



ANTONIA ISADORA FERNANDES

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CARRAPATICIDA,
BACTERICIDA E DE INIBIÇÃO ENZIMÁTICA DE
EXTRATOS DE GRÃOS VERDE E TORRADO DE *Coffea*
arabica DE QUALIDADE INFERIOR**

LAVRAS – MG

2022

ANTONIA ISADORA FERNANDES

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CARRAPATICIDA, BACTERICIDA E DE
INIBIÇÃO ENZIMÁTICA DE EXTRATOS DE GRÃOS VERDE E TORRADO
DE *Coffea arabica* DE QUALIDADE INFERIOR**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, área de concentração Química/Bioquímica, para a obtenção do título de Mestre.

Profa. Dra. Maria das Graças Cardoso
Orientadora

Prof. Dr. Khalid Haddi
Prof. Dr. Luis Roberto Batista
Dr. Marcus Vinicius Prado Alves
Coorientadores

**LAVRAS- MG
2022**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Fernandes, Antonia Isadora.

Avaliação da atividade carrapaticida, bactericida e de inibição enzimática de extratos de grãos verde e torrado de *Coffea arabica* de qualidade inferior / Antonia Isadora Fernandes. - 2022.

81 p.

Orientador(a): Maria das Graças Cardoso.

Coorientador(a): Marcus Vinicius Prado Alves, Luis Roberto Batista, Khalid Haddid .

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2022.

Bibliografia.

1. Extratos vegetais. 2. Coffea arabica. 3. Atividade Biológica.
I. Cardoso, Maria das Graças. II. Alves, Marcus Vinicius Prado. III.
Batista, Luis Roberto. IV. Khalid Haddid.

ANTONIA ISADORA FERNANDES

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CARRAPATICIDA, BACTERICIDA E DE
INIBIÇÃO ENZIMÁTICA DE EXTRATOS DE GRÃOS VERDE E TORRADO
DE *Coffea arabica* DE QUALIDADE INFERIOR**

**EVALUATION OF CARRAPATICIDAL, BACTERICIDAL AND ENZYMATIC
INHIBITION ACTIVITY OF GREEN AND ROASTED GRAINS EXTRACTS
OF LOW QUALITY *Coffea arabica***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, área de concentração Química/Bioquímica, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 11 de fevereiro de 2022

Dr. Wilder Douglas Santiago

UFLA

Dr Luis Roberto Batista

UFLA

Dr. David Lee Nelson

UFVJM

Profa. Dra. Maria das Graças Cardoso
Orientadora

Prof. Dr. Khalid Haddi
Prof. Dr. Luis Roberto Batista
Dr. Marcus Vinicius Prado Alves
Coorientadores

LAVRAS- MG

2022

AGRADECIMENTOS

À Deus, por diariamente me fazer forte, resiliente e cada vez melhor em mais um caminho trilhado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) – Código de Financiamento 001 – à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo suporte financeiro e infraestrutura necessária para o desenvolvimento deste.

À minha mãe, Selma, e minha irmã, Isabel, pelo amor e pelo apoio na realização dos meus sonhos. Aos meus sobrinhos, Karen e João, por me motivar para que isso seja possível.

À minha orientadora, Profa. Dra. Maria das Graças Cardoso, pela oportunidade, confiança e orientação. Por todos os ensinamentos acadêmicos e pessoais, os quais levarei sempre comigo.

Aos meus coorientadores, Prof. Dr. Luis Roberto Batista e Prof. Dr. Khalid Haddi, por abrir as portas dos seus Laboratórios, para que pudesse realizar meus experimentos e por fornecerem todo o material e suporte. Ao Dr. Marcus Vinicius, por ser sempre solícito e pela imensurável ajuda durante todo esse período.

À Suzana Reis e à Maria Pineda, pela ajuda na montagem dos experimentos bactericida e inseticida.

Ao Prof. Dr. Rafael Remédio e ao doutorando Isaac Konig, pelo auxílio na realização dos testes carrapaticidas, desde a coleta até a análise dos dados.

Aos colegas de laboratório Marielly, Gabriela Campolina, Alex, Vanuzia, Maria Luisa e Carol, por prontamente me ajudarem na realização dos meus experimentos e pela boa convivência. À Pamela, Cássia, Gabriela Fontes, Marcus, Ana Paula, Maria Augusta, Maria Beatriz, Renan e Ianca, pela ajuda, diálogos e incentivo diário, dentro e fora da Universidade.

Aos amigos de república e de vida Victoria, Izabelly, Cecília, Carlos e Mateus, que cuidaram e estiveram comigo no momento que mais precisei, tornando tudo mais leve.

A todos os professores e funcionários do Departamento de Química da UFLA, pela ajuda e profissionalismo, bem como a Universidade Federal de Lavras e ao Programa de Pós Graduação em Agroquímica (PPGAQ) por toda a estrutura concedida.

RESUMO

O café corresponde a uma das commodity mundiais de maior importância e é uma das bebidas mais consumidas globalmente, sendo as espécies *Coffea arabica* (café arábica) e *Coffea canephora* (café robusta) mais conhecidas e cultivadas. Parâmetros como o método e preparo e qualidade dos grãos são fatores cruciais para que seja obtida uma bebida de qualidade. Por ser uma indústria de alta produção e consumo, a vasta produção de resíduos é inevitável. Esses subprodutos, por sua vez, são descartados de forma inadequada ou não reaproveitados, causando imenso impacto ambiental. O presente trabalho objetivou caracterizar quimicamente e avaliar as propriedades carrapaticida, bactericida e inibitória da enzima acetilcolinesterase de extratos etanólicos de café verde e torrado de qualidade inferior e não comercializados. Obtiveram-se os extratos, empregando-se a técnica de refluxo a quente, por 4 horas. Após, estes foram filtrados a vácuo, secos em temperatura ambiente, obtendo-se os extratos de café verde e torrado com valores de rendimento iguais a 3,44% e 13,34%, respectivamente. A caracterização química foi realizada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. Os principais constituintes encontrados foram a vanilina e os ácidos clorogênico e cafeico em ambos os extratos. Os extratos testados apresentaram atividade carrapaticida sobre *Rhipicephalus. microplus* em todas as concentrações analisadas, além de inibir a ovoposição satisfatoriamente. A atividade bactericida dos extratos de café verde foi alcançada a partir de concentrações mínimas $0,195\text{mg mL}^{-1}$ para *Escherichia coli* e $0,096\text{mg mL}^{-1}$ para *Staphylococcus aureus*, enquanto o extrato de café torrado apresentou atividade com concentrações mínimas equivalentes a $0,048\text{mg mL}^{-1}$ para as duas bactérias testadas. A avaliação de inibição enzimática não foi evidenciada nas concentrações testadas. Os resultados mostraram que os extratos de grãos verde e torrado de café de qualidade inferior podem ser considerados como promissores no estudo de novas moléculas antibacterianas e acaricidas, proporcionando novas utilizações para este subproduto.

Palavras-chave: Extratos vegetais. *Coffea arabica*. Atividade Biológica.

ABSTRACT

Coffee corresponds to one of the biggest commodity in the world, and it is one of the most widely consumed beverages globally. The species *Coffea arabica* (Arabica coffee) and *Coffea canephora* (robust coffee) are the best known and most widely cultivated. Parameters such as the method and preparation and quality of the grains are crucial factors for obtaining a quality beverage. A vast production of waste is inevitable because it is an industry of large production and consumption. These residues, in turn, are improperly disposed of or not reused, causing an immense environmental impact. The present work sought to evaluate the acaricide, bactericidal and acetylcholinesterase inhibitory properties of the ethanolic extracts of green and roasted coffee of inferior quality, which is not commercialized. The extracts were obtained by hot extraction, using a slow reflux for 4 hours. They were vacuum filtered and evaporated to furnish green and roasted coffee extracts with yields equal to 3.44% and 13.34%, respectively. Acaricide activity against *R. microplus* at all the analyzed concentrations was observed for the tested extracts, in addition to inhibiting oviposition satisfactorily. The minimum bactericidal concentration (MBC) of green coffee extracts was 0.195 mg mL⁻¹ for *E. coli* and 0.096 mg mL⁻¹ for *S. aureus*. The MBC of the roasted coffee extract was 0.048 mg mL⁻¹ for both bacteria. Little or no inhibition of cholinesterase activity was observed. The extracts of green and roasted coffee beans of inferior quality showed promise as antibacterial and acaricidal agents, providing new uses for this by-product.

Keywords: Plant extracts. Arabica coffee. Biological activity.

LISTA DE FIGURAS

PRIMEIRA PARTE – INTRODUÇÃO GERAL

Figura 1 - Grãos verdes de café não defeituosos e grãos verde de café com defeitos de origem intrínseca e extrínseca.	20
Figura 2: Esquema simplificado das vias sintetizadoras dos metabólitos secundários. .	25
Figura 3: Fatores influenciáveis na produção de metabólitos secundários vegetais.	26
Figura 4: <i>Rhipicephalus microplus</i> em fase parasitária.....	33
Figura 5: Ciclo vital de <i>Rhipicephalus microplus</i> nas fases parasitária e não parasitária.	34
Figura 6: Hidrólise da ACh em Ácido Acético e Colina catalisada pela AChE.	36
Figura 7: Transformação da ACh em colina e ácido acético a partir da ação da AChE.	38
Figura 8: (a) Indivíduos <i>E. coli</i> coradas; (b) Imagem de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) de <i>E. coli</i>	42
Figura 9: Imagem de MEV de <i>S. aureus</i>	43

LISTA DE TABELAS

SEGUNDA PARTE – ARTIGO

Tabela 1: Rendimento dos extratos etanólicos de Café Verde (CV) e Café Torrado (CT)	64
Tabela 2: Compostos presentes nos extratos identificados por HPLC.....	65
Tabela 3: Mortalidade de carrapatos <i>Rhipicephalus microplus</i> a diferentes concentrações de extratos de café verde.....	67
Tabela 4: Mortalidade de carrapatos <i>Rhipicephalus microplus</i> a diferentes concentrações de extratos de café torrado.	68
Tabela 5: Atividades de inibição enzimática da AChE obtidas para o carvacrol e extratos de café verde e torrado.....	70
Tabela 6: Concentrações Mínimas Inibitórias de extratos para <i>E.coli</i> e <i>S.aureus</i>	73

LISTA DE SIGLAS

µg	Micrograma
µL	Microlitro
3-HTP	3-hidroxitriptofano
ABTS	2,2'-azinobis-(3- etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)
ACh	Acetilcolina
AChE	Acetilcolinesterase
AIT	Adult Immersion Test – Teste de Imersão em Adultos
BChE	Butirilcolinesterase
BHI	Brain-Heart Infusion - Infusão de Cérebro e Coração
BLU	Base Livre de Umidade
CGA	Chlorogenic acids – ácidos clorogênicos
CL50	Concentrações Letais para 50% dos Indivíduos
CMI	Concentração Mínima Inibitória
CQA	Caffeoylquinic acids – ácidos cafeioquínicos
CT	Café Torrado
CV	Café Verde
diCQA	Dicaffeoylquinic acids – ácidos dicafeoilquínicos
DNA	Deoxyribonucleic acid – ácido desoxirribonucleico
DMAPP	Dimetilalildifosfato
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazila
DXPS	1-deoxi-D-xilulose-5-fosfato
EHEC	Enterohemorrágico
EIEC	Enteroinvasor
EPEC	Enteropatogênico

ETEC	Enterotoxigênico
FRAP	Ferric Ion Reducing Antioxidant Power – Poder Antioxidante Redutor de Íons Férricos
FQA	Feruloylquinic acids - ácidos feruloilquínicos
g	Gramas
GABA	γ -ácido aminobutírico
H	Horas
IPP	Isopentenildifosfato
LIT	Larvae Immersion Test – Teste de Imersão Larval
LPT	Larva Pack Test – Teste de Pacote Larval
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
mg	Miligramas
MH	Mueller Hinton
mL	Mililitros
mm	Milímetros
NI	Não Inibiu
nm	Nanômetros
°C	Graus Celsius
pH	Potencial hidrogeniônico
TSB	Tryptic Soy Both - Caldo de Soja Triptica
UFC	Unidades Formadoras de Colônia

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE – INTRODUÇÃO GERAL	15
1 INTRODUÇÃO	16
2 REFERENCIAL TEÓRICO	18
2.1 CAFÉ	18
2.2 TORRA DO CAFÉ	19
2.3 SUBPRODUTOS DA INDÚSTRIA DO CAFÉ	20
2.4 PROPRIEDADES BIOLÓGICAS DO CAFÉ	22
2.5 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS	24
2.6 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DOS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS ..	28
2.7 EXTRATOS VEGETAIS BIOLOGICAMENTE ATIVOS.....	29
2.8 CARRAPATOS	31
2.8.1 <i>Rhipicephalus microplus</i>	33
2.9 ACETILCOLINESTERASE	36
2.10 CONTAMINAÇÃO ALIMENTAR	40
2.10.1 <i>Escherichia coli</i>	41
2.10.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	43
2.11 APLICAÇÕES E MECANISMO DE AÇÃO BACTERICIDA DOS EXTRATOS VEGETAIS	44
REFERÊNCIAS.....	47
SEGUNDA PARTE – ARTIGO.....	56
1 INTRODUÇÃO	58
3 MATERIAL E MÉTODOS	59
3.1 Amostras	59
3.2 Obtenção dos Extratos Vegetais	59
3.3 Caracterização dos Extratos.....	60

3.4	Atividade carrapaticida	61
3.5	Atividade bactericida	61
3.5.1	Ativação das cepas bacterianas	61
3.5.2	Determinação da Concentração Inibitória Mínima.....	62
3.6	Atividade inibitória da enzima acetilcolinesterase	62
3.7	Análise estatística	63
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	63
4.1	Determinação da umidade e rendimento dos extratos	64
4.2	Caracterização dos Extratos	65
4.3	Atividade carrapaticida	67
4.4	Atividade inibitória da acetilcolinesterase	69
4.5	Atividade bactericida	73
5	CONCLUSÕES	75
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	77
	REFERENCIAS.....	78

PRIMEIRA PARTE – INTRODUÇÃO GERAL

1 INTRODUÇÃO

O café é uma das principais *commodities* globais e uma das bebidas mais consumidas ao redor do mundo. Dentre todas as 124 espécies já catalogadas, as espécies *Coffea arabica* (café arábica) e *Coffea canephora* (café robusta) ganham maior destaque devido a seu alto cultivo e suas características ímpares. No último biênio (2020-2021) a produção mundial de café foi estimada em 171,9 milhões de sacas de 60kg. Atualmente, o Brasil ocupa o lugar de maior produtor dos grãos, enquanto o continente europeu corresponde ao maior consumidor. Graças a sua abundância de compostos bioativos, o café mostra-se promissor para diversas aplicabilidades, não apenas na sua forma comumente consumida, mas também pela utilização de suas moléculas frente a microrganismos, parasitas e insetos, seja de forma isolada ou combinada com outros compostos. A partir da caracterização química do material obtido a partir do café, é possível detectar alguns dos compostos responsáveis por essas atividades e possíveis meios de ação.

As características sensoriais da bebida são influenciadas por diversos fatores como a variedade da cultivar, a qualidade dos grãos, a torra, a moagem e o preparo são de suma importância para garantir uma bebida superior. Se utilizados grãos de qualidade inferior ou uma torra inadequada, obtém-se uma bebida amarga e de baixo valor econômico.

Por ser uma indústria de grande volume produtivo, a produção cafeeira é responsável por grande geração de resíduos, tais como cascas, polpa, grãos de qualidade inferior, borra e efluentes. Diversos estudos já reutilizam esses subprodutos para o desenvolvimento de novos produtos, transformando-os em biocombustíveis e adubos orgânicos. Um desses resíduos que ainda é pouco explorado são os grãos defeituosos do café, detentores de ampla diversidade química e potencial biológico para inúmeras aplicações.

Mediante a resistência adquirida dos microrganismos a antimicrobianos sintéticos e produtos agrícolas já existentes e os possíveis danos ocasionados por estes, a necessidade da bioprospecção de novas moléculas que exerçam esse papel se faz necessária. O estudo de vegetais para essa finalidade é visto como uma alternativa promissora, uma vez que apresentam potencial inibitório, boa disponibilidade, poucos efeitos colaterais e desenvolvimento tardio de resistência.

Com o elevado crescimento populacional mundial, a demanda de produção de grandes quantidades de alimentos de forma segura e livre de contaminações é vista como um grande

desafio. O controle de parâmetros auxiliares na redução de contaminação bacteriana, muitas vezes, é dificultado durante processos como transporte, comercialização e preparo para o consumo, favorecendo assim o crescimento de bactérias produtoras de toxinas e indutoras de doenças. Justificado pela resistência adquirida pelo uso expandido e pelos possíveis danos à saúde do consumidor, o uso de antimicrobianos já conhecidos pode ser ineficiente. Porém, o uso de biomoléculas nesse caso pode apresentar resposta positiva.

Além das aplicações citadas, a procura por compostos que apresentem atividade acaricida também já é frequente. Baseando-se no fato que os metabólitos secundários vegetais são eficientes na proteção e defesa das plantas contra insetos e tendo em vista rígidas regulamentações governamentais, o objetivo de fornecer um produto final mais ecológico e livre de resíduos, substâncias vegetais podem desenvolver a mesma função quando utilizados como base para novos inseticidas. Com isso, é capaz de se obter um produto biodegradável e de toxicidade seletiva.

Os carrapatos são ectoparasitas distribuídos a nível mundial, capazes de atuar como reservatório de parasitas e causadores de diversos prejuízos. A espécie *Rhipicephalus microplus*, comumente conhecido como carrapato-do-boi, pode ocasionar abertura de feridas, danos no couro, perda de peso e redução na produção de leite e carne. A utilização de acaricidas sintéticos vem se tornando inviável, devido a indução de resistência e a geração de resíduos não degradáveis. Um dos mecanismos de ação desses produtos está relacionado a interferência da transmissão de mensagens neuronais, bem como a inibição de enzimas envolvidas no processo colinérgico, como a acetilcolinesterase.

Diante do exposto, o presente trabalho objetiva analisar as propriedades biológicas de extratos etanólicos obtidos a partir de grãos verdes e torrados de café arábica de qualidade inferior, bem como avaliar seus potenciais bactericida frente a *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, carrapaticida sobre *Rhipicephalus microplus* e inibitório da enzima acetilcolinesterase.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 CAFÉ

O cafeeiro pertence à família *Rubiaceae* e ao gênero *Coffea*, com cerca de 124 espécies já catalogadas. Dentre as espécies de café já descritas, *Coffea arabica* (café arábica) e *Coffea canephora* (café robusta) destacam-se globalmente pelo fornecimento do café comercializado, fornecendo 62% e 38% da produção, respectivamente. Além da produção dos grãos utilizados pro consumo, algumas espécies de *Coffea* têm sido utilizadas para fins de estudo de reprodução e resistência a patógenos (DAVIS *et al.*, 2020; ZANIN; KITZBERGER; BENASSI, 2020).

De acordo com Lemos *et al.* (2020), o café arábica possui qualidade superior, com aroma mais intenso e de maior aceitabilidade no mercado, o que justifica sua supervalorização comercial. Já o café robusta possui sabor mais forte e amargo, menor preço e maior resistência a ataque de pragas de plantação. Por encorpar e atribuir espuma, é utilizado na produção de cafés solúveis.

Devido a características sensoriais marcantes atreladas ao efeito estimulante promovido, o café é a segunda bebida mais consumida a nível mundial. Conseqüentemente, o interesse científico relacionado a sua segurança e composição química ascende constantemente (ABRAHÃO *et al.*, 2010).

