



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE E
BIOLÓGICAS**

ELAINE SILVA SANTOS DO NASCIMENTO

**BIOATIVIDADE E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS QUÍMICOS
DO ÓLEO FIXO DA BORRA DE CAFÉ (*Coffea arabica*) PRODUZIDO
NA CHAPADA DIAMANTINA-BA**

PETROLINA

2023

ELAINE SILVA SANTOS DO NASCIMENTO

**BIOATIVIDADE E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS QUÍMICOS
DO ÓLEO FIXO DA BORRA DE CAFÉ (*Coffea arabica*) PRODUZIDO
NA CHAPADA DIAMANTINA-BA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação Ciências da Saúde e Biológicas da Universidade Federal do Vale do São Francisco – UNIVASF, Campus Petrolina, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências da saúde e biológicas.

Linha de Pesquisa: Biodiversidade, Tecnologia e Recursos Naturais.

Orientadora: Profa. Dra. Gabriela Lemos de Azevedo Maia.

Co-orientadora: Profa. Dra. Cheila Nataly Galindo Bedor.

PETROLINA

2023

Nascimento, Elaine Silva Santos do
N244b Bioatividade e caracterização dos compostos químicos do óleo
fixo da borra de café (*Coffea arabica*) produzido na Chapada
Diamantina-BA/ Elaine Silva Santos do Nascimento. – Petrolina-PE,
2023.

x, 65 f.: il. ; 29 cm.

Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde e Biológica) -
Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus Petrolina,
Petrolina-PE, 2023.

Orientadora: Prof.(a) Dr^a Gabriela Lemos de Azevedo Maia.

Inclui referências

1. Café. 2. *Coffea arabica*. 3. Óleo fixo - Borra de café. 4.
Larvicida. 5. Antioxidante. I. Título. II. Maia, Gabriela Lemos de
Azevedo. III. Universidade Federal do Vale do São Francisco.

CDD 633.73

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE E
BIOLÓGICAS**

FOLHA/ATA DE APROVAÇÃO

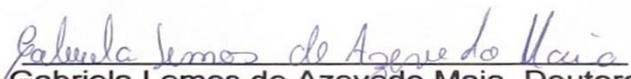
ELAINE SILVA SANTOS DO NASCIMENTO

**BIOATIVIDADE E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS QUÍMICOS
DO ÓLEO FIXO DA BORRA DE CAFÉ (*Coffea arabica*) PRODUZIDO
NA CHAPADA DIAMANTINA-BA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação Ciências da Saúde e Biológicas da Universidade Federal do Vale do São Francisco – UNIVASF, Campus Petrolina, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências da saúde e biológicas.

Aprovado em: 08 d de março de 2023

Banca Examinadora


Gabriela Lemos de Azevedo Maia, Doutora
Universidade Federal do Vale do São Francisco – Univasf


Maria Assunta Busato (12 de Abril de 2023 17:03 ADT)
Maria Assunta Busato, Doutora
Universidade Comunitária da Região de Chapecó – UNOCHAPECO


Arlan de Assis Gonsalves, Doutor
Universidade Federal do Vale do São Francisco – Univasf

AGRADECIMENTOS

Á Deus, pelo dom da vida e por nos conceder o privilégio de realizar os desejos do nosso coração. “O Senhor é a minha força!”.

A minha mãe Elienai , minha incentivadora, fonte de inspiração, sabedoria, resistência e resiliência! Para sempre amor eterno!

Ao meu pai Antonio Fiuza, gratidão por me ensinar a regar as flores quando estamos no deserto. Gratidão por sua vida na minha!

Ao meu irmão Joab, minha alma gêmea, dono de uma alegria inata, mesmo diante das adversidades eles nos motiva com sua alegria! Obrigada irmão!

Ao meu esposo Javan Esdras, Ele que nunca mediu esforços e nem distâncias para me ajudar e fazer com que tudo acontecesse. Nestes últimos dois anos foram muitas renúncias, mas ele sempre suprindo a minha ausência. Obrigada por andarmos lado a lado na alegria e na tristeza! Te amo Eternamente!

Ian Esdras e Helena, minhas heranças! Por eles perco a noite, viro madrugada e percorro “milhões de km”, para vê-los felizes e realizados.

Um agradecimento especial, aquelas que trilharam comigo na construção desta pesquisa:

Prof^a Gabriela Lemos, obrigada pelos conhecimentos partilhados, pela paciência, pelos apertos de mente e por não ter desistido de mim, no primeiro “copo que aparentou vazio”.

As minhas companheiras do GE, Fábria e Gabriella, minha gratidão! Vocês foram anjos na realização dos experimentos, tornaram possível o que para mim não era.

A Universidade Chapecó- SC, na pessoa da Prof.^a Maria Assunta Bussato, profissional extraordinária, de um coração solidário e acolhedor. Obrigada por ceder seu banco de larvas e torna-lo a pesquisa viável .

Agradecimento especial a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) , a Universidade Federal do Vale do São Francisco(UNIVASF) e ao Programa de Ciências da Saúde Biológicas (CPGCSB) pelo apoio no desenvolvimento da pesquisa.

Obrigada! Obrigada!

RESUMO

O café é um recurso valioso mundialmente, devido a sua rica composição química e seu alto poder econômico. Os recursos naturais detêm matérias-primas significantes para as mais variadas funções, dentre elas a atividade larvicida, antioxidante e antimicrobiana. A presente pesquisa propõe identificar a composição química e avaliar a potencial ação larvicida, antimicrobiana e antioxidante do óleo extraído da borra de café. O café usado é da espécie arábica e proveniente da Chapada Diamantina-BA. A borra de café passou pelo processo de secagem em estufa a 45°C e em seguida foi extraído o óleo através de um extrator tipo Soxhlet utilizando o solvente n-hexano e caracterizado por técnicas espectroscópicas e cromatográficas. Foram identificados quatro ácidos graxos, o componente majoritário foi o ácido linoleico(44,9%) seguido do ácido palmítico (43,56%). Na análise da atividade antioxidante, o óleo apresentou-se com atividade superior ($17,23 \pm 8,97$) ao Ácido ascórbico ($10,40 \pm 1,40$) que foi utilizado como controle positivo no Método β -Caroteno, enquanto que através do Método de Sequestro de Radicais Livres DPPH, o óleo não apresentou atividade significativa. Nos bioensaios com larvas de *Aedes aegypti* em estágio L2 e L3 foi possível identificar que a ação do óleo como larvicida, depende do tempo de exposição e da concentração, ou seja, quanto maior a concentração e maior o tempo, maior letalidade sobre as larvas. O teste para comprovar a ação antimicrobiana, foi realizado com cepas de bactérias *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Staphylococcus aureus* 10 e *Escherichia Coli* ATCC 25922 e *Escherichia coli* 06 e antibióticos sintéticos (amoxicilina, gentamicina, norfloxacin) como controles positivos. Alguns mecanismos de resistência atuaram com esses fármacos, como o mecanismo de resistência enzimático e bomba de efluxo. O óleo fixo da borra de café interagiu positivamente com os antibióticos de controle. Em conclusão, o óleo fixo da borra de café possui o ácido linoleico como componente químico majoritário, é capaz de promover morte de larvas de *A. aegypti*, exercer efeito antioxidante superior ao ácido ascórbico e ação adjuvante potencializadora de antibióticos sobre as bactérias *Escherichia coli*.

Palavras-chave: Café. *Coffea arabica*. Larvicida. Antioxidante. Antimicrobiano. Óleo fixo.

ABSTRACT

Coffee is a valuable resource worldwide, due to its rich chemical composition and high economic power. Natural resources hold significant raw materials for the most varied functions, among them the larvicidal, antioxidant and antimicrobial activity. The present research proposes to identify the chemical composition and evaluate the potential larvicidal, antimicrobial, and antioxidant action of the oil extracted from coffee grounds. The coffee used is arabica, from Chapada Diamantina, Bahia. The coffee grounds were dried in an oven at 45°C and then the oil was extracted through a Soxhlet extractor using the solvent n-hexane and characterized by spectroscopic and chromatographic techniques. Four fatty acids were identified, the majority component was linoleic acid (44.9%) followed by palmitic acid (43.56%). In the antioxidant activity analysis, the oil presented higher activity (17.23 ± 8.97) than ascorbic acid (10.40 ± 1.40) that was used as a positive control in the β -carotene method, while in the DPPH free radical scavenging method, the oil did not show significant activity. In bioassays with *Aedes aegypti* larvae in stages LII and LIII it was possible to identify that the action of the oil as larvicide depends on the exposure time and concentration, i.e. the higher the concentration and the longer the time, the greater the lethality on larvae. The test to prove the antimicrobial action was performed with bacterial strains *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Staphylococcus aureus* 10 and *Escherichia Coli* ATCC 25922 and *Escherichia Coli* 06 and synthetic antibiotics (amoxicillin, gentamicin, norfloxacin) as positive controls. Some resistance mechanisms acted with these drugs, such as enzymatic resistance mechanism and efflux pump. The fixed oil from coffee grounds interacted positively with the control antibiotics. In conclusion, the fixed oil from coffee grounds has linoleic acid as the major chemical component, is able to promote death of *A. aegypti* larvae, exert antioxidant effect superior to ascorbic acid and potentiating adjuvant action of antibiotics on *Escherichia Coli* bacteria.

Keywords: Coffee. *Coffea arabica*. Larvicide. Antioxidant. Antimicrobial. Fixed oil.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Tabela 1 - Café produzido na Bahia, por região, no ano de 2021.....	10
Figura 1 - Evolução do consumo interno de café no Brasil de 2000 à 2022.....	13
Tabela 2 - Classificação botânica do café.....	14
Quadro 1 – Diferenciação entre óleos fixos e essenciais	16
Figura 2 - Desenvolvimento larval do mosquito <i>Aedes aegypti</i>	20
Figura 3 – Processo de extração do óleo fixo: A e B - extração em aparelho de Soxhlet; C - óleo da borra de café.....	26
Figura 4 - Derivatização dos ácidos graxos.....	28
Figura 5 - Bioensaio: A- Banco de larvas; B- Larvas em insta II e III; C - Soluções..	30
Figura 6 - Preparo das soluções com óleo da borra de café.....	30
Figura 7 - Processo de oxidação	34
Fonte: Autora (2022)	34
Figura 8 - Espectro de FTIR do óleo fixo da borra do café	37
Tabela 3 - Dados do espectro de FTIR do óleo fixo da borra do café: número de onda e grupo funcional.....	37
Figura 9 - Espectro de RMN ¹³ C do óleo da borra do café	38
Tabela 4 - Regiões de deslocamentos químicos do espectro de RMN ¹³ C do óleo da borra do café	39
Figura 10 - Espectro de DEPT 135° x ¹³ C do óleo da borra do café.....	39
Tabela 5 - Deslocamentos do espectro de ¹ H em RMN do óleo da borra do café em comparação com dados da literatura (GUILLÉN; RUIZ, 2003)	40
Figura 11 - Espectro de ¹ H do óleo da borra do café.....	41
Tabela 6 - Composição de ácidos graxos	42
Figura 12 - Estrutura dos principais ácidos graxos do óleo da borra de café	42
Tabela 7 - Mortalidade das larvas de <i>Aedes aegypti</i> após o tratamento de concentrações durante 72 horas	45
Gráfico 1 - Atividade larvicida do óleo de borra de café nas concentrações de 500 µ/mL(OBC 500), 250 µg/mL (OBC 250), 100 µg/mL (OBC 100), 50 µg/mL (OBC 50) e 10 µg/mL(OBC 10) comparado ao ESP (espinosade, controle positivo), BTI (controle positivo) e CN (controle negativo) de 12 à 72horas. ***p<0,001 comparado ao CN (controle negativo). ** p<0,01 comparado ao CN. ###p<0,001 comparado ao BTi. ## p<0,01 comparado ao BTI.....	46

Tabela 8 – Porcentagem de larvas vivas conforme cada substância utilizada	46
Quadro 2 - Concentração inibitória mínima (CIM) em µg/mL do óleo da borra de café e da clopromazina frente as cepas em estudo	47
Gráfico 2 – Efeito modificador da Ampicilina associado ao óleo da borra de café frente as cepas <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Escherichia coli</i>	48
Gráfico 3 – Efeito modificador da Gentamicina associado ao óleo da borra de café frente as cepas <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Escherichia coli</i>	49
Gráfico 4 – Efeito modificador do Norfloxacino associado ao óleo da borra de café frente as cepas <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Escherichia coli</i>	50
Tabela 9 - Percentual antioxidante com Método (β-Caroteno).....	51
Gráfico 5 – Teste de Atividade Antioxidante – Método β-caroteno.....	51
Tabela 10 - Atividade antioxidante com Método Sequestro de Radicais Livres DPPH do óleo da borra do café.....	52
Gráfico 6 - Teste de Atividade Antioxidante – Método de Sequestro de Radicais Livres DPPH (CE50, µg/ml)	52

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 OBJETIVOS	12
2.1 GERAL	12
2.2 ESPECÍFICOS	12
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	13
3.1 CAFÉ: ASPECTOS GERAIS.....	13
3.2 ESPÉCIES MAIS COMUNS DE CAFÉ: arabica e canephora.....	13
3.3 BORRA DE CAFÉ	14
3.4 ÓLEO DA BORRA DE CAFÉ	16
3.5 REAPROVEITAMENTO DOS RESÍDUOS DA BEBIDA DO CAFÉ.....	18
3.6 ARBOVIROSES E LARVICIDAS NATURAIS.....	19
3.7 RESISTÊNCIA BACTERIANA.....	22
3.8 ÁCIDOS GRAXOS	24
3.8.1 Ácidos graxos insaturados	24
3.8.2 Ácidos graxos saturados	25
4 METODOLOGIA	26
4.1 MATERIAL VEGETAL	26
4.2 EXTRAÇÃO DO ÓLEO FIXO	26
4.3 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO.....	27
4.3.1 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).....	27
4.3.2 Espectroscopia por Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....	27
4.3.3 Cromatografia gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG - EM).	27
4.4 ATIVIDADE LARVICIDA.....	28
4.4.1 Larvas do <i>Aedes aegypti</i>	28
4.4.2 Controles positivos	29
4.4.3 Controle negativo	29
4.4.4 Bioensaio	29
4.5 ATIVIDADE ANTIBACTERIANA	31
4.5.1 Bactérias	31
4.5.2 Antibióticos e reagentes	31
4.5.3 Meios de cultura	31
4.5.4 Preparação e padronização do inóculo bacteriano	31

4.5.5	Preparação da solução inicial e das soluções teste	32
4.5.6	Concentração inibitória mínima (CIM) das substâncias	32
4.5.7	Teste de modulação da ação de antibióticos (bactérias padrões e multirresistentes)	33
4.6	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	33
4.6.1	Teor de atividade antioxidante segundo o método da co-oxidação do sistema β caroteno/ácido linoleico	33
4.6.2	Teor de atividade antioxidante segundo o método do sequestro do radical dpph (2,2-difenil-1- picrilhidrazil)	35
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
5.1	RENDIMENTO DO ÓLEO DA BORRA DE CAFÉ	36
5.2	IDENTIFICAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO DA BORRA DE CAFÉ	36
5.2.1	Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) ...	36
5.2.2	Espectroscopia por Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....	38
5.2.3	Cromatografia Gasosa acoplada à Espectroscopia de Massas (CG-EM)..	41
5.2.3.1	Ácidos graxos insaturados	42
5.2.3.1.1	Ácido linoléico.....	42
5.2.3.1.2	Ácido oleico	43
5.2.3.2	Ácidos graxos saturados	43
5.2.3.2.1	Ácido palmítico	43
5.2.3.2.2	Ácido estéarico.....	44
5.3	ATIVIDADE LARVICIDA.....	44
5.4	ATIVIDADE ANTIBACTERIANA	47
5.4.1	Concentração inibitória mínima	47
5.4.2	Efeito da modificação antibiótica.....	47
5.4.2.1	Ampicilina como controle.....	47
5.4.2.2	Gentamicina como controle	48
5.4.2.3	Norfloxacino como controle	49
5.5	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	50
5.5.1	Teste de atividade antioxidante - Método (β -Caroteno)	50
5.5.2	Teste de atividade antioxidante – Método do sequestro do radical DPPH	51
6	CONCLUSÃO	53
	REFERÊNCIAS.....	54

1 INTRODUÇÃO

O café pertence à família das Rubiáceas, sendo considerado uma árvore pequena ou um arbusto perene. É caracterizado por frutos ovóides com cores vermelhas ou amarelas, contendo duas sementes cartilaginosas, envoltas em uma polpa adocicada e comestível. O alto valor desta planta reside quase que exclusivamente na sua semente, com as quais se prepara a bebida denominada café (AGUIAR, 2005).

