

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE DOUTORADO**

**ALTERNATIVAS ANALÍTICAS ECOLOGICAMENTE
AMIGÁVEIS: UTILIZAÇÃO DE PROCEDIMENTOS VERDES
NA INVESTIGAÇÃO QUÍMICA**

RODRIGO FRANÇA DA SILVA

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA
NOVEMBRO 2022**

ALTERNATIVAS ANALÍTICAS ECOLOGICAMENTE AMIGÁVEIS: UTILIZAÇÃO DE PROCEDIMENTOS VERDES NA INVESTIGAÇÃO QUÍMICA

RODRIGO FRANÇA DA SILVA

Agroecólogo

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2014

Tese submetida à Câmara de Ensino de Pós-Graduação e Pesquisa da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito parcial para obtenção do Grau de Doutor em Ciências Agrárias, Área de Concentração: Fitotecnia.

Orientador: Dr. Fábio de Souza Dias

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
DOUTORADO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CRUZ DAS ALMAS - BAHIA – 2022

FICHA CATALOGRÁFICA

S586a	<p>Silva, Rodrigo França da. Alternativas analíticas ecologicamente amigáveis: utilização de procedimentos verdes na investigação química / Rodrigo França da Silva. _ Cruz das Almas, BA, 2022. 104f.</p> <p>Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Doutorado em Ciências Agrárias.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. Fábio de Souza Dias.</p> <p>1.Plantas medicinais – Química vegetal. 2.Plantas medicinais – Extratos vegetais – Uso. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Título.</p> <p>CDD: 633.88</p>
-------	---

Ficha elaborada pela Biblioteca Universitária de Cruz das Almas - UFRB. Responsável pela Elaboração Antonio Marcos Sarmiento das Chagas (Bibliotecário - CRB5 / 1615).

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E
BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
AGRÁRIAS**

CURSO DE DOUTORADO

**ALTERNATIVAS ANALÍTICAS ECOLOGICAMENTE
AMIGÁVEIS: UTILIZAÇÃO DE PROCEDIMENTOS VERDES
NA INVESTIGAÇÃO QUÍMICA**

Comissão Examinadora da Defesa de Tese de
Rodrigo França da Silva

Realizada em 21 de dezembro de 2022

Dr. Fábio de Souza Dias
Universidade Federal da Bahia
Examinador Interno (Orientador)

Dra. Maria Angélica Pereira de Carvalho Costa
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Examinador Interno

Dra. Andreia da Silva Magaton
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Examinador Externo

Dra. Amalia Luz Costa Pereira
União Metropolitana de Educação e Cultura
Examinador Externo

Dra. Candice Nóbrega Carneiro
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Examinador Externo

DEDICATÓRIA

A Deus, Criador e Mantenedor de todas as coisas

A minha esposa amada pela parceria de sempre, pelo carinho e amor empenhados

Aos meus pais pelos conselhos, pelo suporte e amor

A minha irmã pela parceria

Aos amigos, pelas orações

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pois tenho a certeza de que sem Ele nada poderia ter sido feito.

A minha esposa Larissa pelo apoio, companheirismo e reciprocidade, se fazendo sempre tão presente em todos os momentos da minha caminhada, e a toda sua família pelo respeito de sempre, e confiança ofertados.

Aos meus pais George e Onélia por toda dedicação e apoio nos momentos difíceis, pela educação e conselhos ofertados, sempre com muito amor e atenção. A minha irmã Rafaela pelo companheirismo e amizade de todas as horas.

Agradeço ao querido orientador Prof. Dr. Fábio de Souza Dias, pelas orientações, pelo conhecimento passado e paciência durante todo esse processo. Aos amigos do LAIA (Laboratório de Análise e Instrumentação Analítica) pela parceria e apoio. Aos demais professores e pesquisadores que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento desse primoroso trabalho. Agradeço a Profa. Dra. Marta Regina Verruma-Bernardi e equipe, por mais uma vez se mostrar importante em minha trajetória acadêmica.

Aos irmãos que Deus me permite escolher, que são os amigos, eles que sempre se fazem presentes em diversos momentos da minha vida. De fato, é impossível ser feliz sozinho. Aos amigos de trabalho, amigos de infância, amigos feitos em toda minha trajetória. Vocês são muito especiais, e são parte importante nesse processo. Agradeço também aos professores e direção do Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias pela dedicação e conhecimentos passados.

Agradeço a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela possibilidade de manter todo esse processo com a indispensabilidade da bolsa. Agradeço a nossa querida Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), pelo espaço de ensino e por mais uma vez me proporcionar a possibilidade de aperfeiçoamento profissional. Agradeço também a Universidade Federal de São Carlos (UFSCar – Araras), por mais uma vez abrir espaço para aprimoramento da pesquisa. Agradeço também ao UNASP (Centro Universitário Adventista de São Paulo), meu amado e preterido local de trabalho, pela oportunidade que têm me dado, em mostrar os frutos desse processo de capacitação através do espaço que me concede para contribuir com o crescimento da instituição.

Eu aprendi qual é o valor que eu sonho alcançar
Eu entendi que o caminho pedras terá
Eu vi em campo aberto se erguer construção
E foi com muitas pedras, e foi com muitas mãos
Eu vi o meu limite vir diante de mim
Eu enfrentei batalhas que eu não venci
Mas o troféu não é de quem não fracassou
Eu tive muitas quedas, mas não fiquei no chão
E ao olhar pra trás, tudo que passou
Venho agradecer quem comigo estava
Ergo minhas mãos pra reconhecer

Só o Começo

Sumário

RESUMO.....	12
ABSTRACT.....	13

Capítulo 1

1. INTRODUÇÃO.....	18
2. TÉCNICAS VERDES PARA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS	21
3. MÉTODOS TRADICIONAIS E MODERNOS DE EXTRAÇÃO	23
3.1. Técnica de Extração Assistida por Ultrassom (UAE)	29
3.2. Técnica de Extração Assistida por Micro-ondas (MAE).....	32
3.3. Extração por Fluido Supercrítico (SFE).....	36
3.4. Extração por Fluido Pressurizado (PLE)	40
4. SOLVENTES VERDES	42
4.1. Solventes Eutéticos Naturais	43
4.2. Líquidos Iônicos.....	54
5. MÉTRICAS DA QUÍMICA ANALÍTICA VERDE	55
6. CONCLUSÃO	63
7. REFERÊNCIAS.....	65

Capítulo 2

1. INTRODUÇÃO.....	76
2. REVISÃO DE LITERATURA	78
2.1. Organização da Cafeicultura no Brasil	78
2.2. Qualidade e classificação do Café.....	80
2.3. Distribuição e origem dos “defeitos” no Café.....	80
2.4. Aplicações Quimiométricas e Imagens Digitais	82
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	85
3.1. Amostra, Tratamento da Amostra e Equipamentos	85
3.2. Processo de Torrefação	86
3.3. Moagem dos Grãos	87
3.4. Captura das imagens	87

3.5. Processo Analítico	89
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	89
4.1. Histograma das amostras	89
4.2. Análise dos Componentes Principais (PCA)	90
4.3. Análise de Agrupamento Hierárquico (HCA)	93
5. Conclusão	97
Referências.....	98

ÍNDICE DE FIGURAS

Capítulo 1

FIGURA 1. Estrutura química dos compostos fenólicos bioativos.....	232
FIGURA 2. Resultado de pesquisa para as palavras-chave: extraction methods; medicinal plants; phenolics compounds, entre os anos 2010 a 25 de agosto de 2021. Plataforma de acesso Science Direct.....	254
FIGURA 3. Resultado de pesquisa para as palavras-chave: extração assistida por micro-ondas (MAE); extração assistida por ultrassom (UAE); extração por fluido supercrítico (SFE) e extração por fluido pressurizado (PLE), entre os anos 2010 a 17 de maio de 2021.	276
FIGURA 4. Resultado de pesquisa para as palavras-chave: Química Verde; Solventes Verdes, entre os anos 2010 a 25 de agosto de 2021. Plataforma de acesso Science Direct.	432
FIGURA 5. Técnicas de Extração Assistida. Legenda: A – Extração por Fluido Pressurizado (PLE); B – Extração Assistida por Ultrassom (UAE); C – Extração Assistida por Micro-ondas; D – Extração Assistida por Mecanoquímica (MCAE); E – Extração por Fluido Supercrítico (SFE); F – Electric Field Pulse Assisted Extraction (PEF); G – Extração Assistida por Enzimas (EAE); H – Extração por Homogeneização com Alta Velocidade (HSHE); I – AGREEmetric.	565
FIGURA 6. Métricas de Química Analítica Verde (AGREE) (REZENDE et al., 2021). Para interpretação das referências à cor nesta legenda da figura, o leitor	59

Capítulo 2

Figura 1. Separação de defeitos em grãos de Café Especial – Universidade Federal de São Carlos (UFSCar).....	81
Figura 2. Imagens de classificação de grãos de café, realizando por peneiramento – Universidade Federal de São Carlos (UFSCar).	82
Figura 3. Espaço de cor RGB.	84
Figura 4. Detalhes da “câmara” desenvolvida para captura das imagens. I. – Preenchimento do interior em branco; II. – Revestimento finalizado; III. – LED utilizado para iluminação no interior da caixa; IV. – Local de inserção do LED para iluminação completa do interior da caixa; V. – Espaço fixado para inserção do celular (equipamento de captura das imagens;	

VI. – Visualização de fora da caixa.....	88
Figura 5. Imagens capturadas das amostras de café, utilizadas no experimento.....	89
Figura 6. Janelas com gráficos de Histograma e imagens de amostras de café torrado e moído com diferentes porcentagens de defeitos, S1800 escaneada.	90
Figura 7. Gráfico de dispersão para análise dos componentes principais utilizando dados da quantidade de pixels em amostras de café padronizadas por imagem de 1000 x 800 pixels. As cores de cada ponto das amostras, seguem indicadas na tabela 1.....	91
Figura 8. Dendrograma HCA – ligação completa – das amostras de café especial com diferentes porcentagens de defeitos.....	94

ÍNDICE DE TABELAS

Capítulo 1

TABELA 1. Comparação do rendimento de compostos bioativos, usando método de extração convencional e método de extração assistida.	29
TABELA 2. Aplicação de NADES para extração de compostos fenólicos em plantas medicinais.	48
TABELA 3. Eficiência energética, emissão de CO ₂ , custo (kEuros) para técnicas de extração na avaliação da química verde.	58
TABELA 4. Métricas de química analítica verde para avaliação de extração de procedimentos.	61

Capítulo 2

TABELA 1. Amostras em 300g, com suas respectivas distribuições de Defeitos	86
---	----

ALTERNATIVAS ANALÍTICAS ECOLOGICAMENTE AMIGÁVEIS: UTILIZAÇÃO DE PROCEDIMENTOS VERDES NA INVESTIGAÇÃO QUÍMICA

Autor: Rodrigo França da Silva

Orientador: Dr. Fábio de Souza Dias

RESUMO: No desenvolvimento de processos para química analítica, o uso de solventes se apresenta de forma importante para o preparo de amostras. Nesse contexto, tem-se buscado uma aproximação cada vez mais eficiente dos métodos que priorizem uma redução do uso de compostos tóxicos nas pesquisas. Essa realidade tem atraído muita atenção e proximidade, para o desenvolvimento de métodos cada vez baseados na chamada Química Analítica Verde (GAC sigla retirada popularmente do inglês). Esses procedimentos de extração serão definidos como “verde”, ao usarem solventes alternativos, reduzindo consumo de energia, além de garantir a segurança e a alta qualidade do extrato. Sendo assim, esta pesquisa além de fornecer uma visão geral dos procedimentos verdes aplicados e que tiveram ação efetiva na extração de compostos bioativos em plantas medicinais, sustentados assim, por fontes de energia inovadoras, sustentáveis e não-convencionais, busca apresentar dentro de um sentido prático, o uso de um sistema analítico alternativo, baseado em histograma de cores, para fornecimento de resposta rápida e confiável para o controle e observação de qualidade do café após moagem. Para isso, as assinaturas de impressão digital usando histogramas RGB em tons de cinza e HSI (matiz-saturação-intensidade) foram explorados como informações analíticas. O métodos utilizados demonstraram uma viabilidade da técnica de colorimetria por imagens digitais, na aplicação do estudo com café. O método proposto mostrou apresentar desempenho analítico na diferenciação das amostras estudadas, para uma potencial classificação após o café torrado e moído. Com base na proposta e no desempenho apresentado, é possível indicar que se trata de um método simples, barato e ecológico para o estudo colorimétrico.

Palavras-Chave: Química Analítica, Métodos Alternativos, Colorimetria, Imagens Digitais.

ECOLOGICALLY FRIENDLY ANALYTICAL ALTERNATIVES: USE OF GREEN PROCEDURES IN CHEMICAL RESEARCH

Author: Rodrigo França da Silva

Adviser: Dr. Fábio de Souza Dias

ABSTRACT: In the development of processes for analytical chemistry, the use of solvents is important for sample preparation. In this context, an increasingly efficient approximation of methods that prioritize a reduction in the use of toxic compounds in research has been sought. This reality has attracted a lot of attention and proximity, for the development of methods increasingly based on the so-called Green Analytical Chemistry (GAC – acronym popularly taken from English). These extraction procedures will be defined as “green”, as the use alternative solvents, reducing energy consumption, as well as ensuring the safety and high quality and high quality of the extract. Therefore, this research, in addition to providing an overview of the green procedures applied and which had an effective action in the extraction of bioactive compounds in medicinal plants, thus supported by innovative, sustainable and non-conventional energy sources, seeks to present within a sense practical, the use of an alternative analytical system, based on color histogram, to provide a fast and reliable response for the control and observation of coffee quality after grinding. For this, fingerprint signatures using grayscale RGB histograms and HSI (hue-saturation-intensity) were exploited as analytical information. The methods used demonstrated the viability of the technique of colorimetry by digital images, in the application of the study with coffee. The proposed method showed to present analytical performance in the differentiation of the studied samples, for a potential classification after the roasted and ground coffee. Based on the proposal and the presented performance, it is possible to indicate that it is a sample, cheap and ecological method for the colorimetric study.

Keywords: Analytical Chemistry, Alternative Methods, Colorimetry, Digital Images.

**ARTIGO
REVISÃO CRÍTICA¹**

**EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS EM PLANTAS MEDICINAIS:
PROCEDIMENTOS VERDES**

*BIOACTIVE COMPOUNDS EXTRACTION IN MEDICINAL PLANTS: GREEN
PROCEDURES*

¹Artigo APROVADO pelo Comitê Editorial do periódico científico Microchemical Journal em versão na língua inglesa.

RESUMO: Este artigo de revisão aponta, por meio de uma visão geral e contextualizada, aspectos que se relacionam com os procedimentos estabelecidos pela química analítica verde, para extração de compostos bioativos em plantas, por intermédio da utilização de técnicas assistidas, bem como solventes verdes. Procedimentos que acarretem menos impacto no seu processo, estão sendo cada vez mais requeridos para extração de compostos na área da química analítica devido à aspectos de sustentabilidade, lucratividade e eficiência. Para este fim, os procedimentos verdes visam projetar processos químicos ambientalmente benignos e metodologias sintéticas, para eliminar ou reduzir o uso de produtos químicos perigosos e tóxicos em qualquer estágio da produção na indústria ou até mesmo no laboratório. Esses procedimentos de extração serão definidos como “verde”, ao usarem solventes alternativos, reduzindo consumo de energia, além de garantir a segurança e a alta qualidade do extrato. Esta pesquisa fornece uma visão geral dos procedimentos verdes aplicados e que tiveram ação efetiva na extração de compostos bioativos em plantas medicinais, sustentados assim, por fontes de energia inovadoras, sustentáveis e não-convencionais.

Palavras chave: Solventes Verdes, Química Analítica Verde, Compostos Bioativos

ABSTRACT: This review article points out, through an overview and contextualized, aspects that are related to the procedures established by green analytical chemistry, for the extraction of bioactive compounds in plants, through the use of assisted techniques, as well as green solvents. Procedures that have less impact on your process are being increasingly required for the extraction of compounds in the area of analytical chemistry due to aspects of sustainability, profitability and efficiency. To this end, green procedures aim to design environmentally benign chemical processes and synthetic methodologies, to eliminate or reduce the use of dangerous and toxic chemicals at any stage of production in industry or even in the laboratory. These extraction procedures will be defined as "green", when using alternative solvents, reducing energy consumption, in addition to ensuring the safety and high quality of the extract. This research provides an overview of the green procedures applied and which had an effective action in the extraction of bioactive compounds in medicinal plants, supported thus by innovative, sustainable and unconventional energy sources.

Keywords: Green Solvents, Green Analytical Chemistry, Bioactive Compounds

1. INTRODUÇÃO

Atualmente métodos não convencionais para extração estão sendo cada vez mais requeridos no ambiente de pesquisas, para área da química analítica. As chamadas técnicas de extração “verdes”, ganham espaço pela forma como se apresentam na eliminação de substâncias tóxicas e solventes orgânicos voláteis (LORENZO-PARODI et al., 2019).

De acordo com Paiva et al. (2014), métodos analíticos ecologicamente corretos, surgem em um cenário onde busca-se cada vez mais, melhorias para um desenvolvimento de técnicas sustentáveis, lucrativas e verdadeiramente eficientes. Solventes orgânicos convencionais como hexano, acetato de etila, clorofórmio, acetona ou metanol, entre outros, são amplamente utilizados para realizar o processo de extração, devido à sua capacidade de dissolução e poder de extração.

Embora muitas abordagens de engenharia e gerenciamento de processos busquem minimizar o desperdício ou obter maior eficiência energética, a química verde procura atingir muito mais objetivos, além dos já citados. A química verde examina todo o ciclo da vida através da aplicação de um conjunto de princípios para otimizar o processo. Esses doze princípios se dividem em: Evitar desperdícios; economia do átomo; síntese química menos perigosa; projeção de produtos químicos mais seguros; solventes mais seguros/meios de reação; projeto para eficiência energética; matérias-primas renováveis; reduzir derivativos; catálise; projeto para degradação/projeto para fim de vida; monitoramento em tempo real e controle de processos e química inerentemente mais segura (LANKEY; ANASTAS, 2002).

Dois dos doze princípios da química verde, diz respeito ao uso de solventes e condições de reação mais seguros e prevenção de desperdícios. Esses princípios são atendidos diretamente pela eliminação de um meio de reação. A natureza tóxica e volátil de muitos solventes orgânicos, particularmente os hidrocarbonetos clorados, comumente usados em grandes quantidades para reações orgânicas, criou um alerta à saúde do ser humano e ao meio ambiente (MANE et al., 2019).

De acordo com Gu (2012), a crescente conscientização das questões ambientais e a crescente necessidade em se reduzir o uso de produtos tóxicos

não somente na química, como também medicina e até mesmo na indústria, tendo em vista seus efeitos e o conseqüente risco para a saúde humana, tem apresentado a química verde como uma área de grande interesse entre os pesquisadores de produtos naturais.

A química verde visa projetar processos químicos ambientalmente benignos e metodologias sintéticas para eliminar ou reduzir o uso de produtos químicos perigosos e tóxicos, em qualquer estágio da produção na indústria ou até mesmo no laboratório. Como o desenvolvimento de métodos ecológicos é mais barato que a limpeza do ambiente poluído, as metodologias analíticas ecológicas devem ser tornar muito atraentes do ponto de vista estético e econômico (GU, 2012; DAS; CHAKRABORTY; DE LA GUARDIA, 2019).

Como tal, as técnicas de extração são definidas como “verde”, se usarem solventes alternativos, reduzindo consumo de energia, além de garantir a segurança e a alta qualidade do extrato (CHEMAT et al., 2012).

Para uma efetiva extração de acordo com o que indica os princípios da química verde, a seleção correta de solvente verde ecológico é sempre uma tarefa desafiadora (ARAIN, 2016), haja vista que, outros fatores também influenciam no processo de extração, dentre os quais, a matriz vegetal (PHUONG et al., 2020).

Neste presente artigo, iremos abordar sobre os métodos de extração de compostos fenólicos bioativos (Figura 1) em espécies medicinais que são considerados mais ecológicos, como também os resultados de pesquisas que foram desenvolvidos ao longo dos últimos dez anos.

Plantas e humanos têm uma relação complexa que se estende desde no início da humanidade. Hoje as plantas são úteis para fornecer nutrição para pessoas e animais em todo o mundo, além de representar uma rica fonte de fibras e compostos bioativos para produtos farmacêuticos e agroindustriais.

Plantas medicinais são aquelas que possuem potencial terapêutico para prevenir e/ou tratar doenças. Seu uso na formulação de medicamentos e produtos químicos comerciais ganhou força com o desenvolvimento de produtos orgânicos química, do século XIX. Segundo a OMS, atualmente, cerca de 60% da população mundial e 80% da população em desenvolvimento países, utilizam plantas medicinais para tratar a saúde por meio medicamento (MISHRA, 2016; MAHAJAN et al., 2020).

As plantas medicinais (plantas inteiras ou partes específicas) têm sido utilizadas em vários países ao redor do mundo, pois são importantes fontes de compostos bioativos (NASTIĆ et al., 2018; IBRAHIM & KEBEDE, 2020), também conhecidos como fitoquímicos. Esses compostos são precursores para a síntese de substâncias naturais e medicamentos sintéticos, cosméticos e suplementos alimentares (IBRAHIM & KEBEDE, 2020; LI et al., 2020). São sintetizados pelo metabolismo secundário da planta, devido a sua vulnerabilidade a fatores abióticos e bióticos adversos ao meio em que está inserida, protegendo sua sobrevivência (MAHAJAN et al., 2020; LI et al., 2020; LÓPEZ-GÁMEZ et al., 2020).

Desta forma, os bioativos funcionam como atrativos de insetos, polinizadores e dispersantes de sementes; promover a proteção contra a herbivoria; estimular o formação de nódulos radiculares; atuam como compostos de triagem UV-B, como fitoalexinas, compostos de sinalização, hormônios de crescimento (TAKSHAK & AGRAWAL, 2019) e como quelantes de metais tóxicos e/ou potencialmente tóxicos (MAHAJAN et al., 2020). Além dessas funções, os compostos bioativos também contribuem para as propriedades sensoriais da planta, como cor (MANOUSI et al., 2019), também dando sabor para bebidas (HAN et al., 2020), tais como vinhos, chás e sucos; e propriedades funcionais (biológicas), entre as quais, atividade antioxidante (PHAM et al., 2017; BALLI et al., 2020), antidiabético, anticancerígeno (MANOUSI et al., 2019), antibacteriano (GUADIE et al., 2020; MOHOTI et al., 2020), anti-hiperglicemia, anti-hipertensão (RANILLA et al., 2010).

A composição e concentração de compostos bioativos em plantas medicinais são indicadores de qualidade, e agregam valor a elas (WANG et al., 2020). Alguns fatores influenciam na qualidade e quantidade de bioativos sintetizados por essas espécies (MISHRA, 2016), entre os quais, fatores ambientais, como estresse hídrico (HAN et al., 2020), termal, salino (OBGE et al., 2020), radiação UV-B (JAISWAL et al., 2020), temperatura, excesso ou falta de nutrientes no solo e presença de metais tóxicos (MAHAJAN et al., 2020), bem como condições fisiológicas e características biológicas da planta (MAHAJAN et al., 2020; WANG et al., 2020).

