

## **Valorização da Borra de Café Recuperação de Taninos**

**MICKAEL DE AZEVEDO VILAR**

Novembro de 2021



# Valorização da Borra de Café — Recuperação de Taninos

Novembro 2021

## **AUTOR**

Mickael de Azevedo Vilar

## **ORIENTAÇÃO**

Professora Doutora Nídia Caetano

**Mestrado em Biorrecursos**





## **Agradecimentos**

Gostaria em primeiro lugar de deixar o meu agradecimento à minha segunda casa, o Instituto Superior de Engenharia do Porto de onde levo várias memórias para o resto da minha vida e diversas ferramentas para a minha vida profissional.

Gostava ainda de agradecer à minha orientadora, Professora Doutora Nídia de Sá Caetano por todo a dedicação e toda a paciência investida em mim, guiando e auxiliando-me nesta etapa, sendo fundamental para a realização desta dissertação.

Não esquecendo todos os engenheiros e auxiliares do Laboratório de Tecnologia e em especial aos meus amigos André Pedrosa e Diogo Silva por toda a ajuda e todo o apoio dado ao longo do trabalho experimental, e ao Doutor Wilson Júnior pela partilha de conhecimentos e entusiasmo demonstrado por este trabalho.

Quero ainda deixar o meu grande agradecimento à minha família, em particular ao meu pai e à minha mãe, pois sem eles nada disto seria possível, e se estou a atingir as minhas metas é graças a eles, e à minha namorada por todo o apoio, por acreditar em mim e não me deixar desistir nos momentos de fraqueza.

Por último e não menos importante, ao meu amigo Carlos por todas as horas de estudo partilhadas, pela força de vontade e pela verdadeira amizade.

Muito obrigado a todos os que percorreram estes 5 anos comigo, foram incríveis.

A Prof.<sup>a</sup> Nídia de Sá Caetano, orientadora desta dissertação, é membro integrado do LEPABE – Laboratório de Engenharia de Processos, Ambiente Biotecnologia e Energia, financiado pela Unidade de Investigação UID/EQU/00511/2020 - Laboratório de Engenharia de Processos, Ambiente, Biotecnologia e Energia – LEPABE - financiado por fundos nacionais através da FCT/MCTES (PIDDAC).



## Resumo

O elevado consumo de café ao nível mundial, faz da borra de café um dos resíduos mais abundantes no mundo. Esta, apresenta um elevado potencial de contaminação devido aos compostos tóxicos que fazem parte da sua constituição (taninos, cafeína e polifenóis, entre outros). Assim, o seu descarte, em condições muitas vezes descontroladas, representa um grande risco para o meio ambiente. Numa tentativa de resolução parcial deste problema, enquanto se prolonga a vida do café, numa ótica de economia circular, este projeto tem como objetivo otimizar as condições de extração de um composto de valor – os taninos – em amostras com diferentes proveniências (cápsulas de café, borra de cafetarias).

Neste trabalho, numa primeira fase, os parâmetros que se variaram para a extração dos taninos foram os seguintes: tipo de amostra (borra de café corrente, borra de café de cápsulas), tipo de solvente (acetona, metanol, etanol e água), temperatura de extração (50 °C, T.A. (21-23 °C)), tempo de extração de 1 hora e borra seca. Os resultados obtidos nesta etapa foram submetidos ao concurso jovens profissionais APESB, tendo sido apresentados no 19º ENASB/12ª JTIR. Numa segunda fase para além dos parâmetros referidos anteriormente, testou-se tempo de extração 2 horas, e teor de humidade da amostra 53 %, e ainda extração com 2 contactos.

A melhor combinação dos diferentes parâmetros permitiu realizar uma extração de 17,7 mg de taninos de 40 g de borra de café seca, sendo este ensaio o que originou o melhor rendimento (0,044%). As condições deste ensaio foram: borra de café corrente com teor de humidade de 53%, extração realizada à temperatura de 50 °C com 1 hora de contacto e como solvente de extração o etanol, a partir de 40 g de borra de café seca com 200 ml de solvente.

Estima-se, assim que o sucesso deste processo poderia fomentar uma indústria com matéria-prima residual, o que poderia levar à criação de inúmeros postos de trabalho e produção de um bioproduto de valor, contribuindo para a dinamização da bioeconomia circular e a valorização dos biorresíduos.

## **Abstract**

The high coffee consumption around the world makes spent coffee grounds (SCG) one of the most abundant kinds of waste in the world. This residue presents an extremely high contamination potential due to the toxic compounds that are part of it (tannins, caffeine, polyphenols, etc.).

The disposal of these compounds, many times made in uncontrolled conditions, represents a big and dangerous risk to the environment. In an attempt to make a partial solution to fight this problem while extending the life of coffee within a circular economy framework, this project has as its main goal to optimize the extraction conditions of a valuable compound – tannins – in samples with different origins (coffee capsules, coffee grounds from restaurants, etc).

On a first phase of this project, the varied parameters in the extraction of tannins were the following: type of sample (standard coffee grounds, capsule coffee grounds), type of solvent (acetone, methanol, ethanol and water), extraction temperature (50 °C, TA (21-23 °C)), extraction time of 1 hour and dry sludge. The results obtained at this stage were submitted to the APESB young professionals contest, having been presented at the 19th ENASB/12th JTIR. In a second phase, in addition to the parameters mentioned above, extraction time was tested for 2 hours, a 53% sample moisture content and an extraction with 2 contacts was also tested.

The best combination of the different parameters allowed us to perform an extraction of 17,7 mg of tannins from 40 g of SCG, making it the better yielded test (0,044%). This test conditions were: regular coffee grounds with a moisture content of 53%, extracted at a temperature of 50 °C with 1 hour of contact time and using ethanol as a solvent at a solid to liquid ratio of 40 g: 50 ml.

The success of this process can inspire the creation and development of an industry that uses a residual feedstock, leading to the creation of several jobs and the development of a valuable product, contributing to the promotion of Circular Bio-Economy and the valorization of bio-waste.







## Índice

|            |   |    |
|------------|---|----|
| 1.         | Introdução.....   | 1  |
| 1.1.       | Objetivos do Trabalho.....  | 2  |
| 1.2.       | Organização da Dissertação .....  | 2  |
| 2.         | Estado de Arte .....  | 5  |
| 2.1.       | Borra de café .....   | 5  |
| 2.1.1.     | Disponibilidade e composição.....   | 5  |
| 2.1.2.     | Aplicações .....  | 7  |
| 2.2.       | Produtos de valor na borra de café .....                                      | 8  |
| 2.2.1.     | Taninos .....   | 8  |
| 2.2.1.1.   | Taninos hidrolisáveis.....  | 9  |
| 2.2.1.2.   | Taninos condensados.....  | 10 |
| 2.2.1.3.   | Aplicações dos taninos .....  | 11 |
| 2.2.1.4.   | Tanase .....  | 12 |
| 2.2.1.4.1. | Aplicações da tanase .....  | 12 |
| 2.2.2.     | Processos de extração de taninos.....   | 12 |
| 3.         | Descrição Técnica .....   | 15 |
| 3.1.       | Caracterização Físico-química das amostras de borra de café .....             | 15 |
| 3.2.       | Extração e Quantificação de Taninos.....                                      | 17 |
| 4.         | Resultados e Discussão .....  | 21 |
| 4.1.       | Caracterização da Borra de Café .....   | 21 |
| 4.2.       | Extração de Taninos .....   | 22 |
| 4.3.       | Estimativa do Potencial de Extração de Taninos de Borra de Café em Portugal.. | 28 |
| 5.         | Conclusões e propostas futuras .....  | 29 |
|            | Referências.....  | 31 |
| 6.         | ANEXOS.....   | 35 |

|        |  |    |
|--------|--|----|
| 6.1.   | Caracterização da borra de café.....                       | 35 |
| 6.1.1. | Determinação do teor de humidade.....                      | 35 |
| 6.1.2. | Determinação do teor de cinzas.....                        | 36 |
| 6.1.3. | Determinação do Poder Calorífico Superior .....            | 37 |
| 6.1.4. | Determinação do Teor de Azoto .....                        | 38 |
| 6.1.5. | Determinação do Teor em Carbono Orgânico Total (COT) ..... | 41 |
| 6.1.6. | Determinação do Teor de Matéria Gorda.....                 | 42 |
| 6.1.7. | Determinação do teor em Celulose Bruta.....                | 44 |
| 6.1.8. | Determinação do Teor de Lignina.....                       | 46 |
| 6.2.   | Reta de calibração ácido gálico .....                      | 48 |

## Índice de Figuras

|   |          |
|---|----------|
| Figura 1.1 .....  | 2        |
| Figura 1.2 - Conceito de economia circular para gestão de borra de café – adaptado de Dattatraya Saratale et al. (2020) .....   | 2        |
| Figura 2.1 - Borra de café .....  | 5        |
| Figura 2.2 - Produção e consumo mundial de café no mundo (Organização Internacional do Café, 2021).....   | 6        |
| <i>Figura 2.3 - Estrutura química de tanino hidrolisável (Battestin et al., 2004). ....</i>   | <i>9</i> |
| Figura 2.4 - Estrutura molecular do ácido gálico (galotaninos) (Battestin et al., 2004). ..   | 10       |
| Figura 2.5 - Estrutura molecular de ácido hexadihidroxifénico (elagitaninos) (Battestin et al., 2004).....  | 10       |
| Figura 2.6 - Estrutura química de tanino condensado (Battestin et al., 2004). ....  | 11       |
| Figura 2.7 - Hidrólise do ácido tânico, R1 (galoil) e R2 (Battestin et al., 2004). ....   | 12       |
| Figura 3.1 Etapas do processo realizado para valorização da borra de café. ....   | 15       |
| Figura 3.2 - Amostras após 1 h de tempo de contacto com o solvente água.....  | 18       |
| Figura 3.3 – Cor azul obtida na quantificação de taninos das amostras após o tempo de incubação.....  | 18       |
| Figura 4.1 - Quantidade de taninos recuperados nas diversas amostras de borra de café, com distintos solventes e condições de extração (40 g de amostra para 200 ml de solvente). ... | 24       |
| Figura 4.2 - Ensaio de extração de taninos em borra de café comercial, com 1 hora de contacto e extração de amostra em 2 contactos.....   | 26       |
| Figura 4.3 - Ensaio de extração de taninos de borra de café comercial, com etanol em 2 horas de contacto e extração de amostra em 2 contactos. ....                                   | 26       |
| Figura 4.4 – Extração de taninos com utilização de amostra de borra de café corrente húmida.....  | 27       |
| Figura 6.1 - Digestor de Kjeldahl.....  | 40       |
| Figura 6.2 - Destilador .....   | 40       |
| Figura 6.3 - Matrizes antes e após titulação. ....  | 41       |
| Figura 6.4 - Extrator Soxhlet.....  | 43       |

|   |    |
|---|----|
| Figura 6.5 – Rotavapor .....                          | 44 |
| Figura 6.6 - Reta de calibração do ácido tânico ..... | 49 |

## **Índice de tabelas**

|   |    |
|---|----|
| Tabela 2.1 - Caracterização da borra de café (adaptado de Mata et al., 2018). ....  | 6  |
| Tabela 2.2 - Teor de taninos totais em algumas espécies vegetais (adaptado de dos Santos, 2000)(Barbosa, 2014). ....  | 9  |
| Tabela 4.1 - Resultados experimentais da caracterização da borra de café e valores de referência. ....  | 21 |
| Tabela 4.2 - Quantidade de taninos recuperados nas diversas amostras de borra de café, com distintos solventes e condições de extração (40 g de amostra para 200 ml de solvente). ... | 23 |
| Tabela 6.1 - Concentrações utilizadas para a realização da reta de calibração. ....   | 48 |



# 1. Introdução

A borra de café é um dos resíduos mais abundantes do mundo devido ao elevado consumo de café da população (Narita & Inouye, 2014). Estes resíduos provocam impactos negativos no ambiente que têm de ser minimizados através da sua valorização, dando um novo fim de vida a este resíduo.

Atualmente o café é a segunda bebida mais popular no mundo, depois da água, e também se encontra na segunda posição na bolsa de valores, depois do petróleo. Globalmente, entre outubro de 2019 e setembro de 2020, foram consumidos 169,34 milhões de sacos com 60 kg de café, o que corresponde a um total de aproximadamente 10,2 milhões de toneladas de café. Adicionalmente a estes valores de consumo de café, é importante referir que por cada kg de café são produzidos 2 kg de borra, devido ao teor de humidade originário da sua utilização, o que torna estes 10,2 milhões de toneladas de café em 20,4 milhões de toneladas de borra (Organização Internacional do Café, 2020).

A União Europeia é o maior importador de café, com 62% do total importado por vários países importadores de café entre outubro de 2016 a março de 2017. No período entre 2015/2016 a UE consumiu 33% do café consumido mundialmente (Mata et al., 2018).

Os resíduos de café são gerados não só no seu estado bruto, mas também em cápsulas de metal, de papel ou até mesmo combinações de plástico e metal, quando se trata de doses individuais de café (Silva, 2011). Isto mostra que não são apenas resíduos de café que são gerados, mas também outros compostos que provocam o aumento de poluição no mundo.

A União Europeia produz mais de 3 mil milhões de resíduos em cada ano a partir de fontes industriais, de construção e de diversas outras atividades, sendo que cada cidadão é responsável por gerar meia tonelada de resíduos por ano. Com dados tão expressivos, é necessário implementar com alguma urgência uma gestão de resíduos adequada para diminuir o impacto ambiental que estes provocam, evitando também o desperdício de recursos não renováveis (Mata et al., 2018).

A borra de café contém na sua constituição um teor apreciável de celulose e hemiceluloses, lignina, lípidos, bem como proteínas. Adicionalmente, a borra contém ainda taninos, compostos fenólicos antioxidantes e diversos macro e micronutrientes. A presença dos taninos neste resíduo valoriza-o devido ao vasto leque de aplicações dos mesmos, incluindo a estabilização da cerveja, a utilização no processo de curtimenta de pele animal e a utilização na produção de resinas (Gonçalves & Lelis, 2001).

A implementação dos princípios da economia circular é de enorme importância, qualquer que seja o resíduo que se pretende gerir e valorizar. A economia circular visa a recuperação e regeneração de recursos que se encontram em fim de vida, ou seja, o uso de recursos em sistema de ciclo fechado, reduzindo a poluição ou evitando a perda de recursos que mantêm valor (Barros et al., 2020), e pode ser aplicada ao resíduo de café, mais especificamente a borra, que pode ser reciclada, sofrendo processamento adequado dependente da utilização pretendida, para produzir bioprodutos, como se esquematiza na Figura 1.2. (Dattatraya Saratale et al., 2020).



