PIRÓLISE DA PALHA DE CAFÉ: EFEITO DA TAXA DE AQUECIMENTO NA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E ANTIBIOFILME

Athos de Oliveira Sabino, Nicolly Soares Ferreira, Amábile Mareto de Lacerda, Bruno Fonseca Coelho, Josinaldo de Oliveira Dias, Juliana Alves Resende

Universidade Federal do Espírito Santo, Alto Universitário, s/n, Guararema - 29500-000 - Alegre-ES, Brasil, oliveiraathos223@gmail.com, ni.colly_ferreira@hotmail.com, amabile.mareto01@gmail.com, brufon23@gmail.com, josinaldo.dias@ufes.br, juliana.resende@ufes.br.

Resumo

A valorização da palha de café por pirólise pode gerar líquidos pirolenhosos com potencial antimicrobiano e antibiofilme. Este estudo caracterizou líquidos obtidos de *Coffea canephora* sob atmosfera de nitrogênio, utilizando taxas de aquecimento de 3 e 7 °C·min^{-1}. As amostras foram analisadas por FTIR-ATR e avaliadas contra *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* e *Staphylococcus epidermidis*. As concentrações inibitórias mínimas foram iguais nas duas condições, correspondendo a 2,5%, 5% e 10%, respectivamente. Todos os tratamentos reduziram significativamente a biomassa dos biofilmes, com reduções de 28,6% a 85,5%, destacando-se os efeitos sobre *K. pneumoniae* e *S. epidermidis*. Não foram observadas diferenças significativas entre as taxas de aquecimento. Os resultados demonstram o potencial do líquido pirolenhoso da palha de café como fonte de compostos com atividade antimicrobiana e antibiofilme.

Palavras-chave: Biofilmes bacterianos. Líquido pirolenhoso. Atividade antimicrobiana. Palha de café.

Área do Conhecimento: Ciências Biológicas.

Introdução

Os biofilmes são comunidades microbianas aderidas a superfícies e envolvidas por uma matriz extracelular constituída principalmente por polissacarídeos, proteínas e DNA. Essa organização favorece a persistência bacteriana e aumenta a tolerância aos agentes antimicrobianos, tornando o controle de contaminações e infecções um desafio relevante em diferentes contextos (Mevo *et al.*, 2021).

Entre as espécies com reconhecida capacidade de formação de biofilme, *Pseudomonas aeruginosa* destaca-se como patógeno oportunista associado a infecções e elevada persistência (Neves *et al.*, 2021). *Staphylococcus epidermidis*, embora integre a microbiota da pele, está associado a infecções relacionadas a cateteres e outros dispositivos médicos (Otto, 2009), enquanto *Klebsiella pneumoniae* pode causar diferentes infecções e utilizar o biofilme como estratégia de persistência e proteção frente a condições adversas (Paczosa; Mecsas, 2016).

A busca por novas estratégias de controle microbiano também pode ser integrada ao aproveitamento de resíduos agroindustriais. A palha de café (*Coffea canephora*) é uma biomassa lignocelulósica passível de conversão por pirólise em frações sólidas, gasosas e líquidas de interesse tecnológico (Hoseini *et al.*, 2021). Sob atmosfera inerte de nitrogênio, a decomposição térmica ocorre na ausência de oxigênio e os vapores condensáveis originam líquidos contendo diferentes classes de compostos oxigenados. A composição dessas frações pode ser modulada pelas condições do processo, incluindo a taxa de aquecimento (Lazzari *et al.*, 2018), e sua atividade antimicrobiana tem sido relacionada à presença conjunta de ácidos orgânicos, compostos fenólicos e outros constituintes (Suresh *et al.*, 2019).

Diante do potencial de valorização da palha de café e da necessidade de alternativas para o controle de biofilmes, este estudo teve como objetivo caracterizar os grupos funcionais e avaliar as atividades antimicrobiana e antibiofilme de líquidos pirolenhosos obtidos sob atmosfera de nitrogênio nas taxas de aquecimento de 3 e 7 °C·min^{-1} frente a *P. aeruginosa*, *S. epidermidis* e *K. pneumoniae*.