Os metabólitos secundários produzidos pelas plantas medicinais são divididos em três grupos: terpenóides, compostos nitrogenados e compostos

fenólicos (MAHAJAN et al., 2020). Dentre estes, os compostos fenólicos constituem um dos principais grupos presentes nas plantas medicinais (MANOUSI et al., 2019), são formados por mais de um grupo hidroxila, sendo os metilados ou glicosilados e; sua biossíntese ocorre de duas maneiras, via ácido chiquímico (responsável pela maior parte) e ácido malônico (MAHAJAN et al., 2020).

Vários trabalhos descrevem a identificação e determinação de compostos fenólicos bioativos presentes em diferentes plantas medicinais (IRAKLI et al., 2018; GHITESCU et al., 2015; CIRIC et al., 2020).

Embora se saiba que as plantas medicinais possuem uma gama de compostos bioativos, estima-se que esses compostos tenham sido pouco explorados (NASTIĆ et al., 2018), o que tem despertado maior interesse no estudo do potencial biológico e fotoquímico, por parte da comunidade científica, indústrias alimentícias, farmacêuticas e cosméticas.

O ponto de partida para utilizar, quantificar e identificar esses compostos é a extração vegetal, que constitui a fase mais importante desses processos (JURINJAK TUSEK et al., 2018). Nos últimos anos, vários métodos foram desenvolvidos para a extração de compostos bioativos presentes em plantas medicinais. Na Figura 2 são mostrados os resultados de uma investigação envolvendo compostos fenólicos, métodos de extração em plantas medicinais. É possível observar que nos últimos dez anos houve um aumento significativo no número de trabalhos envolvendo procedimentos para a extração de compostos bioativos em plantas medicinais.

Atualmente, é crescente a preocupação da comunidade científica em desenvolver métodos ambientalmente sustentáveis para a extração de compostos bioativos (TSUKUI & REZENDE, 2014), uma vez que esses métodos reduzem ou eliminam o uso de solventes orgânicos nocivos ao meio ambiente, contribuindo para a segurança, qualidade e aplicabilidade dos extratos vegetais (NASTIĆ et al., 2018).

2. TÉCNICAS VERDES PARA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS

Nas últimas décadas, o aprimoramento da indústria farmacêutica orientou a evolução rápida de diferentes métodos para a extração e separação de

compostos bioativos. Espera-se que os compostos bioativos dos recursos biológicos desempenhem um papel vital como recurso essencial na promoção de aditivos alimentares e novos medicamentos. Atraindo assim, rapidamente uma atenção crescente entre os pesquisadores (HONGJUN et al., 2015).

É importante a atenção dada ao setor alimentar, pois frutas e vegetais são fundamentais para a saúde humana. Uma vez que, proporcionam sabores diferentes e estão associados à melhoria da qualidade de vida. O consumo de vegetais e frutas está associado de inversa ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares, e tende a estar associado à proteção contra as principais doenças crônicas relacionadas à dieta (DA SILVA et al., 2016).

Em vegetais, componentes que se relacionam à proteção, são ativadas quando essas estão sob algum tipo de adversidade. Esses compostos são direcionados a partir do metabolismo secundário das plantas, e são apresentados enquanto compostos fenólicos, carotenoides, vitaminas, entre outros. Esses compostos bioativos são encontrados em alimentos de origem natural, ou podem ser produzidos de forma sintética. Eles possuem ações metabólicas ou fisiológicas específicas, desde que comprovada sua segurança para o consumo humano (SRICHAROEN et al., 2016).

De acordo com Lin & Tang (2007), a ampla faixa de polaridade e propriedades físicas dos compostos naturais, dificulta a extração de metabólitos. Por muito tempo, hexano, acetona, álcoois, clorofórmio e acetato de etila foram utilizados para extração de compostos fenólicos de algumas variedades de frutas e plantas medicinais. No entanto, esses solventes não são muito recomendados para se trabalhar com separação em escala mais abrangente, devido ao seu efeito deletério substancial, e conseqüentemente, a baixa capacidade de extração (KULCZYŃSKI; GRAMZA-MICHAŁOWSKA, 2016).

Deste modo, têm crescido a exigência pela substituição dos solventes tóxicos por solventes considerados mais ecológicos e que potencializem a extração. Observa-se um número crescente de pesquisas sobre a extração e separação de compostos bioativos em plantas medicinais e frutas, como flavonóides, catequina, ácidos fenólicos, terpenóides e saponinas.

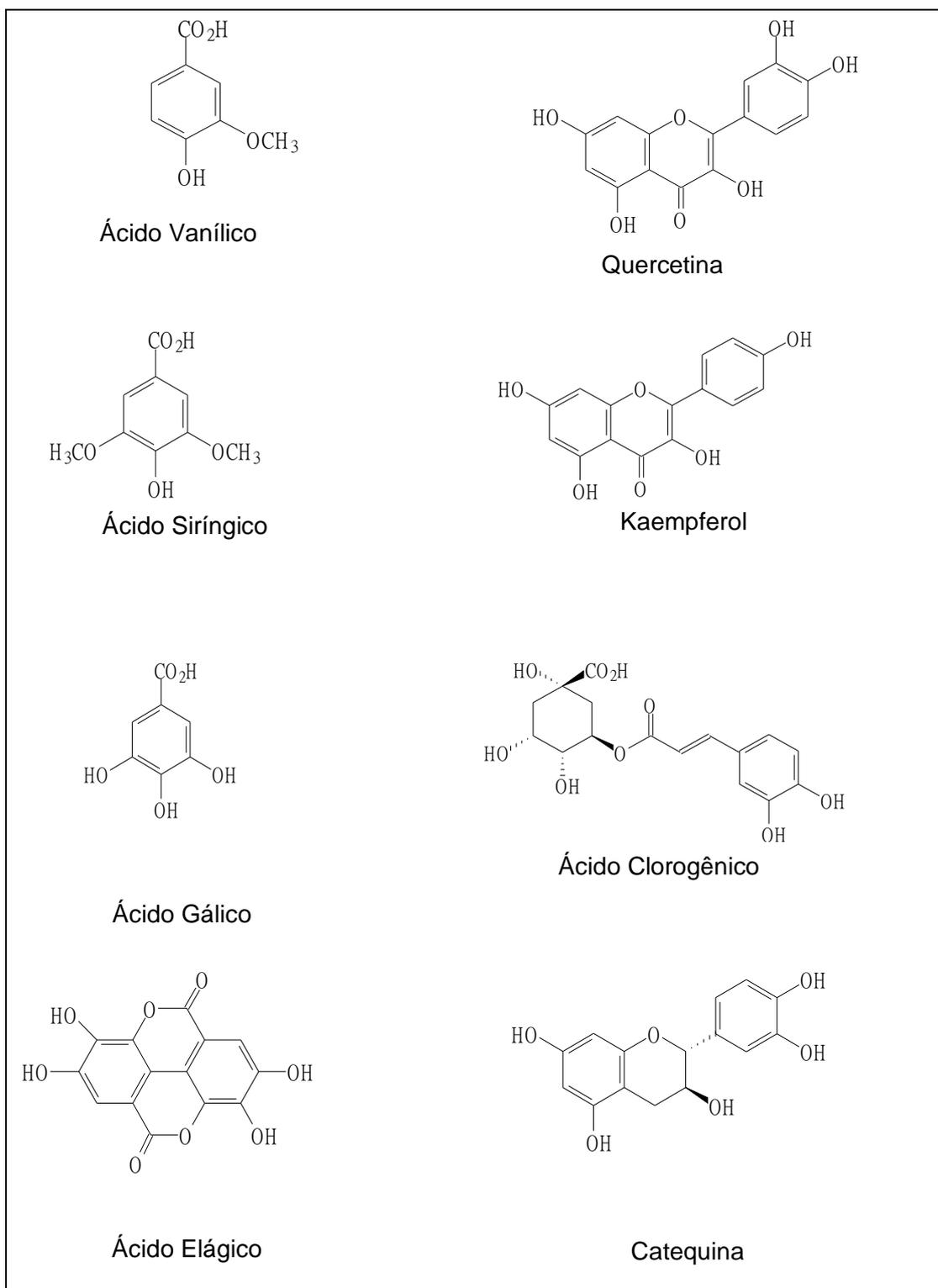


FIGURA 1. Estrutura química dos compostos fenólicos bioativos.

3. MÉTODOS TRADICIONAIS E MODERNOS DE EXTRAÇÃO

Um esforço considerável foi feito pelos pesquisadores para encontrar métodos de extração, a fim de obter alta eficiência e eficácia. Onde, eficiência

refere-se ao rendimento da extração, enquanto eficácia refere-se à potência (magnitude da bioatividade/capacidade de produzir um efeito) do extrato. Para o isolamento de compostos biológicos, a extração de plantas é uma das abordagens mais sustentáveis (JADHAV et al., 2009).

Para que se obtenha melhor qualidade e alta eficiência de extração de ervas, é preciso otimizar métodos. Os procedimentos analíticos possuem várias etapas críticas como amostragem, preparação de amostras, quantificação, avaliações estatísticas, etc. (KOTHARI et al., 2010).

A necessidade de seleção da metodologia de extração mais apropriada é evidente pelo fato de que, quando métodos diferentes são aplicados no mesmo material vegetal com o mesmo solvente, a eficiência da extração pode variar significativamente. Além disso, o método selecionado como o mais adequado também precisa ser padronizado para alcançar um grau aceitável de reprodutibilidade (GUPTA et al., 2012).

É importante observar, que a escolha do solvente apropriado é de essencial importância, juntamente com a aplicação de um método de extração compatível. Os solventes polares extraem substâncias polares, e o material não polar é extraído por solventes não polares. A extração por solventes não polares é o método mais popular de extração (OZULKU et al., 2017).

De acordo com Huie (2002), geralmente a mistura de solventes hidroalcoólicos (mistura de álcool e água em proporções variadas) produz altos rendimentos de extração, devido à sua faixa de polaridade expandida. A preparação das amostras é o primeiro passo crucial na análise de compostos vegetais, pois é necessário extrair componentes químicos desejados do material à base de plantas para posterior separação e caracterização.

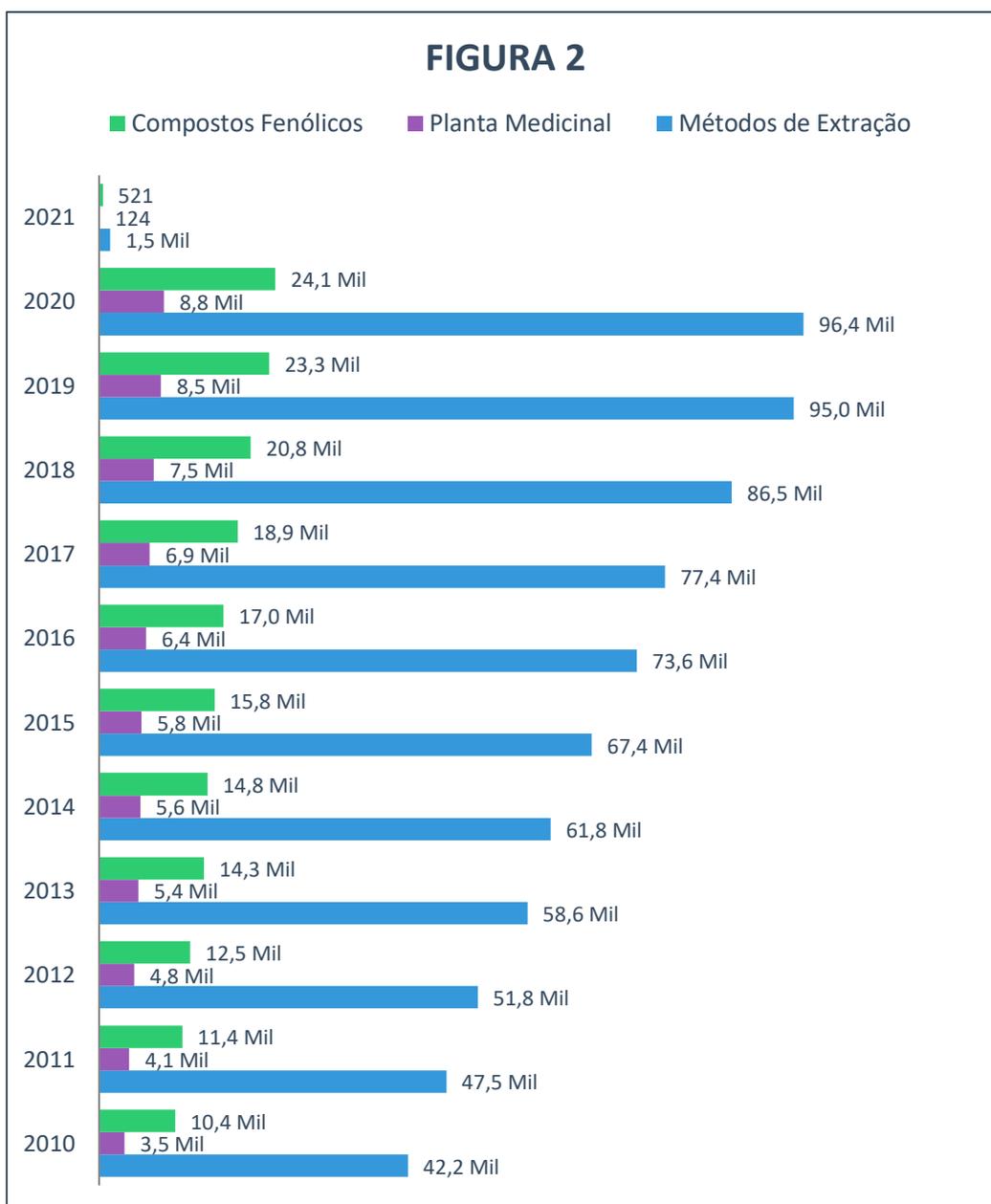


FIGURA 2. Resultado de pesquisa para as palavras-chave: extraction methods; medicinal plants; phenolics compounds, entre os anos 2010 a 25 de agosto de 2021. Plataforma de acesso Science Direct.

Nesse amplo espectro, é importante a indicação de que, as estratégias analíticas dependem em muitos casos, da automação dos métodos de preparo de amostra. No procedimento analítico, a preparação da amostra é considerada a parte mais importante do processo, devido ao fato de que a precisão e exatidão do método, dependem dessa indicação (ANTHEMIDIS; IOANNOU, 2010).

Os principais objetivos da etapa de preparação da amostra, são o de

purificação, extração e enriquecimento dos analitos e, eventualmente, modificar a amostra para adaptá-la aos requisitos do aparelho analítico. Em alguns casos são necessários etapas de isolamento e enriquecimento da amostra, pois apenas um pequeno número de técnicas são sensíveis o suficiente para determinação direta de determinado tipo de resposta analítica (SAJID, 2019).

Mais de 80% do tempo de análise é gasto na coleta e preparação de amostras, portanto, a preparação da amostra é uma parte crítica do processo analítico. Muitas vezes, a etapa de preparação da amostra é baseada no processo de extração (ARAIN, 2016).

Para extração de constituintes ativos terapeuticamente desejados, vários solventes como água, etanol, metanol, etc. são comumente usados. Às vezes, misturas de solventes também são usados para obter melhor eficiência de extração. O desenvolvimento de técnicas modernas de preparação de amostras, apresentam vantagens significativas sobre os métodos convencionais em termos de redução no consumo de solvente orgânico e na minimização da degradação da amostra. Eles também resultam na eliminação de componentes indesejáveis e insolúveis do extrato (GUPTA et al., 2012), produzindo extratos de maior qualidade (JOANA GIL-CHÁVEZ et al., 2013). Devido a tais vantagens, tem crescido nos últimos dez anos o número de pesquisas relacionadas à extração de compostos bioativos por meio de processos de extração não convencionais, considerados ecologicamente corretos como, a extração assistida por micro-ondas e ultrassom, em relação ao método de maceração tido como convencional. Na Figura 3, são apresentados esses dados.

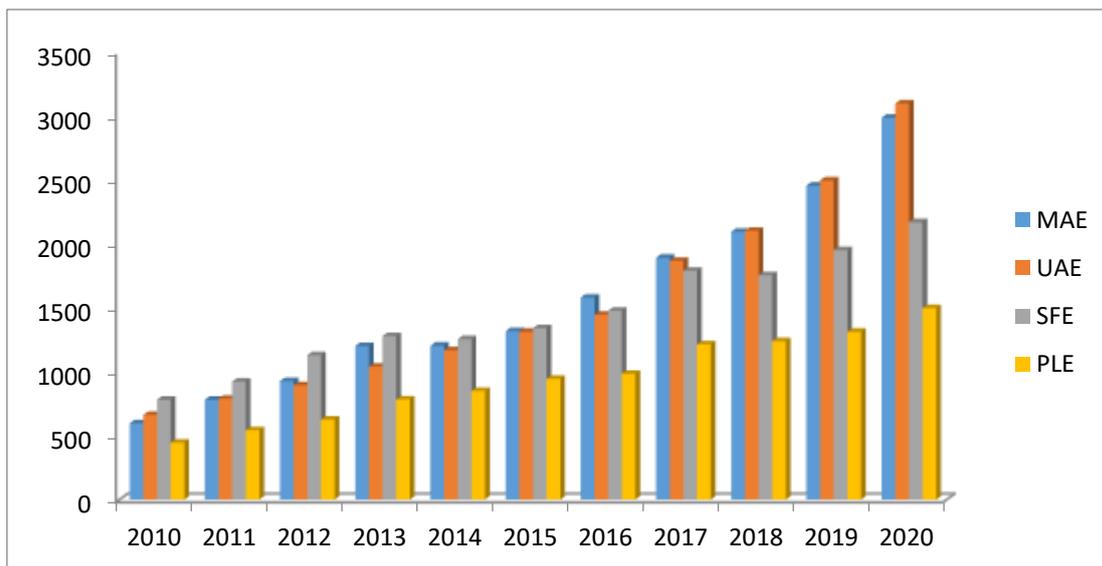


FIGURA 3. Resultado de pesquisa para as palavras-chave: extração assistida por micro-ondas (MAE); extração assistida por ultrassom (UAE); extração por fluido supercrítico (SFE) e extração por fluido pressurizado (PLE), entre os anos 2010 a 17 de maio de 2021.

O campo da aplicação de diferentes tipos de técnicas de extração está aumentando constantemente. Os métodos modernos incluem extração assistida por micro-ondas (MAE), extração assistida por ultrassom (EAU), extração supercrítica de fluídos (SFE), microextração em fase sólida (SPME). A literatura indica que são amplamente utilizadas em uma variedade de aplicações, como separações em química analítica, processos industriais em hidrometalurgia, engenharia de alimentos, farmacêutica e tratamento de resíduos (LI et al., 2016).

De acordo com Kothari et al. (2010), os métodos clássicos são bastante simples, e continuam a ter amplo uso, porém também podem ser insuficientes e lentos, além de consumir grandes quantidades de solventes orgânicos e causar degradação dos constituintes lábeis ao calor. Na utilização de métodos convencionais, é possível se observar ainda, problemas relacionados à falta de consistência, segurança e eficácia. Cabe ressaltar que, ao utilizar-se de processos mais modernos, é possível se observar eliminação de etapas adicionais de limpeza e concentração da amostra antes da análise cromatográfica, por exemplo. Além de melhorias na eficiência da extração e seletividade, redução do tempo gasto associado ao maior rendimento de compostos extraídos. Esses resultados são mostrados na tabela 1.

Com intuito de superar as principais deficiências contidas nos métodos mais convencionais de extração, principalmente associadas ao uso de altas temperaturas e tempos de extração prolongados, com técnicas que apresentam baixa eficiência, e que além de causar degradação de polissacarídeos termolábeis, acabam acarretando outras inúmeras séries de consequências. Diante da realidade, foram propostas na comunidade científica, técnicas mais avançadas para extração de compostos. Técnicas para extração como; Extração Assistida por Ultrassom (UAE); Extração Assistida por Micro-ondas (MAE); Extração por Fluido Pressurizado (PLE) e Extração por Fluido Supercrítico (SFE), surgiram nas últimas décadas para melhorar a extração verde de carboidratos bioativos (MENA-GARCÍA et al., 2019).

TABELA 1. Comparação do rendimento de compostos bioativos, usando método de extração convencional e método de extração assistida.

Método convencional				Método assistido			
Material vegetal	Tempo e Temperatura	Massa /	Rendimento	Tempo e Temperatura	Massa /	Rendimento	Autor
		solvente			solvente		
<i>Psidium cattleianum</i> Sabine	120 min.	1 g/ 10 mL of 90% ethanol	121.81 mg ¹	90 min.	1g/ 10 mL of 90% ethanol	125.88 mg ¹	Meregalli et al. (2020)
	40°C		477.54 mg ²	40°C		589.49 mg ²	
			351.80 mg ³			374.05 mg ³	
<i>Olea europea</i> L.	24h	0.5 g/ 25 mL of	57.28 mg ²	3 min.	0.5 g/ 25 mL of	104.22 mg ²	Rosa et al. (2019)
	à temperatura ambiente	70% ethanol		86°C	70% água		
<i>Clitoria ternatea</i> G.	150 min.	1g/ 15 mL of água	72.00 mg ²	150 min.	1g/ 15 mL of water	87.00 mg ²	Mehmood et al. (2019)
	50°C		25.00 mg ⁴	50°C		29.00 mg ⁴	
<i>Citrus reticulata</i> L.	20h	1g/ 15 mL of 80% methanol	28.40 mg ²	60 min.	1g/ 20 mL of	32.48 mg ²	Safdar et al. (2017)
	40°C			45°C	80% methanol		
<i>Arbutus unedo</i> L.	93.2 min.	50g/ L of	1.38 mg/g ³	42.2 min.	50 g/ L of 12.1 % ethanol	1.70 mg/g ³	Albuquerque et al., (2017)
	79.6°C	23.1 % ethanol		131.1 °C			

¹ Eq. mg of cyanidin-3-glycoside/100 g of peel; ² Eq. mg de GAE; ³ mg de Catequina; ⁴ mg de Quercetina;

3.1. Técnica de Extração Assistida por Ultrassom (UAE)

Outra técnica moderna de extração assistida é a estabelecida por meio da utilização de ultrassom (UAE). A literatura mostra que essa técnica foi introduzida

no ano de 1950 para fabricação de cerveja a partir do lúpulo. A partir de então, foram registradas várias aplicações para este tipo de técnica, principalmente ao se tratar de diferentes tipos de metabólitos secundários de uma variedade de amostras vegetais, analisadas e extraídas eficientemente (VINATORU et al., 2017).

Ultrassom é uma tecnologia-chave para alcançar os objetivos sustentáveis da química verde. Extrações completas de vários componentes (aromas, pigmentos, antioxidantes e outros compostos orgânicos e minerais) de diversas matrizes (microalgas, alimentos, leveduras e materiais vegetais) em tempo reduzido são alcançadas com alta reprodutibilidade, reduzido consumo de solvente e pureza do produto final (CHEMAT et al., 2017). Conforme Qiao et al. (2013) a extração assistida por ultrassom tem sido amplamente aplicada na extração de ácidos fenólicos devido alta eficiência do método.

