em relação ao Tempo de 20' – (0,11 e 20) na Figura 14 D e Relação Sólido líquido (SL) e granulometria em relação ao Tempo de 20' – (0,05 e 20) na Figura 14 G e Relação Sólido líquido (SL) e granulometria em relação ao Tempo de 20' – (0,11 e 20) na Figura 14 J e Relação Sólido líquido (SL) e granulometria em relação ao Tempo de 20' – (0,30 e 20) na Figura 14 N. Nas Figuras 14 A-N todas apresentaram mesmo > valor de granulometria de 20.

Observa-se resultados: O café arábica- Os > valores encontrados foram Relação Sólido líquido (SL) e granulometria em relação ao Tempo de 20' – (0,009 e 40) na Figura 15 C e Relação Sólido líquido (SL) e granulometria em relação ao Tempo de 20' – (0,00 e 60) Figura 15 E e Relação Sólido líquido (SL) e granulometria em relação ao Tempo de 20' – (0,34 e 20) na Figura 15 I e Relação Sólido líquido (SL) e granulometria em relação ao Tempo de 20' – (0,34 e 20) na Figura 15 L. Nas Figuras 15 C, I e L > valor de granulometria de 20, 15 E > valor de granulometria de 60.

Ao analisar os Gráficos de Teor de cafeína e CGAs conilon e arábica apresentados nas Figuras 12 e 13.

- O Parâmetro Relação sólido-líquido no café conilon - CGAs totais % o > valor foi na Relação sólido líquido de 0,0714– (3,3 e 3,5) na Figura 12 C e CGAs totais % o > valor foi na Relação sólido líquido de 0,0714– (1,2 e 1,3) na Figura 12 F. As figuras C e F apresentaram mesmo valor de SL. Na Figura 13 B- Cafeína % o > valor foi na relação Sólido líquido (SL) de 0,714 – (2,3 e 2,5) na Figura 13 D- CGAs totais % > valor foi encontrado na Relação Sólido líquido (SL) de 0,0714 - (2,1 e 2,4) na Figura 13 F- CGAs totais % > valor foi na Relação Sólido líquido (SL) de 0,714 - (3,1 e 3,5). Nas Figuras D e F apresentaram valores similares para SL.

Ao analisar os Gráficos de Superfície de resposta dos compostos MSR cafeína e CGAs totais conilon e arábica apresentados nas Figuras 14 e 15.

Observa-se resultados: O café conilon- Os > valores encontrados foram: Relação Sólido líquido (SL) e granulometria em relação ao Tempo de 20' – (0,5 e 20). Figura 14 A. Relação Sólido líquido (SL) e Tempo em relação a granulometria de 40 – (0,10 e 5') na Figura 14 B. Relação Sólido líquido (SL) e granulometria em relação ao Tempo de 20' – (0,11 e 20) na Figura 14 D. Relação Sólido líquido (SL) e Tempo em relação a granulometria de 40 – (0,5 e 5') na Figura 14 E.

Observa-se resultados: O café arábica- Os > valores encontrados foram: Relação Sólido líquido (SL) e Tempo em relação a granulometria de 40 – (1,10 e 35') na Figura 15 G. Granulometria e Tempo em relação SL de 0,21 - (1,10 e 5') na Figura 15 H. Relação Sólido líquido (SL) e granulometria em relação ao Tempo de 20' – (0,34 e 20) na Figura 15 I. Nas Figuras G e H houve diferenças relação ao tempo, porém mesma SL.

Verificamos na Figura 15 J- Relação Sólido líquido (SL) e Tempo em relação a granulometria de 40 – (1,10 e 35'). Na Figura 15 L- Relação Sólido líquido (SL) e granulometria em relação ao Tempo de 20' – (0,34 e 20). Figura 15 M- Relação Sólido líquido (SL) e Tempo em relação a granulometria de 40 – (1,10 e 5'). Nas Figuras J, G, H e M houve diferenças em relação ao tempo, e diferenças não significativas em SL.