O café é rico em produtos químicos e altos níveis de compostos bioativos que são considerados benéficos para a saúde, como os polifenóis e alcalóides. Esses compostos químicos variam de acordo com o solo, clima, técnicas de cultivo, condições de armazenamento, temperatura, tempo de torração e nível de maturação (DIENG *et al.*, 2017).

Atualmente o Brasil é o maior produtor e exportador mundial de café, além de segundo maior consumidor do produto devido as regiões tropicais onde predomina o clima quente e úmido (CONCEIÇÃO *et al.*, 2017). São cultivadas duas espécies de café, a *Coffea arabica* e *Coffea canefora*, sendo a primeira a mais cultivada (CONAB, 2021). No início da década de 1880, o Brasil foi responsável por 32% da comercialização global do produto, sendo que as principais áreas de concentração de produção do café estão na Bahia e no norte de Minas. Na Bahia as principais regiões produtoras são o Planalto, Cerrado e Atlântico (Tabela 1) (BRAINER; XIMENES, 2022).

Tabela 1 - Café produzido na Bahia, por região, no ano de 2021

REGIÕES PRODUTORAS DA BAHIA	CAFÉ TOTAL			ARÁBICA			PRODUTIVIDADE (sacas/ha)
	ÁREA (mil ha)	PRODUÇÃO (mil sacas)	%	ÁREA (mil ha)	PRODUÇÃO (mil sacas)	%	
Cerrado	6,3	288,0	7,6	6,3	288,0	18,8	46,1
Planalto	52,1	1.246,0	32,7	52,1	1.246,0	81,2	23,9
Atlântico	40,0	2.279,0	59,8				
TOTAL	98,3	3.813,0	100,0	58,3	1.535,0	100,0	26,3

Fonte: CONAB (2021)

A primeira estimativa da safra de café em 2022 aponta que a colheita do grão deve ter um aumento de 16,8% em relação ao ano de 2021, ficando em 55,7 milhões de sacas de 60 quilos (kg) (CONAB, 2022). Quanto às espécies, 62,19% correspondem a *C. arabica* e 37,81% a *C. canefora* (OIC, 2018), que é uma espécie mais resistente e mais barata, entretanto as duas espécies possuem uma semelhança na composição química (COUTO *et al.*, 2019).

A grande produção e consumo de café no país (quase 8 bilhões de kg de café) levam também a geração de resíduos que podem causar impacto no meio ambiente caso não sejam corretamente destinados. Entre os subprodutos está a borra de café, proveniente principalmente da indústria de café solúvel, ela é incinerada ou despejada como resíduo sólido em aterros sanitários (PANUSA *et al.*, 2013). A borra de café possui características que tem importância econômica e tecnológica devido a sua composição química rica em proteínas, lipídios, celulose e extrato não nitrogenado (TODA, 2016).

O óleo extraído da borra do café é facilmente obtido e dentre os seus componentes é considerado o mais valioso economicamente, podendo ser usado para produção de biodiesel (MATA; MARTINS; CAETANO, 2018). O seu efeito à saúde humana também tem sido investigado destacando-se a ação na prevenção de doenças degenerativas crônicas, câncer e problemas cardiovasculares. Devido a sua bioatividade tem inúmeras aplicações na indústria alimentícia e farmacêutica (MUSSATTO *et al.*, 2011).

Diante do não aproveitamento de resíduos de café gerado pelo consumo dessa bebida em nosso país e associando essa informação a dados que mostram que nas últimas décadas, a utilização de fármacos de forma abusiva e indiscriminada, tem levado muitas cepas de microrganismos a evoluírem a cepas resistentes e multirresistentes, tornando-se um problema mundial. E que de igual modo, o uso contínuo e indiscriminado de inseticidas químicos no combate a vetores transmissores de pragas e doenças, como por exemplo o *Aedes aegypti* transmissor dos vírus causadores da dengue, chikungunia, zica e febre amarela, promovem a seleção de resistência (SILVEIRA *et al.*, 2006).

O objetivo deste trabalho foi avaliar as atividades larvicidas, antioxidante e antimicrobiana do óleo fixo extraído da borra de café, bem como identificar os compostos presentes no óleo. A borra de café é rica em óleos que podem contaminar o meio ambiente. Portanto, faz-se necessário rastrear possibilidades para uso/destino destes subprodutos para minimizar contaminantes no meio ambiente (ROCHA; REIS; CHAVES, 2013).

Apesar de existirem várias pesquisas com o objetivo de analisar a constituição química do café e borra do café, até o momento não existem estudos extensivos e sistemáticos na literatura sobre a atividade antimicrobiana, antioxidante e larvicida do óleo extraído da borra de café.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Identificar a composição química, a ação larvicida, antimicrobiana e antioxidante do óleo extraído da borra do café.

2.2 ESPECÍFICOS

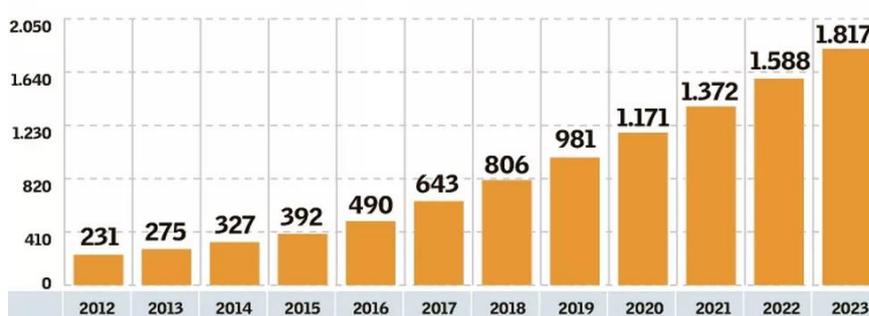
- Determinar a constituição química do óleo da borra de café;
- Mensurar o teor de atividade antioxidante do óleo da borra de café;
- Determinar a concentração inibitória mínima do óleo da borra de café frente à bactérias padrões e multirresistente;
- Avaliar a capacidade de interferência do óleo em modificar a ação dos antimicrobianos frente a cepas bacterianas em estudo;
- Investigar a ação larvicida do óleo da borra do café sobre larvas de *A. aegypti*.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 CAFÉ: ASPECTOS GERAIS

A planta de café é originária da Etiópia, centro da África. Em 575 d.C o fruto era cultivado e consumido in natura. A partir do século XVI os grãos passaram a ser torrados e transformados na bebida do café. Essa cultura chegou ao Brasil no ano de 1727 trazido da Guiana Francesa com grande valor comercial. O Brasil lidera o primeiro lugar como exportador de café mundialmente e em segundo como líder consumidor, além de empreender um papel fundamental tanto na economia nacional (Figura 1) como mundial. Diante desse contexto, o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) faz algumas exigências para que se produza um café sustentável objetivando garantir às gerações futuras (MACHADO, 2022).

Figura 1 - Evolução do consumo interno de café no Brasil de 2000 à 2022
 ■ Em milhares de sacas de 60 kg



Fonte: ABIC-Associação Brasileira da Indústria de Café (2022)

3.2 ESPÉCIES MAIS COMUNS DE CAFÉ: *arabica* e *canephora*

O café pertence à família botânica Rubiaceae (Tabela 2) e mais de 100 espécies de café foram reconhecidas até agora. Porém a *Coffea arabica* e *Coffea canephora* variedade Robusta são as mais cultivadas mundialmente. A espécie *Coffea arabica* possui sabor doce e floral e são cultivados em encostas de montanhas determinando um custo alto, enquanto que a espécie *Coffea canephora*, variedade Robusta, cresce em terras planas, são resistentes a doenças, possui sabor forte e sua produção é mecanizada (CAGLIANI *et al.*, 2013).

Tabela 2 - Classificação botânica do café

FAMÍLIA	GÊNERO	ESPÉCIE (mais comuns)	VARIEDADES (exemplos)
Rubiaceae	<i>Coffea</i>	<i>arabica</i>	Typica
		<i>canephora</i>	Robusta
		<i>liberica</i>	

Fonte: International Coffee Organization (2022)

O *Coffea arabica* corresponde a 64% do cultivo, a espécie *canephora* 35% e as demais espécies perfazem 1% da produção mundial. A espécie *arabica* por ser de melhor qualidade, tem sua comercialização três vezes maior que a variedade robusta. Dependendo da localização geográfica em que o café está sendo cultivado, esse valor pode chegar até dez vezes mais que o preço do *Coffea canephora* variedade robusta (RUBAYIZA; MEURENS, 2005).

Técnicas espectroscópicas detectaram que os extratos aquosos das duas espécies são ricas em cafeína, trigonelina, N-metil piridina, ácidos clorogênicos, sacarídeos, aminoácidos, ácidos químicos livres e ácidos orgânicos enquanto que a espécie *Coffea arabica* possui uma quantidade maior de acetato, trigonelina e formiato e uma quantidade menor de cafeína em comparação com a espécie *Coffea canephora*, variedade robusta (CAGLIANI *et al.*, 2013). No entanto, alguns compostos químicos são perdidos durante o processo de torrefação (DIENG *et al.*, 2017).

A torração afeta a qualidade sensorial e a concentração de compostos bioativos. A composição química varia em consequência das condições em que foram produzidas e processadas, como também dependem de fatores genéticos, ambientais, condições de manejo antes e depois da colheita (ABRAHÃO *et al.*, 2008).

3.3 BORRA DE CAFÉ

Devido a grande produção de café, milhões de toneladas de resíduos são produzidos e descartados no meio ambiente sem qualquer tipo de tratamento. A estimativa é que 1kg de café solúvel gera cerca de 2 kg de borra de café (resíduo que sobra após o café ter sido coado), e produz um teor médio de 15% de óleo. Assim como o café, este resíduo também é constituído de vários nutrientes bioativos, como por exemplo: fenólicos, flavonóides, carotenóides, lipídeos, ácido clorogênico

protocatecuico, melanoidinas, diterpenos, xantinas, precursores de vitaminas e etc. Esse material descartado é considerado aos olhos dos cientistas uma matéria-prima com alto potencial na produção de diversos produtos (STYLIANOOU *et al.*, 2018).

Essa borra de café que é descartada diretamente no solo, provoca poluição do meio ambiente devido à presença de algumas substâncias orgânicas que exigem grande quantidade de oxigênio para se degradar, além de causarem danos no DNA dos organismos aquáticos. O processo de reciclagem reduz a quantidade de resíduos e protege o meio ambiente (ATABANI *et al.*, 2017).

A borra de café é uma matéria prima gratuita e uma alternativa sustentável e vantajosa em comparação com os inseticidas convencionais. A saúde pública no Brasil é favorável ao uso deste resíduo como método natural de combate às larvas do *Aedes aegypti* (DERRAIK; SLANEY, 2005).

Alguns estudos demonstram os efeitos da borra de café, na alteração da vida útil dos *Aedes aegypti*, esses impactos causados nas larvas, são transferidos para a vida adulta do mosquito, reduzindo a capacidade vetorial desses insetos, caracterizando que a reutilização de resíduos de café no controle de vetores é uma solução promissora para minimizar os problemas relacionados à poluição (DIENG *et al.*, 2017).

Laranja *et al.* (2003), em experimentos com a borra de café, sugeriram que este resíduo em concentrações de 50 e 100 mg/mL pode ser um agente auxiliar no controle alternativo do *Aedes aegypti* na fase larval, no entanto, concentrações muito baixas podem alimentar esses culicídeos. Tasew *et al.* (2020), afirmam que o café além de ser conhecido por sua constituição química, é rico em bioativos com finalidade terapêutica, ou seja antioxidante e antimicrobiana, esse conteúdo vai oscilar de acordo com o país de origem, métodos de torrefação e de cultivo.

Os resíduos de café (borra de café) são úteis como fertilizantes, ração animal e combustíveis, neles são encontrados os compostos fenólicos naturais, que são os responsáveis pelas atividades antioxidantes e antimicrobianas nestes resíduos (CHOTANAKOON; NARADISORN, 2013).

Uma quantidade significativa de antioxidantes confere a capacidade de produzir biodiesel, etanol e substratos na indústria alimentícia. Estudos mostram que vários métodos para extração e isolamento de compostos valiosos, podem ser usados na indústria farmacêutica, alimentícia e produção de biodiesel como novo recurso promissor, devido a quantidade significativa de antioxidantes (ACEVEDO, 2013).

A borra de café possui compostos ativos assim como seu produto inicial (café), que são preservados na produção da bebida do café. Compostos fenólicos e cafeína são alguns dos achados neste sub-produto. Estudos apontam a utilização deste resíduo como antimicrobiano e herbicida natural (SILVA *et al.*, 2015).

Entretanto, nos experimentos de SILVA *et al* (2015), o extrato aquoso da borra de café não apresenta a capacidade de inibir o crescimento de algumas bactérias que são importantes para a segurança alimentar. Já no estudo de CHOTANAKOON e NARADISORN (2013) a borra de café não apresentou atividade antimicrobiana contra cepas de *Colletotrichum sp.* e *Lasiodiplodia theobromae*.

3.4 ÓLEO DA BORRA DE CAFÉ

O óleo extraído da borra de café é um óleo fixo, também conhecido como óleo transportador, óleo vegetal, macerado, ou extrato oleoso, é constituído principalmente por diferentes lipídios, ácidos graxos ou ceras, vitamínicos e minerais. Esse óleo é extraído através dos métodos de maceração, centrifugação, prensagem a frio ou extração da porção gordurosa de uma planta. Diferenciam dos óleos essenciais (Quadro 1) por serem menos voláteis, ou seja, não evaporam (ORCHARD; VAN VUUREN, 2019).