De acordo com Vinatoru et al. (2017), a UAE utiliza de energia ultrassônica (>20 kHz) para extração usando banho ultrassônico e/ou sonda ultrassônica. Segundo Suslick et al. (1999) os efeitos produzidos por ultrassom são atribuídos à formação, crescimento e colapso de bolhas de gases dissolvidos no líquido a partir da compressão e descompressão de moléculas que constituem o meio. Mais especificamente, durante a utilização da técnica de extração assistida por ultrassom no material vegetal, a amostra em pó em suspensão, induz o colapso assimétrico das bolhas, resultando em uma extração mais eficiente.

O tipo de pré-tratamento utilizado na amostra em estudo, também irá contribuir para o desempenho da extração. A UAE têm sido amplamente investigada por sua eficiência na aplicação em produtos naturais. Permitindo a extração em temperaturas mais baixas do que o normalmente usado, redução dos volumes de solvente, além do aprimoramento da extração e a pureza (CHEMAT et al., 2017; BELWAL et al., 2018).

Segundo Armenta et al. (2015), técnicas “verdes” de extração são importantes alternativas aos procedimentos clássicos de maiores efeitos deletérios utilizados no passado e seu estudo busca a melhoria da sensibilidade e seletividade dos métodos analíticos. Os autores ressaltam que a etapa de preparo de amostras envolvendo o uso de micro-ondas e ultrassom favorecem o desenvolvimento de metodologias rápidas e seguras, especialmente para dissolução e digestão de amostras.

Aryanti et al. (2019) avaliaram a presença de antocianinas constituintes em roselas (*Hibiscus sabdariffa* L.) extraídas por método convencional de maceração e por processo assistido por ultrassom. Foram estudados os efeitos dos tipos de solvente e da razão soluto/solvente das extrações. Comparando os métodos, os autores concluíram que a extração assistida por ultrassom é mais eficiente que a maceração e que a água é o melhor solvente nos processos de extração avaliados.

Os efeitos dos parâmetros da UAE no rendimento, composição e nas propriedades antioxidante, anticâncer e antimicrobiana de extratos de polifenóis foram estudados por Dzah et al. (2020). O resultado do trabalho mostrou que temperaturas de extração acima de 50 °C degradam os polifenóis nos extratos, frequências mais baixas na faixa de potência do ultrassom abaixo de 40 kHz são mais efetivas, o rendimento de polifenóis aumenta com o aumento da potência até um limite e a maior potência do ultrassom produz radicais hidroxilas, que são agentes degradantes de polifenóis.

Kaltsa et al. (2020) desenvolveram um método verde de extração de substâncias polifenólicas presentes em flores de sabugueiro (*Sambucus nigra*), planta conhecida por importante bioatividade, utilizando solvente eutético natural e uma etapa de pré-tratamento assistida por ultrassom. Os fatores da extração otimizados a partir da metodologia de superfície de resposta foram: concentração de solvente eutético, razão sólido-líquido (massa de vegetal/solvente) e velocidade de agitação. Os autores destacam a importância da utilização do ultrassom, uma vez que houve um aumento da recuperação dos polifenóis, além de ser uma técnica segura, de baixo custo e reproduzível.

Sendi et al. (2020) otimizaram um método de extração assistida por ultrassom de flavonoides da planta medicinal *Artemisia herba-Alba*. Foi determinada a atividade antiradical dos extratos obtidos. Os fatores otimizados foram concentração de solvente (50%), temperatura (55 °C), tempo de extração (50 min) e razão volume de solvente/massa de amostra (90 mL g⁻¹). O método desenvolvido foi comparado com extrações por maceração e por Soxhlet e vantagens como redução do tempo de extração e de consumo de energia, além da quantidade quantificada de flavonoides foram confirmadas, comprovando desta forma a eficiência da técnica.

Os efeitos da potência do ultrassom no extrato de sementes cominho

preto (*Carum carvi* L.) foram estudados por Shaterabadi et al. (2020). A metodologia de superfície de resposta foi utilizada no estudo da avaliação das propriedades qualitativas do extrato obtido. A extração assistida por ultrassom foi utilizada uma vez que evita o uso excessivo de solventes e diminui o tempo de operação nos processos de extração. O método foi comparado com o método Soxhlet e foram estudados dois tipos de sonicação: contínua e pulsada, sendo esta última mais eficaz na extração dos componentes. Os resultados ótimos indicados foram: potência de 200 W, 15 min de tempo de extração e sonicação pulsada (4 s ligado, 2 s desligado).

Tungmunnithum et al. (2019) otimizaram e validaram a extração assistida por ultrassom de ácido trans-rosmarínico, composto fenólico conhecido por seu potencial antioxidante e antimicrobiano, de folhas de *Plectranthus scutellarioides* (L.) R.Br. Os fatores otimizados pelo planejamento fatorial completo foram frequência do ultrassom (30 kHz), tempo da extração (45 min) e concentração do solvente (etanol puro). O método desenvolvido é mais eficiente e mais rápido que a extração convencional com refluxo.

Vuong et al. (2015) estudaram e validaram condições experimentais de extração assistida por ultrassom de euphol, um composto com atividade anticâncer, de *Euphorbia tirucalli* utilizando a ferramenta da metodologia de superfície de resposta. Planejamento Box-Behnken foi empregado para otimizar os fatores temperatura (60 °C), tempo (75 min), potência do ultrassom (150 W) e proporção de solvente-massa fresca de amostra (100:32 mL g⁻¹). A proporção de solvente que ofereceu a maior extração do composto foi 4:1 v/v acetato de etila: etanol.

3.2. Técnica de Extração Assistida por Micro-ondas (MAE)

A extração assistida por micro-ondas (MAE) é uma técnica simples, ecológica e econômica para a extração de compostos biologicamente ativos de diferentes tipos de materiais vegetais. Sua aplicação para este material foi relatada pela primeira vez por Ganzler, por volta de 1986 (KAUFMANN; CHRISTEN, 2002; HEMWIMON et al., 2007).

A extração assistida por micro-ondas atende aos requisitos da química analítica verde e apresenta as características de reduzidos tempo de extração,

consumo de energia, uso de solventes e emissão de CO₂. Foi desenvolvida para isolar compostos de alto valor agregado de amostras sólidas (LI et al., 2013). Alupului et al. (2012) acrescenta que a extração assistida por micro-ondas apresenta vantagens do ponto de vista econômico: baixo custo operacional, simplicidade e eficiência.

As micro-ondas possuem campos elétricos e magnéticos perpendiculares entre si. O campo elétrico causa aquecimento por dois mecanismos simultâneos, a saber, rotação dipolar e condução iônica. A rotação dipolar é devida ao alinhamento no campo elétrico das moléculas que possuem um momento dipolar no solvente e na amostra sólida. Para extração, a vantagem para que se estabeleça o aquecimento por micro-ondas é a ruptura de ligações fracas de hidrogênio promovidas pela rotação dipolar das moléculas (KAUFMANN; CHRISTEN, 2002).

O mecanismo de extração por micro-ondas acontece em etapas: na primeira etapa ocorre a dessorção de solutos dos sítios ativos na matriz da amostra sob condições de pressão e temperatura elevadas. O segundo passo envolve a difusão do fluido de extração na matriz. Em seguida, dependendo da matriz da amostra, os solutos podem se separar da matriz no fluido de extração. A eficiência da MAE pode ser atribuída a: (1) melhoria na solubilidade e efeitos de transferência de massa e (2) aumento da perturbação do equilíbrio da superfície (WANG & WELLER, 2006). Conforme Mandal et al. (2007) os fatores que influenciam a MAE são: volume e natureza do solvente, tempo de extração, potência do micro-ondas, características da matriz e temperatura.

Segundo Li et al. (2013), diversos compostos orgânicos como óleos essenciais, compostos antioxidantes, compostos aromáticos e pigmentos têm sido recuperados de matrizes vegetais utilizando MAE.

De acordo com Belwal et al. (2018), a eficiência na extração por micro-ondas depende da natureza do solvente e da amostra. A solubilidade dos diferentes compostos a serem extraídos pode ser maximizada fixando a proporção da mistura de solventes e controlando a razão temperatura/potência. A extração assistida por micro-ondas apresenta uma série de vantagens, entre elas a extração de compostos voláteis (extração com uso de solventes) e não voláteis (extração a seco).

Alupului et al. (2012) investigaram a influência de parâmetros no processo

de extração de flavonoides, glicosídeos e polifenóis de folhas de *Cynara scolymus*: temperatura/potência do micro-ondas e tempo e rendimentos da extração. Os autores afirmam que num sistema fechado, os parâmetros que podem afetar a eficiência da extração são o tamanho da amostra, a natureza e o volume de solvente, pressão, temperatura, potência do micro-ondas e tempo de extração. Cerca de 0,4 g do material vegetal com 0.315 mm de diâmetro foi misturada com solvente. A extração foi realizada em sistema fechado em micro-ondas com tempo variando entre 1 e 5 minutos e temperatura entre 70 e 100 °C. A temperatura de 70 °C e o tempo entre 3 e 5 minutos proporcionaram o rendimento máximo da extração dos compostos estudados.

Boukroufa et al. (2015) otimizaram um processo sustentável e com altos rendimentos de extração sem solventes orgânicos tóxicos utilizando as técnicas de ultrassom e micro-ondas para extração de óleo essencial, polifenóis e pectinas de cascas de laranja. A extração de óleo essencial por micro-ondas foi comparada com a extração por destilação e diferenças significativas entre os dois métodos não foram observadas. A potência de 500 W no micro-ondas foi utilizada uma vez que em apenas 15 minutos o óleo foi extraído. A água utilizada no processo de extração de óleo essencial foi reaproveitada para o uso como solvente na extração de polifenóis e pectinas. Os polifenóis presentes na matriz foram obtidos pela extração assistida por ultrassom e as pectinas por extração assistida por micro-ondas.

Bouras et al. (2015) otimizaram um método de extração por micro-ondas de polifenóis em cascas de *quercus*. Foram estudados os efeitos dos parâmetros tempo de extração, potência do micro-ondas, tamanho de partícula, composição do solvente e pH. Os resultados obtidos foram comparados com os obtidos por extrações convencionais por solvente à temperatura ambiente e por refluxo a 100 °C. As variáveis estudadas que tiveram efeito significativo no processo resultaram nas seguintes condições ótimas: tamanho de partícula 0.5x1x0.3 cm³, potência de 45 W, tempo de irradiação de 60 minutos, pH de 10.75 e composição de solventes 33% de etanol e 0.38% de metanol.

Dahmoune et al. (2015) otimizaram um método de extração de polifenóis de folhas de *Myrtus communis* utilizando micro-ondas. O método foi comparado com a extração assistida por ultrassom e com a extração convencional por solvente e os autores concluíram que os extratos obtidos por micro-ondas

apresentaram valores mais elevados de taninos, flavonoides totais e atividade antioxidante. Os parâmetros ótimos foram concentração de etanol de 42%, potência do micro-ondas de 500 W, tempo de irradiação de 62 segundos e a razão solvente/sólido 32 mL g⁻¹.

Aslam et al. (2012) aplicaram a técnica de extração assistida por micro-ondas para extração de polifenóis de diferentes partes da planta *Ocimum basilicum* (sementes, hastes e flores) utilizando três solventes com diferentes polaridades (água, metanol e acetato de etila). O método foi comparado com duas técnicas clássicas (extração com refluxo e por soxhlet). As maiores concentrações de polifenóis foram obtidas dos extratos das hastes da planta utilizando a técnica da extração assistida por micro-ondas usando metanol como solvente. Alta eficiência e tempo e consumo de energia reduzidos são as características que os autores atribuem à técnica aplicada.

Mustapa et al. (2015) obtiveram extratos de *Clinacanthus nutans*, uma conhecida planta medicinal do sudeste da Ásia com aplicação médica e nutracêutica, a partir da MAE para determinação de polifenóis. Os parâmetros do processo estudados foram: concentração de etanol na mistura de solventes, potência do micro-ondas e relação solvent-to-feed ratio.

Nayak et al. (2015) avaliaram a extração de compostos bioativos em cascas de *Citrus sinensis* por micro-ondas. A otimização dos parâmetros de extração de compostos fitoquímicos bioativos é importante para a manutenção das propriedades antioxidantes. Foram estudados: concentração de solvente, potência do micro-ondas, tempo de extração e razão sólido/solvente sob a concentração de fenólicos totais, atividade antioxidante total e ácidos fenólicos individuais utilizando a metodologia de superfície de resposta. Os autores compararam os resultados com extratos obtidos por ultrassom e extração por solvente acelerada. Os resultados obtidos com os extratos por micro-ondas para atividade antioxidante e fenólicos totais foram mais altos que os obtidos pelos outros métodos de extração.

A extração de polifenóis de folhas *Olea europaea* utilizando micro-ondas e livre de solvente foi estudada por Sahin et al. (2017). Metodologia de superfície de resposta e redes neurais artificiais foram utilizadas como ferramentas para predição e otimização da quantidade de fenólicos totais e de oleuropeína nos extratos de folhas de oliveira obtidos por extração por micro-

ondas livre de solventes. Foram obtidas as atividades antioxidante e antimicrobiana dos extratos. As redes neurais artificiais foram a ferramenta que ofereceu a melhor predição para quantidade de fenólicos totais e oleuropeína produzidas pelas folhas de oliveira. As condições ótimas de extração foram: potência do micro-ondas de 250 W, tempo de extração de 2 minutos e quantidade de amostra de 5 g.

Método para extração ultrassônica assistida por micro-ondas de polifenóis, flavonoides, triterpenóides e vitamina C de *Clinacanthus nutans* foi desenvolvido por Yu et al. (2017). A tecnologia combina a cavitação ultrassônica com as altas energias das micro-ondas, na condição de baixas pressão e temperatura. As condições ótimas de extração foram: razão sólido-líquido 1:55 g mL⁻¹, potência de irradiação de 90W e ciclos de extração de 75 s. Os resultados obtidos mostram que a tecnologia de extração ultrassônica assistida por micro-ondas é eficiente para extração de substâncias bioativas de *Clinacanthus nutans*.

3.3. Extração por Fluido Supercrítico (SFE)

A principal característica da extração por intermédio do fluido supercrítico (SFE) é o fato de apresentar mudanças de temperatura e pressão, que transformam o gás em no fluido supercrítico, onde as fases de gás e líquido são indistinguíveis (SOQUETTA et al., 2018).

De acordo com Silva; Martínez (2014), a SFE é uma técnica de extração com uma operação de transferência de massa, na qual a convecção na fase solvente supercrítica é geralmente o principal mecanismo de transporte. Para Oroian; Escriche (2015), além de se apresentar como uma técnica que pode ser executada em pequenas quantidades de amostras, a SFE possibilita um processo de extração rápido, seletivo e sem requisição de limpeza adicional.

Os SFE apresentam propriedades de transporte desejáveis que aumentam sua capacidade de adaptação. Comparados ao solvente líquido, utilizado nos processos convencionais de extração, os fluidos supercríticos apresentam baixa viscosidade, se espalhando mais facilmente dentro da matriz sólida, além de baixa tensão superficial, o que permite uma rápida penetração do solvente no sólido e, conseqüentemente, maior eficiência na extração. Como

a densidade está relacionada à solubilidade, alterando a pressão de extração, a força do fluido pode ser modificada (POULIOT et al., 2014). De acordo com Silva et al. (2019), os fluidos utilizados nos processos de extração de componentes em matrizes sólidas em condições supercríticas apresentam propriedades desejáveis como: alta difusividade, baixa viscosidade e baixa tensão superficial.

A extração por fluido supercrítico é uma tecnologia de separação de compostos solúveis em um fluido em condições supercríticas de solventes (GEETA et al., 2020). Diversos recursos vegetais são fontes de compostos bioativos e nutracêuticos que podem ser extraídos das matrizes por fluido supercrítico. De acordo com Da Silva et al. (2016), a solubilidade dos extratos depende da densidade do solvente. Assim, diferentes fluidos supercríticos foram descritos em estudos, como: CO₂; propano; etano; metanol; óxido nitroso e água.

Gallego et al. (2019) ressaltam que fluidos comprimidos, em condições sub e supercrítica, são atualmente utilizados na extração de compostos bioativos de matrizes naturais, contribuindo para o desenvolvimento de tecnologias sustentáveis e eficientes. Diversas aplicações de extrações de compostos fenólicos, óleos essenciais, pigmentos e outros bioativos por fluidos comprimidos têm sido publicadas, em matrizes como plantas, algas, microalgas e produtos alimentícios.

Extração, isolamento e purificação de tetrahydrocannabinol de *Cannabis sativa* L., onde já foram identificados mais de 450 componentes químicos, por extração por fluido supercrítico (SFE) e extração em fase sólida (SPE) (para isolamento e purificação dos extratos) utilizando CO₂ e etanol como solventes foram desenvolvidos por Gallo-Molina et al. (2019). Os efeitos da temperatura, pressão e concentração de etanol sobre os rendimentos da extração e sobre o teor de tetrahydrocannabinol nos extratos foram avaliados através do emprego do planejamento composto central e da metodologia de superfície de resposta.

Kavoura et al. (2019) utilizaram a técnica da SFE na extração de folhas de salvia (*Salvia fruticosa*). Os efeitos das condições operacionais estudadas foram pressão, temperatura e taxa de fluxo de solvente sob o rendimento das extrações. O rendimento das extrações aumentou com o aumento da pressão e o efeito da temperatura depende da pressão do sistema. O rendimento máximo foi obtido com pressão de 280 bar e temperatura de 60 °C. A composição dos extratos obtidos por SFE foi comparada com a de extratos obtidos por

hidrodestilação sendo confirmada a presença de compostos mais biologicamente ativos nos extratos obtidos por SFE.

Morsy 2020 produziu extratos ricos em timol, que é o constituinte chave do sabor de óleos essenciais de ajwain e tomilho, de frutos de *Carum copticum* L. e de parte aérea de *Thymus vulgaris* L. a partir da SFE. As características sensoriais dos extratos obtidos foram comparadas com os de extratos obtidos por hidrodestilação e nos extratos obtidos por SFE foram observadas melhores resultados. A extração assistida por fluido supercrítico aumentou a quantidade de timol nos extratos de *Carum copticum* L. e *Thymus vulgaris* L. em comparação com os óleos hidrodestilados, sendo as melhores condições operacionais a temperatura de 40 °C e a pressão de 16.7 MPa.

Nagavekar & Singhal (2019) otimizaram as condições operacionais (pressão, temperatura e tempo) da extração por fluido supercrítico de oleresina de duas espécies de curcuma. Para máxima extração de oleoreninas, curcuminoides e compostos voláteis totais as condições de extrações da *Curcuma longa* foram 350 bar, 65 °C e 150 min e para obtenção das melhores propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias da *Curcuma amada* foram 300 bar, 40 °C e 30 min. Análises por infravermelho e por cromatografia revelaram a presença de ácidos fenólicos e outros importantes componentes bioativos nos extratos de *C. amada*. Estudos comparativos da bioatividade in vitro mostraram melhores resultados para *C. longa*.

Pavic et al. (2019) utilizaram SFE na extração de ácido carnósico e carnosol de folhas de salvia (*Salvia officinalis* L.). Foram avaliadas as capacidades antioxidante e antibacteriana dos extratos, além dos efeitos da pressão, temperatura e fluxo de CO₂ no rendimento dos extratos. Na extração de carnosol, a pressão é a variável significativa. Já para o ácido carnósico, as 3 variáveis estudadas afetam significativamente o processo de extração. As condições otimizadas através do emprego da metodologia de superfície de resposta foram pressão de 29.45 MPa, temperatura de 49.19 °C e fluxo de CO₂ de 3 kg h⁻¹. As propriedades antimicrobianas dos extratos foram testadas em 4 tipos de bactérias e os melhores resultados foram obtidos para *Bacillus subtilis*. Atividade antioxidante de até 80% foi alcançada.

Extração de polifenóis de folhas de *Callisia fragans*, planta com propriedades medicinais, utilizando a técnica de extração por fluido supercrítico

(CO₂) foi realizada por Phan et al. (2020). A atividade antioxidante dos extratos obtidos foi avaliada. Foi investigada a influência de 4 fatores do processo e as melhores condições de extração foram: concentração do cosolvente etanol (14%), temperatura (45 °C), pressão (200 bar) e fluxo do CO₂ (20 g min⁻¹). O estudo conclui que a SFE é uma alternativa viável para produção de polifenóis com alta capacidade antioxidante de extratos vegetais, uma vez que a eficiência da extração por SFE é superior à da extração por soxhlet.

Zaid et al. (2020) usaram a técnica de fluido supercrítico na extração de erva cidreira *Melissa officinalis* L. 1753 (*Lamiaceae*) e testaram a atividade biológica do extrato em duas espécies de pulgões (*C. populeti* and *C. populiabae*), na fase de larva e adulta. Cerca de 20 compostos químicos foram identificados no extrato de *M. officinalis* L. e alguns deles com atividade inseticida nos pulgões: na concentração de 0.4 µL mL⁻¹ houve efeito nos estágios larvais das duas espécies de *Chaitophorus* durante as primeiras 9 h de exposição. A sensibilidade das duas espécies na fase larval dos pulgões aos extratos obtidos foi maior que nos indivíduos adultos. O extrato obtido de *Melissa officinalis* L. pode ser considerado uma alternativa ecológica aos inseticidas orgânicos sintéticos.

Processamento sequencial de extrato de folhas de *Psidium guajava* L., uma fonte natural de compostos antioxidantes, pelos processos de destilação a vapor e de extração por fluido supercrítico foi desenvolvido por Silva et al. (2019) visando obtenção de óleo essencial e componentes fenólicos não-voláteis do resíduo do processo. SFE é uma técnica amplamente empregada, oferece vantagens nos processos de separação de produtos naturais e no referido trabalho foi responsável pela obtenção dos componentes não-voláteis do extrato. Foram encontrados e quantificados os compostos fenólicos quercetina e ácido ferúlico nos extratos obtidos por SFE. Diversos autores consideram uma correlação positiva entre a presença de compostos fenólicos e a atividade antioxidante de extratos vegetais.

Rocheftort et al (2020) realizaram estudo para desenvolvimento e otimização de uma metodologia para extração por fluido supercrítico de canabinóides com finalidade de preencher requisitos de obtenção de uma licença GMP para produzir Cannabis com grau farmacêutico. A técnica foi escolhida uma vez que dispensa o uso de solventes orgânicos para extração dos

compostos. As variáveis investigadas foram: fluxo de CO₂, tempo e pressão através de um planejamento fatorial de 2 níveis. As condições ótimas para extração foram: taxa de fluxo de 150 g min⁻¹, 600 min de tempo de extração e 320 bar de pressão.

3.4. Extração por Fluido Pressurizado (PLE)

A técnica de extração por fluido pressurizado (PLE) é caracterizada por um processo de separação que envolve a transferência de solutos de uma matriz sólida. São utilizados solventes líquidos, por intermédio de temperatura e pressões elevadas, que produzem uma redução na tensão superficial do solvente, que facilita a penetração do solvente nos poros da matriz. O processo interrompe a matriz, o que aumenta a transferência de massa do analito da amostra de solvente (GARCIA-MENDOZA et al., 2015).

De acordo com Mena-García et al. (2019), nesta técnica verde, quando a água é usada no seu ponto crítico, a mesma pode ser chamada de extração subcrítica de água (SWE) ou extração de água quente pressurizada (PHWE).

