



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E ENGENHARIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

LAÍSA BERNABÉ DO CARMO

**EXTRATO DE CAFÉ VERDE MICROENCAPSULADO COM DIFERENTES
AGENTES E MÉTODOS DE SECAGEM E SUA APLICAÇÃO EM BEBIDA
LÁCTEA: EFEITOS SOBRE CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS,
ESTABILIDADE E ASPECTOS SENSORIAIS**

ALEGRE – ES
FEVEREIRO – 2019

LAÍSA BERNABÉ DO CARMO

**EXTRATO DE CAFÉ VERDE MICROENCAPSULADO COM DIFERENTES
AGENTES E MÉTODOS DE SECAGEM E SUA APLICAÇÃO EM BEBIDA
LÁCTEA: EFEITOS SOBRE CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS,
ESTABILIDADE E ASPECTOS SENSORIAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. André Gustavo Vasconcelos Costa
Coorientador: Prof. Sérgio Henriques Saraiva
Coorientador: Prof. Tarcísio Lima Filho

ALEGRE – ES
FEVEREIRO – 2019

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

D631e do Carmo, Laísa Bernabé, 1994-
Extrato de café verde microencapsulado com diferentes agentes e métodos de secagem e sua aplicação em bebida láctea: efeitos sobre características físico-químicas, estabilidade e aspectos sensoriais / Laísa Bernabé do Carmo. - 2019.
103 f. : il.

Orientador: André Gustavo Vasconcelos Costa.
Coorientadores: Sérgio Henriques Saraiva, Tarcísio Lima Filho.
Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias.

1. Compostos bioativos. 2. Secagem. 3. Estabilidade. 4. Bebidas. 5. Avaliação sensorial. I. Costa, André Gustavo Vasconcelos. II. Saraiva, Sérgio Henriques. III. Lima Filho, Tarcísio. IV. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Agrárias e Engenharias. V. Título.


CDU: 664

LAÍSA BERNABÉ DO CARMO


**EXTRATO DE CAFÉ VERDE MICROENCAPSULADO COM DIFERENTES
AGENTES E MÉTODOS DE SECAGEM E SUA APLICAÇÃO EM BEBIDA
LÁCTEA: EFEITOS SOBRE CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS,
ESTABILIDADE E ASPECTOS SENSORIAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

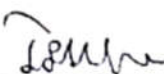
Aprovada em 27 de fevereiro de 2019.




Prof. Dr. André Gustavo Vasconcelos Costa
Universidade Federal do Espírito Santo-UFES
Orientador



Prof. Dr. Sérgio Henriques Saraiva
Universidade Federal do Espírito Santo-UFES
Coorientador



Prof. Dr. Pollyanna Ibrahim Silva
Universidade Federal do Espírito Santo-UFES
Examinadora



Prof. Dr. Maria do Carmo Gouveia Peluzio
Universidade Federal de Viçosa-UFV
Examinadora

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por sempre se mostrar presente em minha vida, me dando forças e sabedoria para alcançar mais essa conquista em minha vida.

Aos meus pais, José Carlos do Carmo e Laci Bernabé, e a minha irmã, Lorraine Bernabé, por serem minha fortaleza em todos os momentos da minha vida. Obrigada por todo amor incondicional, dedicação, ensinamentos e constante apoio, sempre me incentivando a correr atrás dos meus sonhos.

Ao Fernando Moreli, por todo o amor, companheirismo e lealdade. Obrigada por sempre estar ao meu lado e me incentivar a ser uma pessoa melhor.

Ao meu orientador, André Gustavo Vasconcelos, e meus coorientadores, Sérgio Henrique Saraiva e Tarcísio Lima Filho, pelos ensinamentos compartilhados, paciência e pela confiança em mim depositada.

À Universidade Federal do Espírito Santo e ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, pela oportunidade de realização dessa pesquisa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa (Código de Financiamento 001). À Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES) pelo apoio financeiro para a realização dessa pesquisa.

À professora Daniela da Silva Oliveira pela disponibilidade e auxílio nas análises cromatográficas. À professora Pollyanna Ibrahim Silva, pela disponibilidade, atenção e conhecimentos compartilhados.

À todos os professores do programa de pós-graduação, pelos conhecimentos transmitidos e por toda a contribuição em minha formação.

Ao Djalma Vargas, da agropecuária e agroindústria DGV, pela doação do soro de leite para a fabricação das bebidas lácteas.

Aos técnicos dos laboratórios, pelo apoio durante as análises da pesquisa.

Aos meus amigos e companheiros de mestrado, especialmente Daiane Benincá, Krystal Soares, Solciaray Soares, Paula Corrêa e Pedro Henrique Martins, por toda a ajuda, amizade, cumplicidade, pelos momentos de descontração e pelo constante apoio nos momentos difíceis.

Enfim, a todos que contribuíram direta e indiretamente para realização deste trabalho e com a minha formação, meu muito obrigado.

LISTA DE SIGLAS

5-ACQ: Ácido 5-O-cafeoilquínico

AGE: Ácido gálico equilavente

ABTS: Radical Ácido 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)

DPPH: Radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil

Aw: Atividade de água

MEV: Microscopia Eletrônica de Varredura

SD: Secagem por atomização (*spray-drying*)

LF: Liofilização

PD: Polidextrose

IN: Inulina

CT: Bebida láctea controle

PD-SD: Bebida láctea incorporada com o extrato encapsulado com polidextrose por *spray dryer*

IN-SD: Bebida láctea incorporada com o extrato encapsulado com inulina por *spray dryer*

PD-LF: Bebida láctea incorporada com o extrato encapsulado com polidextrose por liofilização

IN-LF: Bebida láctea incorporada com o extrato encapsulado com inulina por liofilização

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Plantas típicas da espécie <i>Coffea canephora</i> : variedade Robusta (A); variedade Conilon (B).....	6
Figura 2 - Estrutura química da cafeína.	11
Figura 3 - Compostos básicos da estrutura do Ácido Clorogênico (A); Monoésteres do ácido quínico com ácidos hidroxicinâmicos (exemplo de isômeros 5-) (B).	12
Figura 4 - Biossíntese de trigonelina via ácido nicotínico.	15
Figura 5 - Estrutura molecular da inulina.....	27
Figura 6 - Estrutura molecular da polidextrose.....	32
Figura 7 - Fluxograma referente às etapas do estudo.....	36
Figura 8 - Fluxograma da elaboração da bebida láctea não fermentada.	43
Figura 9 - Micrografias dos extratos encapsulados de café verde.	53
Figura 10 - Conteúdo de cafeína, ácido clorogênico e trigonelina durante armazenamento das bebidas lácteas incorporadas com os extratos encapsulados de café verde.....	59
Figura 11 - Acidez das bebidas lácteas incorporadas com os extratos encapsulados de café verde.....	62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Principais componentes dos grãos de café verde (% m/m, peso seco).	9
Tabela 2 - Conteúdo de ácidos clorogênicos em grãos de café verde de <i>C. arabica</i> e <i>C. canephora</i>	14
Tabela 3 - Estudos com a incorporação de café verde em produtos alimentícios.....	19
Tabela 4 - Composição centesimal (base seca) do café verde Conilon (<i>Coffea canephora</i>)	47
Tabela 5 - Caracterização do extrato aquoso do café verde Conilon (base seca)	48
Tabela 6 – Efeito das técnicas de encapsulação e dos materiais de parede nas características dos extratos encapsulados.....	51
Tabela 7 - Teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante das bebidas elaboradas, no início e no final do tempo de armazenamento.	56
Tabela 8 – Modelos ajustados para cafeína, ácido clorogênico e trigonelina	58
Tabela 9 – Contagem de coliformes totais e termotolerantes nas bebidas lácteas...	63
Tabela 10 – Média dos escores hedônicos obtidos na análise sensorial das bebidas lácteas incorporadas com café verde.....	64

SUMÁRIO

RESUMO.....	xi
ABSTRACT	xiii
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	4
2.1. Objetivo Geral	4
2.2. Objetivos Específicos.....	4
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
3.1. Origem e importância econômica do café no Brasil.....	5
3.2. <i>Coffea canephora</i> : variedades Conilon e Robusta	5
3.3. O termo café verde e sua composição química.....	8
3.3.1. Constituintes majoritários	9
3.3.2. Cafeína.....	11
3.3.3. Ácido Clorogênico	12
3.3.4. Trigonelina.....	15
3.4. Benefícios do café verde na saúde.....	16
3.5. Incorporação de café verde em produtos alimentícios	18
3.6. Encapsulação de compostos bioativos como estratégia para melhoria da qualidade do produto alimentício	20
3.6.1. Secagem por atomização (<i>Spray-Drying</i>).....	22
3.6.2. Secagem a frio – liofilização (<i>Freeze-drying</i>)	24
3.7. Aspectos funcionais e tecnológicos da inulina.....	26
3.8. Aspectos funcionais e tecnológicos da povidexose.....	31
3.9. Considerações finais.....	34
4. MATERIAIS E MÉTODOS	36
4.1. Composição centesimal da matéria-prima.....	36
4.2. Obtenção do extrato aquoso do café verde.....	37
4.3. Microencapsulação dos extratos – <i>Spray drying</i> e liofilização	37
4.4. Caracterização dos extratos aquosos e dos extratos encapsulados de café verde	38
4.4.1. Compostos fenólicos totais.....	38
4.4.2. Atividade antioxidante pelo ensaio com radical ABTS.....	39

4.4.3. Atividade antioxidante pelo ensaio com radical DPPH.....	39
4.4.4. Determinação de cafeína, ácido clorogênico e trigonelina	40
4.4.5. Umidade	40
4.4.6. Atividade de água (Aw)	41
4.4.7. pH.....	41
4.4.8. Higroscopicidade	41
4.4.9. Índice de solubilidade	41
4.4.10. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	42
4.5. Incorporação em bebidas lácteas	42
4.6. Estabilidade dos compostos na bebida láctea durante o armazenamento	43
4.7. Acidez titulável	44
4.8. Análise Microbiológica	44
4.9. Análise Sensorial	45
4.10. Análises estatísticas dos dados.....	45
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
5.1. Caracterização da matéria-prima.....	47
5.2. Caracterização do extrato aquoso de café verde	48
5.3. Caracterização dos extratos encapsulados	49
5.4. Teor de fenólicos totais e atividade antioxidante das bebidas lácteas durante o armazenamento	55
5.5. Estabilidade dos compostos bioativos nas bebidas lácteas durante o armazenamento	58
5.6. Acidez das bebidas lácteas ao longo do armazenamento	61
5.7. Análise sensorial das bebidas lácteas	63
6. CONCLUSÃO	66
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	67
8. APÊNDICES	81
9. ANEXOS	85

RESUMO

DO CARMO, Laísa Bernabé. **Extrato de café verde microencapsulado com diferentes agentes e métodos de secagem e sua aplicação em bebida láctea: efeitos sobre características físico-químicas, estabilidade e aspectos sensoriais.** 2019. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre – ES. Orientador: Prof. Dr. André Gustavo Vasconcelos Costa. Coorientadores: Prof. Dr. Sérgio Henriques Saraiva e Prof. Dr. Tarcísio Lima Filho.

O café verde é rico em compostos bioativos com atividade antioxidante, como o ácido clorogênico, cafeína e trigonelina. Esses compostos possuem ação benéfica na redução do risco de resistência à insulina, doenças cardiovasculares, além de efeito protetor contra o câncer. O desenvolvimento de produtos com maior conteúdo antioxidante tem despertado o interesse da indústria alimentícia, por agregar valor nutricional aos produtos. Ainda, a incorporação de fibras alimentares em produtos alimentícios contribui para a composição nutricional. O presente estudo teve como objetivo encapsular o extrato de café verde pelas técnicas de secagem por atomização (SD) e liofilização (LF), utilizando dois agentes encapsulantes, incorporar em bebidas lácteas não fermentadas e avaliar os efeitos sobre a características físico-químicas, estabilidade de compostos bioativos e aspectos sensoriais. O extrato de café verde foi obtido por meio do processo de lixiviação em contracorrente. Após, a microencapsulação dos extratos foi realizada por secagem em *spray dryer* ou liofilização, utilizando a polidextrose ou inulina como agente encapsulante na proporção 1:2 (v/v). Foram elaboradas uma formulação base (controle, CT – bebida láctea sem extrato de café verde) e 4 bebidas lácteas a partir da formulação base, porém adicionadas de extrato encapsulado com polidextrose por *spray dryer* (PD-SD) ou por liofilização (PD-LF) ou extrato encapsulado com inulina por *spray dryer* (IN-SD) ou por liofilização (IN-LF). Os extratos encapsulados foram caracterizados quanto a umidade, atividade de água, pH, higroscopicidade, solubilidade, fenólicos totais, atividade antioxidante, conteúdo de cafeína, ácido clorogênico, trigonelina, tamanho e estrutura das partículas. Avaliou-se o efeito da incorporação dos extratos encapsulados em bebidas lácteas não fermentadas sobre o conteúdo fenólico, capacidade antioxidante, estabilidade de cafeína, ácido clorogênico e trigonelina e acidez ao longo de 7 dias de armazenamento. Os aspectos sensoriais foram analisados quanto à aceitação e intenção de compra dos produtos. O extrato seco por LF com IN apresentou menor umidade (0,35 g/100g), atividade de água (0,03) e higroscopicidade (14,93%), em relação aos extratos secos utilizando as outras condições de estudo. As técnicas e os agentes encapsulantes não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) em relação a solubilidade, fenólicos totais, atividade antioxidante, teor de cafeína e ácido clorogênico. Para a trigonelina, o extrato encapsulado com IN apresentou teor ligeiramente menor (4,87 mg/g) que o extrato encapsulado com PD quando o SD foi utilizado ($p \leq 0,05$). As partículas secas por SD apresentaram forma esférica, enquanto os produtos liofilizados apresentaram estruturas irregulares. Em comparação ao CT, as bebidas lácteas incorporadas com os extratos encapsulados apresentaram maior conteúdo fenólico total (variação: 3,05 a 3,42 mg AGE/mL) e maior atividade antioxidante, tanto pelo ensaio ABTS (variação: 101,25 a 109,30 $\mu\text{mol Trolox/mL}$) quanto pelo ensaio DPPH (variação: 6,78 a 14,56

µmol Trolox/mL). Observou-se que a adição dos extratos encapsulados permitiu maior atividade antioxidante ao final de 7 dias de armazenamento, em relação ao CT. A microencapsulação permitiu a liberação controlada dos compostos bioativos nas bebidas, em que foi observado um aumento no teor de cafeína, ácido clorogênico e trigonelina durante o armazenamento. As bebidas formuladas com os extratos encapsulados apresentaram boa aceitação pelos consumidores, em que a bebida IN-LF apresentou melhor aceitação para os atributos impressão global e intenção de compra. Em suma, a microencapsulação do extrato de café verde mostrou ser uma opção promissora para manutenção de compostos bioativos, apresentando potencial aplicação na melhoria das propriedades das bebidas lácteas para a saúde, em que o extrato encapsulado por LF com IN apresentou características físicas mais desejáveis e permitiu a formulação de um produto com melhor aceitação sensorial.

Palavras-chave: café verde, *Coffea canephora*, encapsulação, compostos bioativos, bebidas lácteas.

ABSTRACT

DO CARMO, Laísa Bernabé. **Microencapsulated green coffee extract with different agents and drying methods and its application in dairy beverage: effects on physical-chemical characteristics, stability and sensorial aspects.** 2019. Dissertation (Master in Food Science and Technology) – Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre – ES. Advisor: Prof. Dsc. André Gustavo Vasconcelos Costa. Co-advisor: Prof. Dsc. Sérgio Henriques Saraiva and Prof. Dsc. Tarcísio Lima Filho.

Green coffee is rich in bioactive compounds with antioxidant activity, such as chlorogenic acid, caffeine and trigonellin. These compounds have a beneficial effect in reducing the risk of insulin resistance, cardiovascular diseases, and protective effects against cancer. The development of products with higher antioxidant content has attracted the interest of the food industry, by adding nutritional value to the products. Furthermore, the incorporation of dietary fibers into food products contributes to the improvement of nutritional aspects. The objective of the present study was to encapsulate the green coffee extract by spray-drying (SD) and freeze-drying (LF) techniques, using two encapsulating agents, incorporate into unfermented dairy beverages and evaluate the effects on characteristics physicochemical, stability of bioactive compounds and sensory aspects. The green coffee extract was obtained by counter-current leaching process. After the microencapsulation of the extracts was performed by spray-drying or freeze-drying, using polydextrose or inulin as encapsulating agent in the ratio 1:2 (v/v). It was elaborated a base formulation of unfermented dairy beverage (control, CT - without green coffee extract) and 4 dairy beverages from the base formulation, but added with extract encapsulated with polydextrose by spray-drying (PD-SD) or freeze-drying (PD-LF) or with extract encapsulated with inulin by spray-drying (IN-SD) or freeze-drying (IN-LF). The extracts encapsulated were characterized as moisture, water activity, pH, hygroscopicity, solubility, total phenolics, antioxidant activity, caffeine content, chlorogenic acid, trigonelline, particle size and structure. It was evaluated the effect of the incorporation of extracts encapsulated in dairy beverages on phenolic content, antioxidant capacity, caffeine, chlorogenic acid and trigonelline stability and acidity over 7 days of storage. The sensorial aspects were analyzed regarding the acceptance and intention to purchase the products. The dry extract by LF with IN showed lower humidity (0.35 g/100g), water activity (0.03) and hygroscopicity (14.93%), in relation to dry extracts using the other conditions. The techniques and encapsulating agents did not present significant differences ($p > 0.05$) in relation to solubility, total phenolics, antioxidant activity, caffeine content and chlorogenic acid. For trigonellin, the IN encapsulated extract presented slightly lower content (4.87 mg/g) than the PD encapsulated extract when the SD was used ($p \leq 0.05$). The SD particles were spherical in shape, whereas the freeze-drying products showed irregular structures. Compared to CT, the dairy beverages incorporated with the encapsulated extracts had higher total phenolic content (variation 3.05 to 3.42 mg AGE/mL) and higher antioxidant activity, both by ABTS (variation 101.25 to 109.30 $\mu\text{mol Trolox/mL}$) and by DPPH assay (variation 6.78 to 14.56 $\mu\text{mol Trolox/mL}$). It was observed that the addition of the encapsulated extracts allowed greater antioxidant activity at the end of 7 days of storage, in relation to CT. The microencapsulation allowed the controlled release of the bioactive compounds in the beverages, in which an increase was observed in the caffeine,

chlorogenic acid and trigonelin content during storage. The beverages formulated with the encapsulated extracts presented good acceptance by the consumers, in which the beverage IN-LF presented better acceptance for the attributes global impression and intention of purchase. In summary, the microencapsulation of the green coffee extract showed to be a promising option for the maintenance of bioactive compounds, presenting potential application in the improvement of the health properties of the dairy beverages, in which the extract encapsulated by LF with IN presented more desirable physical characteristics and allowed the formulation of a product with better sensory acceptance.

Keywords: green coffee, *Coffea canephora*, encapsulation, bioactive compounds, dairy beverages.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor mundial de café, cuja produção total foi de 61,7 milhões de sacas em 2018. A produção de café Arábica (*Coffea arabica*) foi de 47,5 milhões de sacas (77%) e a produção de café Conilon (*Coffea canephora*) foi de 14,2 milhões de sacas, representando 23% da produção total do país (CONAB, 2018). O Brasil é o segundo maior mercado consumidor, sendo superado somente pelos Estados Unidos (EMBRAPA, 2018).

O Espírito Santo é o maior produtor de café Conilon do país, sendo responsável por aproximadamente 63% da produção nacional, que obteve um aumento de 52% na produção em 2018 (CONAB, 2018). A cafeicultura é uma importante atividade econômica para o estado, sendo a principal fonte de renda na maioria das propriedades rurais capixabas, gerando vários empregos diretos e indiretos (INCAPER, 2018).

O café da espécie *Coffea canephora* possui algumas vantagens quando comparado com o *Coffea arabica*, como tolerância a temperaturas elevadas, à deficiência hídrica, a baixas altitudes e maior resistência a pragas e doenças (FARAH, 2012; CONAB, 2018). Além disso, se destaca por ser mais rico em compostos antioxidantes, cafeína e sólidos solúveis. Em termos comerciais, o Conilon vem ganhando participação no mercado de café, sendo utilizado na fabricação de café solúvel e na formulação de *blends* comerciais, proporcionando corpo à bebida, além de aumentar o rendimento (FARAH, 2012).

O café verde, também denominado café cru, caracterizado pelas sementes não torradas dos frutos de *Coffea*, é rico em compostos bioativos, como ácido clorogênico, cafeína e trigonelina (FARAH, 2012; ŚWIECA et al., 2017). Essa composição química depende de fatores intrínsecos, como espécie e grau de maturação, e de fatores extrínsecos, como clima e composição do solo (FARAH, 2012). O café verde da espécie *Coffea canephora*, quando comparado com *Coffea arabica*, apresenta maiores teores de ácido clorogênico e cafeína (FARAH, 2012; BABOVA; OCCHIPINTI; MAFFEI, 2016; GETACHEW; CHUN, 2016), os quais são os principais compostos bioativos que contribuem para a maior atividade antioxidante do café verde (BUDRYN et al., 2014; BABOVA; OCCHIPINTI; MAFFEI, 2016).

Estudos sugerem que o consumo de café verde exerce efeito benéfico sobre a resistência à insulina, reduzindo o risco de diabetes e de doenças cardiovasculares, além de apresentar efeitos anticarcinogênicos (SARRIÁ et al., 2016; GOUTHAMCHANDRA et al., 2017). Essas propriedades benéficas exercidas pelos constituintes do café verde contribuem para um maior interesse na incorporação em vários produtos alimentícios. Świeca et al. (2017), em um estudo com pão de trigo enriquecido com farinha de café verde, observaram aumento significativo do conteúdo fenólico e da capacidade antioxidante dos produtos incorporados. Resultados semelhantes foram encontrados por Sęczyk, Świeca e Gawlik-Dziki (2017), em estudo com leite de soja. Além disso, Dönmez, Mogol e Gökmen (2017) observaram que a adição de 2% de pó liofilizado de café verde pode aumentar a consistência e reduzir a taxa de sinérese em iogurtes.

O extrato de café verde possui ainda propriedades antioxidantes contra a oxidação lipídica em sistemas alimentares, melhorando a qualidade e estabilidade do produto, durante o processamento e o armazenamento (BUDRYN et al., 2014). Porém, sabe-se que os antioxidantes naturais são sensíveis ao calor e à luz, além de serem facilmente oxidados, o que pode limitar a sua aplicação na indústria de alimentos. Uma forma de minimizar esse problema, é a aplicação das técnicas de encapsulação, como a secagem por atomização (*spray-drying*) e a liofilização, utilizando um material encapsulante. Por meio dessas tecnologias, as substâncias de interesse são incorporadas em uma matriz de revestimento, formando micropartículas. Assim, os compostos bioativos ficam protegidos por essa matriz, retardando os processos de degradação, controlando sua liberação e melhorando a sua estabilidade (AGUIAR; ESTEVINHO; SANTOS, 2016). As técnicas de secagem por atomização e liofilização são técnicas de secagem bem estabelecidas e muito utilizadas para encapsulação de diversas substâncias farmacêuticas, microrganismos, polifenóis, vitaminas, minerais, corantes, entre outros (PASRIJA et al., 2015; RAY; RAYCHAUDHURI; CHAKRABORTY, 2016; PEREIRA et al., 2018). Os produtos encapsulados podem ser utilizados no desenvolvimento de uma variedade de alimentos e bebidas.

As bebidas lácteas são bebidas suaves, de baixa viscosidade e versáteis (GUEDES et al., 2013), que ganharam destaque no mercado mundial por envolver processamento simples e serem aceitas por consumidores de diferentes faixas etárias

(DA SILVEIRA et al, 2015). A produção de bebida láctea se tornou uma das principais alternativas de aproveitamento do soro de leite gerado durante a produção de queijo pelas indústrias, evitando o desperdício e a poluição ambiental, quando descartado indevidamente (THAMER; PENNA, 2006; GUEDES et al., 2013; DA SILVEIRA et al., 2015). Além disso, apresentam um valor nutricional interessante devido ao seu teor de proteínas, lactose, minerais e vitaminas (THAMER; PENNA, 2006; GUEDES et al., 2013). Dessa forma, associada às características nutricionais do soro lácteo, a procura dos consumidores por alimentos mais saudáveis, seguros e práticos, tem contribuído para o aumento da produção de bebidas lácteas nos últimos anos (GUEDES et al., 2013).

Neste contexto, a aplicação de extrato de café verde microencapsulado em produtos alimentícios, como as bebidas lácteas, mostra-se promissora, uma vez que é capaz de enriquecer o produto em relação a compostos antioxidantes, além de conferir proteção contra a degradação.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Encapsular o extrato de café verde pelas técnicas de secagem por atomização e liofilização, utilizando dois agentes encapsulantes. Incorporar em bebidas lácteas não fermentadas e avaliar os efeitos sobre a características físico-químicas, estabilidade de compostos bioativos e aspectos sensoriais.

2.2. Objetivos Específicos

- Avaliar a composição centesimal da matéria-prima;
- Elaborar extratos encapsulados pelos processos de microencapsulação por *spray dryer* e liofilização;
- Realizar a caracterização físico-química dos extratos encapsulados;
- Analisar os extratos encapsulados em relação aos teores de compostos fenólicos totais, atividade antioxidante, cafeína, ácido clorogênico e trigonelina;
- Incorporar os extratos encapsulados em bebidas lácteas não fermentadas;
- Estudar a estabilidade da cafeína, ácido clorogênico e trigonelina, compostos fenólicos, atividade antioxidante e acidez do produto durante o armazenamento;
- Realizar análises microbiológicas, para fins de análise sensorial;
- Avaliar a aceitação e intenção de compra das bebidas lácteas formuladas;

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Origem e importância econômica do café no Brasil

A planta do café, o cafeeiro, pertence à família das *Rubiaceae* e ao gênero *Coffea*, englobando diversas espécies, das quais apenas duas são cultivadas comercialmente, *Coffea arabica* e *Coffea canephora*. As demais espécies são de grande importância nos programas de melhoramento genético (FERRÃO et al., 2007). O cafeeiro é originário das regiões altas da Etiópia, pertencente ao continente africano, onde ainda faz parte da vegetação natural (ABIC, 2018).

No Brasil, o café foi introduzido na região norte no século XVIII, em Belém, onde mudas da espécie *Coffea arabica*, conhecida como café Arábica, foram trazidas da Guiana Francesa. O cultivo se expandiu rapidamente, em função das condições climáticas favoráveis, tornando-se uma grande riqueza brasileira. A cultura do café contribuiu fortemente para a economia e desenvolvimento do país, inserindo-o em relações comerciais internacionais, além de impulsionar a construção de ferrovias e de novas cidades (ABIC, 2018).

O café continua a ser um dos produtos mais importantes para o país. Atualmente, o Brasil lidera a produção mundial de café, responsável por aproximadamente 32% do mercado mundial, com uma produção total de 61,7 milhões de sacas em 2018, um aumento de 37,1% em relação a produção anterior (EMBRAPA, 2018; CONAB, 2018). O país também se destaca por ser o segundo maior consumidor mundial de café, ficando atrás somente dos Estados Unidos (EMBRAPA, 2018).

O Brasil é um dos maiores exportadores de café no mundo. Em 2018, as exportações de café movimentaram um montante de US\$ 4,5 bilhões de dólares para o país (CECAFE, 2018). Atualmente, o café é uma importante fonte de receita para o Brasil, além de gerar vários empregos na agropecuária nacional (MAPA, 2017).

3.2. *Coffea canephora*: variedades Conilon e Robusta

A produção de café no Brasil e no mundo concentrava-se apenas na espécie *Coffea arabica*. Entretanto, a expansão da espécie *Coffea canephora* iniciou-se ao final do século XIX, devido à necessidade de encontrar plantas resistentes à ferrugem que afetou os cafezais do sul e leste da Ásia. A espécie *C. canephora* se mostrou

resistente à doença e passou a ser alvo de estudos científicos visando a sua exploração econômica (FASSIO; SILVA, 2007; RODRIGUES, 2014).

As áreas de origem dessa espécie encontram-se próximas a região do Congo, na África tropical, em altitudes abaixo de 1000 metros. Dessa forma, o café da espécie *C. canephora* apresenta maior tolerância a baixas altitudes, a temperaturas elevadas, a deficiência hídrica e também é mais resistente a doenças e parasitas quando comparado ao *C. arabica* (FARAH, 2012).

A espécie *C. canephora* inclui diversas variedades como 'Kouilou', 'Robusta', 'Sankutu', 'Bakaba', 'Niaculi', 'Uganda', dentre outras. Entre estas variedades, a 'Kouilou', denominada aqui no Brasil como Conilon, é a mais importante pelo seu volume de produção e valor industrial (FASSIO; SILVA, 2007; FERRÃO et al., 2007).