Dados da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) (2021) indicam que a produção mundial de café no último ano cafeeiro (2020-2021) foi equivalente a 169,64 milhões de sacas de 60kg, sendo 99,26 milhões de sacas do tipo arábica e 70,38 milhões do tipo robusta. No que diz respeito ao Brasil, maior produtor mundial, a estimativa de produção dos grãos totaliza 48,80 milhões de toneladas, das quais 33,36 milhões correspondem ao grão tipo arábica e 15,44 milhões sendo do tipo robusta. A alta na produtividade dos grãos foi prevista por Moraes *et al.* (2008), que explicaram que fatores como maior investimento em tecnologias produtivas, condições climáticas e ambientais favoráveis, com extensões de terras em diferentes altitudes e a extinção de áreas de baixa produção.

A qualidade do café está estritamente relacionada a diversos quesitos, como de natureza interna quanto externa. Os fatores de natureza interna correspondem, por exemplo, ao tipo de cultivar e a genética, enquanto os fatores de natureza externa podem ser as condições ambientais e climáticas. Fatores como método de cultivo, manejo e colheita podem ser controlados a partir

da adequada gestão de campo e da implementação de boas práticas agrícolas, garantindo a máxima qualidade na colheita dos grãos (PIMENTA; ANGÉLICO; CHAULFON, 2018). Por fim, processos finais como torra, moagem e preparo são pontos cruciais para a obtenção de uma bebida de alta qualidade.

2.2 TORRA DO CAFÉ

A torra do café é umas das principais etapas do processamento dos grãos, a qual garante a qualidade do produto a partir da determinação do tempo e da temperatura aplicada no processo. O processo da torra é responsável por promover a degradação da trigonelina em compostos como ácido nicotínico, pirróis, piridinas, pirazinas e metil nicotinato, além de ocasionar a degradação dos ácidos clorogênicos em catecois e fenóis e, posteriormente, em melanoidinas, que influenciam diretamente nos parâmetros de aroma e sabor da bebida (FARAH, 2012; SILVA *et al.*, 2021; MUNYENDO *et al.*, 2021).

Os compostos formados durante o processo de torrefação, além de responsáveis pelas características sensoriais da bebida, são detentores de alto potencial biológico. O ácido nicotínico apresenta alto potencial antioxidante, enquanto as melanoidinas são capazes de desempenhar eficiente atividade bactericida e como fibras dietéticas (LAUKALEJA; KRUMA, 2019).

A classificação da torra dos grãos pode ser feita de forma visual ou automatizada. Segundo Sarino *et al.* (2019), a classificação por meio visual é uma técnica eficaz e sem custos, mas que pode sofrer influência de três fatores principais, que estão relacionados à fonte de luz utilizada, o grão de café analisado e o observador. Por interferência desses fatores, influenciáveis na determinação da cor, saturação e matiz de grãos de café, podem levar a imprecisão na detecção da cor do café e, conseqüentemente, um café imprecisamente definido.

Pelo controle de temperatura e tempo, o processo de torrefação pode originar grãos em diversos estágios de torra que são classificados a partir do seu padrão de cor e a torra denominada como torra clara, média ou escura. Na torra clara, obtém-se um produto de acidez e aroma acentuados e sabor suave, garantindo a preservação dos dos óleos aromáticos. Pela torra média, se produz um café com acidez, aroma e amargor em equilíbrio. Por fim, na torra

escura, é formado um produto de baixa acidez e corpo, mas de maior amargor (FRANCA *et al.*, 2009; NAKILCIOĞLU-TAŞ; ÖTLEŞ, 2019).

A qualidade do produto final também pode ser influenciada por outros fatores, além da torra. Pontos como a matéria prima utilizada, recursos aplicados no processo de torra, embalagem e armazenamento podem ocasionar a redução na qualidade do produto (SANTOSO; MUSTANIROH; CHOIRUN, 2021). O processo de torrefação deve ser controlado eficientemente, uma vez que o longo período de torra faz com que os grãos apresentem maior potencial de absorção de umidade e risco de oxidação, necessidade de embalagens mais caras, redução de qualidade do produto e deterioração microbiana (NAKILCIOĞLU-TAŞ; ÖTLEŞ, 2019).

2.3 SUBPRODUTOS DA INDÚSTRIA DO CAFÉ

Por ser um ramo de alta produção e consumo, a indústria cafeeira é responsável por originar um elevado volume de subprodutos, como cascas, borra e efluentes, os quais são vistos como grandes problemas ambientais. Atualmente, diversas pesquisas já são direcionadas para que esses subprodutos sejam bem destinados, garantindo novas aplicações e a redução da poluição ambiental. Os subprodutos sólidos originados no processamento podem ser utilizados na produção de biocombustíveis, fibras dietéticas, adubos orgânicos, compostagem e como substrato na produção de enzimas e de cogumelos, enquanto os efluentes podem ser utilizados para a produção de biogás ou irrigação, após tratamento prévio (JANISSEN; HUYNH, 2018; HEJNA, 2021).

Os grãos defeituosos, outro subproduto comum no processo produtivo do café, são capazes de influenciarem as propriedades sensoriais da bebida. Melo, Elias e Silva (2019) citam que esses defeitos podem ser de origem intrínseca ou extrínseca. Os defeitos de origem intrínseca são resultantes de inadequados processos agrícolas ou industriais ou modificações fisiológicas ou genéticas e originam grãos pretos, verdes, ardidos, brocados, chochos ou quebrados, enquanto os defeitos de origem extrínseca correspondem a elementos estranhos que estão ligados a falhas no processo agrícola, como pedras e cascas (Figura 1).

Figura 1 – Grãos verdes de café não defeituosos e grãos verde de café com defeitos de origem

intrínseca e extrínseca.



Fonte: Sky Mountain Coffee

O estudo desses grãos se faz de suma importância para o entendimento e o enriquecimento do valor do café. Um desses estudos é a detecção e identificação de compostos que possam estar presentes nos grãos defeituosos e que podem interferir na qualidade da bebida e comparar seus analitos com grãos não-defeituosos. Casas e colaboradores (2017), pesquisando a composição química de grãos defeituosos, identificaram a presença significativa de açúcares, compostos voláteis e ácidos orgânicos. Também foram encontrados os compostos 4-metilpirrol, 2-metilfurano e 5-metil-2-furfurilfurano, atribuindo a estes o amargor e pela qualidade reduzida da bebida.

Silva *et al.* (2022) explicam que o emprego de compostos extraídos dos subprodutos do café, como nos grãos defeituosos, se mostra como uma estratégia eficaz e inovadora, garantindo a obtenção de compostos quimicamente ativos e reduzindo o impacto ambiental causado pelo descarte dos produtos secundários originados.

Em alguns casos, a segregação dos grãos defeituosos em fazendas e cooperativas são feitos de forma ineficiente. Consequentemente, lotes de café não defeituosos também são desprezados, aumentando ainda mais a produção de subprodutos. No entanto, poucas novas aplicações para esses produtos são citadas, algumas delas são a produção de biodiesel e tortas adsorventes (OLIVEIRA *et al.*, 2008; JANISSEN; HUYNH, 2018). Apesar da riqueza química de compostos bioativos presentes nos grãos de qualidade inferior, raros são os estudos que analisam suas propriedades biológicas.

Além das aplicações supracitadas, estudiosos também já analisam a viabilidade da utilização destes subprodutos em outras áreas. Sabe-se que, assim como os grãos, os subprodutos do café são ricos em compostos químicos com alto potencial biológico, que podem ser utilizados para o desenvolvimento de produtos industriais como antimicrobianos, substratos para microrganismos e produção de aromas aplicados em processos alimentícios, cosméticos e produção de embalagens (KIM; LEE, 2018; TOTARO *et al.*, 2019).

2.4 PROPRIEDADES BIOLÓGICAS DO CAFÉ

Por muito tempo, o consumo do café na forma de bebida dividiu opiniões sobre seus efeitos. A bebida era vista como causadora de inúmeros problemas, como melancolia, hemorroidas, diminuição da libido e cefaleias. Porém, por evidências científicas e pelo entendimento da ação de diversos compostos químicos presentes no café, essa ideia tronou-se ultrapassada, fazendo com que o consumo do café esteja cada vez mais em evidência (AYAVAZ, 2020).

Dados de Wachamo (2017) citam que o consumo moderado, estimado entre três e quatro xícaras por dia, se mostra eficaz na prevenção de derrames, cânceres, diabetes e hipertensão, obesidade e depressão, bem como no tratamento de problemas psicoativos, neurológicos, metabólicos e problemas inflamatórios. Além do consumo do café em forma de bebida, a versatilidade do mesmo vem despertando o interesse de desenvolvimento de novos estudos, afim de explorar e corroborar a presença e eficácia de diversas moléculas bioativas presentes nos grãos.

Antigamente, os estudos sobre as propriedades químicas e biológicas do café direcionavam-se principalmente à cafeína, um dos principais constituintes do café e que apresenta alto potencial biológico. No entanto, com o avanço científico e do conhecimento da composição química dos grãos, foram iniciados novos estudos que objetivaram elucidar outros efeitos oriundos desses grãos. Como exemplo da efetiva atividade de outros compostos químicos existentes nos grãos, Runti e colaboradores (2015) analisaram extratos cafeinados e descafeinados frente a cepas bacterianas e concluíram que a atividade bacteriana obtida não foi proveniente da cafeína, mas de compostos presentes em ambos os extratos que agem de forma sinérgica, uma vez que a concentração inibitória mínima (CMI) de cafeína pura necessária foi muito superior a CMI dos extratos.

De acordo com Patay, Bencksic e Papp (2016), a presença de compostos como alcaloides, compostos fenólicos, terpenoides e carotenoides que estão presentes em diversas partes do cafeeiro, colaboram para que espécies de *Coffea* estejam despertando interesse para estudos direcionado para as mais diversas atividades. Lima e colaboradores (2010) analisaram o potencial antioxidante de cafés verde e torrado, onde o processo de torra potencializou o poder redutor e a atividade sequestrante de radicais livres. Posteriormente, Ali *et al.*, (2022), estudaram a atividade antioxidante dos grãos verdes e mostrou que compostos como ácidos clorogênico, ferúlico e cafeico, além da cafeína foram responsáveis pela atividade antioxidante encontrada. Além disso, diversos compostos já detectados no café, também podem ser utilizados para fins antioxidantes e antiinflamatórios, graças a sua capacidade de combater danos celulares e induzir a cicatrização aprimorada de lesões (MUNYENDO *et al.*, 2021).

Os compostos responsáveis pelas propriedades biológicas do café podem ser influenciados por diversos fatores, como a variedade do grão, condições ambientais de cultivo e armazenamento, modo de processamento e estágio de desenvolvimento dos grãos (RUNTI *et al.*, 2015; MAGONI *et al.*, 2018). Durán *et al.* (2017) explica que, por meio das reações ocorridas durante o processo de torrefação, como reações de pirólise, reação de Maillard e a degradação de Strecker, alguns compostos químicos presentes nos grãos de café podem ser destruídos, formados ou modificados, de forma que sejam garantidas suas substâncias nutritivas, bioativas e sensoriais.

Como exemplo dessas aplicações, Nonthakaew e colaboradores (2015) analisaram a atividade antifúngica de extratos metanólicos obtidos por grãos torrados e moídos sobre cepas fitopatogênicas de *Aspergillus*, *Penicillium* e *Eurotium amstelodami*, com posterior análise de viabilidade do desenvolvimento de embalagens alimentícias. Com isso, obtiveram melhor atividade biológica a partir dos extratos metanólicos obtidos por grãos, com Concentração Mínima Inibitória (CMI) entre 100 e 230 $\mu\text{L}/\text{mL}$, seguidos pelos extratos obtidos pelo café moído, de CMI entre 300 e 460 $\mu\text{L}/\text{mL}$. Os autores acreditam que o mecanismo de ação dos extratos se deu pela inibição da germinação dos esporos, ocasionado pelo nitrogênio presente na estrutura da cafeína.

Outra atividade eficaz foi comprovada por Masek *et al.* (2020), que estudaram as propriedades antioxidantes de extratos etanólicos e aquosos de café verde por métodos espectrofotométricos. Pelos testes ABTS, DPPH e FRAP, concluíram que os extratos possuíam potencial antioxidante entre $90,0 \pm 0,20\%$ e $63,9 \pm 0,15\%$ para extratos etanólicos e $97,4 \pm 0,25\%$ e $81,6 \pm 0,29\%$ para extratos aquosos a partir de concentrações equivalentes a 4 mg mL⁻¹.

¹, mostrando boa capacidade de reduzir íons de metal de transição pela ação combinada de diversos compostos bioativos, como os compostos fenólicos.

Trevisan *et al.* (2019) explicam que, além dos grãos, as folhas de café também possuem ampla composição fenólica, a qual faz com que sejam fontes promissoras de novas moléculas bioativas antibacterianas, antivirulentas e anti-inflamatórias. Como visto, os subprodutos gerados pelo processamento do café são responsáveis por uma grande preocupação ambiental e, com isso, a obtenção de moléculas bioativas por meio destes, também se mostra como uma via promissora (DUANGJAI *et al.*, 2016).

Além da prospecção de biomoléculas benéficas para a saúde humana, o estudo de extratos de café para fins agrícolas também desperta o interesse científico. Analisando óleos de café verde para inibir o crescimento e reprodução de *Penicillium roqueforti* e *Rhizopus stolonifer*, Elizei *et al.* (2016) obtiveram ação fungicida eficiente a partir de concentrações equivalentes de 1500 e 2000 $\mu\text{L L}^{-1}$ frente as cepas testadas, com ação biológica igual ou superior ao Grupo Controle utilizado.

2.5 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

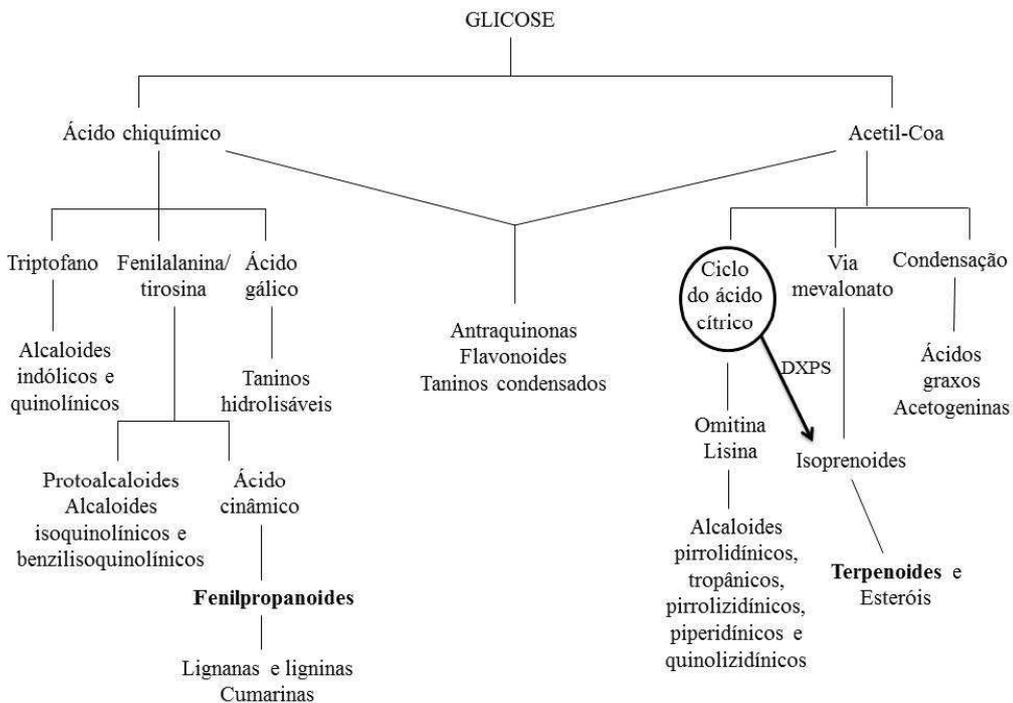
Simões e colaboradores (2004) definem o metabolismo como sendo um conjunto de reações químicas que ocorrem de forma contínua na célula e com o poder catalítico de enzimas. Pela ocorrência dessas reações, são supridas necessidades de energia e de biossíntese de compostos essenciais para a sobrevivência. O metabolismo de seres vivos pode ser dividido em dois tipos: o metabolismo primário, que está relacionado a processos metabólicos relacionados a macromoléculas, como carboidratos, lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos, e o metabolismo secundário, que origina produtos não-essenciais para o desenvolvimento do organismo produtor, mas garante vantagens para o desenvolvimento e sobrevivência da espécie.

Os metabólitos secundários podem ser definidos como sendo compostos extracelulares secretados durante o crescimento e a diferenciação de um organismo vivo, encontrados apenas em organismos específicos e que podem representar a individualidade de uma determinada espécie. Compõem um grande grupo de compostos de peso molecular, detentores de importantes atividades biológicas como antibióticos, antivirais, herbicidas, fungicidas e inseticidas. Sua vasta aplicabilidade e comprovada ação em diversas situações de estresse

ambiental ou infestações permite o desenvolvimento industrial de produtos eficientes e que apresentem reduzidos ou nenhum efeito colateral ou ambiental (DEWICK, 2009; SPECIAN *et al.*, 2014; REDDY *et al.*, 2020).

Para Simões *et al.* (2004), os metabólitos secundários são sintetizados a partir do metabolismo da glicose, sendo a via do ácido chiquímico e a via do acetato os dois intermediários principais. A Figura 2 apresenta, de forma sucinta, as vias sintetizadoras dos metabólitos secundários a partir do metabolismo primário.

Figura 2 – Esquema simplificado das vias sintetizadoras dos metabólitos secundários.

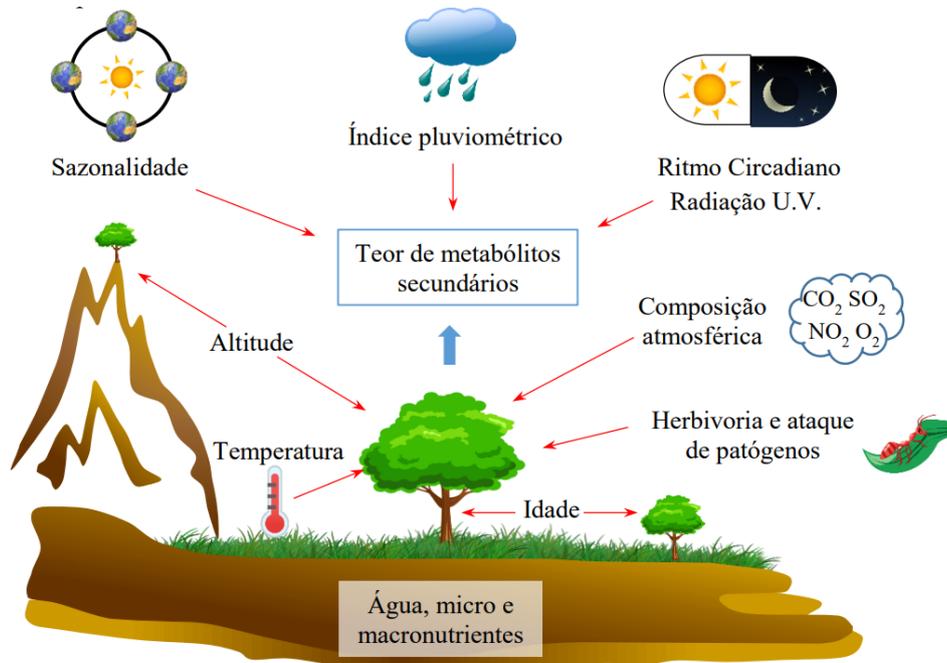


Fonte: Simões *et al.* (2004)

Como visto, embora não desempenhem papel fundamental no crescimento e desenvolvimento vegetal, os metabólitos secundários possuem participação crucial na defesa e proteção da planta, de modo que sejam conferida resistência a patógenos, estresses ambientais, proteção contra predadores e insetos nocivos e atrativo para insetos polinizadores, através do aroma, cor e sabor. Ademais, sabendo que esses compostos são sintetizados por diversas vias e por espécies diferentes, inúmeros parâmetros podem ser influenciáveis na obtenção dos metabólitos, como condições bióticas e abióticas, clima, localidade, disponibilidade de água e nutrientes, tempo, temperatura, sazonalidade, altitude, radiação ultravioleta, ritmo circadiano

(ROBBERS; SPEEDIE; TYLER, 1997; SPECIAN *et al.*, 2014; GOBBO-NETO; LOPES, 2007) (Figura 3).

