



## **PRODUÇÃO DE *PELLETS* E RECOBRIMENTO ENTÉRICO DE BIOMASSA DE CAFÉ VERDE: AVALIAÇÃO DO PERFIL DE DISSOLUÇÃO DE ÁCIDOS CLOROGÊNICOS**

MARIA PAULA M PINTO<sup>1\*</sup>, LUCIANE F G SOUZA<sup>2</sup>, MARCELLO NITZ<sup>2</sup>, GUILHERME J DE CASTILHO<sup>1</sup>, KACIANE ANDREOLA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual de Campinas, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química  
Faculdade de Engenharia Química

<sup>2</sup>Instituto Mauá de Tecnologia, Faculdade de Engenharia Química  
\*e-mail: mariapaulamaciel@hotmail.com

**RESUMO** – Os compostos fenólicos presentes no café verde, em sua grande maioria os ácidos clorogênicos (ACGs), atuam como antioxidantes naturais benéficos para a saúde humana. No entanto, a alta solubilidade dos ACGs em meio aquoso dificulta sua absorção reduzindo suas propriedades antioxidantes. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar o perfil de dissolução dos ácidos clorogênicos em fluido gástrico simulado. Foram propostas três formulações de *pellets* utilizando com fonte de ACGs a biomassa residual do processo de extração do óleo de café verde, e recobrimento com suspensão polimérica entérica. Os *pellets* foram produzidos pela técnica de extrusão/esferonização e o processo de recobrimento foi realizado em leito de jorro. As formulações continham, em base seca, um teor de ACGs de: FI: 1,35 %, FII: 5,22 % e FIII: 6,45%. Os resultados mostraram que as suspensões entéricas, mesmo com ganhos de camada elevados, não foram eficazes na formação de uma barreira impermeável, permitindo a liberação dos ACGs em meio ácido. Uma alternativa foi o uso de cápsulas de HPMC. Devido à sua propriedade de formação de um hidrogel em contato com um meio líquido, as cápsulas de HPMC modularam de forma mais eficiente à liberação dos ACGs.

### **INTRODUÇÃO**

O café verde representa a *commodity* agrícola mais negociada no mundo, sendo um componente essencial na dieta e na saúde humana (Esquivel e Jimenez 2012). O grão de café é a semente do cafeeiro e o grão de café verde refere-se ao grão de café maduro não torrado. Dentre as várias espécies, as espécies *Coffea arábica* (café arábica) e *Coffea canéfora* (Café Robusta) são as mais produzidas no mundo, sendo o Brasil o maior fornecedor do produto, responsável por um terço da produção global (Bertrand 2003).

Dentre os compostos bioativos presentes no café verde, os compostos fenólicos têm se destacado devido à sua ação antioxidante. Destes compostos fenólicos, os

ácidos clorogênicos (ACGs) são a principal classe responsável pela atividade antioxidante (Ohnishi et al. 1994).

Os ácidos clorogênicos são obtidos a partir da esterificação do ácido quínico com um ou mais derivados do ácido trans-cinâmico. De acordo com Parras et al. (2007), os ácidos clorogênicos mais comumente encontrados no café verde são os monoésteres do ácido cafeoilquínico, especialmente o ácido 5-cafeoilquínico (5-CQA). Os ACGs têm sido foco de diversos estudos epidemiológicos devido às suas propriedades anti-inflamatórias (Liang e Kitts, 2016), anticancerígenas (Liu et al. 2013), controle de diabetes tipo 2, obesidade, doença de Alzheimer, acidente vascular cerebral e pressão arterial (Lee et al. 2012; Meng et al. 2013; Tajik et al. 2017 e Zhao et al. 2012).

Ainda que benéficos para a saúde, o uso dos ACGs em fórmulas industriais para suplementação alimentar enfrenta desafios relacionados à sua estabilidade. Quando são expostos ao oxigênio, à luz e ao calor suas propriedades antioxidantes são reduzidas (Farah et al. 2005). Apesar das potenciais propriedades biofarmacológicas atribuídas aos ACGs, estudos sobre a sua biodisponibilidade em humanos são escassos, principalmente devido a limitações analíticas. Um estudo realizado por Monteiro et al. (2007) identificaram 8 compostos de ACGs intactos no plasma humano após o consumo elevado de café, demonstrando que todos os principais ACGs são biodisponíveis em humanos. No entanto, Duarte e Farah (2015) apresentam em sua revisão que na maioria dos estudos disponíveis na literatura, pequenas quantidades de ACGs e seus derivados foram identificados e quantificados em plasma humano após a ingestão de 5-CQA, concluindo que menos de 1% de ACGs ingerido foi absorvido no organismo humano. A maior quantidade ingerida foi degradada durante a digestão, metabolizada pela microflora intestinal e/ou excretada nas fezes. Estudo realizado por Farrel et al. (2011) indicaram que a absorção de ACGs no estômago ocorre principalmente por difusão paracelular passiva. Os compostos DiCQA (isômeros de ACGs) sofrem absorção rápida e saturável nas células do estômago interferindo no processo de efluxo. Erk et al. (2012) avaliaram a absorção de ACGs em indivíduos ileostomistas e os resultados mostraram que cerca de dois terços dos ACGs ingeridos foram recuperados no líquido ileal, implicando que cerca de um terço foi absorvido no intestino delgado. Os autores observaram também que uma passagem desacelerada dos ACGs no trato gastro intestinal proporciona uma maior e melhor absorção.