Para essa espécie há dois grupos de materiais genéticos distintos, denominados Congolense e Guineano, que foram classificados com base em marcadores enzimáticos e nas diferenças geográficas. O primeiro grupo, Congolense, é oriundo da África Central e inclui o café conhecido como Robusta (Figura 1A), o qual é caracterizado por ter um hábito de crescimento mais ereto, caule de maior diâmetro, pouco ramificado, maturação tardia e maior tolerância às doenças. O segundo grupo, Guineano, é originário do oeste da África e inclui o café do tipo Conilon (Figura 1B), sendo caracterizado por apresentar crescimento mais arbustivo, caules ramificados, folhas mais alongadas, florescimento precoce e maior resistência a seca (FERRÃO et al., 2007).



Figura 1 - Plantas típicas da espécie *Coffea canephora*: variedade Robusta (A); variedade Conilon (B).

Fonte: Souza et al. (2015).

As espécies de café diferem na sua aparência, no sabor e no conteúdo de cafeína. Os grãos de *C. canephora* originam um café de gosto distinto, com sabor mais áspero, amargo e apresentam menor acidez. O teor de cafeína é aproximadamente 50 a 60% superior ao café arábica. Além disso, se destaca por ser mais rico em sólidos solúveis (FARAH, 2012; THURSTON, 2013; RODRIGUES, 2014).

Em função de sua menor acidez, maior teor de sólidos solúveis e por apresentar maior rendimento após o processo de torrefação, os cafés da espécie *C. canephora* são utilizados pela indústria como componente essencial na fabricação de café solúvel, fazendo parte de mais de 80% da composição destes. Ainda, são utilizados na formulação de misturas comerciais com café arábica, chegando a participar até 50% nos *blends*, contrabalanceando a acidez do arábica, além de proporcionar corpo à bebida e aumentar o rendimento (FASSIO; SILVA, 2007; FARAH, 2012).

O Vietnã é o maior produtor e exportador dessa espécie, responsável por cerca de 45% da produção global. O Brasil se encontra como o segundo maior produtor e o terceiro exportador, sendo responsável por até 20% da produção global (OIC, 2018).

Em relação a produção brasileira, o cultivo ocorre em nove estados brasileiros, sendo eles: Minas Gerais, Espírito Santo, Mato Grosso, Bahia, Ceará, Rondônia, Amazonas, Pará e Acre (CONAB, 2018). O Espírito Santo é o maior produtor de café Conilon do país, com uma produção de 8,99 milhões de sacas no ano de 2018, representando em torno de 63% da produção total brasileira. Dessa forma, o estado capixaba é um importante contribuidor para que o Brasil seja caracterizado como segundo maior produtor mundial de *C. canephora* (FASSIO; SILVA, 2007; CONAB, 2018).

O cultivo de café Conilon é uma importante atividade do setor agrícola capixaba, sendo a principal fonte de renda em 80% das propriedades rurais localizadas em terras quentes, compreendendo cerca 40 mil propriedades rurais em 63 municípios capixabas, gerando em torno de 250 mil empregos diretos e indiretos (INCAPER, 2018). O estado é referência brasileira e mundial no desenvolvimento da cafeicultura do Conilon, com uma produtividade média que já alcançou 35 sacas por hectare. A produtividade das lavouras evoluiu muito nos últimos anos, o que pode ser atribuído ao desenvolvimento e à adoção de novas tecnologias desenvolvidas em grande parte pelo Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão

Rural (Incapar), em parceria com diversas instituições, que tornaram o processo produtivo mais eficiente (FASSIO; SILVA, 2007; INCAPER, 2018).

3.3. O termo café verde e sua composição química

O termo "café verde", derivado do inglês *green coffee*, refere-se às sementes cruas ou não torradas dos grãos beneficiados de *Coffea* (SEMEN et al., 2017). No Brasil, o café é um dos produtos agrícolas de maior relevância no comércio internacional. O país exporta tanto *C. arabica* quanto *C. canephora* sob as formas de grãos crus, torrados, solúvel e na forma de extratos ou essências. Porém, cerca de 88% do café que é exportado é na forma de grãos crus (MAPA, 2018).

O café verde tem uma composição química complexa de polissacarídeos, lipídios, proteínas, aminoácidos livres, ácidos fenólicos, polifenóis, vitaminas e minerais, sendo que os principais componentes estão apresentados na Tabela 1 (WEI; TANOKURA, 2015; SEMEN et al., 2017). Além disso, são conhecidos como uma fonte rica de compostos bioativos que possuem atividades antioxidantes e sequestradoras de radicais livres, como os ácidos clorogênicos, os ácidos hidroxicinâmicos, a cafeína e a trigonelina (FARAH, 2012; BUDRYN et al., 2014; BABOVA; OCCHIPINTI; MAFFEI, 2016; SEMEN et al., 2017; ŚWIECA et al., 2017).

A composição química dos grãos varia principalmente em razão de aspectos genéticos e fisiológicos, como a espécie e o grau de maturação. Além desses fatores intrínsecos, fatores extrínsecos como clima, composição do solo, práticas agrícolas e condições de armazenamento pós-colheita também afetam a composição química das sementes, mas em menor grau. Dessa forma, a qualidade do café pode variar consideravelmente entre amostras de mesma espécie e variedade cultivadas em regiões diferentes (FARAH, 2012). Comparando as principais espécies de café, os grãos verdes da espécie *C. canephora*, por exemplo, apresentam maiores teores de ácido clorogênico e cafeína. Por outro lado, o café verde da espécie *C. arabica* é mais rico em sacarose, por isso apresentam um sabor e aroma mais agradáveis (FARAH, 2012; GETACHEW; CHUN, 2016; BABOVA; OCCHIPINTI; MAFFEI, 2016).

Tabela 1 - Principais componentes dos grãos de café verde (% m/m, peso seco).

Componente	C. arabica	C. canephora
Polissacarídeos	34 - 44	48 - 55
Sacarose	6 - 9	0,9 - 4
Outros açúcares redutores	0,1	0,4
Proteínas	10 - 11	11 - 15
Aminoácidos livres	0,5	0,8 - 1
Ácidos graxos	10 - 14	8 - 10
Outros lipídios	~2	~4
Minerais	3 - 4,2	4,4 - 4,5
Cafeína	0,9 - 1,3	1,5 - 2,5
Trigonelina	0,6 - 2	0,6 - 0,7
Ácido clorogênico	4,1 - 7,9	6,1 - 11,3
Outros ácidos orgânicos	~1,4	~1,4

Fonte: Adaptado de Farah (2012) e Wei e Tanokura (2015).

3.3.1. Constituintes majoritários

Os principais constituintes do café são os carboidratos, seguidos de lipídios, proteínas e açúcares livres. Os carboidratos podem representar mais de 50% do peso seco dos grãos de café verde. A fração de polissacarídeo nos grãos de *C. canephora* podem constituir de 48 a 55% do peso seco e é composta principalmente por três polímeros, a saber: arabinogalactana, manana e celulose. Em relação ao *C. arabica*, os polissacarídeos respondem entre 34 a 44% da matéria seca. A composição de polissacarídeo dos grãos verdes de *C. canephora* e *C. arabica* são semelhantes, diferindo apenas no teor de arabinogalactana, o qual é maior na primeira espécie (FARAH, 2012; WEI; TANOKURA, 2015; CAPORASO et al., 2018).

A sacarose é o carboidrato simples mais abundante nos grãos verdes, sendo importante para o sabor e a qualidade do café. Outros carboidratos simples como frutose, glicose, manose, arabinose e rafinose também são encontrados no café verde, porém em quantidades menores (FARAH, 2012). Os grãos de *C. arabica* apresentam maiores teores de sacarose que o *C. canephora*, pois apresentam maior atividade de sacarose sintase e ácido invertase no estágio inicial do desenvolvimento do grão (WEI; TANOKURA, 2015). A sacarose, quando hidrolisada, é uma fonte de açúcares redutores livres (glicose e frutose), participando das reações de Maillard,

Strecker e da caramelização do açúcar durante a torrefação do café. A partir dessas reações são geradas várias classes de compostos como furanos, aldeídos e ácidos carboxílicos, que são importantes para o desenvolvimento da cor, sabor e aroma da bebida (FARAH, 2012; WEI; TANOKURA, 2015). Assim, o maior teor de sacarose do café arábica é uma das razões para estes apresentarem um aroma e sabor de qualidade superior ao robusta e conilon (GEROMEL et al., 2006; FARAH, 2012).

A fração lipídica dos grãos de café verde é composta principalmente por triacilgliceróis (em torno de 75%), ácidos graxos livres (1%), esteróis (2,2%), esteróis esterificados com ácidos graxos (3,2%) e tocoferóis (em torno de 0,04 a 0,06%), que são componentes típicos encontrados em óleos vegetais (FARAH, 2012; WEI; TANOKURA, 2015). O conteúdo total de lipídios varia consideravelmente entre as espécies, sendo que em grãos de *C. arabica* varia em média de 10 a 16% e o *C. canephora* apresenta percentuais menores, variando de 8 a 14 % (CAPORASO et al., 2018). A maioria dos lipídios está localizada no endosperma dos grãos de café verde, e apenas uma pequena quantidade, nomeada como cera de café, está localizada na camada externa dos grãos (WEI; TANOKURA, 2015).

As proteínas, os peptídeos e os aminoácidos livres representam em média de 10 a 16% da composição química do café verde, sendo que o *C. canephora* apresenta um teor ligeiramente maior que o *C. arabica*. O café não é considerado uma boa fonte nutricional de proteína, devido sua composição aminoacídica desbalanceada (FARAH, 2012). Foram detectados em torno de 29 tipos de aminoácidos livres em extratos de café verde, os quais pode-se citar, a *asparagina*, *alanina*, *aspartato*, *prolina*, *serina*, *fenilalanina*, *ácido glutâmico*, *lisina*, *tirosina*, *leucina*, *triptofano*, *isoleucina*, *arginina*, *histidina*, dentre outros (WEI; TANOKURA, 2015).

As proteínas são potenciais precursores de sabor do café, uma vez que participam das reações de Maillard. O desenvolvimento da cor e do aroma do café é uma consequência das reações de Maillard, que são iniciadas pela interação do grupo carbonila de um açúcar redutor e o grupo amino livre de um aminoácido, um peptídeo ou até mesmo uma proteína. Dessa forma, as proteínas, peptídeos e os aminoácidos servem como precursores para a formação de compostos voláteis, como furanos, pirazinas, pirróis, aldeídos e compostos escuros, como melanoidinas. As melanoidinas são responsáveis pela cor do café e, em certa medida, pela sua atividade antioxidante (FARAH, 2012; WEI; TANOKURA, 2015).

3.3.2. Cafeína

A cafeína é uma xantina trimetilada, conhecida também como 1,3,7-trimetilxantina (Figura 2). É um alcalóide do grupo das xantinas amplamente conhecido devido à sua ocorrência em algumas bebidas e alimentos mundialmente consumidos (TELLO; VIGUERA; CALVO, 2011; HAMON et al., 2015).

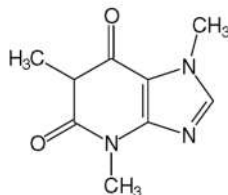


Figura 2 - Estrutura química da cafeína.

Fonte: Farah (2012).

A cafeína é sintetizada nas folhas jovens e nos frutos imaturos, acumulando-se durante a maturação, podendo ser encontrada no pericarpo dos frutos e nas sementes. A principal rota de sua biossíntese é a partir da xantosina, que através de três reações de metilação e uma hidrólise através de um intermediário final, nomeado de teobromina, resulta na formação de cafeína (KOSHIRO et al., 2006; HAMON et al., 2015; PATAY; BENCSIK; PAPP, 2016).

As fontes naturais de cafeína incluem grãos de café, grãos de cacau, folhas de chás, sementes de guaraná e sementes de *cola*. O café é considerado a principal fonte de cafeína no consumo diário, por apresentar um teor de cafeína geralmente mais alto que as outras fontes naturais. Outros alimentos como bebidas energéticas, chocolate, doces, assim como alguns medicamentos, também podem contribuir para o consumo diário de cafeína (TELLO; VIGUERA; CALVO, 2011).

A cafeína é de grande importância nas propriedades fisiológicas do café, e por apresentar características amargas, contribui para o amargor final da bebida. O conteúdo de cafeína varia de acordo com a espécie, sendo que grãos verdes da espécie *C. canephora* podem apresentar o dobro de cafeína presente nos grãos verdes de *C. arabica*. Por outro lado, fatores ambientais e agrícolas apresentam efeito mínimo sobre a concentração de cafeína. Ainda, por ser um alcalóide estável ao calor, durante o processo de torrefação não ocorre perda significativa. Assim, uma xícara da bebida apresenta elevado teor de cafeína, em torno de 70 a 140 mg, dependendo da

preparação, da mistura e do tamanho da xícara (FARAH, 2012; WEI; TANOKURA, 2015).

O consumo de cafeína é conhecido por apresentar um efeito estimulante no sistema nervoso central, mesmo em baixas doses, aumentando a capacidade de concentração e neutralizando o cansaço. No entanto, altas doses podem apresentar efeitos negativos em indivíduos mais sensíveis, como insônia, ansiedade, irritabilidade e alterações de humor (TELLO; VIGUERA; CALVO, 2011; FARAH, 2012).

3.3.3. Ácido Clorogênico

Os ácidos clorogênicos compreendem uma classe importante de compostos fenólicos, que são formados principalmente a partir de esterificação de ácidos *trans*-cinâmico, como por exemplo os ácidos cafeico, ferúlico e *p*-cumárico, com o ácido quínico (Figura 3). Esses compostos podem ser subdivididos de acordo com a natureza do ácido cinâmico, pelo número e pela posição de esterificação no anel de ciclo-hexano do ácido quínico. Os ésteres são preferencialmente formados com as hidroxilas localizadas no carbono 5, 4 e 3 do ácido quínico, e menos comumente, são formados com a hidroxila do carbono 1 (MARIA; MOREIRA, 2004; FARAH, 2012).

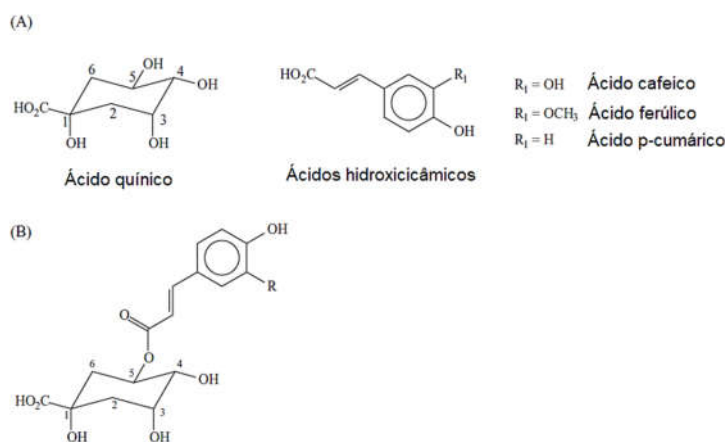


Figura 3 - Compostos básicos da estrutura do Ácido Clorogênico (A); Monoésteres do ácido quínico com ácidos hidroxicinâmicos (exemplo de isômeros 5-) (B).

Fonte: Farah (2012).

Os principais subgrupos de ácidos clorogênicos que são mais facilmente encontrados são os ácidos cafeoilquínicos, os ácidos dicafeoilquínicos, os ácidos feruloilquínicos e, menos abundantemente, os ácidos *p*-cumaroilquínicos. Cada um

desses subgrupos é constituído por pelo menos três isômeros posicionais principais, além de compostos menores (FARAH, 2012; AGUIAR; ESTEVINHO; SANTOS, 2016).

Dentre os grupos de ácidos clorogênicos, os mais abundantes na natureza são os ácidos cafeoilquínicos, que representam em torno de 80% do teor total de ácidos clorogênicos que são encontrados. Destes, o ácido 5-O-cafeoilquínico (5-ACQ) foi o primeiro composto a ser identificado, representa quase 60% e, portanto, é o isômero mais estudado e utilizado como modelo para estudar derivados dos ácidos hidroxicinâmicos. Além disso, é um dos únicos que se encontram disponíveis comercialmente, juntamente com o isômero 3-O-cafeoilquínico (SANTOS, 2009a; FARAH, 2012; AGUIAR; ESTEVINHO; SANTOS, 2016).

Os ácidos clorogênicos são compostos fenólicos bioativos encontrados em vários alimentos de origem vegetal, tais como café, chá verde, soja, trigo, em frutas como maçã, pera, ameixa, graviola, tomate e em alguns legumes como batata-doce, alface e espinafre (WANG; WANG; YANG, 2007; GARAMBONE; ROSA, 2007; SANTOS, 2009a; SHAO et al., 2014; AGUIAR; ESTEVINHO; SANTOS, 2016).

No café, parte de seus polifenóis são representados por ácidos clorogênicos, podendo fornecer em torno de 0,5 a 1 g por dia de ácidos hidroxicinâmicos aos consumidores de café, dependendo da espécie e do tipo de processamento utilizado (GARAMBONE; ROSA, 2007).

Segundo Farah (2012), os ácidos clorogênicos são responsáveis por conferir adstringência, amargor e acidez ao café. O teor de ácido clorogênico na espécie *Coffea canephora* é geralmente de 1,5 a 2 vezes maior do que na *Coffea arabica*, mas essa concentração pode variar consideravelmente em ambas as espécies. Em geral, os valores descritos na literatura, com base em peso seco, variam de 4 a 8% para *C. arabica* e de 6 a 12% para *C. canephora* (FARAH; DUARTE, 2015).

O café verde é conhecido como uma das principais fontes alimentares mais ricas em ácidos clorogênicos, com conteúdo igual ou excedido apenas pelas folhas verdes de erva-mate. Por não apresentar toxicidade para os seres humanos, e devido as suas propriedades antioxidantes e outros efeitos biológicos, o seu extrato seco vem sendo utilizado na formulação de outros produtos, incluindo o enriquecimento de café instantâneo (FARAH; DUARTE, 2015).

Os grãos de café verde compreendem nove isômeros principais, sendo eles três de ácidos cafeoilquínicos (3-, 4- e 5-ACQs), três de ácidos dicafeoilquínicos (3,4;

3,5 e 4,5-diACQs) e três de ácidos feruloilquínicos (3-,4- e 5-AFQs). O 5-ACQ é o mais abundante nos grãos de café verde, compreendendo mais de 50% do peso seco de ácidos clorogênicos totais. Os três isômeros dos ácidos dicafeoilquínicos (diACQs) representam, em conjunto, em torno de 10 a 20% do peso seco, e os isômeros dos ácidos feruloilquínicos representam de 5 a 13% (NARITA; INOUYE, 2015). O conteúdo de ácidos clorogênicos presentes em grãos de café verdes de diferentes variedades produzidas no Brasil estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 - Conteúdo de ácidos clorogênicos em grãos de café verde de *C. arabica* e *C. canephora*.

Genótipo	Conteúdo (% m/m, peso seco)			
	ACQ	AFQ	diACQ	Total ACG
<i>Coffea arabica</i> "Catuai vermelho"	5,49	0,28	0,68	6,45
<i>Coffea arabica</i> "Bourbon"	4,22	0,30	0,57	5,09
<i>Coffea arabica</i> "Mundo novo"	4,83	0,26	0,66	5,75
<i>Coffea canephora</i> "Robusta"	6,17	0,81	1,31	8,29
<i>Coffea canephora</i> "Conillon"	7,42	0,95	1,09	9,46

ACQ: total de ácidos cafeoilquínicos; AFQ: total de ácidos feruloilquínicos; diACQ: total de ácidos dicafeoilquínicos; ACG: total de ácidos cafeoilquínicos, feruloilquínicos e dicafeoilquínicos.

Fonte: Adaptada de Narita e Inouye (2015).

Algumas formas de processamento podem interferir no conteúdo total de ácidos clorogênicos, pois esses compostos podem ser isomerizados e decompostos por meio de tratamento térmico e/ou em condições alcalinas (NARITA; INOUYE, 2015). Durante a etapa de torrefação do café, por exemplo, pode ocorrer perda de ácidos clorogênicos devido à sua instabilidade térmica (FARAH, 2012). Estes compostos são parcialmente isomerizados, hidrolizados ou degradados a compostos de baixo peso molecular, incluindo as lactonas e outros derivados fenólicos, e pode haver a incorporação de melanoidinas, que contribuem para a cor, aroma, sabor, acidez e adstringência da bebida. Por exemplo, o 5-ACQ, representante majoritário dos ácidos clorogênicos no café, durante a torra é hidrolisado, produzindo ácido quínico e caféico (LÓPEZ-GALILEA; DE PEÑA; CID, 2007; FARAH, 2012).

No estudo de Abrahão et al. (2010), os autores observaram redução nos valores de 5-ACQ à medida que os grãos de café foram torrados, confirmando a

influência do processo de torra na composição qualitativa e quantitativa desses compostos. O café verde apresentou maior teor de ácido clorogênico, ficando em torno de 5,43 g/100g, enquanto que o café torrado apresentou conteúdo de aproximadamente 1 g/100g. Dessa forma, os grãos de café verde parecem ser uma melhor fonte desses compostos bioativos, quando comparados aos grãos torrados (SEMEN et al., 2017).

3.3.4. Trigonelina

A trigonelina, ou ácido N-metilnicotínico, é um alcalóide biologicamente derivado da metilação enzimática do ácido nicotínico. Semelhante à cafeína, seu acúmulo ocorre durante o desenvolvimento dos frutos de café (FARAH, 2012; MIZUNO et al., 2014; ASHIHARA, 2015).

A biossíntese de trigonelina não está totalmente elucidada. Porém, acredita-se que é sintetizada a partir do ácido nicotínico, em que a reação é catalisada pela N-metiltransferase de nicotinato, nomeada também como trigonelina sintase, dependente de S-adenosil-L-metionina (SAM), apresentada na Figura 4 (MIZUNO et al., 2014).

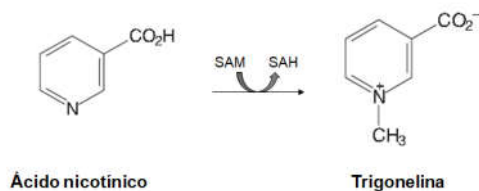


Figura 4 - Biossíntese de trigonelina via ácido nicotínico.

Fonte: Adaptado de Mizuno et al. (2014).

Ao contrário da cafeína, a trigonelina é amplamente distribuída no reino vegetal. Estudos realizados mostraram a presença de trigonelina em algumas leguminosas e em algumas espécies de plantas, incluindo o café (ASHIHARA, 2015). O conteúdo de trigonelina em café corresponde entre 1 a 3% do peso seco dos grãos (FARAH, 2012; CAPORASO et al., 2018).

Sua importância no café está principalmente relacionada à sua degradação durante o processo de torrefação, sendo um precursor para a formação de diferentes classes de compostos voláteis, como pirróis e piridinas, que irão contribuir para

formação do aroma e sabor da bebida. A desmetilação da trigonelina durante a torrefação também produz ácido nicotínico, conhecido como niacina, uma vitamina do complexo B. Dessa forma, o conteúdo de trigonelina nos grãos de café torrados é menor que o conteúdo nos grãos crus (CAMPA et al., 2004; FARAH, 2012; CAPORASO et al., 2018).

Em relação às suas atividades biológicas, em estudos *in vitro*, o tratamento com trigonelina mostrou inibir a invasão de células de câncer em fígado. Este composto também foi capaz de regenerar dendritos e axônios em modelos animais, sugerindo que pode atuar na melhora da memória (DAGLIA et al., 2002; FARAH, 2012; ASHIHARA, 2015).

3.4. Benefícios do café verde na saúde

Os grãos de café verde são uma complexa matriz alimentar, que contém uma variedade de compostos bioativos e antioxidantes, como a cafeína, ácidos clorogênicos e a trigonelina, que podem proporcionar vários efeitos benéficos para a saúde humana. A maioria dos estudos associaram a significativa atividade antioxidante à presença de compostos fenólicos, principalmente os ácidos clorogênicos. No entanto, deve-se ressaltar que no caso de produtos naturais, os benefícios à saúde estão relacionados aos efeitos sinérgicos de todos os compostos presentes na matriz alimentar (FRANCA; OLIVEIRA, 2016).

Recentemente, o café verde vem recebendo considerável atenção devido a vários estudos demonstrarem que contribui na redução da gordura visceral e peso corporal, além de possuir efeitos anti-hipertensivos, anticancerígenos e antidiabéticos (SĘCZYK; ŚWIECA; GAWLIK-DZIKI, 2017; SEMEN et al., 2017). Essas propriedades benéficas exercidas pelos constituintes do café verde geraram um interesse no seu uso como suplemento dietético e na sua incorporação em produtos alimentícios (DZIKI et al., 2015; SĘCZYK; ŚWIECA; GAWLIK-DZIKI, 2017; SEMEN et al., 2017; ŚWIECA et al., 2017; ZAIN; BABA; SHORI, 2018).

Gawlik-dziki et al. (2014), além de avaliarem a capacidade antioxidante de café verde de diferentes origens (Etiópia, Quênia, Brasil e Colômbia), estudaram também o potencial desses cafés na inibição da enzima lipoxigenase. Na digestão *in vitro* e na simulação da digestão intestinal, os fenólicos liberados foram potencialmente bioacessíveis. Todos os extratos brutos demonstraram atividade inibidora contra lipoxigenase, sendo que não foram afetados pela digestão simulada. Dessa forma, os

autores concluíram que os grãos de café verde são uma excelente fonte de compostos bioacessíveis capazes de proteger os lipídios contra a oxidação.

Shimoda, Seki e Aitani (2006) realizaram um estudo para investigar os efeitos do extrato de grãos de café verde no acúmulo de gordura e no peso corporal em camundongos. Os autores verificaram que a administração oral com o extrato de café verde proporcionou uma redução no conteúdo de gordura visceral e no peso corporal, além de mostrar uma tendência a reduzir os triglicerídeos hepáticos e aumento significativo da atividade da carnitina palmitoiltransferase (CPT). Os resultados sugerem que o extrato de café verde é eficaz na perda de peso e na diminuição do acúmulo de gordura, pela inibição da absorção de gordura e ativação do metabolismo lipídico no fígado. Resultados semelhantes foram encontrados por Choi et al. (2016), que observaram que o extrato de café verde tem potencial efeito anti-obesidade, provocando redução do acúmulo de gordura corporal.

Estudos também demonstraram os efeitos benéficos de extratos de café verde sobre a pressão arterial de ratos espontaneamente hipertensos, observando que ocorre uma redução da pressão arterial dependente da dose de extrato que é administrada na dieta (SUZUKI et al., 2002; ZHAO et al., 2012).

Um importante constituinte dos grãos de café verde, o ácido clorogênico, é conhecido como agente hipoglicêmico e que pode afetar o metabolismo lipídico. Sotillo e Hadley (2002) estudaram os efeitos de ácidos clorogênicos em ratos Zucker obesos, hiperlipidêmicos e resistentes à insulina. Ao final do experimento, observaram que o tratamento com ácido clorogênico diminuiu significativamente os níveis plasmáticos de colesterol e triglicerídeos, e que favoreceu para a melhora da tolerância a glicose.

Outro estudo avaliou o efeito citotóxico do complexo de ácido clorogênico de grãos de café verde em linhagens celulares de câncer de ratos e humanos. Os resultados demonstraram que o complexo de ácido clorogênico tem potencial na inibição do câncer de cólon, podendo atuar como um agente quimiopreventivo (GOUTHAMCHANDRA et al., 2017). Em outro estudo, Baeza et al. (2014) investigaram o efeito do tratamento com extrato café verde e de seus principais ácidos hidroxicinâmicos em células neoplásticas de fígado. O tratamento diminuiu significativamente a produção de espécies reativas de oxigênio pelas células e preveniu o dano celular e macromolecular quando um estresse oxidativo foi induzido.

Estes autores concluíram que o extrato de café verde e seus principais polifenóis, oferecem uma proteção significativa em células do fígado contra o estresse oxidativo.

3.5. Incorporação de café verde em produtos alimentícios

A incorporação de antioxidantes naturais, incluindo extratos de café verde, vem sendo estudada com intuito de aumentar a estabilidade oxidativa dos produtos, além de fornecer produtos alimentícios com melhor qualidade nutricional (BUDRYN et al., 2013; BUDRYN et al., 2014; DZIKI et al., 2015; DÖNMEZ; MOGOL; GÖKMEN, 2017; SĘCZYK; ŚWIECA; GAWLIK-DZIKI, 2017; ŚWIECA et al., 2017; ZAIN; BABA; SHORI, 2018). A Tabela 3 apresenta alguns estudos que investigaram os efeitos da incorporação de café verde em diferentes produtos alimentícios.

Em sistemas alimentares, a prevenção da oxidação durante o processamento e armazenamento é essencial para a manutenção da qualidade e segurança do produto. As reações de peroxidação lipídica constituem uma das principais causas de deterioração em alimentos, acarretando em alterações sensoriais e perda da qualidade (SALDANHA, 2005).