Figura 3 – Fatores influenciáveis na produção de metabólitos secundários vegetais.



Fonte: Gobbo-Neto e Lopes (2007).

Fernandes *et al.* (2019) citam que os metabólitos secundários podem ser divididos quimicamente em três grandes grupos: terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados.

Segundo Sahebi *et al.* (2017), os principais metabólitos secundários formados por terpenos são baseados na sua derivação biossintética comum de intermediários glicolíticos ou Acetil Co-A. Desses terpenos, tem-se os monoterpenos (com dez carbonos), sesquiterpenos (com quinze carbonos), diterpenos (com vinte carbonos), triterpenos (com trinta carbonos) e os politerpenos. Os monoterpenos são detentores de grande variedade de substâncias inseticidas, tais como limoneno, α -pineno e β -pineno e os sesquiterpenos atuando como dispersores de herbívoros, além de regulador do processo de dormência e reação de plantas sob estresse hídrico. Os diterpenos podem estar envolvidos no processo de germinação de sementes e formação de folhas e frutos, carregamento do floema e fixação de CO_2 ; os triterpenos agem como canais reguladores e preservadores da penetrabilidade em pequenas moléculas; e os politerpenos agem como pigmentos, defesa contra herbívoros e cicatrização de lesões.

Para Dewick (2009), os terpenos são oriundos de duas rotas distintas: pela rota do mevalonato e pela rota da 1-deoxi-D-xilulose-5-fosfato (DXPS), originadas de um precursor comum e que, por reações de redução, oxidação e ciclização, gera diversos compostos terpênicos.

Na primeira via, três moléculas de Acetil-CoA originam o ácido mevalônico que, posteriormente, é pirofosforilado, descarboxilado e desidratado, para formar o isopentenildifosfato (IPP), que sofre isomerização e é transformado em Dimetilalil difosfato (DMAPP). Em consequente, o IPP e DMAPP unem-se no modelo cabeça-cauda, formando terpenos maiores. Com a ação enzimática da prenil-transferase, o geranyl difosfato é formado (GPP C10), que é condensado com outra unidade de IPP, formando o farnesil difosfato (FPP C15). Por fim, a união do FPP com outro IPP forma a geranylgeranila difosfato (GGPP C20), responsável pela formação de diterpenos.

Já pela rota do DXPS, a qual ocorre nos cloroplastos, o piruvato e o D-gliceraldeído-3-fosfato são responsáveis pela formação do 1-deoxi-D-xilulose-5-fosfato, intermediário da formação do 2-C-metil-D-eritritol-4P (MEP). Por diversas reações, são originados o IPP e o DMAPP (DEWICK, 2009).

Os compostos fenólicos podem ser derivados do ácido chiquímico, a partir de carboidratos e que formam compostos com grupos hidroxilas em posição *orto*, ou pela via do acetato-polimalato, que, que é iniciada com acetil-coenzimaA e malonil-coenzimaA e forma compostos com grupos hidroxilas em *meta* (SIMÕES *et al.*, 2004). Essa classe apresenta grande diversidade de compostos e podem ser divididos em flavonoides, que estão relacionados a pigmentos vegetais e a defesa vegetal, e os compostos não-flavonoides, derivados do ácido hidroxibenzoico e do ácido hidroxicinâmico e possui atividade antioxidante relacionada a posição dos grupos hidroxilas (SILVA *et al.*, 2009).

Por fim, no grupo dos compostos nitrogenados, estão inclusos os alcaloides, glicosídeos cianogênicos e glicosinolatos. Os alcaloides são substâncias de baixo peso molecular e biossintetizados a partir de poucos aminoácidos (fenilalanina, ortina, lisina, tirosina, ácido nicotínico), de grande diversidade estrutural e classificados de acordo com a natureza do esqueleto derivada dos aminoácidos. Já os glicosídeos cianogênicos possuem, como principais precursores, a fenilalanina, tirosina, vanilina e leucina, e agem liberando ácido cianídrico quando ocorre a lesão tecidual de espécies detentoras dessa substância, além de atribuir caráter tóxico. Por fim, os glicosinolatos são sintetizados pelos aminoácidos tirosina, fenilalanina e

triptofano, formando glicosinolatos alifáticos, aromáticos e indólicos, respectivamente, e diferem do grupo anterior por serem sulfatados e podem aumentar a capacidade da planta de lidar com diferentes situações de estresses ambientais (SIMÕES *et al.*, 2004; SAHEBI *et al.*, 2017).

2.6 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DOS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

Citações de Pagare *et al.* (2015) mostram que os compostos formados a partir do metabolismo secundário possuem ação direta na integridade do indivíduo produtor, os mesmos podem ser alvos de indústrias de diversos segmentos, tais como alimentícia, farmacológica e agrícola. Pereira e Cardoso (2012) citam que essas aplicações, por sua vez, são garantidas pela utilização antiga desses para os mais diversos fins e também pela possibilidade de identificação e isolamento desses compostos a partir de técnicas químicas avançadas.

Para Jain e colaboradores (2019), as instabilidades ambientais e geopolíticas gradativas no mundo atual faz com que a obtenção de metabólitos específicos seja comprometida, seja de forma parcial ou total. Com isso, a aplicação de técnicas de cultura de tecidos para a produção industrial dessas moléculas, se mostra relevante. No entanto, mesmo com décadas de pesquisas e esforços, a produção de metabólitos secundários vegetais por essas técnicas enfrenta certas dificuldades.

Alguns gargalos produtivos, como a aplicação de enzimas altamente específicas e de complexa obtenção *in vitro*, necessidade de biorreatores de alto custo com condições de assepsia e de manutenção e técnicas de purificação de alto custo tornavam a obtenção de metabólitos secundários em grandes escalas um processo laborioso e de baixo rendimento. A partir do avanço nas pesquisas de engenharia metabólica e no desenvolvimento de novos biorreatores, quando atrelada a condições ambientais favoráveis e o fornecimento adequado de nutrientes faz com que a obtenção de biomoléculas vegetais em escalas maiores seja viável (BOURGAUD *et al.* 2001; CARDOSO; OLIVEIRA; CARDOSO, 2019).

Tiwari e Rana (2015) explanam que a produção de metabólitos secundários por técnicas de cultura de células apresenta vantagens como condições controladas de cultivo, sem que haja interferência do clima ou de condições de solo, fácil multiplicação de metabólitos específicos,

compostos isentos de microrganismos e insetos e menor custo com mão de obra e maior produção de um determinado composto.

Na indústria alimentícia, os metabólitos podem ser utilizados para o desenvolvimento de novos produtos que possam assimilar a alimentação com a prevenção de doenças, na conservação de alimentos a partir das suas propriedades antimicrobianas e antioxidantes e como corantes alimentícios, os quais são existentes para, pelo menos, as três cores fundamentais. Mesquita, Teixeira e Sérvulo (2017) afirmam que esses podem ser obtidos a partir de diversas fontes: clorofila (verde), carotenoides (amarelo, laranja e vermelho), antocianinas (roxo e azul) e betaninas (vermelho) podem ser extraídos de folhas, frutas, flores, raízes e células vegetais envolvidas no processo fotossintético.

Já na indústria farmacêutica, como expresso por Pérez-Alonso e Jiménez (2011), esses compostos podem ser utilizados como protótipos para novos fármacos, uma vez que a diversidade química desses compostos e a intensa atividade biológica são provenientes da seleção natural. Ademais, os metabólitos secundários podem ser efetivamente utilizados na cosmetologia e na perfumaria, por serem detentores de compostos aromáticos que garantem aroma agradável.

2.7 EXTRATOS VEGETAIS BIOLOGICAMENTE ATIVOS

A medicina alopática surgiu com o descobrimento das propriedades medicinais de plantas desde a era primitiva e da percepção humana da possibilidade de utilizar plantas para alívio de dores e melhoria da qualidade de vida, por exemplo.

O uso de espécies vegetais para fins terapêuticos, em muitas comunidades, ainda é exclusivo em comunidades nativas, nas quais o sistema de saúde é inacessível. No entanto, a medicina alternativa não se restringe a uma parte da população: é notório o crescimento gradativo da utilização desses meios como terapias mais saudáveis ou complementares à medicamentos industrializados, além de fomentar no entendimento e dos fenômenos envolvidos nas questões de saúde e de qualidade de vida (BRANDELLI, 2017).

No Brasil, o uso de plantas é marcado por fortes influências de povos africanos, indígenas e europeus. Com a Colonização do Brasil, os diversos conhecimentos culturais desses povos foram difundidos entre si, permitindo a maior exploração da natureza para esse fim

(BRANDELLI, 2017). Pereira e Cardoso (2012) explicam que a utilização de plantas medicinais surgiu antes mesmo da colonização, onde povos indígenas brasileiros utilizavam essas plantas e, assim, transmitiram seus conhecimentos para colonizadores. Esse material vegetal, inicialmente, era utilizado do mesmo jeito que eram encontrados. Com o passar dos anos, medidas alternativas para a concentração desses compostos foram adotadas, a fim de melhorar e uniformizar seu método de ação.

Atualmente, de acordo com o Ministério da Saúde (2018), a promoção do uso de plantas medicinais é feita pela distribuição de plantas *in natura* e fitoterápicos, proporcionando tratamento para diversas patologias clínicas.

Além das aplicações na saúde humana, a utilização de extratos vegetais como via alternativa do manejo de pragas tem ascendido com o decorrer dos tempos e, com isso, maior interesse científico para esses fins. Por apresentarem eficácia, biodegradabilidade, baixo risco de intoxicação de animais e viabilidade econômica, o uso de substâncias vegetais em forma de extratos, pós e óleos mostram-se promissores no manejo de pragas e na agricultura sustentável (MARANGONI; MOURA; GARCIA, 2012; MYO *et al.*, 2020).

A atividade biológica de compostos vegetais, por sua vez, pode ser explicada pela diversidade química presente em plantas, oriunda do metabolismo secundário das mesmas. Compostos como esteroides, fenóis, flavonoides, taninos e alcaloides, por exemplo, têm sido utilizados como modelos e precursores de produtos sintéticos e semissintéticos para diversas aplicações (ELAKKIYA *et al.*, 2020).

Para Roldán *et al.* (2013), o estudo de extratos vegetais é difícil devido à complexidade das amostras, uma vez que esses extratos possuem um alto número de compostos e também pode ter sua composição variável por fatores ambientais. Com a utilização de métodos cromatográficos acoplados a detectores de arranjo de diodos ou espectrometria de massa, é possível a identificação e separação dos compostos presentes no extrato.

A determinação de metodologias e condições adequadas é crucial para que haja testes bem-sucedidos e resultados concretos, uma vez que temperatura, condições de cultivo e meio, por exemplo, podem influenciar significativamente nos testes (PILLAI *et al.*, 2020). Quando obtidos por metodologias adequadas e sob condições favoráveis, os extratos vegetais podem ser testados de forma isolada ou em combinação com outros compostos. Carvalho *et al.* (2018) utilizaram extratos de *Cochlospermum regium* combinados com taninos e ácido gálico isolados e disponíveis comercialmente, a fim de observar atividade bactericida e fungicida, obtendo bons

resultados para inibição para bactérias Gram-positivas e Gram-negativas e leveduras do gênero *Candida*.

2.8 CARRAPATOS

Os carrapatos podem ser definidos como ectoparasitas hematófagos obrigatórios, pertencentes ao filo *Arthropoda* e subfilo *Chelicerara*. São amplamente difundidos por todo o mundo e parasitam hospedeiros como mamíferos, aves, anfíbios e répteis. Além de indivíduos ectoparasitas, os carrapatos são vetores de diversos microrganismos patogênicos como protozoários e vírus, os quais são causadores de diversas doenças para saúde humana e animal. Em alguns casos, o parasitismo ocasionado por carrapatos pode resultar em danos na pele, induzindo abertura de feridas, perda de sangue, inserção de toxinas, infecções e até mesmo paralisias (ADENUBI *et al.*, 2016; PAVELA *et al.*, 2016).

A classificação desses parasitas, segundo Benelli *et al.* (2016), pode ser feita em três famílias: *Asgasidae*, também conhecido como “carrapatos macios” e consiste num grupo de cerca de 191 espécies; *Ixodidae*, que também são conhecidos como “carrapatos duros” e abrange cerca de 701 espécies distintas; e *Nuttalliellidae*, a qual é formada por apenas uma espécie, *Nuttalliella namaqua*.

Até 2019, Andreotti, Garcia e Koller (2019) citam que, no Brasil, são conhecidas cerca de 73 espécies, sendo 47 da família *Ixodidae* e 26 da família *Argasidae*. Os indivíduos da família *Ixodidae* ainda podem ser divididos em cinco gêneros: *Amblyomma*, *Ixodes*, *Haemaphysalis*, *Rhipicephalus* e *Dermacentor*.

Shanmuganath e colaboradores (2021) explicam que o uso de acaricídios sintéticos de forma desenfreada faz com que seja estabelecida uma severa resistência a esses compostos, de modo que gere, como principais consequências, a degradação ambiental, a contaminação alimentícia e o controle ineficaz dos mesmos. Além disso, a evolução da resistência frente aos compostos já desenvolvidos faz com que o desenvolvimento de medicamentos e vacinas para esses fins sejam mais laboriosos.

Nos últimos anos, o alto custo para o desenvolvimento de novos medicamentos, quando atrelado aos efeitos negativos dos acaricidas sintéticos, tem direcionado novas pesquisas a fim do desenvolvimento de acaricídios que apresentem satisfatória atividade e formulação

ecológica. No entanto, não foram abordagens adotadas a nível comercial na maioria dos países (SHANMUGANATH *et al.*, 2021).

As pesquisas relacionadas à síntese de novos compostos eficazes frente a esses indivíduos têm sido gradativamente aprimoradas, a fim de obter um produto eficaz e de menor toxicidade. Com isso, o desenvolvimento de compostos como a Ivermectina, por exemplo, aumentou o potencial terapêutico contra carrapatos, porém com um custo muito maior e com a probabilidade do desenvolvimento de resistências dos indivíduos a esses compostos, quando não utilizados de forma correta. Outro exemplo de produto desenvolvido para fins acaricidas é o Spinosad, o qual apresenta efetiva atividade, mas mantém-se retido no gado tratado por até seis meses (ADENUBI *et al.*, 2016).

Conforme Pavela e colaboradores (2016), a preservação e a descobertas de novas informações etnobotânicas com potencial acaricida são de suma importância por razões fundamentais, como sua eficaz redução na transmissão de doenças e a manutenção do patrimônio cultural de povos nativos. A partir desses, o conhecimento pode servir como educação adicional a pessoas que possuem acesso a estas plantas, mas ainda desconhecem seu potencial.

Os fitoquímicos que apresentam ação carrapaticida podem atuar de diversas formas, seja pela interferência na ação de hormônios reguladores do crescimento, na inibição do desenvolvimento de óvulos, na interrupção do acasalamento e comunicação sexual e pela inibição da formação de quitina, composto responsável pela rigidez e proteção dos carrapatos (GODARA *et al.*, 2014; ADENUBI *et al.*, 2016). Graças à diversos mecanismos de ação, aliados ao desenvolvimento tardio de resistência, os compostos vegetais isolados se mostram promissores como abordagens alternativas e eficazes nas etapas adulta, ninfa e larval de carrapatos economicamente importantes.

O uso de compostos oriundos de plantas vem sendo cada vez mais difundido e eficaz contra esses parasitas. Entretanto, mesmo com diversos vegetais de atividade comprovada, diversas limitações ainda são encontradas. Adenubi e colegas (2016) relatam que a falta de metodologias de extração padronizadas, a instabilidade dos extratos em condições diferentes do laboratório e a escassez de estudos farmacocinéticos do material obtido faz com que a utilização efetiva desses bioprodutos sejam dificultadas.

As moléculas que estão envolvidas com o potencial acaricida, segundo Rosado-Aguilar *et al.* (2017), ainda não foram confirmados. Diversos autores já identificaram compostos como

timol, carvacrol e 1,8-cineol como eficazes sob condições *in vivo*. Ademais, esses compostos podem ser potencializados pela ação sinérgica com outros compostos. Diversas técnicas são utilizadas para avaliar o potencial carrapaticida de extratos vegetais, tais como o teste de imersão adulta (AIT), teste de imersão larval (LIT) e o teste de pacote larval (LPT). Essas técnicas, por sua vez, foram aprimoradas por diversos autores, a fim de permitir maior repetibilidade e garantir resultados mais precisos.

2.8.1 *Rhipicephalus microplus*

Carrapatos *Rhipicephalus microplus* pertence a classe Acari (Ixodidae) e faz parte do grupo de ectoparasitas mais comuns do gado, assim como piolhos, pulgas e vermes. As espécies dessa família, também conhecida como carrapato bovino, é um grupo de origem asiática e são responsáveis por diversas patologias, como Tristeza Parasitária Bovina, além de grandes prejuízos na carne e no leite, por exemplo. Geralmente, infestam as áreas internas das coxas, perianal e perivulvar, as quais apresentam melhores condições para seu desenvolvimento, tais como espessura, vascularização e temperatura ótima (FELIPPELLI *et al.*, 2022) (Figura 4).

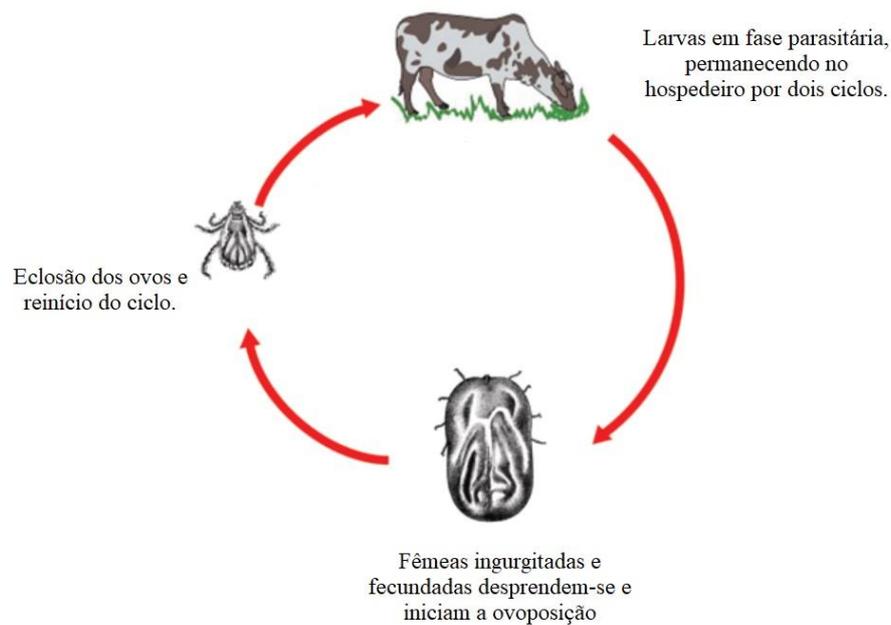
Figura 4 – *Rhipicephalus microplus* em fase parasitária.



Fonte: Brito (2015)

São indivíduos capazes de completar todo seu ciclo vital apenas em um hospedeiro, com duas fases de vida: fase parasitária e fase não parasitária. A fase parasitária, de acordo com Andreotti, Garcia e Koller (2019), inicia-se com a instalação das larvas no hospedeiro, o qual dura cerca de 21 dias, até que as mesmas transformem em metalarvas. Em seguida, as metalarvas são transformadas em ninfas, em um período de 8 dias, e posteriormente em metaninfas, num período de 13 dias e, posteriormente, adultos. A fase não parasitária consiste no desprendimento do hospedeiro, ocasionado pela ingurgitação da fêmea, e acomodação em locais quente e sem iluminação solar direta. Após um período de 5 dias, ocorre a postura dos ovos, em um período de cerca de 17 dias. Com a postura dos ovos, as fêmeas morrem e os ovos mantêm-se no solo até eclodirem para larvas e assim iniciar novamente o ciclo parasitário (Figura 5).