Além das propriedades benéficas do café verde como suplemento, a indústria cosmética tem grande interesse no conteúdo lipídico presente nos grãos, que apresenta uma gama diversificada de metabólitos secundários bioativos (tocoferóis e ácidos graxos livres), com alta capacidade protetora contra danos à pele, como a formação de células após queimadura solar, degradação do DNA e

peroxidação lipídica, prevenindo o desenvolvimento do fotoenvelhecimento e doenças inflamatórias da pele (Boelsma et al. 2001, Nakayama et al., 2003, Pereda et al. 2009).

O café verde tipo arábica possui cerca de 15 % (v/p) de óleo e esse óleo pode ser extraído pelo processo mecânico de prensagem (Speer et al. 1962). Após o processo de extração do óleo de café verde obtêm-se um subproduto, denominado de biomassa de café verde, que contém um teor substancial de óleo e alto teor de compostos bioativos, visto que o processo de prensagem a frio não é eficiente para a remoção completa do óleo dos grãos, e nem dos compostos bioativos, que são principalmente compostos hidrofílicos (Oliveira et al. 2019). Desta forma, a biomassa de café verde é um subproduto quimicamente rico e com alto potencial de aproveitamento para fins de suplementação alimentar, entretanto é geralmente negligenciado pela indústria cafeeira. Castro et al. (2018) obtiveram em seu estudo um teor de 27,9 %, p/p de conteúdo fenólico total para a biomassa de café verde. Oliveira et al. (2019) reportaram um teor de polifenóis totais de 6799,41 mg GAE/100 g para a biomassa de café verde.

Com o objetivo de reaproveitar a biomassa do café verde para fins de suplementação alimentar, os *pellets* surgem como uma forma de dosagem de múltiplas unidades oferecendo várias vantagens quando comparados aos sistemas de unidade única, como os comprimidos ou cápsulas não desintegrantes. Quando os sistemas de múltiplas unidades são administrados por via oral, as múltiplas unidades se distribuem prontamente por uma grande área de superfície no trato gastrointestinal, e as pequenas partículas ( $d < 2$  mm) se comportam como líquidos que deixam o estômago em um curto período de tempo melhorando sua biodisponibilidade e diminuindo o risco de toxicidade (Abdul et al. 2010).

Os *pellets* podem ser obtidos a partir de um processo de aglomeração, de pós-finos ou grânulos, de princípios ativos e excipientes em uma unidade esférica ou semiesférica. O diâmetro médio dos *pellets* varia normalmente entre 0,5 mm e 1,5 mm (Ghebre-Sellassie, 1989). A técnica de extrusão-esferonização é

amplamente utilizada para a produção de *pellets* e envolve quatro etapas: a granulação (preparação da massa úmida), a extrusão (modelagem da massa úmida em cilindros), a esferonização (quebra dos extrusados e modelagem das partículas em esferas) e a secagem dos *pellets* (evaporação da água de preparação da massa úmida) (Vervaet 1995). A técnica de extrusão/esferonização tem como principais vantagens, sobre as demais técnicas de pelletização, a capacidade de incorporar altos níveis de princípios ativos sem que o diâmetro do *pellet* precise ser alterado, dois ou mais agentes ativos podem ser facilmente incorporados aos *pellets* com alto grau de esfericidade e com superfícies mais homogêneas (Sahoo e Parashar, 2013).

A aplicação de suspensões poliméricas entéricas, com o intuito de minimizar a degradação de ativos nas condições fisiológicas do trato gastrointestinal, já está bem estabelecida nas indústrias farmacêuticas e seria uma possibilidade para reduzir as limitações de aplicação dos ACGs em suplementos alimentares. De acordo com a Farmacopeia dos Estados Unidos da América (USP XXXII), os recobrimentos entéricos são utilizados para adiar a liberação do ativo até que a fórmula (*pellets*) tenha passado pelo suco gástrico. Testes de dissolução *in vitro* para esses produtos devem comprovar sua estabilidade sob condições ácidas, ou seja, liberação menor que 10 % do ativo presente na fórmula em duas horas e liberação de não menos que 80 % do ativo em condição de pH neutro em até 40 minutos (Allen Jr. et al., 2007). Os polímeros dependentes de pH que contêm grupos carboxílicos são comumente usados como recobrimento entérico, pois permanecerão não ionizados em pH baixo (pH 1,2 – estômago) e se tornarão ionizados em condições de pH básico (pH 6,8 – intestino delgado), sendo possível a dissolução do revestimento e liberação do ativo (Liu et al., 2009).

O recobrimento entérico pode ser realizado em leito fluidizado, que consiste na aspersão de uma suspensão sobre um leito de sólidos particulados que é movimentado por uma corrente gasosa ascendente (Costa, 2003). A aplicação de um filme a um sólido particulado é bastante complexa. Uma camada

de recobrimento não ocorre durante uma única passagem da partícula pela zona de recobrimento, mas depende de muitas passagens para produzir uma cobertura homogênea da superfície. A formação da gota, o contato entre essa e a superfície da partícula, o espalhamento, a coalescência e a evaporação do solvente ocorrem de forma quase simultânea durante o processo (Dewettinck e Huyghebaert, 1999; Jones, 1985). No método *bottom spray*, o bico atomizador fica posicionado na parte inferior da base cônica e as partículas são recicladas através da zona de revestimento. O caminho das gotículas concorrentemente em direção as partículas é curto, de modo que a evaporação precoce do solvente é quase ausente, assim as gotículas podem se espalhar de forma mais homogênea produzindo um filme com alta qualidade física. A suspensão de recobrimento é fornecida à baixa pressão e é cortada em gotículas pelo ar. O ar utilizado para a atomização da suspensão também contribui para a evaporação do solvente da suspensão polimérica (Dewettinck e Huyghebaert, 1999, Jones, 1985).