Alvarez-Rivera et al. (2020) apontam as principais variáveis que influenciam na performance da extração por fluido supercrítico: temperatura, pressão, taxa do fluxo e tempo de extração, além de razão solvente/amostra, dispersante e tipo de matriz. Os solventes são escolhidos com base nas características de solubilidade do soluto desejado. A versatilidade dos solventes pressurizados devido às propriedades físico-químicas incluindo densidade, difusividade e viscosidade, que podem ser controladas variando a temperatura e a pressão do sistema de extração (PRONYK; MAZZA, 2009).

De acordo com Santos et al. (2012), a extração por intermédio de fluido pressurizado é uma técnica atraente, pois permite extração rápida e consumo reduzido de solvente, tendo sido aplicado com sucesso na extração de antocianinas de várias plantas. Alvarez-Rivera et al. (2020) complementam que a importância do desenvolvimento de métodos de extração mais rápidos, menos tóxicos e mais ecológicos tornou a PLE uma técnica popular, sobretudo para aplicação nas indústrias farmacêutica e alimentícia.

Clinacanthus nutans é uma planta medicinal de grande interesse devido a presença de componentes fitoquímicos com atividade anti-inflamatória,

antimicrobiana e antioxidante, e com potencial aplicação nas áreas alimentícia, química e farmacêutica. Abduljabar et al. (2019) estudaram métodos convencionais (maceração, infusão e soxhlet) e modernos (extração de água quente pressurizada, extração por fluido supercrítico, extração assistida por ultrassom e extração assistida por micro-ondas) para extração dos fitoquímicos de *C. nutans*. Os autores ressaltam as desvantagens das técnicas convencionais de extração como o alto tempo necessário, o elevado consumo de solventes e a baixa eficiência do processo de extração devido a degradação térmica dos componentes fitoquímicos. Tais desvantagens justificam o desenvolvimento de novas técnicas que ofereçam benefícios como menor tempo e consumo de solventes, redução da geração de resíduos tóxicos, além de facilidade e baixo custo operacionais. Os autores destacam que a extração por fluido pressurizado (PSE) opera em condições de elevadas pressão e temperatura que aumentam a extração de compostos fitoquímicos e utiliza menores volumes de solvente.

Barbosa et al. (2019) utilizaram a técnica de extração por fluido pressurizado para separar compostos fenólicos com potencial atividade antimicrobiana e antioxidante de folhas de *Hancornia speciosa*. O trabalho desenvolveu os passos para obtenção de 3 extratos utilizando os solventes hexano, acetato de etila e etanol. O aumento da temperatura favoreceu a separação dos compostos bioativos. O extrato etanólico obtido na temperatura de 60 °C apresentou a maior quantidade de compostos fenólicos e o extrato a partir do acetato de etila a 60 °C apresentou a maior quantidade de flavonoides e rutina.

Çam et al. (2019) extraíram compostos fenólicos e óleo essencial de folhas de hortelã-pimenta (*Mentha piperita* L.) por PHWE. A extração simultânea foi realizada em 3 ciclos nas melhores condições operacionais: temperatura de 130 °C e tempo de 10 minutos. Eriocitrina foi o composto fenólico principal determinado no extrato e mentol foi o componente predominante presente no óleo essencial.

Jegal et al. (2019) avaliaram métodos de extração de ginsenoside de raízes de *Panax ginseng* e de *Panax quinquefolius*. Segundo os autores, a quantidade total de ginsenoside e a eficiência da extração podem ser aumentadas com o uso de técnicas avançadas em condições de altas temperaturas e/ou altas pressões, como extração por fluido pressurizado,

extração por fluido supercrítico e extração a altas pressões assistida por micro-ondas, enquanto que as técnicas tradicionais de extração de ginsenoside são limitadas pelo alto tempo operacional.

Liang et al. (2020) desenvolveram e otimizaram um método para extração de metabólitos secundários de *Convallaria majalis* L., uma matriz vegetal complexa, utilizando extração de líquido pressurizado. A performance da extração foi avaliada pelos parâmetros estabilidade do analito, recuperação (entre 63% e 107%), efeito de matriz na interface do eletrospray (variando de 3 a 27%) e nível de co-extrativos. O tempo de extração foi de 10 minutos. O trabalho foi o primeiro a utilizar a técnica de PLE para extrair metabólitos secundários de uma matriz vegetal complexa com resultados satisfatórios de recuperação e baixo efeito de matriz.

Souza et al. (2019) avaliaram a composição e a atividade biológica de extratos de folhas de bardana (*Arctium lappa*) obtidos por extração por fluido pressurizado e por fluido supercrítico (CO₂). Os dois métodos foram comparados a partir dos parâmetros rendimento da extração, composição química, compostos fenólicos e atividade antioxidante dos extratos. A temperatura é considerada uma variável importante, uma vez que o aumento favorece a difusão e a solubilidade de compostos fenólicos em diferentes solventes. Os extratos obtidos por PLE apresentaram maior rendimento (37.4%) nas condições de pressão de 15 MPa e 353.15 K, maiores concentrações de ácido clorogênico (1.84%) e rutina (1.46%), além de maior capacidade antioxidante.

4. SOLVENTES VERDES

Em um processo típico, os solventes são amplamente utilizados para dissolver reagentes, afetando a reatividade química, extraíndo e lavando os produtos e para separar as misturas. Os solventes orgânicos convencionais não são apenas ecologicamente perigosos, mas também direcionam toxicidade aguda e crônica, além de apresentarem potencial carcinogênico. Para melhorar a proteção da saúde e do meio ambiente contra os riscos associados ao uso de solventes voláteis orgânicos perigosos, grandes esforços foram e estão sendo dedicados ao desenvolvimento de meios alternativos de reação verde (SHANAB et al., 2016).

As precauções para minimizar os efeitos desses solventes por processos de reciclagem aprimorados possuem sucesso limitado e não podem evitar algumas perdas para o ambiente. Além disso, o risco associado a possíveis acidentes ainda está presente. Por essas razões, a substituição desses solventes perigosos por solventes alternativos sustentáveis verdes parece ser a única alternativa válida para um uso sustentável de solventes (KHANDELWAL et al., 2016). Por isso, tem crescido a busca em atender princípios da química verde, como a utilização de solventes verdes em relação a solventes tóxicos, sendo observado um aumento de trabalhos envolvendo a química verde e o emprego de solventes verdes de aproximadamente 66 e 68% em relação aos últimos dez anos (Figura 4), respectivamente.

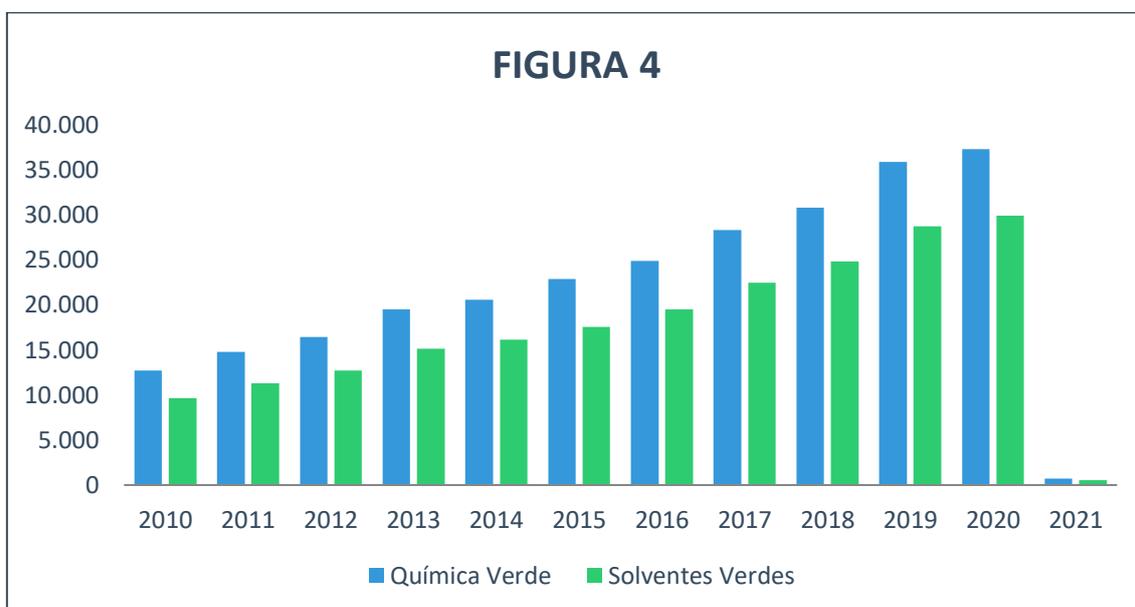


FIGURA 4. Resultado de pesquisa para as palavras-chave: Química Verde; Solventes Verdes, entre os anos 2010 a 25 de agosto de 2021. Plataforma de acesso Science Direct.

4.1. Solventes Eutéticos Naturais

Diante de toda restrição existente e da necessidade crescente para o uso de novos solventes, surgem os denominados solventes eutéticos profundos (DES, deep eutectic solvents no inglês). Esses novos solventes foram

amplamente reconhecidos como sendo uma espécie de substituto ecológico, para os solventes convencionais (ZANG et al., 2012).

De acordo com Dai et al. (2013), os líquidos recém-formados possuem pontos de fusão significativamente mais baixos do que qualquer um dos componentes individuais. Quando os DES's são compostos por metabólicos primários como aminoácidos, ácidos orgânicos e açúcares, eles também são chamados de solventes eutéticos profundos (NADES).

Os DES's apresentam uma variedade de propriedades úteis, com baixa volatilidade, viscosidade ajustável e miscibilidade em água. Consequentemente, são considerados solventes eficazes para a dissolução e extração de uma ampla gama de compostos polares e apolares. Além de apresentarem um menor impacto ambiental e econômico, apresentam outras vantagens enquanto solventes, como por exemplo, biodegradabilidade, baixo custo, métodos simples para preparação e o fato de os precursores utilizados serem compostos renováveis, não-tóxicos e naturais (GARCÍA et al., 2016).

Os solventes eutéticos estão gerando interesse cada vez mais amplo dentro da comunidade científica, que ainda está no processo para o entendimento real das especificidades características desses fluídos. Nos últimos anos, esses tipos de solventes estão sendo empregados nas mais diversas formas de aplicação, como catálise química, síntese orgânica, eletrodeposição e reações enzimáticas (DAI et al., 2013).

Apesar do crescente interesse nos diferentes processos de separação, ainda existe uma falta de informação sobre aspectos práticos relacionados à sua aplicação como solventes de extração, ou seja, sua eficiência e propriedades físicas ideais, como viscosidade e polaridade. Entretanto, poucos estudos ainda apontam para o foco direcionado na aplicação de DES's na extração de compostos bioativos de materiais vegetais, por exemplo (WEI et al., 2015).

Atualmente, é dada grande atenção aos solventes eutéticos profundos (NADES) para o processo de microextração. Essa realidade se torna possível frente à um cenário de busca ininterrupta para o desenvolvimento de método de fluxo contínuo com novos sistemas de extração focados em cinética rápida de extração e separação, que não gere impactos ambientais, com alta afinidade pelos analitos alvo, além de compatibilidade com sistemas de fluxo e detecção (NUGBIENYO et al., 2017).

De acordo com Shishov et al. (2020), são variados os procedimentos automatizados que utilizam NADES como solventes para procedimentos de extração, e que seguem amplamente apontados na literatura.

Recentemente foi demonstrado que NADES apresentam propriedades únicas para o processo de microextração líquido-líquido, como solventes dispersantes. Em fase aquosa, os NADES podem ser solúveis no solvente da extração, no entanto, diferentemente dos solventes dispersores convencionais (solvente orgânicos polares), os NADES baseados em amônio quaternário podem ser decompostos em fase aquosa (SHISHOV et al., 2018; SHISHOV et al. 2019).

Os DES's são caracterizados por apresentarem alta viscosidade e eles podem existir no estado sólido à temperatura ambiente e é por isso que eles podem ser utilizados com sucesso no processo de extração de compostos ativos de produtos naturais. À exemplo disso, é a utilização de DES's como meio de extração de glicerina a partir de misturas de biodiesel aromático de nafta (PŁOTKA-WASYLKA et al., 2017).

Em estudo com extração de compostos fenólicos do azeite virgem com utilização de solventes eutéticos profundos, García et al. (2016) observaram que os resultados sugerem que o DES oferece uma solução eficiente, segura, sustentável, além de ser uma alternativa econômica ao metanol para extração de compostos bioativos em óleo de oliva virgem (VOO). Na pesquisa foram utilizados diferentes combinações de DES constituídos por Cloreto de Colina (ChCl) em várias proporções de mistura com açúcares, álcoois e ácidos orgânicos.

O método com aplicação em diferentes combinações de solventes eutéticos profundos, também fornece algumas vantagens importantes, como a simplicidade de etapas experimentais, principalmente o uso de solventes de baixa toxicidade, uma vez que a maioria dos DES's podem ser preparados a partir de produtos químicos facilmente acessíveis, especialmente os DES's derivados de ChCl e produtos químicos renováveis, com velocidade relativamente alta na preparação das amostras (ARAIN et al., 2016).

Os Solventes Eutéticos Profundos Naturais (NADES), foram cunhados em 2011 como mídia verde revolucionária. Essas misturas eutéticas são formadas por constituintes celulares como açúcares, álcoois, aminoácidos, ácidos

orgânicos e derivados de colina. A natureza das interações que ocorrem é a ligação de hidrogênio e as forças Van der Waals. Na matriz NADES, a rede de ligações de hidrogênio via interações intermoleculares modifica seu ambiente físico-químico. Curiosamente, eles foram propostos como o terceiro solvente em células vivas, explicando sua alta capacidade de solubilização e estabilidade de compostos naturais (CHOI et al., 2011). O NADES se destaca por ser um solvente de projeto com propriedades físico-químicas ajustáveis devido ao grande número de combinações potenciais (em torno de 106). Além disso, apresentam custos competitivos, vedura e preparo simples (DAI et al., 2013; FERNANDEZ et al., 2018). Os métodos mais comumente usados para preparar NADES são aquecimento e agitação (DAI et al., 2013; DAI et al., 2014; DAI et al., 2015) método de evaporação (DAI et al., 2013), e método de liofilização (GUTIERREZ et al., 2009). Recentemente, uma abordagem assistida por micro-ondas mais verde para a preparação de NADES no menor tempo foi proposta por Gomez et al. (2018).

Desde que os NADES surgiram, a maioria das aplicações tem sido focada na extração de compostos bioativos de fontes naturais (BUBALO et al., 2018).

As características analíticas de artigos representativos sobre a extração de compostos de plantas medicinais mediada pelo NADES são fornecidas na Tabela 2. Como pode ser visto, as misturas compostas de ácidos orgânicos, açúcares e cloreto de colina são as mais utilizadas como meios de extração. A alta viscosidade do NADES restringe a mobilidade dos analitos dentro do NADES durante a extração. Nesse sentido, a água é atualmente adicionada como constituinte integral do NADES ou após sua preparação como diluente para melhorar o processo de transferência de massa (BENTLEY et al., 2020; ESPINO et al., 2019).

Os compostos biologicamente ativos avaliados incluem flavonóides, ácido fenólico, antocianina, terpenóides e alcalóides, que indicam a possível utilização de NADES na extração de vários compostos naturais polares e não polares (BUBALO et al., 2018). Entre os compostos, os fenólicos são de longe os mais estudados (Tabela 2).

As técnicas convencionais de extração, como Soxhlet, maceração, decocção, infusão, apresentam algumas desvantagens, como longos períodos de extração, alto consumo de solventes e energia que as tornam prejudiciais do

ponto de vista ambiental (GONZÁLEZ-CENTENO et al., 2015). Técnicas não convencionais, incluindo extração assistida por micro-ondas (MW) e extração assistida por ultrassom (UAE), têm ganhado grande interesse, pois reduzem o uso de solventes orgânicos tóxicos, melhorando o rendimento e a eficiência da amostra (ESPINO et al., 2020). Como pode ser visto na Tabela 2 UAE é a abordagem mais utilizada.

Vários relatórios compararam a eficiência de extração de NADES como solventes tradicionais, como orgânicos e água. Os resultados demonstram excelente capacidade de extração de NADES para compostos polares e polares fracos (SHIKOV et al., 2020; OOMEN et al., 2020).

As plantas medicinais constituem uma rica fonte de compostos bioativos com diferentes atividades biológicas como cardioprotetora, anti-inflamatória e antimicrobiana (BUBALO et al., 2018). Com base no exposto, a extração verde de compostos bioativos vegetais mediada pelo NADES abre possibilidades interessantes para o desenvolvimento de novos medicamentos, alimentos funcionais e aditivos alimentares. É importante destacar que as misturas eutéticas são formadas por ingredientes de grau alimentício que podem ser aplicados diretamente sem etapas de purificação.

Considerando que o controle em química verde permite a possibilidade de comprar diferentes métodos e selecionar criticamente a opção mais verde; tendências recentes incentivam os químicos analíticos a aplicar métricas sustentáveis para alcançar o verde de uma técnica de extração (GOMEZ et al. 2018).

Com o objetivo do conceito verde convencional, é de extrema importância passar dos princípios gerais para a prática. Nesse sentido, os NADES são, sem dúvida, os solventes da indústria futura e esforços devem ser feitos para avaliá-los em escala industrial (ESPINO et al., 2016).

TABELA 2. Aplicação de NADES para extração de compostos fenólicos em plantas medicinais.

NADES	Plantas Medicinais	Biocompostos	Técnicas de Extração	Referencias
Ácido Lático:dextrose:água (5:1:10)	Larrea divaricata Larrea cuneifolia Thymus vulgaris Origanum vulgare	Total conteúdo fenólico	UAE -relação planta/solvente: 75 mg mL ⁻¹ -tempo: 42 min -temp: 40 °C	Martins et al. (2017)
Cloreto de Colina: glicerol (2:1 w/w)	Cinnamomum burmannii Caesalpinia sappan	Brasilina	UAE - relação planta /solvente: 1:2 w/w -Tempo: 50 min -temp: ni -água adicionada: 47.57%	Islamcevic et al. (2020)
		Compostos Fenólicos: Trans- cinamaldeído e cumarina	UAE -relação planta/solvente: 1:8 w/w -tempo: 30 min -temp: ni -água adicionada: 20%	
Ácido láctico:frutose:água (5:1:11)	<i>Rhodiola rosea</i>	Salidrosideo, tirosol, rosavina, resina e álcool cinamílico,	UAE -tempo: 154 min, -temp: 22 °C	Shikov et al.

		feniletano e fenilpropanóides totais	-relação planta/solvente: 50 mg mL ⁻¹	(2020)
Sacarose: ácido cítrico: água (1:1:10)	<i>Myrothamnus flabellifolia</i>	Antocianinas e compostos fenólicos (análise metabólica)	Aquecida: 50–55 °C UAE: -tempo: 90 min -relação planta/solvente: 50 mg mL ⁻¹ -água adicionada: 25 %	Bentley et al. (2020)
Prolina: ácido málico: água (1:1:3)				
Frutose: sacarose: glicose: água (1:1:1:11)				
Glicose: cloreto de colina: água (2:5:5)				
β-alanina–ácido cítrico (1:1); 50% água	<i>Scutellaria baicalensis</i>	Flavonóides (baicaleína, escutelareína, wogonina, oroxilina A e seus glicosídeos, baicalina, wogonósido e oroxilósido)	Banho d'água: 40 °C, 60 min. UAE: -tempo: 30 min -temp: room temperature -relação planta/solvente: 50 mg mL ⁻¹ Limpeza: extração em fase sólida (SPE).	Oomen et al. (2020)
Prolina–ácido cítrico (1:1); 40% água				
Cloreto de colina: frutose: água (2:1:1)	<i>Aronia melanocarpa</i>	Compostos fenólicos (21), teor de fenólicos totais, flavonóides e antocianinas	UAE -relação planta/solvente: 200 mg mL ⁻¹ -tempo: 20 min -temp: 35 °C	Boiteux et al. (2019)
Glicerol: nicotinamida (5:1)	<i>Moringa oleifera L.</i>	Compostos fenólicos (8) e conteúdo	-relação planta/solvente: 28.5 mg mL ⁻¹	

		fenólico total	Pré-tratamento: 23 °C, 30 min. Placa aquecedora termostatizada: -temp: 50 °C, -tempo: 150 min -mexendo: 500 rpm.	Lakka et al. (2020)
Ácido láctico, dextrose (5:1); 15% água	<i>Larrea cuneifolia</i>	Conteúdo fenólico total	UAE -relação planta/solvente: 75 mg mL ⁻¹ -tempo: 42 min -temp: 40 °C (±2°C)	Mocan et al. (2019)
Ácido Láctico:dextrose:água; (5:1:10)	<i>Larrea cuneifolia</i> <i>Larrea divaricata</i>	Compostos fenólicos (ácido cafeico, rosmarínico ferúlico e ácido nordihidroguaiar, quercetina, apigenina, tirosol) e alcalóides (teofilina, piperina, harmalina, teobromina, cafeína)	UAE -relação planta/solvente: 75 mg mL ⁻¹ -time: 42 min -temp: 40 °C (±2°C)	Plotka- Wasyłka et al. (2020)
Ácido glicólico:Betaína	<i>Galium species</i> (<i>G. verum</i> , <i>G. album</i> , <i>G. rivale</i> , <i>G. pseudoaristatum</i> , and <i>G. purpureum</i>)	Compostos fenólicos	DLLME -amostra: 10 mg, -meio solvente (água; NaCl: 10%; NADES: 15% or β-	Yang et al. (2018)

			<p>ciclodextrina: 1%): 700 μL -solvente de extração (acetato de etila): 400 μL -solvente dispersivo (etanol): 300 μL -tempo de vórtex: 30 s, -tempo de extração: 1min</p>	
Cloreto de Colina: ácido cítrico (2:1); 20% água	<i>Ruta graveolens</i> L.	Conteúdo fenólico total	<p>Mexendo -relação planta/solvente: 13.3 $\mu\text{g mL}^{-1}$ -tempo: 90 min</p>	Nagavekar & Singhal (2019)
Cloreto de colina: ácido levulínico (1:2); 50 % água	<i>Jinqi Jiangtang</i> formula, composed by (<i>Coptis chinensis</i> , <i>Astragalus membranaceus</i> , and <i>Lonicera japonica</i>)	Ácido Clorogênico, neoclorogênico e isoclorogênico, coptisina, gloenlandicina e berberina	<p>UAE -tempo: 60 min -relação planta/solvente: 8 mg mL^{-1} -temp: <i>ni</i></p>	Shawky et al. (2018)
Cloreto de Colina: frutose (5:2)	<i>Crinum powellii</i> and <i>Crinum bulbispermum</i>	Alcalóides	<p>UAE -relação planta/solvente: 0.4 g mL^{-1} -tempo: 60 min -temp: 40 °C -centrifugado: 4000 rpm, 20 min</p>	Takla et al. (2018)

Cloreto de colina: frutose (5:2); 35 % água(v/v)	<i>Crinum powellii</i>	Alcalóides (licorina, crinina, crinamina)	UAE -tempo: 60 min -temp: 50 °C -relação planta/solvente: 400 mg mL ⁻¹	Wu et al. (2018)
Ácido láctico: dextrose (5:1); 15% água (v/v)	<i>Larrea cuneifolia</i>	Compostos fenólicos (tirosina, Catequina, ácido cinâmico, naringenina, ácidos nordihidroguaiaréticos, ácido cafeico, ferúlico, rosmarínico, Api, rutina, quercetina e luteolina)	UAE condições ótimas: -relação planta/solvente: 75 mg mL ⁻¹ -tempo: 42 min -temp: 40 °C (±2°C) -centrifugado: 10000 rpm, 30 min	Espino et al. (2019)
Cloreto de colina: ácido cítrico (1:1); 40% water	<i>Moringa oleifera</i>	Compostos fenólicos (ácido hidroxicinâmico, flavonóides) e glucosinolatos	UAE -relação planta/solvente: 100 mg mL ⁻¹ -tempo: 60 min -temp: 50 °C	Wu et al. (2020)
Ácido láctico: glicose, (5 : 1); 10 % água	<i>Rheum palmatum</i> L.	Antraquinonas: crisofanol, rhein, emodin, aloe-emodin e fiscion	UAE -tempo: 1.5 h, -temp: 82 °C -relação planta/solvente: 38.46 mg mL ⁻¹	Du et al. (2009)

Cloreto de colina: maltose (1:2); *Cajanus cajan*
20% água

Compostos fenólicos
(orientina; vitexina;
luteolina; apigenina;
isorhamnetina;
formononetina;
pinostrobinina;
chalcona; longistilina;
ácido cajanin-
estilbeno; cajanus-
lactona; cajanol;
apigenina-6,8-Di-C-L-
arabinósido; apigenina
-8-C-L-arabinósido)

MAE
-relação planta/solvente: 33,33
mg mL⁻¹
-tempo: 12 min
-temp: 60 °C

García et al.
(2016)

UAE: extração assistida por ultrassom

MAE: extração assistida por micro-ondas

4.2. Líquidos Iônicos

Os Líquidos iônicos (IL's) são sais orgânicos constituídos por cátions orgânicos e ânions orgânicos ou inorgânicos como cloreto, dicianamida, trifluoroacetato, com pontos de fusão inferiores à 100 °C. São considerados solventes verdes, levando em consideração suas propriedades exclusivas, como pressão de vapor desprezível em uma ampla faixa de temperatura, alta estabilidade térmica e alta viscosidade. Além de apresentarem proveitos e operosidades aprimorados, descritos para vários processos industriais, esses solventes também podem ser recuperados e produtos finais com apenas vestígios de solvente residual, podem ser obtidos (MARTINS et al., 2017).