Figura 5 – Ciclo vital de *Rhipicephalus microplus* nas fases parasitária e não parasitária.



Fonte: Adaptado de Center for Diseases Control and Prevention.

Os prejuízos ocasionados pela infestação de *R. microplus* relacionam-se, de forma direta, a prejuízos econômicos, como carne e derivados de baixa qualidade, decréscimo na qualidade do couro, alergias, anemia e, em alguns casos, a perda do animal infestado (ADENUBI *et al.*, 2016; LUNGUINHO *et al.*, 2021).

Bons resultados de combate de *R. microplus* a partir de compostos vegetais foram apresentados por Dantas e colaboradores (2015) ao testarem extratos de folhas e partes aéreas de *Neoglaziovia variegata* (crauçá) pelo método de AIT e obter alta eficiência a partir da utilização de 25 mg mL^{-1} . Pela caracterização cromatográfica, foi atribuída a atividade acaricida aos terpenos presentes nos mesmos.

Godara *et al.* (2018) analisaram o uso de extratos de *Piper nigrum* (pimenta preta) e *Piper longum* (pimenta longa indiana) para o combate do carrapato do boi em concentrações equivalentes a 0,27; 0,55 e 1,1% e 1,25; 2,5 e 5%, respectivamente. Com isso, foi perceptível a mortalidade com doses entre 12,5 e 95,8 para *P. nigrum* e 29,2 e 84,5% para *P. longum*. Já na postura de ovos, obteve-se redução em doses entre 28,1 e 96,9% para *P. nigrum* e 36,1 e 89,3% para *P. longum*.

A ação carrapaticida de compostos já conhecidos pode ocorrer por diversos métodos. Para Jain, Satapathy e Pandey (2020), o carrapato do boi é comumente combatido a partir do fechamento dos canais de sódio e da inativação da Acetilcolinesterase (AChE), promovida por

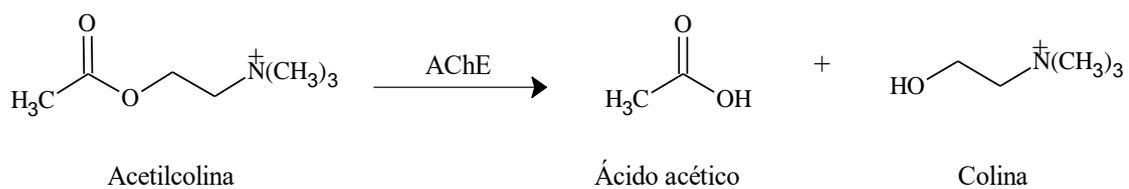
carrapaticidas comuns. Por serem imunotóxicos e prejudiciais a na sinalização de macrófagos, podem influenciar diretamente na saúde do animal tratado.

2.9 ACETILCOLINESTERASE

A acetilcolina (ACh) consiste em um dos principais veículos transmissores das mensagens neuronais. Com a regulação precisa mediada pela Acetilcolinesterase (AChE) a partir da ligação a receptores do tipo nicotínicos e muscarínicos, a acetilcolina desempenha diversas funções essenciais, tais como aprendizagem e memória, ativação de músculos esqueléticos e regulação de funções fisiológicas (ARAÚJO; SANTOS; GONSALVES, 2016; SARKAR *et al.*, 2021).

A interação da acetilcolinesterase com acetilcolina consiste na quebra, hidrólise e inativação da acetilcolina e no controle da mesma durante as sinapses, como mostra a Figura 6 (TRANG; KHANDHAR, 2021). Quando a enzima está inativa, a ACh mantém-se ativa por mais tempo, aumentando, assim, as transmissões colinérgicas. Os inibidores dessa enzima são utilizados para o tratamento de doenças neurológicas e são a primeira geração de medicamentos utilizados no tratamento do Alzheimer (DVIR *et al.*, 2010).

Figura 6 – Hidrólise da ACh em Ácido Acético e Colina catalisada pela AChE.

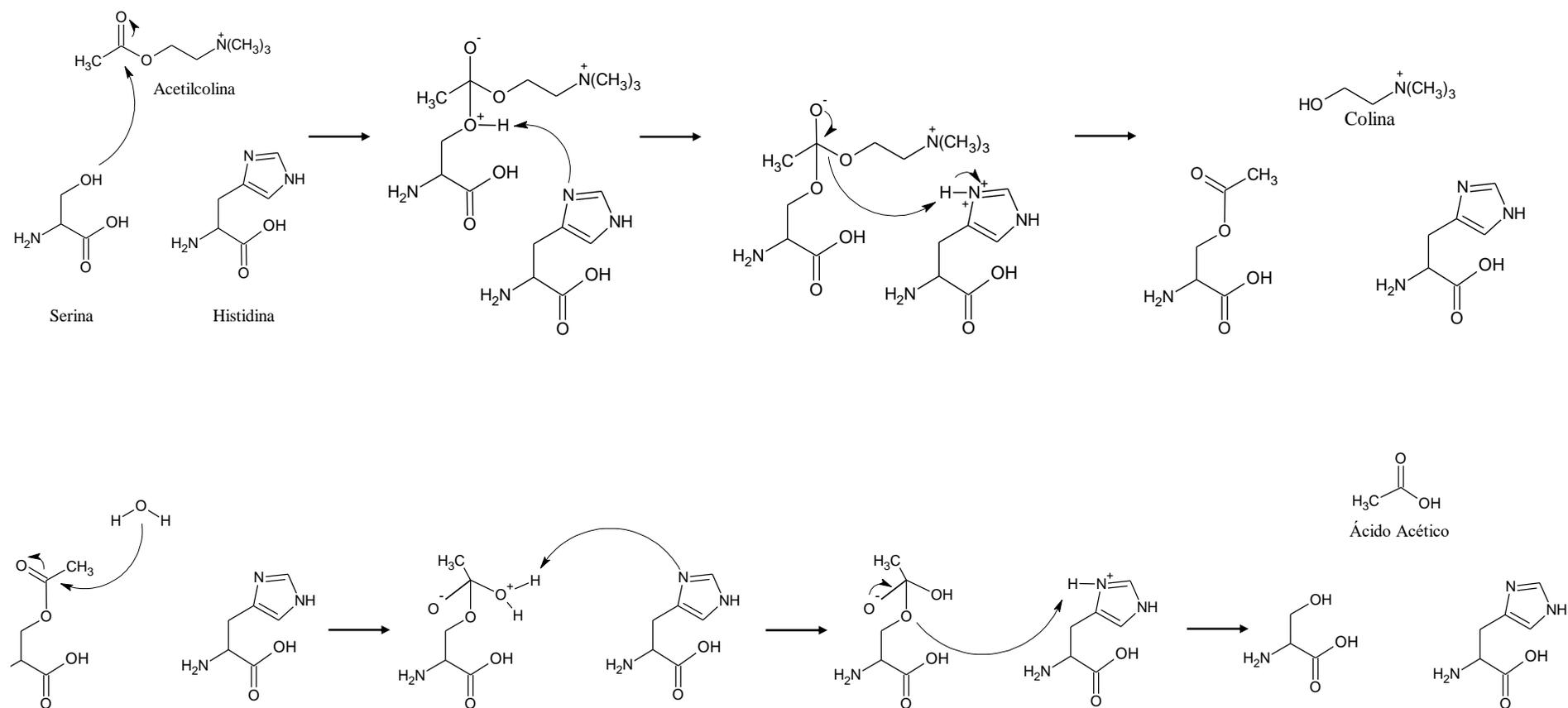


Fonte: Do autor (2022).

Araújo, Santos e Gonsalves (2016) explica que a hidrólise da ACh pela AChE depende dos resíduos de aminoácidos histidina e serina, que agem conjuntamente na subunidade catalítica da enzima para que ocorra o processo enzimático. Inicialmente, ocorre a adição nucleofílica entre a carbonila do neurotransmissor e o resíduo de serina. Em seguida, o resíduo de histidina age como base, retirando um próton do íon hidroxônio, que será doado para a fração colina e libertada em seguida. Quando a colina é liberada, a AChE fica acetilada e necessita

sofrer hidrólise, para que se torne novamente ativa. Com a ação nucleofílica de uma molécula de água, é formada uma molécula de ácido acético e liberado o resíduo de serina, permitindo que a enzima se torne ativa novamente. O processo de transformação está ilustrado na Figura 7.

Figura 7 – Transformação da ACh em colina e ácido acético a partir da ação da AChE.



Fonte: Araújo, Santos e Gonsalves (2016), com adaptações.

Os efeitos repelentes e inseticidas a partir de produtos naturais podem ser percebidos por diversas formas, tais como inibição da ovoposição, inibição da alimentação, alteração morfológicas e mortalidade dos insetos na fase imatura ou adulta, por exemplo. Um dos meios de ação inseticida dos compostos vegetais pode se dar a partir do bloqueio de neurotransmissores importantes, tais como a octopamina, a qual desempenha função similar a adrenalina, bem como receptores tipo γ -ácido aminobutírico (GABA) e 3-hidroxitriptofano (3-HTP) (MIRANDA *et al.*, 2020).

Alguns compostos organofosfatados desempenham sua atividade inseticida a partir da ligação covalente ao sítio ativo da acetilcolinesterase de forma irreversível, ocasionando a inibição enzimática e, conseqüentemente, o acúmulo de acetilcolina na membrana pós-sináptica, impedindo a polarização nervosa e ocasionando a morte dos insetos (DEWI; SUARSA, 2019; EL-GENDY *et al.*, 2021).

Poerwanto, Rahayu e Windyaraini (2020) explica que a ação larvicida de substâncias vegetais é proveniente dos metabólitos secundários contidos nas plantas, que agem de forma a inibir a fase de crescimento larval. Outros estudos avaliaram a relação de extratos vegetais larvicidas a partir da inibição da acetilcolinesterase e da tripsina. Segundo Luz *et al.* (2020), em insetos, a inibição enzimática da AChE resulta no acúmulo de acetilcolina, provocando forte efeito neurotóxico, seguido de morte. Já a tripsina, quando inibida, afeta diretamente no crescimento e desenvolvimento larval, interferindo no ganho de biomassa, absorção de nutrientes e crescimento.

Analisando o potencial inibitório da *Salvia tiliifolia* Vahl., *Chamaecrista mimosoides* L. Greene, *Buddleja salviifolia* (L.) Lam. e *Schotia brachypetala* Sond., Adewusia *et al.* (2011) obtiveram inibição enzimática eficiente a partir de IC₅₀ iguais a 1 mg mL⁻¹ para os extratos de *S. tiliifolia*, 0,03 mg mL⁻¹ para *C. mimosoides*, 0,05 para *B. salviifolia* e 0,27 mg mL⁻¹ para *S. brachypetala*. para os extratos obtidos com diclorometano/metanol, enquanto os extratos aquosos apresentaram IC₅₀ equivalentes a 12mg mL⁻¹ para *S. tiliifolia*, 0,35mg mL⁻¹ para *C. mimosoides*, e 3,40 mg mL⁻¹ para *S. brachypetala*. Sabendo que valores relativamente baixos de IC₅₀, os autores obtiveram melhores índices inibitórios a partir dos extratos obtidos com solventes.

Também analisando extratos aquosos e etanólicos de *Pulmonaria officinalis* (lungwort) e *Centarium umbellatum* nas concentrações de 3; 1,5 e 0,75 mg mL⁻¹

¹, Neagu e colaboradores (2018) obtiveram inibição entre 43,61 e 72,24% e 50,70 e 87,72% para os extratos aquosos e etanólicos de *P. officinalis*, respectivamente. Já os extratos de *C. umbellatum*, houve inibição entre 58,85 e 92,28% para os extratos aquosos, enquanto os extratos etanólicos promoveram inibição entre 64,27 e 94,24%. Pela caracterização cromatográfica, o alto teor de flavonoides detectados induz a possibilidade desses compostos estarem relacionados ao potencial da inibição enzimática.

2.10 CONTAMINAÇÃO ALIMENTAR

A alimentação, assim como a respiração e o consumo de água, é uma necessidade humana. Entretanto, os alimentos podem ser detentores ou veículos de diversos riscos, sejam eles de caráter físico, químico ou biológico. Os riscos de natureza física englobam corpos estranhos como pedra, ossos, caroços e vidro. Já os de caráter químico estão relacionados a metais, resíduos de produtos veterinários e aditivos. Por fim, os de caráter biológico são promovidos por microrganismos capazes de produzir de toxinas (ANDRADE JÚNIOR *et al.*, 2019). O processo de contaminação dos alimentos pode ocorrer em qualquer etapa de cadeia produtiva, desde a obtenção da matéria prima até o consumo (FLORES e MELO, 2015; RAHMAN *et al.*, 2022).

A riqueza nutricional dos alimentos é vista como um substrato favorável para o crescimento e desenvolvimento de microrganismos contaminantes. De todos os patógenos, as bactérias são vistas como as maiores causadoras de contaminação alimentar, resultando em doenças alimentares.

Estudos de Souza, Souza e Costa (2021) mostram que foram registrados, em média, 686 surtos alimentares no país, sendo as regiões sul e sudeste com maiores casos clínicos, graças ao maior número populacional e maior detecção de casos. Além de danos de saúde, Nogueira e colaboradores (2021) citam que esses surtos também podem ocasionar a redução da renda dos envolvidos, menor produtividade e redução de vendas.

Diversas técnicas industriais são aplicadas na cadeia produtiva a fim de minimizar o desenvolvimento de microrganismos em alimentos. Práticas de higiene, matérias-primas de boa procedência e o ajuste de alguns parâmetros de produção, como

temperatura e pH, a conservação em temperaturas baixas e o controle de oxigênio no alimento são vistos como boas alternativas para a redução dos riscos (FLORES; MELO, 2015; RAHMAN *et al.*, 2022). Todavia, durante o processo de transporte e no preparo dos alimentos, o controle de temperatura, armazenamento e higiene são dificultados, favorecendo o crescimento de microrganismos.

Algumas estratégias para conservação de alimentos já são analisadas e estão em processo de desenvolvimento. Sabe-se que o uso incorreto de antibióticos induz a resistência das cepas a serem tratadas, descartando a utilização de antibióticos já existentes. Com isso, substâncias alternativas, como fitoquímicos, são fortes candidatos para a substituição total ou parcial dos compostos já existentes, uma vez que estes possuem mais alvos de atuação do que antibióticos convencionais (ALVARÉZ-MARTINÉZ *et al.*, 2021).

As infecções alimentares oriundas da ingestão de alimentos contaminados podem ser diferenciadas como toxinfecção, intoxicação e infecção. Em casos de toxinfecções, as toxinas bacterianas são produzidas ou liberadas após a ingestão do alimento, podendo ser causadas por *Vibrio cholerae* e *Bacillus cereus*, por exemplo. Já nos casos de infecção, ocorre a ingestão do microrganismo que, posteriormente, pode penetrar e invadir os tecidos, podendo ser causadas por *Salmonella* Thypi, *Shigella*, *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes*. Por fim, os casos de intoxicação ocorrem quando a produção e liberação de toxinas ocorrem durante o desenvolvimento do microrganismo no alimento, antes mesmo de serem consumidos, como nos casos de infecção por *Staphylococcus aureus* (BERNARDES *et al.*, 2018; MELO *et al.*, 2018).

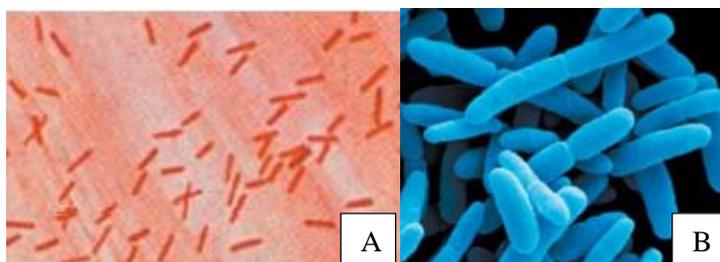
2.10.1 *Escherichia coli*

Morofologicamente, *Escherichia coli* são indivíduos Gram-negativos de bacilos curtos e pertencentes a família *Enterobacteriaceae*, que possuem crescimento máximo em pH 6-7 e temperatura entre 35 e 40°C, tolerando variações de pH e temperatura em um range entre 4 e 9 e 7 e 46°C, respectivamente (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012)

(Figura 8). É um microorganismo oportunista e de detentor de diversos fatores de virulência, podendo ser agente patológico em humanos e animais (GUERRA *et al.*, 2020).

Tortora, Funke e Case (2012) explica que, em sua maioria, as linhagens conhecidas de *E. coli* não são patogênicas e fazem parte da microbiota intestinal humana, colaborando na produção de algumas vitaminas e auxiliando na digestão de alimentos, além muita utilização em estudos laboratoriais, mas podem ser nocivas quando infestando outros órgãos, como trato urinário, pulmões e medula. Já as linhagens com potencial patogênico são transmitidas através do consumo de alimentos contaminados e água não tratada. Quando ocorre, promovem problemas como diarreias e infecções no trato urinário humano.

Figura 8 – (a) Indivíduos *E. coli* coradas; (b) Imagem de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) de *E. coli*.



Fonte: (a) Madigan *et al.* (2017); (b) Tortora, Funke e Case, 2012.

A classificação de cepas de *E. coli* causadoras de doenças é feita a partir do tipo de infecção que pode induzir: enteropatogênicas (EPEC), que instalam-se no trato intestinal e liberam proteínas que serão transportadas para células hospedeiras, causando diarreia; enterotoxigênicas (ETEC), que instalam-se no trato intestinal, liberando toxinas e induzindo inflamação, febre e disenteria; enteroinvasivas (EIEC), que colonizam e induz doença invasiva no cólon, resultando em diarreia aquosa e sanguinolenta; e a enterohemorrágica (EHEC), desenvolvidas no cólon e capazes de produzir a toxina *Shiga*, resultando em diarreia (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012; MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2014; MADIGAN *et al.*, 2016).

2.10.2 *Staphylococcus aureus*

O gênero *Staphylococcus* contempla 41 espécies e 24 subespécies. São cocos Gram-positivas, pertencentes a família *Micrococcaceae* e anaeróbias facultativas, podendo apresentar maior crescimento em condições aeróbias. Podem apresentar crescimento normal até 47,8°C e produção de toxinas em temperaturas entre 10 e 46°C e pH entre 4 e 9,8 (FRANCO; LANDGRAF, 2008; FLORES; MELO, 2015; MELO *et al.*, 2018).

Dentre as espécies conhecidas, *Staphylococcus aureus* é a mais relacionada a problemas de intoxicação alimentar (Figura 9). Essa espécie é capaz de crescer sob alta pressão osmótica e baixa umidade, o que justifica seu fácil crescimento nas secreções nasais e pele, por exemplo. Por serem tolerantes a concentrações entre 10 e 20% de NaCl e nitratos, alimentos curados são ambientes ótimos para seu desenvolvimento. Além desses, podem contaminar bolos recheados com creme, alimentos contendo batatas, pudins, sorvetes, presunto e carne de porco salgada (FRANCO; LANDGRAF, 2008; MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2014).

São bactérias capazes de produzir elevados teores de toxinas, que acarretam na expansão do seu potencial contaminante e deteriorante de tecidos (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012; MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2014). Uma dessas toxinas é a enterotoxina estafilocócicas, responsáveis por provocar náuseas, vômitos, diarreia, dor de cabeça, cólicas abdominais, queda da pressão arterial e câimbras musculares (FLORES; MELO, 2015).

Figura 9 – Imagem de MEV de *S. aureus*.



Fonte: Tortora, Funke e Case (2012).

