EFEITO DA TAXA DE AQUECIMENTO NA ATIVIDADE ANTIBIOFILME DO LÍQUIDO PIROLENHOSO DA PALHA DE CAFÉ

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

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

Resumo

A valorização de resíduos da cafeicultura por pirólise pode gerar frações líquidas com atividade biológica de interesse. Este estudo avaliou o efeito das taxas de aquecimento de 3, 5 e 7 °C·min⁻¹ sobre as características funcionais e as atividades antimicrobiana e antibiofilme do líquido pirolenhoso da palha de café (*Coffea canephora*). Os líquidos foram obtidos por pirólise lenta a vácuo a 450 °C, caracterizados por FTIR-ATR e testados frente a *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa*. Todos apresentaram concentração inibitória mínima de 10%. Nessa concentração, reduziram significativamente a biomassa durante a formação dos biofilmes em 74,4-93,6% e a biomassa de biofilmes pré-formados em 41,5-83,2%. A taxa de 3 °C·min⁻¹ destacou-se no tratamento dos biofilmes pré-formados, apresentando as maiores reduções nas três espécies. Os espectros de FTIR-ATR revelaram perfis funcionais semelhantes entre as taxas. Os resultados demonstram que o líquido pirolenhoso da palha de café apresenta atividade antimicrobiana e potencial antibiofilme, valorizando esse resíduo agroindustrial como fonte de produtos bioativos.

Palavras-chave: Biofilmes bacterianos. Líquido pirolenhoso. Palha de café. Atividade antimicrobiana. Pirólise a vácuo.
Área do Conhecimento: Ciências Biológicas.

Introdução

O processamento do café gera grandes volumes de resíduos, cuja destinação adequada representa um desafio ambiental e, ao mesmo tempo, uma oportunidade de valorização da biomassa. A palha de café (*Coffea canephora*) é um resíduo lignocelulósico rico em celulose, hemicelulose e lignina, com potencial de aproveitamento em processos de conversão termoquímica para obtenção de produtos de maior valor agregado (Hoseini *et al.*, 2021).

Entre essas rotas, a pirólise a vácuo promove a decomposição térmica da biomassa sob pressão reduzida e favorece a rápida remoção dos vapores formados para o sistema de condensação. A composição e as propriedades da fração líquida dependem da matéria-prima e das condições operacionais, como temperatura, pressão e taxa de aquecimento (Khuenkaeo *et al.*, 2021). Assim, a variação da taxa de aquecimento pode modular a composição relativa do líquido pirolenhoso e, consequentemente, seu desempenho biológico.

A investigação dessa atividade é especialmente relevante para o controle de biofilmes bacterianos, comunidades aderidas a superfícies e envolvidas por uma matriz extracelular que aumenta sua persistência e dificulta a ação de agentes antimicrobianos (Maillard; Centeleghe, 2023; Grooters *et al.*, 2024). *Staphylococcus epidermidis* é reconhecido por sua capacidade de formar biofilmes associados a dispositivos médicos, enquanto *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa* são patógenos oportunistas capazes de persistir em diferentes ambientes por meio desse modo de crescimento (Otto, 2009; Soares; Alexandre; Etienne, 2020; Li; Ni, 2023).

Considerando que a prevenção do estabelecimento do biofilme e a redução de estruturas já formadas representam desafios distintos, este estudo teve como objetivo avaliar o efeito das taxas de aquecimento de 3, 5 e 7 °C·min⁻¹ sobre as características funcionais, a atividade antimicrobiana e o potencial antibiofilme dos líquidos obtidos por pirólise a vácuo da palha de café frente a *S. epidermidis*, *K. pneumoniae* e *P. aeruginosa*.