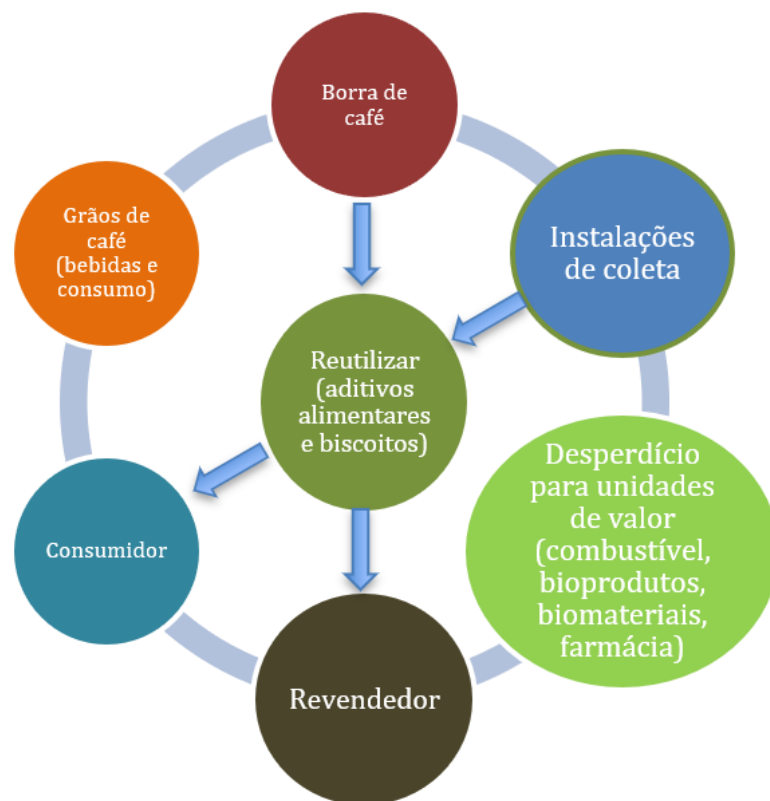


Figura 1.1

Figura 1.2 - Conceito de economia circular para gestão de borra de café – adaptado de Dattatraya Saratale et al. (2020)

### 1.1. Objetivos do Trabalho

O trabalho foi desenvolvido no Instituto Superior de Engenharia do Porto e teve como objetivo avaliar o potencial de valorização das borras de café, nomeadamente através da recuperação de taninos. Tem como objetivos intermédios testar processos para a recuperação dos taninos e a sua conversão a tanase, seguindo-se a otimização do processo de obtenção dos taninos a partir da borra de café. Por fim, uma vez otimizado o processo, será possível desenhar o diagrama do processo para satisfazer os objetivos propostos, realizando o balanço de massas.

### 1.2. Organização da Dissertação

Esta Dissertação encontra-se organizada em 5 capítulos. No capítulo 1 faz-se uma breve introdução ao tema do trabalho, apresentando-se a motivação e os objetivos do mesmo. Por fim, apresenta-se a organização da Dissertação.

No capítulo 2 apresenta-se o Estado da Arte, onde se encontram dados sobre a borra de café, sua composição e disponibilidade. Neste capítulo apresentam-se também as suas potenciais aplicações e

alguns estudos realizados previamente relacionados com os taninos e as tanases a incluir a descrição de processos existentes para a extração destes compostos.

No capítulo 3 apresenta-se o caso de estudo, nomeadamente descrevendo-se a metodologia usada para atingir os objetivos propostos.

No capítulo 4 apresentam-se os resultados obtidos, discutindo-os e comparando-os com resultados disponíveis na literatura.

No capítulo 5 apresentam-se as principais conclusões retiradas da realização deste trabalho, apresentando-se ainda propostas para trabalho futuro.



## 2. Estado de Arte

### 2.1. Borra de café

A borra de café (Figura 2.1) ao ser descartada apresenta um elevado risco para o meio ambiente devido ao seu elevado grau de contaminação, pois contém compostos tóxicos como taninos, cafeína e polifenóis. Antes de se decidir qual o melhor fim de vida deste resíduo é necessário conhecer as suas características físico-químicas, permitindo uma melhor otimização das aplicações pretendidas. A partir de estudos realizados sobre a caracterização da borra que provêm de diferentes tipos de café e de diferentes países produtores é possível traçar um perfil deste resíduo (Mata et al., 2018).



Figura 2.1 - Borra de café

#### 2.1.1. Disponibilidade e composição

A borra de café, sendo um resíduo resultante da preparação de café, tem a sua disponibilidade diretamente relacionada com o consumo de café existente. É necessário realçar que em média por cada kg de café produzido, resultam 2 kg de borra húmida (Cruz, 2015).

A Figura 2.2 apresenta o gráfico de evolução da produção e de consumo de café no mundo entre 2016 e 2021 (Organização Internacional do Café, 2021).

Os dados de 2018 indicam que cada cidadão pertencente aos 80% da população que consomem café, bebe 2,5 chávenas de café diariamente, o equivalente a uma média de 4,73 kg de café por pessoa e por ano. A média de consumo de café na Europa é de 6,4 kg por pessoa e por ano, sendo que a nível mundial a média é de apenas 1,3 kg por pessoa e por ano (Projeto, 2021). Estes dados mostram a quantidade de resíduos que são gerados com todo este consumo, que estatisticamente mostram a Europa com um consumo de café de cerca de 5 vezes superior comparando com o resto do mundo, sendo sinónimo de uma produção de resíduos muito elevada.

Portugal é um país que regista um consumo de café significativo com previsão para o ano de 2021 de consumo de café no país de 4,4 kg de café por pessoa e por ano (Coffee - Portugal | Statista Market Forecast, 2021). O valor é inferior ao de anos anteriores pois terá sido afetado pela pandemia de covid-19 com a diminuição de afluência aos cafés, visto que enquanto na Europa 20 % do consumo de café é realizado fora de casa e 80 % em casa, em Portugal a situação é inversa e a maioria do consumo de café é realizado fora de casa (Projeto, 2021).

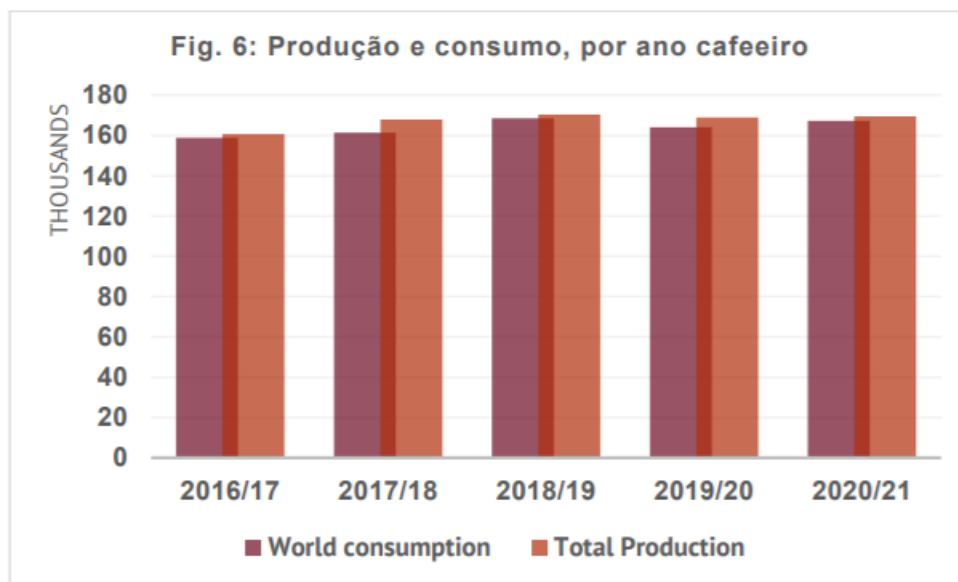


Figura 2.2 - Produção e consumo mundial de café no mundo (Organização Internacional do Café, 2021).

A borra de café é um resíduo lignocelulósico, que tem na sua composição diversos constituintes potencialmente interessantes. A recuperação destes compostos pode permitir reduzir o impacto ambiental gerado pelo seu descarte. Tem ainda a vantagem de ser um recurso de baixo custo e de fácil obtenção.

Na verdade, a borra de café é um resíduo cujo teor de humidade é elevado, particularmente logo após a preparação do café. A fração seca da borra de café contém um teor apreciável de celulose e hemiceluloses, lignina, lípidos bem como proteínas (Dattatraya Saratale et al., 2020). Adicionalmente, a borra de café contém ainda taninos, compostos fenólicos antioxidantes e diversos macro e micronutrientes.

Na Tabela 2.1 encontram-se alguns dados físico-químicos da borra de café disponíveis na literatura.

Tabela 2.1 - Caracterização da borra de café (adaptado de Mata et al., 2018).

| Parâmetro                         | Valor      |
|-----------------------------------|------------|
| Poder calorífico superior (MJ/kg) | 19,0-26,9  |
| Celulose (mg/kg)                  | 8,6-15,3   |
| Hemiceluloses (mg/kg)             | 36,7 ± 5,0 |
| - Arabinose (mg/kg)               | 1,7        |

| Parâmetro                      | Valor        |
|--------------------------------|--------------|
| - Galactose (mg/kg)            | 13,8         |
| - Manose (mg/kg)               | 21,2         |
| Lípidos (mg/kg)                | 10,0-15,0    |
| Proteína (mg/kg)               | 6,7-13,7     |
| Lignina Klason (% , dwt)       | 30,9-31,9    |
| Lignina solúvel (% , dwt)      | 1,6-1,7      |
| Lignina total (% , dwt)        | 32,5-33,6    |
| Cinzas (% , dwt)               | 0,43-2,2     |
| Humidade (%)                   | 1,18-65,7    |
| Nitrogénio Total (% , dwt)     | 1,9-2,3      |
| Carbono Total (% , dwt)        | 47,8-69,5    |
| Açúcares totais (mg/kg)        | 8,5 ± 1,2    |
| Polifenóis totais (% , dwt)    | 1,5 ± 1,0    |
| Substância peptídica (% , dwt) | 0,01 ± 0,005 |
| Taninos (% , dwt)              | 0,02-0,4526  |
| Ácidos clorogénicos (% , dwt)  | 2,2          |
| Potássio (mg/kg)               | 3549,0       |
| Fósforo (mg/kg)                | 1475,1       |
| Magnésio (mg/kg)               | 1293,3       |
| Cálcio (mg/kg)                 | 777,4        |
| Alumínio (mg/kg)               | 279,3        |
| Ferro (mg/kg)                  | 118,7        |
| Manganês (mg/kg)               | 40,1         |
| Cobre (mg/kg)                  | 32,3         |
| Zinco (mg/kg)                  | 15,1         |
| Enxofre (mg/kg)                | ND           |
| Crómio (mg/kg)                 | ND           |

ND – não detetado

### 2.1.2. Aplicações

A borra de café apresenta na sua composição constituintes que a tornam uma matéria-prima interessante em bioprocessos com aplicações diversas (Mata et al., 2018). Este resíduo pode ser utilizado como fonte de nutrientes no cultivo de cogumelos (Fan et al., 2000), na produção de espumas viscoelásticas de poliuretano para isolamento térmico (Gama et al., 2015), como ração animal (Cruz, 2015), na produção de fertilizantes (Ribeiro et al., 2017), na produção de uma aguardente considerada com tendo características de bebida agradável, com cheiro e sabor a café (Sampaio et al., 2013).

Outras aplicações potenciais para o resíduo da borra de café são a remoção de corantes solúveis em água (Safarik et al., 2012), a produção de galactomananos para posterior aplicação na medicina e na indústria farmacêutica (Passos et al., 2014), e como potencializador de aglutinante de asfalto danificado para ser utilizado em estradas (Jalkh et al., 2018). Outras aplicações importantes passam pela produção de uma biomassa enriquecida em vitaminas para utilização nos solos (Petrík et al., 2014), utilização como um ingrediente ou aditivo na indústria de alimentos com forte potencial de preservação e propriedades funcionais, antioxidantes naturais e eliminadores de radicais livres (Bravo et al., 2013; Severini et al., 2017), além de inúmeras aplicações na indústria têxtil, do papel e

detergentes (Murthy et al., 2009). Estudos mostram que a borra de café pode ser convertida com sucesso em biodiesel (Liu et al., 2017), bioetanol (Mussatto et al., 2012), bio-óleos (Yang et al., 2017) e biogás (Dinsdale et al., 1996), sendo estas as que provocam um maior impacto na sociedade e no ambiente, permitindo dar uma nova vida a um resíduo que, deste modo irá contribuir para uma diminuição do uso de combustíveis fósseis e da poluição produzida.

## **2.2. Produtos de valor na borra de café**

Existem vários compostos de valor que podem ser recuperados da borra de café. Durante a preparação do café, a borra retém óleos (lípidos) como ácidos linoleico, palmítico, esteárico, oleico e linolénico (Campos-Vega et al., 2015). Além dos óleos, ficam retidos cerca de 70% dos polissacarídeos presentes no grão de café torrado (Mussatto et al., 2011). As proteínas como leucina, valina, glutamina, histidina, cisteína e metionina também fazem parte da sua constituição em quantidades significativas, entre 13 a 17% (Campos-Vega et al., 2015).

A borra de café é um resíduo rico em polifenóis, micronutrientes que incluem propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, sendo a recuperação destes compostos fenólicos de elevada relevância. A cafeína também se encontra neste resíduo, contudo em baixa quantidade, uma vez que grande parte foi extraída pelo líquido (Panusa et al., 2013). Para além de todos estes compostos, encontram-se também presentes os taninos, importantes para o nosso organismo com as suas propriedades antioxidantes e que são o produto de valor que se pretende recuperar neste estudo.

### **2.2.1. Taninos**

Os taninos pertencem a um grupo de compostos fenólicos com origem no metabolismo secundário das plantas e são polímeros fenólicos solúveis em água (exceto os de elevado peso molecular) com a capacidade de precipitar proteínas. Possuem um peso molecular elevado, entre 500 a 3000 Da, e apresentam na sua constituição grupos hidroxilo-fenólicos em quantidade necessária para ocorrer a formação de ligações cruzadas com proteínas (Battestin et al., 2004).

É possível encontrar estes compostos dentro do reino vegetal, tanto em espécies gimnospermas como angiospermas, sendo que a maioria dos vegetais o apresentam na sua constituição. A ocorrência dos taninos nas plantas varia de acordo com as condições climáticas e geográficas em que se encontram. Habitualmente estão presentes nas raízes, na casca, no lenho, nas folhas, nos frutos, na seiva e nas sementes; contudo, a maior ocorrência é nos vacúolos das plantas, onde não interferem no seu metabolismo, atuam apenas após a lesão e morte das plantas e possuem um metabolismo eficiente. Também existe uma percentagem de taninos em algumas madeiras, o que mostra que este composto fenólico é muito abundante na natureza, sendo a sua investigação e recuperação um ponto importante a abordar (Nozella, 2001).

A Tabela 2.2 apresenta exemplos do teor de taninos totais em algumas espécies vegetais (dos santos, 2000).

Por apresentarem estrutura química diferentes, os taninos são classificados em dois grupos, os taninos hidrolisáveis e os taninos condensados ou proantocianidinas (Battestin et al., 2004).

Tabela 2.2 - Teor de taninos totais em algumas espécies vegetais (adaptado de dos Santos, 2000)(Barbosa, 2014).

| Produtos            |        | Teor de Taninos |
|---------------------|--------|-----------------|
| Abacaxi             | Folha  | 0,81 %          |
|                     | Caule  | 0,61 %          |
| Sorgo               |        | 0,60 - 2,61 %   |
| Mandioca            |        | 0,62 – 1,11 %   |
| Cajú                |        | 0,35 – 0,72 %   |
| Café (casca)        |        | 1,31 – 2,97 %   |
| Folha de couve-flor |        | 0,21 mg/100 g   |
| Folha de brócolo    |        | 0,325 mg/100 g  |
| Couve               |        | 0,290 mg/100 g  |
| Taioba              | Folhas | 1,0 mg/100 g    |
|                     | Limbo  | 1,17 mg/100 g   |
|                     | Caule  | 0,82 mg/100 g   |

#### 2.2.1.1. Taninos hidrolisáveis

Este grupo de taninos é o que se encontra presente em folhas, galhos, cascas e madeiras de diferentes árvores. São compostos por misturas de fenóis simples como por exemplo pirogalol e ácido elágico, ou por ésteres do ácido gálico ou digálico com açúcares como a glicose, que se unem por ligações éster-carboxilo, sendo hidrolisáveis em condições ácidas ou alcalinas (Battestin et al., 2004).