Quadro 1 – Diferenciação entre óleos fixos e essenciais

ÓLEOS FIXOS	ÓLEOS ESSENCIAIS
Não voláteis	Voláteis
Sementes, frutos, castanhas, nozes e grãos.	Folhas, raízes, flores, caules, galhos, cascas de fruto, troncos e sementes.
Contêm lipídios (ácidos graxos/gorduras).	Não contêm lipídios.

Fonte: ORCHARD; VAN VUUREN (2019)

As espécies de café *Coffea arabica*, *Coffea canefora* (robusta) e *Coffea liberica* possuem variações no seu conteúdo lipídico. A espécie mais comum utilizada para extração do óleo é a *Coffea arabica* com um teor médio de lipídio de 15%, utilizado na produção de gêneros alimentícios, formulações cosméticas e farmacêuticas (RABA *et al.*, 2018).

O óleo de café é composto principalmente por triglicerídeos (75%) e uma pequena quantidade de ácidos graxos livres, cera e materiais insaponificáveis, incluindo esteróis, tocoferóis, fosfatídeos, diterpenos e ceramidas (GAN *et al.*, 2017). Os ácidos graxos considerados biologicamente ativos desempenham seu papel como anticancerígenos, anti-inflamatório, antibacteriano, antidiabético e anti aterosclerótico (AL-ASMARI *et al.*, 2020).

Lima *et al.* (2021), também ratificam que esses compostos desenvolvem papéis biológicos importantes: antimutagênico, antibacterino, antiviral, analgésico, dentre outras funções terapêuticas. A fração insaponificável constituída por furanoditerpenos (cafestol e caveol), e por um grupo de enzimas multifuncionais (glutathione transferase, que lutam contra o estresse oxidativo e invasores estranhos ao organismo, além de atuarem como atividade anti-inflamatória e antioxidante).

Devido a presença de ácidos graxos, o óleo da borra de café tem propriedades que beneficiam o uso dermatológico, além de bloquear a radiação solar (ALVAREZ, 2000). Os ácidos graxos compõem os triglicerídeos com diferentes graus de insaturação, estes são líquidos quando estão em temperatura ambiente. Além dos triglicerídeos, os óleos vegetais são ricos em ácidos graxos livres, fosfolipídeos, esteróis e tocoferóis. Os fosfolipídios compõem de 0,5 a 3% da maioria dos óleos in natura, enquanto a maioria deles contém de 1000 a 5000 ppm de esteróis, apresentando-se como esteróis livres ou de ésteres graxos. Os tocoferóis são encontrados em quantidades menores, porém com a função de antioxidante em óleos com alta insaturação (GARCIA, 2006).

Os óleos fixos são ricos em ácidos graxos que podem ser alterados para outras moléculas e formar os ésteres metílicos. Esses ácidos graxos possuem ação larvicida, inseticida e repelente contra mosquitos (DE MELO *et al.*, 2018).

Os ácidos graxos que constituem os óleos fazem parte do grupo de ácidos carboxílicos, que são constituintes dos óleos e gorduras dos alimentos. Os Flavonóides (compostos fenólicos), estão correlacionados ao tratamento preventivo de várias doenças crônicas e que não são transmitidas, como por exemplo, podemos citar a atividade antioxidante que se caracteriza devido as suas propriedades redutora e a sua estrutura química, fazendo com que desempenhem um papel importante na eliminação de radicais livres e remoção de metais de transição, participando de todo o processo oxidativo (LIMA *et al.*, 2021).

Compostos fenólicos atuam como agente antioxidante e são referenciados

como metabólitos secundários ativos. São inúmeros antioxidantes que compõem o óleo de café e que funcionam contra diversos microrganismos que são causadores de doenças (AL-ASMARI *et al.*, 2020). Os terpenos, metabólitos secundários são os responsáveis pela atividade antimicrobiana (ROCHA *et al.*, 2022).

3.5 REAPROVEITAMENTO DOS RESÍDUOS DA BEBIDA DO CAFÉ

A borra de café é um dos alimentos mais descartados no meio ambiente, reutilizá-lo como inseticida irá contribuir para a minimização da degradação ambiental, além de ser uma estratégia mais econômica do que os inseticidas químicos. Essas alternativas com baixo custo, baixa toxicidade e sem agressões ao meio ambiente são vantajosas para serem adotadas pelos órgãos responsáveis (MIRANDA *et al.*, 2020).

O descarte destes resíduos biológicos que são originados da produção da bebida do café tem sido uma inquietude dos ambientalistas devido a suas características orgânicas e tóxicas. Novas aplicações industriais e a valorização deste subproduto são opções sustentáveis para evitar seu descarte e o seu fim de vida útil (LA SCALIA *et al.*, 2021).

O café é um dos produtos mais comercializados do mundo, ficando em atrás apenas para o petróleo. A dispensa da borra de café nos aterros sanitários e lixões integrados aos resíduos de alimentos contribuem para a produção de grande quantidade de Gás Metano, favorecendo as alterações climáticas. Reutilizar parte desses resíduos como método de controle de insetos, contribuirá para a redução de doenças causadas por arboviroses (DIENG *et al.*, 2017), Botas *et al.* (2017), ratificam que reutilizar os resíduos no controle de vetores, é uma solução para os problemas associados a poluição.

Encontra-se também, literaturas que demonstram a eficácia da borra de café como fertilizante em diversas plantações. É uma alternativa de manejo sustentável que melhora a nutrição das plantas alimentícias, como por exemplo, a alface que melhora a absorção de cálcio, magnésio, potássio, nitrogênio e fósforo, como reduz a quantidade de cobre, zinco, manganês e ferro (CERVERA-MATA *et al.*, 2019).

Em 2022, Cervera-Mata *et al.*, corroboram a importância do uso da borra de café como bioresíduo com propriedades fertilizantes. Essa borra tem uma valorização no quadro da economia circular, pela extração de energia e produtos valiosos, como carboidratos, proteínas, bio-óleo e biodiesel, além de gerar subprodutos sólidos, como

biocarvão e hidrocarvão destinados a melhoria do solo, seja como corretivo ou fertilizante do solo.

Através dos milhões de toneladas de resíduos que são gerados a partir do consumo de café, é possível gerar processos biotecnológicos, através dos recursos energéticos renováveis, contribuindo para a sustentabilidade universal e a diminuição da poluição ambiental (DATTATRAYA, 2020).

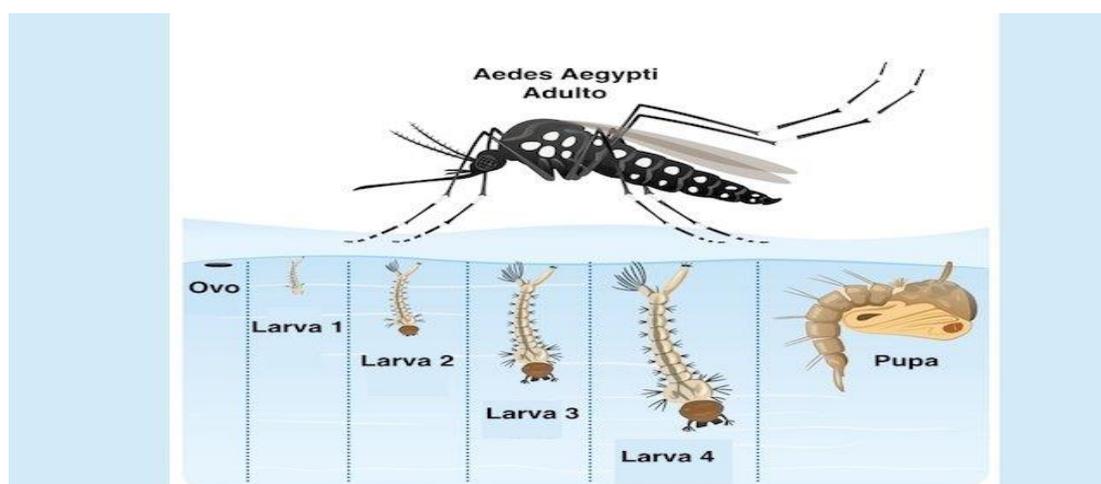
3.6 ARBOVIROSES E LARVICIDAS NATURAIS

As arboviroses são as doenças causadas pelo chamado arbovírus, que incluem os vírus da dengue (DENV), zika (ZIKAV), febre chikungunya (CHIKV) e febre amarela. A dengue é a arbovirose mais prevalente nas américas, e o Brasil é o país que apresenta maior incidência desse agravo. Contudo, outras arboviroses surgiram no cenário epidemiológico brasileiro, como a Chikungunya e a Zika, por exemplo. A transmissão dessas doenças é feita através da picada de mosquitos infectados do gênero *Aedes*, sendo a principal espécie o *Aedes aegypti* (BRASIL, 2022).

O ciclo de vida do *Aedes aegypti* é composto por quatro fases: ovo, larva (quatro estágios larval), pupa e adulto. A fase larval é um dos período que os insetos se alimentam e crescem, essa característica classificam-os como holometabólicos (BRASIL, 2001).

A fase larval apresenta quatro estágios que vai de L1 a L4 (Figura 2) podendo sofrer influências de temperatura, luz, sal, poluentes dentre outros no seu desenvolvimento (CDC - CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (2022)).

Figura 2 - Desenvolvimento larval do mosquito *Aedes aegypti*



Fonte: CDC - CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (2022)

O combate às Arboviroses tem sido motivo de grande preocupação em saúde pública em todo mundo e inclui o controle do inseto vetor, que pode ser feito tanto pela eliminação de criadouros, impedindo o vetor ao acesso à água, necessária para a postura dos ovos, como o uso de compostos químicos ou biológicos como larvicidas (ALPHEY *et al.*, 2013).

As comunidades mais vulneráveis estão expostas às diversas infecções, causadas pelos vírus da Chikungunya, Zika e Dengue, as quais, muitas vezes resultam em morbidade e mortalidade. Vários estudos (ZHANG *et al.* 2020; QUALLS *et al.* 2021; FAROOQ *et al.* 2022) relacionados a métodos naturais de prevenção e controle têm sido desenvolvidos na perspectiva de eliminar os criadouros e fazer o controle do mosquito *Aedes aegypti* na fase adulta. A ausência de vacinas, de tratamento adequado e a redução de inseticidas tornam urgente a necessidade de desenvolver alternativas naturais para o controle desses vetores (DIENG *et al.*, 2017).

Alphey *et al.* (2010) ressaltam, que apesar de alguns métodos de prevenção e controle integrarem as políticas públicas nacionais, estaduais e municipais, percebe-se que essa arbovirose adquiriu mecanismos de resistência aos inseticidas sintéticos, fomentando a necessidade de um controle vetorial alternativo. O controle do vetor é uma estratégia adotada pelo poder público, a fim de erradicar a doença no país, sendo que o mais adotado é o método químico, o qual ocorre através do uso de inseticidas sintéticos de acordo com o Plano Nacional de combate à Dengue (PNCD).

Os inseticidas piretróides e organofosforados ambos neurotóxicos, como o Pyriproxyfen, Bendiocarb, Malathion, BTi-*Bacillus turingiensis israelenses*, Permetrina,

Hexaflumurom ainda são os principais meios de controle de vetores, por possuírem ação rápida e eficaz, porém, podem ser tóxicos para organismos não-alvo, além de ocasionar aumento nos níveis de resistência em populações de mosquitos, causando problemas no controle desses vetores (SU *et al.*, 2019). A biodiversidade brasileira é exuberante e possui grande potencial para o desenvolvimento de produtos larvicidas, que sejam seguros para o meio ambiente e seres vivos (ROCHA *et al.*, 2022).

Estudos relatam o potencial larvicida de diversos compostos naturais que são encontrados na natureza. Dentre eles, podemos citar o café, produto natural, acessível a toda população, abundante em toxinas e metabólitos secundários que atuam inibindo o crescimento larval e diminuem a capacidade vetorial dos insetos. Os resíduos de café que são desperdiçados no meio ambiente podem ser reaproveitados para a produção de biolarvicidas, com a finalidade de controlar e gerenciar o vetor da dengue, além de contribuir para uma melhoria no meio ambiente (DIENG *et al.*, 2017). Segundo Laranja *et al.* (2003) a borra de café possui efeitos letais sobre a maioria dos mosquitos, afetando o seu desenvolvimento e interrompendo o seu crescimento antes da fase adulta.

Algumas espécies da flora brasileira possuem atividade larvicida contra o *A.aegypti*, dentre elas temos: *Anacardium occidentale* L., *Copaifera langsdorffi* Desf.; *Carapa guianensis* Aubl., dentre outros (ROCHA *et al.*, 2022).

Encontra-se na literatura, outras espécies com propriedades larvicidas, como o cravo, *Syzygium aromaticum* e o *Citru sinensis*, que possuem compostos que atuam como atividade atrativa e atividade repelente, ou seja, estimulando a deposição do ovo e inibindo essa deposição. Essas espécies representam uma alternativa com baixa toxicidade tornando uma abordagem promissora (ARAÚJO *et al.*, 2016).

Na espécie *Baccharis reticularia* Dc e *Limoneno* são encontrados constituintes químicos que fazem o controle vetorial. Elas atuam como precursor da biossíntese de monoterpenos e a capacidade de inibir a enzima acetilcolinesterase, ambos com ação inseticida (BOTA *et al.*, 2017).

O *Zingiber officinale* Roscoe possui componentes terpênicos, alcoóis e aldeídos são os responsáveis pela atividade inseticida ou larvicida o que incita os estudos e experimentos com produtos de origem natural, a fim de reduzir o uso de inseticidas químicos sintéticos (GOMES *et al.*, 2016).

Diante desse cenário, formas alternativas de controle dos mosquitos usando produtos naturais oriundos de plantas tem se destacado, sugerindo que diversas

plantas possuem substâncias com propriedades larvicidas. Tais substâncias interferem no desenvolvimento das larvas, impedindo a formação de adultos, possibilitando sua utilização no auxílio do controle alternativo de *A. aegypti*, além de ser um método de menor toxicidade e diminuição nos impactos ambientais causados pelos inseticidas (COELHO; PAULA; ESPÍNDOLA, 2009).

3.7 RESISTÊNCIA BACTERIANA

Desde 1940, antibióticos de origem natural tiveram eficácia contra bactérias gram-positivas. Esses fármacos, assim como os sintéticos possuem a capacidade de atravancar ou destruir microorganismos (LIMA, BENJAMIM, SANTOS, 2017).

O uso desordenado de antibióticos ocasionou a resistência bacteriana, afamada como um grave problema de saúde pública. Esse mecanismo de resistência bacteriana dificultou os tratamentos contra diversas infecções. O uso indiscriminado de antibióticos está associado ao elevado número de resistência bacteriana, que ocasiona a inaplicabilidade dos antimicrobianos, (LIMA, BENJAMIM, SANTOS, 2017).