Metodologia

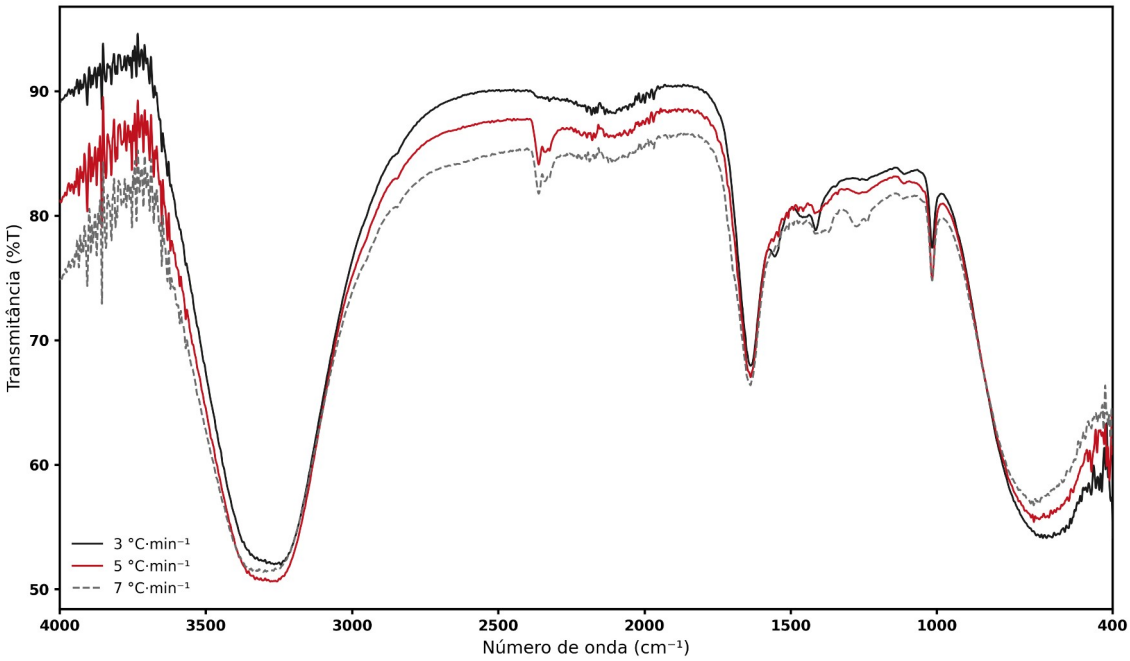
O líquido pirolenhoso foi produzido a partir da palha de café por pirólise lenta a vácuo em reator de leito fixo. Os ensaios foram conduzidos a 450 °C, com taxas de aquecimento de 3, 5 e 7 °C·min⁻¹ e permanência de 60 min na temperatura final. Os vapores gerados foram direcionados a um sistema de condensação para recuperação da fração líquida. Após a coleta, o líquido pirolenhoso bruto foi submetido à separação por destilação e as frações obtidas foram acondicionadas para as análises subsequentes. A caracterização dos grupos funcionais foi realizada por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier em modo de reflectância total atenuada (FTIR-ATR), em 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 utilizadas as linhagens *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 e *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228. A atividade antibacteriana dos líquidos obtidos nas três taxas de aquecimento foi avaliada por microdiluição em caldo para determinação da concentração inibitória mínima (CIM). A atividade antibiofilme foi investigada na concentração correspondente à CIM pelo método do cristal violeta em placas de 96 poços, utilizando poços sem líquido pirolenhoso como controles de biofilme. No ensaio de inibição da formação, o inóculo bacteriano foi incubado com o líquido pirolenhoso por 24 h a 35 °C. Para o tratamento de biofilmes pré-formados, os biofilmes foram inicialmente formados por 24 h e, em seguida, expostos ao líquido pirolenhoso por 1 h. Após lavagem e fixação com metanol, os biofilmes foram corados com cristal violeta a 0,1%, e o corante retido foi solubilizado em etanol 95%. A absorbância foi determinada a 596 nm e a intensidade do biofilme foi classificada conforme Stepanović et al. (2000). As reduções percentuais foram calculadas em relação ao grupo sem tratamento. Para cada espécie e condição experimental, os dados foram submetidos à ANOVA de uma via, seguida do teste de Dunnett para comparação com o controle sem tratamento e do teste de Tukey para comparação entre os líquidos obtidos nas diferentes taxas, adotando-se $p < 0,05$.