S. aureus são capazes de induzir patologias pela produção de toxinas ou da invasão direta e destruição dos tecidos. Manifestações clínicas podem ser vistas a partir da ação de toxinas, como a síndrome do choque tóxico, caracterizada pela febre alta e vômitos, e por intoxicações alimentares, enquanto outras doenças são resultantes do crescimento do microrganismo, o que resulta na formação de abscessos e destruição tecidual. Em regiões que há presença de corpos estranhos, como sondas, pinos ou próteses, a infecção por esse microrganismo é mais vulnerável e ocorre em menor tempo e a partir de um número menor de estafilococcus (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012).

2.11 APLICAÇÕES E MECANISMO DE AÇÃO BACTERICIDA DOS EXTRATOS VEGETAIS

Geralmente, o combate a problemas bacterianos é feito a partir da utilização de antibióticos industriais já conhecidos, de origem natural ou sintética. Um exemplo de substância natural para esse fim é a penicilina, descoberta acidentalmente em 1928 por Alexandre Flemming a partir da colonização de fungos do gênero *Penicillium* em uma amostra contendo *S. aureus* (FERREIRA; PAES; LICHTENSTEIN, 2008). Com essa descoberta, o impulso industrial para a produção de microbicidas e o estudo científico para o desenvolvimento de novas drogas antimicrobianas ascendeu gradativamente.

Como visto, é vasta a aplicação de extratos oriundos de plantas em diversos casos, inclusive para fins bactericidas. O incorreto uso de antibióticos e o desenvolvimento de resistência faz com que a necessidade de novos antimicrobianos seja ainda mais urgente. Partes vegetais *in natura* ou na forma de óleos ou extratos, por exemplo, se mostram

promissores para este fim, uma vez que possuem atividade eficaz e menor desenvolvimento de resistência, graças a complexa composição química dos mesmos.

A aplicação de extratos obtidos de diversas partes do cafeeiro já é explanada e comprovada por diversos estudiosos. Contrariamente do que foi insinuado por muito tempo, a atividade bactericida oriunda do café não se limita a ação da cafeína, mas também a presença de compostos fenólicos e ácidos presentes. A ação bactericida desses compostos foi comprovada por Runti *et al.* (2015), que obtiveram resultados positivos ao analisarem extratos descafeinados frente a espécies Gram-positivas e Gram-negativas.

Para Antonio *et al.* (2011), a atividade de extratos de café sobre estirpes bacterianas pode ser alterada de acordo com sua composição química, a qual é influenciada pela espécie e pelo processamento que foi submetido, sendo possível obter diferentes resultados para o mesmo material vegetal. No entanto, devido a essas modificações, o mecanismo de ação de extratos de café verde e café torrado ainda não foram bem elucidados (KIM; LEE, 2018).

Duangjai *et al.* (2016) analisaram as propriedades antibacterianas de polpas de café pelo método de difusão em poço de ágar para *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa* e *E. coli.*, obtendo melhores resultados para as Gram-positivas. Além disso, concluíram que a atribuição de propriedades bactericidas é garantida pela presença de ácidos quínico, málico, clorogênico, taninos e cafeína, por exemplo.

Moreira *et al.* (2018), comprovaram, em seus estudos, que compostos isolados de subprodutos de café, como os carotenoides, apresentam atividade antibacteriana eficaz frente *S. choleraesuis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *L. monocytogenes* e *E. coli*. A partir do teste de microdiluição em poços, foi perceptível atividade superior para *E. coli* e *S. aureus*.

No que diz respeito ao mecanismo de ação, diversos estudos apontam que os compostos vegetais exercem sua atividade biológica a partir da ação sobre diversos processos, como a inibição de síntese proteica, vias metabólicas, síntese de DNA, modificações na parede celular e lise da membrana bacteriana (ALVARÉZ-MARTINÉZ *et al.*, 2021; NOGUEIRA *et al.*, 2021). Estudando extratos de *Aronia melanocarpa*, Deng *et al.* (2021) viram que antocianinas presentes são capazes de danificar essa membrana,

resultando no vazamento dos compostos intracelulares para o meio exterior, causando a morte bacteriana.

Outro mecanismo proposto é que compostos como fenólicos são capazes de doar prótons que modulam a acidez microbiana, além de captar elétrons livres da cadeia de transporte de elétrons da membrana ou inibir desidrogenases envolvidas no fluxo de prótons. Consequentemente, os prótons necessários para o processo de fosforilação oxidativa seriam interrompidos, inibindo, assim, o crescimento bacteriano (KWON *et al.*, 2007).

REFERÊNCIAS

- ABRAHÃO, S. A. *et al.* Compostos bioativos e atividade antioxidante do café (*Coffea arabica* L.). **Ciencia e Agrotecnologia**, Lavras – MG, v. 34, n. 2, p. 414-420, mar.-abr./2010.
- ADENUBI, O. T. *et al.* Plant extracts to control ticks of veterinary and medical importance: A review. **South African Journal of Botany**, v. 105, p. 178-193, jul./2016.
- ADEWUSIA, E. A. *et al.* Antioxidant and acetylcholinesterase inhibitory activity of selected southern African medicinal plants. **South African Journal of Botany**, v. 77, n. 3, p. 638-644, ago./2011.
- ALI, A. M. A. *et al.* Evaluation of the chemical constituents, antioxidant and enzyme inhibitory activities of six Yemeni green coffee beans varieties. **Food Bioscience**, 2022.
- ALVARÉZ-MARTINÉZ, F. J. *et al.* Antibacterial plant compounds, extracts and essential oils: An updated review on their effects and putative mechanisms of action. **Phytomedicine**, v. 90, set./2021.
- ANDRADE JÚNIOR, F. P. *et al.* Fatores que propiciam o desenvolvimento de *Staphylococcus aureus* em alimentos e riscos atrelados a contaminação: uma breve revisão. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, Salvador – BA, v. 18, n. 1, p. 89-93, jan.-abr./2019.
- ANDREOTTI, R.; GARCIA, M. V.; KOLLER, W. W. Carrapatos na cadeia produtiva de bovinos. **Embrapa Gado de Corte**. Brasília – DF: Embrapa, 2019. 140p.
- ANTONIO, A. G. *et al.* Inhibitory properties of *Coffea canephora* extract against oral bacteria and its effect on demineralisation of deciduous teeth. **Archives of Oral Biology**, v. 56, n. 6, p. 556-564, jun./2011.
- ARAÚJO, C. R. M.; SANTOS, V. L. A.; GONSALVES, A. A. Acetilcolinesterase - AChE: Uma Enzima de Interesse Farmacológico. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 6, p. 1818-1834, nov./2016.
- AYAVAZ, M. C. Phenolic compounds profile, neuroprotective effect and antioxidant potential of a commercial Turkish coffee. **Revista de Nutrição**, v. 33, 2020.
- BENELLI, G. *et al.* Tick repellents and acaricides of botanical origin: a green roadmap to control tick-borne diseases? **Parasitology Research**, n. 115, p. 2545-2560, jul/2016.
- BERNARDES, N. B. *et al.* Intoxicação Alimentar: um Problema de Saúde Pública. **Revista Multidisciplinar e de Psicologia**, v. 12, n. 42, p. 894-906, 2018.
- BOURGAUD, F. *et al.* Production of secondary plant metabolites: a historical perspective. **Plant Science**, v. 161, n.5, p. 839-851, out./2021.

BRANDELLI, C. L. C. **Plantas Medicinais: Histórico e Conceitos**. In: MONTEIRO, S. C.; BRANDELLI, C. L. C. **Farmacobotânica – Aspectos e Aplicações**. Artmed. 1 ed. 2017.

Brasil, 2018. Ministério da Saúde. **Plantas medicinais e fitoterápicos no SUS**. 2018. Disponível em: <http://portalms.saude.gov.br/acoes-e-programas/programa-nacional-de-plantas-medicinais-e-fitoterapicos-ppnprm/plantas-medicinais-e-fitoterapicos-no-sus>. Acesso em 15.01.2021.

BRITO, C. Carrapato *Rhipicephalus microplus* (Boophiulus). Multimídia: Banco de Imagens da Embrapa. **Embrapa Pecuária Sudeste**, 2015. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-imagens/-/midia/2461002/carrapato-rhipicephalus-boophilus-microplus>. Acesso em 12.12.2021.

CARDOSO, J. C.; OLIVEIRA, M. E. B. S.; CARDOSO, F. C. I. Advances and challenges on the *in vitro* production of secondary metabolites from medicinal plants. **Horticultura Brasileira**, v. 37, n. 2, abr.-jun./2019.

CARVALHO, R. S. *et al.* Antibacterial and antifungal activities of phenolic compound-enriched ethyl acetate fraction from *Cochlospermum regium* (mart. Et. Schr.) Pilger roots: Mechanisms of action and synergism with tannin and gallic acid. **South African Journal of Botany**, v. 114, p. 181-187, jan./2018.

CASAS, M. I. *et al.* Identification of biochemical features of defective *Coffea arabica* L. beans. **Food Research International**, v. 95, p. 59-67, maio/2017.

Center of Disease Control and Prevention. Ticks. Disponível em: <https://www.cdc.gov/dpdx/ticks/index.html>. Acesso em 27.01.2022.

Clube do café. Disponível em: <https://www.clubecafe.net.br/tipos-de-torra-caffe-gourmet>. Acesso em 15.02.2022.

DANTAS, A. C. S. *et al.* Acaricidal activity of extracts from the leaves and aerial parts of *Neoglaziovia variegata* (Bromeliaceae) on the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Research in Veterinary Science**, v. 100, p. 165-168, jun./2015.

DAVIS, A. P. *et al.* Lost and Found: *Coffea stenophylla* and *C. affinis*, the Forgotten Coffee Crop Species of West Africa. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, maio/2020.

DENG, H. *et al.* Antibacterial characteristics and mechanisms of action of *Aronia melanocarpa* anthocyanins against *Escherichia coli*. **LWT**, v. 150, out./2021.

DEWI, I. G. A. K. S. P.; SUARSA, W. Organophosphate exposure time impact on acetylcholin-esterase activity. **Journal of Physics: Conference Series**, v. 1321, v. 3, 2019.

DEWICK, P. M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. 3. ed. Hoboken: J. Wiley, 2009. 327 p.

DUANGJAI, A. *et al.* Comparison of antioxidant, antimicrobial activities and chemical profiles of three coffee (*Coffea Arabica* L.) pulp aqueous extracts. **Integrative Medicine Research**, v. 5, p. 324-331, dez./2016.

DVIR, H. *et al.* Acetylcholinesterase: From 3D structure to function. **Chemico-Biological Interactions**, v. 187, n. 1, p. 10-22, set./2010.

ELAKKIYA, V. *et al.* Advances in Ayurvedic medicinal plants and nanocarriers for arthritis treatment and management: a review. **Journal of Herbal Medicine**, v. 24, dez./2020.

EL-GENDY, I. R. *et al.* Bio-pesticides alternative diazinon to control peach fruit fly, *Bactrocera zonata* (Saunders) (Diptera: Tephritidae). **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 31, n. 49, mar./2021.

ELIZEI, V. G. *et al.* Atividade antifúngica *in vitro* do óleo de café verde. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 80, 2016.

Embrapa. **Produção mundial de café foi estimada em 170 milhões de sacas**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/66204043/producao-mundial-de-cafe-foi-estimada-em-170-milhoes-de-sacas>. Acesso em 26.12.2021.

FELIPPELLI, G. *et al.* Tick infestation level interferes with spray formulation (organophosphate + pyrethroid) efficacy against *Rhipicephalus microplus*. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v.13, n. 2, mar./2022.

FERNANDES, B. F. *et al.* Estudo etnofarmacológico das plantas medicinais com presença de saponinas e sua importância medicinal. **Revista de Saúde da AJES**, v. 5, n. 9, p. 16-22, jan.-jun./2019.

FERREIRA, M. V. C.; PAES, V. R.; LICHTENSTEIN, A. Penicilina: oitenta anos. **Revista de Medicina**, v. 87, n. 4, p. 272-277, out.-dez./2008.

FLORES, A. M. P. C.; MELO, C. B. Principais bactérias causadoras de doenças de origem alimentar. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 37, n. 1, p. 65-72, 2015.

FRANCA, A. S. *et al.* A preliminary evaluation of the effect of processing temperature on coffee roasting degree assessment. **Journal of Food Engineering**, v. 92, n. 3, p. 345-352, jun./2009.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu. 2008, 182p.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Medicinal plants: factors of influence on the content of secondary metabolites. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

GODARA, R. *et al.* Acaricidal activity of extract of *Artemisia absinthium* against *Rhipicephalus sanguineus* of dogs. **Parasitology Research**, v. 113, p. 747-754, 2014.

GODARA, R. *et al.* *In vitro* acaricidal activity of *Piper nigrum* and *Piper longum* fruit extracts and their active components against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* ticks. **Experimental and Applied Acarology**, v. 75, p. 333-343, jul./2018.

GUERRA, S. T. *et al.* *Short communication*: Investigation of extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli* virulence genes, bacterial motility, and multidrug resistance pattern of strains isolated from dairy cows with different severity scores of clinical mastites. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 4, p. 3606-3614, abr./2020.

HEJNA, A. Potential applications of by-products from the coffee industry in polymer technology – Current state and perspectives. **Waste Management**, v. 121, p.296-330, fev./2021.

JAIN, C.; KHATANA, S.; VIJAYVERGIA, R. Bioactivity of secondary metabolites of various plants: a review. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 10, n. 2, p. 494-504, fev./2019.

JAIN, P.; SATAPATHY, T.; PANDEY, R. K. *Rhipicephalus microplus*: A parasite threatening cattle health and consequences of herbal acaricides for upliftment of livelihood of cattle rearing communities in Chhattisgarh. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**. v. 26, jul./2020.

JANISSEM, B; HUYNH, T. Chemical composition and value-adding applications of coffee industry by-products: A review. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 128, p.110-117, jan./2018.

KIM, I. H.; LEE, J. H. Antibacterial and Whitening Activities of *Coffea Arabica* ethanol extract. **Korean Chemical Engineering Research**, v. 56, n.2, p. 245-251, 2018.

KUMAR, V. *et al.* Recente developments on solid-state fermentation for production of microbial secondary metabolites: challenges and solutions. **Bioresource Technology**, dez/2020.

KWON, Y. I. *et al.* Inhibition of *Staphylococcus aureus* by Phenolic Phytochemicals of Selected Clonal Herbs Species of *Lamiaceae* Family and Likely Mode of Action through Proline Oxidation. **Food Biotechnology**, v. 21, n. 1, p. 71-89, fev./2007.

LAUKALEJA, I.; KRUMA, Z. Influence of the roasting process on bioactive compounds and aroma profile in specialty coffee: a review. **FoodBalt**, p. 7-12, 2019.

LEMOS, M. F. *et al.* Chemical and sensory profile of new genotypes of Brazilian Coffea canephora. **Food Chemistry**, v. 310, abr./2020.

LIMA, A. R. *et al.* Compostos bioativos do café: atividade antioxidante in vitro do café verde e torrado antes e após a descafeinação. **Química Nova**, v. 33, n. 1, 2010.

LUNGUINHO, A. S. *et al.* Acaricidal and repellent activity of the essential oils of *Backhousia citriodora*, *Callistemon viminalis* and *Cinnamodendron dinisii* against *Rhipicephalus* spp. **Veterinary Parasitology**, v. 300, out./2021.

LUZ, T. R. S. A. *et al.* Essential oils and their chemical constituents against *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) larvae. **Acta Tropica**, v. 212, dez./2020.

MADIGAN, M. T. *et al.* **Microbiologia de Brock**. 14ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.

MAGONI, C. *et al.* Valorizing coffee pulp by-products as anti-inflammatory ingredient of food supplements acting on IL-8 release. **Food Research International**, v. 112, p. 129-135, out/2018.

MARANGONI, C.; MOURA, N. F.; GARCIA, F. R. Utilização de óleos essenciais e extratos de plantas no controle de insetos. **Revista de Ciências Ambientais**, Canoas – RS, v. 6, n. 2, p. 95-112, 2012.

MASEK, A. *et al.* Antioxidant Properties of Green Coffee Extract. **Forest, Foods and Nutrition**, v.11, n. 5, maio/2020.

MELO, E. S. *et al.* Doenças transmitidas por alimentos e principais agentes bacterianos envolvidos em surtos no Brasil: revisão. **Pubvet**, v. 12, n. 10, p. 1-9, out./2018.

MELO, E. S. *et al.* Doenças transmitidas por alimentos e principais agentes bacterianos envolvidos em surtos no Brasil: revisão. **Pubvet**, Maringá – PR, vol. 12, n. 10, ano 191, p. 1-9, out./2018.

MELO, M. L. O.; ELIAS, A. M. T.; SILVA, S. P. Identificação dos principais defeitos intrínsecos e extrínsecos para fins de classificação de grãos de café (*Coffea arabica* L. e *Coffea conilon*) distribuídos a empresas do agreste pernambucano. **IV Congresso Internacional das Ciências Agrárias**, 2019. Anais [...]. Recife - PE. Democratização do conhecimento e valorização profissional: caminhando para o desenvolvimento tecnológico e social. 2019.

MESQUITA, S. S.; TEIXEIRA, C. M. L. L.; SERVULO, E. F. C. Carotenoides: Propriedades, Aplicações e Mercado. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 2, p. 672-688, abr./2017.

MIRANDA, F. R. *et al.* Biological, histological and immunohistochemical studies on the toxicity of spent coffee grounds and caffeine on the larvae of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Environmental Pollution**, v. 271, 2020.

MORAIS, S. A. L. *et al.* Análise de compostos bioativos, grupos ácidos e da atividade antioxidante do café arábica (*Coffea arabica*) do cerrado e de seus grãos defeituosos (PVA) submetidos a diferentes torras. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas – SP, v. 28, p. 198-207, dez./2008.

MOREIRA, M. D. *et al.* Solid coffee waste as alternative to produce carotenoids with antioxidant and antimicrobial activities. **Waste Management**, 82, p. 93-99, 2018/12/01/2018.

MUNYENDO L. M. *et al.* Coffee phytochemicals and post-harvest handling—A complex and delicate balance. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 102, set./2021.

MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; PFALLER, M. A. **Microbiologia Médica**. 7ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014, 1808p.

MYO, E. M. *et al.* Characterization of bacterial endophytes from Myanmar medicinal plants for antimicrobial activity against human and plant pathogens. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 56, mar./2020.

NAKILCIOĞLU-TAŞ, E.; ÖTLEŞ, S. Physical characterization of Arabica ground coffee with different roasting degrees. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* [online], v. 91, n. 02, 2019.

NEAGU, E. *et al.* Antioxidant activity, acetylcholinesterase and tyrosinase inhibitory potential of *Pulmonaria officinalis* and *Centarium umbellatum* extracts. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 25, n. 3, p. 578-585, mar./2018.

NOGUEIRA, J. O. *et al.* Mechanism of action of various terpenes and phenylpropanoids against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 368, n. 9, maio/20221.

NONTHAKAEW, A. *et al.* Antifungal Activity of Crude Extracts of Coffee and Spent Coffee Ground on Areca Palm Leaf Sheath (*Areca catechu*) Based Food Packaging. **Packaging Technology and Science**, v. 28, n. 7, p. 633-645, mar./2015.

OLIVEIRA, L. S. *et al.* Coffee oil as a potential feedstock for biodiesel production. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 8, p. 3244-3250, maio/2008.

PAGARE, S. *et al.* Secondary Metabolites of Plants and their Role: Overview. **Current Trends in Biotechnology and Pharmacy**, v. 9, n. 3, p. 293-304, jul./2015.

PATAY, É. B.; BENCSIK, T.; PAPP, N. Phytochemical overview and medicinal importance of Coffea species from the past until now. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, 9, n. 12, p. 1127-1135, 2016/12/01/ 2016.

PAVELA, R. *et al.* Application of ethnobotanical repellents and acaricides in prevention, control and management of livestock ticks - A review. **Research in Veterinary Science**, v. 109, p. 1-9, 2016.

PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, n. 4, p. 146-152, nov./2012.

PÉREZ-ALONSO, N.; JIMÉNEZ, E. Producción de metabolitos secundarios de plantas mediante el cultivo *in vitro*. **Biología Vegetal**, v. 11, n. 4, p. 195-211, out.-dez./2011.

PILLAI, J. R. *et al.* Phytochemical analysis and antimicrobial activity of *Enicostemma littorale*. **Journal of King Saud University – Science**, v.32, n. 8, p. 9279-3285, dez./2020.

PIMENTA, C. J.; ANGELICO, C.; CHAULFON, S. M. Challenges in coffee quality: Cultural, chemical and microbiological aspects. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras – MG, v. 42, n. 4, jul.-ago./2018.

POERWANTO, S. H.; RAHAYU, E.; WINDYARAINI, D. H. Effectiveness of methanolic and ethanolic extracts of bandontan (*Ageratum conyzoides* L.) leaves on the mortality and development of mosquito *Culex quinquefasciatus* Say larvae. **AIP Conference Proceedings**, v. 2260, p. 040025-1–040025-8, dez/2020.

RAHMAN, M. *et al.* Contamination of fresh produce with antibiotic-resistant bacteria and associated risks to human health: a scoping review. **International Journal Research Public Health**, v. 19, n. 1, 2022.

RANTE, H. *et al.* Antibacterial activity of robusta coffee (*Coffea robusta* L.) peel extract against human pathogenic bacteria. **Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences**, v. 9, p. 264-268, set./2021.

REDDY, P. R. K. *et al.* Plant secondary metabolites as feed additives in calves for antimicrobial stewardship. **Animal Feed Science and Technology**, v. 264, jun/2020.

ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M. K.; TYLER, V. E. **Farmacognosia e Farmacobiotechnologia**. São Paulo: Premier, 1997. 372 p.

ROLDÁN, C.; SEGURA-CARRETERO, A. Identification of active compounds in vegetal extracts based on correlation between activity and HPLC-MS data. **Food Chemistry**, v. 136, n. 2, p. 392-399, jan./2013.

ROSADO-AGUILAR, J. A. *et al.* Plant products and secondary metabolites with acaricide activity against ticks. **Veterinary Parasitology**, v. 238, p. 66-76, abr./2017.

RUNTI, G. *et al.* Arabica coffee extract shows antibacterial activity against *Staphylococcus epidermidis* and *Enterococcus faecalis* and low toxicity towards a human cell line. **LWT – Food Science and Technology**, v. 62, n. 1, p. 108-114, jun./2015.

SAHEBI, M. *et al.* Profiling secondary metabolites of plant defence mechanisms and oil palm in response to *Ganoderma boninense* attack. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 122, p. 151-164, ago./2017.

SALMAN, M. *et al.* Repellent and acaricidal activity of essential oils and their components against *Rhipicephalus* ticks in cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 283, jul./2020.

SANTOSO, I.; MUSTANIROH, S. A.; CHOIRUN, A. Methods for quality coffee roasting degree evaluation: a literature review on risk perspective. **International Conference on Green Agro-Industry and Bioeconomy**, v. 924, 2021.

SARINO, J. N. *et al.* Classification Of Coffee Bean Degree Of Roast Using Image Processing And Neural Network. **International Journal of Scientific & Technology Research**, v. 8, n. 10, p. 3131-3233.

SARKAR, B. *et al.* Identification of the most potent acetylcholinesterase inhibitors from plants for possible treatment of Alzheimer's disease: a computational approach. **Egyptian Journal of Medical Human Genetics**, v. 22, n. 10, fev./2021.

SENINDE, D. R.; CHAMBERS IV, E. Coffee flavor: a review. **Beverages**, v. 6, n. 3, p. 44, jun./2020.

SHANMUGANATH, C. *et al.* Development of an efficient antitick natural formulation for the control of acaricide-resistant ticks on livestock. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 12, n. 3, maio/2021.

SILVA, C. Q. *et al.* Risk assessment of coffees of different qualities and degrees of roasting. **Food Research International**, v. 141, mar./2021.

SILVA, M. F. *et al.* Design and evaluation of non-conventional extraction for bioactive compounds recovery from spent coffee (*Coffea arabica* L.) grounds. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 177, p. 418-430, jan./2022.

SILVA, M. L. C. *et al.* Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 3, p. 669-681, jul.-set./2009.

SIMÕES, C. M. O. *et al.* (org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5a ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2004. 1104 p.

Sky Mountain Coffee. Disponível em: <https://skymountaincoffee.com/what-is-specialty-grade-coffee/>. Acesso em 17.01.2022.

SOUZA, J. F.; SOUZA, A. C. F.; COSTA, F. N. Estudo retrospectivo de surtos de doenças veiculadas por alimentos, na região nordeste e Estado do Maranhão, no período de 2007 a 2019. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 1, jun./2021

SPECIAN, V. *et al.* Metabólitos secundários de interesse farmacêutico produzidos por fungos endofíticos. **Unopar Científica – Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 16, n. 4, p. 345-351, 2014.

TIWARI, R.; RANA, C. S. Plant secondary metabolites: a review. **International Journal of Engineering Research and General Science**, v. 3, n. 5, set.-out./2015.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. Microbiologia. 10a ed. Porto Alegre: Artmed, 2012. 967p.

TOTARO, G. *et al.* Formulation of Green Particulate Composites from PLA and PBS Matrix and Wastes Deriving from the Coffee Production. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 27, p. 1488-1496, abr./2019.

TRANG, A.; KHANDHAR, P. B. Physiology, Acetylcholinesterase. **Stat Pearls**, Jan./2021.

TREVISAN, M. T. S. *et al.* CHAPTER 34: Phytochemicals From Coffea Leaves Coffee: Production, Quality and Chemistry. In: **The Royal Society of Chemistry**, p. 771-788, 2019.

WACHAMO, H. L. Review on Health Benefit and Risk of Coffee Consumption. **Medicinal & Aromatic Plants**, v. 6, n. 4, ago./2017.

ZANIN, R. C.; KITZBERGER, C. S. G.; BENASSI, M. T. Characterization of Roasted *Coffea arabica* Species by the Relationship Between Caffeine and Diterpenes Contents. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 63, 2020.

SEGUNDA PARTE – ARTIGO

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CARRAPATICIDA, BACTERICIDA E ANTICOLINESTERÁSICA DOS EXTRATOS ETANÓLICOS DE GRÃOS VERDES E TORRADOS DE *Coffea arabica* DE QUALIDADE INFERIOR

RESUMO

No presente estudo, foi testado o potencial bactericida, carrapaticida e anticolinesterásico de extratos etanólicos provenientes de grãos inferiores de café verde e torrado. Os extratos foram obtidos por refluxo quente pelo período de quatro horas. Após, foram filtrados a vácuo e evaporados, obtendo-se os extratos de café verde e torrado. Os extratos foram caracterizados por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e os compostos foram identificados pela comparação com o tempo de retenção dos padrões utilizados. A atividade carrapaticida foi avaliada pelo Teste de Imersão em Adultos (AIT); na atividade bactericida foi aplicada a técnica de microdiluição; e a inibição da acetilcolinesterase foi analisada a partir do monitoramento da formação do 5-tio-2-nitrobenzoato. Os rendimentos foram 3,44% e 13,34% para o café verde e o torrado, respectivamente. Os ácidos cafeico e clorogênico foram os compostos em maiores concentrações em ambos os extratos. Os extratos apresentaram eficaz ação carrapaticida em todas as doses analisadas, promovendo a mortalidade de todos os indivíduos, além de reduzir a ovoposição dos mesmos. A ação bactericida do extrato de café verde foi obtida a partir de concentrações mínimas iguais a 0,195 mg mL⁻¹ para *E. coli* e 0,096 mg mL⁻¹ para *S. aureus*, enquanto o extrato de café torrado apresentou atividade a partir de concentrações equivalentes a 0,048 mg mL⁻¹ para ambas as bactérias. A avaliação de inibição enzimática não foi evidenciada nas concentrações testadas. Os extratos obtidos podem ser cogitados para o desenvolvimento de novos produtos, permitindo a obtenção de moléculas bioativas a partir do uso de subprodutos industriais.

Palavras-chave: *Rhipicephalus microplus*. Bactericida. Extratos vegetais. Compostos bioativos.

1 INTRODUÇÃO

O café é um dos produtos mais comercializados e consumidos mundialmente. Em termos produtivos, o Brasil destaca-se como sendo maior produtor mundial de café, com safra estimada em 55,7 milhões de sacas do café arábica e 17 milhões de sacas do café conilon para o biênio 2022-2023 (BRASIL, 2022).

Pesquisas de Pereira *et al.* (2020) e Montenero *et al.* (2021) mostram que a composição bioquímica e bioativa dos grãos de café está relacionada com benefícios a saúde humana, como por exemplo a cafeína que pode reduzir o risco de doenças de Parkinson e Alzheimer, Diabetes Tipo 2 e certos tipos de câncer. A trigonelina, um alcaloide presente no café, possui efeitos antimicrobianos, anticancerígenos e anti-hiperglicêmicos. Além disso, o café é fonte de ácidos clorogênicos, que possuem propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, antidiabéticas, antiobesidade, hepatoprotetoras, antimicrobianas e anti-hipertensivas.

O teor de compostos fitoquímicos presentes no café, relacionados com benefícios à saúde, pode ser influenciado por fatores como torra, moagem e fermentação. O processo de torrefação é uma das principais etapas que modifica a concentração dos compostos bioativos, pois ocorre nessa etapa reações químicas, desidratação, reação de Maillard e degradação de Strecker, as quais são responsáveis pelo aroma e cor característicos do café (MONTENERO *et al.*, 2021).

No entanto, por ser bastante consumido pela população brasileira e ser bastante exportado, a geração de resíduos sólidos e de efluentes durante a cadeia de produção do café, desde a colheita até o preparo da bebida, é diretamente proporcional à produção da mercadoria apta para o consumo. Esses subprodutos são um entrave preocupante, uma vez que, frequentemente, são descartados de forma indevida, causando fortes impactos ambientais (VEGRO; CARVALHO, 1994; SILVA *et al.*, 2022).

Diferente da indústria alimentícia, diversas formas de aproveitamento para o material rejeitado já são estudadas e realizadas, como as cascas, polpa e borra que são aplicadas na produção de biocombustíveis, biofertilizantes e ração animal, enquanto a água utilizada no processo é tratada por digestão aeróbica e reutilizada para fins de irrigação (VEGRO; CARVALHO, 1994; ESQUIVEL; JIMENÉZ, 2012; DURÁN *et al.*, 2017). Ademais, sabe-se que aplicação de grãos verdes não defeituosos como aditivos

alimentares, enzimas, adubos, conservantes e antioxidantes também já é algo visto, bem como a utilização de grãos torrados para a formulação de cosméticos, farmacêuticos e alimentares (MARTO *et al.*, 2016; DURÁN *et al.*, 2017). No entanto, novas alternativas para o uso de grãos defeituosos de café ainda são limitadas e escassas.

O objetivo desse trabalho foi analisar o potencial bactericida e carrapaticida de extratos de grãos verdes e torrados de café de qualidade inferior, além de avaliar o potencial de inibição da enzima acetilcolinesterase.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Amostras

Os grãos de café (*Coffea arabica L.*) verdes e torrados de qualidade inferior foram adquiridos do Departamento de Agronomia da Universidade Federal de Lavras, da safra 2019/20 do sul de Minas Gerais. Os grãos de cafés foram torrados em torrador com capacidade para 1 kg, no grau de torração médio e os grãos de cafés verdes foram triturados em liquidificador industrial. As amostras dos grãos torrados e moídos e dos grãos verdes triturados foram empacotadas em embalagens de polietileno de 1 Kg e armazenadas à temperatura ambiente, até a utilização.

3.2 Obtenção dos Extratos Vegetais

Os extratos de café foram preparados utilizando o etanol como solvente, por meio da técnica de refluxo simples sólido-líquido. As condições da extração foram de 4 horas, a 78°C, em uma proporção líquido sólido de 5:1, para uma extração eficaz dos constituintes. Após o processo de refluxo, os extratos foram filtrados e rotavaporizados (Rotavapor Buchi R-144), por 2 horas para a evaporação do solvente. Posteriormente, os extratos foram deixados por 24 horas em capela de exaustão a temperatura ambiente, para evaporação completa do solvente. Em seguida, os extratos foram armazenados em vidros hermeticamente fechados e armazenados em freezer a -10 °C, para posteriores análises. O teor de umidade dos grãos de café foi avaliado de acordo com Pimentel *et al.* (2006), e

o rendimento de extração (%R), em base livre de umidade, foi calculado, de acordo com a Equação 1.

$$\%R = \frac{100 \cdot \textit{peso do extrato}}{\frac{\textit{peso da amostra} - (\textit{peso da amostra} \cdot \textit{umidade})}{5}} \quad (1)$$

3.3 Caracterização dos Extratos

A Cromatografia Líquida de Alto Desempenho (HPLC) foi realizada utilizando cromatógrafo Shimadzu UHPLC (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão), equipado por duas bombas quaternárias de alta pressão LC-20AT, degaseificador DGU-20A5, injetor automático SIL-20A, controladora CBM-20A, forno CTO-20AC, um detector UV-Vis SPD-20A e um detector de índice refrativo diferencial RID-10A e um coletor de frações FRC-10A. Foi utilizada uma coluna Shim-pack VP-ODS-C18 (250mm x 4,6mm) e pré coluna Shim-pack (10mm x 4,6mm).

A Fase Móvel (A) foi formada por 2% de ácido acético em água, enquanto a Fase Móvel (B) constituiu da mistura de metanol, água e ácido acético nas proporções de 70:28:2, respectivamente. O tempo total de injeção foi de 65min a 40°C, em fluxo de 1mL min⁻¹ e em comprimento de onda igual a 280nm. Os padrões fenólicos utilizados foram o ácido gálico, catequina, ácido clorogênico, ácido cafeico, vanilina, ácido p-cumárico, ácido ferúlico, ácido m-cumárico, ácido o-cumárico, resveratrol e ácido trans-cinâmico, todos obtidos da Sigma Aldrich (Saint Louis, Missouri, EUA). As Soluções-estoque foram preparadas em solução de metanol a 70% em grau HPLC.

Quantidade de 0,5g dos extratos que seriam analisados foram solubilizados em 20 mL de metanol 70% e submetidos a banho ultrassônico por 20 minutos. Após banho, a solução foi centrifugada (4000 rpm/7 minutos) e o sobrenadante foi filtrado em membrana de nylon 0,45 µm (Millipore). Os compostos presentes no extrato foram identificados a partir da comparação com os tempos de retenção dos padrões utilizados.

3.4 Atividade carrapaticida

Fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus microplus* foram coletadas manualmente de bovinos infestados de forma natural na cidade de Lavras – MG e região que não receberam nenhum tipo de tratamento carrapaticida nos trinta dias anteriores ao experimento. Os carrapatos foram levados ao laboratório e lavados em peneira, sob água corrente, secos em papel absorvente e agrupados para o experimento (REIS *et al.*, 2021).

O Teste de Imersão em Adultos fora realizado de acordo com a metodologia proposta por Drummond e colaboradores (1973). O experimento foi realizado no Laboratório de Biologia Parasitária (BIOPAR) do Departamento de Medicina Veterinária da UFLA, Minas Gerais, Brasil.

Os carrapatos selecionados foram pesados e divididos em grupos de dez indivíduos com o peso homogêneo. Nos grupos controles, os carrapatos foram expostos à água destilada (CI) e Tween 20% a 0,01% (CII). Nos grupos de tratamento, os carrapatos foram tratados com concentrações de extratos de cafés verde e torrado, equivalentes a 7,8 (TI); 15,6 (T2); 31,25 (T3); 62,5 (T4) e 125 (T5) mg mL⁻¹, diluídos em solução de Tween 0,01%. Os carrapatos de cada grupo foram imersos por cinco minutos em béqueres contendo 10 mL de cada solução descrita acima, tanto para os Grupos Controles quanto para os Grupos Tratamento. Em seguida, os carrapatos foram secos com papel toalha e dispostos em placas de Petri sob condições ambientes, sendo monitorados durante sete dias. Foram considerados mortos os carrapatos que não responderam ao estímulo com CO₂ e estímulo do ventre.

3.5 Atividade bactericida

3.5.1 Ativação das cepas bacterianas

As bactérias *Escherichia coli* (EPEP – 055) e *Staphylococcus aureus* (ATCC – 13565) foram obtidas da Coleção de Culturas de Microrganismos do Laboratório de Micotoxinas e Micologia de Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, Brasil. As bactérias foram ativadas a partir da incubação de 1mL da cepa em 9 mL de

caldo de infusão de coração e cérebro (BHI, HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., Mumbai, Índia) a 37°C por 24 horas. Após a ativação, uma alíquota desse meio foi transferida para um tubo contendo 9mL de Caldo de Soja Tríplica (TSB), resultando em uma solução de cultura de 10^8 UFC mL⁻¹. A solução foi lida em espectrofotômetro em comprimento de onda igual a 625 nm e a absorbância ajustada em uma faixa de 0,08 a 0,1 Å (Shimadzu UV-160 1 PC) (CLSI, 2015). Para a realização do teste, 1mL do inóculo foi novamente diluído em 9mL de TSB, obtendo uma concentração igual a 10^7 UFC mL⁻¹.

3.5.2 Determinação da Concentração Inibitória Mínima

A determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI) dos extratos foi realizada a partir da técnica de microdiluição (CLSI, 2015), utilizando placas de 96 poços. Foram adicionados, a cada poço, 100 µL de Caldo Mueller Hinton (Kasvi, Pinhals, PR, Brazil), 30 µL de solução bacteriana e 100µL do extrato, nas concentrações de 1; 1:1; 1:2; 1:4; 1:8; 1:16; 1:32; 1:64; 1:128; 1:256; 1:512 e 1:1024. Os volumes foram homogeneizados com auxílio de pipeta automática e as microplacas foram incubadas a 37°C por 24h. A CMI foi determinada como a menor concentração capaz de inibir o crescimento bacteriano. Como Controle Positivo, utilizou-se o antibiótico comercial Amoxicilina (1mg mL⁻¹) e o Tween 20 como Controle Negativo

Após o período de incubação, foram adicionados 10µL do corante resazurina sódica 0,01% em cada poço e, a partir da mudança de coloração promovida, foi possível identificar quais concentrações resultaram na inatividade bacteriana (azul) ou mantiveram a atividade normal (vermelho) (Albuquerque *et al.*, 2016; Araújo; Longo, 2016).

3.6 Atividade inibitória da enzima acetilcolinesterase

O teste avaliativo da inibição da enzima acetilcolinesterase foi realizado de acordo com a metodologia de Ellman e colaboradores (1961). Para a ativação da enzima, alíquotas 2970 µL de Tampão Tris-HCl (composto por HCl, NaCl e MgCl₂.6H₂O) de 254 µL da solução enzimática acetilcolinesterase foram adicionadas em um tubo de ensaio e encubadas a 37°C por cinco minutos. Em seguida, foram adicionados 25 µL das amostras de extratos nas concentrações de 0,25; 0,5; 1; 10; 50 e 100 mg mL⁻¹, 100 µL do

Reagente de Ellman e 80 µL de substrato e novamente incubada a 37°C por quinze minutos. Por fim, a absorbância das amostras foi medida em espectrofotômetro em comprimento de onda de 412nm (Shimadzu UV-1601PC).

Para fins comparativos, foram realizados Controles Negativo e Positivo para cada amostra analisada, nos quais as amostras foram substituídas por etanol e pelas diluições equivalentes de carvacrol, respectivamente. Ademais, a fim de considerar a hidrólise natural da acetiltiocolina, foram realizados controles não enzimáticos para cada amostra analisada, na qual a enzima foi substituída por Tampão Tris-HCl.