Budryn et al. (2014) estudaram o efeito da adição de extrato de café verde em óleo de girassol e em sistemas modelos de produtos de panificação. Observou-se que a adição do extrato de café verde em uma concentração de 3 g/100g permitiu a manutenção de alto teor de ácidos graxos poli-insaturados após o aquecimento do óleo e dos sistemas modelos analisados, limitando as perdas de ácidos graxos poli-insaturados em aproximadamente 65%. Outro ponto importante observado foi o aumento das propriedades antioxidantes dos sistemas modelos enriquecidos, resultante do alto conteúdo de compostos antioxidantes derivados de grãos de café, em que essas propriedades foram mantidas após o aquecimento. Ainda, Budryn et al. (2013), em outro estudo, observaram maior atividade antioxidante em Donuts incorporados com extrato de café verde. Este último estudo verificou também menor teor de acrilamida nos produtos após a fritura, quando 0,5 e 1 g/100g de extrato de café verde foram adicionadas. Outros estudos também verificaram aumento significativo da capacidade antioxidante de pães, após a incorporação de farinha de café verde (DZIKI et al., 2015; ŚWIECA et al., 2017; ZAIN, BABA; SHORI, 2018). Resultados semelhantes foram encontrados por Sęczyk, Świeca e Gawlik-Dziki (2017) em seu estudo com leite de soja.

Tabela 3 - Estudos com a incorporação de café verde em produtos alimentícios.

Produto alimentício	Forma de incorporação	Concentrações utilizadas	Principais resultados	Referências
Donuts	Extrato liofilizado	0,25, 0,5 e 1 g/100g	Aumento do teor de polifenóis, maior atividade antioxidante e limitação na formação de hidroperóxidos lipídicos e acrilamida após fritura.	Budryn et al. (2013)
Óleo de girassol	Extrato liofilizado	1,5 e 3 g/100g	Limitação da perda de ácidos graxos poli-insaturados após aquecimento e armazenamento, bem como aumento das propriedades antioxidantes.	Budryn et al. (2014)
logurtes	Extrato liofilizado	1 e 2 g/100g	Diminuição da taxa de sinérese e aumento da consistência durante armazenamento.	Dönmez, Mogol e Gökmen (2017)
Pão de trigo	Moído/Farinha	1, 2, 3, 4 e 5 g/100g	Aumento do conteúdo de fenólicos totais, alta bioacessibilidade e biodisponibilidade <i>in vitro</i> e maior atividade antioxidante. Produto com aceitação satisfatória.	Dziki et al. (2015)
Pão de trigo	Moído/Farinha	1, 2, 3, 4 e 5 g/100g	Aumento do teor de fenólicos totais, aumento da capacidade antioxidante e alta bioacessibilidade <i>in vitro</i> .	Świeca et al. (2017)
Pão de trigo	Moído/Farinha	3, 5 e 7 g/100g	Aumento do teor de fenólicos totais, da atividade antioxidante e boas propriedades sensoriais de mastigabilidade e textura.	Zain, Baba e Shori (2018)

Em um estudo *in vitro*, Dziki et al. (2015) observaram que a digestão simulada de café verde moído liberou fitoquímicos que atuam como agentes quelantes, redutores e eliminadores de radicais livres. Os autores concluíram que os compostos fenólicos do pão enriquecido com café verde podem ser altamente extraíveis com mastigação, podendo apresentar alta bioacessibilidade e biodisponibilidade. Resultados semelhantes foram encontrados nos estudos de Świeca et al. (2017) e Sęczyk, Świeca e Gawlik-dziki (2017), em que os autores também observaram que os fenólicos dos produtos enriquecidos foram altamente bioacessíveis *in vitro*.

Por outro lado, Dönmez, Mogol e Gökmen (2017), que estudaram o efeito da incorporação de extrato de café verde liofilizado em iogurte, observaram que o extrato café verde diminuiu significativamente a taxa de sinérese durante o armazenamento e melhorou a consistência do produto. A diminuição na taxa de sinérese foi proporcional ao aumento na concentração de extrato de café verde. Os autores mencionam ainda que os polifenóis presentes no café verde podem interagir com micelas de caseína no iogurte, e essa interação proteína-polifenol promoveu a força da rede de caseína e estabilizou a estrutura do produto.

3.6. Encapsulação de compostos bioativos como estratégia para melhoria da qualidade do produto alimentício

A adição de compostos bioativos nas formulações de alimentos com intuito de melhorar as suas propriedades promotoras de saúde tem crescido ao longo dos anos (ŚWIECA et al., 2017). Porém, essa prática enfrenta alguns desafios, principalmente no que diz respeito à estabilidade desses compostos durante o processamento e o armazenamento dos produtos alimentícios (CHAMPAGNE; FUSTIER, 2007). Muitos desses compostos, principalmente os antioxidantes naturais, são facilmente oxidados e sensíveis à luz, ao calor e pH, o que limita a sua aplicação. A encapsulação de compostos bioativos é uma técnica que pode auxiliar a superar esses desafios (AGUIAR; ESTEVINHO; SANTOS, 2016; BALLESTEROS et al., 2017).

A microencapsulação é uma tecnologia, na qual pequenas partículas de materiais sólidos, líquidos ou gasosos são envolvidas por um material de revestimento ou incorporados em uma matriz homogênea ou heterogênea. Neste complexo são formadas micropartículas, com diâmetros que podem variar entre alguns micrômetros a alguns milímetros (CHAMPAGNE; FUSTIER, 2007; GHARSALLAOUI et al., 2007).

A parte interna do complexo é denominada núcleo ou material ativo, enquanto que o material de revestimento pode ser chamado de material de parede, membrana ou agente encapsulante. Dessa forma, uma ou mais substâncias são revestidas por um material que fornece uma barreira física contra o ambiente envolvente (BARREIROS, 2009; RAY; RAYCHAUDHURI; CHAKRABORTY, 2016).

O encapsulamento é capaz de preservar a estabilidade de compostos bioativos durante processamento e armazenamento, uma vez que pode prevenir interações indesejáveis destes com a matriz alimentícia; retardar processos de degradação, como por exemplo reações de oxidação ou hidrólise; melhorar a retenção no alimento e permitir uma liberação controlada e prolongada. Além dessas vantagens, essa técnica pode mascarar sabores e odores desagradáveis que alguns componentes bioativos apresentam, incluindo o sabor amargo e a adstringência dos polifenóis (AGUIAR; ESTEVINHO; SANTOS, 2016; RAY; RAYCHAUDHURI; CHAKRABORTY, 2016; BALLESTEROS et al., 2017).

As propriedades físicas e químicas das micropartículas são determinadas pelo material de revestimento e pela técnica utilizada. Vários materiais podem ser utilizados como agente encapsulante, podendo ser naturais ou sintéticos e podem incluir materiais poliméricos, hidrofílicos, hidrofóbicos ou uma associação destes. Os materiais de parede mais comuns usados na indústria alimentícia incluem carboidratos, celulose, gomas, lipídios e proteínas (BARREIROS, 2009; AGUIAR, ESTEVINHO; SANTOS, 2016; BALLESTEROS et al., 2017).

Segundo Aguiar, Estevinho e Santos (2016) é importante que o material selecionado seja compatível com o destino final das micropartículas, tenha baixa viscosidade em altas temperaturas, seja capaz de formar um filme coesivo com o material do núcleo, forneça propriedades específicas de revestimento como estabilidade, resistência e flexibilidade, seja inerte em relação aos compostos ativos e permita a liberação controlada sob determinadas condições. Ainda, outros fatores devem ser levados em consideração, como a disponibilidade, facilidade de manuseio e o custo.

Diferentes técnicas de encapsulação são utilizadas pela indústria de alimentos: coacervação, emulsificação, extrusão, revestimento em leite fluidizado, complexação por inclusão e não menos importante a atomização (*spray-drying*) e a liofilização (*freeze-drying*) (GHARSALLAOUI et al., 2007; AGUIAR; ESTEVINHO; SANTOS,

2016; BALLESTEROS et al., 2017). Conforme a técnica utilizada, as matrizes podem apresentar várias formas (esferas, filmes ou partículas irregulares), diferentes estruturas (porosas ou compactas) e serem amorfas ou cristalinas. Estes aspectos irão influenciar na difusão do material interno, bem como na sua estabilidade durante o tempo de armazenamento (BARREIROS, 2009).

3.6.1. Secagem por atomização (*Spray-Drying*)

A secagem por atomização é uma operação na qual um produto líquido é atomizado dentro de uma câmara de secagem com uma corrente de ar quente, levando a formação de microesferas ou microcápsulas com menor tempo de processamento, obtendo instantaneamente um pó (GHARSALLAOUI et al., 2007; PASRIJA et al., 2015; RAY; RAYCHAUDHURI; CHAKRABORTY, 2016).

O uso da secagem por atomização é um método rápido e alternativo, em relação aos métodos clássicos, para secar compostos que são altamente susceptíveis à degradação. Devido ao tempo de secagem, a passagem da partícula atomizada através da zona de secagem é na ordem de 5 a 100 segundos. Dessa forma, esse método proporciona curta exposição do produto a altas temperaturas (GHARSALLAOUI et al., 2007).

Dependendo da alocação do atomizador em relação ao difusor de ar quente, temos a secagem concorrente ou a contracorrente. No processo concorrente, o líquido é atomizado na mesma direção que o fluxo de ar quente, em que a temperatura de entrada do ar é tipicamente de 150 a 220 °C, e o produto seco é exposto a temperaturas moderadas, normalmente 50 a 80 °C, o que pode limitar as degradações térmicas. Por outro lado, durante a secagem em contracorrente, o líquido é atomizado na direção oposta ao fluxo de ar quente e o produto seco é exposto a temperaturas mais elevadas (GHARSALLAOUI et al., 2007).

As principais variáveis deste processo que devem ser controladas/otimizadas são a temperatura de alimentação, temperatura de entrada e saída de ar e o fluxo do ar no sistema. A temperatura de alimentação modifica a viscosidade da emulsão e sua fluidez, afetando sua capacidade de ser atomizada de forma homogênea. Quando a temperatura do ar de entrada é baixa, temos uma taxa de evaporação baixa que causa formação de microcápsulas com membranas de alta densidade, com alto teor de água e com facilidade de aglomeração. No entanto, uma alta temperatura de ar de

entrada provoca uma evaporação excessiva e resulta em trincas na membrana, induzindo uma libertação prematura e rápida degradação do material ativo (GHARSALLAOUI et al., 2007; RAY, RAYCHAUDHURI; CHAKRABORTY, 2016; PEREIRA et al., 2018).

A secagem por atomização é a técnica mais utilizada na indústria alimentícia para produzir materiais microencapsulados. Essa técnica apresenta vantagens como: simplicidade do processo; eficiência; custo relativamente baixo, quando comparado aos outros métodos; alta estabilidade do produto seco final, que devido ao baixo teor de umidade garante a estabilidade microbiológica e evita degradações químicas; redução de volume, que facilita o manuseio, transporte e armazenamento do produto final; além do produto apresentar boa solubilidade (GHARSALLAOUI et al., 2007; KESHANI et al., 2015; PASRIJA et al., 2015). No entanto, a principal restrição está relacionada ao limitado número de materiais encapsulantes, os quais devem apresentar boa solubilidade em água, devido a maioria dos processos de secagem por atomização serem realizados a partir de formulações aquosas de alimentos (PEREIRA et al., 2018).

A técnica de secagem por atomização é amplamente utilizada na encapsulação de diversas substâncias, tais como antibióticos, acidulantes, aromatizantes, corantes, óleos, vitaminas, proteínas, minerais, polifenóis, extratos de frutas e vegetais, entre outros produtos (KESHANI et al., 2015; PASRIJA et al., 2015; PEREIRA et al., 2018).

Rezende, Nogueira e Narain (2018) encapsularam extratos de polpa de acerola e seus resíduos por secagem por atomização (*spray-drying*) e liofilização. Foi observado que o tratamento com *spray-drying* apresentou o melhor perfil, apresentando extratos encapsulados com concentrações mais elevadas de compostos bioativos, como antocianinas, flavonoides e compostos fenólicos totais, maior atividade antioxidante e melhores características físico-químicas, como menor umidade, atividade de água, higroscopicidade e maior solubilidade.

Santos et al. (2017) estudaram a extração de compostos antioxidantes do bagaço de amora-preta e avaliaram o efeito da microencapsulação por *spray-drying*, utilizando maltodextrina, na estabilidade das amostras em diferentes pHs. Os extratos microencapsulados apresentaram menor variação de cor ao longo do armazenamento, quando comparado aos extratos não encapsulados, e menor degradação de antocianinas. Foi observado que os extratos encapsulados

apresentaram maior estabilidade, apresentando maiores tempos de meia-vida e menores constantes de degradação de antocianinas em valores de pH até 5,0, sendo possível utilizá-los como corante e como compostos antioxidantes em diversos tipos de alimentos, como iogurtes, bebidas lácteas, sucos, geléias, dentre outros.

Por outro lado, Abrahão et al. (2019) avaliaram o encapsulamento de compostos bioativos extraídos de borras de café expresso utilizando a técnica de *spray-drying*. O encapsulamento foi realizado utilizando proteína isolada de soro de leite e sua combinação com maltodextrina, goma arábica e inulina. Foi observado que os encapsulados obtidos apresentaram quantidades consideráveis de antioxidantes, como a cafeína e ácido clorogênico, presentes na borra de café. As amostras apresentaram características morfológicas semelhantes, com formato esférico, superfície enrugada e ausência de fissuras na superfície, conferindo maior proteção e estabilidade dos compostos bioativos. Os autores concluíram que os produtos encapsulados podem ser potencialmente usados como um ingrediente alimentar ou farmacêutico, permitindo a formulação de produtos com aspectos funcionais.

3.6.2. Secagem a frio – liofilização (*Freeze-drying*)

A liofilização, também chamada de secagem a frio, difere de outros métodos de desidratação porque a água é removida do alimento por sublimação e não por evaporação, que é a técnica mais utilizada. É um processo de secagem à vácuo, em que a água congelada do alimento, sob determinadas condições de pressão e temperatura, se transforma em vapor de água sem passar pelo estado líquido. O vapor liberado é normalmente capturado na superfície de um condensador a temperaturas muito baixas (FELLOWS, 2017; BERK, 2018).

A liofilização é uma operação que envolve três etapas, sendo elas o congelamento, secagem primária e secagem secundária (PASRIJA et al., 2015; MORAIS et al., 2016). Durante a etapa de congelamento, o produto é resfriado até sua temperatura de congelamento, resultando na separação da maior parte da água em cristais de gelo. Durante a secagem primária, a água congelada no alimento é removida por sublimação. Para que isso ocorra, a pressão de vapor e temperatura da câmara devem estar abaixo do ponto triplo da água, em torno de 610 Pa e 0,01 °C. Dessa forma, quando calor é aplicado lentamente ao alimento congelado o gelo

sublima diretamente em vapor, sem passar pela fase líquida. Normalmente, a maior parte da água é removida nesta etapa. A terceira etapa é a secagem secundária, em que a água não congelada ligada à estrutura do produto é removida por dessorção, até valores de umidade que mantenham o produto estável, podendo-se obter valores de umidade em torno de 1 a 3% (KASPER; FRIESS, 2011; MORAIS et al., 2016; FELLOWS, 2017; BERK, 2018).

A liofilização é uma técnica muito utilizada na desidratação e encapsulação de materiais sensíveis ao calor, podendo ser aplicada a substâncias farmacêuticas, enzimas, microrganismos, condimentos, corantes, vitaminas, minerais, óleos, polifenóis, extratos e polpas de frutas, vegetais, produtos lácteos e outros. Por utilizar baixas temperaturas minimiza os danos aos nutrientes e substâncias bioativas termossensíveis. Quando o processo é bem-sucedido preserva a maioria das propriedades iniciais da matéria-prima, como aparência, cor, sabor e atividade biológica, além do produto final apresentar boa capacidade de reidratação (PASRIJA et al., 2015; RAY; RAYCHAUDHURI; CHAKRABORTY, 2016; FELLOWS, 2017).

No entanto, algumas desvantagens desse processo são o alto custo, devido ao alto consumo de energia e o longo tempo de processamento. Além disso, durante o processo é formada uma barreira com uma estrutura porosa entre o agente ativo e o ambiente envolvente, o que pode oferecer baixa proteção a este componente ativo quando uma liberação prolongada é desejada (RAY, RAYCHAUDHURI; CHAKRABORTY, 2016; FELLOWS, 2017; BERK, 2018).

Lucas, Zambiasi e Costa (2018) avaliaram o conteúdo de biocompostos e características físicas da polpa de açaí seca pelos métodos de secagem por atomização (*spray-drying*), secagem em leito de jorro e liofilização. Foi observado que a polpa de açaí seca pelo método de liofilização apresentou os melhores resultados, uma vez que obteve maiores teores de antocianinas e carotenoides, e menor teor de umidade. Concluiu-se que a polpa de açaí pode ser seca e ainda preservar alta concentração de biocompostos, sendo adequada para aplicação em alimentos saudáveis.

Por outro lado, Pasrija et al. (2015) estudaram a microencapsulação de extrato de chá verde pelos métodos de secagem por atomização (*spray-drying*) e liofilização, utilizando três materiais de parede diferentes, a maltodextrina, b-ciclodextrina e uma combinação de ambos. Os autores observaram que os extratos encapsulados pela

técnica de liofilização exibiram maior eficiência de encapsulação (em torno de 60 e 76%) e maior atividade antioxidante, quando comparado com os encapsulados com *spray-drying*. Os extratos encapsulados com maltodextrina apresentaram melhores características físico-químicas. Além disso, ao incorporar os extratos encapsulados em pão de trigo, foi observado que a cor e o sabor dos pães com os extratos encapsulados foram ligeiramente melhores do que do pão com extrato puro de chá verde. Dessa forma, a microencapsulação pode ter mascarado ligeiramente o sabor adstringente do chá verde.

Em um outro estudo, Ballesteros et al. (2017) avaliaram o encapsulamento por liofilização e secagem por atomização de compostos fenólicos extraídos de borras de café. Maiores eficiências de encapsulação para composto fenólicos totais e flavonóides foram obtidas quando os extratos foram encapsulados por liofilização usando maltodextrina como material de parede, com uma retenção de 62% e 73%, respectivamente, das quantidades presentes no extrato original. Maiores valores de atividade antioxidante também foram encontrados nos extratos encapsulados por liofilização.

3.7. Aspectos funcionais e tecnológicos da inulina

A inulina é um polissacárido de reserva presente em várias espécies vegetais (BARREIROS, 2009) e pertence a uma classe de fibras alimentares conhecidas como frutanos (SINGH; SINGH; LARROCHE, 2019). Alguns exemplos de plantas que contêm grandes quantidades de inulina são a alcachofra de Jerusalém, raiz de chicória, alho, raiz de aspargo e raiz de dente-de-leão (MENSINK et al., 2015).

Estruturalmente, a inulina é composta por unidades de β -D-frutofuranosil ligadas entre si por ligações $\beta(2\rightarrow1)$, e possuem uma molécula de glicose na extremidade redutora, unida por uma ligação do tipo $(\alpha1-\beta2)$, como apresentado na Figura 5 (MENSINK et al., 2015; GUPTA et al., 2019; SINGH; SINGH; LARROCHE, 2019).

O grau de polimerização (GP) da inulina pode variar de 2 a 60 unidade de frutose, dependendo da fonte vegetal, da forma de colheita, das condições do armazenamento pós-colheita e também da forma como é realizado o processo de extração e purificação (BARREIROS, 2009; MENSINK et al., 2015). Por definição, os frutanos com grau de polimerização inferior a 10 são designados por oligofrutoses ou

frutooligossacarídeos, e os que apresentam grau de polimerização superior a 10 denominam-se de inulina (BARREIROS, 2009; MENSINK et al., 2015; GUPTA et al., 2019).

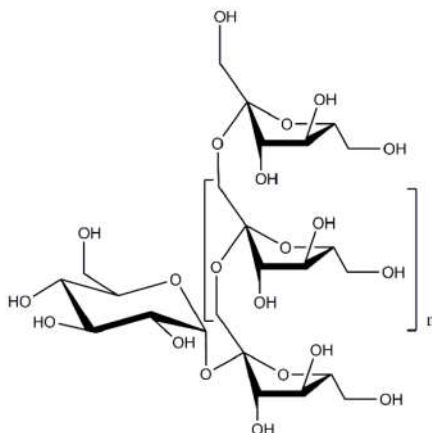


Figura 5 - Estrutura molecular da inulina.

Fonte: Mensik et al. (2015).

Para a produção industrial, a inulina é predominantemente extraída das raízes de chicória (*Cichorium intybus* L.), pois é a fonte com maior conteúdo de inulina, em torno de 65 a 79% da composição (GUPTA et al., 2019). O processo de obtenção envolve basicamente três etapas: extração em água quente, purificação e secagem. Na etapa de extração, condições como pH do meio, temperatura, tempo de ebulição e relação água-raiz devem ser otimizadas, para maximizar o conteúdo de inulina extraído. A purificação do composto é realizada principalmente utilizando-se a diferença de solubilidade das frações com diferentes graus de polimerização presentes nos extratos. Processos como aquecimento e resfriamento em combinação com filtração, ultrafiltração, decantação e centrifugação podem ser utilizados para produzir diferentes frações de peso molecular da inulina (MENSINK et al., 2015; GUPTA et al., 2019). A inulina extraída de raízes de chicória tem baixo GP (<20), sendo hidrofílica e facilmente separada (GUPTA et al., 2019). Por outro lado, inulina com alto GP (> 25) pode ser precipitada utilizando solventes orgânicos como etanol, metanol e acetona. O terceiro e último passo envolve a secagem, que normalmente é realizada pelo processo de secagem por pulverização (MENSINK et al., 2015; GUPTA et al., 2019).

Após a secagem, a inulina apresentam-se sob a forma de um pó branco, de fácil manuseamento, amorfo, inodoro, com sabor levemente doce, pH levemente ácido a neutro, estáveis a temperatura ambiente e com alta estabilidade térmica (BARREIROS, 2009; GUPTA et al., 2019).

A inulina é muito utilizada na indústria de alimentos devido a suas propriedades nutricionais e tecnológicas (MEYER et al., 2011). É utilizada como um ingrediente alimentar funcional, devido às suas propriedades de fibra alimentar solúvel e seus efeitos prebióticos (BARREIROS, 2009; KARIMI et al., 2015). Devido a configuração das ligações glicosídicas em sua estrutura, a inulina não é digerida, hidrolisada e absorvida na porção superior do trato gastrointestinal, sendo fermentada pelas bactérias do cólon (PIMENTEL; GARCIA; PRUDENCIO, 2012; GUPTA et al., 2019). Da fermentação, ocorre a produção de ácidos graxos de cadeia curta (ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico), ácido lático, hidrogênio e dióxido de carbono. Estes compostos estimulam o crescimento de bactérias probióticas, como as bifidobactérias e lactobacilos, e suprimem o crescimento de bactérias patogênicas. Essas bactérias probióticas, quando presentes em quantidades adequadas, proporcionam efeitos benéficos ao equilíbrio e às funções fisiológicas da microbiota intestinal (BARREIROS, 2009; PIMENTEL; GARCIA; PRUDENCIO, 2012). Além desses benefícios, a inulina apresenta outras propriedades funcionais, tais como: melhora da constipação intestinal, redução do risco de câncer do cólon, melhoria na absorção de cálcio, redução dos níveis de triglicerídeos e colesterol e contribuem para uma menor incidência de doenças cardíacas (BARREIROS, 2009; PIMENTEL; GARCIA; PRUDENCIO, 2012; GUPTA et al., 2019).

Atualmente, os prebióticos são utilizados como ingredientes alimentícios em diversos produtos funcionais (BARREIROS, 2009). No Brasil, a inulina e os frutooligossacarídeos fazem parte da lista de alegações de propriedades funcionais aprovadas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2019). Dessa forma, a sua incorporação em alimentos e bebidas, além de auxiliar na ingestão diária de fibras, contribui para o equilíbrio da flora intestinal.

O uso tecnológico da inulina baseia-se em suas propriedades como substituto do açúcar, especialmente em combinação com adoçantes de alta intensidade, como substituto de gordura e como modificador de textura (MEYER et al., 2011; KARIMI et al., 2015; MENSINK et al., 2015; GUPTA et al., 2019). As propriedades tecnológicas

da inulina estão relacionadas com o seu grau de polimerização (GP). Moléculas com baixo GP são utilizados como edulcorantes de baixo valor calórico, são mais solúveis e mais doce (1/3 do poder edulcorante da sacarose) que a inulina de cadeia longa, por isso pode ser considerado um substituto natural do açúcar, pois em combinação com outros edulcorantes sintéticos, funciona como intensificador de sabor em determinados produtos alimentícios (BARREIROS, 2009). A inulina também apresenta propriedade de formação de gel quando misturada à água ou leite, resultando em uma estrutura cremosa (BARREIROS, 2009; PIMENTEL; GARCIA; PRUDENCIO, 2012). Isso ocorre devido a habilidade da inulina de formar microcristais quando misturada à água ou leite. Esses microcristais não são percebidos na boca, mas interagem para formar textura cremosa que promove uma sensação semelhante ao da gordura na boca (BARREIROS, 2009; MEYER et al., 2011; PIMENTEL; GARCIA; PRUDENCIO, 2012; GUPTA et al., 2019). O gel apresenta textura espalhável, homogênea e aspecto brilhante (PIMENTEL; GARCIA; PRUDENCIO, 2012). A taxa de cristalização, o tamanho do cristal e a firmeza do gel dependem da concentração de inulina, do grau de polimerização, do tratamento de cisalhamento e do tratamento térmico (MEYER et al., 2011). Inulina com maior GP têm uma solubilidade menor quando comparada com as moléculas de menor GP e, dessa forma, cristalizam e formam géis mais rapidamente (MEYER et al., 2011; PIMENTEL; GARCIA; PRUDENCIO, 2012).

Como agente substituto das gorduras, a inulina é muito utilizada em produtos lácteos, como leite, bebidas lácteas, iogurte, queijo e sorvete (MEYER et al., 2011; PIMENTEL; GARCIA; PRUDENCIO, 2012; KARIMI et al., 2015; MENSINK et al., 2015; GUPTA et al., 2019). Outros exemplos de aplicação da inulina em alimentos incluem a sua incorporação em recheios, sobremesas, molhos, pães, biscoitos e cereais (MEYER et al., 2011; PIMENTEL; GARCIA; PRUDENCIO, 2012).

Além das propriedades tecnológicas de substituto do açúcar e de melhorador de textura, a inulina também pode ser utilizada como agente encapsulante de compostos bioativos (ZABOT et al., 2016). Os materiais de parede comumente usados incluem gomas, maltodextrinas, amidos modificados e proteínas (BARREIROS, 2009; AGUIAR, ESTEVINHO; SANTOS, 2016; ZABOT et al., 2016; BALLESTEROS et al., 2017). No entanto, essas substâncias não apresentam atividades funcionais como a inulina. Dessa forma, incrementar ou substituir esses materiais comumente usados

por materiais funcionais, torna-se uma alternativa promissora no encapsulamento de compostos bioativos.

Fernandes, Borges e Botrel (2014) avaliaram os efeitos da substituição parcial da goma arábica e amido modificado pela inulina sobre as características do óleo essencial de alecrim microencapsulado por *spray-drying*. Observou-se que a presença de inulina melhorou a molhabilidade das partículas e diminuiu a higroscopicidade. Zobot et al. (2016) avaliaram o efeito da substituição do amido modificado por inulina nas características de microcápsulas de extrato de orégano. A utilização da inulina proporcionou eficiência de encapsulação de 66%, maior retenção de timol (84%), redução no tamanho das micropartículas e maior estabilidade térmica a 220 °C. Os autores concluíram que a mistura de inulina com amido modificado foi eficaz para encapsular o extrato de orégano e reter seu composto bioativo, o timol.

Dias et al. (2018) avaliaram os efeitos do uso da maltodextrina e inulina como agente encapsulante de suco de maracujá adicionado de bifidobactérias submetido ao processo de secagem por pulverização. Foi observado que o uso da inulina resultou em maior porcentagem de encapsulação de células viáveis (86,67%). Além disso, durante o armazenamento dos produtos a 25 °C por 30 dias, as amostras encapsuladas com inulina apresentaram menor perda de viabilidade das bifidobactérias. O uso da inulina também permitiu a obtenção de amostras com melhores características físicas, como menor higroscopicidade, umidade e atividade de água.

Bernardes et al. (2019) microencapsularam extrato fenólico de polpa de frutos jussara por *spray-drying* utilizando maltodextrina, inulina e goma arábica como agentes encapsulantes. Foi observada que a utilização da inulina apresentou maiores percentuais de encapsulação de fenólicos totais (87,7%) e antocianinas (69,7%), proporcionando boa eficiência de microencapsulação. Além disso, foi verificado que a incorporação das microcápsulas elaboradas com inulina em sistema-modelo de gelatina proporcionou maior proteção às antocianinas e apresentou melhores parâmetros de cor da gelatina ao longo do armazenamento, em comparação com os outros agentes.

