

POLIFENÓIS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE RESÍDUOS E SUBPRODUTOS DA INDÚSTRIA CAFEIEIRA¹

Adriene Ribeiro Lima²; Rosemary Gualberto Fonseca Alvarenga Pereira³; Mário Lúcio Vilela Resende⁴

¹Trabalho financiado pelo INCT-Cafê

²Doutora em Ciência dos Alimentos pela UFLA – MG, biodri@hotmail.com

³Professora Doutora do Departamento de Ciência dos Alimentos da UFLA – MG, rosegfap@dca.ufla.br

⁴Professor Doutor do Departamento de Fitopatologia da UFLA-MG e coordenador do INCT-Cafê, mlucio@dfp.ufla.br

RESUMO: A cafeicultura dá origem a um volume elevado de subprodutos e resíduos, cuja utilidade tem sido objeto de diversos estudos. No entanto, a quantidade e a constituição química destes materiais podem variar amplamente, propiciando-lhes características diferentes. Uma alternativa para a minimização destes é a reciclagem, através da recuperação dos mesmos ou de seus constituintes que apresentem algum valor econômico. O grão de café possui uma variedade de compostos, sendo os polifenóis os principais compostos com propriedades bioativas, logo os resíduos gerados pela indústria cafeeira são fontes de muitos desses compostos. A atividade antioxidante de compostos fenólicos deve-se às sua propriedade redox e estruturas químicas, que possibilitam a estes compostos exercerem a função de neutralizar radicais livres e quelar metais reativos. Visando um melhor aproveitamento dos resíduos industriais, objetivou-se avaliar a atividade antioxidante, bem como quantificar os polifenóis totais presentes nas amostras de um subproduto (SC1) e de dois resíduos (RC1 e RC2) gerados em grande quantidade pela indústria de cafeeira. Foram determinados os polifenóis totais bem como a atividade antioxidante *in vitro* por meio dos métodos FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) e DPPH (diphenylpicrylhydrazyl). Os resultados mostram que o subproduto SC1 apresenta alto teor de polifenóis, seguido dos resíduos RC1 e RC2 que apresentam teores médios de polifenóis. A atividade antioxidante dos extratos dos resíduos agroindustriais por esses diferentes métodos de avaliação apresentou uma correlação positiva com o conteúdo de compostos fenólicos totais. Este trabalho demonstra que o subproduto (SC1) e os resíduos (RC1 e RC2) possuem atividade antioxidante, com destaque para o SC1, que lhes confere potencial de utilização como fontes de substâncias bioativas.

PALAVRAS-CHAVE: resíduos, subprodutos, compostos fenólicos, café, DPPH, FRAP.

TOTAL POLYPHENOL AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF COFFEE INDUSTRY BYPRODUCTS AND WASTE

ABSTRACT: The coffee culture gives rise to a high volume of byproducts and waste, whose usefulness has been the subject of several studies. However, the quantity and composition of these materials can vary widely, giving them different characteristics. An alternative to minimize the loss of this products is through recycling by recovering them or their constituents, which have some economic value. The coffee bean has a variety of compounds and the polyphenols are the main ones with bioactive properties, so the waste generated by the coffee industry is source of many of these compounds. The antioxidant activity of the phenolic compounds is due to their redox properties and chemical structures, which allow these them to exert the function to neutralize free radicals and to chelate reactive metals. With the purpose of getting a better utilization of coffee industrial residues, we aimed to evaluate the antioxidant activity and quantify phenolic compounds present in the samples of a byproduct (SC1) and two residues (RC1 and RC2) generated in large quantities in the coffee industry. We determined the total polyphenol and antioxidant activity *in vitro* by the methods FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) and DPPH (diphenylpicrylhydrazyl). The results showed that the byproduct SC1 has high polyphenol content, followed by residues BC1 and BC2 which showed average levels of polyphenols. The antioxidant activity of agroindustrial residues by these different methods of evaluation showed a positive correlation with the content of phenolic compounds. This work demonstrates that the byproduct (SC1) and waste (RC1 and RC2) have antioxidant activity, especially the SC1, which makes them potential source for use as bioactive substances.