Este tipo de tanino apresenta como unidade básica da sua estrutura um poliol, habitualmente D-glicose, com os grupos hidroxilo esterificados pelo ácido gálico (galotaninos) ou hexadihidroxifênico (elagitaninos) (Battestin et al., 2004).

A estrutura química do ácido tânico (tanino hidrolisável) é representada na Figura 2.3.

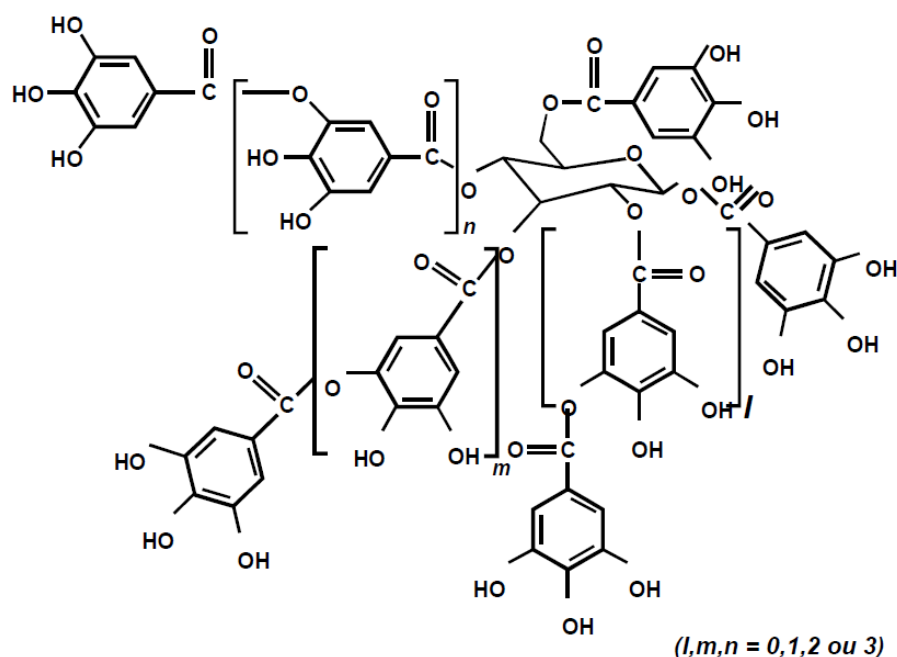


Figura 2.3 - Estrutura química de tanino hidrolisável (Battestin et al., 2004).



As Figura 2.4 e Figura 2.5 apresentam as estruturas moleculares do ácido gálico (galotaninos) e de hexadihidroxifênico (elagitaninos).

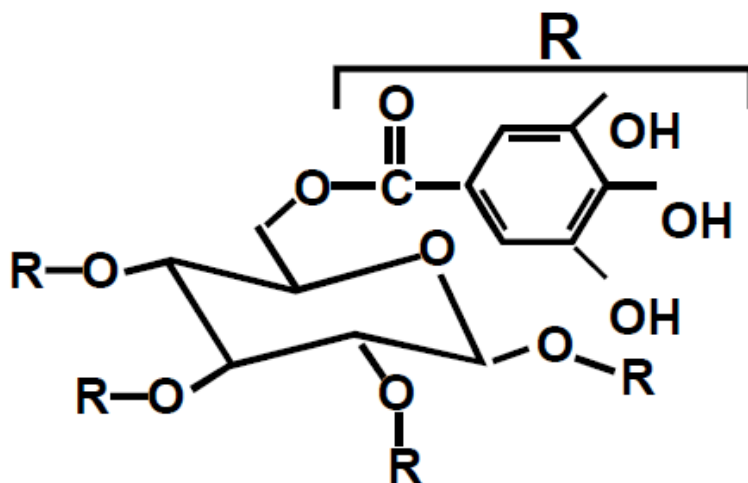


Figura 2.4 - Estrutura molecular do ácido gálico (galotaninos) (Battestin et al., 2004).

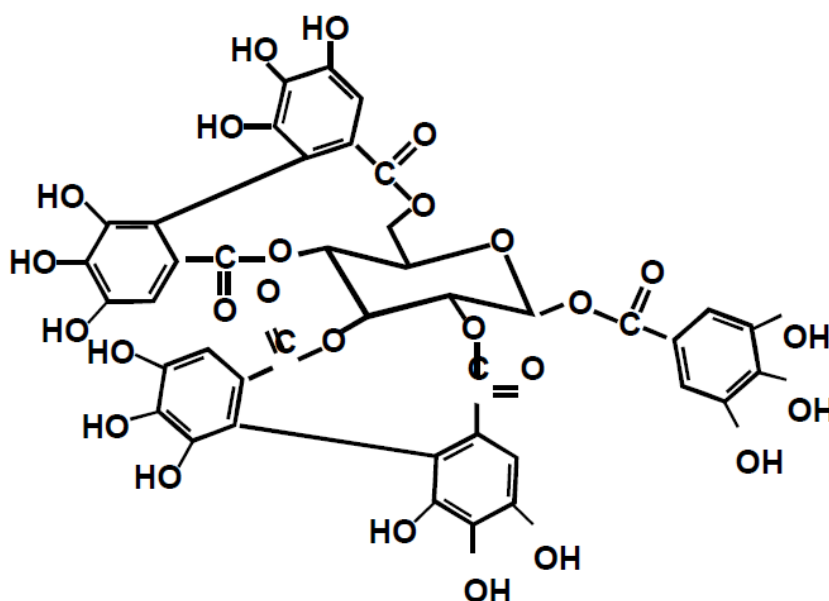


Figura 2.5 - Estrutura molecular de ácido hexadihidroxifênico (elagitaninos) (Battestin et al., 2004).

#### 2.2.1.2. Taninos condensados

Os taninos condensados ou proantocianidinas são compostos por unidades flavanol, flavan-3-ols (catequina) ou flavan 3,4-diols (leucoantocianinas). Estão presentes em maior abundância nos alimentos normalmente consumidos pelo ser humano e podem conter entre duas a cinquenta unidades flavanóides. Apresentam uma estrutura complexa, são resistentes à hidrólise e solúveis em solventes orgânicos aquosos, dependendo da sua estrutura (Battestin et al., 2004).

Os pigmentos antocianidinas são responsáveis pela cor rosa, vermelha, violeta e azul em folhas, flores, frutos, sumos e vinhos. Também têm impacto no paladar de frutas, sumos e vinhos, atuando, por vezes, como compostos bioativos em plantas medicinais (Battestin et al., 2004).

Existem espécies que apenas produzem taninos condensados ou taninos hidrolisáveis separadamente, contudo existem outras que são conhecidas por produzirem uma mistura complexa contendo os dois grupos de taninos existentes, como por exemplo *Acácia*, *Acer* e *Fagaceae* (Battestin et al., 2004).

Um exemplo de estrutura química de tanino condensado é apresentado na Figura 2.6.

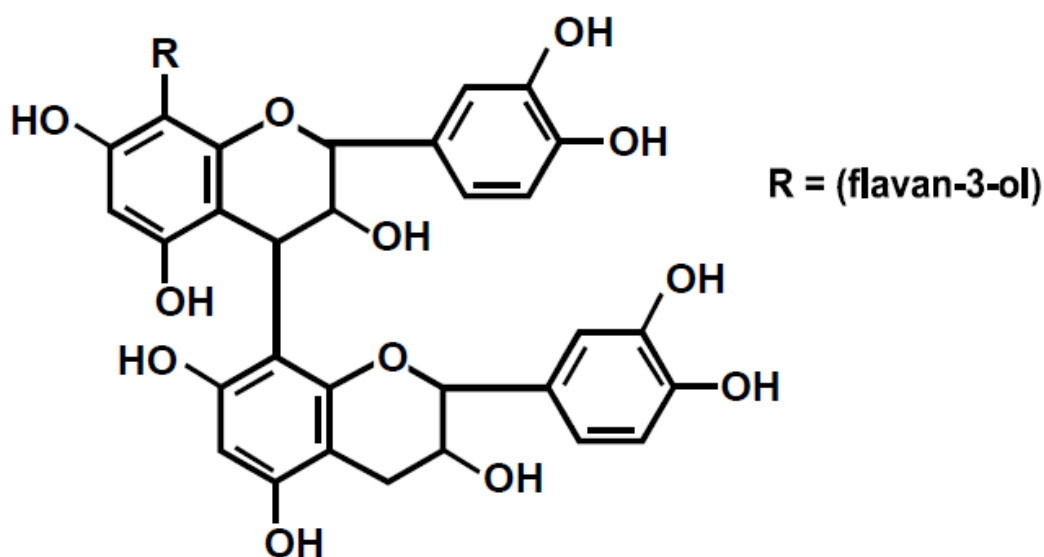


Figura 2.6 - Estrutura química de tanino condensado (Battestin et al., 2004).

### 2.2.1.3. Aplicações dos taninos

Os taninos têm variadas aplicações, desempenhando papéis fundamentais em diversos processos de produção. Um exemplo de aplicação é o da estabilização da cerveja, que é um produto suscetível a alterações na composição e na estabilidade físico-química, possui gás carbônico, álcool etílico, sais orgânicos e cerca de 800 compostos orgânicos. Para diminuir a concentração de proteínas na cerveja utiliza-se ácido tânico (tanino hidrolisável) para precipitar proteínas sob a forma de complexos tanino-proteicos, posteriormente retirados do produto final por sedimentação ou centrifugação seguido de filtração (Battestin et al., 2004). Também se aplicam taninos no processo de curtimento de pele animal para a transformação em couro, sendo uma substância tanante um sinônimo de substância com o poder de transformar pele animal em couro devido à sua atuação adstringente de retirar a água dos interstícios das fibras, contraindo tecidos orgânicos moles e impedindo a sua putrefação (Gonçalves & Lelis, 2001).

Pode-se aplicar taninos também na produção de resinas, em que estas apresentam características de ligação interna, viscosidade e tempo de formação de gel com características semelhantes às resinas comerciais já conhecidas, uma *tecnologia verde* em que se utilizam taninos que podem ser provenientes de resíduos em vez de produtos derivados do petróleo (Gonçalves & Lelis, 2001).

#### 2.2.1.4. Tanase

Tanase é uma enzima produzida pela degradação dos taninos por fungos, bactérias e leveduras que hidrolisa ésteres e ligações laterais de taninos hidrolisáveis produzindo glicose e ácido gálico (Figura 2.7) (Battestin et al., 2004). A degradação de taninos é muito utilizada como no tratamento de efluentes, diminuindo a concentração de taninos por biodegradação, na indústria de couro (Aguilar & Gutierrez-Sanchez, 2001).

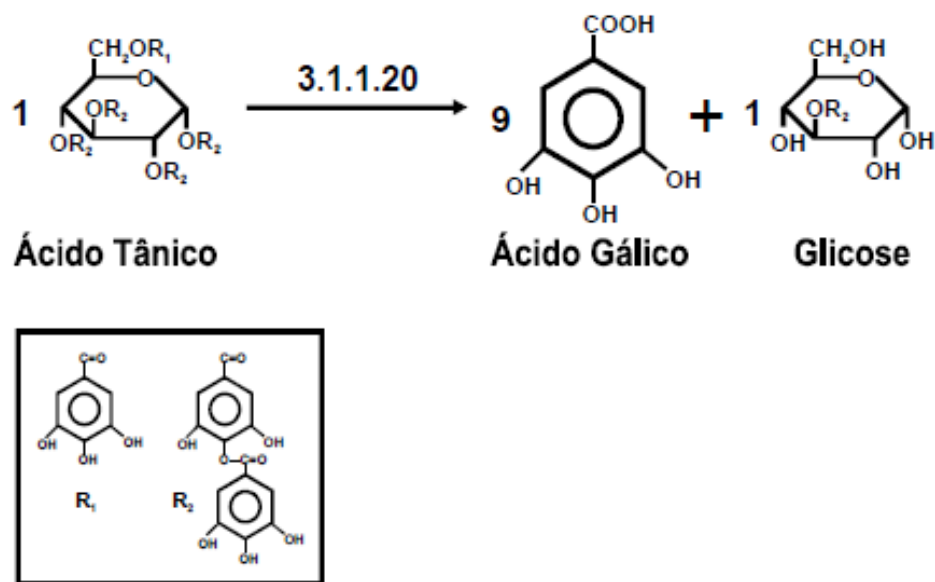


Figura 2.7 - Hidrólise do ácido tânico, R1 (galoil) e R2 (Battestin et al., 2004).

A tanase apresenta pH de operação entre os 3,5 e os 8,0, tendo o pH ótimo entre 5,5-6,0. Possui temperatura de estabilidade entre os 30 e os 60 °C, sendo ótima entre os 30 e os 40 °C, ponto isoelétrico de 4,0-4,5 e massa molecular que varia entre os 180 e os 300 kDa. As propriedades das tanases dependem das condições de cultura e da linhagem que foi utilizada para a sua síntese.

##### 2.2.1.4.1. Aplicações da tanase

A tanase tem diversas aplicações na indústria, contudo o seu custo de produção é elevado. É possível utilizar esta enzima na indústria alimentar, de refrigerantes e cervejeira (Lekha & Lonsane, 1994), cosmética, farmacêutica e na indústria química, sendo a principal aplicação da tanase a produção de ácido gálico (Banerjee et al., 2001). É aplicada em chás instantâneos para eliminar complexos insolúveis indesejados, aumentando a concentração do chá e apresentando uma maior atividade antioxidante, o que garante um produto final de elevada qualidade (Lu & Chen, 2008). É também utilizada como estabilizante da cor do vinho (Lekha & Lonsane, 1997), refrigerantes à base de café, entre outros (Banerjee et al., 2001).

#### 2.2.2. Processos de extração de taninos

É possível encontrar diferentes métodos de extração de taninos a partir de vários resíduos/matérias-primas.

Um estudo sobre extração de taninos em plantas indica como processo a extração assistida por microondas em que a condução iônica e a rotação dipolar originam a transformação da energia de microondas em calor, através da interação com moléculas polares. Este processo de extração ocorre à temperaturas entre os 100 e os 150 °C (Reighard & Olesik, 1996). O rendimento da extração dos taninos depende da profundidade da penetração das microondas na amostra. O teor de humidade, a temperatura da amostra e a frequência do campo elétrico influenciam a profundidade de penetração de microondas. O principal objetivo neste processo é ajudar a aumentar a difusão dos taninos no extrato, para isso a escolha do solvente é muito importante. Os taninos têm maior solubilidade em água, etanol e metanol, que são solventes que absorvem fortemente a energia das microondas e a sua constante dielétrica é elevada comparando com solventes como tolueno ou hexano (Xuan Cuong et al., 2020).

Um método de extração e caracterização de taninos de espécies de acácia indica a utilização de 40 g de amostra triturada em partículas com dimensão de 2 mm para a extração de taninos. Foram realizados ensaios de extração com 3 solventes diferentes, água, 80% de metanol e 70% de acetona. O volume de solvente usado foi de 200 ml, com agitação, e à temperatura ambiente. Contudo os autores realizaram o mesmo ensaio alterando a temperatura para o ponto de ebulição do solvente durante 10 minutos, para verificar qual o efeito da temperatura na extração. De seguida as amostras foram filtradas com papel Whatman nº 1. Os extratos foram transferidos para um frasco de fundo redondo tarado e aumentou-se a concentração do extrato sob vácuo num evaporador rotativo. Por fim o extrato foi seco num forno a vácuo à temperatura de 60 °C até peso constante (Elgailani & Ishak, 2016). Os resultados indicam que ambos os métodos de extração utilizados, um por fervura e outro por agitação das amostras nos diferentes solventes durante 8 horas à temperatura ambiente não diferem muito na percentagem de extrato. O solvente 70% de acetona foi o mais eficiente comparando com a água e o metanol a 80%, chegando a atingir rendimentos de 29,5%. Para caracterizar os taninos extraídos, recorreu-se ao espectrofotômetro de CCD, UV e IV e comparou-se os resultados obtidos com a literatura sobre taninos e compostos fenólicos relacionados (Elgailani & Ishak, 2016).