Estes estudos demonstram que a inulina pode ser utilizada como um agente encapsulante alternativo para a proteção de compostos bioativos, possibilitando o desenvolvimento de novos materiais encapsulantes, que podem também ter

demandas funcionais, baseado nas propriedades prebióticas e de fibra alimentar da inulina e na procura dos consumidores por alimentos que ofereçam benefícios adicionais para a saúde.

3.8. Aspectos funcionais e tecnológicos da polidextrose

A polidextrose é um polissacarídeo altamente solúvel em água e atua como fibra dietética (BURDOCK; FLAMM, 1999; PUTAALA, 2013; IBARRA et al., 2015). É obtida sinteticamente pela condensação de glicose na presença de sorbitol e um catalisador ácido adequado (ácido cítrico ou fosfórico), sob alta temperatura e sob vácuo parcial. Normalmente, a glicose de milho é utilizada (BURDOCK; FLAMM, 1999; PUTAALA, 2013; VEENA; SURENDRA NATH; SUMIT, 2016). Durante o processo, é importante que o tamanho do polímero seja controlado, a fim de restringir a formação de moléculas de grande peso molecular, evitando a formação de materiais insolúveis. Ao final, o polímero é submetido a vários procedimentos de limpeza, que permite produzir várias qualidades de polidextrose (VEENA; SURENDRA NATH; SUMIT, 2016).

O grau de polimerização (GP) da polidextrose varia entre 2 a 110 (GP médio normalmente de 12 unidade de glicose), com peso molecular médio de 2000 Daltons. É uma molécula com estrutura tridimensional complexa, altamente ramificada e contém todas as diferentes combinações de ligações glicosídicas do tipo α - e β (1→2), (1→3), (1→4) e (1→6), sendo mais predominante as ligações (1→6) (PUTAALA, 2013; VEENA; SURENDRA NATH; SUMIT, 2016). A estrutura molecular representativa da polidextrose é apresentada na Figura 6.

Comercialmente, apresenta-se sob a forma de um pó branco-amarelado, amorfo e de sabor neutro, cujo valor calórico é de 1 kcal/grama. É estável dentro de uma ampla faixa de pH e temperatura, tornando-a ideal para uso em uma variedade de alimentos processados, mesmo aqueles com valores mais baixos de pH (BURDOCK; FLAMM, 1999; VEENA; SURENDRA NATH; SUMIT, 2016).

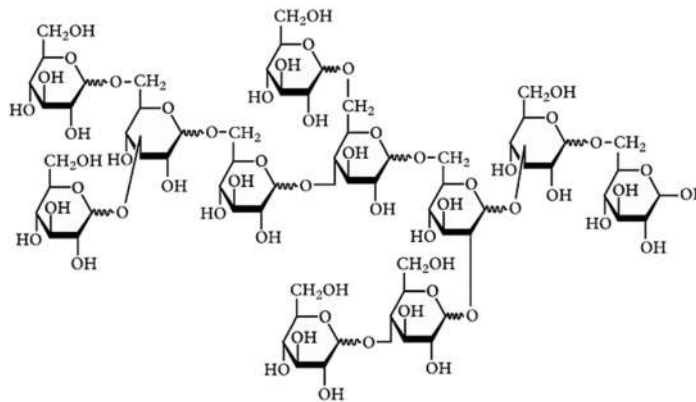


Figura 6 - Estrutura molecular da polidextrose. Radical “R” pode ser hidrogênio, sorbitol, ponte de sorbitol ou outras cadeias de polidextrose.

Fonte: Putaala (2013).

A polidextrose é amplamente aceita como fibra solúvel e possui as características de fibras alimentares cientificamente comprovadas, incluindo o aumento do volume fecal, diminuição do tempo de trânsito, melhora na consistência das fezes, melhora da constipação e redução do pH fecal (JIE et al., 2000; PUTAALA, 2013; VEENA; SURENDRA NATH; SUMIT, 2016). A polidextrose é parcialmente digerida no intestino delgado após administração oral, em que aproximadamente 30% é fermentada no intestino grosso e 60% é excretada nas fezes (YOSHIOKA; SHIMOMURA; SUZUKI, 1994; JIE et al., 2000). Como a polidextrose é apenas parcialmente digerida, durante o trânsito gastrointestinal atua como substrato para fermentação sacarolítica ao longo do cólon (PUTAALA, 2013), favorecendo o crescimento da microbiota benéfica, maior produção de ácidos graxos de cadeia curta e menor produção de metabólitos carcinogênicos (JIE et al., 2000; VEENA; SURENDRA NATH; SUMIT, 2016). Outras vantagens metabólicas da polidextrose incluem o aumento da saciedade, redução do peso corporal, controle da glicemia pós-prandial e respostas à insulina e possui efeitos hipocolesterolêmicos (PUTAALA, 2013; VEENA; SURENDRA NATH; SUMIT, 2016).

As propriedades tecnológicas da polidextrose baseiam-se na sua capacidade de texturização e de manter a umidade do produto. A polidextrose age como um agente de volume, podendo ser utilizada como substituto do açúcar e gordura, sem comprometer a textura e a palatabilidade, proporcionando cremosidade aos produtos (SANTOS, 2009b). Segundo Veena, Surendra Nath e Sumit (2016), as soluções de

polidextrose tem maior viscosidade do que as soluções de sacarose em concentrações e temperaturas equivalentes, permitindo que a polidextrose forneça as qualidades desejáveis de textura ao substituir açúcares. Devido ao seu baixo valor calórico, correspondendo a 25% das calorias do açúcar (1 kcal/grama versus 4 kcal/grama) e apenas 11% das calorias da gordura (9 kcal/grama), a polidextrose é amplamente utilizada para substituir a estrutura e a textura da sacarose e gordura em produtos de baixa caloria, sendo a principal aplicação pela indústria de alimentos (BURDOCK; FLAMM, 1999; PUTAALA, 2013; VEENA; SURENDRA NATH; SUMIT, 2016). É muito utilizada na formulação pães, bolos, biscoitos, massas, sobremesas, molhos, produtos lácteos, produtos cárneos e em bebidas (PUTAALA, 2013; VEENA; SURENDRA NATH; SUMIT, 2016).

O uso da polidextrose é aprovado pelo FDA (*Food and Drugs Administration*) e em mais de 50 países, não sendo demonstrada nenhuma toxicidade a humanos (BURDOCK; FLAMM, 1999; PUTAALA, 2013). No Brasil, a polidextrose compõe a lista de aditivos alimentares autorizados para uso, segundo as boas práticas de fabricação. O seu uso está limitado à quantidade necessária para atender o efeito tecnológico necessário, podendo ser utilizada como agente de corpo e de massa, espessante, estabilizante e umectante (BRASIL, 2010). Também é listada nas alegações de propriedades funcionais aprovadas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária, onde é reconhecida como ingrediente funcional na categoria de fibra alimentar (ANVISA, 2019).

Os benefícios funcionais e tecnológicos da polidextrose levaram a um interesse do seu uso como ingrediente no desenvolvimento de novos produtos saudáveis pela indústria alimentícia (VEENA; SURENDRA NATH; SUMIT, 2016). No entanto, a polidextrose também pode ser utilizada como potencial agente encapsulante, apesar de ser pouco estudada para encapsulamento de compostos bioativos (KUCK; NOREÑA, 2016).

Silva et al. (2018) avaliaram o efeito protetivo da polidextrose como agente encapsulante na microencapsulação de *Bifidobacterium* por *spray-drying*. O uso da polidextrose proporcionou a elaboração de microcápsulas com menores valores de umidade e atividade de água. Além disso, a contagem de células viáveis ficou acima do recomendado para um produto ser classificado como probiótico, demonstrando o potencial protetivo da polidextrose como agente encapsulante nos processos de

microencapsulação por *spray-drying*. Em outro estudo, realizado por Okuro et al. (2013), os autores também verificaram que a utilização da povidexose como co-encapsulante de *Lactobacillus acidophilus* auxiliou na proteção do microrganismo quando exposto às condições gastrointestinais simuladas, bem como manteve os microrganismos viáveis durante o armazenamento por 120 dias, a -18 e 7 °C.

Por outro lado, Cassol (2018) avaliou o uso da povidexose e da proteína isolada do soro de leite como agentes encapsulantes na microencapsulação por atomização e liofilização de extrato de hibisco. Observou-se que o encapsulamento por liofilização utilizando a povidexose resultou em maior retenção de antocianinas (77%), atividade antioxidante medida com radical DDPH (90%) e menor diferença de cor, em relação ao extrato de hibisco *in natura*, demonstrando a potencial aplicação da povidexose como agente encapsulante de compostos bioativos, podendo ter diversas aplicações na indústria de alimentos.

3.9. Considerações finais

O café verde é uma matriz alimentar complexa, que contém uma variedade de compostos bioativos, com propriedades antioxidantes, que proporcionam vários efeitos benéficos para a saúde humana. Vários estudos demonstraram que a incorporação de café verde em produtos alimentícios é vantajosa para aumentar a estabilidade oxidativa e fornecer produtos com melhor qualidade nutricional, com aumento das propriedades antioxidantes. Além disso, estudos demonstram que esses compostos antioxidantes do café verde podem apresentar alta bioacessibilidade e biodisponibilidade.

O uso de tecnologias de encapsulação é uma alternativa para melhorar a estabilidade dos compostos bioativos do café verde, uma vez que previne alterações provocadas pelo calor, luz e pH. Ainda, essas tecnologias permitem uma liberação controlada do composto encapsulado, o que pode ser desejável tanto para a qualidade do alimento quanto para a saúde humana. Ressalta-se a importância de formular micropartículas que apresentem boas propriedades físico-químicas e que preserve ao máximo o conteúdo de antioxidantes da matéria-prima. Outro ponto importante, é que as micropartículas sejam adequadas para incorporação no produto de interesse, de modo a não alterar suas características sensoriais.

Até o momento, não foram encontrados estudos sobre a comparação de técnicas de secagem por atomização ou liofilização para extratos de café verde. Dessa forma, estudos são necessários para desenvolver e otimizar o processo de encapsulamento de compostos bioativos de café verde, visando obter um produto com características desejáveis, que permita a formulação de produtos atrativos, com adequadas características nutricionais e sensoriais.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado nos laboratórios do Departamento de Engenharia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias (CCAUE/UFES) e nos laboratórios do Departamento de Farmácia e Nutrição do Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo (CCENS/UFES).

As amostras de café verde Conilon (*Coffea Canephora*) foram adquiridas na propriedade Encosta do Caparaó, localizada no município de Castelo - ES (latitude 20°57' Sul, longitude 41°31' leste e altitude de 110 m), referentes a safra 2017/2018. Conforme informações dos produtores, o café foi colhido em maio de 2017, por meio de colheita manual e posteriormente foi seco em secador horizontal rotativo de fogo direto, a uma temperatura inicial de aproximadamente 200 °C, até umidade final de 13%.

Para melhor entendimento, as etapas gerais do estudo estão apresentadas na Figura 7.

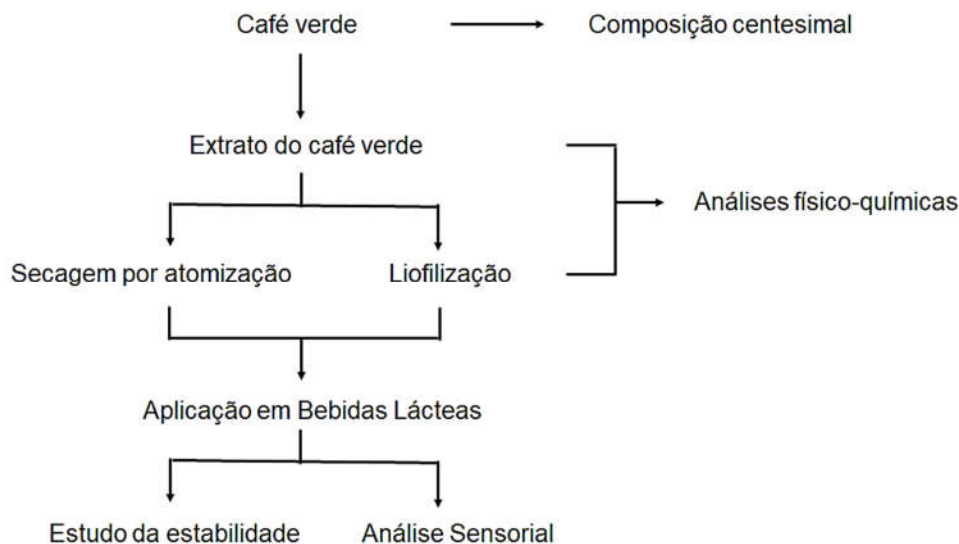


Figura 7 - Fluxograma referente às etapas do estudo.

4.1. Composição centesimal da matéria-prima

Foram realizadas análises de umidade, proteínas, lipídios e cinzas das amostras de café, de acordo com metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2008). A

concentração de carboidratos na amostra foi obtida por diferença, em que o valor de 100% foi subtraído dos valores obtidos de umidade, proteínas, lipídios e cinzas.

4.2. Obtenção do extrato aquoso do café verde

Os grãos de café verde foram moídos em moinho de facas tipo Willy SL-31 (Solab, Brasil) e peneirados para um tamanho de partículas variando de 1 a 1,18 mm. Em seguida, o extrato aquoso foi obtido realizando o processo de lixiviação do café verde em 3 estágios em contracorrente. Para cada estágio foram pesados 20 gramas do café verde moído, os quais foram submetidos à extração dos sólidos solúveis com 100 mL de água a 100 °C e a pressão atmosférica. As amostras de extrato de café eram recolhidas após obterem uma concentração em torno de 10°Brix, visando obter maior rendimento de extração. Posteriormente, os extratos foram centrifugados a 2260 g por 5 minutos.

O teor de sólidos solúveis totais (°Brix) foi determinado por leitura direta em refratômetro digital de bancada (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

4.3. Microencapsulação dos extratos – *Spray drying* e liofilização

A microencapsulação dos extratos aquosos de café verde foi realizada utilizando dois diferentes agentes encapsulantes, a polidextrose (PD) e inulina (IN), ambos em uma concentração de 30%, previamente diluídos com água destilada em agitador magnético. A concentração de 30% foi utilizada com base em estudos prévios (SILVA et al., 2013; LIMA, 2016; BERNARDES et al., 2019).

Quantidades conhecidas de extrato e de cada agente encapsulante foram misturadas, usando a proporção 1:2 (v/v), e foram homogeneizadas em agitador magnético por 10 minutos até a completa dispersão do material. O teor de sólidos solúveis totais (°Brix) foi medido usando um refratômetro digital e posteriormente, as amostras foram submetidas a processos de secagem por atomização (SD) e liofilização (LF).

A secagem por atomização foi realizada utilizando um mini *Spray Dryer* ADL 311S (Yamato Scientific Co., Japão), com pressão máxima de ar comprimido de 0,1 MPa, fluxo de alimentação de 2 mL/min, fluxo de ar de secagem de 0,21 m³/min e a temperatura do ar de entrada de 150 °C. As amostras microencapsuladas obtidas

foram armazenadas em embalagens de polietileno laminadas a temperatura de -80°C até o momento das análises.

Para a liofilização, as amostras foram previamente congeladas a -20°C por 48 horas, e em seguida foram liofilizadas utilizando Liofilizador de bancada L101 (Liotop, Brasil) a -50°C e aproximadamente $200\ \mu\text{mHg}$ por um período de 5 dias. O produto final também foi armazenado em embalagens de polietileno laminadas e mantidos a temperatura de -80°C .

4.4. Caracterização dos extratos aquosos e dos extratos encapsulados de café verde

Os extratos aquosos e os extratos encapsulados obtidos pelos processos de secagem por atomização e liofilização foram analisados em relação ao teor de compostos fenólicos totais, atividade antioxidante, teor de cafeína, ácido clorogênico e trigonelina. Para essas análises os extratos encapsulados foram reconstituídos em água, diluindo-se 2,5 gramas das amostras em 11 mL de água destilada. Os extratos encapsulados também foram caracterizados em relação a umidade, atividade de água (Aw), pH, higroscopicidade, solubilidade e analisados por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).

4.4.1. Compostos fenólicos totais

O teor de fenólicos totais foi determinado de acordo com metodologia de Singleton e Rossi (1965), com adaptações, utilizando o reagente Folin-Ciocalteu e ácido gálico (AG) como padrão. Brevemente, um volume de 0,6 mL do extrato aquoso (diluído com água destilada numa proporção de 0,1:25) e dos extratos encapsulados (diluídos com água destilada numa proporção de 0,1:10) foram misturados com 3 mL de reagente de Folin-Ciocalteu, também diluído com água numa proporção de 1:10. Após 3 minutos, foram adicionados 2,4 mL de uma solução de carbonato de sódio 7,5% (Na_2CO_3). Em seguida, as amostras foram incubadas à temperatura ambiente e no escuro durante 60 minutos. As absorvâncias das amostras foram medidas em espectrofotômetro (Termo Fisher Scientific, EUA) a 760 nm. Os resultados foram expressos como mg equivalente de ácido gálico (AGE)/g de amostra.

4.4.2. Atividade antioxidante pelo ensaio com radical ABTS

A determinação da atividade antioxidante pelo radical ABTS (ácido 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) foi realizada de acordo com metodologia adaptada de Re et al. (1999). Em resumo, foi feito o preparo do radical ABTS pela mistura de 7 mM de radical ABTS com 2,45 mM de persulfato de potássio. A mistura foi armazenada em vidro âmbar, durante 16 horas, sob refrigeração e no escuro. Após, a solução foi ajustada com etanol 80% até uma absorbância de $0,700 \pm 0,05$ em comprimento de onda de 734 nm. Em seguida, foram adicionados 0,5 mL do extrato aquoso (diluído em água destilada numa proporção de 0,1:100) e dos extratos encapsulados (diluídos em água destilada numa proporção 0,1:50) a 3,5 mL do radical ABTS ajustado e após 6 minutos de reação na ausência de luz, foram realizadas as leituras das absorbâncias em espectrofotômetro (Termo Fisher Scientific, EUA) a 734 nm. O Trolox foi usado como padrão para a curva de calibração, e os resultados foram expressos como μmol de Trolox/g de amostra.

4.4.3. Atividade antioxidante pelo ensaio com radical DPPH

A atividade antioxidante também foi determinada utilizando o radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), seguindo a metodologia de Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995) e Bravo et al. (2013), com adaptações. Brevemente, preparou-se uma solução etanólica de 1 mM de DPPH, que foi ajustada com etanol 80% para uma absorbância de $0,700 \pm 0,05$ a um comprimento de onda de 515 nm. Posteriormente, alíquotas de 0,5 mL do extrato aquoso (diluído com água destilada numa proporção de 0,1:100) e dos extratos encapsulados (diluídos com água destilada numa proporção de 0,1:50) foram adicionadas a 3,5 mL da solução radical DPPH ajustada. Após a mistura, as absorbâncias foram medidas em espectrofotômetro (Termo Fisher Scientific, EUA) a 515 nm com 10 minutos de reação para as amostras de extratos encapsulados por liofilização com inulina e polidextrose, com 20 minutos de reação para as amostras de extratos encapsulados em *spray dryer* com inulina, com 25 minutos para os extratos encapsulados em *spray dryer* com polidextrose e com 30 minutos de reação para as amostras de extrato aquoso. Nesse ensaio, o Trolox também foi utilizado para a curva de calibração, e os resultados foram expressos como μmol de Trolox/g de amostra.

O tempo de reação das amostras foi obtido em teste preliminares, em que se verificou o tempo necessário para que a absorbância de cada amostra apresentasse variação inferior a 0,01, a cada 5 minutos de leitura, sugerindo o término da reação entre amostra e o radical.

4.4.4. Determinação de cafeína, ácido clorogênico e trigonelina

A detecção e quantificação simultânea de cafeína, ácido clorogênico (5-ACQ) e trigonelina foram realizadas utilizando um sistema cromatográfico uPLC Acquity (Waters Corporation, EUA), equipado com sistema de bomba quaternária. As condições cromatográficas foram adaptadas de Abrahão et al. (2008). Em resumo, 2 μ L das amostras de extrato aquoso (diluído na proporção 0,1:25) e dos extratos encapsulados (diluídos na proporção de 0,1:10) foram injetados em uma coluna de fase reversa C18 (21 x 50 mm, 1,7 μ m, Waters Acquity) mantida a 40 °C. A fase móvel utilizada consistiu em uma mistura na proporção de 20:80:1 (v/v) de metanol, água e ácido acético, com fluxo de 0,1 mL/min, eluição isocrática e com tempo de corrida de 10 minutos. As amostras e a fase móvel foram filtradas em membranas de 0,22 μ m antes da análise. A detecção foi realizada usando um detector de arranjo de diodos (DAD), e os cromatogramas foram registrados a 272 nm.

A identificação dos compostos foi realizada comparando os tempos de retenção com os obtidos para os padrões comerciais de cafeína (Proquímicos, Brasil), ácido 5-O-cafeoilquínico (Sigma-Aldrich, Alemanha) e trigonelina (Sigma-Aldrich, Alemanha), cujos cromatogramas estão apresentados no Apêndice A. A quantificação foi feita pela construção de curvas de calibração com as áreas dos picos dos padrões analíticos de cafeína (0,75 – 150 mg/L; $Y = 3 \cdot 10^7 x - 3762,8$; $R^2 = 1$), ácido clorogênico (0,75 – 200 mg/L; $Y = 9 \cdot 10^6 x + 109,8$; $R^2 = 0,99$) e trigonelina (0,75 – 200 mg/L; $Y = 1 \cdot 10^7 x + 20617$; $R^2 = 0,99$). A identificação dos compostos no extrato aquoso e nos extratos encapsulados estão apresentadas no Apêndice B.

4.4.5. Umidade

A umidade dos extratos encapsulados foi determinada por secagem direta de aproximadamente 2 gramas de amostra em estufa a 105 °C, até peso constante (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

4.4.6. Atividade de água (Aw)

A atividade de água dos extratos encapsulados foi determinada por leitura direta em medidor de atividade de água LabMaster (Novasina, Suíça).

4.4.7. pH

Para essa análise, 5 gramas das amostras encapsuladas foram misturadas em 50 mL de água destilada sob agitação por uma hora e em seguida, foi realizada a leitura em potenciômetro digital (Tekna, Brasil), calibrado antes de todas as análises (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

4.4.8. Higroscopicidade

A higroscopicidade foi determinada de acordo com metodologia de Cai e Corke (2000). Aproximadamente 2 gramas das amostras encapsuladas, utilizadas na determinação da umidade, foram acondicionadas em dessecadores contendo soluções saturadas de NaCl (75% de umidade relativa). Após uma semana, as amostras foram pesadas e a higroscopicidade foi expressa como gramas de umidade absorvida por 100 g de sólidos secos (g/100g).

4.4.9. Índice de solubilidade

A solubilidade dos extratos encapsulados foi determinada de acordo com metodologia adaptada de Eastman e Moore (1984), que consistiu na adição de 0,5 grama de amostra em um béquer contendo 50 mL de água destilada que foi agitado a 100 rpm por 30 minutos, com posterior centrifugação a 1570 g durante 5 minutos. Em seguida, retirou-se uma alíquota de 25 mL do sobrenadante, que foi seca em estufa a 105 °C, até peso constante. A solubilidade foi expressa em porcentagem, sendo calculada como base na diferença de peso, de acordo com a Equação 1:

$$\text{Solubilidade (\%)} = \frac{(Pas \times 2)}{Pa} \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$

Em que:

Pas = massa da amostra na alíquota de 25 mL, obtida após a secagem em estufa (g)

Pa = massa inicial da amostra, incorporada em 50 mL (g)

4.4.10. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram realizadas no Laboratório de Ultraestrutura Celular Carlos Alberto Redins (LUCCAR) da Universidade Federal do Espírito Santo. Os aspectos microestruturais dos extratos encapsulados foram avaliados de acordo com metodologia adaptada de Silva et al. (2013). As amostras foram colocadas sobre uma fita adesiva aderida a um suporte metálico. Em seguida, foram revestidas com uma fina camada de ouro sob condições de vácuo com auxílio do metalizador DESK V (Denton Vacuum, EUA). O tamanho e a estrutura das partículas foram analisados em microscópio eletrônico de varredura JSM-6610 LV (JEOL Ltd., Japão), em que as amostras foram observadas sob magnitude de 100, 400, 3000 e 8000 vezes.

4.5. Incorporação em bebidas lácteas

O soro de leite utilizado foi fornecido pela Agropecuária e Agroindústria DGV do município de Alegre, sendo proveniente da fabricação de queijo minas frescal, anterior à etapa de salga. No recebimento, foi realizada análise de acidez (°Dornic) de acordo com metodologia descrita por Instituto Adolfo Lutz (2008), para avaliar a qualidade do produto, objetivando valores entre 8 a 14 °Dornic (LIMA, 2016).

Para elaboração das bebidas lácteas não fermentadas sabor cappuccino foram utilizados 60% de leite pasteurizado (Colagua, Espírito Santo, Brasil) e 40% de soro de leite, constituindo a base láctea. Na formulação também foram utilizados 7% de sacarose (Paineiras, Espírito Santo, Brasil), 2% de chocolate em pó (Nestlé, São Paulo, Brasil), 1% de café solúvel (Nestlé, São Paulo, Brasil), 0,2% de estabilizante gelatina (Rica Nata, Minas Gerais, Brasil) e 0,05% de canela em pó (Nativo, Espírito Santo, Brasil). As concentrações dos ingredientes foram calculadas em relação a base láctea e foram determinadas por meio de testes preliminares. Ainda, as bebidas dos grupos testes continham 5% de extrato de café verde encapsulado. Esta concentração de extrato encapsulado foi estipulada para manter um limite mínimo de consumo de cafeína estabelecido pela ANVISA (2018), no qual objetivou-se valores entre 75 a 110 mg cafeína/porção de bebida láctea.

Foram elaboradas cinco bebidas lácteas: controle (CT), com a formulação descrita anteriormente, porém sem pó contendo extrato de café verde; bebida láctea com a adição do extrato encapsulado com polidextrose por *spray dryer* (PD-SD);

bebida láctea com o extrato encapsulado com inulina por *spray dryer* (IN-SD); bebida láctea com o extrato encapsulado com povidexrose por liofilização (PD-LF); bebida láctea com o extrato encapsulado com inulina por liofilização (IN-LF).

Inicialmente, o soro de leite foi filtrado e aquecido a 70 °C durante 30 minutos, para a inativação do coalho. Posteriormente, foi feita a mistura do soro de leite, leite pasteurizado, açúcar e estabilizante que foi levada ao fogo para pasteurização, sob agitação, até atingir a temperatura de 65 °C mantida durante 30 minutos. Em seguida, a mistura foi resfriada em água corrente até aproximadamente 40 °C, e foram adicionados o chocolate em pó, café solúvel, canela e os extratos encapsulados, sendo homogeneizados até completa dissolução. A bebida final foi envasada em embalagens de polietileno opacas, e mantidas sob refrigeração (2 - 10 °C). As etapas do processamento estão apresentadas na Figura 8.

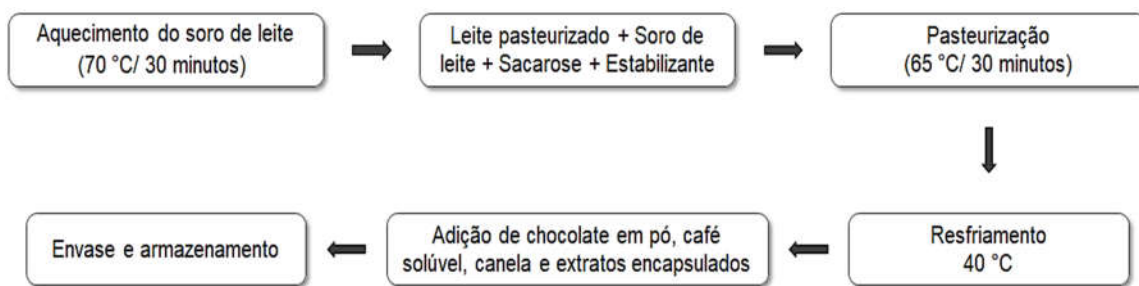


Figura 8 - Fluxograma da elaboração da bebida láctea não fermentada.

4.6. Estabilidade dos compostos na bebida láctea durante o armazenamento

A estabilidade da cafeína, ácido clorogênico e trigonelina nas bebidas lácteas não fermentadas foi analisada ao longo de 7 dias de armazenamento, considerado um tempo de consumo adequado para esse tipo de produto, em que foram coletadas amostras nos tempos 0, 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas.