Devido à alta solubilidade em água e rápida absorção dos ACGs em valores de pH abaixo de 2,0, o polímero entérico deve ser aplicado para prevenir que os ACGs sejam degradados/absorvidos no estômago, para proporcionar rápida liberação e absorção no intestino. Este estudo tem como objetivo a produção de *pellets* com a inclusão de biomassa de café verde e recobrimento em leito fluidizado utilizando os polímeros entéricos comerciais Eudragit® L100 e Eudraguard® Control visando a avaliação do perfil de dissolução dos ácidos clorogênicos em pH ácido.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Matéria-Prima

A biomassa de café verde foi gentilmente doada pela Cooperativa Regional de Cafeicultores em Guaxupé (COOXUPÉ). Os polímeros entéricos Eudragit® L100 e Eudraguard® Control foram doados pela *Evonik Industries* (Guarulhos - SP). A Celulose microcristalina, o polivinilporridona (PVP), o polietilenoglicol 4000 (PEG-4000) e

o ácido cítrico foram adquiridos com a Labsynth®.

### Caracterização da biomassa

O teor de ácido clorogênico foi determinado de acordo com a metodologia descrita por Belay et al. (2009). Para a determinação do teor de ACGs, a biomassa foi fragmentada com o auxílio de um moedor de café (CM09, Hamilton Beach) ajustado para o modo fino. A biomassa fragmentada foi peneirada e partículas com diâmetro inferior a 0,177 mm foram utilizadas para a extração. Também foi determinada a composição centesimal da biomassa de café verde. O teor de lipídeos foi determinado pelo método Bligh Dyer e o teor de proteínas foi determinado pelo método de Kjeldahl. O teor de cinzas foi determinado pelo método gravimétrico por aquecimento a 550°C em mufla e a umidade foi determinada pelo método gravimétrico por aquecimento a 105°C em estufa com circulação forçada de ar.

### Produção e caracterização dos Pellets

Os *pellets* foram produzidos pela técnica de extrusão/esferonização. Os excipientes e a biomassa foram misturados manualmente em uma bacia de inox, o líquido de granulação utilizado foi a água. Para umedecimento da maça foi utilizado um borrifador de plástico manual. O extrusor utilizado foi um extrusor de escala laboratorial (EX 30, Zelus) que é composto por dois rolos de rotação livre que são movidos por um eixo, e uma placa com orifícios de 1,0 mm de diâmetro. Os rolos comprimem a massa úmida pelos orifícios da placa dando origem aos cilindros, produtos da extrusão. A rotação utilizada para a extrusão foi de 60 rpm. O esferonizador utilizado (ES 30, Zelus) é de escala laboratorial e é composto por um cilindro de 30 cm de diâmetro e um disco com ranhuras, longitudinal e transversal, que fica disposto no fundo do cilindro. A rotação e o tempo de esferonização foram, respectivamente, 900 rpm e 1 minuto. A secagem dos *pellets* esferonizados foi realizada em estufa de circulação forçada de ar à 40°C durante 24 horas.

Após a etapa de secagem os *pellets* foram caracterizados de acordo com sua

distribuição granulométrica, com auxílio de peneiras da serie de Tyler e agitador magnético. A umidade foi determinada em analisador de umidade de lâmpada de halogênio (MOC63u, Shimadzu). O teor de ACGs dos *pellets* foi determinado de acordo com a metodologia descrita por Belay et al. (2009). Para a determinação do teor de ACGs, os *pellets* foram fragmentados com o auxílio de um moedor de café (CM09, Hamilton Beach) ajustado para o modo fino. Os *pellets* fragmentados foram peneirados e partículas com diâmetro inferior a 0,177 mm foram utilizadas para a extração

Na Tabela 1 estão apresentadas as formulações dos *pellets* de biomassa de café verde.

Tabela 1: Formulações dos *pellets*.

Formulação	Ingrediente	(%)
FI	Celulose Microcristalina	75
	PEG-4000	7
	PVP	3
	Biomassa	15
	Água	-
FII	Celulose Microcristalina	20
	PEG-4000	7
	PVP	3
	Biomassa	70
	Água	-
FIII	Celulose Microcristalina	10
	PEG-4000	7
	PVP	3
	Biomassa	40
	Ácido cítrico P.A	40
	Água	-

### Ensaio de Recobrimento

Os ensaios de recobrimento foram realizados em leito de jorro (FBD 1.0, LabMaq). O bico atomizador era do tipo duplo fluído e estava posicionado na parte inferior da base cônica (método botton spray). Foram mantidas em valores fixos as variáveis operacionais: massa de *pellets* (300g), temperatura do ar de entrada (40°C), vazão do ar de atomização (0,03m<sup>3</sup>·min<sup>-1</sup>). A vazão do

ar de entrada foi ajustada de acordo com o regime fluidodinâmico, sendo a mínima e a máxima vazão utilizada de  $0,6 \text{ m}^3 \cdot \text{min}^{-1}$  e  $1,0 \text{ m}^3 \cdot \text{min}^{-1}$ , respectivamente.

Os *pellets* com formulações FI e FIII foram recobertos com suspensão polimérica de Eudraguard® Control, sendo a vazão de alimentação da suspensão de  $1,5 \text{ g} \cdot \text{min}^{-1}$  para FI e  $3,0 \text{ g} \cdot \text{min}^{-1}$  para FIII. Os *pellets* com formulação FII foram recobertos com suspensão polimérica de Eudragit® L100 sendo a vazão de alimentação da suspensão de  $3,0 \text{ g} \cdot \text{min}^{-1}$ .