Revela que quanto maior a concentração, maior a extração dos elementos químicos nos extratos de cafés arábica e conilon. Os parâmetros indicam resultados muito similares, porém em maior quantidade nos gráficos estudados em relação a Tempo foi de 5', SL 0,125 e Granulometria de 20 para ambos cafés.

A metodologia de superfície de resposta, aponta que não houve otimização dos elementos químicos sugeridos cafeína e CGAs. Há uma indagação de que esses resultados por serem extratos de alto valor de concentração desses compostos, já estariam na faixa de máxima extração. Porém é interessante reavaliar os parâmetros de tempo, granulometria e a relação sólido líquido.

A análise para recriar uma formação de parâmetros que produzam a ampliação dessa estrutura de extração e mudar seus valores iniciais a fim de entender sua formação e qual proporção de cafeína e CGAs iniciaria essa curvatura de máxima extração.

7. CONCLUSÃO

O estudo foi realizado com o extrato de perfil químico das espécies *C. arábica* e *C. canephora* var. conilon, na utilização de três parâmetros para o extrato de café de duas qualidades, para análise no aparelho de cromatografia líquida UHPLC-DAD, na determinação da extração de cafeína e CGAs. Ao todo foram identificados 8 compostos, divididos em 15 experimentos, sendo estatisticamente diferentes entre os compostos.

O teor de ácidos clorogênicos totais do café conilon e arábica da cultivar situa-se entre 3,68 e 3,47%, enquanto o teor de cafeína está entre 2,59 e 1,94%, valor esperado para a espécie. A extração dos compostos para ambos os cafés utilizando a metodologia de extração por maceração em ultrassom assistida em e diluição no preparo do extrato em água fervente a 96° C demonstrou ter alto potencial para extrair diferentes componentes.

Houve resultados expressos nas Figuras 9 a 11 de cromatografia, dos picos que correspondem aos CQAs e cafeína. Os valores de cafeína foram maiores de até 50%, 5CQA de 62% e 3CQA de 89% na extração em café conilon e no café arábica, a cafeína de até 20%, 5CQA de 50% e 3CQA de pelo menos 74%.

Os resultados encontrados de CQAs de maior concentração na Tabela 2, o café conilon foram: 3CQAs: (1,55g), 4 CQAs: (0,73g) e 5 CQAs: (0,62g) e Tabela 3, o café arábica foram: 3CQAs: (1,80g), 4 CQAs: (0,76g) e 5 CQAs: (0,60g). Os resultados obtidos da extração desses compostos nas Figuras 14 e 15 de metodologia de superfície de resposta, mostra variação de teores de extração, porém não houve resultados significativos, o que sugere pesquisas para identificar a otimização desses compostos em atingir a máxima extração.

No entanto a ampliação das faixas estudadas, novas variáveis e parâmetros, poderão identificar a otimização da máxima extração dos CQAs totais e cafeína, pela MSR e em outras metodologias de carácter específico para material vegetal, de alto valor em resultados analíticos e de fácil análise científica.

7. REFERÊNCIAS

- A. AFZAL, Ü. AGBULUT, ~ M.E.M. SOUDAGAR, R.K.A. RAZAK, A. BURADI, C.A. SALEEL, **Blends of scum oil methyl ester, alcohols, silver nanoparticles and the operating conditions affecting the diesel engine performance and emission: an optimization study using Dragon fly algorithm**, Appl. Nanosci. 11 (9) (2021/09/01 2021) 2415–2432.
- A. AHMAD, N. MAHMOOD, M. HUSSAIN, U. AIMAN, S.H. AL-MIJALLI, M.A. RAZA, E. AL JBAWI, **Improvement in oxidative stability and quality characteristics of functional chicken meat product supplemented with aqueous coriander extract**, Int. J. Food Prop. 26 (2023) 855–865, <https://doi.org/10.1080/10942912.2023.2189086>.
- A.E. MUNOZ, ~ S.S. HERN´ ANDEZ, A.R. TOLOSA, S.P. BURILLO, M. OLALLA HERRERA, **Evaluation of differences in the antioxidant capacity and phenolic compounds of green and roasted coffee and their relationship with sensory properties**, LWT 128 (2020), 109457, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109457>.
- ANDRADE, C.; PERESTRELO, R.; CÂMARA, J.S. **Valorization of Spent Coffee Grounds as a Natural Source of Bioactive Compounds for Several Industrial**

Applications—A Volatilomic Approach. *Foods* 2022, 11, 1731. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].