As propriedades exclusivas dos IL's, como alta solubilidade, alta estabilidade térmica, química e eletroquímica, e não inflamabilidade, os tornam adequados para uso em diferentes áreas, como tecnologia de processo, síntese orgânica, eletroquímica e química analítica. No campo da biotecnologia, os IL's podem ser aplicados como substitutos de solventes orgânicos voláteis perigosos em processos catalíticos, bem como nos processos de extração e separação de compostos biologicamente ativos (EGOROVA et al., 2017).

De acordo com Abu-Eishah (2011), entre as tecnologias disponíveis, a regeneração de IL's pode ser realizada por operações convencionais, como destilação e extração. Os produtos voláteis podem ser facilmente isolados dos IL's por destilação em condições amenas, enquanto os produtos de baixa volatilidade podem ser separados por processos de extração ou membrana, como nanofiltração e evaporação.

Muito embora os IL's sejam definidos como solventes ecologicamente corretos devido às propriedades mencionadas, é importante que se tenha atenção, pois eles ainda podem atingir solos, água superficiais e subterrâneas por derramamentos ou efluentes acidentais (EGOROVA; ANANIKOV, 2014).

Segundo Kudłak et al. (2015), muitas vezes ocorrem acúmulos no ambiente e em organismos superiores que afetam adversamente a homeostase. Conseqüentemente, a sorção, biodegradabilidade e toxicidade dos IL's, bem como seus produtos de degradação, são de alta importância para seu impacto e destino final no ambiente.

Em uma investigação sobre a aplicação de álcoois, ésteres e líquidos

iônicos (IL's) como alternativas aos solventes orgânicos convencionais na extração líquido-líquido de Quercetina de diferentes plantas medicinais, flores e cebola vermelha (*Allium cepa* L.) congelada, Domańska et al. (2018) avaliaram os parâmetros que afetam o rendimento da extração usando IL's, como estruturas químicas do cátion e ânion IL, a razão do volume da fase do solvente de extração, o tempo de extração e a forma de amostra e concentração de Quercetina. A extração mais eficiente da fase aquosa foi obtida utilizando os IL's solúveis em água.

A interação hidrofóbica entre IL's insolúveis em água e Quercetina é predominante devido à sua menor hidrofobicidade e aumenta proporcionalmente ao comprimento da cadeia alquil do cátion IL, aumentando a capacidade de extração de alguns IL's (DOMAŃSKA et al., 2018).

A classe dos IL's que apresentam o cátion imidazólio é destinada para o desenvolvimento de vários processos e materiais devido propriedades facilmente ajustáveis por intermédio de mudanças estruturais no cátion e no ânion, bem como capacidade em sua auto-organização (MATSUMOTO et al., 2015).

5. MÉTRICAS DA QUÍMICA ANALÍTICA VERDE

As técnicas assistidas por ultrassom, assistidas por micro-ondas, fluido supercrítico, fluido pressurizado para extração de composto bioativos em plantas aromáticas e medicinais em associação com solventes ecologicamente corretos (Figura 5), relatados nessa revisão têm como principais vantagens, a redução do tempo de extração, consumo de solvente, rendimentos de extração e reprodutibilidade, como mencionado por Oreopoulou et al. (2019). Trabalhos relatados na literatura propuseram critérios e parâmetros para medir o grau de sustentabilidade do procedimento analítico.

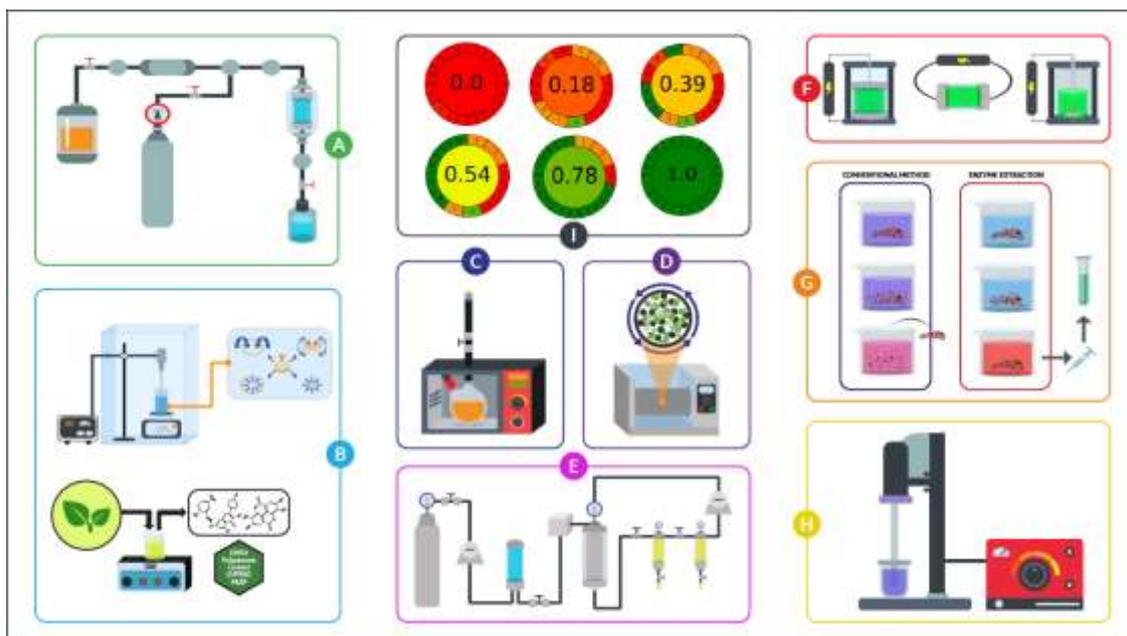


FIGURA 5. Técnicas de Extração Assistida. Legenda: **A** – Extração por Fluido Pressurizado (PLE); **B** – Extração Assistida por Ultrassom (UAE); **C** – Extração Assistida por Micro-ondas; **D** – Extração Assistida por Mecanoquímica (MCAE); **E** – Extração por Fluido Supercrítico (SFE); **F** – Electric Field Pulse Assisted Extraction (PEF); **G** – Extração Assistida por Enzimas (EAE); **H** – Extração por Homogeneização com Alta Velocidade (HSHE); **I** – AGREEmetric.

Alguns autores desenvolveram parâmetros para avaliar se os procedimentos químicos se enquadram no conceito de química analítica verde ou sustentável, dentre os fatores avaliados para quantificar e poder avaliar se os métodos analíticos estão seguindo a química verde, por exemplo, tipo e volume de reagentes, resíduos geração, número de etapas processuais, miniaturização e automação e consumo de energia (PENA-PEREIRA et al., 2020).

Alguns autores utilizam como forma de tentar medir os impactos ambientais dos métodos de extração desenvolvidos alguns parâmetros associados à eficiência energética: consumo elétrico (E_c) em KWh e consumo elétrico relativo (E^*c) em $KWh.g^{-1}$, cujos cálculos podem ser vistos respectivamente por equações (1) e (2) (KUSUMA et al., 2019).

$$E_c = \frac{Pt}{1000} \quad (1)$$

Onde, P é o consumo de energia (W) e t é o tempo (s)

$$E^*c = \frac{Ec}{m} \quad (2)$$

Onde, m é a massa ou volume do extrato

Além do consumo de energia, outro parâmetro importante é a emissão (E_{CO_2}) em g e a emissão relativa de CO_2 (KUSUMA et al., 2019), (equação (3) e (4)).

$$E_{CO_2} = \frac{Ec800}{1000} \quad (3)$$

A emissão relativa de CO_2 para diferentes técnicas de extração pode ser calculada usando a equação (4).

$$E^*_{CO_2} = \frac{E_{CO_2}}{x} \quad (4)$$

Na tabela 3, é possível observar que os métodos assistidos por ultrassom e extração assistida por enzimas são de baixo custo, do ponto de vista tecnoeconômico, além de serem considerados mais ecologicamente corretos quando considerados os fatores de consumo de energia e emissão de CO_2 . Especialmente quando comparado com extrações de micro-ondas, fluido supercrítico e fluido pressurizado. No entanto, existem outros parâmetros importantes que irão influenciar a determinação se um procedimento analítico e ou não “verde” ambientalmente amigável. No entanto, é necessário avaliar outros fatores que fazem parte dos 12 princípios da química analítica verde.

TABELA 3. Eficiência energética, emissão de CO₂, custo (kEuros) para técnicas de extração na avaliação da química verde.

Amostra	Analito	Técnica de Extração	Consumo Elétrico (KW h) ^a	Consumo Elétrico Relativo (KW h L ⁻¹) ^a	Emissão CO ₂ (g) ^a	Emissão Relativa ^a CO ₂	Custo ^b	Ref.
<i>Physalis</i>¹	Catequina, rutina, ácido cafeico e ácido trans-cinâmico	ultrassom	0,0144	0,96	0,0115	0,77	Baixo	Moreira & Dias (2018)
<i>Croton</i>²	Gálico, vanílico, siringico, p-cumárico, cafeico, ferúlico, quercetina e kaempferol	ultrassom	0,0027	0,18	0,0022	0,15	Baixo	Aryanti et al. (2019)
<i>Quercus</i>³	Catequina, epicatequina, epigallocatequina, siringico, p-cumárico, sináptico e naringenina	micro-ondas	0,045	5,6	0,04	4,5	Médio	Boukroufa et al. (2015)
<i>Psidium and</i>	Ácidos gálico e elágico, quercetina e	micro-ondas	0,18	6.0	0,15	4,8	Médio	Ahmad et al. (2020)

Smilax⁴

trans-reveratrol

59

Salvia⁵

8 compostos bioativos

Fluído
supercrítico

0,125

10,4

0,10

8,3

Alto

Gallo-Molina et al. (2019)

Mentha⁶

5 compostos bioativos

Fluído
pressurizado

0,056

3,7

0,045

3,0

Alto

Barbosa et al. (2019)

Arctium⁷Ácido gálico, ácido
didroxibenzóico, ácido
Clorogênico e rutinaFluído
pressurizado

0,056

3,1

0,045

2,5

Alto

Liang et al. (2020)

Hovenia⁸Complexos
polifenólicos-proteína-
polissacarídeosExtração
assistida
por
enzimas

0,09

0,9

0,072

0,72

Baixo

Djande et al. (2018)

Physalis angulata L.¹; *Croton heliotropiifolius*²; *Quercus (Q. robur L.)*³; *Psidium guajava* Linn and *Smilax china*⁴; *Salvia fruticosa*⁵; *Mentha piperita* L.⁶; *Arctium lappa*⁷; *Hovenia dulcis*⁸. KUSUMA et al. (2019)^a; CHEMAT et al. (2020)^b

Para facilitar, se um método ou procedimento analítico segue os princípios da química analítica verde, Pena-Pereira et al. (2020), desenvolveram uma ferramenta para avaliação de procedimentos analíticos do ponto de vista da química analítica verde, o software AGREE (Figura 6) (PENA-PEREIRA et al., 2020). Com base nessa ferramenta, alguns trabalhos relatados na literatura sobre a extração de compostos bioativos foram avaliados de acordo com os critérios desenvolvidos por esses autores. A tabela 4 apresenta os resultados da avaliação utilizando o índice obtido com base nos 12 requisitos exigidos pela ferramenta utilizando o software AGREE foi possível constatar que os procedimentos de extração assistida podem ser considerados verdes médios, pois é necessário levar em consideração a toxicidade e volumes de solventes usados na extração. Assim, a substituição por solventes não tóxicos tornaria esses procedimentos altamente verdes, ou seja, de acordo com os princípios da química sustentável.

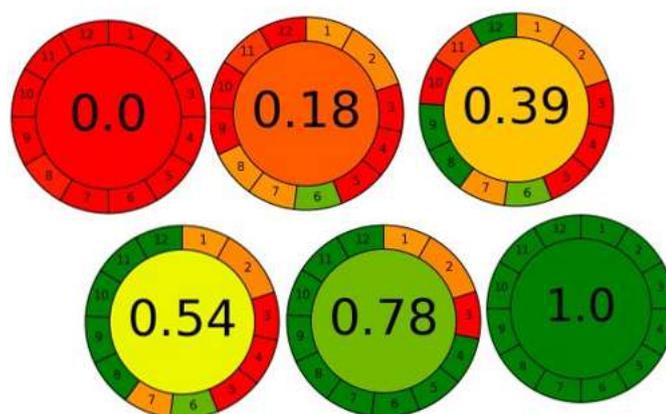


FIGURA 6. Métricas de Química Analítica Verde (AGREE) (REZENDE et al., 2021). Para interpretação das referências à cor nesta legenda da figura, o leitor é encaminhado para o site versão desse artigo).

TABELA 4. Métricas de química analítica verde para avaliação de extração de procedimentos.

Amostra de planta medicinal	Analito	Técnica de Extração	Massa de Ração/solvente	Técnica analítica	Métricas	Referência
<i>Physalis angulata</i> L.	Catequina, rutina, ácido cafeico e ácido trans-cinâmico	ultrassom	0.6g 15 mL ⁻¹	HPLC	0.58	Moreira & Dias (2018)
<i>Croton heliotropiifolius</i>	Gálico, vanílico, siringico, p-cumárico, cafeico, ferúlico, quercetina e kaempferol	ultrassom	0.2g 11.4 mL ⁻¹	HPLC	0.63	Aryanti et al. (2019)
<i>Quercus (Q. robur L.)</i>	Catequina, epicatequina, epigalocatequina, siringico, p-cumárico, sináptico e naringenina	Micro-ondas	5g	HPLC-MS	0.53	Boukroufa et al. (2015)
<i>Psidium guajava</i> Linn and <i>Smilax china</i>)	Ácidos gálico e elágico, quercetina e trans-resveratrol	micro-ondas	1g 20 mL ⁻¹	HPLC	0.61	Ahmad et al. (2020)

<i>Carum copticum</i> L. and <i>Thymus vulgaris</i> L.	21 compostos bioativos	Fluído supercrítico	5g of sample and CO ₂ flow (8 mL min ⁻¹)	CG-MS	0.58	Kavoura et al. (2019)
<i>salvia fruticosa</i>	8 compostos bioativos	Fluído supercrítico	40 g of sample and CO ₂ flow between 1 and 3 kg h ⁻¹	CG-MS	0.55	Gallo-Molina et al. (2019)
<i>Mentha piperita</i> L.	5 compostos bioativos	Fluído pressurizado	10 g of sample	HPLC	0.60	Barbosa et al. (2019)
<i>Arctium lappa</i>	Ácido gálico, ácido didroxibenzóico, ácido clorogênico e rutina	Fluído pressurizado	7.5 g of sample and 2 mL min ⁻¹ of solvente flow	HPLC	0.58	Liang et al. (2020)

6. CONCLUSÃO

Existe uma crescente necessidade harmônica dos processos que envolvem as pesquisas com a manutenção da visão pautada nos aspectos que direcionam ao sentido real de sustentabilidade, e que acaba se tornando um dos maiores desafios para a ciência, no século presente. Na área da química analítica, são inúmeros os problemas que comprometem um bom desenvolvimento das análises, e até mesmo um reaproveitamento em potencial das técnicas estabelecidas, passando pelo mau uso de reagentes, por exemplo.

O que no seu sentido amplo, acabam gerando impactos acelerados, muitas vezes provocando até mesmo, riscos eminentes para os que trabalham no processo de manipulação, direcionando à descartes inadequados e consequências sem precedentes, dentro de um longo prazo. O que por sua vez, não deixa de impactar diretamente vidas e sistemas, gerando assim uma constante ameaça aos aspectos de sustentabilidade, pauta tão importante não só para o planeta em que vivemos, como principalmente para ciência que tanto necessitamos.

Sendo assim, torna-se altamente relevante as considerações em torno dos aspectos ligados à difusão das métricas que avaliem e condicionem os procedimentos verdes dentro dos objetos de estudo, onde além de se levar em consideração aspectos ambientais, torna-se imprescindível, podendo esses serem considerados indicadores essenciais ou até mesmo opcionais, na apresentação de definições, compilações, relevância, e até mesmo base referencial, para que assim, dentro de um sentido de monitoramento, possa-se entender a real necessidade dentro de um procedimento de análise química verdadeiramente verde e altamente sustentável, até mesmo para eventuais propostas na forma de condução analítica e preservação ambiental.

Os procedimentos para uma extração verde, devem ser amplamente difundidos dentro da real mudança que precisa ser estabelecida na ciência química, bem como no fornecimento de fermentas que venham monitorar alterações e condições ambientais ao longo do tempo. Nesse aspecto, entre variados princípios que regem a mudança a caminho da sustentabilidade, o ajuste dos sistemas laboratoriais e industriais são os quais devem ser observados, amplamente discutidos e empregados, considerando a importância

da proteção das funções harmônicas das quais dependem a qualidade ambiental, e principalmente o homem.

As orientações estabelecidas para o verdadeiro desenvolvimento de uma química verde apresentam eficiência comprovada, mas ainda estão direcionadas em um caminho de subutilidade. A sua difusão é importante, pois além dos aspectos supracitados, existe um sentido muito importante de economia e até mesmo retorno de investimentos para os setores da indústria e economia de material para os laboratórios que optam pela prática.

É nesse sentido que, revisões como a aqui apresentada, se tornem cada vez mais eficientes no processo de recolhimento e assistência das técnicas trabalhadas, para que assim o processo difusivo encontre um caminho na promoção da eficiência dessas técnicas, bem como sensibilização por parte daqueles que atuam dentro desse sistema. Divulgações impressas e eletrônicas irão favorecer a mudança real e necessária dentro do uso processual das técnicas verdes.

7. REFERÊNCIAS

- A. A. Obge, J. F. Finnie and J. V. Staden, *S. Afr. J. Bot.*, 2020, **000**, 1-9.
- A. C. Gallo-Molina, H. I. Castro-Vargas, W. F. Garzón-Méndez, J. A. M. Ramírez, Z. J. R. Monroy, J. W. King and F. Parada-Alfonso, *J. Supercrit Fluids*, 2019, **146**, 208-216.
- A. Ciric, B. Krajnc, D. Heath and N. Ogrinc, *Food and Chemical Toxicology*, 2020, **135**, 110976.
- A. García, E. Rodríguez-Juan, G. Rodríguez-Gutiérrez, J. J. Rios, and J. Fernández-Bolaños, *Food chemistry*, 2016, **197**, 554-561.
- A. Guadie, D. Dakone, D. Unbushe, A. Wang, S. Xia, *J. Herbal Med.*, 2020, **22**, 100338.
- A. Gupta, M. Naraniwal and V. Kothari, *Revista internacional de ciências naturais e aplicadas*, 2012, **1**, 8-26.
- A. J. TUŠEK, M. BENKOVIĆ, D. VALINGER, T. JURINA, A. BELŠČAK-CVITANOVIĆ and J. G. KLJUSURIĆ, *Ind. Crops Prod.*, 2018, **126**, 449-458.
- A. K. Das, R. Chakraborty and M. De La Guardia, *Green Analytical Chemistry*, 2019, 45-74.
- A. M. Barbosa, K. S. Santos, G. R. Borges, A. V. C. S. Munizc , F. M. R. Mendonça, M. S. Pinheiro, E. Franceschi, C. Dariva and F. F. Padilha, *Sep. Purif. Technol.*, 2019, **222**, 390-395.
- A. Mehmood, M. Ishaq, L. Zhao, S. Yaqoob, B. Safdar, M. Nadeem, M. Munir and C. Wang. *Ultrason. Sonochem.* 2019, **51**, 12-19.
- A. Mena-García, A. I. Ruiz-Matute, A. C. Soria and M. L. Sanz, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2019, **119**, 115612,
- A. N. Anthemidis and K. G. Ioannou, *Analytica chimica acta*, 2010, 35-40.
- A. Paiva, R. Craveiro, I. Aroso, M. Martins, R. L. Reis and A. R. C. Duarte, *ACS*

Sustainable Chemistry & Engineering, 2014, **2**, 1063-1071.

A. R. C. de Souza, S. Stefanovc, M. C.M. Bombardelli, M. L. Corazza and R. P. Stateva, *J. Supercrit Fluids*, 2019, **152**, 104573.

A. Shishov, N. Volodina, D. Nechaeva, S. Gagarinova and A. Bulatov, *RSC advances*, 2018, **8**, 38146-38149.

A. Shishov, P. Terno, L. Moskvina and A. Bulatov, *Talanta*, 2020, **206**, 120-209.

A. Shishov, R. Chroma, C. Vakh, J. Kuchar, A. Simon, V. Andruch and A. Bulatov, *Analytica chimica acta*, 2019, **1065**, p. 49-55.

B. G. F. da Silva, A. M. Lucas, A. T. do E. Santo, R. N. Almeida, E. Cassel and R. M. F. Vargas, *Braz. J. Chem. Eng.*, 2019, **36**, 487-496.