A extração de taninos assistida por ultrassons foi utilizada num estudo em bolotas. A amostra foi seca a 45 °C durante 1 mês, com o objetivo de atingir um teor de humidade estável. De seguida a mesma foi triturada até atingir um tamanho de partícula entre 200 – 1000 µm. Após triturar a amostra, recolheram-se 2 g e adicionaram-se numa mistura de 200 ml composto por uma mistura de metanol e água 60/40 (v/v), contendo também celulose com uma concentração fixa sob condições de agitação e com valor de pH da mistura ajustado para aproximadamente 5.0. A partir desse momento a solução foi submetida a ultrassons com intervalo de temperaturas entre os 25 e os 65 °C, potência de ultrassons de 20 – 200 W, frequência de 60 kHz e tempos de extração entre 2 e 4 horas. De seguida a solução extraída foi obtida por ultracentrifugação e concentrada por secagem a 80 °C em condições de vácuo e por fim liofilizada. As condições ideais de extração são com um tempo de ultrassons de 2,51 horas, com potência ultrassônica de 97,92 W, à temperatura de 38 °C e concentração de celulose 3,44 g/L (Luo et al., 2019).

A extração de taninos é mais rápida e tem um maior rendimento quando o tamanho das partículas é menor, deste modo os solventes penetram nas partículas com maior facilidade, existindo uma maior área de contacto, diminuindo o tempo de extração, sendo então o tamanho das partículas um parâmetro de estudo (Das et al., 2020).



### 3. Descrição Técnica

A descrição técnica mostra todos os passos realizados até à quantificação de taninos presentes nas diferentes amostras de borra de café (Figura 3.1).

Sendo a borra a matéria-prima utilizada, o trabalho iniciou-se com a sua recolha e caracterização, sendo que se indicam seguidamente quais os parâmetros de estudo utilizados e quais os procedimentos a seguir.

Após a caracterização da borra de café, segue-se a quantificação dos taninos presentes nas diferentes amostras, extraídos sob diferentes condições, com o objetivo de otimizar o processo de obtenção de taninos a partir da borra, obtendo o máximo rendimento possível. Inicialmente quantificaram-se os taninos em amostras de borra de café e em amostras de borra de descafeinado, contudo, após análise dos resultados obtidos verificou-se que os níveis de taninos presentes nas diferentes amostras eram idênticos. Para além disso, não existe o hábito na restauração de se separar as diferentes borras, e o descafeinado possui as mesmas características que o café, passando apenas por um processo de descafeinação.

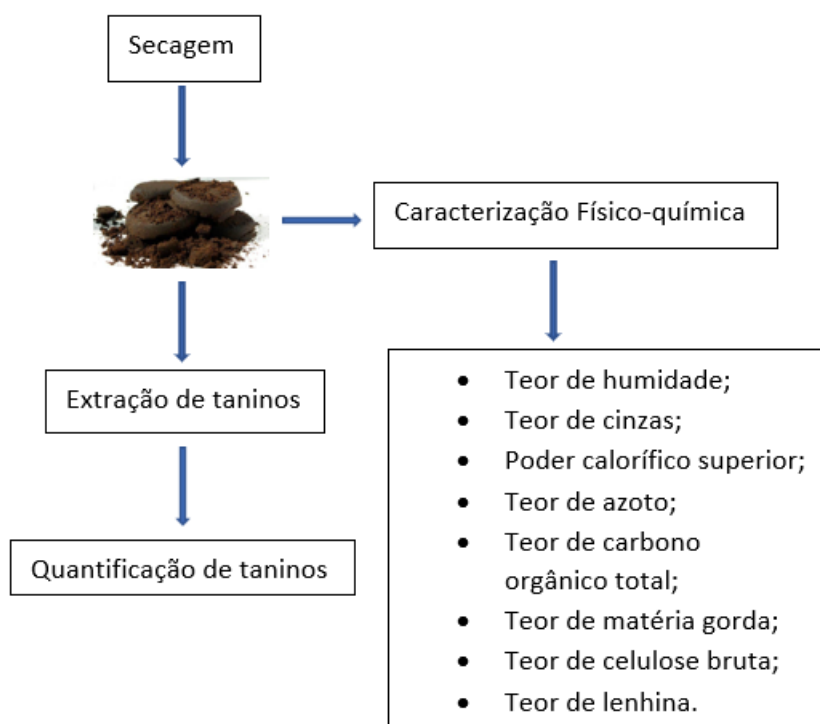


Figura 3.1 Etapas do processo realizado para valorização da borra de café.

#### 3.1. Caracterização Físico-química das amostras de borra de café

O café é um produto que apresenta uma certa variabilidade na sua composição, sendo que depende muito da sua qualidade e do processo de produção utilizado, deste modo é muito importante realizar a caracterização da borra utilizada. Neste subcapítulo encontram-se descritos, resumidamente,

os métodos utilizados para a caracterização das amostras de borra de café, para a qual se pretendem avaliar os diferentes parâmetros, como: teor de humidade, teor de cinzas, poder calorífico superior, teor de azoto, teor de carbono orgânico total, teor de matéria gorda, teor de celulose bruta e teor de lignina. Os procedimentos utilizados nos diferentes parâmetros encontram-se descritos no Anexo 7.1.

➤ Determinação do Teor de Humidade

O teor de humidade foi determinado por método direto, com secagens repetidas numa estufa (WTB Binder), a  $103 \pm 5$  °C, seguido de um arrefecimento num exsiccador até atingir a temperatura ambiente. O processo termina quando se atinge um peso constante da amostra.

➤ Determinação do Teor de Cinzas

O teor de cinzas foi determinado de acordo com o método da AOAC 923.03.44, colocando uma determinada massa de borra de café seca em estufa num cadinho previamente seco e calcinando a amostra numa mufla (Vulcan A-550) a  $550 \pm 5$  °C durante um período de tempo definido.

➤ Determinação do Poder Calorífico Superior

O poder calorífico superior corresponde ao calor que é produzido pela combustão completa de uma determinada substância e da energia gasta na vaporização da água que se forma numa reação de oxidação. A determinação do poder calorífico superior da borra de café foi realizada de acordo com o procedimento descrito na norma ASTM D5865-10, utilizando um calorímetro (PARR 6200 Calorimeter).

➤ Determinação do Teor de Azoto

O teor de azoto foi determinado pelo método de Kjeldahl convencional, que se baseia na digestão da amostra por aquecimento com ácido sulfúrico concentrado num digestor (Raypa), juntamente com um catalisador. As formas azotadas que se encontram presentes na amostra são transformadas em sulfato de amónio que, por destilação num destilador (Kjeltec system 1002 distilling unit) por ação de uma solução de hidróxido de sódio a 40%, liberta amónio que é fixado numa solução de ácido bórico de título conhecido. Após esta etapa, segue-se a titulação da amostra com ácido clorídrico de título conhecido e na presença de um indicador, determinando-se a quantidade de amoníaco e consequentemente a quantidade de azoto contido na amostra.

➤ Determinação do Teor de Carbono Orgânico Total

O teor de carbono orgânico total (COT) por combustão a alta temperatura implica a determinação do teor de carbono total e do teor de carbono inorgânico. A quantificação do carbono total requer a injeção da amostra numa câmara a cerca de 900 °C, dando-se a decomposição completa dos carbonatos presentes na amostra em dióxido de carbono. Esse dióxido de carbono que é resultante da oxidação da matéria orgânica e do carbono inorgânico é depois transportado por um gás de arraste (oxigénio) e quantificado. Na determinação do carbono inorgânico, a amostra é injetada na câmara de reação e acidificada com ácido fosfórico. Com esta reação, o carbono inorgânico é convertido também em dióxido de carbono, que é transferido para o detetor e medido. Deste modo apenas se quantifica o teor de carbono inorgânico, sendo que o carbono orgânico não é oxidado.

O teor de carbono orgânico total foi determinado de acordo com o procedimento descrito no manual do aparelho Analisador de COT (*Shimadzu, TOC-VCSN*), com recurso ao módulo para amostras sólidas (*TOC-V Series SSM-5000*).

➤ Determinação do Teor de Matéria Gorda

O teor de matéria gorda foi determinado de acordo com o procedimento que se encontra estipulado na norma NP 856, sendo que representa a percentagem de matéria gorda que é possível extrair por um procedimento padronizado.

➤ Determinação do Teor de Celulose Bruta

O teor de celulose bruta foi determinado de acordo com os procedimentos descritos na norma Portuguesa *NP-1005: 1974*, recorrendo a uma manta de aquecimento (*SELECTA*), aparelho de filtração a vácuo juntamente com bomba de vácuo (*Neuberger*), balança analítica (*METTLER AE 200*), mufla (*Vulcan A-550*) e estufa (*WTB Binder*).

➤ Determinação do Teor de Lignina

O teor de lignina de *Klason* e solúvel, foram determinados de acordo com a norma *TAPPI T222 om-06*, em que neste método de determinação, a lignina é definida como um componente da celulose insolúvel em ácido sulfúrico a 72%. Para a determinação do teor de lignina solúvel recorre-se a um espectrofotómetro de UV-VIS (*Shimadzu*) para a medição da absorvância a um comprimento de onda de 205 nm, sendo o teor de lignina total a soma entre a lignina de *Klason* e a lignina solúvel.

### 3.2. Extração e Quantificação de Taninos

Para a extração de taninos foram realizados diversos ensaios em diferentes condições, de modo a atingir o máximo rendimento possível. Foram utilizadas borras de café de cápsulas de alumínio e borras de café corrente, e diferentes solventes como acetona, metanol, água e etanol. Em cada amostra utilizavam-se 40 g de borra de café seca para 200 ml de solvente e colocavam-se uma amostra numa placa de aquecimento com agitação à temperatura de 50 °C e outra apenas com agitação à temperatura ambiente (21-23 °C), com ensaios de 1 hora de contacto com agitação e outros de 2 horas de contacto também com agitação. Foi também testado qual seria o resultado de extração de taninos em múltiplos contactos, com reaproveitamento de amostra de ensaios realizados anteriormente realizando ensaios exatamente nas mesmas condições dos ensaios da primeira extração. Para além disso, foi também realizado um ensaio em que a amostra de borra de café não tinha sofrido o processo de secagem, sendo determinada a humidade da borra de modo a utilizar a mesma massa de borra seca com a adição do peso da humidade, para ser possível comparar o efeito da humidade no rendimento de extração. Após o tempo de contacto as amostras eram filtradas numa bomba de vácuo com recurso a papel de filtro de membrana de celulose (*Vacuum Pump V-700*) e o volume de filtrado era medido. Na Figura 3.2 encontra-se um exemplo de amostras após o tempo de contacto.





Figura 3.2 - Amostras após 1 h de tempo de contacto com o solvente água.

De seguida para a quantificação dos taninos com recurso a um tubo de ensaio colocavam-se 1,58 ml de água, 0,1 ml de reagente de Folin, 20  $\mu$ l de amostra e de seguida agitar e deixar repousar durante 5 minutos. Após deixar repousar, acrescentar 0,3 ml de carbonato de sódio a 20% e incubar a 45 °C durante 30 minutos. Na Figura 3.3 encontra-se a cor azul que é obtida após a incubação das amostras.

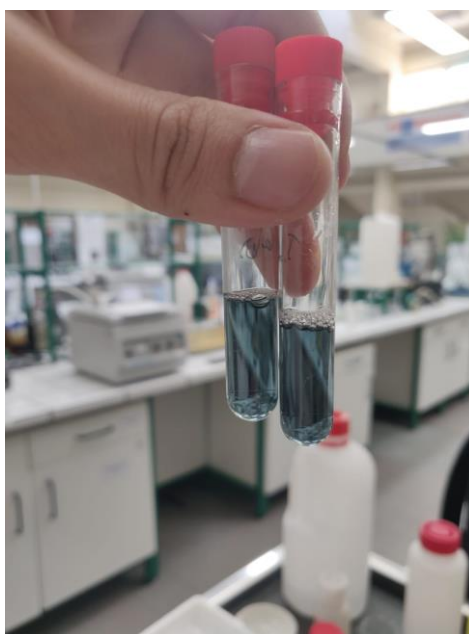


Figura 3.3 – Cor azul obtida na quantificação de taninos das amostras após o tempo de incubação.

Após o tempo de incubação era realizada a leitura da absorvância da amostra num espectrofotômetro UV-Vis (*Shimadzu UV-160 A*), com um comprimento de onda de 765 nm ( $\lambda = 765$  nm). A reta de calibração utilizada foi a de ácido gálico que se encontra no anexo 7.2.

Os resultados obtidos foram calculados através das equações 1 e 2.

$$y = 0,0156x + 0,0028$$

Equação 1

$$\text{Massa de taninos} = \text{Concentração de Taninos} \times \text{Volume filtrado}$$

Equação 2

Onde,

y = absorvância da amostra;

x = concentração de taninos ( $\mu\text{g/ml}$ ).



## 4. Resultados e Discussão

Neste capítulo encontram-se presentes os resultados experimentais obtidos. Os resultados da caracterização da borra de café encontram-se no subcapítulo 4.1 e os resultados da extração de taninos encontram-se no subcapítulo 4.2.

### 4.1. Caracterização da Borra de Café

Neste subcapítulo encontram-se as principais características da borra de café, sendo que os parâmetros avaliados foram o teor de humidade, o teor de cinzas, o poder calorífico superior, o teor de azoto, o teor de carbono orgânico total, o teor de matéria gorda, o teor de celulose bruta e o teor de lignina. Na Tabela 4.1 encontram-se os resultados experimentais obtidos para a caracterização da borra de café, tal como valores de referência disponíveis na bibliografia.

Tabela 4.1 - Resultados experimentais da caracterização da borra de café e valores de referência

| Parâmetro*                         | Este trabalho      | (Mata et al., 2018) | (Caetano et al., 2014) |
|------------------------------------|--------------------|---------------------|------------------------|
| Teor de Humidade (%)               | 28,26 <sup>#</sup> | 1,18 – 57,7         | 65,7                   |
| Teor de Cinzas (%)                 | 1,38               | 0,43 – 2,2          | 2,2                    |
| Poder Calorífico Superior (MJ/kg)  | 21,38              | 19,0 – 26,9         | 19,3                   |
| Teor de Azoto (%)                  | 0,37               | 1,9 – 2,3           | 2,2                    |
| Teor de Carbono Orgânico Total (%) | 47,6               | 47,8 – 69,5         | 67,3                   |
| Teor de Celulose Bruta (%)         | 15,02 <sup>1</sup> | 8,6 – 15,3          | 13,8                   |
| Teor de Lignina Solúvel (%)        | 3,12               | 1,6 – 1,7           | 1,7                    |
| Teor de Lignina de Klason (%)      | 39,4               | 30,9 – 31,9         | 31,9                   |

\*Todas as percentagens são em base seca, exceto o Teor de Humidade.

<sup>#</sup>Teor de Humidade medido após 2 dias de secagem ao ar.

<sup>1</sup> Teor de celulose bruta calculado a partir do teor de matéria gorda da borra utilizada (14,27%)

A partir dos resultados obtidos e comparando-os com a literatura é possível observar que a maioria dos parâmetros não difere significativamente face aos resultados encontrados nas referências

bibliográficas, com a exceção do teor de lignina solúvel e de Klason em que ambas apresentam uma maior percentagem na borra de café utilizada neste estudo e o teor de azoto que apresentou uma percentagem inferior à da literatura. Essas diferenças advêm dos diferentes tipos de borra utilizada, sendo que a marca de café utilizada e o estado de conservação das borras podem afetar os resultados de caracterização das mesmas, justificando as divergências apresentadas.