Metodologia

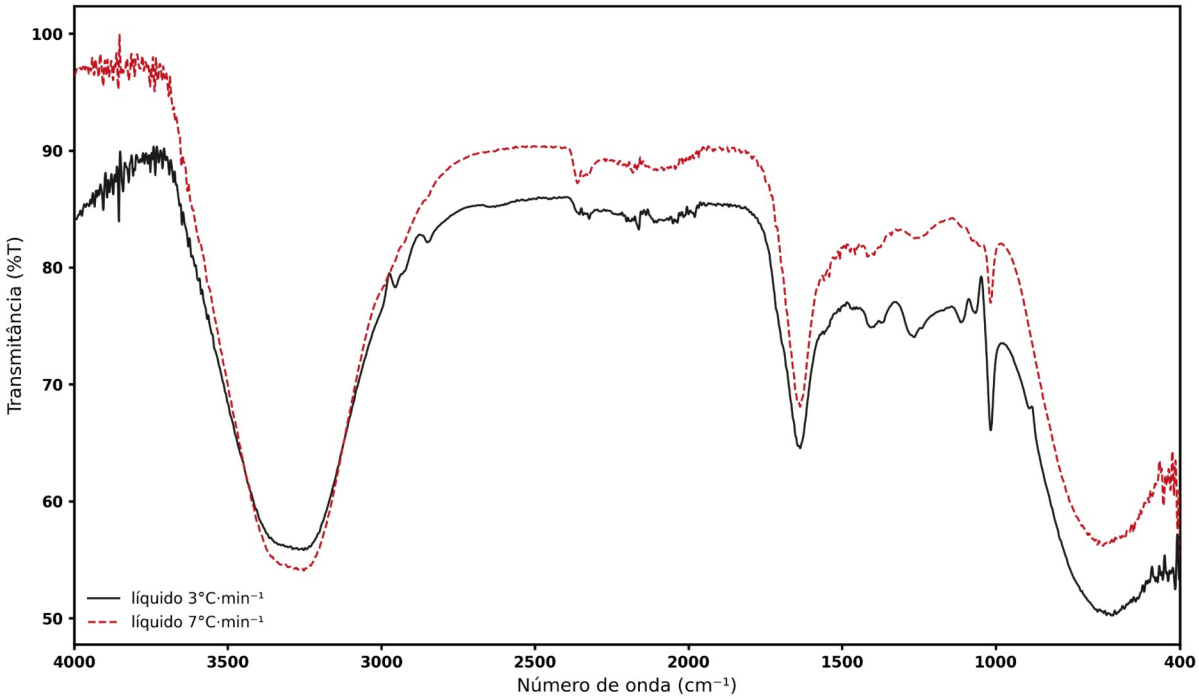
O líquido pirolenhoso foi produzido a partir da palha de café por pirólise lenta em reator de leito fixo, sob atmosfera inerte de nitrogênio (N_2). Os ensaios foram conduzidos até 450 °C, utilizando taxas de aquecimento de 3 e 7 °C·min^{-1}, seguidas de permanência isotérmica por 60 min. Os vapores gerados durante a decomposição térmica foram conduzidos a um sistema de condensação para recuperação da fração líquida. Após a coleta, o líquido pirolenhoso bruto foi submetido à destilação para separação das frações líquidas, posteriormente acondicionadas para caracterização. Os grupos funcionais foram analisados por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier em modo de reflectância total atenuada (FTIR-ATR), utilizando espectrômetro JASCO FT/IR-4100. Os espectros foram adquiridos entre 4000 e 400 cm^{-1}, com resolução de 4,0 cm^{-1} e 64 acumulações, sendo expressos em transmitância (%T).

Foram avaliadas as linhagens *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 e *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228. A atividade antimicrobiana dos líquidos obtidos nas taxas de 3 e 7 °C·min^{-1} foi determinada por microdiluição em caldo para obtenção da concentração inibitória mínima (CIM). A atividade antibiofilme foi avaliada, nas respectivas CIM, pelo método do cristal violeta 0,1% em placas de 96 poços. No ensaio de inibição da formação, as suspensões bacterianas permaneceram em contato com os líquidos por 24 h, a 35 °C. Para o ensaio de desarticulação, os biofilmes foram previamente formados por 24 h e, após lavagem, expostos aos líquidos por 1 h. A biomassa aderida foi fixada com metanol, corada com cristal violeta a 0,1% e o corante retido foi solubilizado em etanol 95%, seguido de leitura da absorbância a 596 nm. A capacidade de formação de biofilme foi classificada conforme Stepanović *et al.* (2000). Os dados foram analisados por ANOVA de uma via, seguida do teste de Dunnett para comparação com o grupo sem tratamento e do teste de Tukey para comparação entre tratamentos, adotando-se $p < 0,05$.