Resultados

Os espectros de FTIR-ATR dos líquidos obtidos sob vácuo apresentaram perfis semelhantes entre as três taxas de aquecimento (Figura 1). A banda larga entre 3600 e 3000 cm⁻¹ foi atribuída ao estiramento O–H de grupos hidroxila; a região de 3000–2800 cm⁻¹, ao estiramento C–H alifático; e a absorção em aproximadamente 1700–1650 cm⁻¹, ao estiramento C=O de grupos carbonílicos. As absorções entre 1600 e 1500 cm⁻¹ foram compatíveis com estruturas aromáticas, enquanto as bandas na região de 1500–1000 cm⁻¹ foram associadas a vibrações C–O e C–O–C. Não foram observadas novas bandas ou deslocamentos expressivos entre 3 e 7 °C·min⁻¹.

Figura 1 - Espectros de FTIR-ATR do líquido pirolenhoso da palha de café obtido por pirólise a vácuo nas taxas de aquecimento de 3, 5 e 7 °C·min⁻¹.



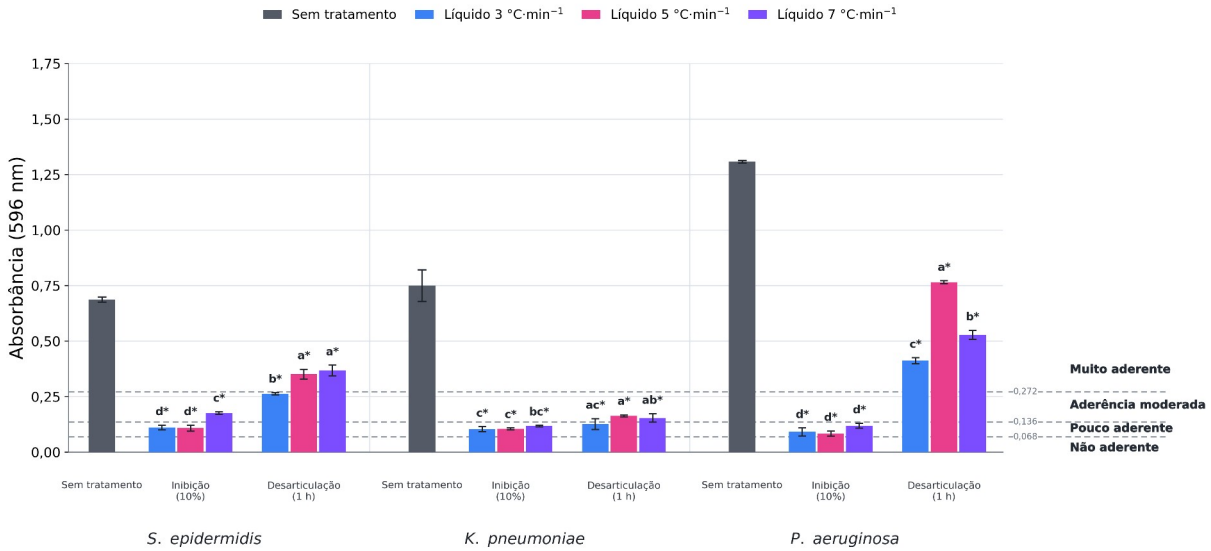
Fonte: os autores (2026).

A CIM foi de 10% para os líquidos obtidos nas taxas de aquecimento de 3, 5 e 7 °C·min⁻¹ frente a *S. epidermidis*, *K. pneumoniae* e *P. aeruginosa*. Assim, a concentração de 10% foi empregada nos ensaios subsequentes de biofilme.