O teor de humidade é um dos parâmetros mais comuns a ser analisado nas diferentes biomassas, sendo que neste caso (28,26%) se encontra de acordo com os valores de referência. A percentagem de humidade na borra pode atingir valores muito variados devido às diferentes condições de armazenamento da mesma.

Relativamente ao teor de cinzas (1,38%), ao teor de celulose bruta (15,02%) e ao poder calorífico superior (21,38 MJ/kg), ambos os valores se situam dentro da gama dos valores expectáveis de acordo com os dados que se encontram na literatura. O teor de celulose bruta foi obtido a partir do teor de matéria gorda da borra utilizada (14,27%). É importante referir e comparar o poder calorífico superior de diferentes biomassas como aparas de madeira (17,37 MJ/kg), casca de grão de arroz (15,96 MJ/kg), bagaço da cana-de-açúcar (17,90 MJ/kg) com o da borra de café (21,38 MJ/kg), sendo evidente o potencial da utilização desta biomassa como fonte calorífica para queima e geração de energia (CALDEIRA, 2015).

O teor de carbono orgânico total (47,57%) encontra-se muito próximo da gama de valores encontrados nas referências bibliográficas.

Por fim, e segundo os resultados obtidos, é possível observar uma vez mais o potencial da borra de café, e sendo esta uma biomassa em abundância, é relevante a sua utilização em importantes aplicações nas indústrias alimentar e farmacêutica.

## **4.2. Extração de Taninos**

Neste subcapítulo encontram-se os resultados obtidos nos diferentes ensaios realizados para extração de taninos. Foram realizados ensaios com: a) borra de cápsulas de café; b) borra de café corrente, e café por extrair (marca Continente) c) com moagem fina e d) com moagem grossa. Os ensaios com café por extrair foram realizados para comparar os taninos presentes no café com os presentes na borra, e as diferentes moagens utilizadas permitiram comparar o efeito da moagem na extração de taninos, devido às diferentes áreas de contacto entre a amostra e o solvente extrator. Foram também utilizadas temperaturas diferentes nos ensaios com a finalidade de observar o efeito da temperatura no rendimento de extração. Para além disso, realizaram-se ensaios com 2 extrações sucessivas a partir da mesma amostra. Na Tabela 4.2 e na Figura 4.1 encontram-se os resultados obtidos nos diversos ensaios realizados.

Tabela 4.2 - Quantidade de taninos recuperados nas diversas amostras de borra de café, com distintos solventes e condições de extração (40 g de amostra para 200 ml de solvente).

| Solvente           | Condições | Humidade | Amostra                   | Massa de taninos (mg) |
|--------------------|-----------|----------|---------------------------|-----------------------|
| Acetona            | 50 °C     | 0%       | Borra de cápsulas de café | 14,2                  |
|                    |           |          | Borra de café corrente    | 4,9                   |
|                    |           |          | Café com moagem fina      | 3,7                   |
|                    |           |          | Café com moagem grossa    | 7,4                   |
|                    | T.A.      | 0%       | Borra de cápsulas de café | 14,5                  |
|                    |           |          | Borra de café corrente    | 5,3                   |
|                    |           |          | Café com moagem fina      | 3,0                   |
|                    |           |          | Café com moagem grossa    | 4,6                   |
| Metanol            | 50 °C     | 0%       | Borra de cápsulas de café | 10,0                  |
|                    |           |          | Borra de café corrente    | 2,5                   |
|                    |           |          | Café com moagem fina      | 9,1                   |
|                    |           |          | Café com moagem grossa    | 4,6                   |
|                    | T.A.      | 0%       | Borra de cápsulas de café | 9,6                   |
|                    |           |          | Borra de café corrente    | 1,2                   |
|                    |           |          | Café com moagem fina      | 9,8                   |
|                    |           |          | Café com moagem grossa    | 4,0                   |
| Água               | 50 °C     | 0%       | Borra de cápsulas de café | 7,3                   |
|                    |           |          | Borra de café corrente    | 4,6                   |
|                    | T.A.      | 0%       | Borra de cápsulas de café | 2,0                   |
|                    |           |          | Borra de café corrente    | 2,0                   |
| Etanol             | 50°C      | 0%       | Borra de café corrente    | 9,3                   |
|                    |           |          | Café com moagem fina      | 18,5                  |
|                    |           |          | Café com moagem grossa    | 18,0                  |
|                    | T.A.      | 0%       | Borra de café corrente    | 3,4                   |
|                    |           |          | Café com moagem fina      | 18,4                  |
|                    |           |          | Café com moagem grossa    | 10,0                  |
| Etanol 2ª Contacto | 50°C      | 0%       | Borra de café corrente    | 10,3                  |
|                    |           |          | Café com moagem fina      | 11,9                  |
|                    |           |          | Café com moagem grossa    | 18,5                  |
|                    | T.A.      | 0%       | Borra de café corrente    | 5,4                   |
|                    |           |          | Café com moagem fina      | 18,1                  |
|                    |           |          | Café com moagem grossa    | 20,0                  |
| Etanol             | 50 °C     | 53%      | Borra de café corrente    | 17,7                  |
|                    | T.A.      |          |                           | 6,8                   |
| Etanol 2º Contacto | 50 °C     |          |                           | 7,9                   |
|                    | T.A.      |          |                           | 8,2                   |

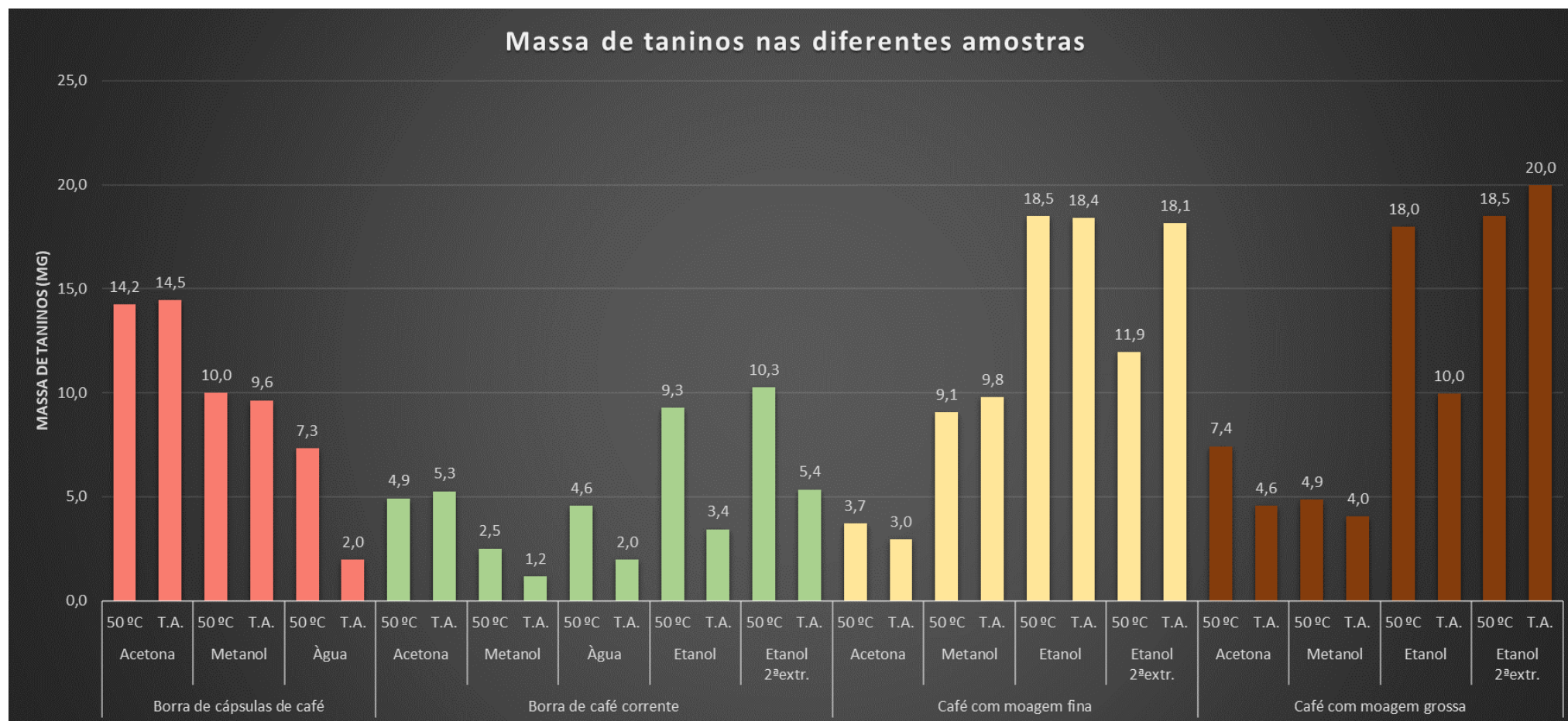


Figura 4.1 - Quantidade de taninos recuperados nas diversas amostras de borra de café, com distintos solventes e condições de extração (40 g de amostra para 200 ml de solvente).

A partir da Figura 4.1 é possível comentar que o facto de se terem realizado ensaios com diferentes tipos de moagem, testou a hipótese de que maior área de contacto origina maior rendimento de extração, concluindo que esta relação não se verifica. A área de contacto pode ser desprezada como fator para o aumento do rendimento de extração, pelo menos para a gama de dimensão de partículas testada, sendo que os taninos extraídos nas amostras de café com moagem fina (18,5 mg) e moagem grossa (18,0 mg) se encontram em quantidades idênticas.

De acordo com os resultados obtidos, os taninos presentes no café com moagem grossa e moagem fina e os presentes nas borras comprovam que durante a extração da bebida do café, a maioria dos taninos ficam retidos nas suas borras, o que faz valorizar este resíduo.

A borra de café que apresenta uma maior abundância de taninos é a proveniente de cápsulas de café, apresentando um rendimento de 0,036% com uma massa de taninos extraída de 14,5 mg de taninos em 40 g de amostra, com a acetona como solvente e com o ensaio realizado à temperatura ambiente. Isto mostra que a temperatura de 50 °C e o gasto de energia associado não aumenta significativamente o rendimento da extração, contudo isto apenas se comprova com alguns solventes.

A água foi utilizada como solvente extrator e neste caso a temperatura de 50 °C teve um efeito positivo no rendimento da extração; contudo foi o solvente com um mais baixo rendimento. Isto deve-se à difícil penetração do solvente na biomassa, o que era visível logo na preparação do ensaio, visto que era necessário um frasco de extração com maior volume para juntar as mesmas proporções das utilizadas nos diferentes solventes, e o tempo de filtração após o tempo de contacto era muito superior ao dos restantes ensaios, o que mostra que em grande escala a água não é um bom solvente extrator.

A borra de café que apresenta uma maior abundância de taninos é a proveniente de cafés em cápsula, isto deve-se ao facto de a borra ficar conservada dentro da cápsula após a extração de café e com um maior teor de humidade. A borra de café corrente possui uma menor concentração de taninos pois esta fica ao ar livre após a extração do café, não conservando todas as propriedades da borra.

Foram realizados ensaios com o solvente etanol por este ser um solvente de fácil acesso, baixo custo e fácil recuperação, obtendo extrações de 9,3 mg de taninos em 40 g de borra de café corrente. Foram também realizados ensaios com reutilização de amostra com a finalidade de perceber se ainda existiam taninos por extrair, sendo que a segunda extração (10,3 mg) obteve uma massa de taninos superior à primeira extração. Esses dados podem ser confirmados na Figura 4.2. A Figura 4.3 mostra um ensaio de extração de amostra em 2 contactos, com 2 horas de contacto, para avaliar qual o efeito do tempo de contacto no rendimento da extração. Todos os ensaios realizados com 2 contactos para extração da mesma amostra foram realizados com borra de café corrente.



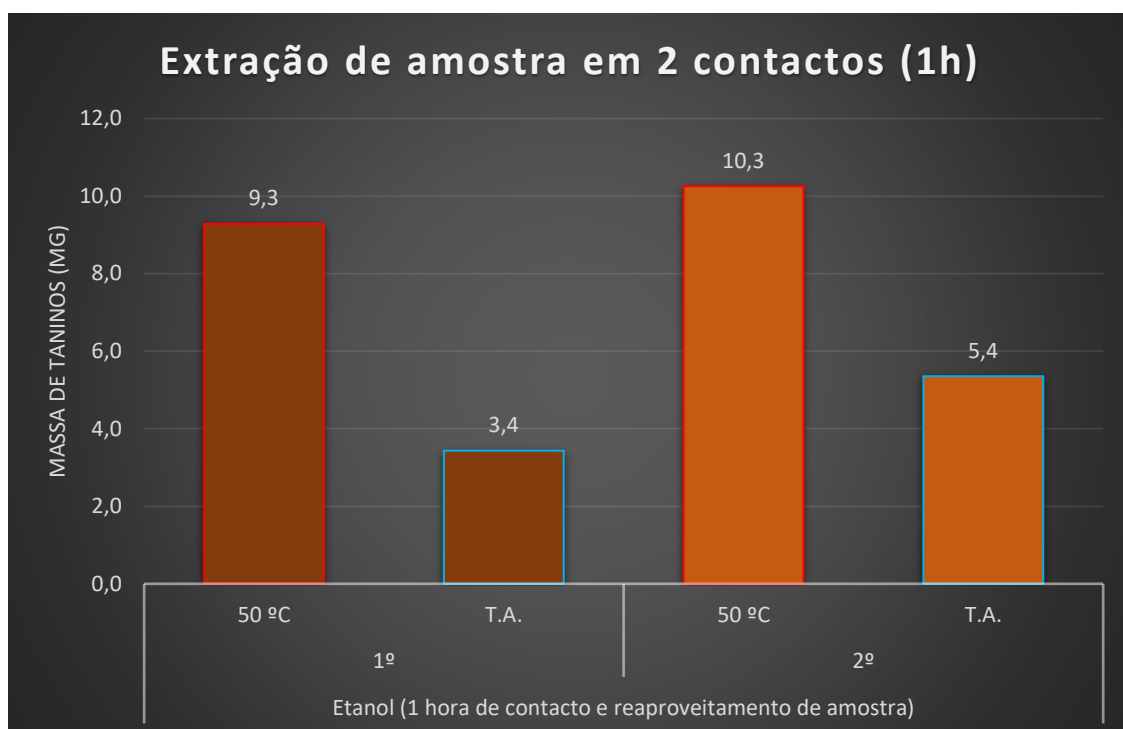


Figura 4.2 - Ensaio de extração de taninos em borra de café comercial, com 1 hora de contacto e extração de amostra em 2 contactos.