BALZANO, M., LOIZZO, M. R., TUNDIS, R., LUCCI, P., NUNEZ, O., FIORINI, D., GIARDINIERI, A., FREGA, N. G., & Pacetti, D. (2020). **Spent espresso coffee grounds as a source of anti-proliferative and antioxidant compounds.** *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 59, 102254. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2019.102254>.

BASTIAN, F.; HUTABARAT, O.S.; DIRPAN, A.; NAINU, F.; HARAPAN, H.; EMRAN, T.B.; SIMAL-GANDARA, J. **From plantation to cup: Changes in bioactive compounds during coffee processing.** *Foods* 2021, 10, 2827. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

BEAUDOR, M.; VAUCHEL, P.; PRADAL, D.; ALJAWISH, A.; PHALIP, V. **Comparing the efficiency of extracting antioxidant polyphenols from spent coffee grounds using an innovative ultrasound-assisted extraction equipment versus conventional method.** *Chem. Eng. Process. Process Intensif.* 2023. 188, 109358. [[CrossRef](#)].

BIRATU, G.H.W. WOLDEMARIAM, G.J.H. GONFA. **Optimization of pectin yield extracted from coffee Arabica pulp using response surface methodology** 10 (8) (2024).

BONDAM, A.F.; DIOLINDA DA SILVEIRA, D.; POZZADA DOS SANTOS, J.; HOFFMANN, J.F. **Phenolic compounds from coffee by-products: Extraction and application in the food and pharmaceutical industries.** *Trends Food Sci. Technol.* 2022, 123, 172–186. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]

BORÉM, F. M. et al. **Coffee Sensory Quality Study Based on Spatial Distribution in the Mantiqueira Mountain Region of Brazil.** *Journal of Sensory Studies*, v. 35, n. 2, p. e12552, 2020.

BOX-BEHNKEN design (BBD): <https://doi.org/10.3329/dujps.v18i1.41421>
 Granulometria: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/portaria-sda-n-570-de-9-de-maio-de-2022-398971389>.

BOUHZAM, I.; CANTERO, R.; BALCELLS, M.; MARGALLO, M.; ALDACO, R.; BALA, A.; FULLANA-I-PALMER, P.; PUIG, R. **Environmental and Yield Comparison of Quick Extraction Methods for Caffeine and Chlorogenic Acid from Spent Coffee Grounds.** *Foods* 2023, 12, 779. [CrossRef] [PubMed].

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) Nº 719 de 2022.** [citad 2022 December 1].

https://anvisa.gov.br/documents/10181/6503647/%281%29RDC_719_2022_COMP.pdf/eec091a3-0699-4804-acba-3d6f9c3f72af.

BRASIL. INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA E NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL (INMETRO), 2011. **Orientação Sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos DOQCGCRE-008.** INMETRO. [citad 2020 December] <http://www.ufjf.br/baccan/files/2011/05/Validacao-Inmetro.pdf>.

BRAZ J. ARABICA COFFEE. **Flow properties assessed using different roasts and particle sizes during storage.** ORIGINAL ARTICLE. *Braz J. Food Technol.* 25. 202. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.02621>.

BRASIL. PORTARIA. No 377, DE 26 DE ABRIL DE 1999Portaria 377, 1999. p. 1–3.
 BUFFO, Roberto A.; CARDELLI-FREIRE, Claudio. **Coffee flavour: An overview. Flavour and Fragrance Journal**, [S. l.], v. 19, n. 2, p. 99–104, 2004. DOI: 10.1002/ffj.1325.