O ganho de camada real e a eficiência do processo foram calculados de acordo com as Equações 1 e 2, respectivamente.

$$\varphi_{real} = \frac{M_{real}}{M_i(1 - U_i)} \cdot 100 \quad (1)$$

Em que  $M_{real}$  é a massa de polímero aderida,  $M_i$  é a massa de *pellets* antes do recobrimento e  $U_i$  é a umidade dos *pellets* antes do recobrimento em base úmida.

$$\eta = \frac{\varphi_{real}}{\varphi_{teo}} \cdot 100 \quad (2)$$

### Ensaio de dissolução *in vitro*

Para a quantificação da liberação de ACGs dos *pellets* em meio ácido (pH 1,2), ensaios de dissolução *in vitro* foram estabelecidas as curvas de calibração utilizando-se o padrão de ACGs da *United States Pharmacopeial Convention*. A preparação do fluido gástrico (meio ácido pH 1,2) utilizado na dissolução *in vitro* seguiu o padrão da farmacopeia americana (USP XXXII, 2009). A solução estoque foi preparada com uma concentração de  $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  em meio ácido, das quais foram preparadas soluções diluídas de concentrações de 5, 10, 15, 20 e  $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  em vidrarias envoltas em papel alumínio e protegidas da luz. As absorbâncias das soluções foram lidas no espectrofotômetro UV/Vis em comprimento de onda 324 nm. Os testes de dissolução foram baseados na farmacopeia americana (USP XXXII, 2009). As análises foram realizadas em dissolutor (Nova Ética, Brasil). Para o ensaio em meio ácido foram

pesadas as massas de *pellets* equivalente a uma concentração de 8,29 mg de ACGs para cada cesto do dissolutor. O dissolutor foi previamente programado para manter a temperatura em  $37 \text{ }^\circ\text{C}$ , pelo período de 2 horas para as análises do meio ácido, com rotação em 100 rpm para cada cesto. As alíquotas foram retiradas nos tempos (5, 10, 15, 30, 40, 60, 80, 100, 120) minutos após o início do ensaio de cada cuba utilizando-se seringas de 5 mL. As amostras foram analisadas nos mesmos parâmetros da curva de calibração padrão.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Caracterização da biomassa

Na Tabela 2 são apresentados os resultados da caracterização físico-química da biomassa de café verde.

Tabela 2: Caracterização físico-química da biomassa de café verde

Biomassa de Café Verde	
Umidade (%)	$2.92 \pm 0.02$
Proteínas (%)	$13.90 \pm 0.08$
Lipídeos (%)	$5.30 \pm 0.17$
Cinzas (%)	$4.65 \pm 0.00$
Carboidratos (%)	$73.23 \pm 0.00$
Teor de ácido clorogênico (%)	$9.21 \pm 0.05$

Vidal et al. (2022) realizaram em seu estudo a caracterização da biomassa de café verde. Os autores obtiveram os seguintes resultados: umidade = 4,4 %; lipídeos =  $5,5 \pm 0,2$  %; teor de ácido clorogênico =  $74,2 \pm 0,2$  mg/g (b.s.). Os nutrientes do café verde, principalmente a concentração de ACGs, podem variar de acordo com a genética (espécie e cultivar), grau de maturação, práticas agrícolas (como a via despolpamento, úmida ou seca), clima e solo e condições de armazenagem do grão verde após beneficiamento. Durante a maturação dos frutos do café, o conteúdo de ACGs aumenta até que os frutos estejam completamente

formados e vão diminuindo à medida que amadurecem (Farah e Ferreira, 2015).

### Caracterização dos *pellets*

Na Tabela 3 constam os resultados de caracterização dos *pellets* de biomassa de café verde. Pela análise dos resultados é possível observar que os *pellets* apresentaram baixa umidade e diâmetro médio de Sauter dentro da faixa esperada ( $d < 2,0$  mm).

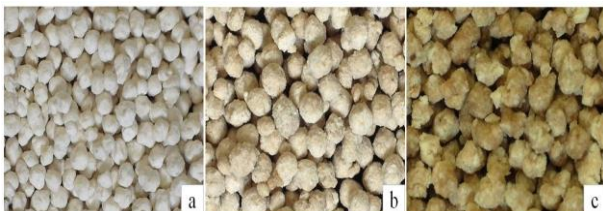
Tabela 3: Caracterização físico-química dos *pellets* de biomassa de café verde

<i>Pellets</i> Biomassa de Café Verde		
Formulação	Caracterização	
FI	Umidade (%)	3.68
	$d_{ps}$ (mm)	0.92
	Teor de ACGs (% b.s.)	1.35
FII	Umidade (%)	3.6
	$d_{ps}$ (mm)	1.10
	Teor de ACGs (% b.s.)	6.45
FIII	Umidade (%)	10.02
	$d_{ps}$ (mm)	1.07
	Teor de ACGs (% b.s.)	4.19

$d_{ps}$ : diâmetro médio de Sauter

Na Figura 1, estão representados os *pellets* referentes às formulações FI (Figura 1a), FII (Figura 1b) e FIII (Figura 1c).

Figura 1 *Pellets* de biomassa de café verde



### Ensaio de Recobrimento

Na Tabela 4 estão apresentados os resultados dos ensaios de recobrimento. Sendo A: o ensaio de recobrimento para os *pellets* FI, B: o ensaio de recobrimento para os *pellets* FII e C: o ensaio de recobrimento para os *pellets* FIII.