KEY-WORDS: waste, byproducts, phenolic compounds, coffee, DPPH, FRAP.

INTRODUÇÃO

A grande produção e o consumo crescente de café no Brasil levam a geração de uma enorme quantidade de resíduos que representam perda de matéria-prima e energia e se dispostos inadequadamente podem gerar um problema ambiental devido ao grande acúmulo de matéria orgânica no meio ambiente. Apesar da grande quantidade de resíduos gerados no meio agrícola e agroindustrial, apenas uma pequena porcentagem é aproveitada em razão do desconhecimento da potencial reutilização. Na região sul de Minas Gerais, a cafeicultura dá origem a um volume elevado de subprodutos e resíduos, cuja utilidade tem sido objeto de diversos estudos. No entanto, a quantidade e a constituição química destes

materiais podem variar amplamente, propiciando-lhes características diferentes. Uma alternativa para a minimização destes é a reciclagem, através do reuso ou recuperação dos mesmos ou de seus constituintes que apresentem algum valor econômico.

O grão de café possui uma variedade de compostos, sendo os polifenóis os principais compostos com propriedades bioativas, logo os resíduos gerados pela indústria cafeeira são fontes de muitos desses compostos. Estudos apontam que extratos naturais contendo compostos bioativos têm ganhado importância nas indústrias de alimentos e de fármacos, pois podem ser incorporados em formulações de alimentos funcionais, de produtos nutracêuticos, de cosméticos e de produtos para uso medicinal (Melo et al., 2011; Laufenberg, 2003). Esses compostos podem ainda ser utilizados como aditivos naturais em alimentos, pois os antioxidantes sintéticos usados pela indústria de alimentos despertam preocupação quanto as suas doses de segurança e toxicidade (Balasundram et al., 2006). Outra forma de aproveitamento dos resíduos gerados é seu uso na agricultura, como fonte de defensivos agrícolas naturais.

A busca por opções terapêuticas para diferentes patologias faz da pesquisa de produtos naturais um campo fértil em opções de moléculas com diferentes atividades biológicas (Velloso et al., 2007). Os compostos fenólicos têm sido sugeridos como potencialmente quimioprotetores em diferentes sistemas químicos e biológicos, devido a sua atividade antioxidante e capacidade de modular a atividade de uma variedade de enzimas e receptores celulares. A atividade antioxidante de compostos fenólicos deve-se às sua propriedade redox e estruturas químicas, que possibilitam a estes compostos exercerem a função de neutralizar radicais livres, quelar metais reativos e agirem como *quencher*s de oxigênio nos estados singlete e triplete (Dai; Munper, 2010; Shui; Leong, 2006). Visando um melhor aproveitamento dos resíduos vegetais, objetivou-se avaliar a atividade antioxidante por meio de dois métodos distintos, bem como quantificar os polifenóis totais presentes nas amostras de um subproduto e dois resíduos gerados em grande quantidade pela indústria cafeeira.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisados dois resíduos e um subproduto da indústria de café Cooxupé (Guaxupé-MG) codificados respectivamente como: RC1, RC2 e SC1. Os extratos foram obtidos pesando-se 5 gramas de cada resíduo/subproduto e adicionando-se metanol 50%, acetona 70% e água (Larrauri et al., 1997). A análise de compostos fenólicos totais foi feita de acordo com o método de Folin-Ciocalteu (Waterhouse, 2002). Amostras de 0,5 mL das amostras diluídas foram misturadas com 2,5 mL de reagente Folin-Ciocalteu diluído em água (1:10). Depois de 8 min, foram adicionados 0,4 mL de solução de carbonato de sódio a 4% (m/v) e os tubos foram mantidos no escuro a temperatura ambiente por 2 h. Decorrido o tempo, a absorbância foi determinada a 740 nm. Os resultados foram expressos em grama de fenólicos totais em equivalente de ácido gálico (EAG) por 100 g de amostra. A determinação da atividade antioxidante total baseada na captura do radical DPPH• foi realizada a partir de três diluições dos extratos de cada amostra de acordo com o método de (Brand-Williams; Cuvelier; Berset, 1995). A capacidade de sequestrar o radical livre foi expressa através do valor da concentração inibitória (IC50), que representa a quantidade de substância antioxidante necessária para reduzir em 50% a concentração inicial de DPPH•. O poder antioxidante de redução do ferro foi estimado pelo método FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) que está baseado na capacidade do composto em reduzir o Fe (III) em Fe (II) (Benzie & Strain, 1996). Foi feita uma curva padrão de sulfato ferroso e os resultados foram expressos em $\mu\text{M Fe}_2\text{SO}_4/\text{g}$ amostra. Para os testes antioxidantes (DPPH e FRAP) o butil hidroxitolueno (BHT) e o ácido ascórbico (AA) foram utilizados como padrões. Todas as análises foram conduzidas em triplicata e os resultados apresentados como médias seguidos do desvio padrão. A análise estatística foi feita pela aplicação do teste de Tukey ($P < 0,05$), usando o programa GraphPad Prism 4.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos teores de compostos fenólicos totais no subproduto SC1 e nos resíduos RC1 e RC2 podem ser visualizados na Tabela 1.