BRZEZIŃSKA, R.; GÓRSKA, A.; WIRKOWSKA-WOJDYŁA, M.; PIASECKA, I. **Response Surface Methodology as a Tool for Optimization of Extraction Process of Bioactive Compounds from Spent Coffee Grounds.** *Appl. Sci.* 2023, 13, 7634. [CrossRef].

CHATZIMITAKOS, T.; ATHANASIADIS, V.; KOTSOU, K.; PALAIOGIANNIS, D.; BOZINO, E.; LALAS, S.I. **Optimized Isolation Procedure for the Extraction of Bioactive Compounds from Spent Coffee Grounds.** *Appl. Sci.* 2023, 13, 2819. [CrossRef].

CHENG, B.; FURTADO, A.; SMYTH, H.E.; HENRY, R.J. **Influence of genotype and environment on coffee quality.** *Trends Food Sci. Technol.* 2016, 57 Pt A, 20–30. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.09.003>.

CONAB)- **ACOMPANHAMENTO DA SAFRA BRASILEIRA** - Café Safra 2020, http://www.sapc.embrapa.br/arquivos/consorcio/levantamento/conab_safra_2020n1.pdf, accessed in February 2024. Figure 2. **Principal component analysis considering the chemical composition of *Coffea canephora* varieties:** (a) projection of the variables: caffeine, trigonelline, *chlorogenic acids* (CGA), kahweol, cafestol, and 16-O-methylcafestol (16-OMC); (b) sample plot. Varieties conilon, robusta, and intervarietal hybrids are represented by letters C, R, and H, respectively, and numbers indicate the sample in each variety, additional information on Table S1 (SI section). Acre et al. Composition of *Coffea canephora* Varieties from the Western Amazon 10 of 11 *J. Braz. Chem. Soc.* 2024, 35, 8, e-20240031.

CONAB- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB); **Acompanhamento da Safra Brasileira** - Café Safra 2021, https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cafe/boletim-da-safra-de-cafe/item/download/45166_c217a37038a20bad7beeee5b16525b03, accessed in February 2024.

CONAB- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB); **Acompanhamento da Safra Brasileira** - Café Safra 2022, http://www.consorciopesquisacafe.com.br/images/stories/noticias/2021/2022/dezembro/4_levantamento_safra_conab.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira de café**, Brasília, DF, v.9 safras 2022, n. 1, primeiro levantamento janeiro 2022.

COSTA, A. M. de S. **Efeito da maturação e do grau de torra no perfil químico e sensorial da cultivar de café conilon “conquista es8152”**. Farmacologia e terapia 2. Café. Universidade vila velha, 2022.

DA SILVA ARAÚJO, C.; VIMERCATI, W.C.; MACEDO, L.L.; PIMENTA, C.J. **Effect of solvent, method, time and temperature of extraction on the recovery of phenolic compounds and antioxidants from spent coffee grounds**. Int. J. Food Eng. 2022, 18, 325–336. [CrossRef].

DE CARVALHO COUTO, C.; FREITAS-SILVA, O.; MORAIS OLIVEIRA, E.M.; SOUSA, C.; CASAL, S. **Near-Infrared Spectroscopy Applied to the Detection of Multiple Adulterants in Roasted and Ground Arabica Coffee**. Foods 2021, 11, 61. [CrossRef] [PubMed].

DEHOND IRIONDO, A.; DEHOND IRIONDO, M.; CASTILHO DEL, M.D. **Applications of compounds from coffee processing by-products**. *Biomolecules* 2020, 10, 1219. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

FERNANDES, M. I. S. *et al.* **Coffee cultivars productive and quality parameters in the Alto Paranaíba region**, Minas Gerais, Brazil. Research, Society and Development, v. 9, n. 9, p. e147996681, 2020.

FIGUEROA CAMPOS, G.A.; PEREZ, J.P.H.; BLOCK, I.; SAGU, S.T.; SARAIVA CELIS, P.; TAUBERT, A.; RAWE, H.M. **Preparation of Activated Carbons from Spent Coffee Grounds and Coffee Parchment and Assessment of Their Adsorbent Efficiency**. Processes 2021, 9, 1396. [CrossRef].