Na inibição da formação de biofilme, todos os tratamentos diferiram do grupo sem tratamento ($p < 0,05$; Figura 2). Para *S. epidermidis*, as taxas de 3, 5 e 7 °C·min⁻¹ resultaram em absorbâncias médias de 0,110, 0,108 e 0,176, correspondentes a reduções de 83,9%, 84,3% e 74,4%, respectivamente. Para *K. pneumoniae*, as médias foram 0,104, 0,104 e 0,117, com reduções de 86,2%, 86,1% e 84,4%. Para *P. aeruginosa*, as médias foram 0,091, 0,083 e 0,119, com reduções de 93,0%, 93,6% e 90,9%. Considerando DOc = 0,068, os biofilmes tratados foram classificados como pouco aderentes, exceto *S. epidermidis* exposto ao líquido de 7 °C·min⁻¹, classificado como moderadamente aderente

Na desarticulação de biofilmes pré-formados, todos os tratamentos também apresentaram menor biomassa que o grupo sem tratamento ($p < 0,05$). Em *S. epidermidis*, as absorbâncias médias foram 0,263, 0,351 e 0,367, equivalentes a reduções de 61,8%, 48,9% e 46,6% nas taxas de 3, 5 e 7 °C·min⁻¹, respectivamente. Em *K. pneumoniae*, as médias foram 0,126, 0,163 e 0,154, com reduções de 83,2%, 78,3% e 79,5%. Em *P. aeruginosa*, as médias foram 0,411, 0,765 e 0,528, com reduções de 68,6%, 41,5% e 59,7%. Os tratamentos reduziram a biomassa, mas os biofilmes remanescentes variaram de pouco a muito aderentes, conforme a espécie e a taxa de aquecimento.

Figura 2 - Biomassa de biofilmes na ausência de tratamento e após exposição a 10% do líquido pirolenhoso obtido a 3, 5 e 7 °C·min⁻¹, durante a formação do biofilme e no tratamento de biofilmes pré-formados por 1 h.



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: os autores (2026).

Discussão

A CIM uniforme de 10% para as três espécies evidencia que a atividade antibacteriana foi preservada nos líquidos produzidos nas diferentes taxas de aquecimento. Paralelamente, a semelhança entre os espectros de FTIR-ATR demonstra estabilidade qualitativa das principais classes de grupos funcionais detectadas, apesar das mudanças no regime térmico. Em processos pirolíticos, a taxa de aquecimento influencia a formação e a distribuição relativa dos produtos líquidos (Khuenkaeo *et al.*, 2021); neste estudo, entretanto, as três condições foram capazes de gerar frações com atividade antimicrobiana comparável quanto à CIM, reforçando a robustez do processo para obtenção de um produto biologicamente ativo.

O efeito mais expressivo foi observado durante a inibição dos biofilmes. Reduções entre 74,4% e 93,6% demonstraram forte interferência no estabelecimento da biomassa aderida, com destaque para *P. aeruginosa*, cuja formação foi reduzida em mais de 90% nas três taxas de aquecimento. Além da magnitude percentual, a mudança dos biofilmes tratados para a categoria de pouco aderentes na maioria das condições reforça a relevância biológica do efeito observado. Estratégias capazes de atuar nas fases iniciais do biofilme são particularmente importantes porque podem dificultar a consolidação da matriz extracelular e a progressão para comunidades mais persistentes (Mevo *et al.*, 2021; Grooters *et al.*, 2024).

A atividade sobre biofilmes pré-formados também foi relevante, com reduções de 41,5% a 83,2% após apenas 1 h de exposição. Esse resultado ganha importância porque biofilmes maduros apresentam maior tolerância a agentes antimicrobianos em razão da matriz extracelular, da heterogeneidade metabólica e de alterações fisiológicas das células aderidas (Maillard; Centeleghe, 2023; Grooters *et al.*, 2024). A taxa de 3 °C·min⁻¹ apresentou o desempenho mais consistente nessa etapa, com as maiores reduções descritivas para *S. epidermidis*, *K. pneumoniae* e *P. aeruginosa*. Em conjunto, esses dados indicam que o líquido pirolenhoso atua tanto na prevenção do estabelecimento quanto na redução da biomassa de biofilmes já formados, ampliando sua relevância como fonte de agentes de controle microbiano.