A resistência microbiana a múltiplos antimicrobianos e agentes quimioterápicos vem representando um grande desafio para o tratamento de infecções, o que impõe sérios obstáculos às opções para o tratamento de infecções, representando assim uma ameaça para a saúde pública. Isto decorre do uso maciço, indiscriminado e sem o devido acompanhamento profissional dessas drogas em humanos e animais, associado a fatores como doses subterapêuticas, inefetividade da droga selecionada, esquemas terapêuticos curtos, baixa penetração no local da infecção e do conhecimento indevido das propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas do fármaco para escolha terapêutica (SILVEIRA *et al.*, 2006; FALCÃO-SILVA *et al.*, 2008).

A resistência bacteriana é um fenômeno ecológico que ocorre como resposta a este mecanismo. Essas bactérias possuem a capacidade de se multiplicarem rapidamente, sofrerem modificações genéticas e se adaptarem facilmente aos diferentes compostos químicos considerados potentes, além de possuírem a capacidade de promiscuidade com indivíduos da mesma espécie ou de espécies diferentes (GUIMARÃES *et al.*, 2010).

Alguns fatores estão associados a resistência bacteriana, são eles: alteração da permeabilidade celular, que permite ou não a entrada e saída (efluxo ativo) do

antibiótico da célula; capacidade de danificar ou tornar inoperante o antibiótico; modificações que alteram o foco do antibiótico (LIMA, BENJAMIM, SANTOS, 2017).

Guimarães *et al.*, (2010) descrevem que o uso extensivo e inapropriado de antibióticos contribuem para incitar o mecanismo de resistência bacteriana, assim como as condições precárias de higiene, agrupamento diário de turistas, alto índice de pacientes imunocomprometidos, morosidades nos diagnósticos das infecções bacterianas, bem como as modificações que ocorrem com a bomba de efluxo dentro das células. Transdução, transformação e conjugação são mecanismos de resistência que as bactérias desenvolveram contra os medicamentos sintéticos (LIMA, BENJAMIM, SANTOS, 2017). Esses mecanismos codificam a bomba de efluxo e enzimas degradativas e modificadoras de proteínas ribossomais (MOREIRA *et al.*, 2008).

Algumas estratégias podem ser adotadas para sanar a capacidade da bactéria de resistir a ação de alguns antibióticos, como por exemplo o uso de terapias associadas, uso de vacinas para prevenção de doenças bacterianas, uso racional de antibióticos, controle e prevenção da disseminação de micro organismos resistentes e a caracterização dos genes responsáveis pela resistência, localização e diversidade, além de ser necessário conhecer os mecanismos bioquímicos e genéticos implicados na resistência bacteriana (GUIMARÃES *et al.*, 2010).

Os produtos naturais microbianos são consideráveis nos tratamentos de infecções bacterianas. Eles possuem uma composição química complexa que agem em bactérias patogênicas. As espécies que fazem parte do reino Plantae que interagem ecologicamente e são caracterizados como bioativos, são estratégias promissoras para combater as doenças causadas por bactérias, através da descoberta de novos antibióticos produzidos com matéria-prima dos produtos naturais através da obtenção de moléculas naturais. Além de possuírem a capacidade de inibir a bomba de efluxo, um mecanismo de resistência que as bactérias utilizam diante dos diversos fármacos (GUIMARÃES *et al.*, 2010).

Devido ao aumento progressivo da resistência bacteriana, principalmente após a pandemia causada pelo novo Coronavírus, a busca de novos agentes antibacterianos derivados de produtos naturais aparece como alternativa, por terem uma diversidade molecular muito superior àquelas derivadas de produtos sintéticos (NOGUEIRA *et al.*, 2021)

No ciclo de vida as plantas perpassam por diversos tipos de exatidão biótica,

como fungos, vírus e bactérias que interferem no seu metabolismo e que refletem negativamente no seu crescimento, desenvolvimento e fertilidade. Como reação a esses estressores, as plantas traçam estratégias para sobreviverem frente a estes patógenos, como os inibidores de proteases, proteínas reguladoras e proteínas quinases, além dos mecanismos de resistência que incluem respostas locais e sistêmicas (AMORIM *et al.*, 2017). A resposta de plantas a patógenos é um processo biológico complexo que requer mudanças e transformações nos níveis bioquímicos, molecular e fisiológico (ABUQAMAR; MOUSTAFA; TRAN, 2017). As estratégias de defesa das plantas estão ligadas aos metabólitos secundários, esses são tóxicos para os patógenos (DA SILVA *et al.*, 2021).

É possível constatar essa afirmativa no estudo de TASEW *et al.* 2020, em estudos com extratos de café torrado, fervido e liofilizado em espécies encontradas na Etiópia. Os autores descrevem as atividades antibacterianas e antioxidantes desses extratos, no entanto salientam que essas bioatividades estão condicionadas a espécie, torrefação, descafeinação, tipos de solo, altitudes e práticas de manejo. HUSSEIN, *et al.* 2022 reitera que a presença do ácido clorogênico no extrato da borra de café possui potencial ação de efeitos anti-inflamatórios.

3.8 ÁCIDOS GRAXOS

3.8.1 Ácidos graxos insaturados

Os ácidos graxos insaturados possuem número par de átomos carbono, em sua grande maioria 14 e 24 carbonos. Sendo que os que possuem cadeia curta, ou seja moléculas com menos de 14 átomos de carbono são encontrados naturalmente nas gorduras vegetais e também presente na gordura do leite (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). Nos vegetais, os ácidos graxos insaturados tem a função de reserva energética na forma de triacilgliceróis, além de compor as membranas celulares (HERNÁNDEZ *et al.*, 2019). Esses ácidos se classificam em poliinsaturados quando se apresentam com duas ou mais ligações duplas (SANTOS; LIMA; CASTRO, 2021). Os ácidos graxos insaturados, podem ser classificados como ácido linoléico e ácido oléico. O ácido linoléico é bastante comum no reino vegetal além de ser fundamental para o desempenho normal das células, além de ser um antecessor para a síntese de ácidos graxos polinsaturados de cadeia longa (YOUDIM; MARTIN;

JOSEPH, 2000).

O ácido oleico é um ácido graxo monoinsaturado com dupla ligação entre alguns carbonos e sintetizado nos mamíferos e nos vegetais. Neste último, desempenham o papel de manter a estabilidade oxidativa (SANTOS; LIMA; CASTRO, 2021), além do mais, o ácido oleico produz compostos importantes como esterol, vitamina E e colina (HUANG *et al.*, 2020). Este ácido é encontrado em diversos óleos, como o azeite, com propriedades anticancerígenas contra o câncer de colorretal e o câncer de mama (COSTA *et al.*, 2011). Hinton e Ingram (2000), em sua pesquisa, concluíram que o ácido oleico reduz as populações da flora bacteriana no tecido epidérmico das aves. Este ácido tem papel importante no metabolismo e na síntese de hormônios, segundo estudo feito com o óleo das amêndoas do *Butia quaraimana* (PEREIRA *et al.*, 2020).

3.8.2 Ácidos graxos saturados

Os ácidos graxos saturados são formados por ligações simples e quando estão em temperatura ambiente, se apresentam na forma sólida (SANTOS, LIMA, CASTRO, 2021). Encontrado no reino animal, vegetal e monera, possui cadeia longa. Este ácido é encontrado em grandes proporções nas plantas (SANTOS, LIMA, CASTRO, 2021). O Ácido palmítico é o ácido graxo saturado mais distribuído na natureza, além de possuir características sólidas e cristalinas que atuam como precursores dos ácidos graxos naturais saturados e insaturados de cadeia mais longa (CARVALHO, 2017). Este ácido atua na sinalização de apoptose, síntese de ceramidas, produção de óxido nítrico, além de modificar a estrutura e função mitocondrial (YU *et al.*, 2019). Possui utilidade na produção de alimentos, petróleo e biocombustíveis (SANTOS, LIMA, CASTRO, 2021).

O Ácido estearico, classificado como saturado, está disponível em sementes, polpa de frutas, óleos de animais marinhos e no leite (JORGE, 2009). Quimicamente é um ácido octadecanóico com 18 cadeias de carbono, tem sido estudado para uso em produções farmacêuticas, alimentícias e cosméticas e ocupa o segundo lugar em abundância na categoria dos ácidos graxos saturados (SAGIRI *et al.*, 2014), além de ser encontrado em menor quantidade na natureza do que o ácido palmítico.

4 METODOLOGIA

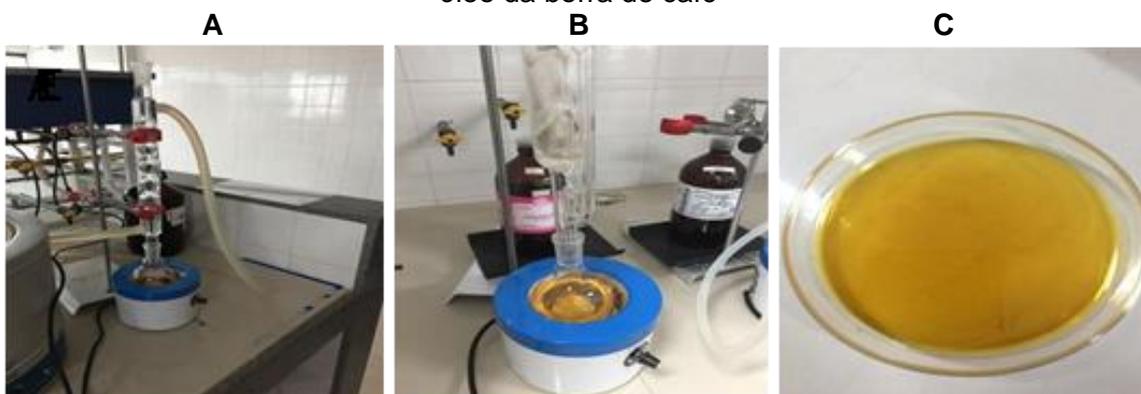
4.1 MATERIAL VEGETAL

O pó de café utilizado foi produzido e adquirido na Cooperativa de cafés especiais e agropecuária de Piatã – Chapada Diamantina-BA, numa altitude média de 1300 metros. Cultivado de forma sustentável, sem uso de agrotóxicos, espécie 100% arábica. Foi preparada a bebida usando o pó de café (nome comercial Coopiatã), o seu resíduo (borra do café) foi utilizado para extração do óleo fixo.

4.2 EXTRAÇÃO DO ÓLEO FIXO

A bebida do café foi preparada colocando o pó do café em infusão na água fervente e coada em filtro de papel. A borra de café foi encaminhada ao laboratório de química orgânica da UNIVASF e colocada para secar por 24 horas em estufa a 45°C. A borra do café (Figura 3-A) estava inserida em cartuchos de papel filtro e as extrações foram realizadas durante 2h. A extração do óleo foi realizada em um extrator tipo Soxhlet utilizando n-hexano P.A como solvente (Figura 3-B). A separação da mistura óleo/solvente aconteceu em equipamento de rota-evaporação. Os óleos isolados foram armazenados em frascos de vidro ambar lacrados, os quais foram mantidos sob refrigeração para análises posteriores.

Figura 3 – Processo de extração do óleo fixo: A e B - extração em aparelho de Soxhlet; C - óleo da borra de café



Fonte: Autora (2022)

4.3 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO

A análise da composição química do óleo fixo da borra de café foi realizada na Central de análise de fármacos, medicamentos e alimentos (CAFMA) da Universidade Federal do Vale do São Francisco e no Centro de laboratórios de química multiusuários da Universidade Federal de Sergipe, São Cristovão-SE.

4.3.1 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de absorção no infravermelho foram obtidos com um espectrofotômetro SHIMADZU IRTracer-100. Os dados foram adquiridos pela Reflectância Total Atenuada (ATR) no intervalo de 4000 – 600 cm^{-1} , com intuito de avaliar a presença dos grupos funcionais presentes na amostra.

4.3.2 Espectroscopia por Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

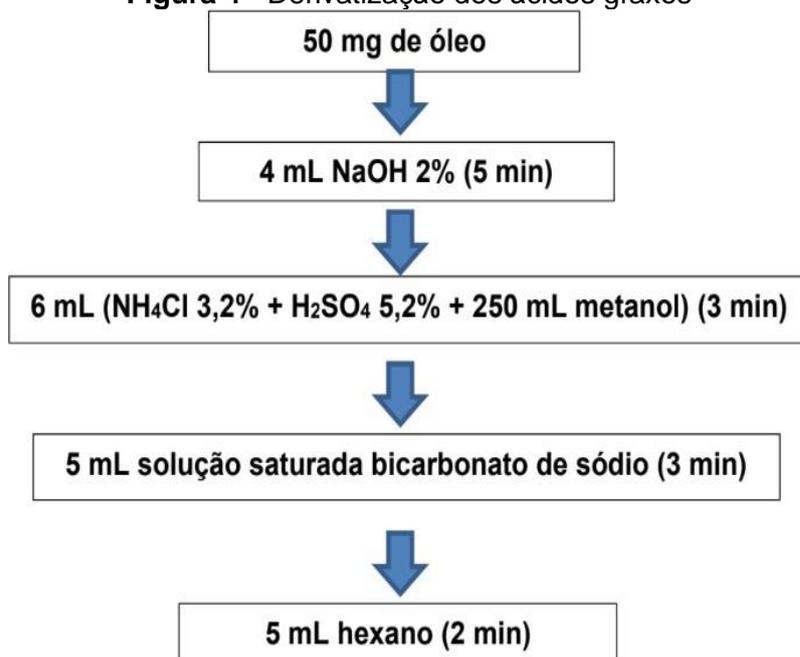
Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) foram obtidos em aparelho Ascend™ 400 MHz (Bruker®), operando a 400 MHz para RMN de ^1H e a 100 MHz para ^{13}C . Foram realizadas as análises unidimensionais (^1H , ^{13}C e DEPT 135°) e as amostras foram diluídas em CDCl_3 .

4.3.3 Cromatografia gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG - EM)

Para as análises foi utilizado um cromatógrafo gasoso da marca Thermo Scientific, Bremen, Germany, modelo Trace 1310/espectrômetro de massas modelo TSQ-9000, com o autoamostrador TriPlus RSH. Uma coluna NA-5MS (60 m x 0,25 mm ID, 0,25 μm espessura do filme) foi usada para separação dos compostos, utilizando hélio como gás de arraste 99,999% (White Martins S.A) com fluxo de 1 mL min^{-1} e autoinjeter (split/splitless).

Para proceder a análise do óleo fixo foi necessário realizar a derivatização dos ácidos graxos com metanol (Figura 4).

Figura 4 - Derivatização dos ácidos graxos



Fonte: Autora (2022)

Todas as etapas de derivatização foram realizadas sob agitação e aquecimento com refluxo á 40°C. A fase orgânica foi coletada e preparada uma solução (200 µL amostra + 25 mg L⁻¹ heptadecanoato de metila (padrão interno) e avolumou-se a 1 mL com hexano para posterior injeção no cromatógrafo a gás. A identificação dos ésteres foi realizada pela comparação dos espectros de massas dos ésteres com as bibliotecas Nist 107, 21 e Wiley e pelo tempo de retenção da análise de uma solução padrão de FAME, na concentração de aproximadamente 25 mg L⁻¹, sob as mesmas condições de análise das amostras.