FREITAS, M. N. *et al.* **“Identification of Physiological Analysis Parameters Associated with Coffee Beverage Quality.”** Ciência e Agrotecnologia, 2020.

FREITAS, V.V.; BORGES, L.L.R.; VIDIGAL, M.C.T.R.; DOS SANTOS, M.H.; STRINGHETA, P.C. **Coffee: A comprehensive overview of origin, market, and the quality process.** *Trends Food Sci. Technol.* 2024, 146, 104411. [CrossRef].

G.A. AFUYE, *et al.*, A bibliometric review of vegetation response to climate change, *Environ. Sci. Pollut. Control Ser.* (2021) 1–13.

GAO, N.,SI, X., NÃO, C. (2023). **A contribuição de diferentes composições de polifenóis do chokeberry produzido na China para atividades antioxidantes e antiproliferativas celulares.***Ciência dos Alimentos e Bem-estar Humano*,12,1590–1600.Google Acadêmico Referência cruzada Gato do Mundo

GARCÍA-ROLDÁN, A.; PIRIOU, L.; JAUREGI, P. **Natural deep eutectic solvents as a green extraction of polyphenols from spent coffee ground with enhanced bioactivities.** *Front. Plant Sci.* 2023, 13, 1072592. [CrossRef] [PubMed].

GEMECHU, F.G. **Embracing Nutritional Qualities, Biological Activities and Technological Properties of Coffee Byproducts in Functional Food Formulation.** *Trends Food Sci. Technol.* 2020, 104, 235–261. [CrossRef].

GÓRECKI, M.; HALLMANN, E. **The antioxidant content of coffee and its in vitro activity as an effect of its production method and roasting and brewing time.** *Antioxidants* 2020, 9, 308. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

GUERRA, A. F. *et al.* **Cafés do Brasil: pesquisa, sustentabilidade e inovação.** In: TELHADO, S. F. P. e; CAPDEVILLE, G. de (Ed.). *Tecnologias poupa-terra* 2021. Brasília, DF: Embrapa, 2021. p. 63-75.

HEJNA, A. **POTENTIAL Applications of by-products from the coffee industry in polymer technology—current state and perspectives.** *waste manag.* 2021, 121, 296–330. [CrossRef] [PubMed].

ICO. International Coffee Organization. Available online: <https://www.icocoffee.org/documents/cy2023-24/annual-review-2022-2023-e.pdf> (accessed on 7 February 2025).

J.B. RASERA, *et al.*, **Climate change and citriculture: a bibliometric analysis**, *Agronomy* 13 (3) (2023) 723.

KARMOKER, JR; HASAN, I.; AHMED, N.; SAIFUDDIN, M.; REZA, MS (2019). **“Desenvolvimento e Otimização de Microesferas Muco adesivas Carregadas com Aciclovir por Box-Brehnken Design “Jornal da Universidade de Dhaka de Ciências Farmacêuticas** 18 (1): 1-12. Doi: 10.3329/dujps.v18i1.41421.

KHEMIRA, H. *et al.* **Assessment of genetic diversity and phylogenetic relationship of local coffee populations in southwestern Saudi Arabia using DNA barcoding**, *PeerJ* 11 (2023) e16486.

KENNEDY, D.O.; WIGHTMAN, E.L. **Mental Performance and Sport: Caffeine and Co-consumed Bioactive Ingredients**. *Sports Med.* 2022, 52, 69–90. [CrossRef] [PubMed].

KLINGEL, T.; KREMER, J.I.; GOTTSTEIN, V.; RAJCIC DE REZENDE, T.; SCHWARZ, S.; LACHENMEIER, D.W. **A Review of Coffee By-Products Including Leaf, Flower, Cherry, Husk, Silver Skin, and Spent Grounds as Novel Foods Within the European Union**. *Foods* 2020, 9, 665. [CrossRef] [PubMed].