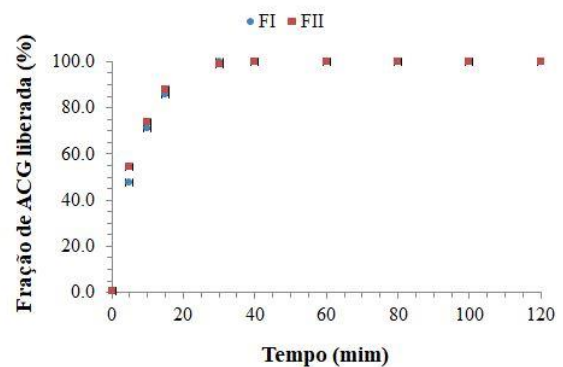
Tabela 4: Ensaio de recobrimentos dos *pellets*.

Ensaio de Recobrimento		
Ensaio		
A	$\eta$ (%)	90.66
	$\Phi_{real}$ (%)	14.57
	U (%)	3.22
B	$\eta$ (%)	91.50
	$\Phi_{real}$ (%)	25.15
	U (%)	10.24
C	$\eta$ (%)	83.06
	$\Phi_{real}$ (%)	29.35
	U (%)	15.45

### Teste de dissolução *in vitro*

Os resultados dos ensaios de dissolução *in vitro* dos *pellets* FI e FII, sem recobrimento, estão apresentados na Figura 2.

Figura 2. Ensaio de dissolução *in vitro* no meio ácido



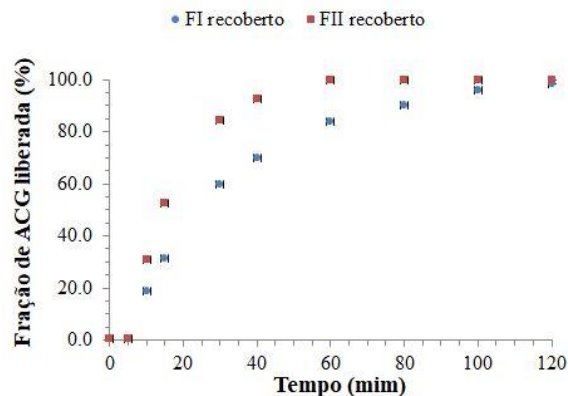
A partir dos dados mostrados na Figura 2, observa-se que nos primeiros 5 minutos de exposição ao meio ácido os *pellets* já haviam liberado mais de 40 % do conteúdo de ACGs. Após 30 minutos de ensaio, 100 % dos ACGs já haviam sido liberados. Os ACGs são facilmente solubilizados em água devido à presença de numerosos grupos hidroxila. Quanto maior o número de grupos hidroxila equatoriais livres, maior a solubilidade em água (Belay, 2009; Clifford et al. 2009; Pimpley et al. 2020).

Em virtude da rápida liberação do ácido clorogênico em fluido gástrico simulado,



foram realizados recobrimentos com suspensões poliméricas entéricas, a fim de minimizar a exposição do ativo. Na Figura 3 estão apresentados os ensaios de dissolução *in vitro*, em meio ácido, dos *Pellets* FI e FII

Figura 3: Teste de dissolução *in vitro* FI e FII recobertos com suspensão polimérica entérica.



Pela Figura 3 é possível verificar uma ligeira melhora na liberação do ativo para os *pellets* recobertos com suspensão polimérica, quando comparado aos *pellets* sem recobrimento (Figura 1). Uma liberação acima de 40 % de ACG foi observada a partir de 30 minutos de ensaio.

Devido à alta solubilidade dos ACGs em água, durante o processo de recobrimento o ativo pode ter se dissolvido e passado a compor o filme de recobrimento aquoso. Essa condição pode ter comprometido a integridade do filme levando a rápida liberação do ativo. Outro fator que pode ter influenciado a eficácia do recobrimento entérico é que ativos alcalinos necessitam de grandes ganhos de camadas para que possam se manter estáveis no meio ácido. Ativos à base de um ácido fraco ( $pK$  ácido clorogênico  $\approx 8,5$ ) e uma base forte podem diminuir a estabilidade do recobrimento entérico no fluido gástrico (Dittgen et al., 1997; Sauerwald et al., 1998).

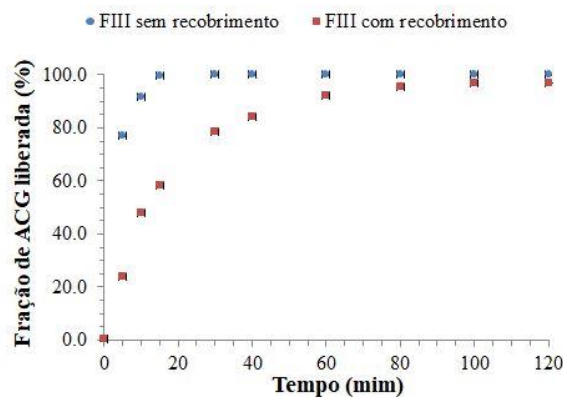
Bruce et al. (2003) estudaram o perfil de dissolução de *pellets* contendo valporato de sódio (ativo com propriedades alcalinas e muito solúvel em água). Os autores observaram que o revestimento entérico intumescia e permitia a permeação do meio de dissolução no filme de recobrimento. A permeação do meio no núcleo dos *pellets* dissolvia o valporato de sódio, aumentando o

pH na interface núcleo dos *pellets*/filme de recobrimento, fazendo com que o polímero se ionizasse e dissolvesse prematuramente. Para minimizar o efeito do pH na ionização e dissolução do recobrimento entérico, os autores adicionaram ácido cítrico a formulação dos *pellets*. As condições, agora ácidas, suprimiram a ionização do polímero entérico, reduzindo a permeação do meio de dissolução e proporcionando um maior controle na liberação do ativo, sendo necessário um ganho de camada polimérica menor para se atingir a gastroresistencia.