Os testes foram realizados em três repetições e a porcentagem de atividade enzimática foi calculada de acordo com a Equação 2.

$$A(\%) = \left(\frac{A_T - A_C}{A_O} \right) \cdot 100 \quad (2)$$

Em que: A é a absorbância percentual; A_T a absorbância do tratamento contendo o extrato/controlado positivo; A_C é a absorbância do controle não enzimático; e A_O é a absorbância do controle negativo.

3.7 Análise estatística

Os dados oriundos a partir do rendimento, da atividade inibitória da AChE e da atividade bactericida foram analisados pelo software SISVAR[®] a fim de avaliar se houve diferenças significativa entre os tratamentos, com médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância (FERREIRA, 2011).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Determinação da umidade e rendimento dos extratos

Os resultados obtidos para o rendimento das extrações dos grãos verde e torrado estão expressos na Tabela 1.

Tabela 1 – Rendimento de extratos etanólicos de Café Verde (CV) e Café Torrado (CT)

Extratos	Rendimento (g)
Café Torrado (CT)	13,34 ± 1,48 ^a
Café Verde (CV)	3,44 ± 0,81 ^b
*CV (%)	14,09

*CV (%) – Coeficiente de Variação.

Fonte: Do autor (2022).

A partir da metodologia proposta, os grãos de café verde secos apresentaram teor de umidade igual a zero. Esse resultado é explicado pela secagem dos grãos em terreiro ao ar livre e expostos ao sol, o que comprova a eficiência do processo de secagem. O processo de torra também é eficaz na redução da umidade dos grãos, a qual decresce em função tempo, podendo ser quase ou nula a partir dos 12 minutos de torra (VITORINO *et al.*, 2001).

De acordo com os dados obtidos para o rendimento, é notório que o café verde possui um rendimento inferior quando comparado ao café torrado. Uma possível justificativa para esse caso está relacionada a superfície de contato do material vegetal com o solvente utilizado no processo de extração. O café torrado, por passar pelo processo de moagem, apresenta maior contato com o solvente no processo de extração, garantindo maior rendimento do extrato.

De acordo com Leite *et al.* (2021), os reagentes utilizados no processo de extração devem ser definidos visando a utilização do extrato em processos industriais. O etanol é visto como ser um produto biodegradável e seguro, além de eficiente na extração de moléculas bioativas. A composição química dos extratos pode ser potencializada pela

extração com solventes de diversas polaridades, a fim de extrair compostos de estruturas químicas diferentes (GUALBERTO *et al.*, 2021).

4.2 Caracterização dos Extratos

Os compostos presentes nos extratos de café verde e café torrado identificados pela comparação com os tempos de retenção dos padrões e suas respectivas concentrações (mg g^{-1}) estão expostas na Tabela 2.

Tabela 2 – Compostos presentes nos extratos identificados por HPLC.

Compostos	Concentração (mg g^{-1})	
	CV	CT
Ácido gálico	-	0,001
Catequina	-	0,012
Ácido clorogênico	15,096	0,019
Ácido cafeico	43,752	4,500
Vanilina	0,323	0,008
Ácido ferúlico	0,224	-
Ácido m-cumárico	-	0,007
Ácido o-cumárico	0,526	-
Resveratrol	0,247	-

Fonte: Do autor (2022).

Em ambos os extratos, o ácido cafeico foi o composto encontrado em maior concentração, correspondendo a $43,75 \text{ mg g}^{-1}$ e $4,5 \text{ mg g}^{-1}$ para os extratos de café verde e torrado, respectivamente. Maior quantidade de ácidos clorogênicos foram identificados no extrato de café verde ($15,1 \text{ mg g}^{-1}$). O extrato de café torrado apresentou menor concentração dos outros compostos detectados quando em comparação com o extrato de café verde.

Ao estudarem grãos torrados de quatro variedades de *Coffea arabica*, Monteiro e Farah (2012) identificaram teores de ácidos cafeioquínicos (CQA) iguais a 80,6%, 82,6%, 82,7% e 83,0% para as variedades de *Coffea arabica* Mundo Novo, Bourbon, Red Catuai e Yellow Catuai, respectivamente, dos ácidos clorogênicos totais (CGA). Já o conteúdo de ácidos dicafeoilquínicos (diCQA) correspondem a 15,1%, 13,6%, 13,2% e 12,9%, respectivamente. Já para os ácidos feruloilquínicos (FQA) o teor detectado corresponde a 4,3%, 3,9%, 4,1% e 4,1% para as mesmas variedades e a mesma ordem. Compostos semelhantes foram apresentados por Vinson, Chen e Garver (2019), que identificaram ácidos cafeioquínicos, ácidos feruloilquínicos, ácidos dicafeoilquínicos e dímeros de cafeína em extratos de café verde comercial.

Semelhante aos dados compostos identificados nesse trabalho, Mirón-Mérida *et al.* (2019) identificaram quatro principais compostos fenólicos em de pergaminho de café, em concentrações iguais a 0,097 mg g⁻¹ para ácido gálico, 0,045 mg g⁻¹ para ácido clorogênico, 0,034 mg g⁻¹ para o ácido p-cumárico e 0,179 mg g⁻¹ para o ácido sináptico, além da cafeína, em concentração não exposta.

Ao analisarem por HPLC extratos de café verde incorporados a suplementos alimentares, Brzezicha *et al.* (2021) identificaram ácido clorogênico, cafeína, ácido cafeico, ácido cumárico e ácido ferúlico, sendo o ácido clorogênico em maiores quantidades, em concentração média igual a 32,7 e 47,6 mg g⁻¹.

Trugo e Macrae (1984) definem os ácidos clorogênicos como sendo um termo geral utilizado para descrever uma variedade de compostos fenólicos encontrados em espécies vegetais, inclusive no café. Nesse grupo, estão inclusos os ésteres de ácidos trans cinâmicos, como ácido cafeico, ácido ferúlico, ácido p-cumárico e ácido quínico. Esses ácidos possuem eficiente atividade antioxidante, mostrando alta atividade anticancerígena no combate de doenças degenerativas e cardiovasculares, proteção vegetal a tensões abióticas e ataque de patógenos, além de contribuir nos graus de amargor e adstringência da bebida (ROSSI *et al.*, 2007; MONTEIRO; FARAHA, 2012; AYELIGN; SABALLY, 2013).

Segundo Farah *et al.* (2005), a temperatura elevada no processo de torra promove a quebra das ligações carbono-carbono dos CGA, o que resulta na isomerização e na

degradação de alguns compostos do café torrado, o que pode explicar a na isomerização que ocorre no início da torra, além de possíveis reações de hidrólise e desidratação de compostos, o que podem explicar a diferença dos compostos presentes nos extratos.

Yang e colaboradores (2016) explicam que a formação dos compostos aromáticos presentes no café de torra padrão pode ser formado a partir da decomposição do ácido ferúlico. Para Yashin *et al.* (2017), o café é uma das fontes mais ricas de ácidos clorogênicos e a quantidade desses compostos pode ser influenciados pelo procedimento de extração aplicado para a obtenção destes.

4.3 Atividade carrapaticida

Os dados da atividade acaricida obtidos pelo Teste de Imersão em Adultos com o uso dos extratos de café verde e torrado estão apresentados na Tabela 2 e 3, respectivamente. A mortalidade dos indivíduos apresentou comportamento dose-dependência, apresentando maior mortalidade dos indivíduos nas maiores concentrações. O extrato de café torrado, além da mortalidade dos indivíduos em até o quinto dia de tratamento, inibiu consideravelmente a ovoposição em todas as concentrações, enquanto o extrato de café verde reduziu a postura de ovos apenas nas concentrações iguais a 125 e 62,5 mg mL⁻¹. Os controles utilizados no teste, água e Tween 0,01%, não ocasionaram a morte e nem a inibição da postura de ovos durante o período de avaliação.

Por apresentarem indivíduos mortos em todas as concentrações durante o período de avaliação, não foi obtido o valor da concentração letal para 50% dos indivíduos, mas é possível inferir que a CL₅₀ de ambos os extratos é inferior a 7,8 mg mL⁻¹.

Tabela 3: Mortalidade de carrapatos *Rhipicephalus microplus* a diferentes concentrações de extratos de café verde.

Concentração (mg mL ⁻¹)	Mortalidade - CV			
	24h	48h	72h	96h

125	6	10	10	10
62,5	2	8	8	10
31,25	2	4	8	10
15,6	2	4	6	10
7,8	0	2	4	10

Fonte: Do autor (2022).

Tabela 4: Mortalidade de carrapatos *Rhipicephalus microplus* a diferentes concentrações de extratos de café torrado.

Concentração (mg mL ⁻¹)	Mortalidade – CT				
	24h	48h	72h	96h	120h
125	10	10	10	10	10
62,5	4	8	10	10	10
31,25	0	4	4	10	10
15,6	2	2	4	10	10
7,8	0	6	6	8	10

Fonte: Do autor (2022).

Bravo-Ramos *et al.* (2021) analisaram extratos de folhas de *Carica mamão*, raiz de *Moringa oleifera* e sementes e cascas de *Randia aculeata* em concentrações iguais a 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,13 e 1,56 mg mL⁻¹ frente a *Rhipicephalus microplus*. Os autores observaram mortalidade entre 5-55% com extratos de folha de *C. mamão*, 7,5-65,6% para extratos de *M. oleifera*, 17,5-85,5% com extratos de sementes de *R. aculeata* e 15-75% com extratos de cascas de *R. aculeata*, além da inibição da eclosão de ovos nas maiores concentrações analisadas.

A ação carrapaticida de compostos vegetais pode ser observada de diversas formas, como na absorção das substâncias pela superfície corporal, fototoxicidade, inibição enzimática e o bloqueio do sistema nervoso e, em seguida, órgãos como intestino e ovário (REMEDIO *et al.*, 2014; ROMANA *et al.*, 2019; OLIVEIRA *et al.*, 2021).

Shanmuganath e colaboradores (2021), testaram extratos de *A. conyzoides* para espécies resistentes de *R. microplus*. Com a ação positiva dos extratos, foram observadas

modificações no tegumento dos indivíduos testados, além de redução de fosfatase ácida e alcalina, compostos responsáveis pelo transporte e digestão alimentar. Neste mesmo ano, Oliveira *et al.* (2021) perceberam a ação dos extratos de *Acmella oleracea* (jambu) nos oócitos I e II das fêmeas de *R. sanguineus* e, conseqüentemente, interferindo no material genético e comprometendo suas funções celulares.

Lunguinho *et al.* (2021) avaliaram o potencial de óleos essenciais de *Backhousia citriodora*, *Callistemon viminalis* and *Cinnamodendron dinisii* sobre *Rhipicephalus microplus*, onde obtiveram concentração letal média (LC50) igual a 3,276 $\mu\text{L mL}^{-1}$ pelo óleo essencial de *B. citriodora*, seguido por *C. dinisii*, que apresentou LC50 equivalente a 8,195 $\mu\text{L mL}^{-1}$, e *C. viminalis*, com LC50 igual a 8,936 $\mu\text{L mL}^{-1}$.

Diversos estudos comprovam o vasto número de compostos responsáveis pela ação carrapaticida, seja no estágio larval ou no estágio adulto. Desses, podem ser citados os alcaloides, flavonoides, cumarinas, antraquinonas e terpenos (ALCALÁ *et al.*, 2015; ROMANA *et al.*, 2019; SILVA *et al.*, 2021; SANTOS *et al.*, 2021). Sabendo que o café possui, em sua composição, alcaloides, flavonoides e terpenos, por exemplo, levanta-se a hipótese de que esses compostos estejam relacionados com a atividade biológicas dos extratos em questão.

4.4 Atividade inibitória da acetilcolinesterase

A Tabela 4 apresenta a atividade enzimática em função da concentração analisada promovida pela aplicação dos extratos de café verde e torrado. Divergindo do padrão utilizado nesse estudo e do que já foi confirmado por estudos realizados com compostos obtidos de plantas, como óleos essenciais, a redução da atividade enzimática não é diretamente dependente da concentração aplicada no teste. As menores atividades enzimáticas da AChE dos extratos foram observadas na concentração 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$, onde apresentou atividade de 63,96% para o café torrado, enquanto o extrato de café verde apresentou atividade igual a 79,72% na concentração 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Como os extratos não mostraram atividade inibitória igual ou superior a 50%, não foi possível calcular o IC₅₀.

Tabela 5: Atividades de inibição enzimática da AChE obtidas para o carvacrol e extratos de café verde e torrado.

Concentração (mg mL ⁻¹)	Atividade enzimática (%)		
	Carvacrol	CT	CV
0.25	80.17 ± 0.53 _{aB}	65.31 ± 4.47 _{dC}	87.83 ± 2.35 _{bA}
0.5	88.51 ± 0.39 _{bA}	69.84 ± 9.13 _{cB}	87.27 ± 2.91 _{bA}
1	64.38 ± 0.22 _{cB}	63.96 ± 1.41 _{dB}	79.72 ± 0.54 _{cA}
10	58.31 ± 0.73 _{dC}	84.56 ± 1.52 _{bB}	95.86 ± 0.54 _{aA}
50	24.01 ± 0.98 _{eC}	88.21 ± 0.79 _{bB}	94.09 ± 2.60 _{aA}
100	20.53 ± 0.03 _{eC}	114.62 ± 4.07 _{aA}	97.42 ± 0.16 _{aB}

As médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, não diferem entre si pelo Teste Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Fonte: Do autor (2022).

Sabe-se que substâncias vegetais possuem natureza complexa, graças a sua diversidade química e que a natureza complexa de extratos, quando atrelado a possíveis interações antagônica ou sinérgica, pode explicar as ações dos mesmos (ZENGIN *et al.*, 2020). Efeito semelhante foi confirmado por Gomes *et al.* (2022), que mostraram que a ação inibitória dos extratos de *Ammocharis coranica* possui maior potencial de inibição enzimática do que os mesmos extratos quando testados de forma fracionada.

Ademais, os compostos bioativos, quando comparados com outros extratos, podem divergir quantitativamente por diversos fatores: a parte vegetal, o ambiente no qual foi coletado e a estação do ano podem influenciar fortemente nos metabólitos ativos. Além disso, o processo de extração também é crucial no processo. Parâmetros como o método, solvente e temperatura aplicados interferem na eficácia da obtenção e na quantidade de biomoléculas vegetais (SHARMA *et al.*, 2015; ŞENOL *et al.*, 2018; ZENGIN *et al.*, 2020).

Akomolafe *et al.* (2017) e Zengin *et al.* (2020) citam que o café possui boa atividade inibitória de enzimas, comprovada pela ação de compostos isolados, como a cafeína e ácidos clorogênico e cafeico O ácido cafeico, quando utilizado com a cafeína, apresenta inibição inferior quando comparado com a atividade da cafeína pura, mas com efeito inibidor maior quando comparado ao ácido cafeico isolado. Os autores citam que,

além dos compostos bioativos que estão sendo analisados, fatores como a enzima e o método utilizados podem influenciar diretamente no resultado obtido.

Budryn *et al.* (2018) testaram o potencial de inibição da butirilcolinesterase (BChE) de extratos aquosos de cafés arábica e robusta. Melhores valores de IC₅₀ foram encontrados para os grãos verdes de café robusta e de arábica em torra média, iguais a 1,96 e 1,81 μmolL^{-1} , respectivamente. Os autores explicam que a ação superior dos grãos verdes de café robusta está relacionada a quantidade de ácido clorogênico, o qual foi significativamente maior que nas outras amostras. Já no café arábica, no início da torra, foram formados compostos que são capazes de ligar-se efetivamente a BChE. Os principais compostos relacionados no processo inibitório foram a cafeína e ácidos ferúlico, clorogênico e hidroxicinâmicos.

Nemzer, Kalita e Abshiru (2021) analisaram extratos de café com quantidades distintas de cafeína e ácido clorogênico para fins de inibição da AChE. Em seus estudos, concluíram que a ação inibitória de extratos com maiores teores de cafeína e ácido clorogênico é dependente da dose analisada, enquanto extratos com teores reduzidos dessas substâncias não apresentaram atividade inibitória da enzima sob condições analisadas.

Estudos realizados por Oboh e colaboradores (2013) corroboram esses resultados. Os pesquisadores analisaram a inibição da AChE pela cafeína e ácido clorogênico de forma isolada e conjunta, a partir de IC₅₀ igual a 4,21 $\mu\text{g/mL}$ e 8,01 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. No entanto, quando analisados de forma conjunta, a atividade enzimática foi reduzida quando utilizadas quantidades iguais dessas substâncias.

Conforme Pohanka e Dobes (2013), a cafeína é um composto com capacidade inibitória e de caráter não competitivo, mas de baixo potencial quando comparado com outras substâncias já aplicadas para esse fim, com menor toxicidade e maior facilidade para administrar altas doses. Pesquisas de Nemzer, Kalita e Abshiru (2021) apontam valores de IC₅₀ da cafeína igual a 90 $\mu\text{g/mL}$, enquanto compostos anticolinesterásicos já conhecidos, como a fisostigmina, apresenta inibição quase completa com doses equivalentes a 5 $\mu\text{g/mL}$.

Alguns estudiosos, como Oboh *et al.* (2013), explicam que a ação de biocompostos está relacionada com a sua estrutura química, que podem interferir positiva ou negativamente no potencial inibitório ou neuroprotetor. Compostos polifenólicos possuem grupos hidroxilas capazes de formar ligações de hidrogênio com aminoácidos específicos nos locais ativos de enzimas.

Lunguinho *et al.* (2021) analisaram a eficiência de óleos essenciais de *B. citriodora* e *C. dinisii* para a inibição de AChE, obtendo resultados reduzidos ($IC_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$) ou não eficientes para a inibição enzimática. A baixa ação do óleo essencial de *B. citriodora* pode ser explicada pelo reduzido potencial inibidor do citral, composto majoritário do óleo. No segundo caso, por ser um óleo de complexa composição química e mesmo com compostos capazes de induzir a inibição enzimática, a ação de compostos minoritários presentes no óleo de *C. dinisii* pode ser de natureza antagônica, o que acarreta na inativação do potencial do mesmo.

Semelhante ao presente estudo, Erdem *et al.* (2016), avaliaram extratos obtidos a partir de café comercial para inibição da AChE e BChE. Os pesquisadores não encontraram resultados frente a AChE em concentrações até $100 \mu\text{g/mL}$ e atividade de inibição de 30,8% para BChE, o que leva a suposição que esses compostos não agem de forma inibitória frente a enzima, mas sim pela ação neuroprotetora, uma vez que o ácido clorogênico possui alto potencial antioxidante.

A ação do ácido clorogênico e seus metabólitos para redução de danos neuronais se dá pela proteção contra agentes estressores, como o óxido nítrico e o glutamato, bem como na redução de peroxidação lipídica (TARAM *et al.*, 2016). Trabalhos de Pavlica e Gebhardt (2009) e Metwally *et al.* (2020) mostram que a ação do ácido clorogênico protege células neuronais por meio da limpeza de radicais livres e na inibição da formação destes quando analisadas em células intactas, na regulação de marcadores moleculares e sinalização citoprotetora. O processo de torra do café pode aumentar significativamente a quantidade de compostos antioxidantes lipofílicos, os quais podem agir de forma mais eficiente em células neuronais, protegendo-as de possíveis danos ocasionados por estresse oxidativo (Chu *et al.*, 2009).

4.5 Atividade bactericida

As Concentrações Mínimas Inibitórias (CMI) de cada amostra para cada bactéria estão expressas na Tabela 5. Com base nos dados apresentados na Tabela, o extrato de café torrado apresentou atividade bactericida a partir de concentrações iguais ou superiores a $0,048 \mu\text{L mL}^{-1}$, enquanto o extrato de café verde mostrou inibição a partir de $0,195$ e $0,096 \mu\text{L mL}^{-1}$ para *S. aureus* e *E. coli*, respectivamente.

A aplicação do Tween, utilizado para solubilizar os extratos, agiu sem interferir na propriedade dos extratos analisados, convergindo com os dados expostos por Freire e colegas (2014) e por Araújo e Longo (2016). Já o Controle Positivo utilizado (Amoxicilina 1 mg mL^{-1}), foi eficiente frente as duas bactérias sob todas as concentrações analisadas.