Tabela 1. Teor de compostos fenólicos totais, expresso em gramas de equivalente de ácido gálico ($\text{g EAG} \cdot 100\text{g}^{-1}$) do subproduto (SC1) e dos resíduos (RC1 e RC2) agroindustriais.

Amostras	Compostos fenólicos ($\text{g EAG}/100\text{g}$)
RC1	1,46 \pm 0,05
RC2	4,70 \pm 0,07
SC1	8,01 \pm 0,84

*Valores expressos como média \pm D.P (n=3).

De acordo com os resultados obtidos (Tabela 1), pode-se verificar que o extrato obtido do subproduto SC1 apresentou o maior conteúdo de compostos fenólicos totais dentre as amostras analisadas, superando, o resíduo RC2 que, por sua vez, apresentou maior teor do que o resíduo RC1. Estudos mostram que a concentração de polifenóis é baixa quando seus teores se encontram abaixo de 1g EAG/100 g, média quando estão entre 1 e 5g EAG/100 g e alta quando estão acima de 5g EAG/100 g (Vasco, Ruales, & Kamal-Eldin, 2008). Diante disso, os resultados indicam que o subproduto SC1

apresenta alto teor de polifenóis, seguido dos resíduos RC1 e RC2 que apresentam teores médios de polifenóis, portanto são ótimas fontes de compostos fenólicos.

Os resultados da avaliação da atividade antioxidante pelos métodos DPPH e FRAP do subproduto SC1, dos resíduos RC1 e RC2 e dos padrões BHT e AA estão citados na Tabela 2.

Tabela 2. Atividade antioxidante dos resíduos e subproduto (RC1, RC2, SC1) agroindustriais e dos padrões BHT (Butil hidroxitolueno) e ácido ascórbico (AA).

Amostras	DPPH* CI ₅₀ (ug/mL)	FRAP (mM Fe ₂ SO ₄ /g)
RC1	567,45±21,8 ^a	3,23±0,018D
RC2	77,05±3,31B	13,52±0,051C
SC1	40,90±1,24C	38,24±1,632C
BHT	5,06±0,09D	389,20±16,52B
AA	4,91±0,22D	501,20±21,09 ^a

*Valores expressos como média ± D.P (n=3).