Uma alternativa para melhorar a estabilidade do recobrimento entérico no fluido gástrico simulado foi o desenvolvimento de uma formulação (FIII) que contribuísse para manter um pH microambiental ácido.

Na Figura 4 estão apresentados os resultados dos ensaios de dissolução *in vitro*, no meio ácido, dos *pellets* FIII sem recobrimentos e recobertos.

Figura 4: Ensaio de dissolução *in vitro* *Pellets* FIII



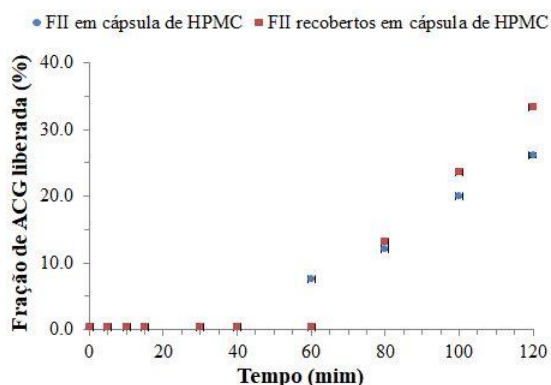
Os resultados apresentados na Figura 3 mostram que acidificar o núcleo dos *pellets* não afetou a liberação dos ACGs quando comparado aos *pellets* que não continham ácido cítrico na formulação. O ganho de camada com recobrimento entérico para as três formulações não foi suficiente para evitar que os ACGs se solubilizassem no fluido gástrico simulado. Os revestimentos entéricos são utilizados para proteger a substância da degradação pelo pH ácido do estômago e aumentar a disponibilidade em pH básico do intestino, controlando a velocidade de liberação e absorção máxima (Allen JR et al.

2007). Com base nos resultados, e reconhece-se que é necessário aumentar a disponibilidade dos ACGs no intestino, onde a absorção de nutrientes é melhor, a camada protetora deve ser capaz diminuir o contato entre o meio aquoso e o ativo.

Uma alternativa proposta nesse trabalho para minimizar a dissolução dos ACGs no fluido gástrico simulado foi a utilização de cápsulas de hidroxpropilmetilcelulose (HPMC). As cápsulas de HPMC estão disponíveis comercialmente, principalmente para a indústria de suplementos dietéticos, como uma alternativa vegetariana à gelatina. Cole et al. (2002) utilizaram cápsulas de HPMC recobertas com polímero entérico para modular a liberação *in vitro* de paracetamol. Os resultados mostraram que as cápsulas de HPMC tiveram uma maior influência no perfil de dissolução do paracetamol do que o revestimento entérico. O HPMC proporcionou uma barreira impermeável eficiente, dificultando o processo de difusão do fármaco no fluido gastrointestinal em que foi exposto.

Levando em consideração os resultados obtidos por Cole et al. (2002), os *pellets* FII com e sem recobrimento foram colocados em cápsulas de HPMC e submetidos ao ensaio de dissolução *in vitro* no meio ácido. Os resultados estão apresentados na Figura 5.

Figura 5: Teste de dissolução *in vitro* em meio ácido de FII em cápsula de HPMC



O gráfico apresentado na Figura 5 demonstra que as cápsulas de HPMC melhoraram significativamente o perfil de dissolução do ácido clorogênico presente nos *pellets* da formulação FII. Para os *pellets* sem

recobrimento, durante os 40 minutos iniciais do ensaio não há liberação do ativo, e após duas horas apenas 26% havia sido liberado. Os *pellets* recobertos apresentaram liberação dos ACGs em 80 minutos de ensaio, e após duas horas 33% do ativo foi liberado. Observa-se um atraso de 20 minutos na liberação do ativo para os *pellets* que foram recobertos com Eudragir® L-100. O HPMC, um derivado semissintético da celulose, tem sido estudado como barreira de liberação controlada devido à sua propriedade hidrofílica de formação de gel. Uma vez em contato com um meio líquido, o HPMC se hidrata e incha, formando uma barreira de hidrogel que regula a penetração adicional do líquido na matriz dos *pellets* e a dissolução do ativo no seu interior. Por consequência, a liberação do ativo é realizada por difusão ou erosão.

## CONCLUSÕES

Com base nos resultados apresentados, conclui-se que é possível a produção de *pellets* dentro das especificações utilizando a biomassa de café verde como fonte de ACGs. Devido à alta solubilidade dos ACGs em meio aquoso, o ganho de camada polimérica entérica conferida aos *pellets* com formulações FI, FII e FIII não foram suficientes para evitar a permeação do meio de dissolução no núcleo dos *pellets*, ocasionando a liberação completa dos ACGs em menos de duas horas de ensaio de dissolução. A liberação do ativo foi mais bem controlada com o uso de cápsula de HPMC. A característica de intumescimento e formação de uma barreira de hidrogel do HPMC dificultou o processo de difusão do ativo, promovendo uma liberação controlada.

Este trabalho fornece ao grupo de pesquisa subsídios para estudos futuros com a utilização do HPMC para modular o perfil de liberação dos ácidos clorogênicos.