KUMAR, UM., SINGH, N.&JOSHI, R. (2023a). **Insights sobre os parâmetros de crescimento, composição mineral, proteína e impressões digitais metabolômicas não direcionadas baseadas em UHPLC–QTOF–LC/MS do wheatgrass em função do fotoperíodo e da temperatura**. *Revista Internacional de Ciência e Tecnologia de Alimentos*,58,2423–2436.[Google Acadêmico Referência cruzada Gato do Mundo](#)

KUMAR, UM., SINGH, N., KAUR, UM., CALDEIRA, RSS & KAUR, E. (2023b). **Impacto do sal rosa e de lactobacillus spp. nas propriedades físico-químicas,**

microbiológicas, no perfil fenólico e no teor de açúcar da casca de maçã. *Revista Internacional de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 58, 1487–1496. [Google Acadêmico](#)
Referência cruzada Gato do Mundo;

LEMOS, M. F. *et al.* **Chemical and sensory profile of new genotypes of Brazilian *Coffea canephora*.** *Food chemistry*, v. 310, p. 125850, 2020.

L.S. SANTANA, *et al.*, **Advances in precision coffee growing research: a bibliometric review**, *Agronomy* 11 (8) (2021) 1557.

M.F. ANSHORI, *et al.*, **An overview of image-based phenotyping as an adaptive 4.0 technology for studying plant abiotic stress: a bibliometric and literature review**, *Heliyon* 9 (11) (2023) e21650.

MARIJAN, M.; MITAR, A.; JAKUPOVIC, L.; PRLIC KARDUM, J.; ZOVKO KONCIC, M. **Optimization of bioactive phenolics extraction and cosmeceutical activity of eco-friendly polypropylene-glycol-lactic-acid-based extracts of olive leaf.** *Molecules* **2022**, 27, 529. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

MATIELLO, J. B. *et al.* **Colheita, processamento e qualidade**, In: MATIELLO, J.B. (Ed). **Cultura do Café no Brasil**. Rio de Janeiro, RJ: MAPA/PROCAFÉ, 2020, Cap. 471-528.

M. B'ERDI, **Bibliometric analysis of Hungarian-related publications in suicidal behavior research of the last three decades**, *Psychiatr. Hung.* 38 (3) (2023) 189–202.

MENZIO, J.; BINELLO, A.; BARGE, A.; CRAVOTTO, **Highly efficient caffeine recovery from green coffee beans under ultrasound-assisted SC-CO₂ extraction.** *Processes* 2020, 8, 1062. [[CrossRef](#)].

MIHAI, R.A.; ORTIZ-PILLAJO, D.C.; ITURRALDE-PROAÑO, K.M.; VINUEZA-PULLOTASIG, M.Y.; SISA-TOLAGASÍ, L.A.; VILLARES-LEDESMA, M.L.; MELO-HERAS, E.J.; CUBI-INSUASTE, N.S.; CATANA, R.D. **Comprehensive Assessment**

of Coffee Varieties (*Coffea arabica* L. *Coffea canephora* L.) from Coastal, Andean, and Amazonian Regions of Ecuador; A Holistic Evaluation of Metabolism, Antioxidant Capacity and Sensory Attributes. *Horticulturae* 2024, 10, 200. <https://doi.org/10.3390/horticulturae10030200>

MIRÓN-MÉRIDA, V.A.; BARRAGÁN-HUERTA, B.E.; GUTIÉRREZ-MACÍAS, P. **Coffee Waste: A source of valuable technologies for sustainable development.** In *Valorization of Agri-Food Wastes and By-Products*; Bhat, R., Ed.; Academic Press: London, UK, 2021; pp. 173–198. ISBN 978-0-12-824044-1.

MOSTAFA, H. S. (2022). **Assessment of the caffeine-containing beverages available in the local markets, and development of a real energy drink based on the date fruit.** *Food Science and Technology*, 42, e51820. <http://dx.doi.org/10.1590/fst.51820>

MUDGAL, E.&SINGH, N. (2022). **Diversidade em fenólicos, aminoácidos, reologia e resposta glicêmica de macarrão de arroz integral de arroz não basmati e basmati.** *Pesquisa Alimentar Internacional*,158, 111500.[Google Acadêmico Gato do Mundo](https://doi.org/10.1590/pai.158.111500).