A programação da rampa foi: 115 °C (0,5 min) - 10 °C min⁻¹ - 260 °C (5 min). O modo de injeção foi split (1:30), modo SCAN e tempo total de análises 20 min. Para o MS as condições foram: temperaturas do injetor 250 °C e do detector 260 °C, tempo de corte do solvente 4 min, modo de ionização por elétrons (EI) 70 eV com relação m/z de 40 a 400 Dalton.

4.4 ATIVIDADE LARVICIDA

4.4.1 Larvas do *Aedes aegypti*

Foram obtidas a partir dos resultados de criação no laboratório de entomologia da Universidade Comunitária da Região de Chapecó-Unochopecó- Santa Catarina.

As larvas utilizadas para o teste foram dos Estágio L2 e L3.

4.4.2 Controles positivos

Foram utilizados duas substâncias como controle positivo, o Vectobac (Bti) e o Spinosad.

Vectobac WG® é um bioinseticida à base de *Bacillus thuringiensis israelensis* fabricado pela empresa Sumitomo Chemical Latin America, responsável pela produção de proteínas inseticidas e denominadas Cry (cristal), Cyttoxinas (citólíticas) e Chi (quitinase), e aos efeitos sinérgicos entre elas e foi obtido de um distribuidor de produtos agrícolas. O produto foi pesado em balança analítica e solubilizado em água ultrapura (250 mL) na concentração de 1,5 mg/mL. Essa concentração foi escolhida com base em diluições da concentração recomendada pelo fabricante, que mata 100% das larvas expostas (COSTA *et al.*, 2010).

Biolarvicida Spinosad (ESP) é obtido a partir do extrato resultante da fermentação da bactéria e que contém spinosinas (A-85% e D-15%). Ele atua no corpo dos insetos por meio da ingestão (THOMPSON; DUTTON; SPARKS, 2000). O produto foi pesado em balança analítica e solubilizado em água ultrapura (714,3 mL) na concentração de 1,35 mg/mL. Essa concentração foi escolhida com base em diluições da concentração recomendada pelo fabricante Natular DT.

4.4.3 Controle negativo

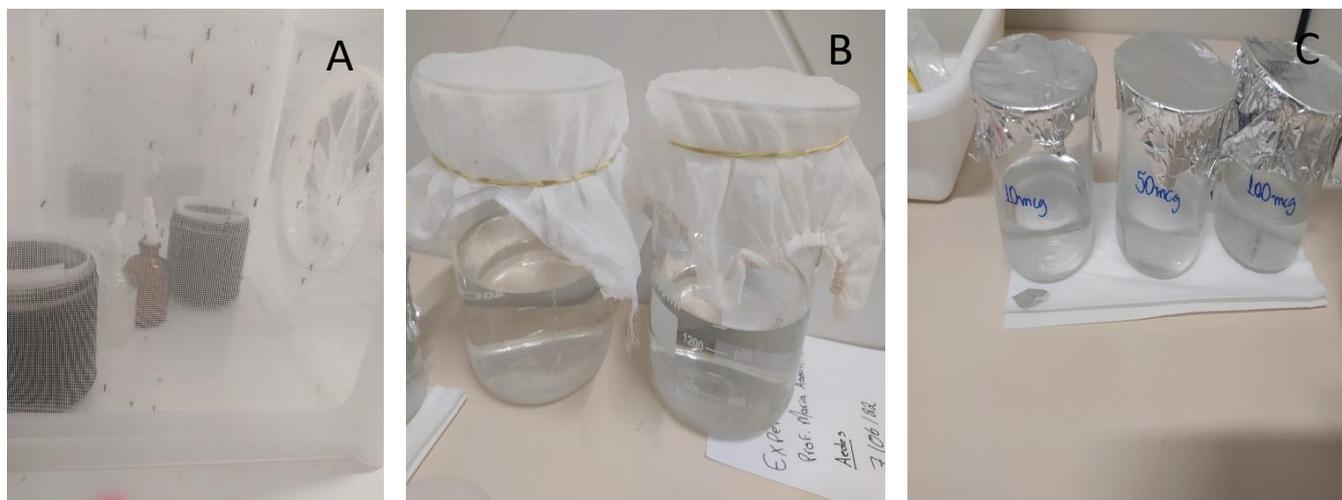
No preparo do controle negativo foi utilizado 100 mL de água ultrapura e 500 mL de dimetilsulfóxido (DMSO).

4.4.4 Bioensaio

Os bioensaios foram realizados em condições de laboratório (Laboratório de entomologia ecológica - LABENT-Eco da Unochapecó - SC) (Figura 5A), estado de temperatura de 28°C +ou - 30°C e fotoperíodo de 12 horas. Dez larvas de estágios L2 e L3 (Figura 5B) foram transferidas para copos plásticos de 150 mL contendo 33,3 mL de solução experimental (água + Vectobac- Bti ou espinosade ou óleo fixo da borra de café-OBC) ou solução controle (água+ DMSO), nas concentrações de 500 µg/mL,

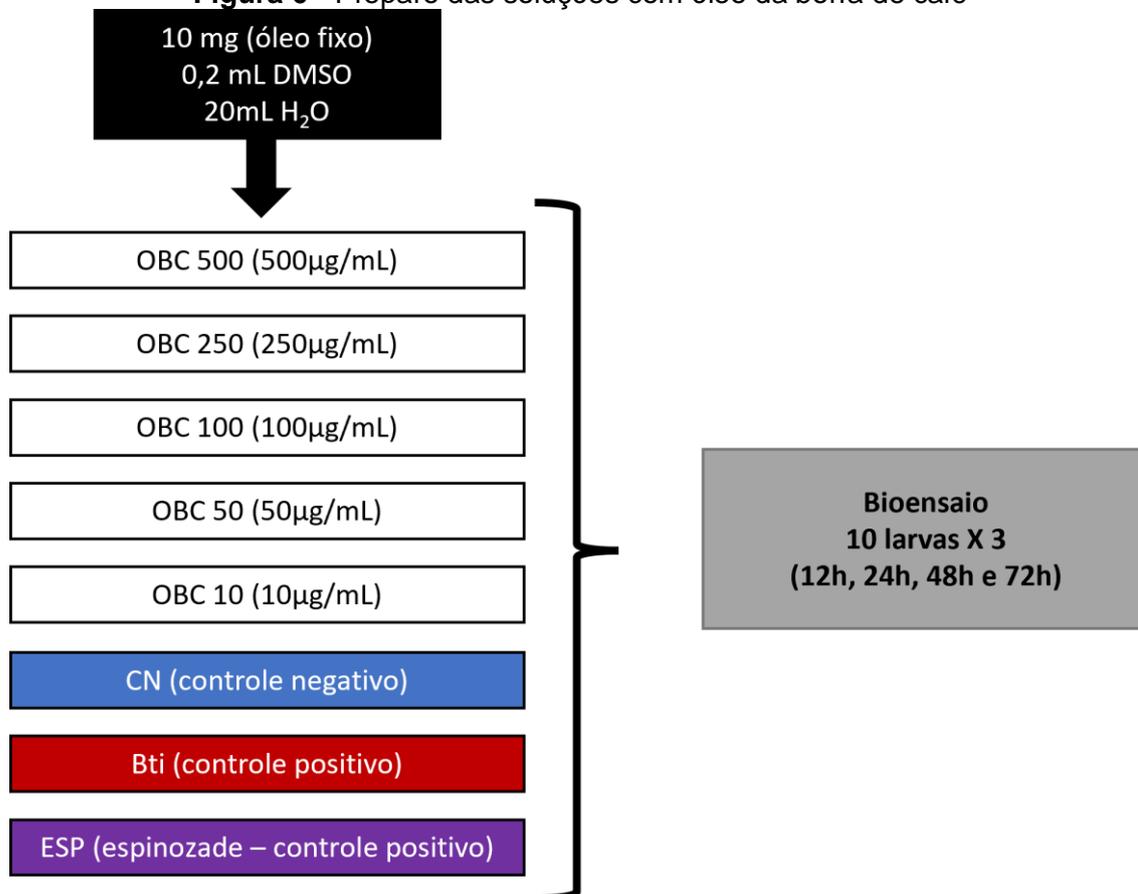
250 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL e 25 µg/mL(Figura 5C). Os números de larvas sobreviventes foram contados e registrados às 24, 48 e 72 horas (Figura 6). Os ensaios foram desenvolvidos em triplicata (World Health Organization, 2005).

Figura 5 - Bioensaio: A- Banco de larvas; B- Larvas em insta II e III; C - Soluções



Fonte: Autora (2022)

Figura 6 - Preparo das soluções com óleo da borra de café



Fonte: Autora (2022)

4.5 ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

4.5.1 Bactérias

As linhagens bacterianas utilizadas nos testes foram obtidas através do Instituto nacional de controle de qualidade em saúde (INCQS) da Fundação Oswaldo Cruz, Ministério da Saúde. Foram utilizadas linhagens bacterianas de *Staphylococcus aureus* 10 resistente a diversos aminoglicosídeos (Cussolim et al. 2020) e sua linhagem padrão *Staphylococcus aureus* ATCC 25923; *Escherichia coli* 06 resistente a gentamicina assim como a sua linhagem padrão *Escherichia coli* ATCC 25922. Antes do ensaio todas as linhagens foram mantidas em Agar Heart Infusion (HIA, Difco).

4.5.2 Antibióticos e reagentes

Foram utilizados frente às bactérias padrões e multirresistentes drogas da classe dos aminoglicosídeo (Gentamicina), fluoroquinolonas (Norfloxacino) e penicilina (Ampicilina). Foram utilizados dois inibidores padrões, a fim de comprovação de possíveis mecanismos de resistência. O Sulbactam inibidor da enzima β -lactamase e a Clorpromazina inibidor de bomba de efluxo. Como reagentes foi usado rezasurina (corante redox que indica a presença de células bacterianas viáveis), obtidos a partir de Sigma Chemical Co., EUA, e suas soluções estoque foram preparadas de acordo com CLSI diretrizes (2005).

4.5.3 Meios de cultura

Foram utilizados nos ensaios microbiológicos os seguintes meios de cultura: Heart Infusion Agar - HIA (Difco Laboratories Ltda.), Caldo Brain Heart Infusion – BHI (Acumedia Manufacturers Inc.). Todos os meios de cultura foram preparados segundo as especificações do fabricante, posteriormente diluídos em água destilada e esterilizados em autoclave por 15 minutos a 121 °C.

4.5.4 Preparação e padronização do inóculo bacteriano

As culturas bacterianas foram mantidas em tubos de ensaio contendo HIA

inclinado, sob-refrigeração (4°C) à temperatura ambiente (28-30°C). Para os testes da Concentração inibitória mínima e de modulação com antibióticos, inicialmente os isolados foram cultivados em meio HIA vertido em placa de petri a 37°C por 24 horas. A partir deste cultivo, foram preparadas suspensões dos microrganismos em tubos de ensaios contendo 3 mL de solução estéril (NaCl à 0,9%). Logo em seguida, essas suspensões foram agitadas por 2 minutos com auxílio do aparelho Vortex e cada suspensão teve sua turbidez comparada e ajustada à suspensão de sulfato de bário do tubo 0,5, a escala de McFarland, a qual corresponde a um inoculo de aproximadamente 105 unidades formadoras de colônias/mL-UFC/mL (SOUSA *et al.*, 2007).

4.5.5 Preparação da solução inicial e das soluções teste

Para o preparo da solução, foram pesadas 10 mg da solução posteriormente diluída em 1 mL de dimetilsulfóxido (DMSO– Merck, Darmstadt, Alemanha), obtendo-se uma concentração inicial de 100 mg/mL. A partir dessa concentração foi feita uma diluição em água destilada estéril para atingir a concentração de 1024 µg/mL, solução utilizada no teste.

4.5.6 Concentração inibitória mínima (CIM) das substâncias

A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada pelo método de microdiluição em caldo. A CIM é definida como a menor concentração onde não é observado crescimento microbiano (NCCLS, 2008). Para realizá-la, foi utilizada uma placa de microdiluição estéril com 96 poços e preparado um meio de distribuição em tubos eppendorf® uma solução de 1 mL contendo 900 µL de BHI 10% e 100 µL da suspensão bacteriana. A placa de microdiluição foi preenchida no sentido numérico, adicionando-se 100 µL da solução de distribuição em cada cavidade, posteriormente foi realizada a microdiluição seriada com 100 µL da solução teste, com concentrações variando de 512 a 8 µg/mL, até a penúltima cavidade, sendo a última cavidade destinada ao controle do crescimento microbiano. Em seguida as placas foram incubadas durante 24 horas a 35 °C (JAVADPOUR *et al.*, 1996). A revelação da CIM bacteriana foi feita utilizando-se a resazurina.

4.5.7 Teste de modulação da ação de antibióticos (bactérias padrões e multirresistentes)

Para avaliar o potencial da substância como modificadora da resistência aos antibióticos, foi utilizado o método proposto por Coutinho *et al.* (2008). O óleo foi misturado em caldo BHI 10% em concentrações subinibitórias, obtidos e determinados após a realização de teste de avaliação da CIM, sendo que para o teste de modulação a concentração do óleo foi reduzida 8 (oito) vezes (CIM/8). O meio de distribuição foi preparado em tubos de Eppendorf® contendo cada um BHI 10% + 150µL da suspensão bacteriana mais a substância teste, atingindo 1,5 mL de solução. Para o controle, a solução de 1,5 mL apresenta apenas BHI 10% + 150µL de suspensão microbiana. A placa de microdiluição foi preenchida no sentido alfabético, adicionando 100µL da solução de distribuição em cada cavidade. Em seguida foi realizada a microdiluição seriada (proporção 1:1 de volume) com 100µL da droga (antibiótico), até a penúltima cavidade. As placas preenchidas foram incubadas a 37 °C por 24 horas e após esse período a leitura foi feita da mesma forma que no teste de CIM. As concentrações dos antibióticos variaram gradualmente de 1024 a 1 µg/mL respectivamente.

4.5.8 Análise estatística

Os testes foram realizados em triplicatas. Os resultados dos testes foram expressos como média geométrica. Para análise estatística foi utilizado software Graphpad Prism, versão 5.0, aplicando a Two-way ANOVA seguida do teste de Bonferroni. Considerando significância estatística $p < 0.01$.