B. Kaufmann and P. Christen, *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, 2002, **13**, 105-113.

B. Kudlak, K. Owczarek and J. Namiesnik, *Environmental Science and Pollution Research*, 2015, **22**, 11975-11992.

B. Kulczynski and A. Gramza-Michałowska, *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 2016, **66**, 67-76.

B. R. Albuquerque, M. A. Prieto, M. F. Barreiro, A. Rodrigues, T. P. Curran, L. Barros and I. C. R. F. Ferreira. *Ind. Crop. Prod.* 2017, **95**, 404-415.

B. V. da Silva, J. C. Barreira and M. B. P. Oliveira, *Trends in Food Science & Technology*, 2016, **50**, 144-158.

C. Pronyk and G. Mazza, *Journal of Food Engineering*, 2009, **95**, 215-226.

D. Balli, M. Bellumoi, S. Orlandini, L. Cecchia, E. Mania, G. Pieraccini, N. Mulinacci and M. Innocenti, *Quımica alimentar*, 2020, **303**, 125393.

D. Jadhav, B. N. Rekha, P. R. Gogate and V. K. Rathod, *Journal of food engineering*, 2009, **93**, 421-426.

D. Jaiswal, A. Pandey, A. Mukherjee, M. Agrawal and S. B. Agrawal, *Environ.*

Exp. Bot., 2020, **177**, 104152.

D. Kavoura, K. Kyriakopoulou, G. Papaefstathiou, E. Spanidi, K. Gardikis, V. Louli, N. Aligiannis, M. Krokida, K. Magoulas, *J. Supercrit Fluids*, 2019, **146**, 159-164.

D. T. Santos, P. C. Veggi and M. A. A. Meireles, *Journal of Food Engineering*, 2012, **108**, 444-452.

F. Chemat, M. A. Vian and G. Cravotto, *International journal of molecular sciences*, 2012, **13**, 8615-8627.

F. Chemat, N. Rombaut, A. G. Sicaire, A. Meullemiestre, A. S. Fabiano-Tixier and M. Abert-Vian, *Ultrasonics sonochemistry*, 2017, **34**, 540-560.

G. Alvarez-Rivera, M. Bueno, D. Ballesteros-Vivas, J. A. Mendiola, E. Ibanez, *Handbooks in Separation Science*, 2020, 375-398.

G. C. Moreira, F. S. Dias, *Microchem. J.*, 2018, **141**, 247-252.

G. López-Gámez, P. Elez-Martínez, O. Martín-Belloso and R. Soliva-Fortuny, *Postharvest Biol. Technol.*, 2020, **168**, 111284.

G. Ozulku, R. M. Yildirim, O. S. Toker, S. Karasu and M. Z. Durak, *Food Control*, 2017, **82**, 212-216.

G. S. Rosa, S. K. Vanga, Y. Gariepy, and V. Raghavan. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 2019, **58**, 1-32.

H. N. Pham, Q. V. Vuong, M. C. Bowyer and C. J. Scarlett, *J. Appl. Res. Med. and Aroma.*, 2017, **7**, 113-123.

H. P. Geeta, G. Srinivas and P. S. Champawat, *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci.*, 2020, **9**, 559-566.

J. Deng, Z. Xu, C. Xian, J. Liu, L. Zhau, T. Li, Z. Yang and C. Ding, *Ultrasonics Sonochemistry*, 2017, **37**, 328-334.

J. Hongjun, L. Chaemin, M. L. Ji and K. Sanghee, *Chemical science*, 2015, **6**,

2806-2811.

J. Jegal, E. J. Jeong and M. H. Yang, *Natural Product Communications*, 2019, 1-10.

J. Lin and C. Tang, *Food chemistry*, 2007, **101**, 140-147.

J. Płotka-Wasyłka, M. Rutkowska, K. Owczarek, M. Tobiszewski and J. Namieśnik, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2017, **91**, 12-25.

K. S. Egorova and V. P. Ananikov, *ChemSusChem*, 2014, **7**, 336-360.

K. S. Egorova, E. G. Gordeev and V. P. Ananikov, *Chemical Reviews*, 2017, **117**, 7132-7189.

K. Shanab, C. Neudorfer and H. Spreitzer, *Current Organic Chemistry*, 2016, **20**, 1576-1583.

L. G. Ranilla, Y-I. Kwon, E. Apostolidis and K. Shetty, *BIORESOUR. Technol.*, 2010, **101**, 4676-4689.

L. Nugbienyo, A. Shishov, S. Garmonov, L. Moskvina, V. Andruch and A. Bulatov, *Talanta*, 2017, **168**, 307-312.

L. P. S. Silva and J. Martínez, *Journal of Food Engineering*, 2014, **133**, 30-39.

L. T. M. Phan, K. T. P. Nguyen, H. T. Vuong, D. D. Tran, T. X. P. Nguyen, M.

M. B. Arain, E. Yilmaz and M. Soylak, *Journal of Molecular Liquids*, 2016, 538-543.

M. B. Soquetta, L. M. Terra and C. P. Bastos, *CyTA-Journal of Food*, 2018, **16**, 400-412.

M. Çam, E. Yuksel, H. Alasalvar, B. Basyigit, H. Sem, M. Yilmaztekin, A. Ahmed and O. Sagdiç, *J Food Sci. Technol.*, 2019, **56**, 200-207.

M. Irakli, P. Chatzopoulou and L. Ekateriniadou, *Ind. Crop. Prod.*, 2018, **124**, 382-388.

- M. K. Abduljabar, K. F. Kasim, A. H. Ma'Radzi, N. S. S. Seng, *Journal of Physics: Conference Series*, 2019, **1424**, 012001.
- M. M. Meregalli, B. M. S. Puton, F. D. M. Camera, A. Amaral, R. L. G. Zenni, M. L. Mignono and G. T. Backes. *Arab. J. Chem.* 2020, **13**, 5800-5809.
- M. Mahajan, R. Kuirya and P. K. Pal, *J. Appl. Res. Med. Aroma.*, 2020, **18**, 100255.
- M. Matsumoto, Y. Saito, C. Park, T. Fukushima and T. Aida, *Nature chemistry*, 2015, **7**, 730-736.
- M. N. Safdar, T. Kausar, S. Jabbar, A. Mumtaz, K. Ahad and A. A. Saddozai. *J. Food Drug Anal.* 2017, **25**, 488-500.
- M. Oroian and I. Escriche, *Food Research International*, 2015, **74**, 10-36,
- M. P. Garcia-Mendoza, J. T. Paula, L. C. Paviani, F. A. Cabral and H. A. Martinez-Correa, *LWT-Food Science and Technology*, 2015, **62**, 131-137.
- M. Sajid, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2019.
- M. Vinatoru, T. J. Mason and I. Calinescu, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2017, **97**, 159-178.
- N. F.S. Morsy, *Ind. Crops Prod.*, 2020, **145**, 112072.
- N. Hoang , T. P. Mai and H. H. Nguyen, *J. Chem.*, 2020, 9548401.
- N. Ibrahim and A. Kebede, *Saudi J. Biol. Sci.*, 2020, **27**, 2261-2268.
- N. Lorenzo-Parodi, W. Kaziur, N. Stojanović, M. A. Jochmann and T. C. Schmidt, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2019, **113**, 321-331.
- N. Manousi, I. Sarakatsianos and V. Samanidou, *Engineering Tools in the Beverage Industry.*, 2019, **3**, 283-314.
- N. N. M. Phuong, T. T. Le, M. Q. Dang, J. V. Camp and K. Raes, *Food Bioprod. Process.*, 2020, **122**, 222-229.

- N. Nagavekar and R. S. Singhal, *Ind. Crops Prod.*, 2019, **134**, 134-145.
- N. Nastića, J. Švarc-gajić, C. Delerue-Matos, M. F. Barroso, C. Soares, M. M. Moreira, S. Morais, P. Mašković, V. G. Srček, I. Slivac, K. Radošević and M. Radojković, *Ind. Crops Prod.*, 2018, **111**, 579-589.
- O. Sytar, I. Hemmerich, M. Zivcak, C. Rauh and M. Brestic, *Saudi J. Biol. Sci.*, 2018, **25**, 631-641.
- P. L. G. Martins, A. R. Braga and V. V. de Rosso, *Trends in Food Science & Technology*, 2017, **66**, 117-124.
- P. Sricharoen, N. Limchoowong, S. Techawongstien and S. Chanthai, *Food chemistry*, 2016, **203**, 386-393.
- Q. Zhang, K. D. O. Vigier, S. Royer and F. Jérôme, *Chemical Society Reviews*, 2012, **41**, 7108-7146.
- R. Gallego, M. Bueno and M. Herrero, *Trends Analyt. Chem.*, 2019, **116**, 198-213.
- R. L. Lankey and P. T. Anastas, *Industrial & engineering chemistry research*, 2002, **41**, 4498-4502.
- R. P. F. F. da Silva, T. A. P. Rocha-Santos and A. C. Duarte, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2016, **76**, 40-51.
- R. Zaid, F. Mouhouche, R. Canela-Garayoa and N. M. O. Chacón, *Arch. Phytopathol. Pflanzenschutz*, 2020.
- R-E. Ghitescu, I. Volf, C. Carausu, A-M. Bühlmann, L. A. Gilca and V. I. Popa, *Ultrason. Sonochem.* 2015, **22**, 535-541.
- S. Hemwimon, P. Pavasant and A. Shotipruk, *Separation and Purification Technology*, 2007, **54**, 44-50.
- S. I. Abu-Eishah, *Ionic Liquids-Classes and Properties*, 2011, 239-272.
- S. Khandelwal, Y. K. Tailor and M. Kumar, *Journal of Molecular Liquids*, 2016,

215, 345-386.

S. Mohotti, S. Rajendran, T. Muhammad, A. A. Strömstedt, A. Adhikari, R. Burman, E. D. Silva, U. Göransson, C. M. Hettiarachchi and S. Gunaseker, *J. Ethnopharmacol.*, 2020, **246**, 112158.

S. Rochfort, A. Isbel, V. Ezernieks, A. Elkins, D. Vincent, M. A. Deseo and G. C. Spangenberg, *Nature*, 2020, **19**, 9124.

S. Takshak and S. B. Agrawal, *J. Photochem. Photobiol. B, Biol.*, 2019, **193**, 51-88.

T. Belwal, S. M. Ezzat, L. Rastrelli, I. D. Bhatt, M. Daglia, A. Baldi,... and C. Anandharamakrishnan, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2018, **100**, 82-102.

T. Mishra, *Int. J. Herbal Med.*, 2016, **4**, 27-30.

U., Domańska, A. Wiśniewska, Z. Dąbrowski and M. Więckowski, *Journal of Applied Solution Chemistry and Modeling*, 2018, **7**, 21-38.

V. Kothari, A. Shah, S. Gupta, A. Punjabi and A. Ranka, *International Journal of Biosciences and Technology*, 2010, **3**, 1-20.

V. Pavić, M. Jakovljević, M. Molnar and S. Jokić, *Plants*, 2019, **8**, 1-14.

V. U. Mane, S. M. Chavan, B. R. Choudhari and D. V. Mane, *J Pharm Chem Biol Sci*, 2019, **6**, 311-319,

W. Wang, J. Xu, H. Fang, Z. Li and M. Li, *Plant Sci.*, 2020, **298**, 1-44.

X. Liang, N. J. Nielsen and Jan H. Christensen, *Anal. Chim. Acta*, 2020, **4**, 100040.

Y. Dai, J. Van Spronsen, G. J. Witkamp, R. Verpoorte and Y. H. Choi, *Analytica chimica acta*, 2013, **766**, 61-68.

Y. Gu, *Green Chemistry*, 2012, **14**, 2091-2128.

Y. Li, D. Kong, Y. Fu, M. R. Sussman and H. Wu, *Plant Physiol. Biochem.*, 2020, **148**, 80-89.

Y. Pouliot, V. Conway and P. Leclerc, *Food processing: principles and applications*, 2014, 33-60.

Z. Han, M. Ahsan, M. F. Adil, X. Chen, M. M. Nazir, I. H. Shamsi, F. Zeng and G. Zhang, *Food Chem.*, 2020, **323**, 126862.

Z. Li, K. H. Smith and G. W. Stevens, *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 2016, **24**, 215-220.

CAPÍTULO 2**ESTUDO DE CLASSIFICAÇÃO DE GRÃOS DE CAFÉ TORRADO E MOÍDO
UTILIZANDO COLORIMETRIA, BASEADO EM IMAGEM DIGITAL**

²Artigo a ser submetido para publicação em periódico científico.

ESTUDO DE CLASSIFICAÇÃO DE GRÃOS DE CAFÉ TORRADO E MOÍDO UTILIZANDO COLORIMETRIA, BASEADO EM IMAGEM DIGITAL

Rodrigo França da Silva¹

Orientador: Fábio de Souza Dias²

¹Doutorando em Ciências Agrárias, pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Campus Universitário de Cruz das Almas, 44380-000. Cruz das Almas, Bahia, Brasil. E-mail: rodrigofrancadasilva@gmail.com

²Professor Doutor, Universidade Federal da Bahia (UFBA), Instituto de Ciências Tecnologia e Inovação, Campus Universitário de Camaçari, 42809-000, Camaçari, Bahia, Brasil. E-mail: fsdias@ufba.br

Resumo

Têm-se acompanhado no mundo hoje, uma tendência, uma virada de consumo, frente a qualidade dos cafés. Ao se observar os últimos 20, 30 anos não se falava de alguns tipos de classificações que podemos visualizar no cenário atual. Essa virada de chave, se deve muito ao avanço das informações e tecnologias disponíveis, que estão dispostos a atender um público cada vez mais exigente e curioso. E nessa realidade, o Brasil tem se apresentado como grande expoente desse mercado, principalmente na produção de cafés especiais. Tudo isso graças as inovações tecnológicas e o desenvolvimento de novas pesquisas na otimização dos processos. Para a classificação dos cafés são utilizados vários métodos que padronizam sua qualidade, porém poucos trabalhos apontam para essa relação após o processo de moagem. Nesse contexto, este trabalho objetiva o uso de um sistema analítico alternativo, baseado em histograma de cores, para fornecimento de resposta rápida e confiável para o controle e observação de qualidade do café após moagem. Para isso, as assinaturas de impressão digital usando histogramas RGB em tons de cinza e HSI (matiz-saturação-intensidade) serão explorados como informações analíticas.

Palavras-chave: Impressão digital, colorimetria, classificação, Café

CLASSIFICATION STUDY OF ROASTED AND GROUND COFFEE BEANS USING COLORIMETRY, BASED ON DIGITAL IMAGE

Rodrigo França da Silva¹

Orientador: Fábio de Souza Dias²

¹Doutorando em Ciências Agrárias, pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Campus Universitário de Cruz das Almas, 44380-000. Cruz das Almas, Bahia, Brasil. E-mail: rodrigofrancadasilva@gmail.com

²Professor Doutor, Universidade Federal da Bahia (UFBA), Instituto de Ciências Tecnologia e Inovação, Campus Universitário de Camaçari, 42809-000, Camaçari, Bahia, Brasil. E-mail: fsdias@ufba.br

Abstract

There has been a trend in the world today, a shift in consumption, in view of the quality of coffees. When looking at the last 20, 30 years, there was no mention of some types of classifications that we can see in the current scenario. This change of public knowledge must be very important and the technologies available, which are more important to meet since increasingly demanding and curious. And in this reality, Brazil has presented itself as a great exponent of this market, especially in the production of specialty coffees. All this thanks to technological innovations and the development of new research in the optimization of processes. For the classification of coffees, several methods are used that standardize their quality, but few studies point to this relationship after the grinding process. In this context, this work aims to use an alternative analytical system, based on a color histogram, to provide a quick and reliable response for the control and observation of coffee quality after grinding. For this, fingerprint signatures using grayscale RGB and HSI (hue-saturation-intensity) histograms will be explored as analytical information.

Key Words: Fingerprint, colorimetry, classification, Coffee.

1. INTRODUÇÃO

Para cobrir uma nova demanda de cafés especiais, a cadeia de valor do café mundial tem apresentado muitas alterações com as novas disposições de comportamento dos consumidores e com o manejo na produção. Essas alterações no processo de produção apresentam como principal objetivo, a busca por um café de melhor qualidade e compõem assim um conjunto moderno, no direcionamento de nova proposta de mercado (BOAVENTURA et al., 2018).

Via de regra, o café brasileiro consumido no mercado interno sempre esteve associado ao café de menor qualidade. Isso se deve ao desconhecimento dos consumidores brasileiros sobre a qualidade do café, o que está intrinsecamente ligado à reputação que historicamente o café brasileiro conquistou. Nesta situação, toda a produção de café de alta qualidade do país tem sido historicamente exportada, deixando o café de qualidade inferior para o consumo interno. (ALVES et al., 2019).

Atualmente existe uma incerteza climática significativa na esfera da produção, mesmo em regiões com climas bem definidos, e a secagem artificial surgiu como uma alternativa viável para a produção de café de alta qualidade. Em estudo realizado por Ribeiro et al. (2017), descobriu-se que a enzima catalase tem maior atividade em secagens rápidas em grãos com teores de umidade de 10%. O equipamento de corte artificial provou ser extremamente útil na otimização de todos os processos logísticos para a produção de cafés especiais. Segundo Abreu et al. (2015), a melhor qualidade física das sementes de café pode ser atribuída à alta atividade da enzima catalase.

Ao discutir qualidade e marketing, a cor dos grãos é um fator chave, pois determina se um comprador comprará ou não um determinado lote. A cor também pode ser usada para detectar diversas falhas no manuseio, processamento e armazenamento de grãos. Uma técnica calorimétrica comum para análise de cor é a fotometria; neste caso, uma câmera digital funciona como um olho humano, e esse mecanismo depende principalmente da reflexão na lente da câmera com influência crucial da luz dos objetos na cena (OLIVEIRA et al., 2010).

Segundo Oliveira (2015) O sistema de visão computacional provou ser bastante eficaz na distinção entre cores porque combina os pontos fortes da

instrumentação óptica, câmeras digitais e tecnologia de processamento de imagens. Um dos métodos mais eficazes para identificar a cor é o uso de um sistema computacional para realizar a avaliação com alta resolução, rapidez, objetividade, alcance e eficiência.

A preocupação em desenvolver métodos de análises rápidas, portáteis, com baixo consumo de reagentes e solventes e que atendam aos princípios da química verde, vem impulsionando diversos grupos de pesquisa ao redor do mundo. Neste sentido, os laboratórios de química analítica vêm desempenhando um papel crucial, no desenvolvimento de tais métodos que sejam ambientalmente amigáveis, preservando assim, o meio ambiente e a saúde do operador (EID et al., 2020).

Neste contexto, as técnicas miniaturizadas surgem como alternativas ecológicas frente as técnicas clássicas de análise, uma vez que possibilitam desenvolver dispositivos em tamanhos reduzidos, permitem a obtenção de resultados equivalentes aos equipamentos clássicos, além de oferecerem portabilidade das análises, baixo custo e baixa geração de resíduos químicos, e fácil operação e manuseio (HOLKEM et al., 2021).

Recentemente, os pesquisadores começaram a prestar mais atenção aos avanços em novas técnicas de coleta e processamento de imagens digitais devido à evidência de que essas técnicas apresentam potencial para se tornarem mais eficazes do que equipamentos colorimétricos convencionais. A captura e o processamento de imagens digitais podem ser feitos em análises onde há mudança de cor devido a uma reação, tornando a análise mais rápida, menos onerosa e sem a necessidade de equipamentos potentes como espectrofotômetros e medidores de cor (DE JESUS et al., 2021).

Como forma de garantir uma representação precisa das cores, o International Color Consortium (ICC), definiu um padrão de cor independentemente do dispositivo usado, onde os valores de R, G, B poderiam variar no intervalo de 0 a 255 (formato de 8 bits) ou 0 a 1 (formato fracionário), podendo serem usados como intensidade do canal. Nessa representação, se escolhermos, por exemplo, uma imagem e a decomposmos no sistema RGB, veríamos que ela seria representada em tons claros e escuros, de acordo com a intensidade de cada canal selecionado. Esta variação ocorre pelos tons atribuídos a cada pixel e o resultado, pode ser um cinza neutro, branco puro ou

preto puro, conforme a seleção do canal (YUSUFU & MILLS, 2018).

As cores dos canais RGB, podem ser combinadas de forma a obter as demais cores, como por exemplo, a cor preta pode ser representada por $[R = 0, G = 0, B = 0]$, o branco $[R = 255, G = 255, B = 255]$ e o violeta por $[R = 238, G = 130, B = 238]$. As intensidades de cores são então usadas para estabelecer a concentração do analito após a captura das imagens, tendo como fenômeno, a reflectância difusa (PESSOA et al., 2017).

Variados estudos que utilizaram análise colorimétrica com imagens digitais podem ser encontrados na literatura. Materiais relacionados com alimentos podem ser observados entre os muitos outros materiais que foram usados (CALEB et al., 2021; JING et al., 2021), bebidas (FERNANDES et al., 2020; PORTO et al., 2019), revestimentos industriais (ALBIZU et al., 2020), suplementos e fármacos (BALLESTEROS et al., 2021; JAIN et al., 2021), entre outras.

Diante de toda a realidade apresentada, buscou-se trabalhar com um *software* de fácil adoção, manuseio e instalação no uso de um sistema analítico alternativo, baseado em histograma de cores, para fornecimento de resposta rápida e confiável no controle e observação de qualidade do café após moagem, utilizando colorimetria.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Organização da Cafeicultura no Brasil

Maior produtor e exportador mundial de café, além de segundo maior consumidor do produto, o Brasil ocupa o quinto lugar entre as principais indústrias exportadoras do mundo. De acordo com a Balança Comercial do Agronegócio, em dezembro de 2016, o produto representou 9,8% das exportações brasileiras, com valor total de US\$ 600,74 milhões (MAPA, 2017).

Entre as diversas espécies de café existentes, as duas mundialmente comercializadas e consumidas, que são a *Coffea arabica* (café arábica) e a *Coffea canephora* (café robusta ou conilon). O Brasil produz e comercializa as duas espécies, no entanto, o café arábica apresenta maior valor agroeconômico, tendo maior predominância na exportação, comercialização interna e no cultivo, ocupando cerca de 80% da área total plantada (OLIVEIRA & CONCEIÇÃO Jr.,

2013).

O *Coffea arabica* é a primeira das espécies cafeeiras a ser cultivada e vem sendo cultivado há mais tempo, pois trata-se de uma planta de fácil reprodução, visto que é autógama, com reprodução autofecundada, tendo 90% das suas flores fertilizadas por seus próprios pólenes e óvulos (SAKIYAMA et al., 1999). As sucessivas autofecundações não prejudicam o vigor e a produtividade do cafeeiro, pois são utilizadas sementes na propagação e formação de cafeeiros dessa espécie (FERRAZ, 2014).

O cultivo do café arábica se concentra mais nos Estados de Minas Gerais, Espírito Santo, São Paulo, Bahia e Paraná, totalizando 80% da área total das lavouras cafeeiras, sendo que o Estado de Minas Gerais concentra a maior área com a espécie, 1,031 milhão de hectares, o que corresponde a 68% da produção da arábica (CONAB, 2020).