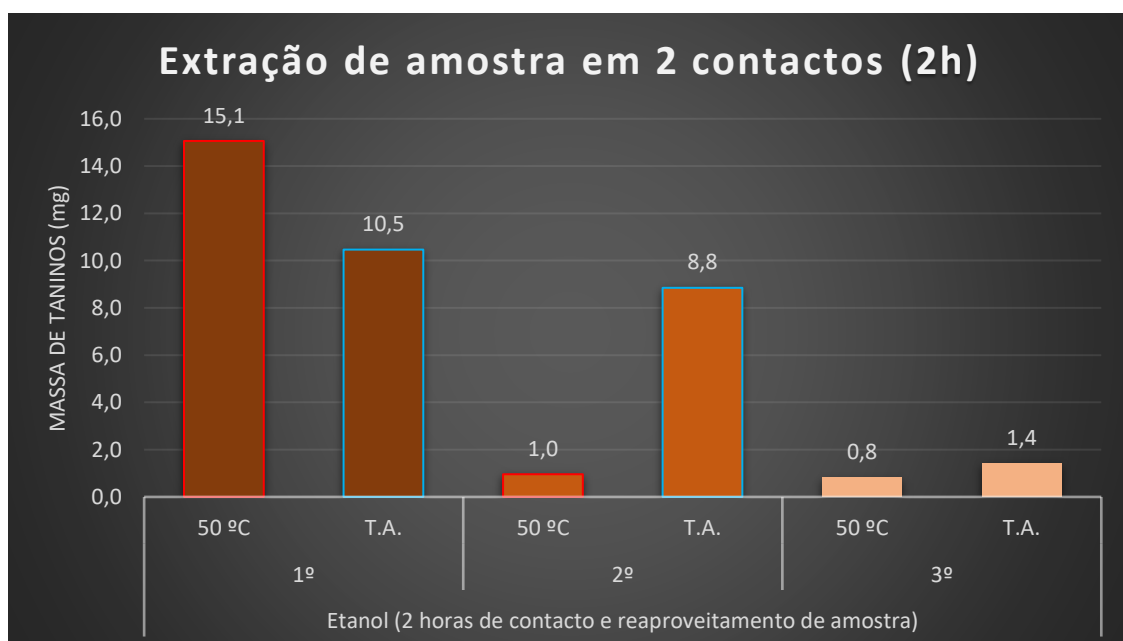


Figura 4.3 - Ensaio de extração de taninos de borra de café comercial, com etanol em 2 horas de contacto e extração de amostra em 2 contactos.

As Figuras 4.2 e 4.3 contêm o resultado obtido de 2 extrações consecutivas de amostra com tempos de contacto diferentes. O ensaio com 2 contactos de extração da amostra e 1 hora de contacto mostrou ser possível extrair 9,3 mg de taninos num primeiro contacto e 10,3 mg de taninos no segundo contacto, ambos à temperatura de 50 °C, obtendo 19,6 mg de taninos na soma dos 2 contactos. O ensaio com 2 horas de extração em cada contacto obteve no seu primeiro 15,1 mg de taninos e 1,0 mg

de taninos no segundo contacto, dando um total de 16,1 mg de taninos extraídos. Segundo estes dados é possível concluir que é mais rentável a realização de 2 ensaios de 1 hora de contacto do que apenas 1 ensaio de 2 horas de contacto. Estes resultados obtidos levaram à realização de 1 ensaio na qual a amostra utilizada continha humidade, para avaliar o seu efeito no rendimento da extração, como é possível ver na Figura 4.4.

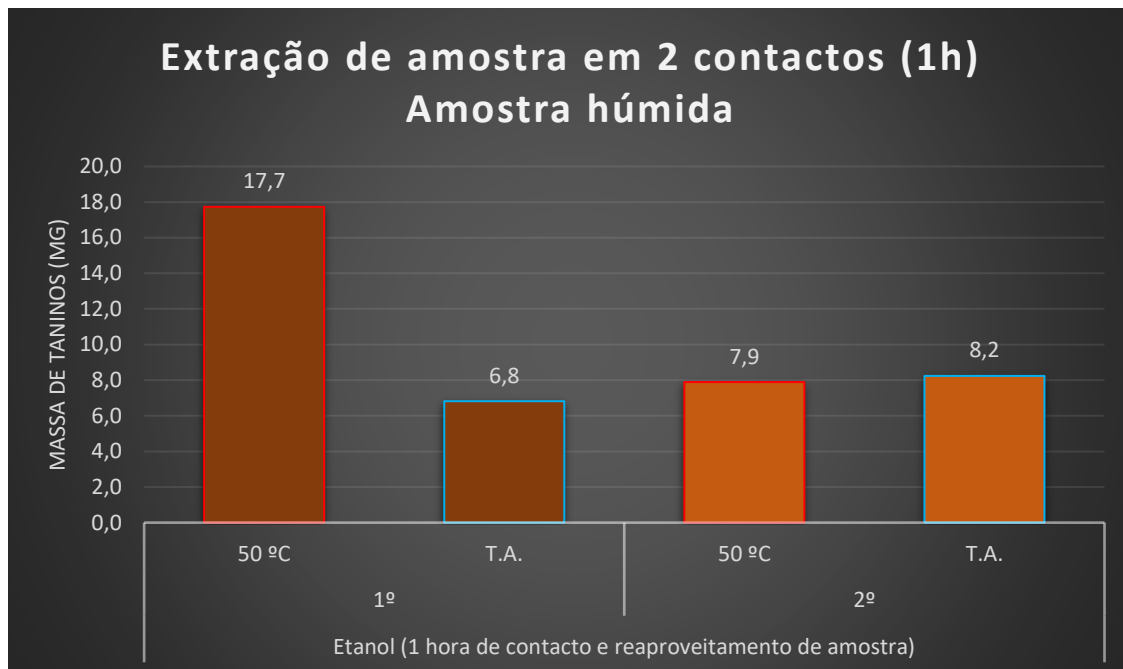


Figura 4.4 – Extração de taninos com utilização de amostra de borra de café corrente húmida.

Os dados da Figura 4.4 apresentam a massa de taninos extraída em amostra de borra de café corrente com um teor de humidade de 53%. Num primeiro contacto foram extraídos 17,7 mg de taninos à temperatura de 50 °C, e no segundo contacto 7,9 mg, dando um total extraído de 26,6 mg de taninos extraídos. No ensaio à temperatura ambiente, obteve-se um total de 15,0 mg de taninos extraídos. Estes resultados mostram que o ensaio à temperatura de 50 °C foi o que obteve um maior rendimento de extração (0,044%), comparativamente com todos os outros ensaios realizados neste estudo. O facto de a amostra de borra estar húmida facilita a penetração do solvente na amostra, permitindo tirar mais rendimento do tempo total de contacto, contudo apresenta a desvantagem para a aplicação em grande escala, com a necessidade de reatores de maior volume, devido ao teor de humidade da borra, o que acarreta mais gastos de energia e um maior investimento inicial, em contrapartida tem a vantagem de não serem necessários gastos de energia para retirar a humidade das amostras de borra, sendo necessária a recolha diária das borras comerciais para sua utilização, pois armazenando borra de café com humidade, irão se desenvolver fungos e bolores.

O rendimento máximo de extração neste estudo foi de 0,044%, encontrando-se dentro dos valores da literatura que variam entre 0,02 – 0,45%.

Comparando os resultados obtidos com os existentes na literatura relativos a outras matérias-primas, como o caju com rendimento de extração de taninos entre 0,35 – 0,72 %, a mandioca 0,62 – 1,11 % e a madeira de acácia 2,77 % (Ferreira et al., 2021), é perceptível que a borra de café tem rendimentos de extração inferiores, contudo, a quantidade de borra de café existente é muito superior à de outras matérias-primas, sendo um resíduo com elevada necessidade de obtenção de um novo fim de vida.

#### **4.3. Estimativa do Potencial de Extração de Taninos de Borra de Café em Portugal**

Para a quantidade de borra de café produzida em Portugal (considerando apenas o café produzido em cafetarias), sendo que em média são consumidos 4,4 kg de café por pessoa e por ano e com uma população de 10.297,1 mil habitantes e considerando que apenas 80% do café é consumido fora de casa, originam-se 36247,8 toneladas/ano de borra, se a borra de café tiver 53% de humidade, o resíduo deve corresponder a 68388,3 toneladas/ano. Pode-se estimar que seria possível extrair e recuperar anualmente cerca de 16040 kg de taninos. Para o efeito seria necessário proceder à coleta da borra de café e seu encaminhamento para unidades de extração de taninos, que utilizariam o solvente etanol, à temperatura de 50 °C, com um teor de humidade de 53 % e tempo de contacto de 1 hora (Coffee - Portugal | Statista Market Forecast, 2021),(PORDATA-base de dados de Portugal contemporâneo,2021).

## 5. Conclusões e propostas futuras

O objetivo deste estudo foi avaliar o potencial de valorização das borras de café, nomeadamente através da recuperação de taninos. Tem também como objetivos intermédios testar processos de recuperação de taninos seguindo-se a otimização do processo de obtenção dos mesmos a partir da borra de café.

Iniciou-se este estudo com a caracterização da borra de café utilizada com a finalidade de conhecer as características do resíduo utilizado. Os parâmetros que se variaram para a extração dos taninos foram os seguintes: tipo de amostra (borra de café corrente, borra de café de cápsulas), tipo de solvente (acetona, metanol, etanol e água), temperatura de extração (50 °C, T.A.(21-23 °C)), tempo de extração (1 hora, 2 horas), e humidade da amostra (0%, 53%). A melhor combinação dos diferentes parâmetros permitiu realizar uma extração de 17,7 mg de taninos a partir de 40 g de borra de café, sendo este ensaio o que obteve o melhor rendimento (0,044%). As condições deste ensaio foram: borra de café corrente com teor de humidade de 53%, realizado à temperatura de 50 °C com 1 hora de tempo de contacto e com etanol como solvente de extração, a partir de 40 g de borra de café seca com 200 ml de solvente.

A partir de uma população de 10.297,1 mil habitantes e considerando que apenas 80% do café é consumido fora de casa, originam-se 36247,8 toneladas/ano de borra, pode-se estimar que seria possível extrair e recuperar anualmente cerca de 16040 kg de taninos.

O facto de a amostra de borra estar húmida facilita a penetração do solvente na amostra, permitindo tirar mais rendimento do tempo total de contacto; contudo apresenta a desvantagem para a aplicação em grande escala, com a necessidade de reatores de maior volume, devido ao teor de humidade da borra, o que acarreta mais gastos de energia e um maior investimento inicial. Em contrapartida tem a vantagem de não serem necessários gastos de energia para retirar a humidade das amostras de borra, sendo necessária a recolha diária das borras comerciais para sua utilização, pois armazenando borra de café com humidade, irão se desenvolver fungos e bolores.

Face à elevada necessidade de se conseguir reutilizar e reaproveitar todos os resíduos, este projeto tem elevada importância, pois considera a criação de uma nova aplicação industrial com uma grande quantidade de matéria-prima (borra de café) disponível a baixo custo. O reaproveitamento deste biorrecurso iria gerar um grande número de postos de trabalho, bem como riqueza para a economia local.

Para o futuro, é sugerido que se faça um *scale-up* com quantidades superiores, quer de amostra quer de solvente, e que seja tido em consideração todos os gastos energéticos gerados para a realização do mesmo, pois o método deve ser sustentável.

Outra sugestão seria a utilização de outros solventes, como por exemplo dióxido de carbono em condições supercríticas, ou de outras temperaturas.



## Referências

- Aguilar, C. N., & Gutierrez-Sanchez, G. (2001). Review: Sources, Properties, Applications and Potential uses of Tannin Acyl Hydrolase. *Food Science and Technology International*. <https://doi.org/10.1106/69M3-B30K-CF7Q-RJ5G>
- Banerjee, D., Mondal, K. C., & Pati, B. R. (2001). Production and characterization of extracellular and intracellular tannase from newly isolated *Aspergillus aculeatus* DBF 9. *Journal of Basic Microbiology*. [https://doi.org/10.1002/1521-4028\(200112\)41:6<313::AID-JOBM313>3.0.CO;2-W](https://doi.org/10.1002/1521-4028(200112)41:6<313::AID-JOBM313>3.0.CO;2-W)
- Barbosa, N. C. (2014). *Uma revisão bibliográfica dos fatores antinutricionais: taninos, inibidores de proteases e lectinas*. 88.
- Barros, M. V., Salvador, R., Francisco do Prado, G., Carlos de Francisco, A., & Piekarski, C. M. (2020). Circular economy as a driver to sustainable businesses. *Cleaner Environmental Systems*, 2(December 2020), 100006. <https://doi.org/10.1016/j.cesys.2020.100006>
- Battestin, V., Matsuda, L. K., & Macedo, G. A. (2004). Fontes E Aplicações De Taninos E Tanases Em Alimentos. *Alimentos & Nutrição*, 15(1), 63–72.
- Bravo, J., Monente, C., Juárez, I., De Peña, M. P., & Cid, C. (2013). Influence of extraction process on antioxidant capacity of spent coffee. *Food Research International*. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.04.026>
- Caetano, N. S., Silva, V. F. M., Melo, A. C., Martins, A. A., & Mata, T. M. (2014). Spent coffee grounds for biodiesel production and other applications. *Clean Technologies and Environmental Policy*, 16(7), 1423–1430. <https://doi.org/10.1007/s10098-014-0773-0>
- CALDEIRA, D. C. A. C. A. (2015). *Valorização da Borra de Café: Otimização da Produção de Biodiesel por Catálise Enzimática*.
- Campos-Vega, R., Loarca-Piña, G., Vergara-Castañeda, H. A., & Dave Oomah, B. (2015). Spent coffee grounds: A review on current research and future prospects. In *Trends in Food Science and Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.04.012>
- Cruz, S. A. F. (2015). *Avaliação do potencial da borra de café fresca na mineralização do nitrogênio e do fósforo e em culturas hortícolas “ Espresso coffee residues as a nitrogen amendment for small scale vegetable production ” Soraia Alexandra Félix da Cruz Dissertação para o*.
- Das, A. K., Islam, M. N., Faruk, M. O., Ashaduzzaman, M., & Dungani, R. (2020). Review on tannins: Extraction processes, applications and possibilities. *South African Journal of Botany*, 135, 58–70. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.08.008>
- Dattatraya Saratale, G., Bhosale, R., Shobana, S., Banu, J. R., Pugazhendhi, A., Mahmoud, E., Sirohi, R., Kant Bhatia, S., Atabani, A. E., Mulone, V., Yoon, J. J., Seung Shin, H., & Kumar, G. (2020). A review on valorization of spent coffee grounds (SCG) towards biopolymers and biocatalysts production. In *Bioresource Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123800>
- Dinsdale, R. M., Hawkes, F. R., & Hawkes, D. L. (1996). The mesophilic and thermophilic anaerobic digestion of coffee waste containing coffee grounds. *Water Research*. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(95\)00157-3](https://doi.org/10.1016/0043-1354(95)00157-3)