4.6 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

4.6.1 Teor de atividade antioxidante segundo o método da co-oxidação do sistema β caroteno/ácido linoleico

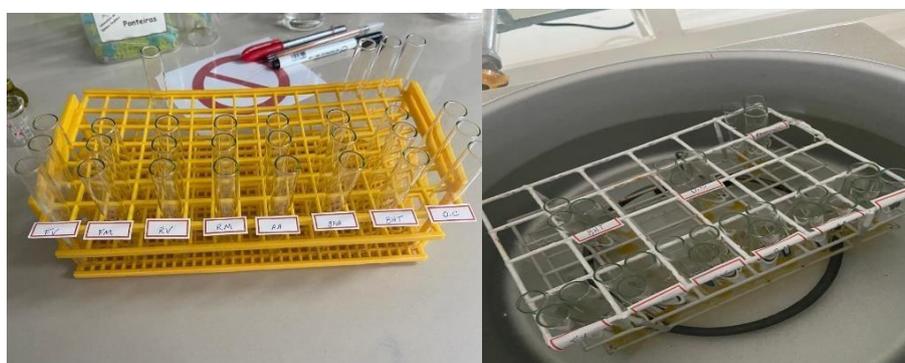
O teste de atividade antioxidante segundo o método da co-oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico é baseado na perda da coloração amarela do β -caroteno,

devido à sua reação com os radicais formados pela oxidação do ácido linoleico através da aeração do meio, essa metodologia foi descrita por SUCUPIRA *et al.* (2012). Para o preparo dos padrões (BHT, BHA e AA) e do óleo de café foram feitas soluções na concentração de 1,0 µg/mL e para o preparo do meio oxidante, uma solução de β-caroteno, dissolvendo 2 µg do reagente em 10 mL de clorofórmio. Em seguida, foi pipetado 2 mL dessa solução em um balão, e adicionado 44 µL de ácido linoleico e 440 µL de Tween 40. O solvente, clorofórmio, foi evaporado sob vácuo a 40°C e em seguida adicionado ao balão 100 mL de água destilada e agitado durante 2 minutos.

Durante o procedimento experimental em si, as amostras e os padrões foram tratados da mesma maneira, assim, um em tubo de ensaio foi adicionado 0,120 mL da solução padrão ou da amostra com 3,0 mL do meio oxidante. O branco foi feito apenas com 3,0 mL da solução padrão e 0,120 mL de etanol e todo o ensaio foi realizado em triplicata. Após a adição das soluções e do meio oxidante nos tubos foi realizado uma leitura da absorbância no espectrofotômetro com comprimento de onda de 470 nm. Esses tubos de ensaio foram colocados em banho-maria a 50°C durante 02 horas e passado esse tempo foi feita uma nova leitura das absorbâncias.

A porcentagem de atividade antioxidante (%) foi avaliada em termos de branqueamento do β-caroteno usando a seguinte fórmula, $AA\% = 100 * [1 - (A_0 - A_1) / (A_0^0 - A_1^0)]$, em que A_0 é a absorbância inicial da amostra e dos padrões, A_1 é a absorbância final da amostra e dos padrões, A_0^0 é a absorbância inicial do branco e A_1^0 é a absorbância final do branco (Figura 7).

Figura 7 - Processo de oxidação



Fonte: Autora (2022)

4.6.2 Teor de atividade antioxidante segundo o método do sequestro do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)

O teste de atividade antioxidante segundo o método do sequestro do radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) também é descrito por SUCUPIRA *et al.* (2012). Para o preparo dos padrões (BHT, BHA e AA) e do óleo da borra do café foram preparadas soluções na concentração de 1,0 µg/mL. Todas essas soluções foram diluídas em 1, 3, 9, 27, 81 e 243 µg/mL para determinar a atividade antioxidante. A preparação da solução de DPPH foi feita na concentração de 50 µg/mL.

Segundo esse método, as soluções padrões e o óleo da borra de café também foram tratadas da mesma forma, assim, em um tubo de ensaio foram colocadas 2,5 mL de solução com 1,0 mL de DPPH. Foi feito um branco para cada concentração com 2,5 mL do padrão com 1,0 mL de etanol e o controle negativo com 2,5 mL de etanol com 1,0 mL de DPPH. O experimento reagiu por 30 minutos para que a leitura das absorbâncias fossem realizadas em comprimento de onda de 518 nm, todo o ensaio foi realizado em triplicata.

O resultado do teste segundo o método do sequestro do radical DPPH foi expresso por CE_{50} , µg/mL e assim utilizamos o programa GraphPad Prism 5 Demo para que os resultados fossem obtidos.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 RENDIMENTO DO ÓLEO DA BORRA DE CAFÉ

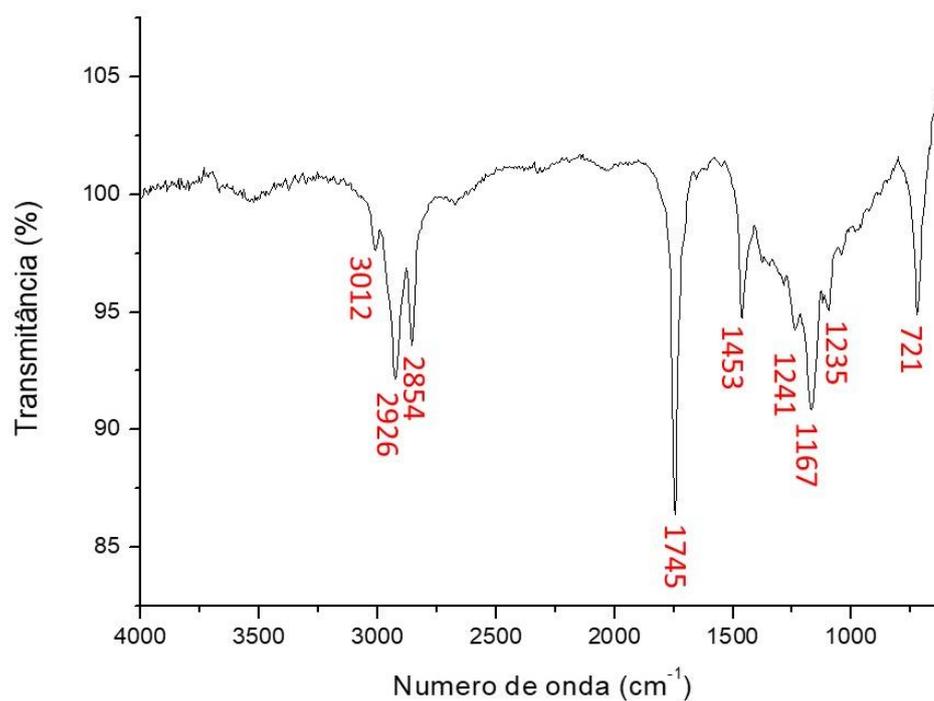
O grão do café contém o óleo vegetal e uma parte deste permanece na borra, porém em menor quantidade. Esse teor de óleo depende do tipo de café e do método de extração, variando de 7 a 15% da borra (KARMEE, 2018).

Na preparação do óleo em estudo foram utilizadas 245 g da borra do café, sendo obtidas 21,581g do óleo fixo, o que equivale a um rendimento de 8,8 % em massa, estando de acordo com o relatado na literatura (KARMEE, 2018). Foi utilizado nessa pesquisa a extração em aparelho soxhlet usando n-hexano como solvente, dados indicam que dentre os métodos tradicionais de extração este é o mais efetivo (BANERJEE, et al., 2013; KARMEE, 2018).

5.2 IDENTIFICAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO DA BORRA DE CAFÉ

5.2.1 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

A FTIR é útil, pois permite observar os grupos funcionais presentes na amostra. Essa observação é feita ao analisar cuidadosamente as bandas de absorção características de cada grupo funcional. Comparando o espectro de FTIR na região do infravermelho $4000-600\text{ cm}^{-1}$ do óleo da borra de café analisado com dados da literatura (HAN et al., 2020; CALDEIRA, 2022) é possível observar a presença de bandas de absorção características de óleos vegetais com composição rica em triglicerídeos (Figura 8, Tabela 3).

Figura 8 - Espectro de FTIR do óleo fixo da borra do café

Fonte: Autora (2022)

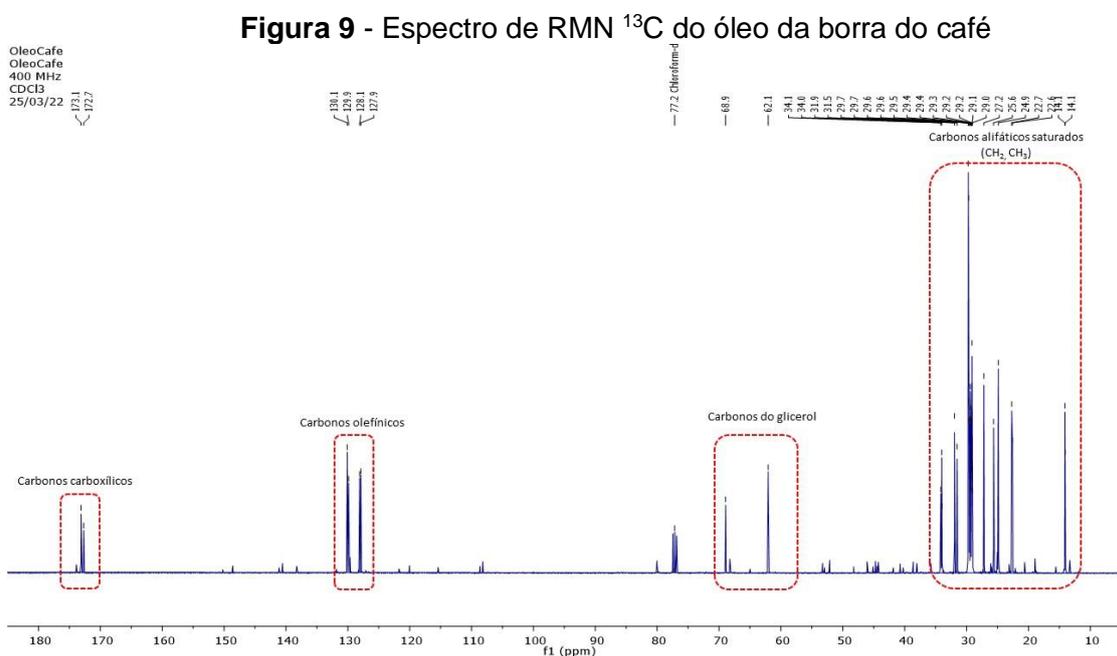
Tabela 3 - Dados do espectro de FTIR do óleo fixo da borra do café: número de onda e grupo funcional

Números de onda (cm ⁻¹)	Grupo funcional
3012	=C-H
2926	-C-H (CH ₂)
2854	-C-H (CH ₂)
1745	-C=O
1453	-C-H (CH ₂) -C-H (CH ₃)
1241	-C-H (CH ₂)
1167	-C-H (CH ₂)
1235	-C-O
721	-(CH ₂) _n - -HC=CH

Fonte: Autora (2022)

5.2.2 Espectroscopia por Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Técnicas espectroscópicas de RMN ^1H , ^{13}C têm sido empregadas com sucesso como ferramenta para determinação estrutural de produtos naturais. A análise de espectros de RMN de ^{13}C do óleo da borra de café foi baseada no artigo de revisão publicado por Alexandri e colaboradores (2017) que agrupa os deslocamentos químicos de ^{13}C de lipídios em quatro regiões: os carbonos carbonila e carboxila na região de 172-178 ppm, carbonos insaturados de 124-134 ppm, os carbonos da espinha dorsal do glicerol de 60-72 ppm e carbonos alifáticos de 10-35 ppm. Como observado na Figura 9 o espectro do óleo da borra do café possui sinais de cada uma das quatro regiões (Tabela 4), sendo observados deslocamentos característicos em um triglicerídeo, como o glicerol e as cadeias de ácidos graxos. Destacam-se os sinais relativos a carbonos olefínicos como um indicativo de que, pelo menos um dos ácidos graxos é insaturado.



Fonte: Autora (2022)

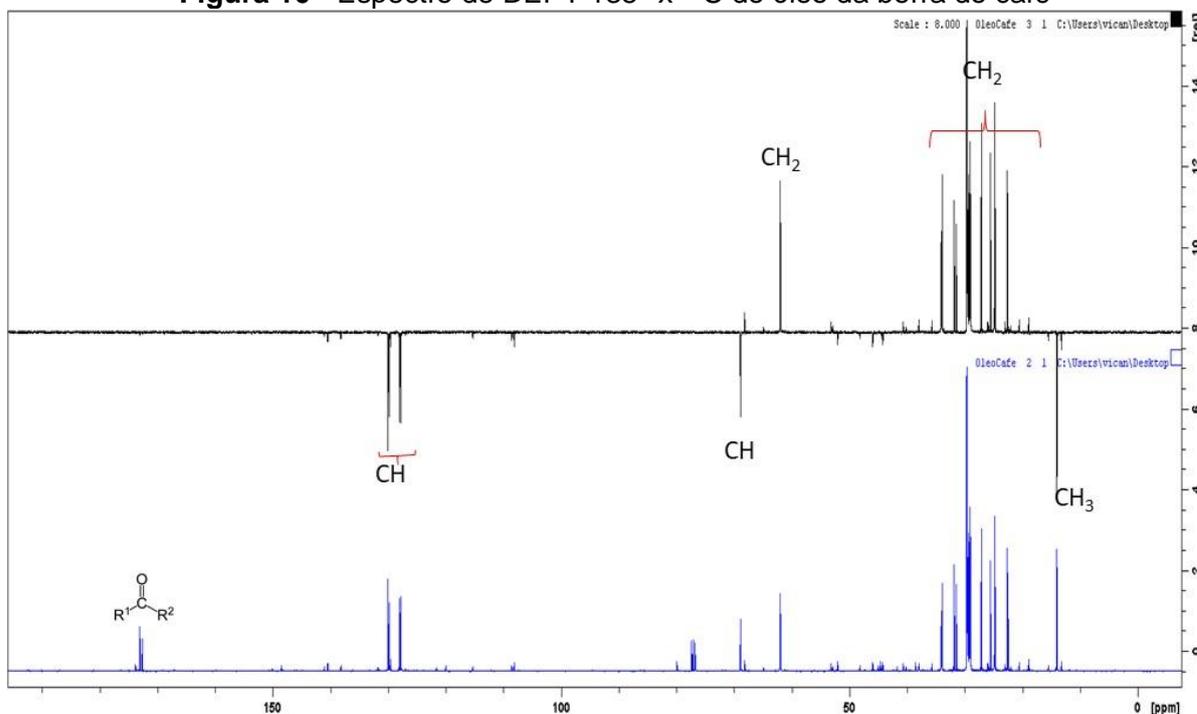
Tabela 4 - Regiões de deslocamentos químicos do espectro de RMN ^{13}C do óleo da borra do café

Região	Deslocamento químico (δ)
Carbonos alifáticos saturados	14 – 34 ppm
Carbonos do glicerol	62 – 70 ppm
Carbonos olefínicos	128 – 130 ppm
Carbonos carboxílicos	172 – 173 ppm

Fonte: Autora (2022)

No espectro utilizando a técnica DEPT 135° carbonos hidrogenados emitem sinal, mas a fase do sinal é diferente conforme o número de hidrogênios seja par ou ímpar. Sinais para CH e CH_3 terão picos em um lado, enquanto sinais para CH_2 formarão picos no lado inverso (PAVIA *et al.*, 2010). Deste modo pela comparação do DEPT 135° e o RMN de ^{13}C foi possível a confirmação das regiões de CH, CH_2 e CH_3 . Um outro achado é a ausência dos sinais da região em δ 172-173 ppm, sugerindo tratar-se de sinais de carbonos não hidrogenados, atribuídos as carbonilas (Figura 10).