## NOMENCLATURA

- $\eta$  – Eficiência do processo (%)
- $\varphi$  – Ganho de Camada Real (%)
- U – Umidade (%)
- $d_{ps}$  – Diâmetro médio de Sauter (mm).

## AGRADECIMENTOS



Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico (CNPQ) pela bolsa 141055/2017-0 e ao Instituto Mauá de Tecnologia pela bolsa de apoio financeiro. Os autores agradecem aos alunos de iniciação científica João Viktor de Oliveira Souza, Maria Fernanda Dionisio Batista e Pedro Bissolotti Vendrasco, pela colaboração no desenvolvimento do trabalho.

## REFERÊNCIAS

- ABDUL, S., CHANDEWAR, A. V., JAISWAL, S.B. (2010), Aflexible technology for modified-release drugs: multiple-unit pellet system (MUPS), *Journal of Controlled Release*, Vol 1, p. 2-16.
- ALLEN JR, L. V., POPOVICH, N. G., ANSEL, H. C. (2007). *Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos*. 8ed. Porto Alegre, Artmed, p. 776.
- BELAY, A., GHOLAP, V. (2009), Characterization and determination of chlorogenic acid (CGA) in coffee beans by UV-VIS Spectroscopy. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*, Vol 3, p. 234-240.
- BERTRAND B., GUYOT, B., ANTHONY, F., LASHERMES, P. (2003). Impacto f the *Coffea canéfora* gene introgression on beverage quality of *C. arábica*. *Theoretical and Applied Genetics*, Vol 107, p. 387-394.
- BOELSMA, E., HENDRIKS, H. F. J., ROZA, L. (2001). Nutritional skin care: health effects of micronutrientes and fatty acids. *The American Journal of Clinical Nutrition*, Vol 73, p. 853-864.
- CASTRO, A. C .C. M., ODA, F. B., ALMEIDA-CINCOTTO, M. G. J., DAVANÇO, M.G., CHIARI-ANDREO, B. G., CICALI, R. M. B., PECCININI, R. G., ZOCCOLO, G. J., RIBEIRO, P. R. V., CORRÊA, M. A., ISAAC, V. L. B., SANTOS, A. G. (2018). Green coffee seed residues: a sustainable source of antioxidant compounds. *Food Chemistry*, Vol 246, p. 48-57.
- CLIFFORD, M. N., KNIGHT, S., KUHNERT, N. (2005), Discriminating between the six isomers of dicaffeoylquinic acid by LC-MSn, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol 53, p 3821-3832.
- COLE, E. T., SCOTT, R. A., CONNOR, A. L., WILDING, I. R., PETEREIT, H-U., SCHMINKE, C., BECKERT, T., CADÉ, D. (2002), Enteric coated HPMC capsules designed to achieve intestinal targeting, Vol 1, p. 83-95.
- COLOMBO, P., BETTINI, R., SANTI, P., PEPPAS, N. A. (2000), Swellable matrices for controlled drug delivery: gel-layer behavior, mechanisms and optimal performance, *Pharmaceutical Science & Technology Today*, Vol 3, p. 198-204.
- DEWETTINCK, K., HUYGHEBAERT, A. (1999). Fluidized bed coating in food technology. *Trends in Food Science & Technology*, 10, 163-168.
- DITTEGEM, M.; DURRANI, M.; LEHMANN, K. S. R. T. (1997), Acrylic polymers: a review of pharmaceutical application. *STP Pharma Sciences*, Vol 7, p. 403-437.
- ERK, T., WILLIAMSON, G., RENOUF, M., MARMET, C., STEILLING, H., DIONIDI, F., BARRON, D., MELCHER, R., RICHLING, E. (2012), Dose-dependent absorption of chlorogenic acids in the small intestine assessed by coffee consumption in ileostomists, *Molecular Nutrition & Food Research*, Vol 56, p. 1488-1500.
- ESQUIVEL, P., JIMENEZ, V. M.J. (2012). Functional properties of coffee and coffee by-products. *Food Research International*, 46(2): 488-95.
- FARAH, A., PAULIS, T., TRUGO, C. L., MARTIN, R. P. (2005) Effect of roasting on the formation of chlorogenic acid lactones in coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1505-1513.
- FARAH, A., DUARTE, G. (2015). Bioavailability and metabolism of chlorogenic acid from coffee. *Coffee in Health and Disease Prevention*. Academic Press, p. 789-801.