- dos santos, M. alessandra teixeira. (2000). *Chemical characterization of broccoli and cauliflower leaves (Brassica oleracea L.) for use in human food [Caracterização química das folhs de brócoli e couve-flor (Brassica oleracea L.) para utilização na alimentação humana]*.
- Elgailani, I. E. H., & Ishak, C. Y. (2016). Methods for Extraction and Characterization of Tannins from Some Acacia Species of Sudan. *Pakistan Journal of Analytical & Environmental Chemistry*, 17(1). <https://doi.org/10.21743/pjaec/2016.06.007>
- Fan, L., Pandey, A., Mohan, R., & Soccol, C. R. (2000). Use of various coffee industry residues for the cultivation of *Pleurotus ostreatus* in solid state fermentation. *Acta Biotechnologica*. <https://doi.org/10.1002/abio.370200108>
- Ferreira, R., Renata, D., & Isabel, A. (2021). *EXTRAÇÃO DE TANINOS DE ACACIA SP . PARA PRODUÇÃO DE COAGULANTES: UM CONTRIBUTO PARA A BIOECONOMIA TANNINE EXTRACTION FROM ACACIA SP . FOR COAGULANT PRODUCTION: A CONTRIBUTION TO THE BIOECONOMY*. 1–7.
- Gama, N. V., Soares, B., Freire, C. S. R., Silva, R., Neto, C. P., Barros-Timmons, A., & Ferreira, A. (2015). Bio-based polyurethane foams toward applications beyond thermal insulation. *Materials and Design*. <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2015.03.032>
- Gonçalves, C., & Lelis, R. (2001). TEORES DE TANINOS DA CASCA E DA MADEIRA DE CINCO LEGUMINOSAS ARBÓREAS. *Brazilian Journal of Forestry and Enviroment*.
- Jalkh, R., El-Rassy, H., Chehab, G. R., & Abiad, M. G. (2018). Assessment of the Physico-Chemical Properties of Waste Cooking Oil and Spent Coffee Grounds Oil for Potential Use as Asphalt Binder Rejuvenators. *Waste and Biomass Valorization*. <https://doi.org/10.1007/s12649-017-9984-z>
- Lekha, P. K., & Lonsane, B. K. (1994). Comparative titres, location and properties of tannin acyl hydrolase produced by *Aspergillus niger* PKL 104 in solid-state, liquid surface an submerged fermentations. *Process Biochemistry*. [https://doi.org/10.1016/0032-9592\(94\)85019-4](https://doi.org/10.1016/0032-9592(94)85019-4)
- Lekha, P. K., & Lonsane, B. K. (1997). Production and Application of Tannin Acyl Hydrolase: State of the Art. In *Advances in Applied Microbiology*. [https://doi.org/10.1016/S0065-2164\(08\)70463-5](https://doi.org/10.1016/S0065-2164(08)70463-5)
- Liu, Y., Tu, Q., Knothe, G., & Lu, M. (2017). Direct transesterification of spent coffee grounds for biodiesel production. *Fuel*. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2017.02.094>
- Lu, M. J., & Chen, C. (2008). Enzymatic modification by tannase increases the antioxidant activity of green tea. *Food Research International*. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2007.10.012>
- Luo, X., Bai, R., Zhen, D., Yang, Z., Huang, D., Mao, H., Li, X., Zou, H., Xiang, Y., Liu, K., Wen, Z., & Fu, C. (2019). Response surface optimization of the enzyme-based ultrasound-assisted extraction of acorn tannins and their corrosion inhibition properties. *Industrial Crops and Products*, 129(June 2018), 405–413. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.12.029>
- Mata, T. M., Martins, A. A., & Caetano, N. S. (2018). Bio-refinery approach for spent coffee grounds valorization. *Bioresource Technology*, 247(September 2017), 1077–1084. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.106>
- Murthy, P. S., Naidu, M. M., & Srinivas, P. (2009). Production of  $\alpha$ -amylase under solid-state fermentation utilizing coffee waste. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. <https://doi.org/10.1002/jctb.2142>

- Mussatto, S. I., Carneiro, L. M., Silva, J. P. A., Roberto, I. C., & Teixeira, J. A. (2011). A study on chemical constituents and sugars extraction from spent coffee grounds. *Carbohydrate Polymers*. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.07.063>
- Mussatto, S. I., Machado, E. M. S., Carneiro, L. M., & Teixeira, J. A. (2012). Sugars metabolism and ethanol production by different yeast strains from coffee industry wastes hydrolysates. *Applied Energy*. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2011.08.020>
- Narita, Y., & Inouye, K. (2014). Review on utilization and composition of coffee silverskin. *Food Research International*, 61, 16–22. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.01.023>
- Nozella, E. F. (2001). Determinação de taninos em plantas com potencial forrageiro para ruminantes. *Dissertação.*, 58.
- Organização Internacional do Café. (2020). *Relatório sobre o mercado de café 2019/2020*.
- Organização Internacional do Café. (2021). *A tendência altista dos preços do café prosseguiu em junho de 2021 , pois preocupações com a oferta de importantes origens continuaram sendo um fator-chave no mercado .*
- Panusa, A., Zuurro, A., Lavecchia, R., Marrosu, G., & Petrucci, R. (2013). Recovery of natural antioxidants from spent coffee grounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1021/jf4005719>
- PORDATA-base de dados de Portugal contemporâneo,2021
- Passos, C. P., Moreira, A. S. P., Domingues, M. R. M., Evtuguin, D. V., & Coimbra, M. A. (2014). Sequential microwave superheated water extraction of mannans from spent coffee grounds. *Carbohydrate Polymers*. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.12.053>
- Petrik, S., Obruča, S., Benešová, P., & Márová, I. (2014). Bioconversion of spent coffee grounds into carotenoids and other valuable metabolites by selected red yeast strains. *Biochemical Engineering Journal*. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2014.06.025>
- Poa, et al. (2013). Determinação de Nitrogênio Total em Leite e derivados Lácteos pelo método Determinação de Nitrogênio Total em Leite e derivados Lácteos pelo método de Micro-Kjedahl. *Laboratório Nacional Agropecuário - LANAGRO/RS*, 2–9.
- Reighard, T. S., & Olesik, S. V. (1996). Bridging the gap between supercritical fluid extraction and liquid extraction techniques: Alternative approaches to the extraction of solid and liquid environmental matrices. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*. <https://doi.org/10.1080/10408349608050568>
- Ribeiro, J. P., Vicente, E. D., Gomes, A. P., Nunes, M. I., Alves, C., & Tarelho, L. A. C. (2017). Effect of industrial and domestic ash from biomass combustion, and spent coffee grounds, on soil fertility and plant growth: experiments at field conditions. *Environmental Science and Pollution Research*. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9134-y>
- Safarik, I., Horska, K., Svobodova, B., & Safarikova, M. (2012). Magnetically modified spent coffee grounds for dyes removal. *European Food Research and Technology*. <https://doi.org/10.1007/s00217-011-1641-3>
- Sampaio, A., Dragone, G., Vilanova, M., Oliveira, J. M., Teixeira, J. A., & Mussatto, S. I. (2013). Production, chemical characterization, and sensory profile of a novel spirit elaborated from spent coffee groundSampaio, A., Dragone, G., Vilanova, M., Oliveira, J. M., Teixeira, J. A., &



- Mussatto, S. I. (2013). Production, chemical characterization, and . *LWT - Food Science and Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.05.042>
- Severini, C., Derossi, A., & Fiore, A. G. (2017). Ultrasound-assisted extraction to improve the recovery of phenols and antioxidants from spent espresso coffee ground: a study by response surface methodology and desirability approach. *European Food Research and Technology*. <https://doi.org/10.1007/s00217-016-2797-7>
- Silva, V. (2011). *Valorização de Cápsulas de Café e Produção de Biocombustíveis*. 211.
- Xuan Cuong, D., Xuan Hoan, N., Huu Dong, D., Thi Minh Thuy, L., Van Thanh, N., Thai Ha, H., Thi Thanh Tuyen, D., & Xuan Chinh, D. (2020). Tannins: Extraction from Plants. *Tannins - Structural Properties, Biological Properties and Current Knowledge*, 1–20. <https://doi.org/10.5772/intechopen.86040>
- Yang, L., He, Q. (Sophia), Havard, P., Corscadden, K., Xu, C. (Charles), & Wang, X. (2017). Co-liquefaction of spent coffee grounds and lignocellulosic feedstocks. *Bioresource Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.02.087>

## 6. ANEXOS

Neste Anexo apresentam-se os procedimentos gerais efetuados para a caracterização da matéria-prima, a borra de café.

### 6.1. Caracterização da borra de café

Pretendendo-se caracterizar a borra de café foram analisados os seguintes parâmetros:

- Teor de humidade;
- Teor de cinzas;
- Poder calorífico superior;
- Teor de azoto;
- Teor de carbono orgânico total;
- Teor de matéria gorda;
- Teor de celulose bruta;
- Teor de lenhina.

#### 6.1.1. Determinação do teor de humidade

O teor de humidade de um material representa a percentagem de material que é volatilizado por secagem de uma amostra em estufa, em condições padronizadas. Neste caso, esta determinação foi feita de acordo com o procedimento estipulado pelo método direto e que seguidamente se descreve.

##### **Material:**

- Cadinho de porcelana;
- Balança analítica (METTLER AE 200);
- Estufa a  $105 \pm 5$  °C (Binder);
- Exsicador.

##### **Reagentes/Soluções:**

- Amostra de borra.

##### **Procedimento:**

1. Pesar um cadinho de porcelana, previamente seco em estufa a 105 °C;
2. Pesar para o cadinho, rigorosamente  $5 \pm 0,001$  g de amostra;
3. Levar à estufa a 105 °C durante aproximadamente 2 horas;
4. Colocar num exsicador até à estabilização da temperatura e posteriormente efetuar a sua pesagem;
5. Repetir a secagem e pesagem até peso constante.

O teor de humidade (%) pode ser determinado pela equação A.1:

$$\text{Teor de Humidade} = \frac{m(\text{amostra}) - m(\text{amostra seca})}{m(\text{amostra})} \times 100 \quad (\text{Equação A.1})$$

Onde,

$m(\text{amostra})$  – Massa de amostra de borra de café (g);

$m(\text{amostra seca})$  – Massa de amostra de borra de café seca (g).

### 6.1.2. Determinação do teor de cinzas

#### Material:

- Cadinho de porcelana;
- Balança analítica (METTLER AE 200);
- Mufla (Nabertherm B1500);
- Exsicador.

#### Reagentes/Soluções:

- Amostra de borra.

#### Procedimento:

1. Colocar um cadinho de porcelana a calcinar em mufla a 550 °C e arrefecê-lo posteriormente em exsicador durante 1 hora;
2. Pesar o cadinho vazio e adicionar cerca de  $2 \pm 0,0001$  g de amostra seca, tarando-o previamente;
3. Calcinar na mufla a 550 °C durante 1 hora;
4. Retirar cuidadosamente para um exsicador durante cerca de 30 minutos;
5. Pesar rigorosamente o cadinho que contém a amostra;
6. Voltar a colocar na mufla e repetir o processo até peso constante, isto é, combustão completa da matéria orgânica.

O teor de cinzas (%) pode ser determinado pela equação A.2:

$$\text{Teor de Cinzas} = \frac{m(\text{cinzas})}{m(\text{amostra seca})} \times 100 \quad (\text{Equação A.2})$$

Onde,

$m(\text{cinzas})$  – Massa de cinzas (g);

$m(\text{amostra seca})$  – Massa de amostra seca (g).

### 6.1.3. Determinação do Poder Calorífico Superior

A determinação deste parâmetro é feita de acordo com os procedimentos descritos na norma ASTM D5865-10, que a seguir se descrevem.

#### Material:

- Calorímetro Parr 6722;
- Agitador;
- Termopar (Testo 925);
- Gobelé;
- Fio de fusão.

#### Reagentes/Soluções:

- Pastilha de Ácido Benzoico (Parr);
- Água desionizada;
- Amostra de borra.

#### Procedimento:

1. Pesar para o balde calorimétrico, previamente tarado, 2000,0g de água desionizada;
2. Introduzi-lo de seguida no aparelho Parr 6772 na respetiva posição;
3. Medir e cortar 10 cm de fio de fusão, colocando-o no suporte;
4. Pesar para a cápsula, previamente tarada,  $0,5 \pm 0,0001$ g de amostra de borra seca;
5. Colocar o fio de fusão sobre a amostra e por cima deste, uma pastilha de  $0,5 \pm 0,001$ g de ácido benzoico;
6. Colocar o suporte da amostra no interior da bomba, de modo que o fio de fusão contacte com a amostra;
7. Pipetar 1,0 mL de água desmineralizada para o fundo da bomba que atua como agente de absorção de gases formados durante a combustão;
8. Efetuar o fecho da bomba, mantendo a válvula de saída dos gases sempre aberta;
9. Fechar a válvula e encher lentamente a bomba com oxigénio até à pressão de 30 atm;
10. Colocar a bomba dentro do balde calorimétrico e, seguidamente, no interior do equipamento;
11. Após a colocação dos cabos e verificação da inexistência de borbulhamento, colocar a tampa do corpo do calorímetro, que contém um agitador e termopar;
12. Colocar a correia no topo do calorímetro e iniciar a sua rotação;
13. Programar o equipamento e iniciar o ensaio.

O poder calorífico superior pode ser calculado pela Equação A.3:

$$PCS(\text{final}) \times m(\text{final}) = PCS(\text{amostra}) \times m(\text{amostra}) + PCS(\text{ácido}) \times m(\text{ácido}) \quad (\text{Equação A.3})$$

Onde,

PCS(final) – Poder calorífico superior final (cal/g);

m (final) – Massa final (g);

m (amostra) - Massa da amostra de borra de café (g);

PCS (ácido)– Poder calorífico superior do ácido benzoico (cal/g);

m (ácido)– Massa de ácido benzóico (g);

PCS (amostra)– Poder calorífico superior da amostra de borra de café (cal/g).

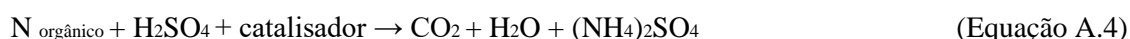
Nota: No caso de amostras líquidas a pastilha de ácido benzoico não é utilizada.

#### 6.1.4. Determinação do Teor de Azoto

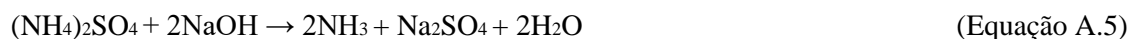
A determinação do teor de azoto é realizada através do método de *Kjeldahl* convencional, em que ocorre uma digestão ácida (digestão de amostras com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) num digestor (*Raypa*), seguido de uma destilação num destilador (Kjeltec system 1002 distilling unit).

Este método tem como base a digestão da amostra por aquecimento com ácido sulfúrico

concentrado, na presença de determinados catalisadores, sendo as formas azotadas existentes na amostra transformadas em sulfato de amónio, Equação A.4 (Poa, 2013).



Este, por ação de uma solução de hidróxido de sódio a 40%, liberta amoníaco que é fixado numa solução de ácido de título conhecido, Equação A.5.



A solução resultante, que contém NH<sub>3</sub>, é destilada com vapor, que arrasta consigo o NH<sub>3</sub>, sendo este recolhido numa solução de ácido bórico, Equação A.6:



Por titulação com ácido clorídrico de título conhecido e na presença de um indicador, determina-se a quantidade de amoníaco e consequentemente, a quantidade de azoto contida na amostra.

##### Material:

- Tubos *Kjeldahl*;
- Balança analítica (*METTLER AE 200*);
- Digestor de *Kjeldahl*;
- Destilador (Kjeltec system 1002 distilling unit);
- Provetas de 75, 50, 25 e 15 mL;
- Matrizes de 250 mL;

**Reagentes/Soluções:**

- Octanol (*Panreac*);
- Pastilhas de catalisador;
- H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado (*Sigma Aldrich*);
- Ácido bórico a 4%;
- HCl 0,01 N;
- NaOH a 40%;
- Água desionizada;
- Indicador misto (verde de bromocresol + vermelho de metilo);
- Amostra de borra.

**Fase 1 - Digestão****Procedimento:**

1. Medir rigorosamente  $0,05 \pm 0,0001$  g de amostra seca para um tubo *Kjeldahl*;
2. Adicionar lentamente 12,0 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado;
3. Adicionar 6 a 8 gotas de octanol;
4. Juntar duas pastilhas de catalisador;
5. Fazer duas réplicas de cada amostra e um ensaio em branco, isto é ausência de amostra;
6. Colocar algumas esferas de vidro e homogeneizar a mistura;
7. Colocar os tubos no digestor, adaptar o sistema de sucção dos gases e ligar o digestor;
8. Programar o controlador para efetuar um patamar de meia hora a 180 °C. Caso não haja formação de espumas, faz-se um aumento gradual até 380 °C, com patamar de uma hora e meia a esta temperatura;
9. Desligar o digestor, deixando arrefecer os tubos. Os tubos que após digestão se apresentem límpidos com um tom azul/verde ou incolor passam para a destilação. Os restantes, que contiverem resíduo, adicionar mais ácido e repetir a digestão.
10. Retirar os tubos *Kjeldahl*, posto o seu arrefecimento e adicionar 75,0 mL de água desionizada.