Figura 10 - Espectro de DEPT $135^\circ \times ^{13}\text{C}$ do óleo da borra do café



Fonte: Autora (2022)

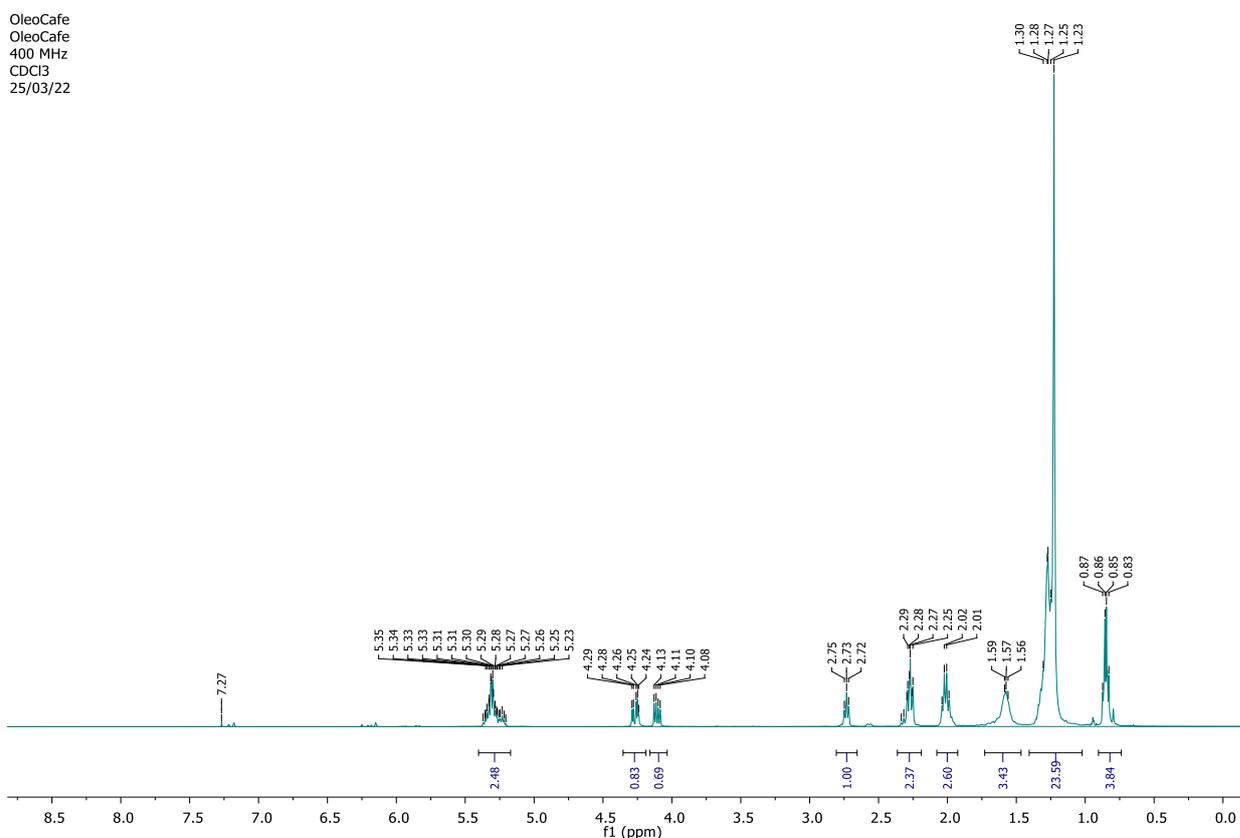
Corroborando com os dados de RMN de ^{13}C nos espectros de RMN de ^1H do óleo da borra de café (Tabela 5 e Figura 11) também foram observados sinais que de acordo com a literatura são característicos de óleos vegetais (GUILLÉN; RUIZ, 2003).

Tabela 5 - Deslocamentos do espectro de ^1H em RMN do óleo da borra do café em comparação com dados da literatura (GUILLÉN; RUIZ, 2003)

Deslocamento químico (ppm)		Grupo funcional
Óleo da borra do café	GUILLÉN; RUIZ, 2003	
0,83 - 0,87	0,83 - 0,93	$-\text{CH}_3$ (grupo alquil saturado, oléico e linoléico)
1,23 - 1,30	1,22 - 1,42	$-(\text{CH}_2)_n$ (grupo alquil)
1,56 - 1,59	1,52 - 1,70	$-\text{OCO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ (grupo alquil)
2,01 - 2,02	1,94 - 2,14	$-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$ (grupo alquil)
2,25 - 2,29	2,23 - 2,36	$-\text{OCO}-\text{CH}_2-$ (grupo acil)
2,72 - 2,75	2,70 - 2,84	$=\text{HC}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$ (grupo alquil)
4,08 - 4,13	4,10 - 4,32	$-\text{CH}_2\text{OCOR}$ (grupo gliceril)
4,24 - 4,29	5,20 - 5,26	$>\text{CHOCOR}$ (grupo gliceril)
5,23 - 5,35	5,26 - 5,40	$-\text{CH}=\text{CH}-$ (grupo alquenil ou vinil)

Fonte: Autora (2022)

Figura 11 - Espectro de ^1H do óleo da borra do café



Fonte: Autora (2022)

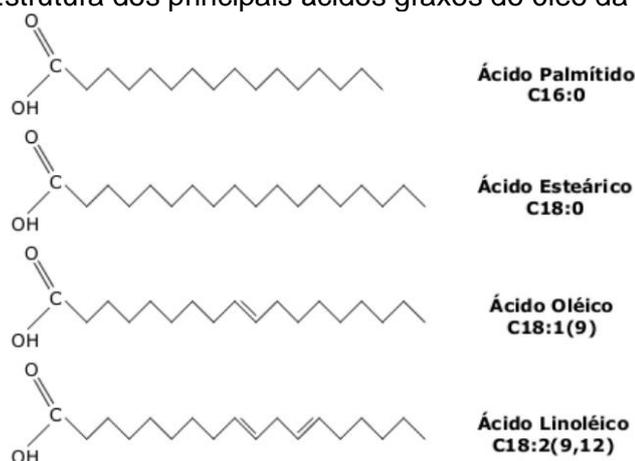
5.2.3 Cromatografia Gasosa acoplada à Espectroscopia de Massas (CG-EM)

A análise por CG-EM, corroborou com a os dados dos espectros de RMN e FTIR, identificando de forma qualitativa e quantitativa os componentes da amostra. Na tabela 6, estão listados os quatro ácidos graxos identificados na amostra do óleo, destacando-se o ácido linoleico (44,9%), como constituinte majoritário, seguido do ácido palmítico (43,56%) (Tabela 6 e Figura 12).

Tabela 6 - Composição de ácidos graxos

COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS			
TEMPO DE RETENÇÃO(MIN)	ÁCIDO GRAXO	%	TIPO ÁCIDO GRAXO
16,86	ÁCIDO LINOLEICO	44,90	ÁCIDO INSATURADO
15,00	ÁCIDO PALMÍTICO	43,56	ÁCIDO SATURADO
17,17	ÁCIDO ESTEÁRICO	7,19%	ÁCIDO SATURADO
16,91	ÁCIDO ÓLEICO	4,11	ÁCIDO INSATURADO

Fonte: Autora (2022)

Figura 12 - Estrutura dos principais ácidos graxos do óleo da borra de café

Fonte: Gambarra Neto (2008)

5.2.3.1 Ácidos graxos insaturados

5.2.3.1.1 Ácido linoléico

Nos estudos de Rahuman *et al.* (2008), o ácido linoléico atuou como larvicidas contra as larvas em 4º estágio do *Aedes aegypti*. Nesta mesma literatura os autores citam que na espécie de planta *Helichyrysum pedunculatum* o ácido linoléico foi isolado e identificado como um dos responsáveis pela atividade antimicrobiana das bactérias gram-positivas, enquanto que na espécie *Citrullus colocynthis* este mesmo ácido atuou, com efeito, larvicida.

Dilika, Bremner e Meyer (2000) corroboram a mesma descoberta do ácido linoléico inibindo o crescimento de bactérias gram-positivas e sendo inativas em bactérias gram-negativas. A espécie *Helichrysum pedunculatum* é planta rica em ácido oléico e ácido linoléico, possuindo uma significativa atividade antibacteriana contra bactérias gram-positivas, uma vez que as bactérias gram-negativas possuem uma membrana mais espessa (COSTA *et al.*, 2011).

No óleo de café verde (café in natura) o ácido linoléico é o principal ácido graxo com propriedades terapêuticas em dermatites (DONG *et al.*, 2021). Resultados semelhantes foram encontrados em pesquisas com o grão do café verde da espécie robusta, na qual o ácido linoléico foi predominante com a sugestão de que ele pode ser utilizado para reduzir a proporção de lipoproteínas de baixa densidade para lipoproteínas de alta densidade (DONG *et al.*, 2015).

No estudo de Aquino Junior *et al.* (2009), o ácido linoléico conjugado (CLA), demonstra possuir a capacidade de alterar o metabolismo de várias espécies, como ratos e humanos, através da redução da massa gorda e conseqüentemente do aumento da massa magra, sendo promissor no controle da obesidade.

Em um estudo de caracterização qualitativa, Rocha e colaboradores (2013) já mencionam a presença desse ácido graxo no óleo da borra de café.

5.2.3.1.2 Ácido oleico

No óleo da borra de café o ácido oleico se apresenta compondo a menor porcentagem (4,11%) dentre os ácidos graxos saturados e insaturados, o que não lhes impede de ter alguma contribuição significativa no estudo em questão.

5.2.3.2 Ácidos graxos saturados

No óleo fixo extraído da borra de café, a quantidade de ácidos graxos, correspondem a 50% de sua composição.

5.2.3.2.1 Ácido palmítico

Chandrasekaran *et al.* (2011), em pesquisa com a planta *Sesuvium*

portulacastrum L., identificaram que o ácido palmítico compõe 38,18%, classificado como componente majoritário dessa espécie, caracterizando-a como responsável pela atividade microbiana .

Na literatura foi identificado que o extrato da semente de *Millettia pinnata* é composto por oito ácidos graxos, dentre eles o ácido palmítico que atua como larvicida contra larvas do terceiro estágio do *Aedes aegypti* (PERUMALSAMY *et al.*, 2015).

A composição do ácido palmítico encontrado no óleo da borra de café, é semelhante ao óleo de palma(44,0), considerado o óleo vegetal mais utilizado no mundo e tem sido objeto de pesquisa para o controle da obesidade (MANCINI, *et al.*, 2015).

5.2.3.2.2 Ácido esteárico

Ácidos graxos saturados de cadeia curta como o ácido esteárico, possuem ação antimicrobiana contra bactérias gram-positivas e gram-negativas (KABARA, 2008). No óleo da borra de café, o ácido esteárico compõe 7,19% de sua composição. Uma quantidade insignificante, em relação ao ácido palmítico e ácido linoleico.

5.3 ATIVIDADE LARVICIDA

A atividade larvicida do óleo fixo extraído da borra de café foi testada em cinco concentrações diferentes: 10, 50, 100, 250 e 500 µg/mL, dois controles positivo (BTI e ESP) e um controle negativo, sendo n o número de larvas do mosquito *Aedes aegypti* utilizadas no ensaio larvicida para cada concentração (totalizando 10 larvas por ensaio). Para cada concentração os testes foram realizados em triplicata. Os dados sobre o número de larvas vivas e de larvas mortas estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 - Mortalidade das larvas de *Aedes aegypti* após o tratamento de concentrações durante 72 horas

CONCENTRAÇÃO µg/mL	MORTALIDADE %		
	24horas	48horas	72horas
10	0	0	0
50	0	0	0
100	0	0	0
250	0	0	10
500	10	60	80
ESPINOSADE – CONTROLE POSITIVO	60	90	100
BTi – CONTROLE POSITIVO	100	100	100

Fonte: Autora (2022)

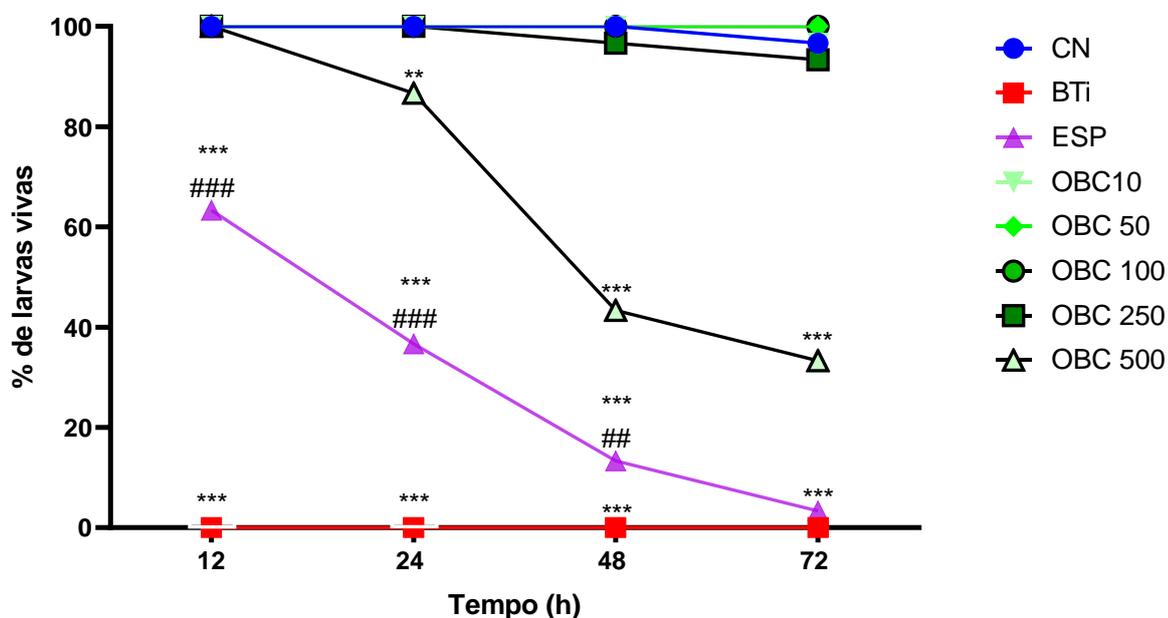
Durante o período do experimento todas as larvas permaneceram vivas no grupo controle negativo. O número de larvas vivas foi registrado em todas as concentrações e após a aplicação dos tratamentos (24 horas, 48 horas e 72 horas) em comparação ($p < 0,005$) com o grupo controle.

Nas concentrações menores 10, 50, 100 e 250 µg/mL não houve atividade larvicida em todo o tempo do experimento, a quantidade de larvas vivas (10) não variou. Na concentração de 500 µg/mL apresentou um efeito larvicida em todos os períodos observados. A partir desses resultados observa-se que quanto maior a concentração do óleo da borra de café e maior tempo de exposição, maior será a atividade larvicida (Gráfico 1).