CI₅₀: concentração inibitória que representa a quantidade de substância antioxidante necessária para reduzir em 50% a concentração inicial de DPPH. Médias na mesma coluna, seguidas por letras distintas diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Os padrões BHT e AA apresentaram maior atividade antioxidante que as amostras analisadas, pois concentrações menores dos padrões foram suficientes para reduzir 50% do radical DPPH inicial e apresentaram maior redução do Fe (III) a Fe (II) pelo método FRAP.

Os extratos que tiveram os maiores teores de compostos fenólicos totais também apresentaram as maiores atividades antioxidantes pelos dois métodos avaliados (FRAP e DPPH) com exceção do extrato RC2, que, apesar de possuir menor teor de compostos fenólicos não apresentou diferença significativa (P<0,05) da atividade antioxidante em relação à apresentada pelo extrato SC1 no método FRAP.

A atividade antioxidante dos extratos dos resíduos agroindustriais por esses diferentes métodos de avaliação apresentou uma correlação positiva com o conteúdo de compostos fenólicos totais. Isso sugere que os compostos fenólicos presentes nesses resíduos e subproduto possuem alta capacidade de sequestro de radicais livres e de redução do ferro, por isso, são fontes importantes de agentes antioxidantes. Embora a utilização de compostos fenólicos provenientes de fontes naturais seja interessante, é importante que mais estudos sejam realizados a fim de se determinar o perfil desses compostos fenólicos e elucidar a estrutura química dos compostos presentes, bem como sua atividade biológica.

CONCLUSÃO

Os resultados mostram que os dois resíduos (RC1 e RC2) e principalmente o subproduto (SC1) analisados são ricos em polifenóis e possuem atividade antioxidante. Essas características conferem potencial de utilização desses produtos como fontes de substâncias bioativas para aplicação na indústria de alimentos, de fitoterápicos e também como fonte de defensivos agrícolas naturais que são uma alternativa segura e saudável de produção agrícola.

AGRADECIMENTOS

Ao INCT-Café, CNPq e Fapemig pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agriindustrial by-products: Antioxidant activity, occurrence and potential uses. *Food Chemistry* 9: 191–203. (2006).
- BENZIE, I. F., F., & STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry* 239: 70–76. (1996).
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT – Food Science and Technology* 28: 25–30. (1995).
- DAI, J.; MUMPER, R.J. Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules* 15: 7313–7352. (2010).
- LARRAURI, J.A.; RUPÉREZ, P.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. *Journal Agriculture and Food Chemistry* 45: 1390–1393. (1997).
- LAUFENBERG, G.; KUNZ, B.; NYSTROEM, M. Transformation of vegetable waste into value added products: (A) the upgrading concept; (B) practical implementations. *Bioresour. Technol* 87: 167–198. (2003).
- MELO, P. S.; BERGAMASCHI, K. A. B.; TIVERON, A. P.; MASSARIOLI, A. P.; OLDONI, T. L. C.; ZANUS, M. C.; PEREIRA, G. E.; ALENCAR, S. M. Composição fenólica e atividade antioxidante de resíduos agroindustriais. *Ciência Rural* 41: 1088–1093. (2011).

- SHUI, G.; LEONG, L. P. Residue from star fruit as valuable source for functional food ingredients and antioxidant nutraceuticals. *Food Chemistry* 97: 277–284. (2006).
- VASCO, C.; RUALES, J.; KAMAL-ELDIN, A. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. *Food Chemistry* 111: 816–823. (2008).
- VELLOSA J. C .R.; BARBOSA, V. F.; OLIVEIRA, O. M. M. Pesquisa de produtos naturais: plantas e radicais livres. *Revista Eletrônica de Farmácia* 4:119-130. (2007).
- WATERHOUSE, A. Determination of total phenolics, p. 11.1.1–11.1.8. In: Wrolstad, R.W. (ed.). *Current protocols in food analyticalchemistry*. Wiley & Sons, New York, NY (2002).