- FARAH, A., FERREIRA, T., (2015), The coffee plant and beans: An introduction. In: Coffee in health and disease prevention, Ed. V.R. Preedy, p. 5-10, Boca Raton.
- FARREL, T. L., DEW, T. P. POQUET, L., HANSON, P. WILLIAMSON, G. (2011), Absorption and metabolism of chlorogenic acids in cultures gastric epithelial monolayers, Drug Metab Dispo, Vol 39, p. 2338-2346.
- LAFAY, S. GIL-IZQUIERDO, A., MANACH, C., MORAND, C., BESSON, C., SCALBERT, A. (2006). Chlorogenic acid is absorbed in its intact form in the stomach of rats. The Journal of Nutrition, 136, 1192-1197.
- GHEBRE-SELLASSIE, I. (1989). *Pellets*: a general overview. Pharmaceutical Pelletization Technology, 1Ed, 1-13.
- JONES, D. M. (1985). Factores to consider in fluid-bed processing. Pharmaceutical Technology, Vol 9, p. 50.
- LASHERMES, P., ANDRADE, A.C., ETIENNE, H. (2008). Genomics of coffee, one of the world's largest traded commodities. P.H MORE, R. MING (EDs), Genomics of Tropical Crop Plants, Springer, NEW YORK, p. 203-225.
- LEE, K., LEE, J. S., JANG, H. J., KIM, S. M. (2012). Chlorogenic acid ameliorates brain damage and edema by inhibiting matrix metalloproteinase-2 and 9 in a rat modelo f focal cerebral ischemia. European Journal of Pharmacology, Vol 689, p. 89-95.
- LIANG, N., KITTS, D. D. (2016). Role of chlorogenic acids in controlling oxidative and inflammatory stress conditions. Nutrients, Vol 8, p. 16.
- LIU, F., LIZIO, R., MEIER, C., PETEREIT, H-U., BLAKEY, P., BASIT, A. W. (2009). A novel concept in enteric coating: a double-coating system providing rapid drug release in the proximal small intestine. Journal of Controlled Release, Vol 133, p. 119-124.
- LIU, Y. J., ZHOU, C. Y., QIU, C. H., LU, X. M. (2013). Chlorogenic acid induced apoptosis and inhibition of proliferation in human acute promyelocytic leukemia HL-60 cells. Molecular Medicine Reports, Vol 8, p. 1106-1110.
- MAMANI, P. L., RUIZ-CARO, R., VEIGA, M. D. (2012), Matrix tablets: the effect of hidroxipropy Methylcellulose/anhydrous dibasic calcium phosphate rasion on the release rate of a water-soluble drug through the gastrointestinal tract I. *in vitro* tests, Vol 13, p. 1073-1083.
- MENG, S., CAO, J., FENG, Q., PENG, J. (2013). Roles of chlorogenic acido n reguating glucose and lipis metabolismo: a review. Evidence-Based Compementary and Alternativa Medicine, Vol 1, p. 801457.
- NAKAYAMA, S., KATOH, E. M., TSUZUKI, T., KOBAYASHI, S. (2003). Protective effect of alpha-tocopherol-6-O-phosphate against ultravioleta B-induced damage in culture mouse skin. Journal of Investigative Dermatology, Vol 12, p. 406-411.
- OHNISHI, M., MORISHITA, H., IWAHASHI, H., TODA, S., SHIRATAKI, Y., KIMURA, M. 1994. Inhibitory effects of chlorogenic acids on linoleic acid peroxidation and haemolysis. PHYTOCHEMISTRY, Vol 36, p. 579-583.
- OLIVEIRA, É. R., SILVA, R. F., SNTOS, P. R., QUEIROZ, F. (2019). Na investigation onto green coffee press cake as a renewable source of bioactive compounds. International Journal of Food Science & Technology, Vol 54, p. 1187-1196.
- OLTHOF, M.R., HOLLMAN, P. C. H., KATAN, M. B. (2001). Chlorogenic acid and caffeic acid are absorbed in humans. The Journal of Nutrition, Vol 131, p. 066-71.
- PARRAS, P., MARTÍNEZ-TOMÉ, M., JIMÉNEZ, A. M., MURCIA, M.A. 2007. Antioxidante capacity of coffees of several origins brewed following three diferente procedures. Food Chemistry, Vol 102, p. 582-592.
- PEREDA, M. D. C. V., DIEAMANT, G. D. C., EBERLIN, S., NOGUEIRA, C., COMBI, D., STASI, L. C. D. (2009). Effect of green Coffea arábica L. seed

- oil on extracellular matrix components and water-channel expression. In vitro and ex vivo human skin models. *Journal of Cosmetic Dermatology*, Vol 8, p. 56-62.
- PIMPLEY, E., PATIL, S., SRINIVASAN, K., DESAI, N., MURTHY, P. (2020), The chemistry of chlorogenic acid from green coffee and its role in attenuation of obesity and diabetes, *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, Vol 50, p. 969-978.
- SAHOO, G. P., PARASHAR, B. (2013). Pharmaceutical processing-a review on spheronization technology. *Journal of Pharmaceutical Research and Opinion*, Vol 3, p. 65-8.
- SAUERWALD, N.; SCHWENK, M.; POLSTER, J. BENGSCHE, E. (1998), Spectrometric pK determination of daphnetin, chlorogenic acid and quercetin. *Zeitschrift Fur Naturforschung B*, Vol 53, p. 315-321.
- SPEER, R.J., RLDGWAY, H., HILL, J. M. (1962). Lipids of the human spleen. *American Journal of Clinical Pathology*, Vol 38, p. 397-303.
- TAJIK, N., TAJIK, M., MACK, I., ENCK, P. (2017). The potential effects of chlorogenic acid, the main phenolic component in coffee, on health: a comprehensive review of the literature. *European Journal of Nutrition*, Vol 56, p. 2215-2244.
- VERVAET, C. BAERT, L., REMON, J. P. (1995). Extrusion-spheronisation a literature review. *International Journal of Pharmaceutics*, Vol 116, p. 131-146.
- VIDAL, O. L., SANTOS, M. C. B., BATISTA, A. P., ANDRIGO, F. F., BAREA, B., LECOMTE, J., ESPINOZA, M. C. F., GONTARD, N., VILLENEUVE, P., GUILLARD, V., REZENDE, C. M., LACANAL, C. B., FERREIRA, M. S. L. (2022), Active packaging films containing antioxidant extracts from green coffee oil by-products to prevent lipid oxidation, *Journal of Food Engineering*, Vol 312, p.110744.
- ZHAO, Y., WANG, J., BALLEVRE, O., LUO, H. (2012). Antihypertensive effects and mechanisms of chlorogenic acids. *Hypertension Research*, Vol 35, p. 370-374.