A ausência de uma relação linear entre taxa de aquecimento e resposta biológica não reduz a consistência dos achados; ao contrário, evidencia que o desempenho depende da espécie e do estágio

do biofilme. Os perfis funcionais semelhantes por FTIR-ATR, associados às diferenças observadas no ensaio antibiofilme, sugerem que variações quantitativas na composição química das frações podem contribuir para a atividade. Esse conjunto de resultados agrega valor tecnológico à palha de café e sustenta o direcionamento de análises químicas mais detalhadas para identificação dos constituintes associados aos efeitos antimicrobiano e antibiofilme.

Conclusão

A pirólise lenta a vácuo da palha de café gerou líquidos pirolenhosos com atividade antimicrobiana e antibiofilme frente a *S. epidermidis*, *K. pneumoniae* e *P. aeruginosa*. Os três líquidos apresentaram CIM de 10% e, nessa concentração, reduziram significativamente a biomassa durante a formação dos biofilmes em até 93,6% e a biomassa de biofilmes pré-formados em até 83,2%. A taxa de 3 °C·min $^{-1}$ destacou-se no tratamento dos biofilmes já estabelecidos, enquanto todas as taxas apresentaram forte efeito durante a formação. Os perfis de FTIR-ATR confirmaram a manutenção das principais classes de grupos funcionais entre as condições de pirólise. Portanto, os resultados demonstram o potencial da palha de café como matéria-prima para obtenção de um produto bioativo de interesse no controle de biofilmes bacterianos, associando valorização de resíduo agroindustrial e aplicação microbiológica.

Referências

GROOTERS, K. E.; KU, J. C.; RICHTER, D. M.; KRINOCK, M. J.; MINOR, A.; LI, P.; KIM, A.; SAWYER, R.; LI, Y. Strategies for combating antibiotic resistance in bacterial biofilms. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, v. 14, 1352273, 2024. Disponível em: https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1352273. Acesso em: 16 ago. 2026.

HOSEINI, M.; COCCO, S.; CASUCCI, C.; CARDELLI, V.; CORTI, G. Coffee by-products derived resources: a review. *Biomass and Bioenergy*, v. 148, 106009, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2021.106009. Acesso em: 16 ago. 2026.

KHUENKAEO, N.; PHROMPHITHAK, S.; ONSREE, T.; NAQVI, S. R.; TIPPAYAWONG, N. Production and characterization of bio-oils from fast pyrolysis of tobacco processing wastes in an ablative reactor under vacuum. *PLOS ONE*, v. 16, n. 7, e0254485, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0254485. Acesso em: 16 ago. 2026.

LI, Y.; NI, M. Regulation of biofilm formation in *Klebsiella pneumoniae*. *Frontiers in Microbiology*, v. 14, 1238482, 2023. Disponível em: https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1238482. Acesso em: 16 ago. 2026.

MAILLARD, J. Y.; CENTELEGHE, I. How biofilm changes our understanding of cleaning and disinfection. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, v. 12, 95, 2023. Disponível em: https://doi.org/10.1186/s13756-023-01290-4. Acesso em: 16 ago. 2026.

MEVO, S. I. U.; ASHRAFUDOULLA, M.; MIZAN, M. F. R.; PARK, S. H.; HA, S. D. 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: 16 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: 16 ago. 2026.

SOARES, A.; ALEXANDRE, K.; ETIENNE, M. Tolerance and persistence of *Pseudomonas aeruginosa* in biofilms exposed to antibiotics: molecular mechanisms, antibiotic strategies and therapeutic perspectives. *Frontiers in Microbiology*, v. 11, 2057, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.02057. Acesso em: 16 ago. 2026.

STEPANOVIĆ, S.; VUKOVIĆ, D.; DAKIĆ, I.; SAVIĆ, B.; ŠVABIĆ-VLAHOVIĆ, M. 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: 16 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.