Resultados

Os espectros de FTIR dos líquidos pirolenhosos obtidos por pirólise da palha de café apresentaram perfis qualitativamente semelhantes, embora tenham sido observadas diferenças na transmitância entre as amostras (Figura 1). Em ambos os espectros, foi identificada uma banda larga entre 3600 e 3000 cm^{-1}, atribuída ao estiramento O–H, além de absorções entre 3000 e 2800 cm^{-1}, relacionadas ao estiramento C–H de grupos alifáticos. Na região de 1750–1650 cm^{-1}, foi observada uma banda associada ao estiramento C=O, enquanto as absorções entre 1650 e 1500 cm^{-1} foram atribuídas às ligações C=C de estruturas aromáticas. Entre 1500 e 1000 cm^{-1}, foram identificadas bandas relacionadas às vibrações C–O e C–O–C.

Figura 1 - Espectros de FTIR dos líquidos pirolenhosos da palha de café obtidos nas taxas de aquecimento de 3 e 7 °C·min⁻¹.



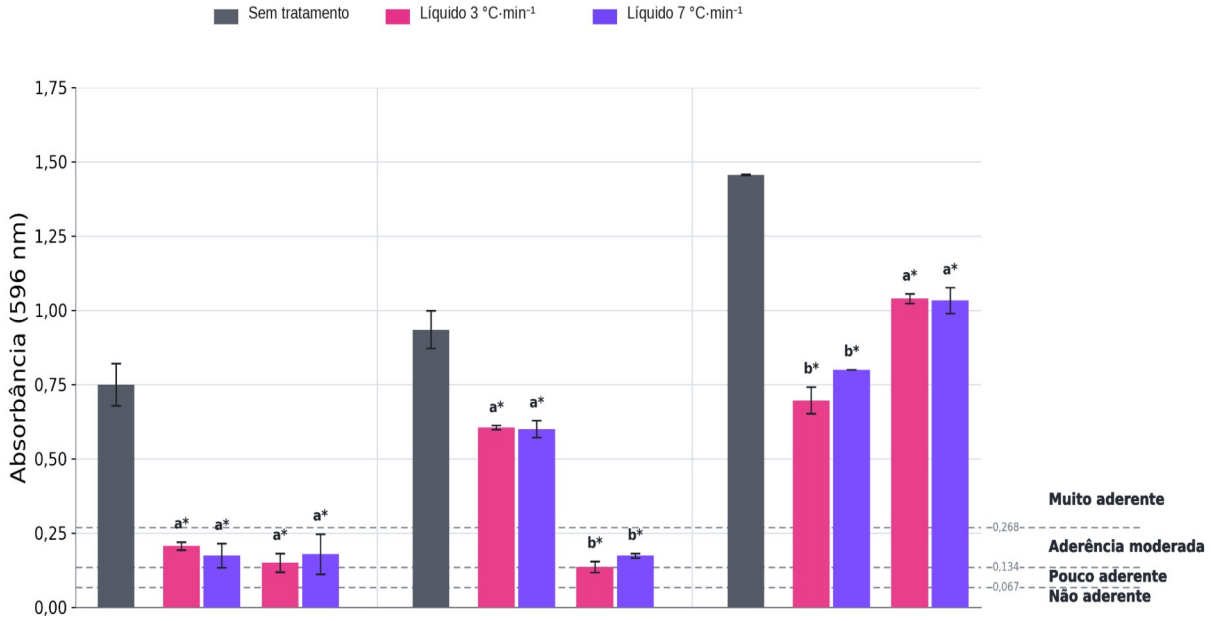
Fonte: elaborado pelos autores (2026).

Os líquidos produzidos nas duas taxas de aquecimento apresentaram atividade antimicrobiana frente às três espécies, com valores de CIM coincidentes entre as condições de pirólise: 2,5% para *P. aeruginosa*, 5% para *K. pneumoniae* e 10% para *S. epidermidis*.