A primeira variedade *C. arabica* cultivada no Brasil recebeu o nome de Típica, Arábica, Nacional ou Crioulo, e por mais de um século os cafezais brasileiros se expandiram a partir das progênies dessa variedade havendo assim pequena variabilidade genética. Em 1852 é introduzida no país, vinda da ilha Bourbon a cultivar Bourbon vermelho, atendendo as expectativas e superando em produtividade as primeiras cultivares, tornando-se importante para a cafeicultura brasileira. Alguns anos depois, em 1870 e 1871, foram selecionadas 9 simultaneamente as cultivares Maragogipe que se destacava pela produção de grãos maiores e a Amarelo de Botucatu, que produzia grãos amarelos, mas ambas foram abandonadas, pois produziam em quantidade menor que a cultivar Nacional da qual se originaram (CHAGAS, 2008).

Em 1896, com sementes vindo da ilha de Sumatra, a cultivar Sumatra não teve a mesma expressão da Bourbon Vermelho. Em 1930, um híbrido natural entre Bourbon Vermelho e Amarelo de Botucatu deu origem a cultivar Bourbon Amarelo. Isso porque suas plantas diferem muito da variedade original e a produção é superior, além de apresentar maior precocidade de maturação dos frutos, permitindo que a colheita seja realizada em época bem anterior a das demais variedades (SOUZA et al., 2015).

Em geral, nota-se dificuldade em separar a variedade Bourbon da Typica, sendo a diferenciação feita com base em vários caracteres. As ramificações secundárias dos ramos plagiotrópicos são bem mais densas na Bourbon. Os

internódios são mais curtos, os brotos novos são geralmente verdes, o ângulo entre o limbo foliar e a nervura central é maior, ondulado nos bordos e os frutos são menores. As sementes são mais curtas e mais arredondadas que as da *Typica*. A arquitetura da planta também exibe diferenças, sendo mais cilíndrica. O produto é de excelente qualidade de bebida (MENDES & SOUZA, 2002).

2.2. Qualidade e classificação do Café

Os critérios comumente usados para avaliar a qualidade dos grãos de café incluem o tamanho dos grãos, cor, forma, potencial de torração, métodos de processamento, ano da colheita, qualidade de xícara e presença de defeitos (FRANCA et al., 2005).

A qualidade é o fator fundamental para valorização do café e está associada principalmente a condução adequada dos procedimentos após a colheita, à espécie, aos diferentes graus de torração e a composição dos diversos constituintes químicos do grão (MORAIS et al., 2009).

De acordo com Franca et al. (2005), entre todos os critérios utilizados para avaliar a qualidade do grão de café, destacam-se entre os dois mais importantes e são empregados no café comercializado em todo o mundo, a qualidade de xícara e a presença de defeitos.

O termo defeito é usado na prática comercial para presença de defeitos dos grãos como preto, verde, ardido e brocado e também de matérias estranhas como paus e pedras em uma determinada amostra de café. Na classificação por tipos levam-se em conta aspectos físicos do grão de café verde, baseando-se na contagem de defeitos e impurezas de uma amostra de 300g (BRASIL, 2003).

2.3. Distribuição e origem dos “defeitos” no Café

Segundo Franca et al. (2005), a presença de defeitos é muito importante no estabelecimento da qualidade do café, pois estão relacionados com problemas específicos durante a colheita e operações do processamento. Os grãos pretos resultam de grãos fisiologicamente inativos dentro do café cereja, ou de grãos que caem naturalmente no chão pela ação de chuva ou excesso de maturação. A presença de grãos ardidos pode ser associada principalmente com

fermentação excessiva e secagem imprópria. Os grãos verdes são provenientes de frutos verdes. Os grãos pretos-verdes são aqueles oriundos de frutos verdes fermentados ou submetidos à secagem incorreta.

Sumariamente, são considerados grãos imperfeitos aqueles que são: grãos pretos, ardidos, verdes, chochos, mal granados, quebrados e brocados. Esses defeitos são classificados como defeitos intrínsecos, ou seja, do próprio café. Defeitos extrínsecos são aqueles que são encontrados juntos com os grãos de café, mas que não pertencem a eles, como por exemplo: cascas, paus, pedras, cafés em coco ou marinheiros, encontrados na amostra (ALVES, 2012).



Figura 1. Separação de defeitos em grãos de Café Especial – Universidade Federal de São Carlos (UFSCar).

Defeitos típicos como preto, ardido e verde, são conhecidos por afetar a qualidade da bebida. Os grãos pretos são geralmente associados com um sabor ruim e grão ardidos contribuem para um sabor mais ardido. Em estudo sobre o efeito da inclusão de grãos defeituosos na composição química e qualidade do café, Pereira (1997) constatou que a inclusão desses grãos, influencia a qualidade da bebida e altera as características sensoriais após a torração.

Uma outra forma de classificação muito comum, é a do tipo peneira, a separação do café por peneira é bastante importante para garantir uma torração uniforme, pois, numa torração de grãos de diversos tamanhos, conhecido como “bica corrida”, os grãos menores torram mais rapidamente, havendo risco de carbonização e percepção de cor, sabor e aroma de queimado, até mesmo após

moagem do produto, sendo as duas últimas características, percebidas na bebida (SANTOS, 2008).



Figura 2. Imagens de classificação de grãos de café, realizando por peneiramento – Universidade Federal de São Carlos (UFSCar).

2.4. Aplicações Quimiométricas e Imagens Digitais

Segundo Dos Reis et al. (2022), a quimiometria não é uma disciplina da matemática, da estatística ou da computação, mas sim da química. Os problemas que ela se propõe a solucionar são de interesse e originados na química, ainda que as ferramentas de trabalho provenham principalmente da matemática, estatística e computação. Informações químicas tais como, voltamogramas, espectros, cromatogramas, curvas de titulação e outras fontes podem ser digitalizadas e agrupadas em vetores e matrizes.

Métodos quimiométricos são largamente empregados em química de alimentos, não apenas na forma de modelos de calibração, mas também para a realização de análises exploratórias e construção de modelos de classificação (PEDRO, 2004).

Outra abordagem da quimiometria é baseada na análise multivariada de imagens a partir uma imagem digital de uma dada cena, pela extração dos elementos de figura, chamado pixels, onde cada pixel é caracterizado por uma série de variáveis espectrais, ou também chamados canais (GELADI et al., 1992).

Na química, a mudança da cor é um importante indicador tanto para a ocorrência de reações químicas quanto para a determinação das concentrações de analitos. Para este último, aplica-se a técnica de colorimetria (medida da cor), que usa a absorção molecular de espécies coloridas a partir da incidência de radiação eletromagnética monocromática (SKOOG et al., 2006).

É notório que no fenômeno vinculado à absorção, encontra-se também o viés da reflexão, pois de maneira significativa, ambas são complementares. Diante disso, a radiação refletida também propaga informações a respeito da concentração do analito colorido na amostra em estudo (CRUZ-FERNÁNDEZ et al., 2017).

No contexto de registrar as cores refletidas da formação de reações químicas como métodos de análises, a imagem de uma câmera digital é a maneira mais acessível e popular. Elas estão acopladas aos dispositivos móveis e são, na verdade, poderosos sensores de captura de luz muito similares aos implementados nos próprios detectores dos novos aparelhos espectrofotométricos com CCD (do inglês, *Charge Coupled Device*) (DINIZ et al., 2012).

Com o avanço da tecnologia, as câmeras digitais estão melhorando consideravelmente a quantidade de informação coletada de uma cena real. Essa quantidade de informação é expressa em relação a densidade dos pixels, que de certa forma é um parâmetro que faz a relação entre o tamanho e a resolução da tela do dispositivo e assim a comparação entre as câmeras digitais. Se uma imagem tiver a sua resolução de 12 megapixels, ela terá 12 milhões de pequenas unidades chamadas de pixel (KUBOTA et al., 2015).

Um estudo de Sang et al., (2016) nos mostra uma nova representação quântica de imagens digitais, por qual perpassa pelas matrizes numéricas junto a uma disposição dos três modos (posição vertical, posição horizontal e valores de RGB - sendo um valor para cada posição na matriz espacial). A combinação dessas três componentes de cor permite o domínio de 16 milhões de possibilidades de cores (GOMES et al., 2008)

O RGB é o sistema de imagens coloridas mais comum. Nele, cada pixel é definido a partir de valores de intensidade de vermelho (Red), verde (Green) e azul (Blue) na região visível do espectro magnético. Essas três cores quando combinadas, compõem outras tonalidades de cores (ANTONELLI et al., 2004).

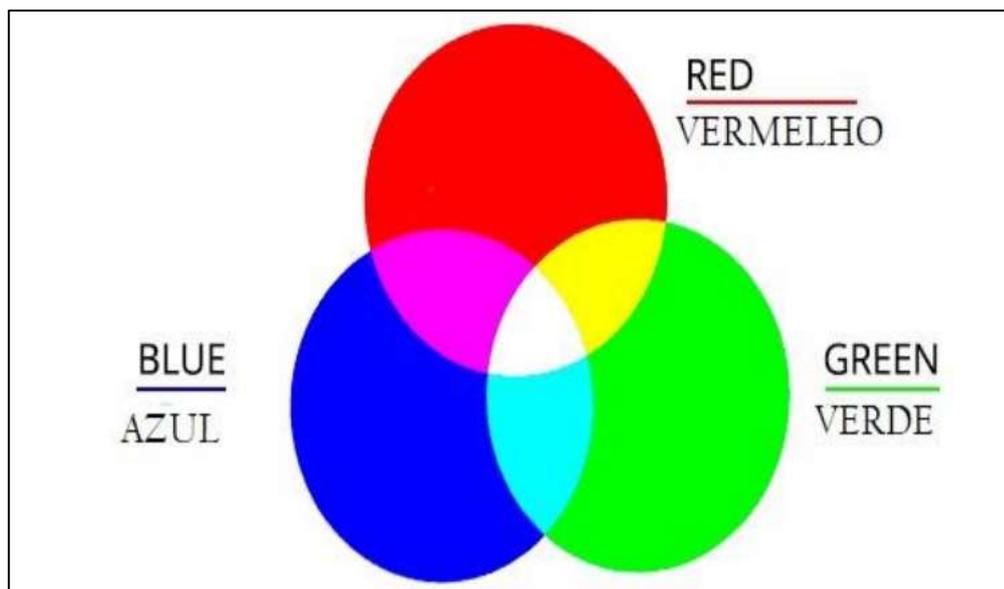


Figura 3. Espaço de cor RGB.

Fonte: Queiroz (2018)

A relação do canal azul cria a situação ideal onde a cor do grupo cromóforo coincide com um dos três canais R, G ou B. Outro modelo que pode ser utilizado nas análises de imagem digital é o modelo HSI. Este modelo fornece informações de como percebemos as cores. A matriz é definida como o comprimento de onda dominante do objeto, ou seja, a cor percebida pelo observador. A saturação expressa a pureza da cor em relação a quantidade de luz branca. A intensidade é definida como a luminosidade ou escurecimento relativo da cor, onde no brilho mínimo temos a cor preta e brilho máximo a cor branca. Isso torna possível a análise univariada com estimativa da concentração do ácido ascórbico tendo como sinal analítico a intensidade média das regiões de interesse ROI (do inglês, *Region of Interest*) do canal azul. Por outro lado, algumas espécies podem assumir colorações que demandam das informações de intensidade de mais de um canal e, para isso, o uso da análise multivariada é mais apropriada por considerar todas as intensidades dos pixels lidos e todos os três canais (HUGELIER et al., 2020).

O uso do smartphone como ferramenta de detecção para reações colorimétricas é uma alternativa promissora, pois permite a redução do volume da amostra e redução do consumo de reagentes químicos, como solventes. O advento da impressão 3D, permitiu aprimorar a utilização do smartphone como detector, garantindo a precisão e a qualidade na aquisição das imagens,

evitando radiação espúria, distorção da imagem e perda de foco.

Além disso, a impressão de spot-tests poliméricos são uma alternativa eficaz na baixa produção de resíduos químicos, baixo consumo de solventes e diminuição no custo final das análises. Métricas importantes na avaliação de procedimentos verdadeiramente amigáveis ecologicamente, na busca por um desenvolvimento cada vez mais verde, dentro da química analítica.

Diversos trabalhos estão mostrando cada vez mais a eficiência desses métodos. Como é o caso do trabalho elaborado por Da Silva et al. (2018), em que os autores desenvolveram uma plataforma em papel, com capacidade de 11 μL , para análise de fenacetina usada como adulterante incorporado a drogas ilícitas, como a cocaína. A determinação foi feita usando um smartphone como dispositivo de captura das imagens obtidas por reação colorimétrica.

Dos Santos et al. (2019), desenvolveram uma reação colorimétrica para determinação de ácido ascórbico presente em amostras de frutas brasileiras da Amazônia com o uso de um spot-test de porcelana de 600 μL e um smartphone.

Pessoa et al. (2017), utilizaram uma câmera digital para a captação das imagens colorimétricas geradas pela reação entre aguardente de cana-de-açúcar e um agente quelante e cromóforo para a determinação de cobre em amostras de aguardente.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Amostra, Tratamento da Amostra e Equipamentos

Os grãos para desenvolvimento do trabalho, foram obtidos por intermédio do Sítio Semente, que produzem o premiado café de torra especial “Benício Cafés Especiais”, localizado na região do Caparaó-MG/ES. Após recebidos os grãos, eles foram submetidos à preparos e processos de seleção necessários e subdivididos em tratamentos, no Laboratório de Análise Sensorial, da Universidade Federal de São Carlos (LAS - UFSCar). Todos os grãos utilizados no trabalho foram de Café de Especial espécie Arábica, esse em específico variedade Bourbon Amarelo; Tipo: Café especial, bebeu 87 pontos; Torra: Média. Para este trabalho foram separados os defeitos do grão ao ponto de distribuir os tratamentos em grãos considerados T1: 100% puros (0% de defeitos); T2: 15%

de defeitos; T3: 30% de defeitos e T4: 50% de defeitos, como podem ser visualizados na Tabela 1. Todos eles pesados em 300g.

Tratamentos com Café Especial	Distribuição dos Defeitos (%)	Cores (PCA/HCA)
Tratamento 1: T1	0	Pontos Verdes
Tratamento 2: T2	15	Pontos Roxos
Tratamento 3: T3	30	Pontos Azuis
Tratamento 4: T4	50	Pontos Vermelhos

Tabela 1. Amostras em 300g, com suas respectivas distribuições de Defeitos

3.2. Processo de Torrefação

O processo de torrefação é o principal responsável pela transformação do grão verde em grão torrado para a confecção da bebida (ABIC, 2010).

Primeiramente o café verde foi colocado no elevador de grãos, fazendo o transporte da matéria-prima até o torrador. No torrador, os grãos passaram por um tratamento térmico a uma temperatura de 200 °C, em um tempo de torra de aproximadamente 25 minutos, para que fossem adquiridas as características desejadas. Os voláteis provenientes da torra do café são liberados pelo sistema de exaustão do resfriador (BRASIL, 2009).

O café após torrado, passou por um sistema de resfriamento, utilizando ar por 5 minutos (trata-se de um processo rápido e sucessivo que visa condensar no interior do grão algumas características importantes, como cor, aroma e sabor característicos). Depois dos grãos torrados e resfriados foram depositados por um sistema elevador pneumático no silo para grãos torrados com capacidade acima de 1 tonelada (BRASIL, 2009).

Por um determinado período, os grãos chegaram a ficar em repouso, para que pudesse um equilíbrio da umidade interna do grão, sendo que após a torrefação, os grãos acabam ficando mais leves devido à perda de umidade. Após isso os grãos secos foram enviados para moinho apropriado, onde foi realizado o processo de moagem.

É importante ressaltar que para cada tipo de café existe um grau específico de torra, que se diferenciam entre si, de acordo com certas

características encontradas (variedade e preparo). Esse grau de torra podem ser caracterizados como torra clara, média ou escura. Para esse trabalho foi direcionada a torra média, que tem como principal característica o seu aroma e sabor mais acentuados, e sua cor característica de certa forma mais intermediária (ABIC, 2010).

3.3. Moagem dos Grãos

A moagem foi realizada com auxílio de rolo mecânico, que quebra os grãos, até chegar a granulometria ideal do produto, que é considerada a moagem média, e que apresenta como referência granulométrica o “açúcar cristal”. Optou-se por esse tipo moagem, por ser considerado o mais popular, uma vez que, a moagem média geralmente é utilizada para uma preparação de café por métodos convencionais de filtragem (coador de pano, Chemex, papel), além de também ser muito utilizado em Cafeteira Italiana, Pressca e Aeropress. Após esse processo, o café descansou por 3 horas, para que pudesse ser liberado gás carbônico. Para esse trabalho, foi escolhido o grau de moagem mais fino, que se trata do grau de moagem mais indicado em filtração (filtros de papel, coador de pano) (ABIC, 2010).

3.4. Captura das imagens

Após preparo das amostras, foram realizadas as capturas das imagens, com um ambiente de iluminação constante, com uma distância fixa e sem a presença de fatores (como grande circulação de pessoas ou fontes de luz paralelas), que pudessem interferir no melhor acesso e registro com qualidade. Para isso, foi utilizada caixa de papelão em medidas de 29,3 cm x 18,3 cm x 10,0 cm. A caixa teve seu interior preenchido com papel branco, e para padronizar a iluminação foi utilizada lanterna de LED com luz branca, coloca em uma parte fixa da caixa. Na parte superior da caixa, foi feita uma abertura para tamanho ideal da câmera, para que assim pudessem ser realizadas as fotografias. Conforme apresentado na Figura 5.



Figura 4. Detalhes da “câmara” desenvolvida para captura das imagens. I. – Preenchimento do interior em branco; II. – Revestimento finalizado; III. – LED utilizado para iluminação no interior da caixa; IV. – Local de inserção do LED para iluminação completa do interior da caixa; V. – Espaço fixado para inserção do celular (equipamento de captura das imagens; VI. – Visualização de fora da caixa.

O principal objetivo dessa espécie de “câmara”, foi o de fazer com que todas as fotos estivessem padronizadas, com mesma iluminação, mesma distância focal e retiradas de um mesmo aparelho celular (mantendo a mesma configuração das imagens), de forma a ter as imagens obtidas de maneira reprodutível, além de manter um sinal mais ajustável, intenso e preciso

As imagens foram capturadas de celular SM-A325M/DS, e recortadas através de validação das ferramentas implementadas pelo *software* ChemoStat.exe versão V2 (build 2609.67f4721) com enquadro nas dimensões 1000 x 800 *pixels*. Conforme Figura 6.

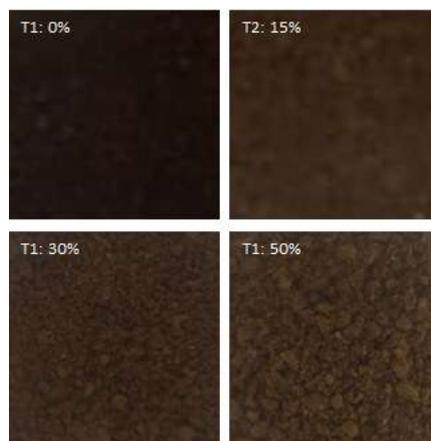


Figura 5. Imagens capturadas das amostras de café, utilizadas no experimento.

3.5. Análise Estatística

Para que diferenças no processo classificatório existente em café especial com diferentes quantidades de defeitos atribuídas, foram utilizadas técnicas estatísticas multivariadas, realizadas no ChemoStat.exe. Utilizou-se também a Análise dos Componentes Principais (ACP), que tem o objetivo de reduzir um grande número de conjuntos de variáveis para um conjunto mais significativo, que são representadas pelos fatores ou pelas principais componentes.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Histograma das amostras

De acordo com Baldner (2017), um histograma é uma representação gráfica das cores que estão distribuídas em uma imagem. Nesse gráfico resultante é possível verificar quais são as cores mais presentes na imagem. Assim o histograma vai representar um gráfico que mostra a relação de intensidade e quantidade de pixels presentes, ou seja, histograma em uma imagem digital pode medir para cada tom de cor, quantos pixels ocorrem naquele tom. Na imagem, sendo a intensidade variando de 0 a 255.

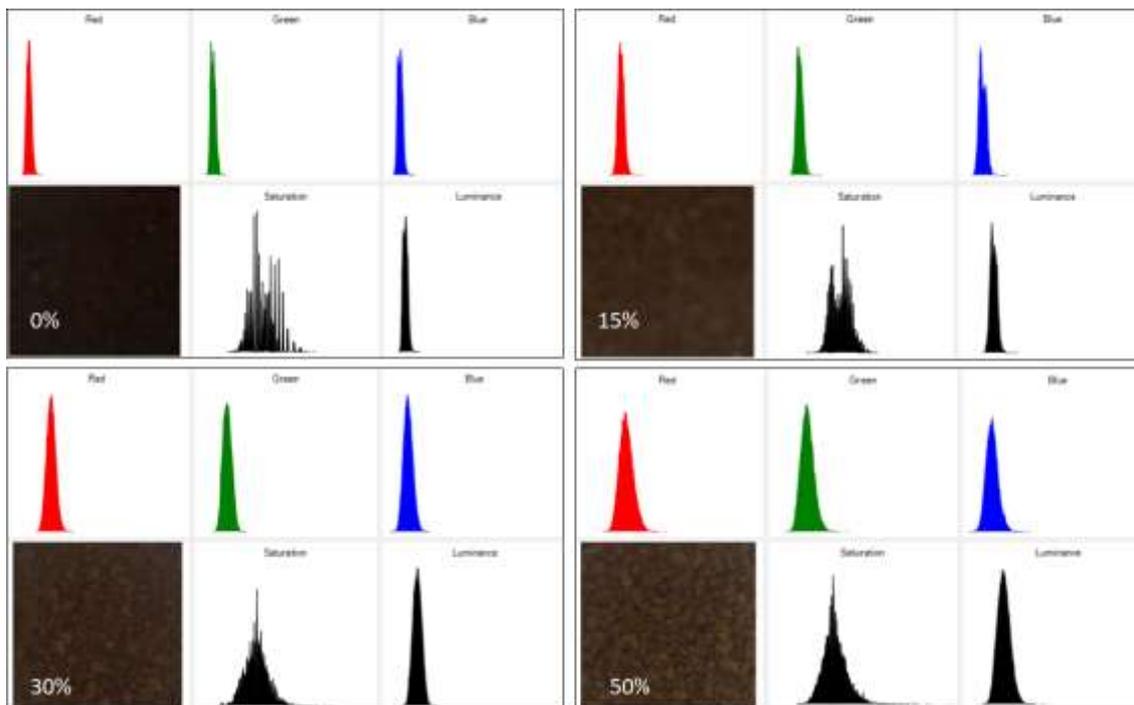


Figura 6. Janelas com gráficos de Histograma e imagens de amostras de café torrado e moído com diferentes porcentagens de defeitos, S1800 escaneada.

Os histogramas gerados nos permite ter uma visão geral de como a intensidade está variando, é possível ser vista seja em escala de cores, escala de preto e branco, sendo na primeira, o histograma fica dividido em três componentes correspondentes para cada cor primária, RGB. Esses gráficos de histograma por sua vez, representam a frequência com que os diferentes valores de concentração dos defeitos são determinados. Dessa forma, quanto mais alta as barras de saturação e luminescência, mais frequente é o intervalo de concentração. Os histogramas não estão segmentados por fase de tratamento, mas mostram como as concentrações estudadas, se distribuem por cada nível de defeitos apontados. Neste estudo, observou-se que o padrão de saturação e luminescência se mostrou com destaque com maior discrepância para a amostra mais pura, sem aplicação de defeitos (0%).