Para essa análise, os extratos das bebidas lácteas foram obtidos de acordo com metodologia de Świeca et al. (2017), com adaptações. Em resumo, 1 mL das bebidas lácteas foram extraídas com 20 mL de tampão PBS (solução salina tamponada com fosfato, pH 7,4) durante 1 hora, com posterior centrifugação a 1150 g por 5 minutos. O sobrenadante foi separado e os resíduos foram novamente extraídos com 20 mL de tampão PBS. Ao final, os sobrenadantes foram combinados, adicionou-se 1 mL de acetonitrila e centrifugou-se a 5284 g por 15 minutos. Os extratos foram quantificados e armazenados protegidos da luz.

A quantificação de cafeína, ácido clorogênico e trigonelina nos extratos das bebidas lácteas durante os 7 dias de armazenamento foi realizada seguindo a metodologia descrita no tópico 4.4.4.

O conteúdo de fenólicos totais e atividade antioxidante nos extratos das bebidas lácteas foi analisado, nos tempos 0 e 168 horas de armazenamento, como descrito anteriormente (tópicos 4.4.1, 4.4.2 e 4.4.3). Para a análise de atividade antioxidante com radical ABTS, os extratos das bebidas foram diluídos com tampão PBS na proporção 1:25. Para a análise com o radical DPPH, os extratos foram diluídos com tampão PBS na proporção 1:10, e as absorbâncias foram medidas com 10 minutos de reação para a bebida CT, com 15 minutos de reação para as bebidas PD-SD e PD-LF e com 20 minutos de reação para as bebidas IN-SD e IN-LF.

4.7. Acidez titulável

A acidez das bebidas lácteas foi analisada durante os 7 dias armazenamento, conforme metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2008). Em resumo, 10 mL das amostras foram misturadas com 10 mL de água destilada e adicionou-se 5 gotas de fenolftaleína. Com auxílio de um potenciômetro, a solução foi titulada com NaOH 0,1M sob agitação até pH 8,3. Os resultados foram expressos em porcentagem (%) de ácido láctico.

4.8. Análise Microbiológica

Para a avaliação de coliformes totais e termotolerantes nas bebidas lácteas utilizou-se a técnica do número mais provável (NMP) conforme metodologia descrita em Silva et al. (2010). Primeiramente foi realizada a prova presuntiva, em que alíquotas de 1 mL de cada diluição das amostras foram inoculadas em uma série de três tubos contendo Caldo Lauril Sulfato de Sódio (LST), os quais foram incubados a $35 \pm 0,5$ °C por 48 horas. Em seguida, para realizar a prova confirmativa de coliformes totais, os tubos que apresentaram produção de gás no Caldo LST tiveram alíquotas semeadas em tubos contendo Caldo Verde Bile Brilhante 2% lactose (VB), os quais foram incubados a $35 \pm 0,5$ °C por 48 horas. A presença de coliformes totais foi confirmada pela formação de gás ou efervescência nos tubos com Caldo VB quando agitado levemente.

Para a prova confirmativa de coliformes termotolerantes, os tubos que apresentaram produção de gás no Caldo LST tiveram alíquotas semeadas em tubos contendo Caldo *Escherichia coli* (EC), com posterior incubação dos tubos a $45,5 \pm 0,2$ °C por 24 horas em banho-maria com agitação. A presença de coliformes termotolerantes também pode ser confirmada pela formação de gás nos tubos. Os resultados foram expressos em NMP/mL de amostra.

4.9. Análise Sensorial

Para a análise sensorial foram recrutados 120 julgadores não treinados, não alérgicos a produtos lácteos e que gostavam de bebida láctea. O teste consistiu em apresentar aos julgadores, durante a sessão, as cinco amostras das bebidas lácteas elaboradas. Durante a análise, foram apresentadas 25 mL das amostras codificadas com três dígitos, de maneira aleatória e monádica para cada julgador. Cada julgador recebeu uma ficha (Apêndice C), contendo uma escala hedônica de nove pontos para avaliação das amostras quanto aos atributos aparência, aroma, corpo, sabor e impressão global, em que o escore 1 corresponde a “desgostei extremamente” e o escore 9 a “gostei extremamente”. Também foi avaliada a intenção de compra utilizando uma escala de 5 pontos, em que 1 corresponde a “definitivamente não compraria” e 5 a “definitivamente compraria” (REIS; MINIM, 2013).

A análise sensorial foi realizada mediante aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos, da Universidade Federal do Espírito Santo, sob o número 2.669.719/2018 (Anexo A). Todos os voluntários assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido.

4.10. Análises estatísticas dos dados

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado (DIC) conduzido em esquema fatorial, com dois fatores e três repetições. Os fatores e os níveis correspondentes foram: processo de encapsulação (*Spray Dryer* e *Liofilização*) e agente encapsulante (polidextrose e inulina). Os dados foram analisados por meio de análise de variância (ANOVA), acompanhados de teste de Dunnett para comparar os tratamentos com o controle e teste Tukey, para avaliar diferenças entre os tratamentos contendo extrato de café verde. Aplicou-se teste *t* para comparar o conteúdo de fenóis totais e atividade antioxidante antes e após o tempo de armazenamento.

Para o estudo da estabilidade durante armazenamento, foi utilizado um delineamento em parcelas subdivididas, em que nas parcelas foram alocados os tratamentos, e nas subparcelas o tempo de armazenamento. Os dados foram analisados por meio de análise de variância (ANOVA) seguido por análise de regressão.

Para a análise sensorial foi considerado um delineamento em blocos casualizados (DBC), em que cada julgador foi considerado um bloco, e os dados foram analisados por meio de análise de variância (ANOVA) seguido de teste de Dunnett para comparar os tratamentos com o controle e teste de Tukey, para avaliar diferenças entre os tratamentos contendo extrato de café verde.

As análises foram realizadas com auxílio do programa estatístico Statistica®, a um nível de 5% de significância, e do programa Sigma Plot 11.0.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Caracterização da matéria-prima

Os resultados obtidos nas análises de composição centesimal da matéria-prima estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Composição centesimal (base seca) do café verde Conilon (*Coffea canephora*)

Componentes	Valores (g/100g)*
Umidade	11,72 ± 0,30
Proteína	19,81 ± 0,32
Lipídios	3,94 ± 0,18
Cinzas	5,43 ± 0,43
Carboidratos	59,10 ± 0,63

*Média de três repetições ± desvio padrão.

Os valores obtidos de composição centesimal da matéria-prima utilizada no estudo se encontram próximos das faixas estabelecida pela literatura. Segundo Farah (2012), os principais constituintes dos grãos crus de café são os carboidratos, proteínas e lipídios. A fração de polissacarídeos nos grãos de *C. canephora* pode representar mais de 50% do peso seco dos grãos, ao passo que o teor de proteínas pode variar de 11 a 19% e o teor de lipídios de 8 a 14% da composição (PEREIRA; VILELA; LOPES, 2000; FARAH, 2012). O teor de minerais varia entre as espécies de cafés, sendo que grãos de *C. canephora* apresentam maiores teores, cerca de 4 a 5% da composição dos grãos (PEREIRA; VILELA; LOPES, 2000; FARAH, 2012).

Variações na composição ocorrem devido ao clima, à composição do solo e a condições de armazenamento pós-colheita a que os grãos de café são submetidos. Dessa forma, a composição e a qualidade do café pode variar consideravelmente entre amostras de mesma espécie e variedade, mas cultivadas em regiões diferentes (FARAH, 2012).

Os frutos de café são colhidos com alto teor de umidade e necessitam ser secos antes do armazenamento, pois o alto teor de água facilita a atividade enzimática e de microrganismos, afetando na qualidade e preservação do produto. O teor de umidade obtido do café verde conilon do presente estudo está dentro do limite estipulado pela

legislação brasileira, que estabelece um limite máximo de tolerância de 12,5% para grãos crus (BRASIL, 2003).

5.2. Caracterização do extrato aquoso de café verde

Os resultados das análises de caracterização do extrato de café verde estão apresentados na Tabela 5. Observa-se que entre os compostos químicos analisados, o ácido clorogênico foi o composto predominante, seguido da cafeína e trigonelina.

Tabela 5 - Caracterização do extrato aquoso do café verde Conilon (base seca)

Análises	Valores*
Cafeína (mg/g)	84,58 ± 15,05
Ácido Clorogênico (mg/g)	178,44 ± 27,65
Trigonelina (mg/g)	47,90 ± 7,81
Fenólicos Totais (mg AGE/g)	212,57 ± 14,40
Atividade Antioxidante ABTS (µmol Trolox/g)	1421,20 ± 38,69
Atividade Antioxidante DPPH (µmol Trolox/g)	1238,99 ± 106,52

*Média de quatro repetições ± desvio padrão.

Nos estudos de Ky et al. (2001) e Getachew e Chun (2016), os autores também verificaram que os ácidos clorogênicos constituíram o principal grupo de componentes de café verde da espécie *C. canephora*, seguido da cafeína. Os ácidos clorogênicos estão presentes em grandes quantidades no café verde, sendo responsáveis pela maior parte da atividade antioxidante (BABOVA; OCCHIPINTI; MAFFEI, 2016). De forma semelhante, no organismo humano os ácidos clorogênicos, juntamente com a cafeína e trigonelina, apresentam efeitos antioxidantes (JESZKA-SKOWRON; STANISZ; DE PEÑA, 2016; SĘCZYK; ŚWIECA; GAWLIK-DZIKI, 2017).

Em relação ao teor de compostos fenólicos totais, o resultado do presente estudo foi superior ao relatado por Getachew e Chun (2016), que encontraram valor médio de 141,9 mg AGE/g, e por Dziki et al. (2015), que observaram valores variando de 183,2 a 197,1 mg AGE/g. Variações no conteúdo de compostos fenólicos podem ocorrer devido a diferenças fisiológicas das espécies, a variedades do café, à origem geográfica, à forma de cultivo e de como é feita a extração e também da metodologia de análise desses compostos. A metodologia utilizada na extração do café verde permitiu a obtenção de um extrato aquoso mais concentrado em termos de sólidos

solúveis, o que pode ter contribuído para a maior concentração de compostos fenólicos totais encontrada.

Os compostos fenólicos são conhecidos pelas suas propriedades redox, que lhes permitem atuar como agentes redutores ou doadores de átomos de hidrogênio. A avaliação da atividade antioxidante não pode ser realizada com precisão por um único método, devido à natureza complexa dos fitoquímicos, sendo que ao menos dois métodos diferentes devem ser empregados (LIYANA-PATHIRANA; SHAHIDI; ALASALVAR, 2006). Vários métodos têm sido utilizados para estimar o potencial antioxidante de produtos naturais, entre os quais os ensaios com radical ABTS e DPPH são amplamente utilizados, devido à simplicidade e por não necessitar de equipamentos caros (BORGES et al., 2011; FLOEGEL et al., 2011; JESZKA-SKOWRON; STANISZ; DE PEÑA, 2016; ZHANG; YANG; ZHOU, 2018).

No entanto, os ensaios com radicais ABTS e DPPH apresentam algumas diferenças importantes. O radical DPPH é solúvel em solventes orgânicos e é mais aplicável para sistemas hidrofóbicos, enquanto que o radical ABTS necessita ser gerado antes por reações químicas ou enzimáticas, e é solúvel tanto em água como em solventes orgânicos, permitindo a análise tanto em sistemas hidrofílicos como lipofílicos (TIVERON, 2010; FLOEGEL et al., 2011). Além disso, o ensaio ABTS é um ensaio que se baseia na transferência de elétrons, em que diferentes compostos antioxidantes doam um ou dois elétrons para reduzir o radical. Independentemente do potencial de doação de antioxidantes individuais, todos têm tempo para reagir dando uma medida precisa da capacidade antioxidante total (WOOTTON-BEARD; MORAN; RYAN, 2011). Segundo Oliveira (2015) diferentes resultados de capacidade antioxidante são obtidos em várias pesquisas, tornando-se difícil a comparação. Isso ocorre devido aos métodos sofrerem adaptações, incluindo diferentes tipos solventes, de concentrações do radical, de alíquotas da amostra e diferentes tempos de reação.

5.3. Caracterização dos extratos encapsulados

A Tabela 6 apresenta o efeito dos métodos de secagem e dos agentes encapsulantes sobre diferentes parâmetros físico-químicos analisados.

No presente estudo, utilizou-se a inulina (IN) e a polidextrose (PD) como agentes de revestimento. Essas substâncias são polissacarídeos que, além de apresentarem alegações de propriedades funcionais de fibras alimentares, auxiliando

no funcionamento do intestino e contribuindo para o equilíbrio da microbiota intestinal (ANVISA, 2019), possuem propriedades tecnológicas de formação de géis, atuando como melhoradores de textura (MEYER et al., 2011; KARIMI et al., 2015). Assim, a utilização desses polissacarídeos como agentes encapsulantes contribui para o conteúdo de fibras do produto e para uma textura mais cremosa ao produto elaborado.

Os extratos encapsulados por LF, utilizando IN como agente encapsulante, apresentaram teor de umidade significativamente menor quando comparado com a secagem por SD, bem como quando comparado ao uso da PD como agente encapsulante. A umidade é considerada uma característica importante em produtos em pó por interferir na fluidez, pegajosidade e estabilidade ao longo do armazenamento. Os valores de umidade obtidos para os diferentes tratamentos estão dentro de uma faixa ideal, abaixo de 5%, que garante maior estabilidade para produtos em pó (COUTO et al., 2013; CARMO et al., 2018). Além disso, a baixa umidade evita a aglomeração de partículas e o empastamento, o que poderia reduzir a retenção de componentes bioativos (DAZA et al., 2016).

Para a atividade de água (Tabela 6), houve diferença significativa em relação as técnicas de encapsulação, em que o método LF proporcionou extratos encapsulados com menor A_w . Em relação aos materiais encapsulantes, os extratos encapsulados com IN apresentaram menor A_w . Moayyedi et al. (2018) explicam que esse comportamento ocorre devido ao efeito do vácuo, em que maiores gradientes de pressão podem ter efeito na taxa de transferência de água, resultando em menor A_w no produto final liofilizado.

O uso da IN como agente encapsulante promoveu um ligeiro aumento do pH ($p \leq 0,05$), em comparação aos tratamentos com PD. Entretanto, os valores obtidos mantiveram-se dentro dos parâmetros adequados para aplicação em bebidas lácteas não fermentadas, que apresentam valores de pH na faixa de 5,0 a 6,8 (PENHA; MADRONA; TERRA, 2009; DA SILVEIRA et al., 2015; AZAMI et al., 2018).

Tabela 6 – Efeito das técnicas de encapsulação e dos materiais de parede nas características dos extratos encapsulados.

Análises	Tecnologia de encapsulação	Agente encapsulante	
		PD	IN
Umidade (g/100g)	SD	4,20 ± 0,26 ^{aA}	4,22 ± 0,48 ^{aA}
	LF	3,30 ± 0,69 ^{aA}	0,35 ± 0,03 ^{bB}
Atividade de água	SD	0,36 ± 0,03 ^{aA}	0,33 ± 0,01 ^{aA}
	LF	0,16 ± 0,04 ^{bA}	0,03 ± 0,00 ^{bB}
pH	SD	5,34 ± 0,07 ^{aA}	5,76 ± 0,09 ^{aB}
	LF	5,27 ± 0,04 ^{aA}	5,75 ± 0,08 ^{aB}
Higroscopicidade (%)	SD	18,40 ± 0,34 ^{aA}	14,55 ± 0,46 ^{aB}
	LF	19,92 ± 0,52 ^{bA}	14,93 ± 0,97 ^{aB}
Solubilidade (%)	SD	97,23 ± 2,23 ^{aA}	98,43 ± 1,67 ^{aA}
	LF	97,79 ± 1,70 ^{aA}	96,76 ± 3,56 ^{aA}
Compostos Fenólicos Totais (mg AGE/g)	SD	19,01 ± 5,96 ^{aA}	21,08 ± 2,97 ^{aA}
	LF	22,43 ± 2,77 ^{aA}	21,17 ± 1,59 ^{aA}
Atividade antioxidante ABTS (µmol Trolox/g)	SD	153,96 ± 16,93 ^{aA}	143,54 ± 13,71 ^{aA}
	LF	154,76 ± 28,94 ^{aA}	166,45 ± 30,35 ^{aA}
Atividade antioxidante DPPH (µmol Trolox/g)	SD	110,85 ± 24,89 ^{aA}	105,03 ± 22,91 ^{aA}
	LF	88,46 ± 13,77 ^{aA}	97,95 ± 19,07 ^{aA}
Cafeína (mg/g)	SD	9,59 ± 0,91 ^{aA}	9,67 ± 0,51 ^{aA}
	LF	9,22 ± 0,32 ^{aA}	9,29 ± 0,25 ^{aA}
Ácido Clorogênico (mg/g)	SD	18,71 ± 1,79 ^{aA}	18,60 ± 0,99 ^{aA}
	LF	17,79 ± 0,50 ^{aA}	17,88 ± 0,50 ^{aA}
Trigonelina (mg/g)	SD	5,74 ± 0,45 ^{aA}	4,87 ± 0,41 ^{aB}
	LF	5,31 ± 0,16 ^{aA}	4,55 ± 0,38 ^{aA}

*Valores expressos como média ± desvio padrão (N° repetições = 4). Médias seguidas por letras minúsculas diferentes, em uma mesma coluna de uma variável, diferem entre si (p≤0,05). Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes, em uma mesma linha de uma variável, diferem entre si (p≤0,05). SD: *Spray Dryer*; LF: Liofilização; PD: Polidextrose; IN: Inulina.

A higroscopicidade é a capacidade de um material absorver a umidade do ambiente, sendo uma propriedade importante devido à sua influência na estabilidade dos alimentos (DAZA et al., 2016). Os extratos encapsulados apresentaram baixa higroscopicidade (Tabela 6), uma vez que materiais que apresentam valores menores que 20% de higroscopicidade podem ser considerados pouco higroscópicos, sendo uma característica desejável (TONTUL; TOPUZ, 2017). No presente estudo, a utilização de PD promoveu aumento da higroscopicidade. Este comportamento pode ser atribuído à maior higroscopicidade da PD, que possui tendência de se ligar à água e formar pontes entre moléculas (PINTO et al., 2015; KUCK; NOREÑA, 2016). Segundo Dias et al. (2018), a inulina possui menos grupos redutores e maior temperatura de transição vítrea, apresentando menor tendência a absorver a umidade ambiente. Resultado semelhante foi observado por Fernandes, Borges e Botrel (2014), em que microcápsulas de óleo essencial de alecrim produzidas com inulina apresentaram menor higroscopicidade. Ainda, Pinto et al. (2015) também verificaram que as microcápsulas produzidas com inulina apresentaram características físicas mais desejáveis, como valores mais baixos de umidade, atividade de água e higroscopicidade. Ambos autores mencionam que a inulina é um agente transportador interessante para a encapsulação de compostos ativos secos, uma vez que valores de absorção de água mais baixos são desejáveis para melhor conservação e estabilidade das partículas.

As técnicas de encapsulação e os agentes encapsulantes utilizados não interferiram na solubilidade, no conteúdo de compostos fenólicos totais, na atividade antioxidante, no teor de cafeína e ácido clorogênico das amostras, pois não houve diferença significativa entre os tratamentos estudados ($p > 0,05$).

Para o conteúdo de trigonelina (Tabela 6) não houve diferença significativa entre as técnicas de encapsulação para os dois agentes encapsulantes utilizados. Mas, em relação aos agentes encapsulantes, para a técnica de SD, os extratos encapsulados com IN apresentaram conteúdo de trigonelina menor. Isto pode ter ocorrido devido a uma possível interação da trigonelina com a inulina. Entretanto, são necessários estudos adicionais para verificar os mecanismos dessa interação.

As imagens obtidas pela microscopia eletrônica de varredura (MEV) estão apresentadas na Figura 9.

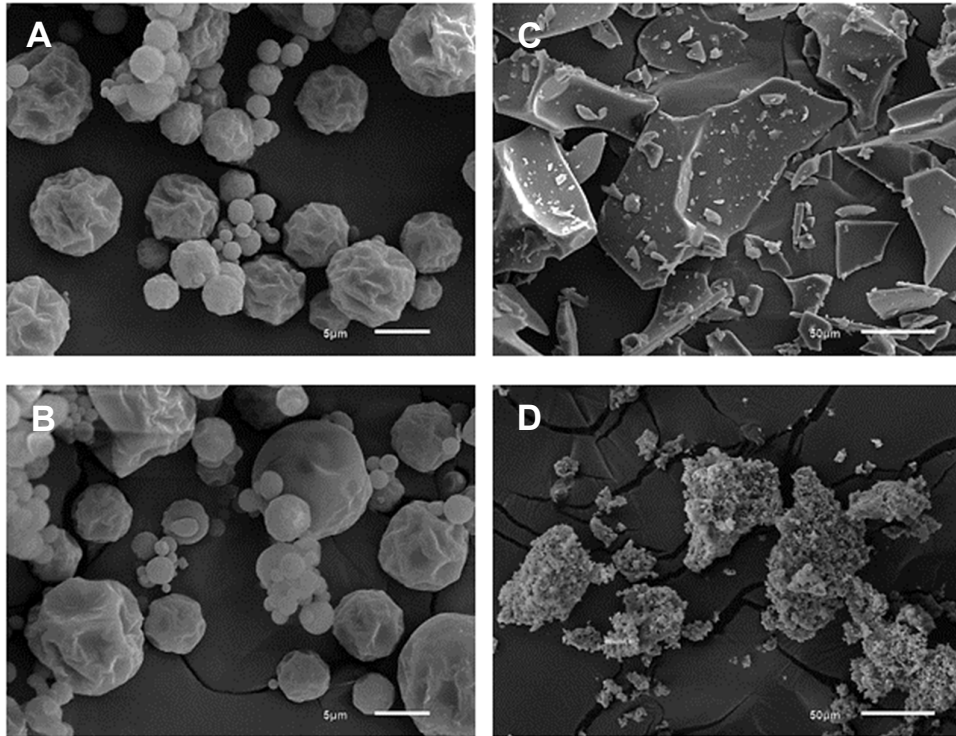


Figura 9 - Micrografias dos extratos encapsulados de café verde.

A: *spray dryer* com polidextrose; B: *spray dryer* com inulina; C: liofilização com polidextrose; D: liofilização com inulina. A e B: ampliação de 3000x; C e D: ampliação de 400x.

Observa-se que para o método de SD ambos os agentes encapsulantes apresentaram morfologias e tamanhos de partículas semelhantes, em que o diâmetro das partículas variou de aproximadamente 1 a 10 μm e 0,5 a 11 μm para os extratos encapsulados com PD e IN, respectivamente. Já as micropartículas liofilizadas apresentaram maior tamanho, variando de aproximadamente 11 a 183 μm para os extratos encapsulados com PD e de 5 a 103 μm para os encapsulados com IN. Os valores obtidos estão dentro do intervalo observado para micropartículas obtidas por SD, na qual o diâmetro varia de 1 a 15 μm , enquanto que produtos liofilizados podem chegar a 300 μm (CHE MAN; IRWANDI; ABDULLAH, 1999; KUCK; NOREÑA, 2016). As partículas menores ocorrem na técnica por SD devido à atomização do líquido em pequenas gotículas durante a secagem (PASRIJA et al., 2015). Além disso, Pinto et al. (2015) mencionam que é esperado que partículas secas por SD que apresentam tamanho médio de até 40 μm forneça uma sensação aceitável na boca quando aplicado em formulações alimentícias.

A maioria das partículas encapsuladas por SD apresentaram uma forma esférica com superfície externa enrugada com algumas concavidades, que são características típicas de produtos secos por atomização (SILVA et al., 2013; PASRIJA et al., 2015; PINTO et al., 2015; BALLESTEROS et al., 2017). Essas cápsulas esféricas absorvem o extrato e, após o processo de secagem, permitem que os componentes permaneçam protegidos nos materiais de revestimento (BALLESTEROS et al., 2017). As concavidades presentes na superfície são provavelmente formadas pelo encolhimento/contração das partículas durante os estágios iniciais do processo de secagem, devido à drástica perda de umidade seguida de resfriamento (SILVA et al., 2013; PINTO et al., 2015; KUCK; NOREÑA, 2016). Além disso, a aparência enrugada de algumas partículas pode estar relacionada à formação mais lenta da camada de proteção durante a secagem das gotas atomizadas, podendo estar associada ao uso de baixas temperaturas de secagem. Neste caso, a camada de proteção formada permanece úmida e flexível por mais tempo, de modo que a partícula possa se esvaziar e enrugar enquanto o vapor formado dentro da partícula se condensa, à medida que a partícula se move para as regiões mais frias do secador (NIJDAM; LANGRISH, 2006; DIAS et al., 2018).

Por outro lado, as partículas encapsuladas por LF apresentaram morfologia completamente diferente, quando comparadas com as partículas secas por SD. Segundo Ballesteros et al. (2017) é esperado que a morfologia das cápsulas mudem após os processos de LF e SD, devido às diferentes condições que são usadas em cada processo. No presente estudo, as amostras liofilizadas, independente do agente encapsulante, apresentaram uma estrutura irregular, parecido com vidro quebrado ou serragem, em que vários tamanhos foram observados. Essa morfologia é típica do processo de LF (CHEN; CHI; XU, 2012; MAHDAVEE KHAZAEI et al., 2014; PASRIJA et al., 2015; KUCK; NOREÑA, 2016; BALLESTEROS et al., 2017). Ao compararmos as amostras liofilizadas, o extrato liofilizado com IN apresentou uma estrutura com partículas menores e mais irregulares, quando comparado ao extrato liofilizado com PD.

De acordo com Kuck e Noreña (2016), a rigidez estrutural ocasionada pela superfície congelada e a falta de água no estado líquido resultam em uma estrutura porosa sem encolhimento, que é a principal característica de alimentos secos por LF. Além disso, o maior tamanho das partículas pode ser atribuído à baixa temperatura

do processo e a falta de força para quebrar as partículas congeladas ou para alterar a superfície durante a secagem (CHEN; CHI; XU, 2012).

Segundo Pasrija et al. (2015) a SD e a LF são duas técnicas de encapsulamento que envolvem diferentes condições operacionais que influenciam fortemente a morfologia, a estabilidade e o mecanismo de liberação do composto bioativo. Como visto, a SD produz partículas esféricas que podem proteger o material do núcleo, com encapsulamento uniforme sem poros na superfície. Por outro lado, a LF produz partículas em flocos com poros devido à sublimação do gelo e resulta em encapsulação de morfologia irregular, que pode acarretar em uma proteção incompleta do material do núcleo. Estas diferenças morfológicas podem alterar o poder de encapsulação e o mecanismo de liberação, podendo ter impactos diferentes quando incorporados em produtos alimentícios.

5.4. Teor de fenólicos totais e atividade antioxidante das bebidas lácteas durante o armazenamento

Todas as bebidas adicionadas com os extratos encapsulados de café verde diferiram da bebida CT, apresentando maior conteúdo de compostos fenólicos totais e maior atividade antioxidante pelo radical ABTS, tanto no início quanto ao final do armazenamento (Tabela 7). Não foram observadas diferenças significativas para essas variáveis em relação ao tempo de armazenamento, sugerindo que não houve degradação significativa dos compostos fenólicos durante o período estudado. Além disso, ao final do tempo de armazenamento as bebidas adicionadas de extrato de café verde não diferiram entre si para compostos fenólicos totais e atividade antioxidante pelo método ABTS.

Por outro lado, a bebida adicionada com o extrato encapsulado com inulina por *spray dryer* (IN-SD) diferiu da bebida CT no início do armazenamento, apresentando maior atividade antioxidante pelo método DPPH. Porém, comparando-se as bebidas com extrato de café verde entre si não houve diferenças significativas ($p > 0,05$). Diferentemente do que foi observado para o método com radical ABTS, ao final do armazenamento houve uma diminuição da atividade antioxidante das bebidas lácteas ($p \leq 0,05$). Ainda, ao final do armazenamento, todas as bebidas incorporadas diferiram da bebida CT ($p \leq 0,05$), apresentando maior atividade antioxidante. Embora tenha ocorrido a redução do conteúdo antioxidante, a incorporação dos extratos de café

verde é vista de forma benéfica, pois permitiu maior manutenção do potencial antioxidante do produto ao final do armazenamento em relação ao controle.

Tabela 7 - Teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante das bebidas elaboradas, no início e no final do tempo de armazenamento.