Nos ensaios de biofilme, todos os tratamentos apresentaram biomassa significativamente menor que os respectivos grupos sem tratamento (Dunnett, $p < 0,05$; Figura 2). Na inibição da formação, os líquidos de 3 e 7 °C·min⁻¹ reduziram a biomassa em 72,5% e 76,8% para *K. pneumoniae*, 35,3% e 35,8% para *S. epidermidis* e 52,2% e 45,1% para *P. aeruginosa*, respectivamente.

Na desarticulação dos biofilmes pré-formados, as reduções foram de 80,0% e 76,2% para *K. pneumoniae*, 85,5% e 81,4% para *S. epidermidis* e 28,6% e 29,1% para *P. aeruginosa*, respectivamente. Para *K. pneumoniae*, os tratamentos promoveram efeito expressivo nas duas etapas e modificaram a classificação do biofilme de muito para moderadamente aderente. Em *S. epidermidis*, destacou-se a elevada redução dos biofilmes pré-formados, enquanto em *P. aeruginosa* o efeito foi mais pronunciado durante a formação. Dentro de cada condição experimental, não foram detectadas diferenças significativas entre os líquidos obtidos a 3 e 7 °C·min⁻¹ (Tukey, $p > 0,05$).

Figura 2 - Biomassa dos biofilmes na ausência de tratamento e após exposição aos líquidos pirolenhosos nas respectivas CIM.



Legenda: * indica diferença significativa em relação ao grupo sem tratamento pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$). Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos dentro de cada espécie pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).
Fonte: elaborado pelos autores (2026).

Discussão

Os perfis de FTIR-ATR demonstraram que os líquidos obtidos sob atmosfera de nitrogênio compartilham as principais classes de grupos funcionais características de produtos da conversão termoquímica de biomassa lignocelulósica. A presença de regiões associadas a grupos hidroxila, carbonila, estruturas aromáticas e ligações C-O/C-O-C é compatível com a formação de uma mistura complexa de compostos oxigenados provenientes da degradação térmica da celulose, hemicelulose e lignina (Lazzari *et al.*, 2018). As diferenças de transmitância observadas entre os líquidos indicam que a taxa de aquecimento pode modificar a contribuição relativa dessas classes, mantendo, entretanto, um perfil funcional global semelhante.

A atividade antimicrobiana foi consistente nas duas condições de pirólise, uma vez que os líquidos produzidos a 3 e 7 °C·min^{-1} apresentaram os mesmos valores de CIM para cada espécie. A maior atividade foi observada frente a *P. aeruginosa*, com CIM de 2,5%, seguida de *K. pneumoniae* (5%) e *S. epidermidis* (10%), evidenciando resposta dependente da espécie. Esse efeito é compatível com a atividade já descrita para líquidos derivados de pirólise, cuja ação antimicrobiana pode resultar da contribuição conjunta de ácidos orgânicos, compostos fenólicos e outros constituintes oxigenados (Suresh *et al.*, 2019; Medeiros; Gasparotto, 2022). A manutenção das CIM nas duas taxas de aquecimento demonstra que a atividade antibacteriana foi preservada mesmo com a alteração desse parâmetro de processo.

O efeito sobre os biofilmes confirmou atividade em diferentes etapas de desenvolvimento e revelou padrões específicos para cada bactéria. Em *K. pneumoniae*, as reduções permaneceram elevadas tanto durante a formação (72,5-76,8%) quanto sobre o biofilme pré-formado (76,2-80,0%), acompanhadas da mudança de muito para moderadamente aderente. Em *S. epidermidis*, a redução de 81,4-85,5% do biofilme pré-formado constitui o resultado antibiofilme mais expressivo do estudo e demonstra forte capacidade de redução da biomassa já estabelecida. Para *P. aeruginosa*, a atividade foi mais pronunciada durante a formação, com reduções de 45,1-52,2%, comportamento coerente com a elevada capacidade de organização e persistência de biofilmes maduros dessa espécie (Walsh *et al.*,

2019). Em conjunto, esses resultados demonstram que os líquidos atuam tanto sobre o estabelecimento quanto sobre biofilmes previamente formados, embora a magnitude do efeito seja determinada pela espécie e pelo estágio de desenvolvimento.