Figura 6.1 - Digestor de Kjeldahl

## **Fase 2 – Destilação e titulação**

### **Procedimento:**

1. Num matraz colocar 25,00 mL de ácido bórico a 4%;
2. Colocar o matraz no destilador;
3. Colocar o tubo *Kjeldahl* no destilador, previamente lavado (lavagem com água 4 minutos), e adaptar o tubo digestor;
4. Ao tubo de digestão adicionar uma bombada de 50,0 mL de NaOH a 40%;
5. Abrir a válvula de vapor e de água e destilar durante 4 minutos;
6. Titular o  $\text{NH}_3$  recolhido no matraz com HCl a 0,01 N, usando o indicador misto, sendo que se deteta o ponto final pela passagem da cor verde para rosa;
7. Efetuar uma nova lavagem com água desmineralizada, seguida de uma nova destilação da amostra.



Figura 6.2 - Destilador



Figura 6.3 - Matrazes antes e após titulação.

A determinação do Teor de Azoto (%) pode ser efetuada de acordo com a Equação A.7:

$$\text{Teor de Azoto} = \frac{(V_A - V_B) \times N \times MM_N \times 100}{m_{\text{amostra}} \times 1000} \quad (\text{Equação A.7})$$

Onde,

$V_A$  – Volume de titulante gasto na titulação da amostra (mL);

$V_B$  – Volume de titulante gasto na titulação do branco (mL);

$N$  – Normalidade do ácido clorídrico (N);

$MM_N$  – Massa molar do azoto (14,007 g/mol);

$m_{\text{amostra}}$  – Massa de amostra.

#### 6.1.5. Determinação do Teor em Carbono Orgânico Total (COT)

##### Material:

- Analisador de COT (VSCN Shimadzu E200V, Solid Sample Module Shimadzu SSM-5000A);
- Balança analítica (METTLER AE 200);

##### Reagentes/Soluções:

- Ácido fosfórico puro.

##### Fase 1 – Determinação do teor em carbono total (TC)

##### Procedimento:

1. Ligar a botija de oxigênio, definindo como pressão os 300 kPa;



2. Ligar o teor de carbono total e carbono inorgânico, respetivamente
3. Pesar para uma barquinha aproximadamente  $0,02 \pm 0,0001$  g;
4. Colocar a barquinha com a amostra no equipamento e seguir as instruções para o seu correto funcionamento;
5. Quando a operação terminar, mover o manípulo para “cooling”, o equipamento arrefece;
6. Registar os valores da área e concentração que aparecem no visor.

### **Fase 2 – Determinação do teor em carbono inorgânico (IC)**

Na determinação do carbono inorgânico recorre-se ao mesmo procedimento utilizado para o TC, com a alteração de após colocar a barquinha no equipamento, ser necessário efetuar duas bombadas de ácido fosfórico puro, o equivalente a 5 mL de ácido.

O teor de carbono orgânico total pode ser obtido de acordo com a Equação A.8.

$$COT = CT - CI \quad \text{(Equação A.8)}$$

#### **6.1.6. Determinação do Teor de Matéria Gorda**

O teor de matéria gorda de um material corresponde à percentagem de matéria que é possível extrair através de um procedimento padronizado. No caso da borra de café, a determinação de matéria gorda foi realizada de acordo com o procedimento estipulado na norma NP 856 que seguidamente se descreve.

##### **Material:**

- Balança analítica (*METTLER AE 200*);
- Cartucho de celulose;
- Algodão;
- Suporte universal;
- Proveta de 250 mL;
- Balão de aquecimento de 250 mL;
- Balão de aquecimento de 500 mL;
- Manta de aquecimento (*Nahita*);
- Pipeta de 1 mL;
- Refratómetro de ABBE (*Atago 1T*);
- Banho termostático (*Heating Bath B-491*);
- Extrator *Soxhlet*;
- Condensador de refluxo;
- Rotavapor (*BUCHI*);
- Bomba de vácuo (*Vacuum Pump V-700*).

**Reagentes/Soluções:**

- Solução de Hexano;
- Amostra de borra.

**Fase 1 – Extração do óleo da borra de café****Procedimento:**

1. Secar a amostra em estufa a  $105 \pm 5$  °C;
2. Pesar cerca de  $10 \pm 0,001$ g de amostra seca numa balança analítica;
3. Colocar a amostra dentro do cartucho de celulose, previamente seco, dispondo algodão para evitar o arrastamento da amostra;
4. Colocar o cartucho na coluna de extração *Soxhlet*;
5. Pesar um balão de aquecimento de 250 mL, previamente seco e vazio;
6. Colocar cerca de 200 mL de solvente hexano no balão de aquecimento;
7. Colocar o balão na manta de aquecimento à temperatura de 65-70 °C, seguindo-se a união do *Soxhlet* ao balão e do condensador ao *Soxhlet*;
8. Retirar uma amostra de cerca de 1 mL de líquido que envolve o cartuxo, com o auxílio de uma pipeta, antes da finalização de cada contato, para determinação do índice de refração no refratômetro de *Abbe*. Como critério de paragem: estabilização do índice de refração entre contactos, anotando a temperatura do banho termostatzado e o número de contactos, respetivamente.



Figura 6.4 - Extrator Soxhlet.

## **Fase 2 – Recuperação do óleo (Destilação sob vácuo)**

### **Procedimento:**

1. Colocar a mistura de óleo/hexano num balão de aquecimento de 500 mL, corretamente posicionado;
2. Montar o equipamento, unindo o balão ao evaporador e o balão recetor ao condensador acoplado no equipamento;
3. Ligar sistema de refrigeração do condensador e sistema de vácuo, definindo a temperatura do banho de aquecimento (65°C);
4. Efetuar ensaio até vaporização do solvente;
5. Pesar o balão de aquecimento com o óleo.

O teor de matéria gorda (%) pode ser determinado pela Equação A.9.

$$\text{Teor de Matéria Gorda} = \frac{m_{\text{óleo}}}{m_{\text{amostra}}} \times 100 \quad (\text{Equação A.9})$$



Figura 6.5 – Rotavapor

### **6.1.7. Determinação do teor em Celulose Bruta**

O teor de celulose bruta de um determinado material, corresponde à percentagem de matéria resultante de um tratamento sucessivo do material pelo ácido sulfúrico e pelo hidróxido de sódio nas

condições indicadas no processo. Nesta situação, a determinação foi realizada de acordo com o procedimento estipulado pela norma NP 1005:1974 que se encontra descrito seguidamente.

#### **Material:**

- Cadinho de porcelana;
- Provetas;
- Balão de aquecimento de 500 mL;
- Balança analítica (*METTLER AE 200*);
- Manta de aquecimento (*Selecta*);
- Esferas de vidro;
- Condensador de refluxo;
- Bomba de vácuo (*Neuburger Knf*);
- Membrana de fibra de vidro;
- Mufla (*Nabertherm B1500*);
- Estufa (*WTB Binder*).

#### **Reagentes/Soluções:**

- Solução de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  a 0,1 N;
- Solução de NaOH a 0,1 N;
- Álcool etílico a 95 %;
- Água destilada;
- Amostra de borra.

#### **Procedimento:**

Após a extração da gordura:

1. Pesar  $2 \pm 0,0001\text{g}$  de amostra e introduzi-la num balão de aquecimento;
2. Adicionar cerca de 200 mL de uma solução de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  a 0,1 N aquecida à ebulição, colocando algumas esferas de vidro para evitar uma ebulição excessiva;
3. Efetuar a ligação do balão a um condensador de refluxo e proceder ao seu aquecimento numa manta de aquecimento, tendo em atenção a regulação da temperatura de forma a proporcionar a ebulição da mistura ao fim de um minuto;
4. Manter a ebulição durante 30 minutos;
5. Proceder de seguida à decantação do líquido, fazendo-o passar por um sistema de filtração por vácuo com uma membrana de fibra de vidro;
6. Lavar o bolo de filtração com 50 mL de água desionizada em ebulição até pH neutro, caso tenha passado algum resíduo para o dispositivo de filtração efetuar os pontos 7 a 14, senão passar para o ponto 12;

7. Transferir todo o resíduo para o balão com a ajuda de 200 mL de uma solução de NaOH a 0,1N em ebulição;
8. Ligar novamente o balão ao condensador e levar à ebulição por 30 minutos;
9. Efetuar filtração a vácuo, lavando o bolo de filtração com água em ebulição até pH neutro;
10. Lavar agora com 50 mL de álcool etílico a 95 %;
11. Transferir o resíduo para um cadinho previamente calcinado e tarado;
12. Efetuar a secagem do resíduo numa estufa, a  $103 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , até peso constante;
13. Calcinar o resíduo, durante 30 minutos a  $600 \pm 25^{\circ}\text{C}$ . E, após arrefecimento em exsicador, efetuar a pesagem final.

O teor em celulose bruta (%) pode ser dado pela Equação A.10.

$$\text{Teor em celulose bruta} = \frac{(m1-m2) \times [100-(H+G)]}{2} \quad (\text{Equação A.10})$$

Onde,

m1 – Massa de borra seca (g);

m2 – Massa de borra calcinada (g);

H – Teor de Humidade (%);

G – Teor de matéria gorda (%).

#### 6.1.8. Determinação do Teor de Lignina

A lignina é um dos compostos presentes em materiais lenhocelulósicos, fornecendo rigidez, o que leva à proteção das cadeias de celulose e hemicelulose. A determinação do teor de lignina é feita de acordo com os procedimentos descritos na norma TAPPI T222om-02, que se descreve seguidamente.

##### **Fase 1 – Lignina de Klason**

##### **Material:**

- Vidro de relógio;
- Balão de destilação de 1000 mL;
- Esferas de vidro;
- Manta de aquecimento (*Selecta*);
- Banho termostático (*LTD 6, GRANT*);
- Pipeta volumétrica de 15 mL
- Balança analítica (*METTLER AE 200*);
- Estufa (*Binder*).
- Sistema de filtração por vácuo (*Neuberger Knf*);
- Balão de fundo plano de 1000 mL;

**Reagentes/Soluções:**

- Água desionizada;
- Solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 72 %;
- Amostra de borra.

**Procedimento:**

1. Pesar 1 g ±0,0001 g de borra seca para um vidro de relógio;
2. Transferir para um balão de fundo plano de 1000 mL;
3. Juntar 15,00 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 72%, de forma lenta;
4. Manter balão num banho a 2 ± 1 °C durante a dispersão do material;
5. Depois de dispersa a amostra, tapar o balão e mantê-lo num banho termostatzado a 20 ± 1 °C durante 2 horas sob agitação constante;
6. Após 2 horas de reação, para o balão, previamente marcado com 575 mL, adicionar cerca de 575 mL de água (a solução é diluída para uma concentração de 3 % em ácido sulfúrico);
7. Levar a mistura à ebulição durante 4 horas, procurando manter o volume total por adição de água quente;
8. Aguardar a estabilização da solução e deposição de todas as partículas;
9. Sem agitar a solução, filtrá-la num sistema de filtração a vácuo;
10. Com o auxílio de água desionizada em ebulição efetuar a lavagem do resíduo;
11. Colocar o resíduo resultante na estufa, medindo previamente a massa do cadinho (secando previamente durante 2 horas na estufa a 105 °C) e papel de filtro;
12. Antes de cada leitura da massa de lignina, a amostra é colocada num exsiccador durante cerca de 30 minutos;
13. Efetuar os pontos 12 e 13 até obtenção de peso constante.

O teor de lignina de *Klason* (%) pode ser determinado através da Equação A.11:

$$\text{Lignina de Klason} = \frac{m_{\text{Lenhina}}}{m_{\text{amostra}}} \times 100 \quad (\text{Equação A.11})$$

Onde,

m lignina – Massa da lignina (g);

m amostra – Massa de amostra (g).

**Fase 1 – Lignina Solúvel****Material:**

- Espectrofotómetro UV-Vis (*Shimadzu UV-160 A*), λ= 205 nm;
- Cuvetes de quartzo.

**Reagentes/Soluções:**

- H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 4%.

**Procedimento:**

1. Medir o volume de filtrado recolhido na análise anterior;
2. Ler a sua absorvância a 205 nm, colocando-o na cuvete de vidro;
3. Proceder à diluição do filtrado com ácido sulfúrico a 4% e voltar a ler a absorvância a 205 nm, enquanto a absorvância for superior a 1;

O Teor de lignina solúvel (%) pode ser determinado de acordo com a Equação A.12:

$$Lignina\ Solúvel = \frac{A_{205nm} \times V_{filtrado} \times f}{\epsilon \times m_{amostra\ seca}} \times 100 \quad (\text{Equação A. 12})$$

Onde,

$A_{205nm}$  – Valor medido no espectrofotómetro UV-Vis para a absorvância a 205 nm;

$V_{filtrado}$  – Volume de filtrado (mL);

$f$  – Fator de diluição utilizado;

$\epsilon$  – Fator de conversão, equivalente a 100 dm<sup>3</sup>/g.cm;

O Teor de lignina total (%) pode ser dado pela equação A.13:

$$Lignina\ Total = Lignina\ de\ Klason + Lignina\ Solúvel \quad (\text{Equação A. 13})$$

**6.2. Reta de calibração ácido gálico**

Tabela 6.1 - Concentrações utilizadas para a realização da reta de calibração.

| Concentração (µg/ml) | Absorvância ( $\lambda= 765$ nm) |
|----------------------|----------------------------------|
| 0                    | 0                                |
| 1,28                 | 0,024                            |
| 2,24                 | 0,041                            |
| 3,20                 | 0,052                            |
| 4,16                 | 0,07                             |
| 5,12                 | 0,08                             |

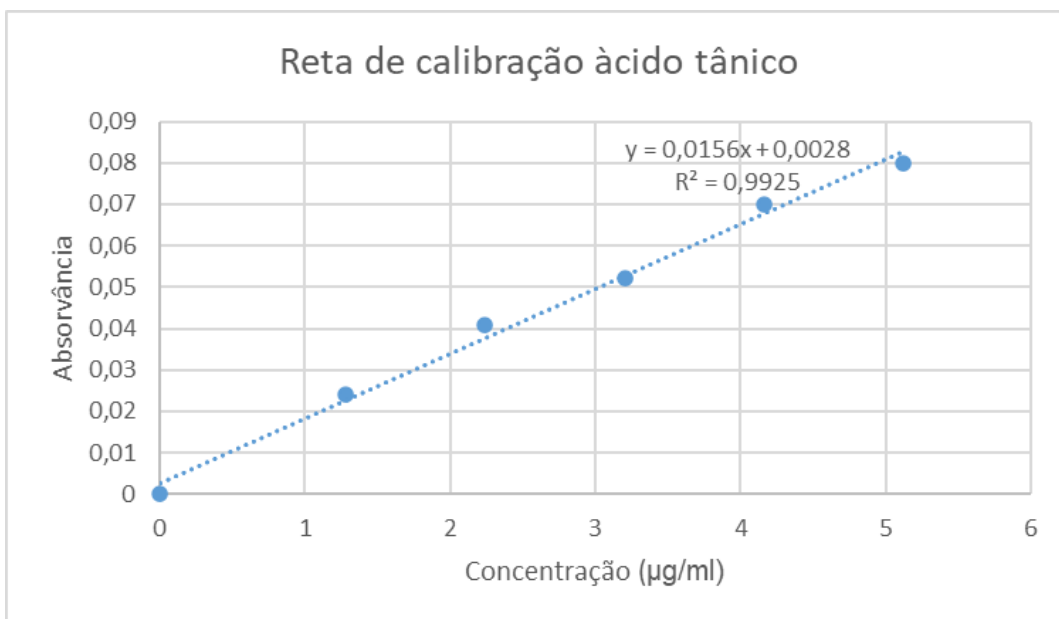


Figura 6.6 - Reta de calibração do ácido tânico