	Amostras	Tempo de armazenamento	
		T0h	T168h
Compostos Fenólicos totais (mg AGE/mL)	CT	2,20 ± 0,04	2,41 ± 0,07
	PD-SD	3,42 ± 0,02*, a,A	3,25 ± 0,10*, a,A
	IN-SD	3,27 ± 0,10*, ab,A	3,20 ± 0,14*, a,A
	PD-LF	3,30 ± 0,12*, ab,A	3,15 ± 0,04*, a,A
	IN-LF	3,08 ± 0,08*, b,A	3,05 ± 0,07*, a,A
Atividade antioxidante ABTS (µmol Trolox/mL)	CT	84,59 ± 5,07	85,35 ± 2,31
	PD-SD	102,90 ± 4,03*, a,A	101,25 ± 1,36*, a,A
	IN-SD	103,78 ± 6,00*, a,A	104,43 ± 1,30*, a,A
	PD-LF	105,41 ± 2,41*, a,A	109,30 ± 3,90*, a,A
	IN-LF	105,33 ± 4,79*, a,A	107,62 ± 0,95*, a,A
Atividade antioxidante DPPH (µmol Trolox/mL)	CT	11,31 ± 0,66	2,82 ± 1,51
	PD-SD	12,89 ± 0,36 ^a ,A	9,01 ± 1,12*, a,B
	IN-SD	14,56 ± 0,59*, a,A	6,78 ± 0,37*, a,B
	PD-LF	14,02 ± 0,83 ^a ,A	7,77 ± 1,22*, a,B
	IN-LF	13,53 ± 0,80 ^a ,A	8,13 ± 2,94*, a,B

Valores expressos como média ± desvio padrão (N° repetições = 3). CT: controle; PD-SD: bebida adicionada do extrato encapsulado com povidona por *spray dryer*; IN-SD: bebida adicionada do extrato encapsulado com inulina por *spray dryer*; PD-LF: bebida adicionada do extrato encapsulado com povidona por liofilização; IN-LF: bebida adicionada do extrato encapsulado com inulina por liofilização. * indica diferença significativa entre o controle e as amostras pelo teste Dunnett. Médias seguidas por letras minúsculas diferentes, em uma mesma coluna de uma variável, diferem entre si pelo teste Tukey (p≤0,05). Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes, em uma mesma linha de uma variável, diferem entre si pelo teste t (p≤0,05).

A incorporação do extrato de café verde encapsulado proporcionou um aumento de até 55% no teor de fenólicos totais das bebidas lácteas. Esse aumento no conteúdo de compostos fenólicos e na atividade antioxidante observado para as bebidas lácteas adicionadas dos extratos encapsulados em relação a bebida CT, pode

ser atribuído à presença de polifenóis e ácidos fenólicos presentes no extrato de café verde, principalmente o ácido clorogênico (ZAIN; BABA; SHORI, 2018). A presença na bebida controle está associada aos compostos fenólicos encontrados na composição dos ingredientes utilizados na formulação das bebidas lácteas, como café solúvel e chocolate em pó. Resultados semelhantes foram encontrados por Sęczyk, Świeca e Gawlik-Dziki (2017), que estudaram a incorporação de leite de soja com extrato de café verde e observaram que a incorporação afetou positivamente o teor de compostos fenólicos, proporcionando um aumento de até 62% em comparação com a controle, além de melhorar o potencial antioxidante dos produtos. Comportamento semelhante também foi observado por Świeca et al. (2017) e Zain, Baba e Shori (2018), em seus estudos com pão de trigo incorporado com farinha de café verde.

Os ensaios com os radicais ABTS e DPPH apresentam algumas diferenças importantes. O método DPPH fornece valores mais baixos relacionados ao Trolox do que o método ABTS (ZHAO et al., 2008; FLOEGEL et al., 2011; MAREČEK et al., 2017), devido à maior estabilidade e menor reatividade do radical DPPH, em que apenas agentes redutores fortes são capazes de reagir com este radical. Além disso, o radical DPPH reage com polifenóis, mas não com os ácidos fenólicos e açúcares. Por outro lado, o radical ABTS possui a vantagem de possuir alta reatividade e, portanto, a capacidade de reagir com uma ampla gama de antioxidantes (MAREČEK et al., 2017). Dessa forma, os espectros de antioxidantes determinados pelo DPPH e pelo ABTS são parcialmente diferentes.

Além disso, os compostos fenólicos são capazes de interagir com proteínas, carboidratos, lipídios e outros compostos fenólicos presentes na matriz alimentar, e essas interações com os componentes do alimento podem influenciar a sua bioatividade (SĘCZYK; ŚWIECA; GAWLIK-DZIKI, 2017; ŚWIECA et al., 2017). As interações proteína-fenólicos podem mascarar parcialmente a atividade anti-radical de compostos fenólicos bloqueando seus grupos reativos (SĘCZYK; ŚWIECA; GAWLIK-DZIKI, 2017). Teoricamente, essas alterações na estrutura dos compostos antioxidantes podem afetar sua reatividade com os radicais, podendo levar à subestimação da capacidade antioxidante total do produto (WOOTTON-BEARD; MORAN; RYAN, 2011).

5.5. Estabilidade dos compostos bioativos nas bebidas lácteas durante o armazenamento

O principal desafio na produção de materiais encapsulados consiste no alcance de produtos com características desejáveis, sob custos reduzidos e que se mantenham estáveis durante o armazenamento (FERNANDES et al., 2017; CARMO et al., 2018). No entanto, é importante também avaliar o comportamento dos componentes encapsulados quando aplicado na matriz alimentícia, como forma de verificar possíveis alterações e garantir a manutenção e estabilidade dos compostos bioativos no produto ao longo do seu armazenamento.

A Figura 10 apresenta o teor de cafeína, ácido clorogênico e trigonelina nas bebidas lácteas incorporadas com os extratos encapsulados de café verde ao longo do armazenamento. As concentrações de cafeína, ácido clorogênico e trigonelina não diferiram estatisticamente entre os tratamentos estudados (Figuras 10A, 10C e 10E), porém houve alteração em relação ao tempo de armazenamento. Observou-se variação do teor de cafeína de 0,46 a 0,71 mg/mL (Figura 10A). A concentração de ácido clorogênico variou de 0,53 a 0,85 mg/mL (Figura 10C) e quantidade de trigonelina aumentou de 0,26 a 0,41 mg/mL (Figura 10E).

Para melhor entendimento do comportamento de cada composto bioativo ao longo do armazenamento foi aplicada a análise de regressão sobre as médias dos tratamentos (Figuras 10B, 10D e 10F).

Os modelos matemáticos ajustados para descrever o comportamento de cada composto bioativo nas bebidas lácteas, bem como seus respectivos valores de coeficiente de determinação (R^2) estão apresentados na Tabela 8. O modelo matemático que melhor se ajustou aos dados foi o modelo polinomial linear, para todos os compostos bioativos estudados, apresentando valores de coeficiente de determinação (R^2) satisfatórios, sendo acima de 0,8.

Tabela 8 – Modelos ajustados para cafeína, ácido clorogênico e trigonelina

Composto bioativo	Modelo ajustado	Coefficiente de determinação (R^2)
Cafeína	$Y = 0,0008x + 0,5331$	0,9443
Ácido Clorogênico	$Y = 0,0010x + 0,6269$	0,9446
Trigonelina	$Y = 0,0005x + 0,3024$	0,8256

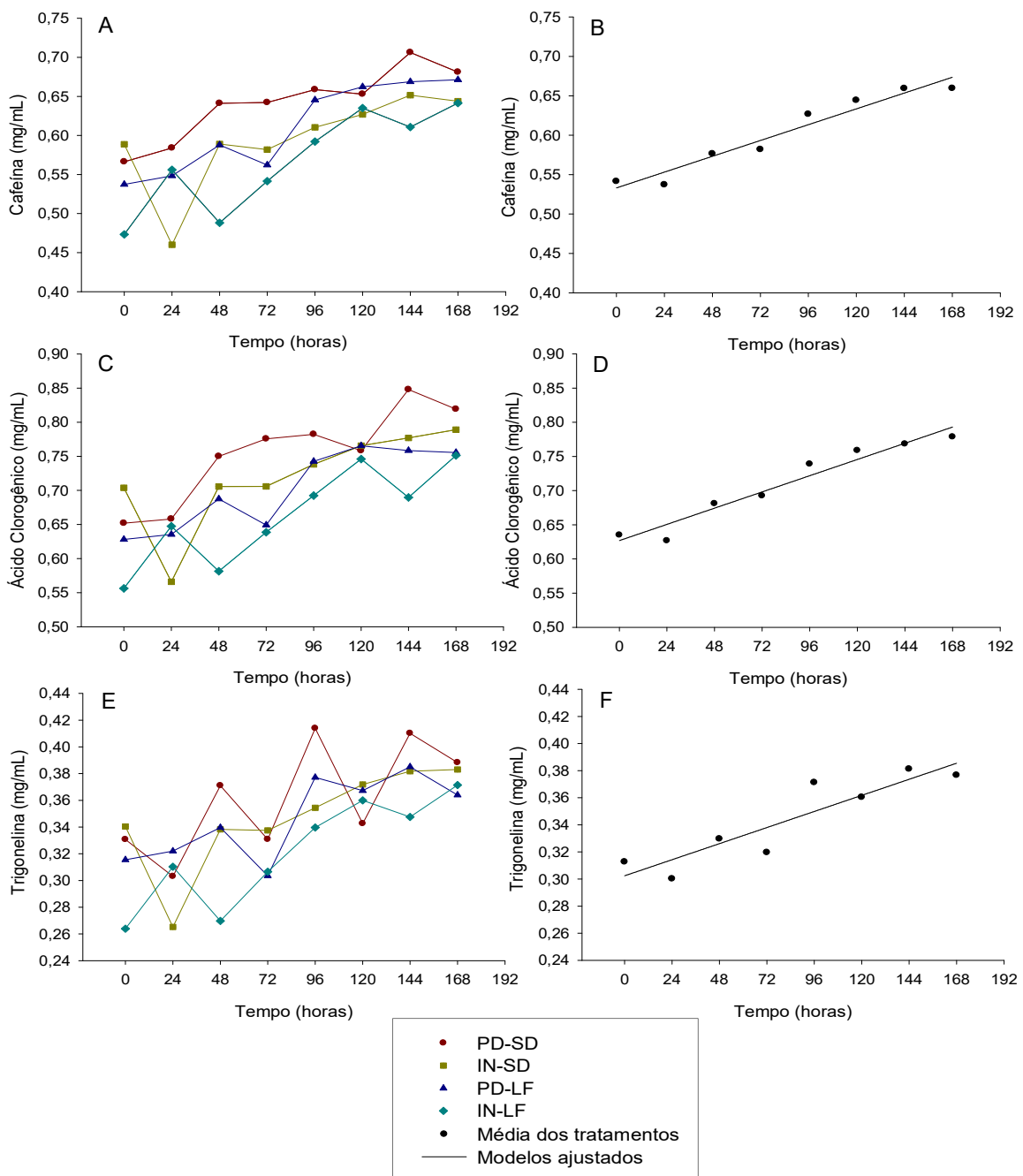


Figura 10 - Conteúdo de cafeína, ácido clorogênico e trigonelina durante armazenamento das bebidas lácteas incorporadas com os extratos encapsulados de café verde.

A: dispersão do teor de cafeína nas diferentes bebidas incorporadas; B: comportamento geral da cafeína para todas as bebidas; C: dispersão do teor de ácido clorogênico nas diferentes bebidas incorporadas; D: comportamento geral do ácido clorogênico para todas as bebidas; E: dispersão do teor de trigonelina nas diferentes bebidas incorporadas; F: comportamento geral da trigonelina para todas as bebidas; PD-SD: bebida adicionada do extrato encapsulado com povidexrose por *spray dryer*; IN-SD: bebida adicionada do extrato encapsulado com inulina por *spray dryer*; PD-LF: bebida adicionada do extrato encapsulado com povidexrose por liofilização; IN-LF: bebida adicionada do extrato encapsulado com inulina por liofilização.

Ao observar as Figura 10B, 10D e 10F e os modelos estatísticos (Tabela 8), todos os compostos bioativos tiveram comportamento semelhante, com aumento da sua concentração nas bebidas lácteas ao longo dos sete dias de armazenamento. Este fato pode ser atribuído a uma importante característica de materiais microencapsulados, que é a liberação controlada do material ativo com o decorrer do tempo. Por meio desse mecanismo, os compostos bioativos encapsulados são liberados de forma gradativa no meio em que são dispersos, promovendo, dessa forma, maior manutenção desses compostos na matriz alimentícia (PEREIRA et al., 2018).

O perfil de liberação controlada foi estudo por Campelo-Felix et al. (2017) em micropartículas de óleo essencial de lima, utilizando prebióticos como a oligofrutose e inulina como material de parede. Os resultados demonstraram que as micropartículas contendo os polímeros prebióticos em sua composição permitiram uma taxa de liberação constante (linear) do óleo essencial. García, Vergara e Robert (2015) mencionam que os estudos sobre o comportamento de liberação são importantes para avaliar a aplicabilidade das micropartículas. Neste caso, quando a liberação é lenta as micropartículas podem ser utilizadas no desenvolvimento de alimentos com propriedades funcionais, pois permite maior manutenção do conteúdo do composto bioativo no alimento, proporcionando maior bioacessibilidade. Por outro lado, quando a liberação é rápida, o composto bioativo fica exposto à matriz alimentar e pode sofrer degradação e/ou interações com macromoléculas, diminuindo sua bioacessibilidade. Neste último caso, as micropartículas seriam mais adequadas para uso em alimentos instantâneos.

Sabe-se que a estabilidade do ácido clorogênico pode ser afetada quando este é exposto a elevadas temperaturas ou condições alcalinas, podendo ser isomerizados, hidrolisados ou decompostos a compostos de baixo peso molecular (NARITA; INOUYE, 2015). O mesmo ocorre para a trigonelina, que é um alcalóide que apresenta instabilidade térmica, podendo sofrer degradação a elevadas temperaturas (FARAH, 2012; CAPORASO et al., 2018). Por outro lado, a cafeína é estável a elevadas temperaturas (FARAH, 2012; WEI; TANOKURA, 2015). Ressalta-se que as condições utilizadas no presente estudo para a elaboração das bebidas lácteas incorporadas com os extratos encapsulados e durante o armazenamento do produto, não envolveram condições elevadas de temperaturas ou de valores de pH que

pudessem afetar de fato a estabilidade desses compostos bioativos e seu conteúdo no produto formulado.

Outro fato que pode ter contribuído para esse comportamento de aumento do conteúdo dos compostos bioativos ao longo do tempo, é que o método de extração utilizado nas bebidas lácteas foi eficiente para remover a cafeína, ácido clorogênico e trigonelina que se encontravam solubilizados nas bebidas lácteas. Porém, não foi eficiente para extrair os compostos bioativos que estavam ainda protegidos nas microcápsulas. Dessa forma, sugere-se novos estudos para avaliar a eficácia de diferentes métodos de extração dos compostos estudados.

5.6. Acidez das bebidas lácteas ao longo do armazenamento

Semelhante aos resultados da estabilidade dos compostos bioativos analisados, não houve diferença na acidez das bebidas lácteas entre os tratamentos, porém o fator tempo de armazenamento foi significativo ($p \leq 0,05$). Dessa forma, as técnicas e os agentes encapsulantes utilizados não interferiram na acidez do produto final.

Para caracterizar as bebidas lácteas em relação a acidez, as médias encontradas para cada tratamento ao longo do armazenamento estão apresentadas na Figura 11A. Observa-se que a acidez variou de 0,19 a 0,26% entre as amostras analisadas. Assim, para melhor compreensão do comportamento desta variável ao longo do armazenamento foi aplicada a análise de regressão sobre as médias dos tratamentos (Figura 11B).

O modelo matemático que melhor se ajustou aos dados foi o modelo polinomial quadrático (Equação 2), apresentando um coeficiente de determinação (R^2) satisfatório, igual a 0,8775.

$$Y = 0,2600 - 0,0009x + 0,00000348x^2 \quad (\text{Equação 2})$$

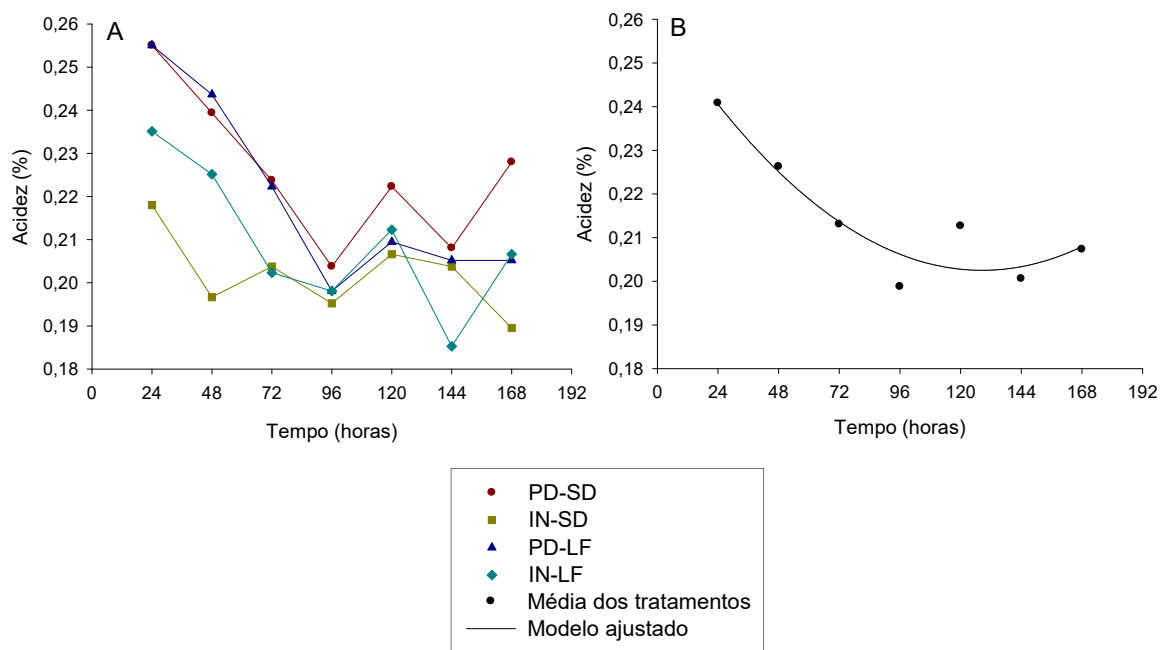


Figura 11 - Acidez das bebidas lácteas incorporadas com os extratos encapsulados de café verde.

A: acidez nas diferentes bebidas lácteas incorporadas; B: comportamento geral da acidez para todas as bebidas lácteas; PD-SD: bebida adicionada do extrato encapsulado com polidextrose por *spray dryer*; IN-SD: bebida adicionada do extrato encapsulado com inulina por *spray dryer*; PD-LF: bebida adicionada do extrato encapsulado com polidextrose por liofilização; IN-LF: bebida adicionada do extrato encapsulado com inulina por liofilização.

A acidez das bebidas lácteas diminuiu ao longo dos sete dias de armazenamento, conforme apresentado na Figura 11B e Equação 2. Este fato pode ser atribuído a liberação de compostos com propriedades básicas presentes nos extratos de café verde encapsulados, como por exemplo a cafeína e a trigonelina. Segundo Martinez et al. (2014) a cafeína é um alcaloide, que apresenta átomos de nitrogênio em seu anel heterocíclico, e possuem caráter alcalino, sendo uma característica típica dos compostos da família dos alcaloides. Os grãos de café verde são ricos em cafeína e a trigonelina, sendo estes os principais representantes da classe dos alcaloides na composição do café (YISAK; REDI-ABSHIRO; CHANDRAVANSI, 2018).

Azami et al. (2018) observaram acidez em torno de 0,15 a 0,16% durante armazenamento de 14 dias, a 4 °C, de bebida láctea contendo extrato de alcaçuz e cacau em pó. Oselame (2013) obtiveram valores variando de 0,18 a 0,19% para bebidas lácteas não fermentadas achocolatadas. De acordo com Thamer e Penna

(2006), a acidez exerce forte influência sobre os atributos de qualidade dos produtos lácteos, sendo um dos fatores que limita sua aceitação. Assim, a baixa acidez das bebidas lácteas não fermentadas pode favorecer a sua aceitabilidade pelos consumidores.

5.7. Análise sensorial das bebidas lácteas

Antes de realizar a análise sensorial foi realizada a contagem de coliformes totais e de coliformes termotolerantes nas bebidas lácteas. As contagens obtidas (Tabela 9) nas bebidas lácteas encontram-se dentro do limite estipulado pela legislação brasileira, que estabelece limite máximo de 10 NMP/mL para coliformes totais e 5 NMP/mL para coliformes termotolerantes (BRASIL, 2005). Dessa forma, o processamento dos produtos foi realizado sob condições higiênico-sanitárias adequadas.

Tabela 9 – Contagem de coliformes totais e termotolerantes nas bebidas lácteas

Amostra	Coliformes totais (NMP/mL)	Coliformes termotolerantes (NMP/mL)
CT	4,67	3,00
PD-SD	7,33	3,20
IN-SD	8,60	3,40
PD-LF	6,73	3,40
IN-LF	9,40	4,67

Valores expressos como média (N° repetições = 3). CT: controle; PD-SD: bebida adicionada do extrato encapsulado com povidexose por *spray dryer*; IN-SD: bebida adicionada do extrato encapsulado com inulina por *spray dryer*; PD-LF: bebida adicionada do extrato encapsulado com povidexose por liofilização; IN-LF: bebida adicionada do extrato encapsulado com inulina por liofilização.

O efeito da incorporação do extrato de café verde encapsulado nas bebidas lácteas sobre os atributos sensoriais do produto está apresentado na Tabela 10.

A aceitação do atributo aparência foi significativamente menor ($p \leq 0,05$) para as bebidas lácteas incorporadas com extrato de café verde quando comparadas com a bebida CT. Para os atributos de aroma e corpo não houve diferenças significativas ($p > 0,05$) entre as amostras estudadas. A análise estatística entre as amostras com extrato de café verde revelou que as diferentes técnicas e os agentes utilizados para

encapsulação não interferiram nos atributos de aparência, aroma e corpo das bebidas lácteas.

Tabela 10 – Média dos escores hedônicos obtidos na análise sensorial das bebidas lácteas incorporadas com café verde.

Amostras	Atributos					
	Aparência	Aroma	Corpo	Sabor	Impressão global	Intenção de compra
CT	7,97	7,30	7,26	7,68	7,58	4,04
PD-SD	7,20 ^{*a}	7,24 ^a	7,11 ^a	7,32 ^{*a}	7,28 ^{*a}	3,74 ^{*a}
IN-SD	7,31 ^{*a}	7,05 ^a	7,26 ^a	7,30 ^{*a}	7,31 ^{*a}	3,74 ^{*a}
PD-LF	7,16 ^{*a}	7,18 ^a	7,26 ^a	7,76 ^b	7,43 ^{ab}	3,93 ^{ab}
IN-LF	7,31 ^{*a}	7,26 ^a	7,23 ^a	7,81 ^b	7,64 ^b	3,97 ^b

CT: controle; PD-SD: bebida adicionada do extrato encapsulado com polidextrose por *spray dryer*; IN-SD: bebida adicionada do extrato encapsulado com inulina por *spray dryer*; PD-LF: bebida adicionada do extrato encapsulado com polidextrose por liofilização; IN-LF: bebida adicionada do extrato encapsulado com inulina por liofilização. * indica diferença significativa entre o controle e as amostras pelo teste Dunnett. Médias seguidas por letras minúsculas diferentes, em uma mesma coluna, diferem entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Em relação aos atributos sabor, impressão global e intenção de compra, as bebidas lácteas adicionadas com os extratos de café verde liofilizados não diferiram da bebida CT ($p > 0,05$). Por outro lado, as bebidas com extratos encapsulados por *spray dryer* apresentaram escores significativamente menores ($p \leq 0,05$), em relação ao CT para esses atributos. Ainda, comparando as diferentes técnicas e materiais de encapsulação, as amostras com extratos de café verde liofilizados apresentaram melhor sabor ($p \leq 0,05$) em relação às bebidas com extratos encapsulados por *spray dryer*. Para impressão global e intenção de compra, a bebida IN-LF apresentou escores significativamente maiores que as bebidas adicionadas dos extratos encapsulados por *spray dryer*.

Além das propriedades nutricionais das bebidas adicionadas de café verde e das propriedades funcionais das fibras alimentares (inulina e polidextrose), os atributos sensoriais são fatores importantes para a aceitação do consumidor (SĘCZYK; ŚWIECA; GAWLIK-DZIKI, 2017). Com base nas pontuações recebidas, todos os produtos testados apresentaram boa aceitação sensorial pelos consumidores, em que todas as médias dos atributos situaram-se entre os termos hedônicos “gostei

moderadamente” a “gostei muito” para a aceitação, e entre os termos “talvez compraria/ talvez não compraria” a “provavelmente compraria” para intenção de compra. No entanto, as bebidas lácteas incorporadas com os extratos liofilizados apresentaram melhores aceitação para sabor, impressão global e intenção de compra, em que a bebida IN-LF apresentou maior aceitação para estes dois últimos atributos quando comparada às bebidas incorporadas com os extratos encasulados por *spray dryer*.

Outros estudos também investigaram a influência da incorporação de extrato de café verde nos atributos sensoriais de produtos alimentícios. Sęczyk, Świeca e Gawlik-Dziki (2017) estudaram a fortificação de leite de soja com extrato de café verde e verificaram que as bebidas formuladas foram moderadamente aceitáveis, obtendo médias dos escores hedônicos variando de 4,3 a 5,5, em que a adição do extrato influenciou positivamente o aroma, textura, sabor e impressão global dos produtos. Dziki et al. (2015) obtiveram médias hedônicas variando de 6,2 a 8,4 para aroma, sabor e impressão global de pão de trigo enriquecido com farinha de café verde, apresentando boa aceitação pelos consumidores. Por outro lado, a inulina tem ampla aplicação na indústria de alimentos e vem sendo utilizada nas formulações em razão das suas propriedades nutricionais, aumentando o teor de fibras dos produtos (PIMENTEL; GARCIA; PRUDENCIO, 2012). Por conter frutose, glicose e sacarose é ligeiramente doce, o que pode ter contribuído para o sabor das bebidas lácteas, melhorando a aceitação desse atributo.

6. CONCLUSÃO

O uso das técnicas de *spray dryer* e liofilização, bem como o uso dos agentes povidona e inulina foram eficientes na microencapsulação do extrato de café verde, permitindo a produção de extratos encapsulados com quantidades consideráveis de fenólicos totais, cafeína, ácido clorogênico, trigonelina e elevada atividade antioxidante. Em relação as características físicas das amostras encapsuladas, as técnicas e os agentes utilizados exerceram influência significativa, em que os extratos encapsulados pelo processo de liofilização com inulina apresentaram características mais desejáveis como menor umidade, atividade de água e higroscopicidade.

A adição dos extratos de café verde encapsulados em bebidas lácteas não fermentadas proporcionou o aumento do conteúdo fenólico e propriedades antioxidantes dos produtos formulados. Além disso, a microencapsulação do extrato de café verde permitiu a liberação controlada dos compostos bioativos, possibilitando uma maior manutenção desses compostos nas bebidas ao longo do armazenamento.

As bebidas lácteas incorporadas com os extratos encapsulados apresentaram boa aceitação pelos consumidores, em que o produto formulado com o extrato liofilizado com inulina apresentou melhor aceitação para impressão global e intenção de compra.

Dessa forma, a microencapsulação de extratos de café verde mostrou ser uma técnica promissora para a obtenção compostos bioativos, apresentando potencial aplicação em produtos alimentícios visando a elaboração de produtos com propriedades funcionais.

Para estudos futuros sugere-se avaliar o comportamento dos extratos encapsulados sob diferentes condições de armazenamento, como alterações de umidade, temperatura e tempo de estocagem. Ainda, sugere-se a aplicação dos extratos encapsulados em outras matrizes alimentícias.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAHÃO, S. A.; PEREIRA, R. G. F. A.; LIMA, A. R.; FERREIRA, E. B.; MALTA, M. R. Compostos bioativos em café integral e descafeinado e qualidade sensorial da bebida. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 43, n. 12, p. 1799–1804, 2008.

ABRAHÃO, S. A.; PEREIRA, R. G. F. A.; DUARTE, S. M. DA S.; LIMA, A. R.; ALVARENGA, D. J.; FERREIRA, E. B. COMPOSTOS BIOATIVOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO CAFÉ (*Coffea arabica* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, n. 2, p. 414–420, 2010.

ABRAHÃO, F. R.; ROCHA, L. C. R.; SANTOS, T. A.; DO CARMO, E. L.; PEREIRA, L. A. S.; BORGES, S. V.; PEREIRA, R. G. F. A.; BOTREL, D. A. Microencapsulation of bioactive compounds from espresso spent coffee by spray drying. **LWT - Food Science and Technology**, v. 103, p. 116–124, 2019.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Justificativas para os limites mínimos e máximos de nutrientes, substâncias bioativas e enzimas da proposta regulatória de suplementos alimentares**. Brasília: 2018. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/3845226/0/Justificativa_Limites_Suplementos.pdf/e265ccd0-8361-4d8e-a33f-ce8b2ca69424>. Acesso em: 10 ago. 2018.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Alegações de propriedade funcional aprovadas**. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/resultado-de-busca?p_p_id=101&p_p_lifecycle=0&p_p_state=maximized&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_count=1&_101_struts_action=%2Fasset_publisher%2Fview_content&_101_assetEntryId=363177&_101_type=content&_101_groupId=33916&_101_urlTitle=alegacoes-de-propriedade-funcional-aprovadas&redirect=http%3A%2F%2Fportal.anvisa.gov.br%2Fresultado-de-busca%3Fp_p_id%3D3%26p_p_lifecycle%3D0%26p_p_state%3Dnormal%26p_p_mode%3Dview%26p_p_col_id%3Dcolumn-1%26p_p_col_count%3D1%26_3_groupId%3D0%26_3_keywords%3DPROPRIEDADES%2BFUNCIONAL%2BAPROVADAS%26_3_cur%3D1%26_3_struts_action%3D%252Fsearch%252Fsearch%26_3_format%3D%26_3_formDate%3D1441824476958&inheritRedirect=true>. Acesso em: 16 jan. 2019.