A ausência de diferença significativa entre os líquidos obtidos a 3 e 7 °C·min^{-1}, dentro de cada condição de ensaio, é um resultado relevante do ponto de vista do processamento, pois demonstra que a atividade antimicrobiana e antibiofilme foi mantida nas duas taxas avaliadas. Dessa forma, a variação da taxa de aquecimento entre essas condições não comprometeu o desempenho biológico do produto. Considerando que o ensaio de cristal violeta mensura a biomassa aderida total, os resultados expressam diretamente a capacidade dos líquidos de reduzir o biofilme associado à superfície. A combinação entre atividade planctônica, redução significativa da biomassa e aproveitamento de um resíduo da cafeicultura reforça o potencial biotecnológico do líquido pirolenhoso obtido sob atmosfera de nitrogênio.

Conclusão

Os líquidos pirolenhosos obtidos da palha de café por pirólise sob atmosfera de nitrogênio apresentaram atividade antimicrobiana frente às três espécies avaliadas, com maior atividade frente a *P. aeruginosa*, seguida de *K. pneumoniae* e *S. epidermidis*. Nas respectivas CIM, os tratamentos reduziram significativamente a biomassa dos biofilmes, alcançando até 80,0% de redução para *K. pneumoniae*, 85,5% para *S. epidermidis* e 52,2% para *P. aeruginosa*. A resposta diferenciada entre formação e biofilme pré-formado evidencia atividade dependente da espécie e do estágio de desenvolvimento. A ausência de diferenças entre as taxas de 3 e 7 °C·min^{-1} demonstra que o potencial biológico foi preservado nas duas condições de processamento. Assim, a conversão da palha de café em líquido pirolenhoso sob atmosfera de nitrogênio mostra-se uma estratégia de valorização desse resíduo agroindustrial e de obtenção de produtos com potencial para aplicações em controle microbiano e antibiofilme.

Referências

HOSEINI, M. et al. Coffee by-products derived resources: a review. **Biomass and Bioenergy**, v. 148, art. 106009, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2021.106009. Acesso em: 31 ago. 2026.

LAZZARI, E. et al. Classification of biomass through their pyrolytic bio-oil composition using FTIR and PCA analysis. **Industrial Crops and Products**, v. 111, p. 856–864, 2018. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.11.005. Acesso em: 31 ago. 2026.

MEDEIROS, L. C. D.; GASPAROTTO, L. H. S. Pyroligneous acid and antibacterial activity: criticism of a paper by Araújo et al. (2018). **Journal of Applied Microbiology**, v. 132, n. 3, p. 1768–1770, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1111/jam.15281. Acesso em: 31 ago. 2026.

MEVO, S. I. U. et al. Promising strategies to control persistent enemies: some new technologies to combat biofilm in the food industry—a review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 20, n. 6, p. 5938–5964, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1111/1541-4337.12852. Acesso em: 31 ago. 2026.

NEVES, M. L. R. et al. A influência do quorum sensing na formação do biofilme por *Pseudomonas aeruginosa*. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 2, e33910212659, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.33448/rsd-v10i2.12659. Acesso em: 31 ago. 2026.

OTTO, M. *Staphylococcus epidermidis*—the “accidental” pathogen. **Nature Reviews Microbiology**, v. 7, n. 8, p. 555–567, 2009. Disponível em: https://doi.org/10.1038/nrmicro2182. Acesso em: 31 ago. 2026.

PACZOSA, M. K.; MECSAS, J. *Klebsiella pneumoniae*: going on the offense with a strong defense. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 80, n. 3, p. 629–661, 2016. Disponível em: https://doi.org/10.1128/MMBR.00078-15. Acesso em: 31 ago. 2026.

STEPANOVIĆ, S. et al. A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. **Journal of Microbiological Methods**, v. 40, n. 2, p. 175–179, 2000. Disponível em: https://doi.org/10.1016/S0167-7012(00)00122-6. Acesso em: 31 ago. 2026.

SURESH, G. et al. In vitro evaluation of antimicrobial efficacy of pyroligneous acid from softwood mixture. **Biotechnology Research and Innovation**, v. 3, n. 1, p. 47–53, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.biori.2019.02.004. Acesso em: 31 ago. 2026.

WALSH, D. J. et al. Antimicrobial activity of naturally occurring phenols and derivatives against biofilm and planktonic bacteria. **Frontiers in Chemistry**, v. 7, art. 653, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.3389/fchem.2019.00653. Acesso em: 31 ago. 2026.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), a Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. Os autores ainda agradecem ao Grupo Aplicado em Microbiologia (GRam) pelo apoio à realização deste trabalho.