M.V. DE POURES, *et al.*, **Collective influence and optimization of 1-hexanol, fuel injection timing, and EGR to control toxic emissions from a light-duty agricultural diesel engine fueled with diesel/waste cooking oil methyl ester blends,** *Process Saf. Environ. Protect.* 172 (2023/04/01/2023) 738–752.

NAJM, I A. *et al.*, **Central composite design (CCD) approach to develop HPLC method for caffeine: application to coffee samples analysis of Jazan region, Saudi Arabia,** *J. Saudi Chem. Soc.* 28 (1) (2024) 101772.

NZEKOUÉ, F. K., ANGELONI, S., NAVARINI, L., ANGELONI, C., FRESCHI, M., HRELIA, S., VITALI, L. A., SAGRATINI, G., VITTORI, S., & CAPRIOLI, G. (2020). **Coffee silverskin extracts quantification of 30 bioactive compounds by a new HPLC-MS/MS method and evaluation of their antioxidant and antibacterial**

activities. *Food Research International*, 133, 109128. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109128>. PMID:32466943.

OLECHNO, E.; PUŚCION-JAKUBIK, A.; ZUJKO, M.E.; SOCHA, K. **Influence of various factors on caffeine content in coffee brews.** *Foods* **2021**, *10*, 1208. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]

OSORIO-TOBÓN, J.F. **Recent Advances and Comparisons of Conventional and Alternative Extraction Techniques of Phenolic Compounds.** *J. Food Sci. Technol.* **2020**, *57*, 4299–4315. [[CrossRef](#)].

POOLE, R.; KENNEDY, O.J.; RODERICK, P.; FALLOWFIELD, J.A.; HAYES, P.C.; PARKES, J. **Coffee consumption and health: Umbrella review of meta-analyses of multiple health outcomes.** *BMJ* **2017**, *359*, j5024. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] *Foods* **2025**, *14*, 426 15 of 16

PRANDI, B.; FERRI, M.; MONARI, S.; ZURLINI, C.; CIGOGNINI, I.; VERSTRINGE, S.; SCHALLER, D.; WALTER, M.; NAVARINI, L.; TASSONI, A.; *et al.* **Extraction and Chemical Characterization of Functional Phenols and Proteins from Coffee (*Coffea arabica*) by-Products.** *Biomolecules* **2021**, *11*, 1571. [[CrossRef](#)]

RAMABULANA, AT; STEENKAMP, P.; MADALA, N.; DUBERY, IA. **Perfil de ácidos clorogênicos de *Bidens pilosa* e diferenciação de isômeros posicionais intimamente relacionados com o auxílio de dissociação induzida por colisão na fonte baseada em UHPLC-QTOF-MS/MS.** *Metabolites* **2020**, *10*, 178. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]

SAFE, S.; KOTHARI, J.; HAILEMARIAM, A.; UPADHYAY, S.; DAVIDSON, L.A.; CHAPKIN, R.S. **Health benefits of coffee consumption for cancer and other diseases and mechanisms of action.** *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24*, 2706. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]

SAIMAITI, A.; ZHOU, D.D.; LI, J.; XIONG, R.G.; GAN, R.Y.; HUANG, S.Y.; SHANG, A.; ZHAO, C.N.; LI, H.Y.; LI, H.B. **Dietary sources, health benefits, and risks of caffeine.** *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2023**, *63*, 9648–9666. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

SANTOS, É.M.D.; MACEDO, L.M.D.; TUNDISI, L.L.; ATAIDE, J.A.; CAMARGO, G.A.; ALVES, R.C.; OLIVEIRA, M.B.P.P.; MAZZOLA, P.G. **Coffee by-products in topical formulations: A review.** *Trends Food Sci. Technol.* **2021**, *111*, 280–291. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]

SEVERINI, C., CAPORIZZI, R., FIORE, A. G., RICCI, I., ONUR, O. M., & DEROSI, A. (2020). **Reuse of spent espresso coffee as sustainable source of fibre and antioxidants. A map on functional, microstructure and sensory effects of novel enriched muffins.** *LWT*, *119*, 108877. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108877>.