AGUIAR, J.; ESTEVINHO, B. N.; SANTOS, L. Microencapsulation of natural antioxidants for food application – The specific case of coffee antioxidants – A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 58, p. 21–39, 2016.

ASHIHARA, H. Plant Biochemistry: Trigonelline Biosynthesis in *Coffea arabica* and *Coffea canephora*. In: PREEDY, V. (Ed.). **Coffee in Health and Disease Prevention**. London: Academic Press. 1 ed. 2015. p. 19–28.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE CAFÉ (ABIC). **O Café - História**. Disponível em: <<http://abic.com.br/cafe-com/historia/>>. Acesso em: 22 abr. 2018.

AZAMI, T.; NIAKOUSARI, M.; HASHEMI, S. M. B.; TORRI, L. A three-step sensory-based approach to maximize consumer acceptability for new low-sugar licorice-chocolate-flavored milk drink. **LWT - Food Science and Technology**, v. 91, p. 375–381, 2018.

BABOVA, O.; OCCHIPINTI, A.; MAFFEI, M. E. Chemical partitioning and antioxidant capacity of green coffee (*Coffea arabica* and *Coffea canephora*) of different geographical origin. **Phytochemistry**, v. 123, p. 33–39, 2016.

BAEZA, G.; AMIGO-BENAVENT, M.; SARRIÁ, B.; GOYA, L.; MATEOS, R.; BRAVO, L. Green coffee hydroxycinnamic acids but not caffeine protect human HepG2 cells against oxidative stress. **Food Research International**, v. 62, p. 1038–1046, 2014.

BALLESTEROS, L. F.; RAMIREZ, M. J.; ORREGO, C. E.; TEIXEIRA, J. A.; MUSSATTO, S. I. Encapsulation of antioxidant phenolic compounds extracted from spent coffee grounds by freeze-drying and spray-drying using different coating materials. **Food Chemistry**, v. 237, p. 623–631, 2017.

BARREIROS, A. C. B. V. **Inulina como agente encapsulante de compostos bioativos**. 2009, 87 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Alimentar) – Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Lisboa – Portugal, 2009.

BERK, Z. Freeze drying (lyophilization) and freeze concentration. In: BERK, Z. (Ed.). **Food Process Engineering and Technology**. Academic Press. 3 ed. 2018. p. 567 – 581.

BERNARDES, A. L.; MOREIRA, J. A.; TOSTES, M. DAS G. V.; COSTA, N. M. B.; SILVA, P. I.; COSTA, A. G. V. In vitro bioaccessibility of microencapsulated phenolic compounds of jussara (*Euterpe edulis* Martius) fruit and application in gelatine model-system. **LWT - Food Science and Technology**, v. 102, p. 173–180, 2019.

BORGES, L. L.; LÚCIO, T. C.; GIL, E. DE S.; BARBOSA, E. F. Uma abordagem sobre métodos analíticos para determinação da atividade antioxidante em produtos naturais. **Enciclopédia Biosfera**, v. 7, n. 12, p. 1–20, 2011.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**, v. 28, p. 25–30, 1995.

BRASIL. Ministério de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 8**, de 11 de junho de 2003. Dispõe de Regulamento Técnico de Identidade e de Qualidade para a Classificação do Café Beneficiado Grão Cru. Brasília, DF, 2003. 12p.

BRASIL. Ministério de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 16**, de 23 de agosto de 2005. Dispõe de Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebida Lácteas. Brasília, DF, 2005. 17p.

BRASIL. Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 45**, de 03 de novembro de 2010. Dispõe sobre aditivos alimentares autorizados para uso segundo as Boas Práticas de Fabricação (BPF). Brasília, DF, 2010. 27p.

BRAVO, J.; MONENTE, C.; JUÁNIZ, I.; DE PEÑA, M. P.; CID, C. Influence of extraction process on antioxidant capacity of spent coffee. **Food Research International**, v. 50, n. 2, p. 610–616, 2013.

BUDRYN, G.; ZYZELEWICZ, D.; NEBESNY, E.; ORACZ, J.; KRYSIAK, W. Influence of addition of green tea and green coffee extracts on the properties of fine yeast pastry fried products. **Food Research International**, v. 50, p. 149–160, 2013.

BUDRYN, G.; NEBESNY, E.; ZYZELEWICZ, D.; ORACZ, J. Properties of model systems of sunflower oil and green coffee extract after heat treatment and storage. **LWT - Food Science and Technology**, v. 59, p. 467–478, 2014.

BURDOCK, G. A.; FLAMM, W. G. A review of the studies of the safety of polydextrose in food. **Food and Chemical Toxicology**, v. 37, p. 233–264, 1999.

CAI, Y. Z.; CORKE, H. Production and properties of spray-dried *Amaranthus betacyanin* pigments. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 6, p. 1248–1252, 2000.

CAMPA, C.; BALLESTER, J. F.; DOULBEAU, S.; DUSSERT, S.; HAMON, S.; NOIROT, M. Trigonelline and sucrose diversity in wild *Coffea* species. **Food Chemistry**, v. 88, p. 39–43, 2004.

CAMPELO-FELIX, P. H.; SOUZA, H. J. B.; FIGUEIREDO, J. D. A.; FERNANDES, R. V. D. B.; BOTREL, D. A.; DE OLIVEIRA, C. R.; YOSHIDA, M. I.; BORGES, S. V. Prebiotic carbohydrates: Effect on reconstitution, storage, release, and antioxidant properties of lime essential oil microparticles. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 65, p. 445–453, 2017.

CAPORASO, N.; WHITWORTH, M. B.; GREBBY, S.; FISK, I. D. Non-destructive analysis of sucrose, caffeine and trigonelline on single green coffee beans by hyperspectral imaging. **Food Research International**, v. 106, p. 193–203, 2018.

CARMO, E. L. DO; TEODORO, R. A. R.; FÉLIX, P. H. C.; FERNANDES, R. V. DE B.; OLIVEIRA, É. R. DE; VEIGA, T. R. L. A.; BORGES, S. V.; BOTREL, D. A. Stability of spray-dried beetroot extract using oligosaccharides and whey proteins. **Food Chemistry**, v. 249, p. 51–59, 2018.

CASSOL, L. **Extração de compostos bioativos do hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.) por micro-ondas e seu encapsulamento por atomização e liofilização**. 2018. 122 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, 2018.

CHAMPAGNE, C. P.; FUSTIER, P. Microencapsulation for the improved delivery of bioactive compounds into foods. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 18, n. 2, p. 184–190, 2007.

CHE MAN, Y. B.; IRWANDI, J.; ABDULLAH, W. J. W. Effect of different types of maltodextrin and drying methods on physico-chemical and sensory properties of encapsulated durian flavour. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 79, p. 1075–1080, 1999.

CHEN, C.; CHI, Y. J.; XU, W. Comparisons on the Functional Properties and Antioxidant Activity of Spray-Dried and Freeze-Dried Egg White Protein Hydrolysate. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, p. 2342–2352, 2012.

CHOI, B. K.; PARK, S. B.; LEE, D. R.; LEE, H. J.; JIN, Y. Y.; YANG, S. H.; SUH, J. W. Green coffee bean extract improves obesity by decreasing body fat in high-fat diet-induced obese mice. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 9, n. 7, p. 635–643, 2016.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **Acompanhamento da safra brasileira: Café**. v. 5, n. 4. Brasília, DF, dez. 2018, 84 p.

CONSELHO DOS EXPORTADORES DE CAFÉ NO BRASIL (CECAFE). **Exportações Brasileiras**. Disponível em: <<https://www.cecafe.com.br/dados-estatisticos/exportacoes-brasileiras/>>. Acesso em: 4 dez. 2018.

COUTO, R. O.; MARTINS, F. S.; CHAUL, L. T.; CONCEIÇÃO, E. C.; FREITAS, L. A. P.; BARA, M. T. F.; PAULA, J. R. Spray drying of *Eugenia dysenterica* extract: Effects of in-process parameters on product quality. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 23, n. 1, p. 115–123, 2013.

DA SILVEIRA, E. O. D.; LOPES NETO, J. H.; SILVA, L. A. D.; RAPOSO, A. E. S.; MAGNANI, M.; CARDARELLI, H. R. The effects of inulin combined with oligofructose and goat cheese whey on the physicochemical properties and sensory acceptance of a probiotic chocolate goat dairy beverage. **LWT - Food Science and Technology**, v. 62, p. 445–451, 2015.

DAGLIA, M.; TARSI, R.; PAPETTI, A.; GRISOLI, P.; DACARRO, C.; PRUZZO, C.; GAZZANI, G. Antiadhesive effect of green and roasted coffee on *Streptococcus*

mutans' adhesive properties on saliva-coated hydroxyapatite beads. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 1225–1229, 2002.

DAZA, L. D.; FUJITA, A.; FÁVARO-TRINDADE, C. S.; RODRIGUES-RACT, J. N.; GRANATO, D.; GENOVESE, M. I. Effect of spray drying conditions on the physical properties of Cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) fruit extracts. **Food and Bioprocess Technology**, v. 97, p. 20–29, 2016.

DIAS, C. O.; DE ALMEIDA, J. DOS S. O.; PINTO, S. S.; SANTANA, F. C. DE O.; VERRUCK, S.; MÜLLER, C. M. O.; PRUDÊNCIO, E. S.; AMBONI, R. D. DE M. C. Development and physico-chemical characterization of microencapsulated bifidobacteria in passion fruit juice: A functional non-dairy product for probiotic delivery. **Food Bioscience**, v. 24, p. 26–36, 2018.

DÖNMEZ, Ö.; MOGOL, B. A.; GÖKMEN, V. Syneresis and rheological behaviors of set yogurt containing green tea and green coffee powders. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 2, p. 901–907, 2017.

DZIKI, D.; GAWLIK-DZIKI, U.; PECIO, Ł.; RÓZYŁO, R.; ŚWIECA, M.; KRZYKOWSKI, A.; RUDY, S. Ground green coffee beans as a functional food supplement - Preliminary study. **LWT - Food Science and Technology**, v. 63, p. 691–699, 2015.

EASTMAN, J. E.; MOORE, C. O. **Cold Water Soluble Granular Starch for Gelled Food Composition**. U.S. Patent 4465702, 14 ago. 1984.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). **Notícias**. 2018. Disponível em: < <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/31768082/brasil-consome-215-milhoes-de-sacas-de-cafe-em-2017>>. Acesso em: 22 abr. 2018.

FARAH, A. Coffee constituents. In: CHU, Y. F. (Ed.). **Coffee: Emerging Health Effects and Disease Prevention**. United States of America (USA): Blackwell Publishing Ltd. 1 ed. 2012. p. 21-58.

FARAH, A.; DUARTE, G. Bioavailability and Metabolism of Chlorogenic Acids from Coffee. In: PREEDY, V. (Ed.). **Coffee in Health and Disease Prevention**. London: Academic Press. 1 ed. 2015. p. 789–801.

FASSIO, L. H.; SILVA, A. E. S. Importância econômica e social do café Conilon. In: FERRÃO, R. G.; FONSECA, A. F. A.; BRAGANÇA, S. M.; FERRÃO, M. A. G.; DE MUNER, L. H. (Ed.). **Café Conilon**. Vitória, ES: Incaper. 1 ed. 2007. p. 35-49.

FELLOWS, P. J. Freeze drying and freeze concentration. In: FELLOWS, P. J. (Ed.). **Food Processing Technology: Principles and Practice**. Woodhead Publishing. 4 ed. 2017. p. 929 – 945.

FERNANDES, R. V. D. B.; BORGES, S. V.; BOTREL, D. A. Gum arabic/starch/maltodextrin/inulin as wall materials on the microencapsulation of rosemary essential oil. **Carbohydrate Polymers**, v. 101, p. 524–532, 2014.

FERNANDES, R. V. DE B.; SILVA, E. K.; BORGES, S. V.; DE OLIVEIRA, C. R.; YOSHIDA, M. I.; DA SILVA, Y. F.; DO CARMO, E. L.; AZEVEDO, V. M.; BOTREL, D. A. Proposing Novel Encapsulating Matrices for Spray-Dried Ginger Essential Oil from the Whey Protein Isolate-Inulin/Maltodextrin Blends. **Food and Bioprocess Technology**, v. 10, p. 115–130, 2017.

FERRÃO, M. A. G.; FERRÃO, R. G.; FONSECA, A. F. A.; VERDIM FILHO, A. C.; VOLPI, P. S. Origem, dispersão geográfica, taxonomia e diversidade genética de *Coffea canephora*. In: FERRÃO, R. G.; FONSECA, A. F. A.; BRAGANÇA, S. M.; FERRÃO, M. A. G.; DE MUNER, L. H. (Ed.). **Café Conilon**. Vitória, ES: Incaper. 1 ed. 2007. p. 65-91.

FLOEGEL, A.; KIM, D. O.; CHUNG, S. J.; KOO, S. I.; CHUN, O. K. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, p. 1043–1048, 2011.

FRANCA, A. S.; OLIVEIRA, L. S. Coffee and its by-products as sources of bioactive compounds. In: MASSEY, J. L. (Ed.). **Coffee: Production, Consumption and Health Benefits**. New York, USA: Nova Science Publishers. 2016. p. 1-28.

GARAMBONE, E.; ROSA, G. Possíveis benefícios do Ácido Clorogênico à saúde. **Alimentos e Nutrição**, v. 18, n. 2, p. 229–235, 2007.

GARCÍA, P.; VERGARA, C.; ROBERT, P. Release Kinetic in Yogurt from Gallic Acid Microparticles with Chemically Modified Inulin. **Journal of Food Science**, v. 80, n. 10, p. 2147–2152, 2015.

GAWLIK-DZIKI, U.; ŚWIECA, M.; DZIKI, D.; KOWALSKA, I.; PECIO, Ł.; DURAK, A.; SECZYK, Ł. Lipoxigenase inhibitors and antioxidants from green coffee-mechanism of action in the light of potential bioaccessibility. **Food Research International**, v. 61, p. 48–55, 2014.

GEROMEL, C.; FERREIRA, L. P.; GUERREIRO, S. M. C.; CAVALARI, A. A.; POT, D.; PEREIRA, L. F. P.; LEROY, T.; VIEIRA, L. G. E.; MAZZAFERA, P.; MARRACCINI, P. Biochemical and genomic analysis of sucrose metabolism during coffee (*Coffea arabica*) fruit development. **Journal of Experimental Botany**, v. 57, n. 12, p. 3243–3258, 2006.

GETACHEW, A. T.; CHUN, B. S. Influence of hydrothermal process on bioactive compounds extraction from green coffee bean. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 38, p. 24–31, 2016.

GHARSALLAOUI, A.; ROUDAUT, G.; CHAMBIN, O.; VOILLEY, A.; SAUREL, R. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. **Food Research International**, v. 40, n. 9, p. 1107–1121, 2007.

GOUTHAMCHANDRA, K.; SUDEEP, H. V.; VENKATESH, B. J.; SHYAM PRASAD, K. Chlorogenic acid complex (CGA7), standardized extract from green coffee beans exerts anticancer effects against cultured human colon cancer HCT-116 cells. **Food Science and Human Wellness**, v. 6, p. 147–153, 2017.

GUEDES, A. F. L. M.; MACHADO, E. C. L.; FONSECA, M. C.; ANDRADE, S. A. C.; STAMFORD, T. L. M. Aproveitamento de soro lácteo na formulação de bebidas com frutas e hortaliças. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, n. 4, p. 1231–1238, 2013.

GUPTA, N.; JANGID, A. K.; POOJA, D.; KULHARI, H. Inulin: A novel and stretchy polysaccharide tool for biomedical and nutritional applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 132, p. 852–863, 2019.

HAMON, P.; RAKOTOMALALA, J.J.; AKAFFOU, S.; RAZAFINARIVO, N. J.; COUTURON, E.; GUYOT, R.; CROUZILLAT, D.; HAMON, S.; KOCHKO, A. Caffeine-free Species in the Genus *Coffea*. In: PREEDY, V. (Ed.). **Coffee in Health and Disease Prevention**. London: Academic Press. 1 ed. 2015. p. 39-44.

IBARRA, A.; ASTBURY, N. M.; OLLI, K.; ALHONIEMI, E.; TIIHONEN, K. Effects of polydextrose on different levels of energy intake. A systematic review and meta-analysis. **Appetite**, v. 87, p. 30–37, 2015.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL). **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 4. ed. São Paulo: IMESP, 2008.

INSTITUTO CAPIXABA DE PESQUISA, ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO RURAL (INCAPER). **Cafeicultura: Café Conilon**. Disponível em: <<https://incaper.es.gov.br/cafeicultura-conilon>>. Acesso em: 23 abr. 2018.

JESZKA-SKOWRON, M.; STANISZ, E.; DE PEÑA, M. P. Relationship between antioxidant capacity, chlorogenic acids and elemental composition of green coffee. **LWT - Food Science and Technology**, v. 73, p. 243–250, 2016.

JIE, Z.; BANG-YAO, L.; MING-JIE, X.; HAI-WEI, L.; ZU-KANG, Z.; TING-SONG, W.; CRAIG, S. A. S. Studies on the effects of polydextrose intake on physiologic functions in Chinese people. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 72, p. 1503–1509, 2000.

KARIMI, R.; AZIZI, M. H.; GHASEMLOU, M.; VAZIRI, M. Application of inulin in cheese as prebiotic, fat replacer and texturizer: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 119, p.

85–100, 2015.

KASPER, J. C.; FRIESS, W. The freezing step in lyophilization: Physico-chemical fundamentals, freezing methods and consequences on process performance and quality attributes of biopharmaceuticals. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 78, n. 2, p. 248–263, 2011.

KESHANI, S.; DAUD, W. R. W.; NOUROUZI, M. M.; NAMVAR, F.; GHASEMI, M. Spray drying: An overview on wall deposition, process and modeling. **Journal of Food Engineering**, v. 146, p. 152–162, 2015.

KOSHIRO, Y.; ZHENG, X.; WANG, M.; NAGAI, C.; ASHIHARA, H. Changes in content and biosynthetic activity of caffeine and trigonelline during growth and ripening of *Coffea arabica* and *Coffea canephora* fruits. **Plant Science**, v. 171, n. 2, p. 242–250, 2006.

KUCK, L. S.; NOREÑA, C. P. Z. Microencapsulation of grape (*Vitis labrusca* var. Bordo) skin phenolic extract using gum Arabic, polydextrose, and partially hydrolyzed guar gum as encapsulating agents. **Food Chemistry**, v. 194, p. 569–576, 2016.

KY, C. L.; LOUARN, J.; DUSSERT, S.; GUYOT, B.; HAMON, S.; NOIROT, M. Caffeine, trigonelline, chlorogenic acids and sucrose diversity in wild *Coffea arabica* L. and *C. canephora* P. accessions. **Food Chemistry**, v. 75, p. 223–230, 2001.

LIMA, E. M. F. **Microencapsulamento por spray dryer de antocianinas e polifenóis de jussara (*Euterpe edulis* MARTIUS) e incorporação em sistemas-modelo de bebidas lácteas**. 2016. 116 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Espírito Santo, Espírito Santo, 2016.

LIYANA-PATHIRANA, C. M.; SHAHIDI, F.; ALASALVAR, C. Antioxidant activity of cherry laurel fruit (*Laurocerasus officinalis* Roem.) and its concentrated juice. **Food Chemistry**, v. 99, p. 121–128, 2006.

LÓPEZ-GALILEA, I.; DE PEÑA, M. P.; CID, C. Correlation of selected constituents with the total antioxidant capacity of coffee beverages: Influence of the brewing procedure. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 6110–6117, 2007.

LUCAS, B. F.; ZAMBIAZI, R. C.; COSTA, J. A. V. Biocompounds and physical properties of açai pulp dried by different methods. **LWT - Food Science and Technology**, v. 98, p. 335–340, 2018.

MAHDAVEE KHAZAEI, K.; JAFARI, S. M.; GHORBANI, M.; HEMMATI KAKHKI, A. Application of maltodextrin and gum Arabic in microencapsulation of saffron petal's anthocyanins and evaluating their storage stability and color. **Carbohydrate Polymers**, v. 105, p. 57–62, 2014.

MAREČEK, V.; MIKYŠKA, A.; HAMPEL, D.; ČEJKA, P.; NEUWIRTHOVÁ, J.; MALACHOVÁ, A.; CERKAL, R. ABTS and DPPH methods as a tool for studying antioxidant capacity of spring barley and malt. **Journal of Cereal Science**, v. 73, p. 40–45, 2017.

MARIA, C. A. B. DE; MOREIRA, R. F. A. Métodos para análise de Ácido Clorogênico. **Química Nova**, v. 27, n. 4, p. 586–592, 2004.

MARTINEZ, H. E. P.; CLEMENTE, J. M.; DE LACERDA, J. S.; NEVES, Y. P.; PEDROSA, A. W. Nutrição mineral do cafeeiro e qualidade da bebida. **Revista Ceres**, v. 61, p. 838–848, 2014.

MENSINK, M. A.; FRIJLINK, H. W.; VAN DER VOORT MAARSCHALK, K.; HINRICHS, W. L. J. Inulin, a flexible oligosaccharide I: Review of its physicochemical characteristics. **Carbohydrate Polymers**, v. 130, p. 405–419, 2015.

MEYER, D.; BAYARRI, S.; TÁRREGA, A.; COSTELL, E. Inulin as texture modifier in dairy products. **Food Hydrocolloids**, v. 25, p. 1881–1890, 2011.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). **Café no Brasil**. 2017. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/politica-agricola/cafe/cafeicultura-brasileira>>. Acesso em: 22 abr. 2018.

MIZUNO, K.; MATSUZAKI, M.; KANAZAWA, S.; TOKIWANO, T.; YOSHIZAWA, Y.; KATO, M. Conversion of nicotinic acid to trigonelline is catalyzed by N - methyltransferase belonged to motif B' methyltransferase family in *Coffea arabica*. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 452, p. 1060–1066, 2014.

MOAYYEDI, M.; ESKANDARI, M. H.; RAD, A. H. E.; ZIAEE, E.; KHODAPARAST, M. H. H.; GOLMAKANI, M. T. Effect of drying methods (electrospraying, freeze drying and spray drying) on survival and viability of microencapsulated *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469. **Journal of Functional Foods**, v. 40, p. 391–399, 2018.

MORAIS, A. R. D. V.; ALENCAR, É. D. N.; XAVIER JÚNIOR, F. H.; OLIVEIRA, C. M. DE; MARCELINO, H. R.; BARRATT, G.; FESSI, H.; EGITO, E. S. T. DO; ELAISSARI, A. Freeze-drying of emulsified systems: A review. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 503, p. 102–114, 2016.

NARITA, Y.; INOUYE, K. Chlorogenic Acids from Coffee. In: PREEDY, V. (Ed.). **Coffee in Health and Disease Prevention**. London: Academic Press. 1 ed. 2015. p. 189–199.

NIJDAM, J. J.; LANGRISH, T. A. G. The effect of surface composition on the functional properties of milk powders. **Journal of Food Engineering**, v. 77, p. 919–925, 2006.

OKURO, P. K.; THOMAZINI, M.; BALIEIRO, J. C. C.; LIBERAL, R. D. C. O.; FÁVARO-TRINDADE, C. S. Co-encapsulation of *Lactobacillus acidophilus* with inulin or polydextrose in solid lipid microparticles provides protection and improves stability.

Food Research International, v. 53, p. 96–103, 2013.

OLIVEIRA, G. L. S. Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do DPPH•: estudo de revisão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 1, p. 36–44, 2015.

ORGANIZAÇÃO INTERNACIONAL DO CAFÉ (OIC). **Relatório sobre o mercado de café**: Fevereiro de 2018. Disponível em: <http://consorciopesquisacafe.com.br/arquivos/consorcio/publicacoes_tecnicas/relatorio_oic_fevereiro_2018.pdf>. Acesso em: 23 abr. 2018.

OSELAME, C. J. **Produção de bebida láctea não fermentada achocolatada com adição de permeado de soro de leite**. 2013. 38 f. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2013.

PASRIJA, D.; EZHILARASI, P. N.; INDRANI, D.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C. Microencapsulation of green tea polyphenols and its effect on incorporated bread quality. **LWT - Food Science and Technology**, v. 64, p. 289–296, 2015.

PATAY, É. B.; BENCSIK, T.; PAPP, N. Phytochemical overview and medicinal importance of *Coffea* species from the past until now. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 9, n. 12, p. 1127–1135, 2016.

PENHA, C. B.; MADRONA, G. S.; TERRA, C. O. Efeito da substituição do açúcar por oligofrutose em bebida láctea achocolatada. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 3, n. 2, p. 29–37, 2009.

PEREIRA, R. G. F. A.; VILLELA, T. C.; LOPES, L. M. V. Avaliação da composição química de cafés arábica e conilon, produzidos em Rondônia – RO e submetidos a diferentes tipos de pré-processamento. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 1., 2000, Poços de Caldas, Minas Gerais. **Anais...Minas Gerais: Consórcio Pesquisa Café**, 2000. p. 638-640.

PEREIRA, K. C. P.; FERREIRA, D. C. M.; ALVARENGA, G. F.; PEREIRA, M. S. S.; BARCELOS, M. C. S.; COSTA, J. M. G. Microencapsulação e liberação controlada por difusão de ingredientes alimentícios produzidos através da secagem por atomização: revisão. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 21, p. 1–9, 2018.

PIMENTEL, T. C.; GARCIA, S.; PRUDENCIO, S. H. Aspectos funcionais, de saúde e tecnológicos de frutanos tipo inulina. **Boletim CEPPA**, v. 30, n. 1, p. 103–118, 2012.

PINTO, S. S.; FRITZEN-FREIRE, C. B.; BENEDETTI, S.; MURAKAMI, F. S.; PETRUS,

J. C. C.; PRUDÊNCIO, E. S.; AMBONI, R. D. M. C. Potential use of whey concentrate and prebiotics as carrier agents to protect Bifidobacterium-BB-12 microencapsulated by spray drying. **Food Research International**, v. 67, p. 400–408, 2015.

PUTAALA, H. Polydextrose in Lipid Metabolism. In: BAEZ, R. V. (Ed). **Lipid Metabolism**. London: IntechOpen Limited. 1 ed. 2013. p. 233–260.

RAY, S.; RAYCHAUDHURI, U.; CHAKRABORTY, R. An overview of encapsulation of active compounds used in food products by drying technology. **Food Bioscience**, v. 13, p. 76–83, 2016.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved abts radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, p. 1231–1237, 1999.

REIS, R. C.; MINIM, V. P. R. Testes de Aceitação. In: MINIM, V. P. R. (Ed.). **Análise Sensorial: estudo com consumidores**. Viçosa, MG: Editora UFV. 3 ed. 2013. p. 65-81.

REZENDE, Y. R. R. S.; NOGUEIRA, J. P.; NARAIN, N. Microencapsulation of extracts of bioactive compounds obtained from acerola (*Malpighia emarginata* DC) pulp and residue by spray and freeze drying: Chemical, morphological and chemometric characterization. **Food Chemistry**, v. 254, p. 281–291, 2018.

RODRIGUES, T. P. B. **Efeitos fisiológicos da *Coffea arabica* e *Coffea canephora***. 2014. 80 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, Portugal, 2014.

SALDANHA, L. A. **Avaliação da atividade antioxidante *in vitro* de extratos de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) verde e tostada e chá verde (*Camellia sinensis*)**. 2005. 120 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) – Programa de Pós-graduação em Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

SANTOS, T. B. **Estudo cinético da oxidação enzimática do ácido 5-O-cafeoilquínico por polifenoloxidasas**. 2009. 74 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009a.

SANTOS, G. G. Substitutos de gordura. **Nutrição Brasil**, v. 8, n. 5, p. 329–334, 2009b.

SANTOS, S. S.; RODRIGUES, L. M.; COSTA, S. C.; MADRONA, G. S. Antioxidant compounds from blackberry (*Rubus fruticosus*) pomace: Microencapsulation by spray-dryer and pH stability evaluation. **Food Packaging and Shelf Life**, p. 1–6, 2017.

SARRIÁ, B.; MARTÍNEZ-LÓPEZ, S.; MATEOS, R.; BRAVO-CLEMENTE, L. Long-term consumption of a green/roasted coffee blend positively affects glucose

metabolism and insulin resistance in humans. **Food Research International**, v. 89, p. 1023–1028, 2016.