Para melhor elucidar a variação indicada na concentração dos defeitos em café torrado e moído, foi realizado a análise dos componentes principais (PCA).

4.2. Análise dos Componentes Principais (PCA)

Com aplicação do *software* ChemoStat foi possível realizar a observação por meio da Análise dos Componentes Principais (PCA), que nada mais é do que um método utilizado para identificar a relação entre características extraídas de dados. Como podemos observar na Figura 8, as duas componentes principais juntas explicam 99,91% da variabilidade dos dados. O gráfico de escores mostra a dispersão entre as amostras estudadas.

A Figura 8, exibe o gráfico de escores a partir da análise aplicada ao conjunto de Cafés Especiais com distribuição progressiva de defeitos, normalizados entre os limites zero e um, corrigidos pelo método do valor normal padrão (SNV) e, posteriormente, centrados na média, empregando.

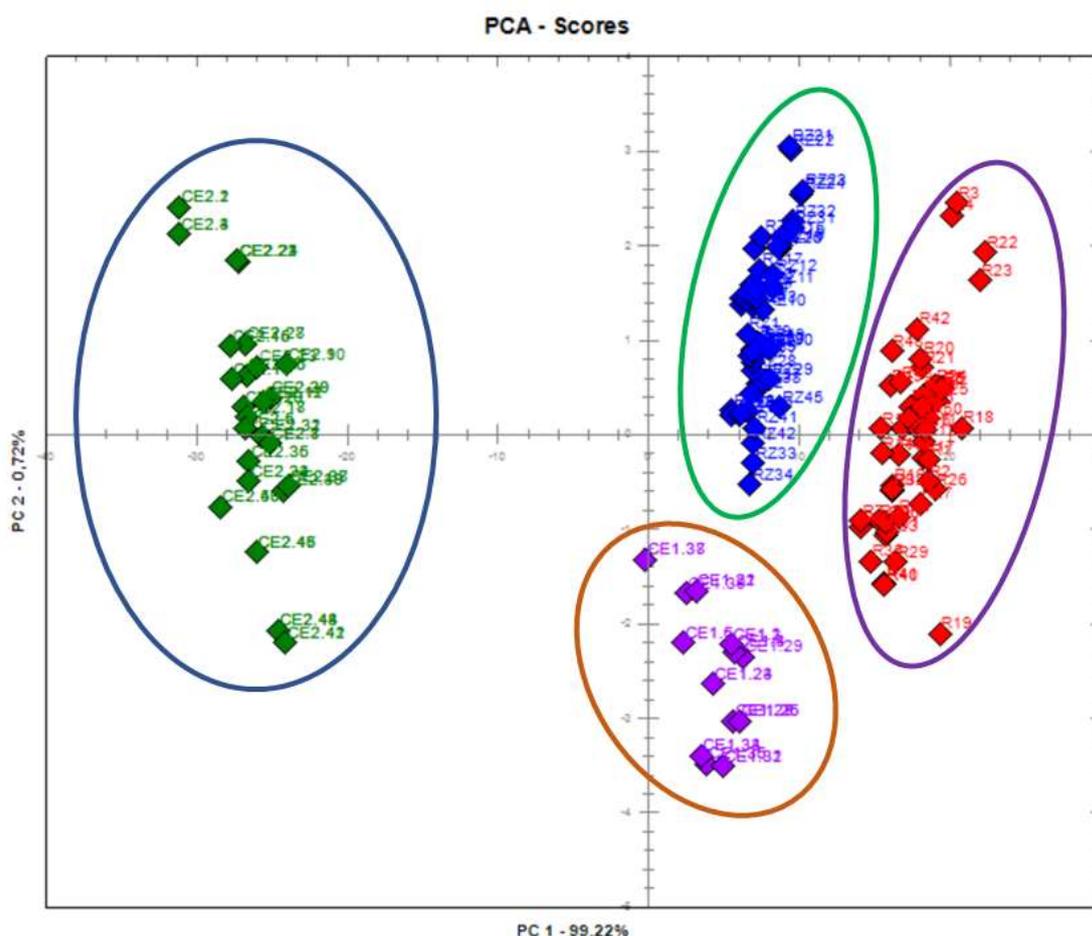


Figura 7. Gráfico de dispersão para análise dos componentes principais utilizando dados da quantidade de pixels em amostras de café padronizadas por imagem de 1000 x 800 pixels. As cores de cada ponto das amostras, seguem indicadas na tabela 1.

Os resultados obtidos pelo gráfico dos escores da PC1 x PC2 (Figura 8), é possível observar que a PC1 separa os cafés especiais moídos com uma

distribuição bastante homogênea, onde podemos observar um agrupamento mais acentuado com as amostras 100% puras (0% de defeitos – pontos verdes), com uma diferença notável para as amostras que apresentam uma distribuição de 50% de defeitos (pontos vermelhos), porém com divisão bem distinta de 4 grupos. As amostras mais concentradas acabam se agrupando por possuírem cores mais acentuadas em sua composição. Em relação às demais, é possível observar maiores proximidades, principalmente quando observamos a amostra que apresenta 15% de defeitos em sua composição, o que pode ser explicado por uma menor concentração de defeitos, o que dificulta uma certa classificação do café moído.

Previamente é possível observar dois grupos majoritários formados pela análise dos componentes principais. No grupo A, são encontrados cafés do tipo especial 100% puros e livres de inconformidades ou defeitos, que certamente apresenta um valor de mercado superior. É notável que dentre os grupos formados, esse acaba sendo o que tem mais similaridade entre os componentes principais, e isso se comprova pela proximidade das amostras ao mesmo grupo. O que sugere um produto com maior controle de qualidade, evidenciando a separação dos grãos.

O grupo B, representado na figura, apresenta uma composição mais distante das quatro amostras apresentadas em estudo, uma vez que, apresenta a maior inserção de defeitos, frente à amostra controle. Vale ressaltar que se trata também de grãos de mesma origem, porém com atributos e inserções manipuladas de uma forma totalmente diferente. Tal fato é indicado na perspectiva de observação que não importa a qualidade que o grão necessariamente possua, mas sim os cuidados e manuseios presentes na sua condução, podendo sugerir assim que tal café se não apresentar procedência do início ao fim do seu processo de destinação até a xícara do consumidor, passando por etapas de secagem, torragem e principalmente pela moenda, trará características distintas de uma origem pura em todo o seu processo. Justificado pelo alto nível de aglomeração das amostras. Das 4 amostras do Café tipo Especial com diferentes concentrações de defeitos proximidades, principalmente para os grupos representando a inserção de 30% de defeitos (azul) e 15% de defeitos (roxo). Nesse aspecto é possível considerar que, a partir da observação de qualidade do produto obtido, as amostras apresentam boa

qualidade a partir de uma observação feita de mesma origem.

A PCA aplicada no controle de qualidade dos alimentos, aparece como alternativa para complementar a atual análise comparativa de alimentos e que é possível obter conjuntos de dados adequados capazes de detectar diferenças relacionadas às condições de cultivo e variedades. E que é possível confirmar através de estudos realizados com PCA dos Cafés (MELLO et al., 2013).

De acordo com Mello et al. (2013), a ferramenta PCA reduz a complexidade dos dados e fornece uma melhor visualização das possíveis conexões entre as variáveis. A ideia básica é reduzir a dimensionalidade e revelar estruturas ocultas em um conjunto de dados, para que estas estruturas possam ser descritas.

4.3. Análise de Agrupamento Hierárquico (HCA)

De acordo com Helfer (2014), a opção HCA quando aplicada na grade de dados, exibe uma nova janela apresentando o resultado da análise por Agrupamento Hierárquico. Caso seja necessário o emprego de alguma correção, transformação ou pré-processamento de dados, os mesmo devem ser realizados previamente sobre a grade de dados.

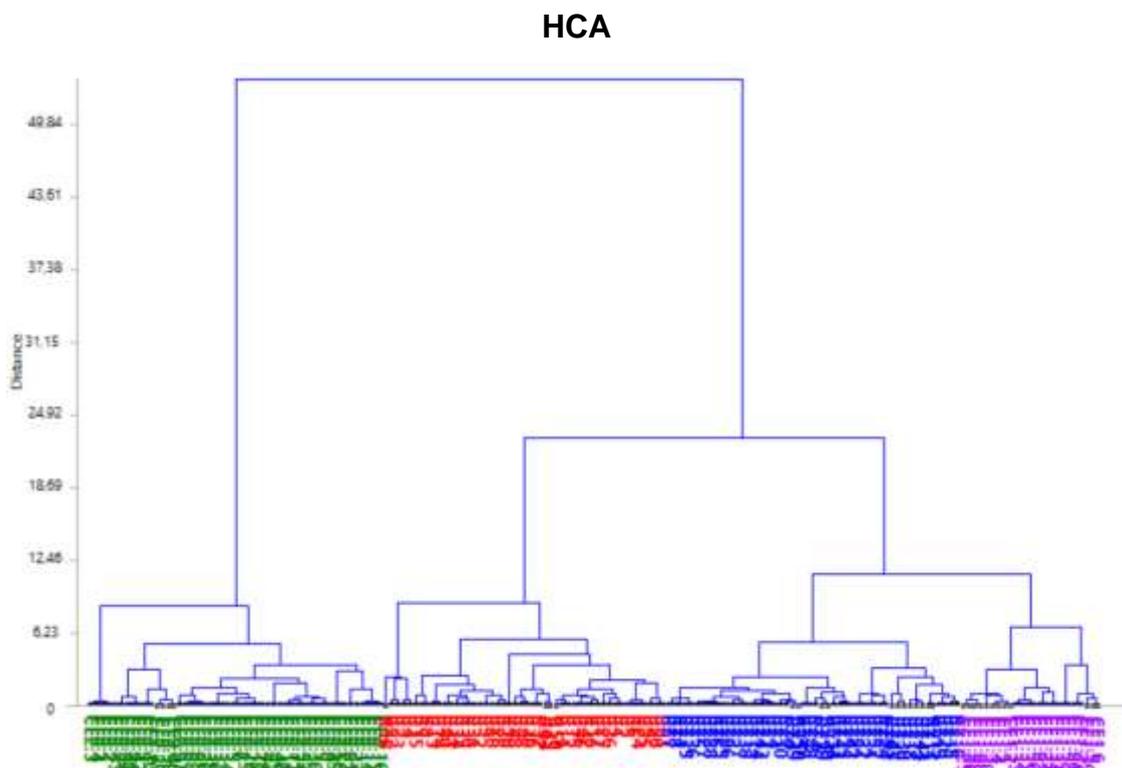


Figura 8. Dendrograma HCA – ligação completa – das amostras de café especial com diferentes porcentagens de defeitos.

Para realização da HCA com ligação completa, foram utilizadas todos os tratamentos, uma vez que também se mostraram com notadas diferenças a partir da análise realizada nas regiões do PCA. A Figura 7 ilustra o resultado do HCA pelo método de ligação completa.

Os resultados obtidos com HCA complementam aqueles obtidos por PCA, fornecendo uma visão de conjunto de todas as amostras e como estas se assemelham. Por outro lado, a PCA acaba permitindo em muitos casos, uma melhor interpretação dos grupos naturalmente formados, pois acaba distinguindo melhor a contribuição dos dados relativos à produção na formação dos agrupamentos (GRANJA, 2018).

O nível de corte no gráfico é o que determina uma melhor observação dos grupos, isso ocorre, de maneira geral, em relação as maiores distâncias em que esses grupos foram formados, mas deve sempre ser levado em conta os critérios adotados pelo pesquisador. Optou-se então, por apresentar os métodos de agrupamento hierárquicos aglomerativos e distâncias Euclidianas (VICINI, 2005).

Nesse sentido, foi possível observar a formação dos 4 grupos distintos. O primeiro grupo é formado apenas por amostras onde não foram inseridos defeitos (0% - verde), demonstrando o quanto esse se difere dos demais. Esse mesmo tratamento, se difere dos demais, de forma acentuada, na Figura 6. Isso indica o fato de que em determinada porcentagem a atribuição dos defeitos, mesmo após o processo de moagem, permite uma diferenciação para um produto predominantemente sem defeitos (“puro” – aquele que indica uma qualidade diferenciada para o mercado), podendo assim ser direcionado como um método de classificação, sendo recomendado o uso e aplicação nas mais variadas porcentagens e classificações para o produto, a partir da presença de defeitos encontrados. Indica-se também a aplicação para diversas outras variedades existentes, uma vez que, trata-se de um produto em que a sua característica no beneficiamento, pode ser influenciada por uma série de fatores, ao longo do seu ciclo, até que chegue ao consumidor final.

Pela Figura 9 pode-se observar também que as grandes classes de cores são linearmente separadas, o que significa que todo o sistema aqui desenvolvido e apresentado, foi bem implementado e é capaz de distinguir cores como fazem especialistas em café, que classificam os grãos usando inspeção visual. Os resultados acabaram mostrando que o sistema desenvolvido permite distinguir e separar as cores de café a partir de influências que estejam presentes no momento da torra e moagem, que não necessariamente sejam somente grãos de fato, e em estado ideal para a finalidade. Tudo isso em um espaço de cores RGB, de forma precisa e objetiva.

Ao relacionar o fator cor em um produto que envolve tamanha complexidade em todo o seu ciclo como o café, é importante estar atento aos diversos fatores que podem influenciar no produto final torrado e moído. Desde a etapa de secagem, fatores como: velocidade do ar de secagem, temperatura, tipo de secador, umidade relativa, condições de secagem, entre outros, apresentam influência direta na cor final do produto (OLIVEIRA et al., 2013). Todavia, ao se tratar de um produto que já passou por diversas etapas do seu processo convencional, observar o seu processo de classificação de forma mais seletiva e criteriosa, torna-se cada vez mais necessário, e o trabalho aqui apresentado, corrobora para a indicação da diferenciação quando defeitos são adicionados, simulando por exemplo, condições de armazenamento inadequado

dos grãos, em manipulações muitas vezes inadequadas para o grão, onde, segundo Rigueira et al. (2009), características do sistema de armazenagem e fatores bióticos, como grãos, insetos, ácaros, fungos e bactérias, fazem com que os grãos armazenados se tornem um ecossistema cuja dinâmica, dependendo dos níveis dos fatores e do grau de interação, pode levar ao processo de deterioração dos mesmos, com maior ou menor velocidade.

Nesse sentido, vários autores já descreveram que o café natural é menos susceptível à descoloração por possuir todos os revestimentos externos o que contribui para a sua proteção, reduzindo assim os efeitos ambientais (AFONSO JÚNIOR; CORRÊA, 2003; OLIVEIRA et al., 2013; RIGUEIRA et al., 2009).

5. CONCLUSÃO

Este trabalho apresentou um sistema de visão computacional baseado em técnicas de inteligência computacional para analisar e classificar grãos de café torrado e moído. O método utilizado demonstra uma viabilidade da técnica de colorimetria por imagens digitais, na aplicação do estudo com café. O método proposto mostrou apresentar desempenho analítico na diferenciação das amostras estudadas, para uma potencial classificação após o café torrado e moído. Com base na proposta e no desempenho apresentado, é possível indicar que se trata de um método simples, barato e ecológico para o estudo colorimétrico.

Além disso, pode-se indicar que o sistema de visão computacional aqui apresentado pode ser utilizado para analisar a qualidade do café mesmo após torrado e moído, podendo ser estendido para o setor, permitindo um potencial ainda mais assertivo na caracterização do alimento e, conseqüentemente, melhorando o controle de qualidade.

Referências

ABIC. Associação Brasileira da Indústria de Café. Categorias de Qualidade do Café. Disponível em: <<https://www.abic.com.br/recomendacoes-tecnicas/categorias-de-qualidade-do-cafe/>>. Acesso em: julho de 2022.

ABREU, G. F.; ROSA, S. D. V. F.; MALTA, M.R.; CLEMENTE, A.C.S. Proteção de enzimas antioxidativas em grãos de café armazenados em ambiente resfriado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 41., 2015, Poços de Caldas. Anais... Brasília, DF: Embrapa Café, 2015. (1 CD-ROM), 2 p.

AFONSO JÚNIOR, P. C.; CORRÊA, P. C. Influência do tempo de armazenagem na cor dos grãos de café pré-processados por “via seca” e “via úmida”. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 27, n. 6, p. 1268-1276, nov./dez. 2003.

ALBIZU, G. et al. Analytical control of nickel coating baths by digital image analysis. **Microchemical Journal**, v. 154, p. 104600, 2020.

ALVES, B. H. P.; Análise química do aroma e da bebida de café de minas gerais e espírito santo em diferentes graus de torra. Universidade Federal de Uberlândia, 2012. Disponível em: <<https://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/17507/1/t.pdf>> Acesso em: 23/10/2022.

ALVES, J. **Qualidade do café brasileiro**. Patos de Minas: Universidade Federal de Uberlândia, 2019. 99p. Trabalho de Conclusão de Curso. Disponível em: <<https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/25554>>. Acesso em: Julho de 2022.

ARAÚJO, A.; MARINHO, W.; DE ARAÚJO GOMES, A. A Fast and Inexpensive Chemometric-Assisted Method to Identify Adulteration in Acai (*Euterpe oleracea*) Using Digital Images. *Food Analytical Methods*, v. 11, n. 7, p. 1920–1926, 2018. *Food Analytical Methods*.

BALDNER, F., COSTA, P. M., GOMEZ, J., LETA, F. *Metrologia por imagem*. Rio de Janeiro: Elsevier, 2017.

BALLESTEROS, J. I.; CALEJA-BALLESTEROS, H. J. R.; VILLENA, M. C. Digital image-based method for iron detection using green tea (*Camellia sinensis*) extract as natural colorimetric reagent. **Microchemical Journal**, v. 160, p. 105652, 2021.

BOAVENTURA, P.S.M.; ABDALLA, C.C.; ARAÚJO, C.L.; ARAKELIAN, J.S. Cocriação de valor na cadeia do café especial: o movimento da terceira onda do café. **Revista de Administração de Empresas**, São Paulo, v. 58, n.3, p. 254-266, 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análises de sementes. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. MAPA/ACS, Brasília, 2009. 399 p.

CALEB, J.; ALSHANA, U.; ERTAŞ, N. Smartphone digital image colorimetry combined with solidification of floating organic drop-dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of iodate in table salt. **Food Chemistry**, v. 336, p. 127708, Jan. 2021.

DA SILVA, G. O.; ARAUJO, W. R.; PAIXÃO, T. R. L.C. Portable and low-cost colorimetric office paper-based device for phenacetin detection in seized cocaine samples. **Talanta**, v. 176, p. 674 – 678, 2018.

DE JESUS, J. R. et al. Applications of smartphones in analysis: Challenges and solutions. In: *Smartphone-Based Detection Devices*. **Elsevier**, p. 199-248, 2021.

DOS REIS, J. L., DE SOUZA, Y.N., CHAGAS, L. Formação profissional e tecnológica em tempos de pandemia: uma análise do currículo praticado em dois cursos técnicos em química. **Educitec-Revista de Estudos e Pesquisas sobre Ensino Tecnológico**, v. 8, p. e189922-e189922, 2022.

DOS SANTOS, V. B.; DA SILVA, E. K. N.; DE OLIVEIRA, L. M. A.; SUAREZ, W.T. Low cost in situ digital image method, based on spot testing and smartphone images, for determination of ascorbic acid in Brazilian Amazon native and exotic fruits. **Food Chemistry**, v. 285, p. 340 – 346, 2019.

EID, S. M.; KELANI, K. M.; BADRAN, O. M.; REZK, M. R.; ELGHOBASHY, M. R.

Surface enhanced infrared absorption spectroscopy (SEIRA) as a green analytical chemistry approach: Coating of recycled aluminum TLC sheets with citrate capped silver nanoparticles for chemometric quantitative analysis of ternary mixtures as a green alternative to the traditional methods. **Analytica Chimica Acta**, v. 1117, p. 60 – 73, 2020.

FERNANDES, G. M. et al. based analytical device for colorimetric detection of Cu²⁺ in Brazilian sugarcane spirits by digital image treatment. **Microchemical Journal**, v. 159, p. 105463, 2020.

GOMES, M. S.; TREVIZAN, L. C.; NOBREGA, J. A. KAMOGAWA, M. Y.; *Quim. Nova* 2008, 31, 1577.

HELFER, G. A. *Chemostat: desenvolvimento de software para análise exploratória de dados multivariados*. 2014.

HOLKEM, A. P.; VOSS, M.; SCHLESNER, S. K.; HELFER, G. A.; COSTA A. B.; BARIN, J. S.; MÜLLER, E. I.; MELLO, P. A. A green and high throughput method for salt determination in crude oil using digital image-based colorimetry in a portable device. **Fuel**, v. 289, n. 119941, 2021.

JAIN, R. et al. Dispersive liquid-liquid microextraction combined with digital image colorimetry for paracetamol analysis. **Microchemical Journal**, v. 162, p. 105870, 2021.

JING, X. et al. Digital image colorimetry detection of carbaryl in food samples based on liquid phase microextraction coupled with a microfluidic thread-based analytical device. **Food chemistry**, v. 337, p. 127971, 2021.

KUBOTA, S.; HISATAKE, Y.; KAWAMURA, T.; TAKEMOTO, M.; *SID Int. Symp. Dig. Tech. Pap.* 2015, 46, 22. 9.

OLIVEIRA, E. M. et al. Comparação do colorímetro minolta e máquina digital para avaliação da cor do café beneficiado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIRAS, 36., 2010, Guarapari. Anais... Brasília, DF: Embrapa Café, 2010. (1 CD-ROM), 2 p.

OLIVEIRA, P. D. et al. Aspectos fisiológicos de grãos de café, processados e

secados de diferentes métodos, associados à qualidade sensorial. *Coffee Science*, Lavras, v. 8, n. 2, p. 211-220, abr./jun. 2013.

OLIVEIRA, E. M. Sistema de visão computacional para avaliação física de cafés (*Coffea arabica* L.) de diferentes colorações. 2015. 104 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2015.

PESSOA, K. D.; SUAREZ, W. T.; REIS, M. F.; FRANCO, M. O. K.; MOREIRA, R. P. L.; SANTOS, V. B. A digital image method of spot tests for determination of copper in sugar cane spirits. ***Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy***, v. 185, p. 310 – 316, 2017.

PORTO, I. S. A. et al. Determination of ascorbic acid in natural fruit juices using digital image colorimetry. ***Microchemical Journal***, v. 149, p. 104031, 2019.

RIBEIRO, T. L.; FROTA, G. J.; PEREIRA, E. M.; SANTOS, H. O.; CARVALHO, M. H.; VON PINHO, E. V. R. Enzimas da rota oxidativa e sua relação com o vigor de sementes de café submetidas a diferentes métodos de secagem. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIRAS, 43., 2017, Poços de Caldas. Anais... Brasília, DF: Embrapa Café, 2017. (1 CD-ROM), 1 p.

RIGUEIRA, R. J. de A. et al. Armazenamento de grãos de café cereja descascado em ambiente refrigerado. *Engenharia na Agricultura*, Jaboticabal, v. 17, n. 4, p. 323-333, 2009.

SANG, J.; WANG, S.; LI, Q. *Quantum Inf. Process.* 2016, 16, 1.

YUSUFU, D.; MILLS, A. Spectrophotometric and digital colour colourimetric (DCC) analysis of colour-based indicators. ***Sensors and Actuators B: Chemical***, v. 273, p. 1187 – 1194, 2018.