SILVEIRA, L. *et al.* **colheita do café de qualidade: custo e retorno para os produtores da região de Mantiqueira de Minas - MG.** *ENERGIA NA AGRICULTURA*, [S. l.], v. 35, n. 3, p. 437-446, 2020.

SINGH, N.& YADAV, SS (2022). **Uma revisão sobre os benefícios para a saúde dos fenólicos derivados de especiarias alimentares.** *Pesquisa atual em ciência dos alimentos*, *5*,1508–1523.[Google AcadêmicoReferência cruzadaPubMedGato do Mundo](#).

SOLOMAKOU, N.; LOUKRI, A.; TSAFRAKIDOU, P.; MICHAELIDOU, A.M.; MOURTZINOS, I.; GOULA, A.M. **Recovery of phenolic compound from spent coffee grounds through optimized extraction processes.** *Sustain. Chem. Pharm.* **2022**, *25*, 100592. [[CrossRef](#)].

TEIXEIRA, A. L.; ROCHA, R. B.; ESPINDULA, M. C.; RAMALHO, A. R.; VIEIRA JÚNIOR, J. R.; ALVES, E. A.; LUNZ, A. M. P.; SOUZA, F. F.; COSTA, J. N. M.; FERNANDES, C. F.; **CBAB, Crop Breed.** *Appl. Biotechnol.* **2020**, *20*, 1. [[Crossref](#)].

TOMAC, I., ŠERUGA, M., & LABUDA, J. (2020). **Evaluation of antioxidant activity of chlorogenic acids and coffee extracts by an electrochemical DNA-based biosensor.** *Food Chemistry*, *325*, 126787. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126787>. PMID:32387938.

TRITSCH, N.; STEGER, MC; SEGATZ, V.; BLUMENTHAL, P.; RIGLING, M.; SCHWARZ, S.; ZHANG, Y.; FRANKE, H.; LACHENMEIER, DW. **Avaliação de risco**

de cafeína e galato de epigallocatequina em chá de folhas de café. *Alimentos* 2022, 11, 263. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)].

VANDEPONSEELE, A.; DRAYE, M.; PIOT, C.; CHATEL, G. **Study of Influential Parameters of the Caffeine Extraction from Spent Coffee Grounds: From Brewing Coffee Method to the Waste Treatment Conditions.** *Clean Technol.* 2021, 3, 335–350.

VELOSO, T. G. R.; SILVA, M. DE C. S. DA; CARDOSO, W. S.; GUARÇONI, R. C.; KASUYA, M. C. M.; PEREIRA, L. L. **Effects of environmental factors on microbiota of fruits and soil of *Coffea arabica* in Brazil.** *Scientific Reports*, v.10, 14692, 2020. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71309-y>.

V.K. VISWANATHAN, et al., **Hybrid optimization and modelling of CI engine performance and emission characteristics of novel hybrid biodiesel blends,** *Renew. Energy* 198 (2022/10/01/2022) 549–567.

YALÇINKAYA, C., ABDALLA, H. S., & BAKKALBAŞI, E. (2022). **Bioactive compounds, antioxidant activity, physical and sensory characteristics of Mirra coffee.** *Food Science and Technology*, 42, e96221. <http://dx.doi.org/10.1590/fst.96221>.

Y.-C. Liao, T. Kim, J.L. Silva, W.-Y. Hu, B.-Y. Chen, **Effects of roasting degrees on phenolic compounds and antioxidant activity in coffee beans from different geographic origins,** *LWT* 168 (2022), 113965, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113965>.

ZIA, S.; KHAN, SR.; SHABBIR, MA; ASLAM MAAN, A.; KHAN, MKI; NADEEM, M.; KHALIL, AA; DIN, A.; AADIL, RM. **Uma visão geral inclusiva de técnicas avançadas de extração térmica e não térmica para compostos bioativos em alimentos e matrizes relacionadas a alimentos.** *Alimentos. Rev.* 2020, 1–31. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)].