SEŃCZYK, Ł.; ŚWIECA, M.; GAWLIK-DZIKI, U. Soymilk enriched with green coffee phenolics – Antioxidant and nutritional properties in the light of phenolics-food matrix interactions. **Food Chemistry**, v. 223, p. 1–7, 2017.

SEMEN, S.; MERCAN, S.; YAYLA, M.; AÇIKKOL, M. Elemental composition of green coffee and its contribution to dietary intake. **Food Chemistry**, v. 215, p. 92–100, 2017.

SHAO, P.; ZHANG, J.; FANG, Z.; SUN, P. Complexing of chlorogenic acid with b-cyclodextrins: inclusion effects, antioxidative properties and potential application in grape juice. **Food Hydrocolloids**, v. 41, p. 132–139, 2014.

SHIMODA, H.; SEKI, E.; AITANI, M. Inhibitory effect of green coffee bean extract on fat accumulation and body weight gain in mice. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 6, p. 1–9, 2006.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A.; TANIWAKI, M.H; SANTOS, R.F.S.; GOMES, R.A.R. (2010). **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água**. p. 295. 4ª ed. São Paulo, Varela, 2010.

SILVA, P. I.; STRINGHETA, P. C.; TEOFÍLO, R. F.; DE OLIVEIRA, I. R. N. Parameter optimization for spray-drying microencapsulation of jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) peel extracts using simultaneous analysis of responses. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 4, p. 538–544, 2013.

SILVA, T.; MACHADO, M. H.; VERRUCK, S.; AMBONI, R. D. DE M. C.; PRUDENCIO, E. S. Potencial protetivo da polidextrose como agente encapsulante de *Bifidobacterium* BB-12 através do processo de microencapsulação por *spray drying*. **Revista do Congresso Sul Brasileiro de Engenharia de Alimentos**, v. 4, n. 1, p. 52–65, 2018.

SINGH, R. S.; SINGH, T.; LARROCHE, C. Biotechnological applications of inulin-rich feedstocks. **Bioresource Technology**, v. 273, p. 641–653, 2019.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965.

SOTILLO, D. V. R. DE; HADLEY, M. Chlorogenic acid modifies plasma and liver concentrations of: cholesterol, triacylglycerol, and minerals in (fa/fa) Zucker rats. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 13, p. 717–726, 2002.

SOUZA, F. F.; FERRÃO, L. F. V.; CAIXETA, E. T.; SAKIYAMA, N. S.; PEREIRA, A. A.; OLIVEIRA, A. C. B. Aspectos gerais da biologia e da diversidade genética de *Coffea canephora*. In: MARCOLAN, A. L.; ESPINDULA, M. C. (Ed.). **Café na Amazônia**. Brasília, DF: Embrapa. 1 ed. 2015. p. 85-95.

SUZUKI, A.; KAGAWA, D.; OCHIAI, R.; TOKIMITSU, I.; SAITO, I. Green coffee bean extract and its metabolites have a hypotensive effect in spontaneously hypertensive rats. **Hypertension Research**, v. 25, n. 1, p. 99–107, 2002.

ŚWIECA, M.; GAWLIK-DZIKI, U.; DZIKI, D.; BARANIAK, B. Wheat bread enriched with green coffee – in vitro bioaccessibility and bioavailability of phenolics and antioxidant activity. **Food Chemistry**, v. 221, p. 1451–1457, 2017.

TELLO, J.; VIGUERA, M.; CALVO, L. Extraction of caffeine from Robusta coffee (*Coffea canephora* var. Robusta) husks using supercritical carbon dioxide. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 59, p. 53–60, 2011.

THAMER, K. G.; PENNA, A. L. B. Caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos e acrescidas de prebiótico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 3, p. 589–595, 2006.

THURSTON, R. W. Introduction. In: THURSTON, R. W.; MORRIS, J.; STEIMAN, S. (Ed.). **Coffee: A comprehensive guide to the bean, the beverage and the industry**. United States of America (USA): Rowman & Littlefield. 2013. p. 277-291.

TIVERON, A. P. **Antioxidantes e composição fenólica de legumes e verduras consumidos no Brasil**. 2010. 102 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade São Paulo, Piracicaba, 2010.

TONTUL, I.; TOPUZ, A. Spray-drying of fruit and vegetable juices: Effect of drying conditions on the product yield and physical properties. **Trends in Food Science and Technology**, v. 63, p. 91–102, 2017.

VEENA, N.; SURENDRA NATH, B.; SUMIT, A. Polydextrose as a functional ingredient and its food applications: A review. **Indian Journal Dairy Science**, v. 69, n. 3, p. 239–251, 2016.

WANG, X.; WANG, J.; YANG, N. Chemiluminescent determination of chlorogenic acid in fruits. **Food Chemistry**, v. 102, n. 1, p. 422–426, 2007.

WEI, F.; TANOKURA, M. Organic Compounds in Green Coffee Beans. In: PREEDY, V. (Ed.). **Coffee in Health and Disease Prevention**. London: Academic Press. 1 ed. 2015. p. 149-162.

WOOTTON-BEARD, P. C.; MORAN, A.; RYAN, L. Stability of the total antioxidant capacity and total polyphenol content of 23 commercially available vegetable juices

before and after in vitro digestion measured by FRAP, DPPH, ABTS and Folin-Ciocalteu methods. **Food Research International**, v. 44, p. 217–224, 2011.

YISAK, H.; REDI-ABSHIRO, M.; CHANDRAVANSI, B. S. Selective determination of caffeine and trigonelline in aqueous extract of green coffee beans by FT-MIR-ATR spectroscopy. **Vibrational Spectroscopy**, v. 97, p. 33–38, 2018.

YOSHIOKA, M.; SHIMOMURA, Y.; SUZUKI, M. Dietary polydextrose affects the large intestine in rats. **The Journal of Nutrition**, v. 124, p. 539–547, 1994.

ZABOT, G. L.; SILVA, E. K.; AZEVEDO, V. M.; MEIRELES, M. A. A. Replacing modified starch by inulin as prebiotic encapsulant matrix of lipophilic bioactive compounds. **Food Research International**, v. 85, p. 26–35, 2016.

ZAIN, M. Z. M.; BABA, A. S.; SHORI, A. B. Effect of polyphenols enriched from green coffee bean on antioxidant activity and sensory evaluation of bread. **Journal of King Saud University - Science**, v. 30, n. 2, p. 278–282, 2018.

ZHANG, H.; YANG, Y. FEI; ZHOU, Z. QIN. Phenolic and flavonoid contents of mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) fruit tissues and their antioxidant capacity as evaluated by DPPH and ABTS methods. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 17, n. 1, p. 256–263, 2018.

ZHAO, H.; FAN, W.; DONG, J.; LU, J.; CHEN, J.; SHAN, L.; LIN, Y.; KONG, W. Evaluation of antioxidant activities and total phenolic contents of typical malting barley varieties. **Food Chemistry**, v. 107, p. 296–304, 2008.

ZHAO, Y.; WANG, J.; BALLEVRE, O.; LUO, H.; ZHANG, W. Antihypertensive effects and mechanisms of chlorogenic acids. **Hypertension Research**, v. 35, n. 4, p. 370–374, 2012.

8. APÊNDICES

Apêndice A – Cromatogramas dos padrões de referência

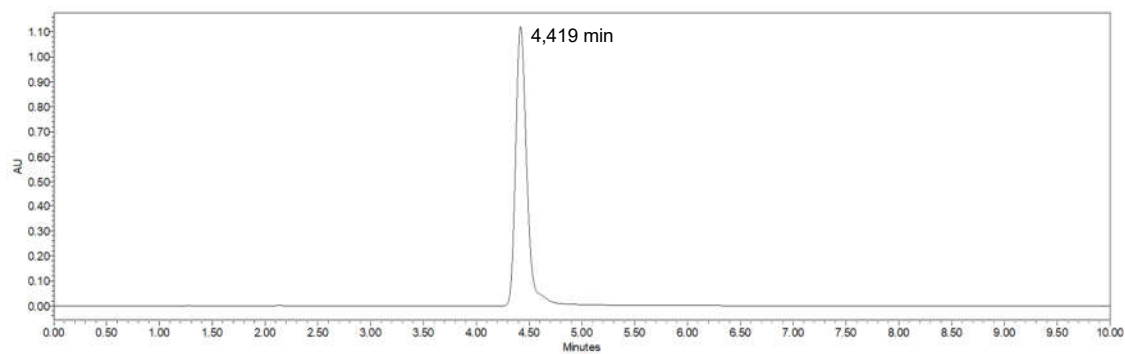


Figura A - Cromatograma do padrão cafeína.

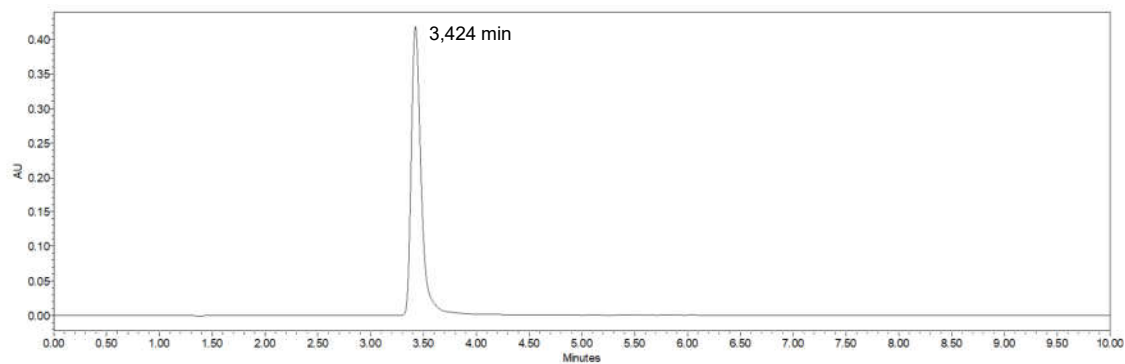


Figura B - Cromatograma do padrão de ácido clorogênico (5-ACQ)

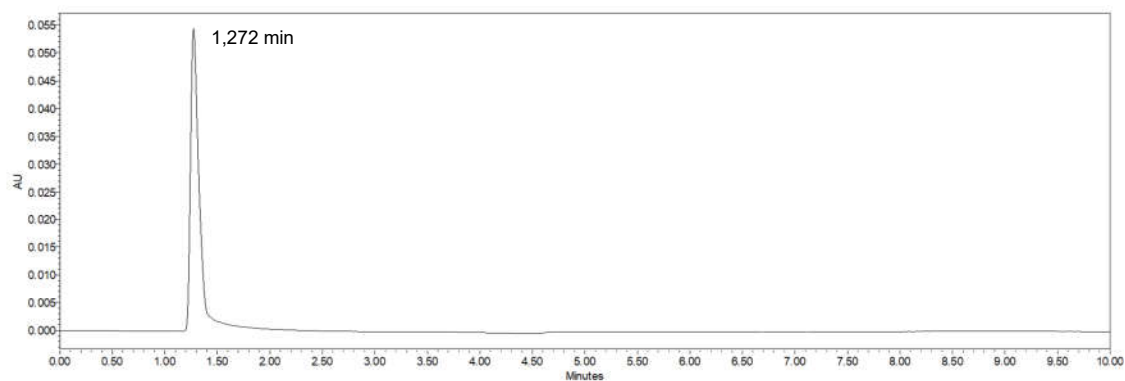


Figura C – Cromatograma do padrão trigonelina.

Apêndice B – Cromatogramas do extrato aquoso e dos extratos microencapsulados

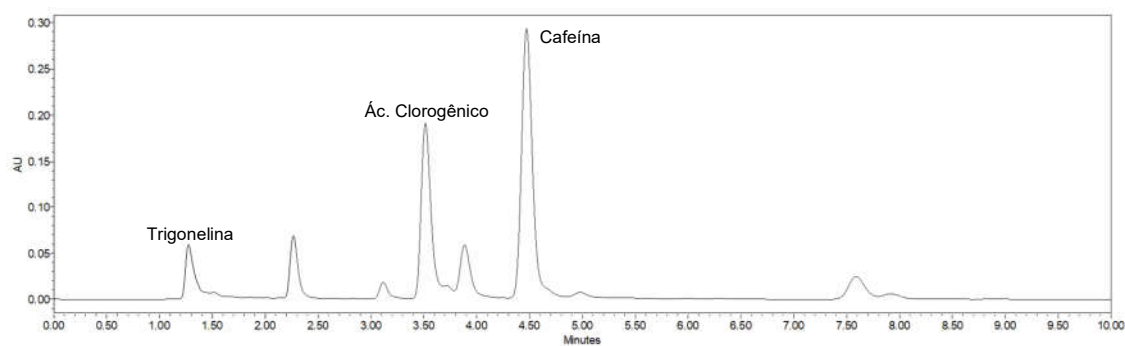


Figura D – Cromatograma do extrato aquoso de café verde conilon.

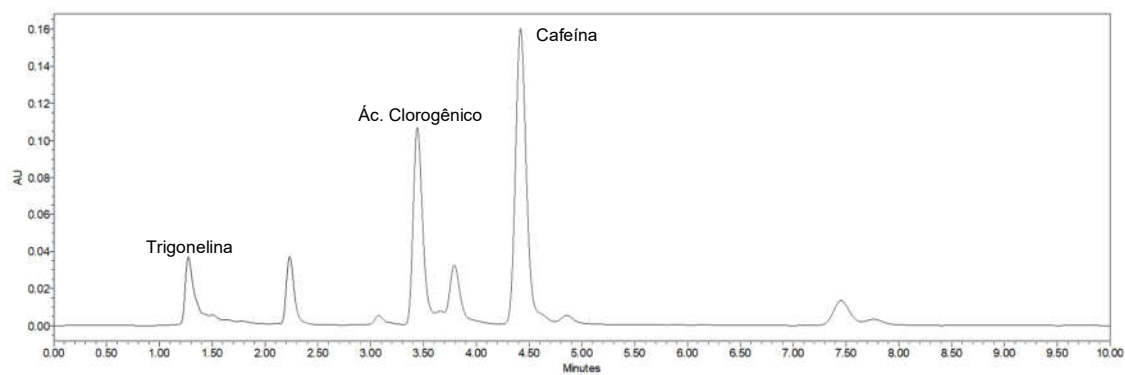


Figura E – Cromatograma do extrato encapsulado com polidextrose por *spray dryer*.

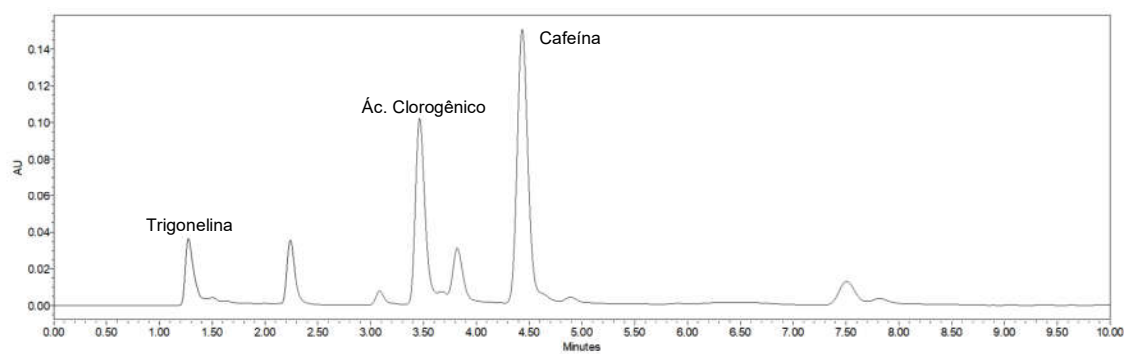


Figura F – Cromatograma do extrato encapsulado com inulina por *spray dryer*.

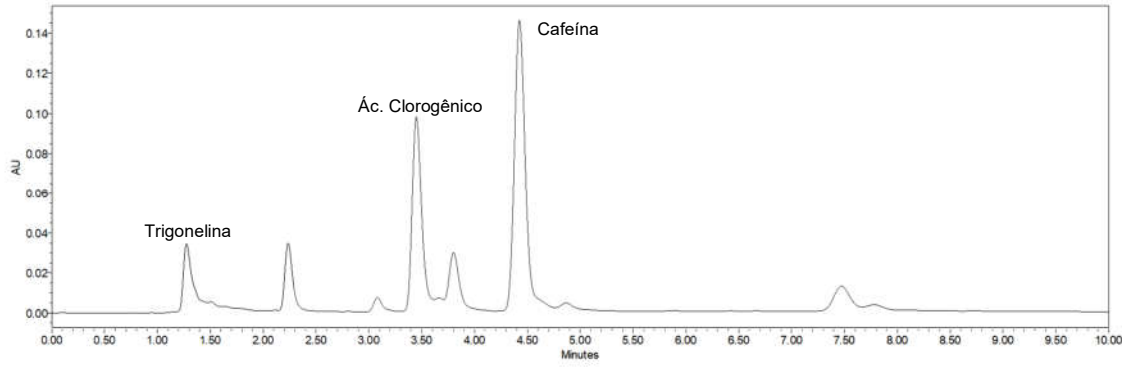


Figura G – Cromatograma do extrato encapsulado com polidextrose por liofilização.

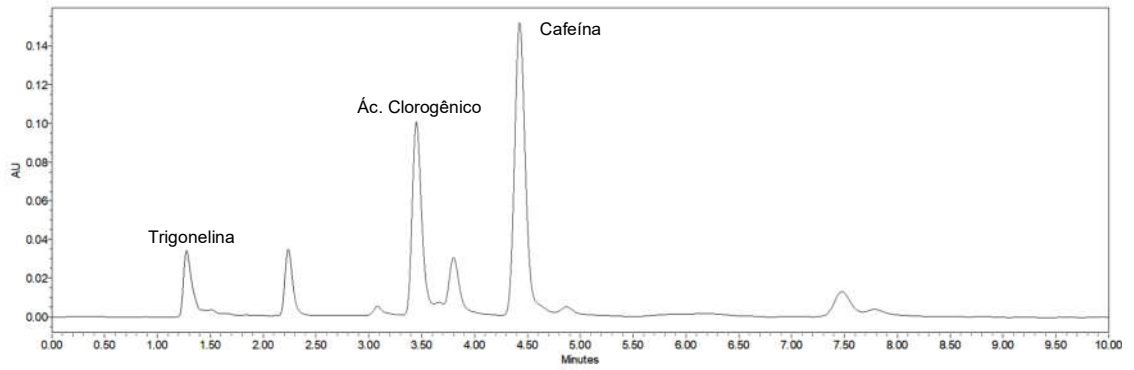


Figura H – Cromatograma do extrato encapsulado com inulina por liofilização.

Apêndice C – Ficha de avaliação do teste de aceitação e intenção de compra.

Nome: _____		Sexo: _____	Idade: _____
Por favor, avalie a amostra servida e indique o quanto gostou ou desgostou de cada um dos atributos sensoriais do produto. Marque a resposta que melhor reflita seu julgamento, de acordo com a escala abaixo.			
Código da amostra: _____			
9 – Gostei extremamente	_____	Aparência	
8 – Gostei muito			
7 – Gostei moderadamente	_____	Aroma	
6 – Gostei ligeiramente			
5 – Indiferente	_____	Corpo	
4 – Desgostei ligeiramente			
3 – Desgostei moderadamente	_____	Sabor	
2 – Desgostei muito			
1 – Desgostei extremamente	_____	Impressão global	
Por favor, marque a resposta que melhor corresponde à sua intenção de compra:			
<input type="checkbox"/> Definitivamente compraria			
<input type="checkbox"/> Provavelmente compraria			
<input type="checkbox"/> Talvez compraria/ Talvez não compraria			
<input type="checkbox"/> Provavelmente não compraria			
<input type="checkbox"/> Definitivamente não compraria			
Comentários: _____			

9. ANEXOS

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Aplicação do café conilon e arábica verde e torrado no enriquecimento de produtos alimentícios

Pesquisador: Pollyanna Ibrahim Silva

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 78243417.2.0000.8151

Instituição Proponente: CENTRO DE CIENCIAS AGRARIAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.669.719

Apresentação do Projeto:

O presente projeto trata do estudo dos cafés conilon e arábica, em diferentes formas, como café verde e café torrado sob intensidades distintas, em relação a particularidades de extratos de café verde e da borra de café torrado. Os cafés verde e torrado são ricos em compostos bioativos que apresentam propriedades benéficas à saúde, como atividade antioxidante e anti-inflamatória. A borra de café, subproduto da produção de bebidas de café, também possui em sua composição compostos antioxidantes, o que gera interesse de sua utilização na incorporação em alimentos. Tais compostos exercem efeito benéfico sobre a resistência à insulina, prevenindo a diabetes e risco de doenças cardiovasculares, e também efeito anticâncer. Além disso, a reutilização da borra de café contribui para a redução da geração de resíduos, tanto em indústrias quanto em nível doméstico, reduzindo o impacto ambiental. Diante disso, esta proposta objetiva analisar extratos de café verde e café torrado, em diferentes graus de torra, e utilizar os extratos de café verde e a farinha da borra de café em produtos alimentícios lácteos e panificados, verificando a possibilidade de enriquecimento nutricional destes produtos e possibilitar o reaproveitamento de produtos e subprodutos de café em formulações de alimentos. Ambos os produtos serão submetidos à análise sensorial com testes de aceitação e intenção de compra. Espera-se elaborar produtos alimentícios com características nutricionais superiores, possibilitadas pelo aproveitamento do produto café verde e do subproduto borra de café.

Endereço: Alto Universitário, s/n, Guararema
Bairro: CENTRO
UF: ES Município: ALEGRE
Telefone: (28)3552-8771

CEP: 29.500-000

E-mail: cep.alegre.ufes@gmail.com

Continuação do Parecer: 2.669.719

Objetivo da Pesquisa:

De acordo com a pesquisadora o objetivo geral é analisar extratos de café verde e café torrado em diferentes graus de torra e utilizar os extratos de café verde e a farinha da borra de café em produtos alimentícios - lácteos e panificados - para verificar a possibilidade de enriquecimento nutricional destes produtos e possibilitar o reaproveitamento de produtos e subprodutos de café em formulações de alimentos.

Como objetivos secundários espera-se:

- Avaliar a composição centesimal das matérias-primas - café.
- Obter extratos de café verde.
- Elaborar encapsulados dos extratos de café verde pelos processos de microencapsulação e liofilização e caracterizar os encapsulados obtidos.
- Aplicar os microencapsulados de café verde em bebida láctea fermentada.
- Obter e secar a borra de café.
- Realizar análises físico-químicas na borra de café seca e no extrato de café verde.
- Aplicar a borra de café em cupcakes.
- Avaliar a atividade antioxidante dos extratos e das microcápsulas de café verde e da borra de café seca.
- Avaliar a composição de ácidos clorogênicos e de cafeína dos extratos de café verde e da borra de café torrado, além da avaliação da presença de hidroximetilfurfural na borra de café.
- Avaliar a atividade antioxidante e qualidade microbiológica dos produtos alimentícios elaborados.
- Estudar a degradação dos compostos fenólicos durante o armazenamento dos produtos alimentícios.
- Realizar testes sensoriais de aceitação e intenção de compra para verificar a viabilidade de elaboração dos produtos em relação aos consumidores.
- Verificar a possibilidade de aproveitamento da borra de café e de extratos de café verde como fonte de compostos fenólicos e antioxidantes naturais.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

De acordo com a pesquisadora, pequenos riscos e, ou desconfortos possíveis poderiam estar relacionados à ingestão (ainda que em quantidades muito pequenas) de ingredientes próprios dos produtos panificados e das bebidas lácteas e ao desconforto (constrangimento ou cansaço) causado por perguntas das fichas de avaliação que devem ser preenchidas após degustação. Desconfortos gastrointestinais, como flatulência, poderiam estar relacionados à presença de ingredientes da receita, como o leite. Entretanto, não se espera haver tais desconfortos, visto que

Endereço: Alto Universitário, s/n, Guararema
Bairro: CENTRO
UF: ES Município: ALEGRE
Telefone: (28)3552-8771

CEP: 29.500-000

E-mail: cep.alegre.ufes@gmail.com

Continuação do Parecer: 2.669.719

a ingestão dos ingredientes será em pequena quantidade. Caso o consumidor apresente alguns dos efeitos adversos relacionados diretamente à pesquisa, receberá acompanhamento, assistência e orientação, conforme o caso. A ingestão dos cupcakes e bebidas lácteas será suspensa e o consumidor poderá ser encaminhado ao médico da Secretaria de Saúde do município de Alegre. Já como benefícios a pesquisadora relaciona que o estudo sobre a elaboração de cupcakes com a incorporação de farinha de borras de café poderá colaborar para a valorização deste produto, criando um mercado consumidor para o mesmo. O café é uma bebida que possui componentes que trazem inúmeros benefícios à saúde. Espera-se que os cupcakes elaborados apresentem excelentes características e que a maioria dos consumidores goste dos produtos, para que possam aproveitar dos benefícios oferecidos pelo aproveitamento da borra de café (que também possui os compostos benéficos à saúde) de maneira que possam enxergar uma nova forma de aproveitamento deste resíduo que é rico nutricionalmente.

O estudo com a incorporação de extrato de café verde em bebidas lácteas colabora também com a valorização do extrato de café verde, rico em compostos antioxidantes e benéficos à saúde. Além disso, os consumidores, ao consumirem os cupcakes e as bebidas lácteas formulados com farinha de borra de café e extratos de café verde, respectivamente, poderão vislumbrar outras possibilidades de incorporação desta, ou mesmo de extrato da bebida em outras preparações. Como benefício direto aos participantes da pesquisa, haverá a divulgação a eles de novas formas de aproveitamento dos produtos e coprodutos de café. Como benefício indireto aos participantes da pesquisa, destaca-se: a sua contribuição participando na pesquisa sobre novos alimentos com potencial benéfico à saúde gerará mais conhecimento acerca destes alimentos, de forma que os benefícios se estendam e sejam divulgados à sociedade como um todo.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto apresentado já foi analisado e aprovado pelo Comitê, e a pesquisadora submeteu uma emenda pois tem interesse em ampliar o trabalho utilizando não somente o café conilon, mas também o café arábica. Além disso, através da realização de testes preliminares com as concentrações de borra de café sugeridas anteriormente observou-se que não houve diferença significativa para compostos fenólicos e capacidade antioxidante quando o cupcake foi comparado com o controle (sem borra de café). Diante disso, como um dos objetivos do trabalho será aumentar a capacidade antioxidante e o conteúdo fenólico dos cupcakes a partir da incorporação da borra de café optou-se por aumentar a concentração de borra em até 20%, em relação à farinha de trigo, e posteriormente realizar testes sensoriais de aceitação dos consumidores em relação ao

Endereço: Alto Universitário, s/n, Guararema
Bairro: CENTRO
UF: ES Município: ALEGRE
Telefone: (28)3552-8771

CEP: 29.500-000

E-mail: cep.alegre.ufes@gmail.com

Continuação do Parecer: 2.669.719

produto, uma vez que não foram encontrados estudos que citem que a borra de café possui algum efeito toxicológico que impossibilitaria a aplicação da mesma, em maior quantidade, nos cupcakes.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

- Folha de rosto: apresentada e adequada.
- Projeto detalhado: apresentado e adequado.
- Projeto descrito na plataforma: apresentado e adequado
- TCLE: apresentado e adequado.
- Termo de anuência da instituição onde a pesquisa será realizada: apresentado e adequado.
- Cronograma: apresentado e adequado.
- Orçamento: apresentado e adequado.

Recomendações:

Todas as recomendações solicitadas foram cumpridas pela pesquisadora.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Após a correção e adequação pela pesquisadora dos pontos anteriormente destacados, o projeto encontra-se adequado para sua aprovação.

Considerações Finais a critério do CEP:

Todas as considerações e adequações solicitadas foram atendidas, desta forma aprovei o mesmo com ad-referendum

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1071415_E1.pdf	09/05/2018 17:06:53		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_cafe_alterado_arabica_v2.docx	09/05/2018 17:04:37	Pollyanna Ibrahim Silva	Aceito
Recurso Anexado pelo Pesquisador	CARTA_RESPOSTA_pendencia_emenda.doc	09/05/2018 17:04:14	Pollyanna Ibrahim Silva	Aceito
Folha de Rosto	folha_rosto_alterada.pdf	23/04/2018 11:24:35	Pollyanna Ibrahim Silva	Aceito
TCLE / Termos de	TCLE_cafe_bebida_lactea_alterado_ar	20/04/2018	Pollyanna Ibrahim	Aceito

Endereço: Alto Universitário, s/n, Guararema
 Bairro: CENTRO CEP: 29.500-000
 UF: ES Município: ALEGRE
 Telefone: (28)3552-8771 E-mail: cep.alegre.ufes@gmail.com

Continuação do Parecer: 2.669.719

Assentimento / Justificativa de Ausência	abica.docx	17:34:49	Silva	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_cafe_BORRA_alterado_arabica.docx	20/04/2018 17:33:49	Pollyanna Ibrahim Silva	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

ALEGRE, 23 de Maio de 2018

Assinado por:
Marli Lourdes de Oliveira
(Coordenador)