Tabela 6: Concentrações Mínimas Inibitórias de extratos para *E.coli* e *S.aureus*.

	CMI ($\mu\text{L mL}^{-1}$)	
	<i>E. coli</i> (-)	<i>S. aureus</i> (+)
CV	0,195 ^{aA}	0,096 ^{bA}
CT	0,048 ^{aB}	0,048 ^{aB}
Controle +	0,048 ^{aB}	0,048 ^{aB}
Controle –	NI	NI
*CV (%)	34.64	

Legenda: NI – Não inibiu.; *CV (%) – Coeficiente de Variação.

Letras minúsculas na mesma linha e letras maiúsculas na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si a 5% de significância pelo teste de Tukey.

Fonte: Do autor (2022).

Estudos de Mohammed e Al-Bayati (2009) afirmam que a cafeína pura possui significativo efeito bactericida ao apresentar zona inibitória de 11,4 mm e 12,5 mm para *E. coli* e *S. aureus*, respectivamente, partindo de uma concentração equivalente a 2 mg mL^{-1} . A ação bacteriana obtida, por sua vez, pode ser explicada pela potencialidade da cafeína em inibir a síntese de proteínas a partir do DNA e inibir a incorporação de timina e adenina.

Kim e Lee (2018) analisaram o potencial antibacteriano de extratos metanólicos de café verde frente às bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, obtendo valores para a atividade biológica com concentrações equivalentes a 62,5 $\mu\text{L mL}^{-1}$ para *E. coli*, e maior que 250 $\mu\text{L mL}^{-1}$ para *S. aureus*.

Bharath, Sowmya e Mehta (2015), ao utilizarem extratos de grãos verdes de café apresentaram resultados de inibição para bactérias periodontopatogênicas com concentração inibitória mínima equivalente a 0,2 $\mu\text{L mL}^{-1}$. Para eles, a ação bactericida está diretamente ligada a ação do ácido clorogênico, composto encontrado em grãos não torrados.

Diversos compostos podem ser responsáveis pela ação bactericida dos extratos, sendo a cafeína e o ácido clorogênico os mais citados. Conforme Fardiaz (1995), a cafeína pode contribuir relevantemente para a ação microbiana dos extratos. Todavia, se em baixas concentrações, pode atuar como estímulo para o crescimento bacteriano de algumas cepas, como *E. coli*, *S. aureus* e *B. cereus*. Mediante isso, sabe-se que a ação sinérgica da cafeína com outros compostos presentes garante a atividade antimicrobiana do extrato de café, enquanto, para ação isolada, se faz necessária concentrações relativamente altas de cafeína (RUNTI *et al.*, 2015).

Prandi e colaboradores (2021) estudaram a atividade microbiana de extratos provenientes de grãos não defeituosos e de cascas de café frente a *Streptococcus suis* e *E. coli*. Como resultados, obtiveram significativa inibição bacteriana a partir do uso do extrato dos grãos de café, enquanto o extrato da pele de prata (película protetora do grão de café) não mostrou atividade frente aos microrganismos. A atividade biológica exercida pelo extrato pode ser explicada pela quantidade de proteínas, cafeína e polifenóis detectados.

Akhlaghi *et al.* (2019) mostraram que extratos obtidos por grãos não defeituosos de café apresentaram atividade bactericida frente a *S. mutans*, em concentrações entre 62,5 e 1000 mg mL^{-1} e bacteriostático contra *L. plantarum* em concentrações entre 500 e 1000 mg mL^{-1} .

De acordo com Prandi *et al.* (2021), os compostos fenólicos presentes em extratos de café podem agir desnaturando as proteínas de células bacterianas, inibindo a

multiplicação bacteriana. Com essas ligações, a parede celular é danificada, causando um desequilíbrio de macromoléculas e íons celulares, resultando na lise celular.

Além da ação bactericida através da lise celular, outros mecanismos de ação também já são descritos. Camargo *et al.* (2019) indicaram que a ação dos compostos majoritários de óleos essenciais obtidos de *Cantinoa carpinifolia*, α -tujona e β -tujona, são capazes de atravessar a superfície membranar e promover sua ação por meio da ação interna, seja pela interferência nas proteínas, na inibição de sinais de comunicação ou na síntese do DNA.

Akhlaghi *et al.* (2019) descreveram que a comparação de estudos realizados com outros já existentes pode ser dificultado por diversos fatores, como a metodologia e meio de cultura aplicados, o material vegetal a ser analisado e as cepas. Muitos pesquisadores relatam a atividade microbicida de extratos obtidos a partir de grãos de qualidade ou outros subprodutos, mas com grãos defeituosos não foram relatados.

A ação dos extratos obtidos possuem maior ação frente a *S. aureus* pode estar relacionada a composição da sua proteção bacteriana. Nogueira e colaboradores (2021) explicam que a estrutura da parede celular de uma bactéria Gram-positiva consiste em uma membrana plasmática revestida de uma camada de peptídeoglicano, enquanto bactérias Gram-negativas são formadas por uma parede de peptídeoglicano e uma membrana externa adicional. Com isso, torna-se mais dificulta a ação da substância a ser analisada.

5 CONCLUSÕES

Os extratos obtidos e analisados apresentaram atividade bactericida frente as cepas de *E. coli* e *S. aureus*, a partir de concentrações mínimas equivalente a $0,048 \mu\text{L mL}^{-1}$ para o café torrado e $0,096 \mu\text{L mL}^{-1}$ para o café verde.

A atividade carrapaticida obtida com a utilização dos extratos foi satisfatória, com mortalidade gradativa durante os dias consequentes do experimento, em concentrações entre $7,81$ e 125 mg mL^{-1} . A redução da ovoposição dos indivíduos tratados com extratos

de café torrado foi perceptível nas concentrações supracitadas, enquanto os extratos de café verde reduziram a postura apenas em 125 e 62,5 mg mL⁻¹

Os extratos de café apresentaram reduzida inibição enzimática, sem que houvesse relação com a dose avaliada. Por não demonstrarem potencial de inibição satisfatório, os compostos dos extratos com possível atividade de inibição pode ser influenciados negativamente por outros compostos presentes.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os extratos provenientes de grãos de café de qualidade inferior, na forma verde e torrada, podem ser novos protótipos para o desenvolvimento de bioprodutos acaricidas e bactericidas, que possuam eficaz ação, boa degradabilidade e menor resistência dos patógenos, além de novas aplicabilidades para esse subproduto da segunda maior indústria mundial.

A partir da caracterização por técnicas cromatográficas, será possível entender a composição química desses extratos e compreender quais compostos e os mecanismos de ação pelos quais são exercidas suas atividades biológicas.

REFERENCIAS

AKHLAGHI, N. *et al.* The antibacterial effects of coffee extract, chlorhexidine, and fluoride against *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus plantarum*: An *in vitro* study. **Dental Research Journal**, v. 16, n. 5, p. 346-353, set./2019.

AKOMOLAFE, S. F. Effect of caffeine, caffeic acid and their various combinations on enzymes of cholinergic, monoaminergic and purinergic systems critical to neurodegeneration in rat brain — *In vitro*. **Neurotoxicology**, v. 62, p. 6-13, set./2017.

ALBUQUERQUE, R. S. *et al.* Atividade antimicrobiana de extratos vegetais. In: COUTINHO, H. D. M. **Manual Técnico de Pesquisa – Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular**. Recife: Imprima, 2016. 93p, p.13-26.

ALCALÁ, Y. *et al.* Acaricidal Action of Water Extracts from *Eysenhardtia polystachya* Against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Comparative Parasitology**, v. 82, n. 1, p. 123-128, jan./2015.

ARAÚJO, M. M.; LONGO, P. L. Teste da ação antibacteriana *in vitro* de óleo essencial comercial de *Origanum vulgare* (orégano) diante das cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 83, p. 1-7, 2016.

AYELIGN, A.; SABALLY, K. Determination of Chlorogenic Acids (CGA) in Coffee Beans using HPLC. **American Journal of Research Communication**, v. 1, n. 2, p. 78-91, 2013.

BHARAT, N.; SOWMYA, N. K.; MEHTA, D. S. Determination of antibacterial activity of green coffee bean extract on periodontogenic bacteria like *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*: An *in vitro* study. **Contemporary Clinical Dentistry**, v. 6, n. 2, p. 166-169, abr.-jun./2015.

BRASIL. Secretaria Especial de Comunicação Social. **Produção de café deve atingir 55,7 milhões de sacas na safra de 2022**. Disponível em: <https://www.gov.br/secom/pt-br/assuntos/noticias/2022/01/producao-de-cafe-deve-atingir-55-7-milhoes-de-sacas-na-safra-de-2022>. Acesso em 25.01.2022.

BRAVO-RAMOS, J. L. *et al.* Acaricidal activity of the hexanic and hydroethanolic extracts of three medicinal plants against southern cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Experimental and Applied Acarology**, v. 85, p. 113-129, ago./2021.

BRZEZICHA, J. *et al.* Green coffee VS dietary supplements: A comparative analysis of bioactive compounds and antioxidant activity. **Food and Chemical Toxicology**, v. 155, set./2021.

BUDRYN, G. et al. Evaluation of butyrylcholinesterase inhibitory activity by chlorogenic acids and coffee extracts assed in ITC and docking simulation models. **Food Research International**, v. 109, p. 268-277, jul./2018.

CAMARGO, K. C. et al. Antibacterial action of the essential oil from *Cantinoa carpinifolia* benth. Against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* strains. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 35, n. 1p. 99-106, out./2019.

CHU, Y. F. et al. Roasted coffees high in lipophilic antioxidants and chlorogenic acid lactones are more neuroprotective than green coffees. **Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 20, p. 9801-9808, set./2009.

CLSI. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, Approved standard – Tenth Edition. CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) document M07 – A10, Volume 35, Number 2, 2015.

DRUMMOND, R. O. et al. *Boophilus annulatus* and *B. microplus*: laboratory tests of insecticides. **Journal of Economic Entomology**, v. 66, n. 1, p. 130-133, 1973.

DURÁN, C. A. A. et al. Café: Aspectos Gerais e seu Aproveitamento para além da Bebida. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 1, p. 107-134, 2017.

ELLMAN, G. L. et al. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, v. 7, p. 88-95, 1961.

ERDEM, S. A. et al. Exploring *in vitro* neurobiological effects and high-pressure liquid chromatography-assisted quantitation of chlorogenic acid in 18 Turkish coffee brands. **Journal of Foods and Drug Analysis**, v. 24, n. 1, p. 112-120, jan./2016.

ESQUIVEL, P.; JIMÉNEZ, V. M. Functional properties of coffee and coffee by-products. **Food Research International**, v. 46, n.2, p. 488-495, maio/2012.

FARAH, A. et al. Effect of Roasting on the Formation of Chlorogenic Acid Lactones in Coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 5, p. 1505-1513, fev./2005.

FARDIAZ, S. Antimicrobial Activity of Coffee (*Coffea robusta*) Extract. **Asean Food Journal**, v. 10, n. 3, p. 103-106, 1995.

FERREIRA, D. F. SISVAR: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia, Lavras**, v. 35, n. 6, 1039-1042, 2011.

FREIRE, I. C. M. et al. Atividade antibacteriana de Óleos Essenciais sobre *Streptococcus mutans* e *Staphylococcus aureus*. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, Campinas – SP*. v. 16, n. 2, p. 372-377, 2014.

GOMES, J. V. D. et al. Chemical profile and biological activity of *Crinum americanum* L. (Amaryllidaceae). **South African Journal of Botany**, v. 146, p. 25-35, maio/2022.

GUALBERTO, N. C. *et al.* Bioactive compounds and antioxidant activities in the agro-industrial residues of acerola (*Malpighia emarginata* L.), guava (*Psidium guajava* L.), genipap (*Genipa americana* L.) and umbu (*Spondias tuberosa* L.) fruits assisted by ultrasonic or shaker extraction. **Food Research International**, v. 147, set./2021.

KIM, I. H.; LEE, J. H. Antibacterial and Whitening Activities of *Coffea Arabica* ethanol extract. *Korean Chemical Engineering Research*, v. 56, n.2, p. 245-251, 2018.

LEITE, P. I. P. Extraction of bioactive compounds from buriti (*Mauritia flexuosa* L.) fruit by eco-friendly solvents: Chemical and functional characterization. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, v. 22, set./2021.

LUNGUINHO, A. S. *et al.* Acaricidal and repellent activity of the essential oils of *Backhousia citriodora*, *Callistemon viminalis* and *Cinnamodendron dinisii* against *Rhipicephalus spp.* **Veterinary Parasitology**, v. 300, 2021.

MARTO, J. *et al.* The green generation of sunscreens: Using coffee industrial sub-products. **Industrial Crops and Products**, v. 90, p. 93-100, fev./2016.

MATOSINHOS, R. C. *et al.* *Coffea arabica* extracts and their chemical constituents in a murine model of gouty arthritis: How they modulate pain and inflammation. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 284, fev./2022.

METWALLY, D. M. *et al.* Chlorogenic acid confers robust neuroprotection against arsenite toxicity in mice by reversing oxidative stress, inflammation, and apoptosis. **Journal of Functional Foods**, v. 75, dez./2020.

MIRÓN-MÉRIDA, V. A. *et al.* Valorization of coffee parchment waste (*Coffea arabica*) as a source of caffeine and phenolic compounds in antifungal gellan gum films. **LWT**, V. 101, p. 167-174, mar./2019.

MOHAMMED, M. J.; AL-BAYATI, F. Isolation, identification and purification of caffeine from *Coffea arabica* L. and *Camellia sinensis* L.: A combination antibacterial study. **International Journal of Green Pharmacy**, v. 3, n. 1, p.52-57, jan.-mar./2009.

MONTEIRO, M. C.; FARAH, A. Chlorogenic acids in Brazilian *Coffea arabica* cultivars from various consecutive crops. **Food Chemistry**, v. 134, n.1, p. 611-614, set./2012.

MONTENERO, J. *et al.* Bioactive compounds, antioxidant activity and antiproliferative effects in prostate cancer cells of green and roasted coffee extracts obtained by microwave-assisted extraction (MAE). *Food Research International*, v. 140, n. 2, dez./2021.

MYO, E. M. *et al.* Characterization of bacterial endophytes from Myanmar medicinal plants for antimicrobial activity against human and plant pathogens. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 56, mar./2020.

NEMZER, B.; KALITA, D.; ABSHIRU, N. Quantification of Major Bioactive Constituents, Antioxidant Activity, and Enzyme Inhibitory Effects of Whole Coffee Cherries (*Coffea arabica*) and Their Extracts. **Molecules**, v. 26, n. 14, jul./2021.

NOGUEIRA, J. O. *et al.* Mechanism of action of various terpenes and phenylpropanoids against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 368, n. 9, maio/2021.

OBOH, G. *et al.* Comparative Study on the Inhibitory Effect of Caffeic and Chlorogenic Acids on Key Enzymes Linked to Alzheimer's Disease and Some Pro-oxidant Induced Oxidative Stress in Rats' Brain-In Vitro. **Neurochemical Research**, v. 38, p.413-419, 2013.

OLIVEIRA, P. R. *et al.* Exposure of *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato Latreille, 1806 (Acari: Ixodidae) to hexane extract of *Acmella oleracea* (Jambu): semi-engorged and engorged ticks. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 12, n. 4, jul./2021.

PAVLICA, S.; GEBHARDT, R. Protective effects of ellagic and chlorogenic acids against oxidative stress in PC12 cells. **Free Radical Research**, v. 39, n. 12, p. 1377-1390, jul./2009.

PEREIRA, G. V. M. *et al.* Chapter Three - Chemical composition and health properties of coffee and coffee by-products. **Advances in Food and Nutrition Research**, v. 91, p. 65-96, 2020.

PIMENTEL, F. A. *et al.* A convenient method for the determination of moisture in aromatic plants. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 2, p. 373-375, 2006.

POHANKA, M.; DOBES, P. Caffeine Inhibits Acetylcholinesterase, But Not Butyrylcholinesterase. **International Journal Molecules**, Science. v. 14, n. 5, p. 9873-9882, abr./2013.

PRANDI, B. *et al.* Extraction and Chemical Characterization of Functional Phenols and Proteins from Coffee (*Coffea arabica*) By-Products. **Biomolecules**, v. 11, n. 11, p.1571, out./2021.

REIS A. C. *et al.* Cytotoxic effects of *Satureja montana* L. essential oil on oocytes of engorged *Rhipicephalus microplus* female ticks (Acari: Ixodidae). **Microscopy Research and Technique**, v. 84, n. 7, p. 1375-1388, jan./2021.

REMEDIO, R. N. *et al.* Morphological effects of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) seed oil with known azadirachtin concentrations on the oocytes of semi-engorged *Rhipicephalus sanguineus* ticks (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, v. 114, p. 431-444, out./2014.

ROMANA, P. Plant extracts for developing mosquito larvicides: From laboratory to the field, with insights on the modes of action. **Acta Tropica**, v. 193, p. 236-271, maio./2019.

RUNTI, G. *et al.* Arabica coffee extract shows antibacterial activity against *Staphylococcus epidermidis* and *Enterococcus faecalis* and low toxicity towards a human cell line. **LWT – Food Science and Technology**, v. 62, n. 1, p. 108-114, jun./2015.

SANTOS, E. G. G. *et al.* Effects of essential oils on native and recombinant acetylcholinesterases of *Rhipicephalus microplus*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 30, n. 2, 2021.

ŞENOL, F. S. *et al.* Neuroprotective potential of the fruit (acorn) from *Quercus coccifera* L. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, v. 42, p. 82-87, abr./2018.

SHANMUGANATH, C. *et al.* Development of an efficient antitick natural formulation for the control of acaricide-resistant ticks on livestock. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 12, n. 3, maio/2021.

SHARMA, K. *et al.* Temperature-dependent studies on the total phenolics, flavonoids, antioxidant activities, and sugar content in six onion varieties. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 23, n. 2, p. 243-252, jun./2015.

SILVA, M. F. *et al.* Design and evaluation of non-conventional extraction for bioactive compounds recovery from spent coffee (*Coffea arabica* L.) grounds. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 177, p. 418-430, jan./2022.

TARAM, F. *et al.* Neuroprotection comparison of chlorogenic acid and its metabolites against mechanistically distinct cell death-inducing agents in cultured cerebellar granule neurons. **Brain Research**, v. 1648, pt. A, p. 69-80, out./2016.

TRUGO, L. C.; MACRAE, R. A study of the effect of roasting on the chlorogenic acid composition of coffee using HPLC. **Food Chemistry**, v. 15, n. 3, p. 219-227, 1984.

VEGRO, C. L. R.; CARVALHO, F. C. Disponibilidade e utilização de resíduos gerados no processamento agroindustrial do café. **Instituto da Economia Agrícola**, São Paulo – SP, 1994.

VINSON, J. A.; CHEN, X.; GARVER, D. D. Determination of Total Chlorogenic Acids in Commercial Green Coffee Extracts. **Journal of Medicinal Food**, v. 22, n. 3, mar./2019.

VITORINO, M. D. *et al.* Modelagem da evolução de umidade e voláteis dos grãos de café durante a torra. In: **II Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil**, n. 2, 2001, Brasília: Embrapa Café, 2001, p. 1551-1559.

YANG, N. *et al.* Determination of volatile marker compounds of common coffee roast defects. **Food Chemistry**, v. 211, p. 206-214, nov./2016.

YASHIN, A. *et al.* Chromatographic Methods for Coffee Analysis: A Review. **Journal of Food Research**, v. 6, n.4, p. 60-82, jun./2017.

ZENGIN, G. *et al.* Chemical Composition, Antioxidant and Enzyme Inhibitory Properties of Different Extracts Obtained from Spent Coffee Ground and Coffee Silverskin. **Foods**. v. 9, n. 6, maio/2020.