O BTi (controle positivo) a partir da primeira hora apresentou total efeito larvicida e o 2º controle positivo, o Espinosade matou aos poucos as larvas durante todo o período, percebendo uma diferença na ação larvicida entre essas duas alternativas comerciais.

Com o quantitativo de larvas vivas registrado em cada período, foi possível fazer a média de cada substância e encontrar a porcentagem de larvas vivas (Tabela 8).

Gráfico 1 - Atividade larvicida do óleo de borra de café nas concentrações de 500 $\mu\text{g/mL}$ (OBC 500), 250 $\mu\text{g/mL}$ (OBC 250), 100 $\mu\text{g/mL}$ (OBC 100), 50 $\mu\text{g/mL}$ (OBC 50) e 10 $\mu\text{g/mL}$ (OBC 10) comparado ao ESP (espinosade, controle positivo), BTI (controle positivo) e CN (controle negativo) de 12 à 72 horas. *** $p < 0,001$ comparado ao CN (controle negativo). ** $p < 0,01$ comparado ao CN. ### $p < 0,001$ comparado ao BTi. ## $p < 0,01$ comparado ao BTi



Fonte: Autora (2022)

Tabela 8 – Porcentagem de larvas vivas conforme cada substância utilizada

SUBSTÂNCIA	PORCENTAGEM DE LARVAS VIVAS
CONTROLE NEGATIVO	96,66%
BTI	0%
ESPINOSADE	3,33%
OBC 10	96,66%
OBC 50	100%
OBC 100	100%
OBC 250	93,3%
OBC 500	33,33%

OBC: óleo da borra de café, Bti: *Bacillus thuringiensis israelensis*

Fonte: Autora (2022)

Estudos indicam que a borra do café causa mortalidade larval em *A. aegypti* e, portanto, pode ser considerado um agente potencial para controle alternativo (GUIRADO; BICUDO, 2007; LARANJA; MANZATTO; BICUDO, 2003). Diferente da pesquisa atual nesses estudos não é utilizado o óleo e sim a borra do café e em

concentrações mais elevadas (75-300 mg/ mL), o que pode indicar a necessidade de fazer novos testes com o óleo da borra do café usando outras concentrações para obter melhor resultado.

5.4 ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

5.4.1 Concentração inibitória mínima

O óleo extraído da borra de café apresentou CIMs de 512 µg/mL para, *Escherichia coli* ATCC 25922 e 256 µg/mL para *Escherichia coli* 06. Para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 o óleo apresentou uma concentração inibitória de 512 µg/mL e para *S. aureus* 10 de 1024 µg/mL sendo percebido na leitura colorimétrica das placas de microdiluição (Quadro 2). Para a cepa da *E.coli* o óleo da borra de café apresentou CIMs dentro de um padrão clinicamente relevante, tanto na bactéria resistente quanto na padrão. Para *S.aureus* o óleo apresentou CIMs relevante apenas para a cepa padrão.

Concentrações inibitórias mínima com valores menores que 256 µg/mL, é um indício de relevância clínica e atividade antimicrobiana inerente (DA CRUZ *et al.*, 2022).

Quadro 2 - Concentração inibitória mínima (CIM) em µg/mL do óleo da borra de café e da clopromazina frente as cepas em estudo

BACTÉRIAS	ÓLEO DA BORRA DE CAFÉ	CLORPROMAZINA
<i>Staphylococcus aureus</i> 10	≥ 1024	128
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	512	64
<i>Escherichia coli</i> 06	256	256
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	512	16

Fonte: Autora (2022)

5.4.2 Efeito da modificação antibiótica

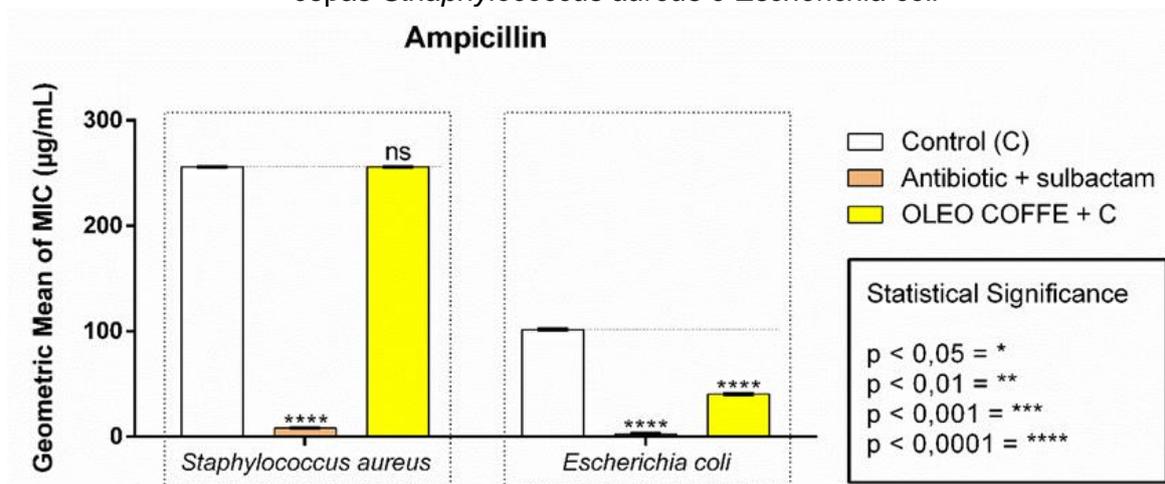
5.4.2.1 Ampicilina como controle

O mecanismo enzimático foi demonstrado nas duas cepas testadas *E. coli* e *S.*

aureus. Esse mecanismo trata de uma resistência intrínseca que leva a degradação do antimicrobiano por enzimas, no qual ocorre uma produção de enzimas modificadoras de moléculas, do tipo beta-lactamases, que atuam inibindo a biossíntese da parede celular bacteriana (SUAREZ; GUDIOL, 2009).

O óleo fixo extraído da borra de café apresentou um efeito modificador em relação ao antibiótico testado (ampicilina) apenas para a cepa da *Escherichia coli* (Gráfico 2). As cepas da *S. aureus* possuem alguns componentes que os tornam resistentes a diversas drogas (LIVERMORE, 2002) e a diversas classes de antibióticos (FUENTEFRÍA *et al.*, 2008).

Gráfico 2 – Efeito modificador da Ampicilina associado ao óleo da borra de café frente as cepas *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*



Fonte: Autora (2022)

5.4.1.2 Gentamicina como controle

Na associação do antibiótico de controle Gentamicina com a Clorpromazina, o mecanismo de bomba de efluxo é evidenciado quando essa associação atingi CIMs mais baixa do que o controle antibiótico. Com a presença da Gentamicina, as cepas de *S.aureus* expressaram a bomba de efluxo. A bomba de efluxo são proteínas de transporte que levam antibióticos e que são dependentes de energia, uma vez que fazem o transporte contra um gradiente de concentração (SHARMA *et al.*, 2019). Esse mecanismo pode ser encontrado em bactérias gram positivas e gram negativas. São imprescindíveis tanto na fisiologia como na defesa bacteriana, sendo responsáveis por exportar substratos estruturalmente diversos, incluindo fluoroquinolonas como

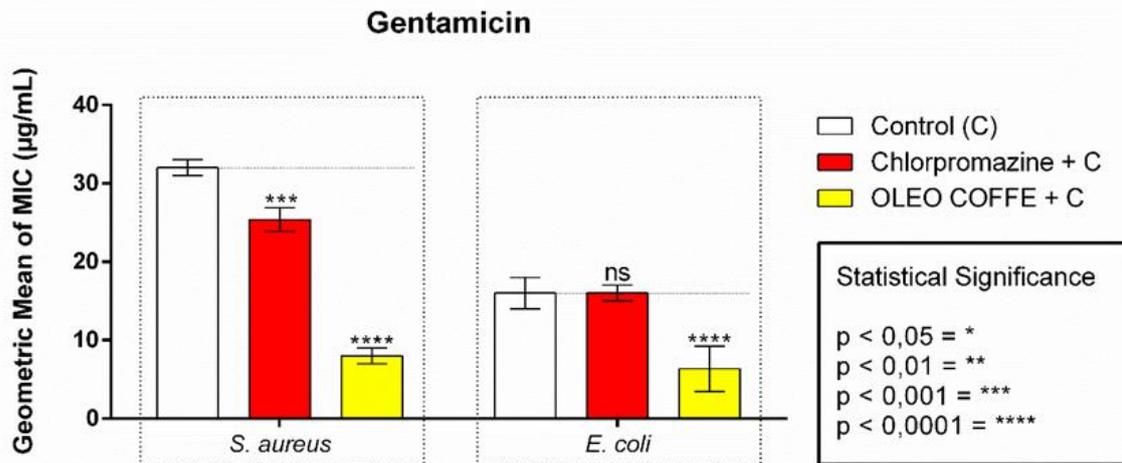
norfloxacin e ciprofloxacina; tetraciclina e cloranfenicol (ALVAREZ-ORTEGA *et al.* 2013).

Na cepa da *E.coli* observou-se uma potenciação do efeito antibiótico em associação com o óleo extraído da borra de café (Gráfico 3). Neste experimento, o mecanismo da bomba de efluxo não teve significância nesta cepa.

A Clorpromazina é uma droga utilizada com efeito antibacteriano e com ação inibidora da bomba de efluxo (KAATZ; MOUDGAL; SEO, 2002) foi utilizada como controle, associada a Gentamicina e possuindo significância para os testes realizados com as cepas da *E. coli*, o que expressou a capacidade adjuvante do óleo fixo extraído da borra de café junto aos antibióticos de controle.

O óleo essencial da espécie *Acritopappus confertus*, quando associado com o antibiótico gentamicina e testado nas cepas e *E. coli* e *S.aureus*, teve ação modificatória e potencializou a droga contra as cepas em estudo (DA CRUZ *et al.*, 2022).

Gráfico 3 – Efeito modificador da Gentamicina associado ao óleo da borra de café frente as cepas *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*



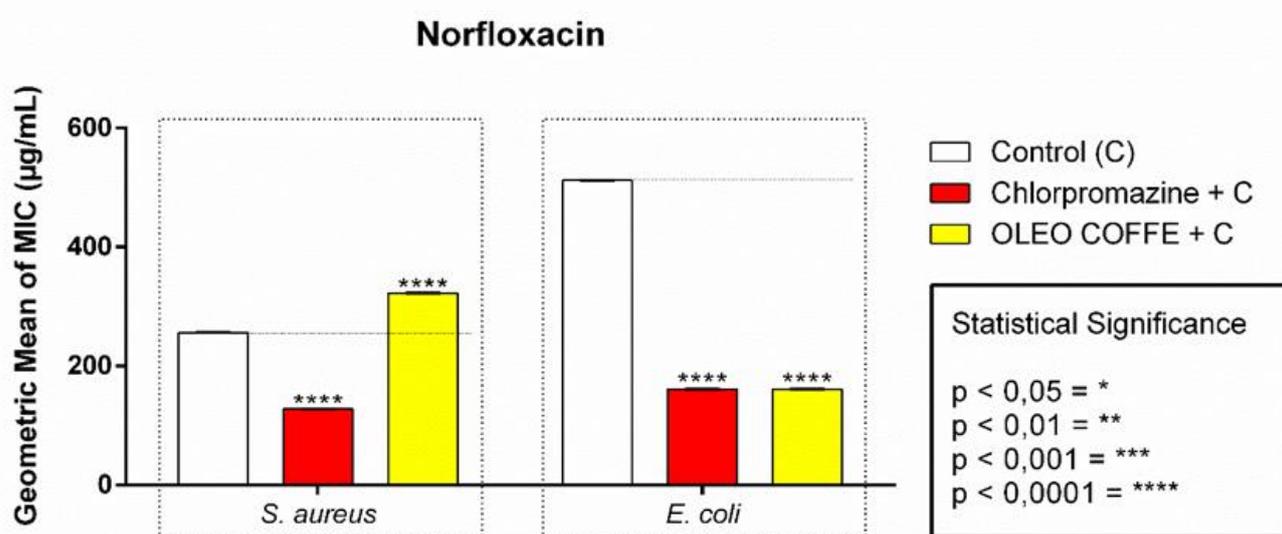
5.4.1.3 Norfloxacin como controle

As cepas de *S.aureus* e *E.coli* diante do antibiótico de Norfloxacin e do óleo da borra de café apresentam o mecanismo de bomba de efluxo, identificadas pela redução do MICs do antibiótico quando associado com a Clorpromazina. O óleo fixo da borra de café reduziu o efeito do antibiótico nas cepas *S.aureus*, enquanto que na

cepa de *E. coli* o óleo potencializou a atuação dessa espécie (Gráfico 4). Estudos afirmam que existe a interação entre substâncias naturais e antibióticos (HEMAISWARY *et al.*, 2008).

Espécies que não é possível identificar a atividades antibacteriana de forma isolada são menos capazes de adquirir resistência quando são utilizados como modificadores de antibiótico, e como resposta, quando são associados, seu potencial aumenta para combater bactérias resistentes (DA CRUZ *et al.*, 2022).

Gráfico 4 – Efeito modificador do Norfloxacin associado ao óleo da borra de café frente as cepas *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*



5.5 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

As metodologias foram realizadas através do uso de microplacas para reduzir a quantidade de reagentes e de amostras e possibilitar a quantidade de análises simultâneas e a automatização das leituras de absorbância.

5.5.1 Teste de atividade antioxidante - Método (β -Caroteno)

Este método determinou a atividade antioxidante do óleo da borra de café, ou seja a capacidade de proteger o substrato lipídico da oxidação.

A avaliação da atividade antioxidante usando o método β -Caroteno, foi realizada utilizando o Ácido ascórbico (AA) e dois controles positivos (BHT-

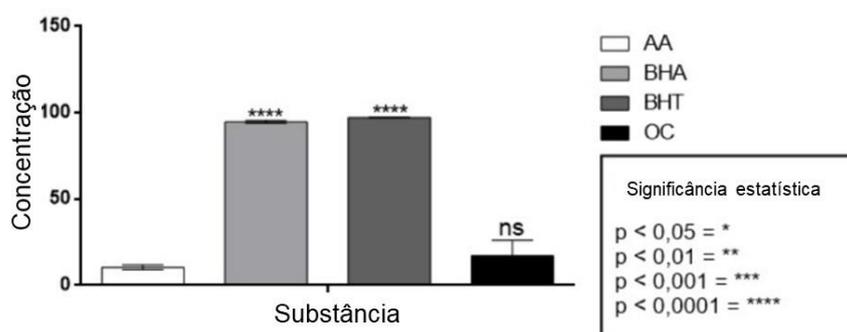
Hidroxitolueno e BHA-Hidroxianisol de Butila). No experimento concluiu-se que o óleo extraído da borra de café atingiu um percentual de $17,23 \pm 8,97$ (Tabela 9), valor superior quando comparado com o ácido ascórbico e inferior aos dois controles (BHT e BHA) (Gráfico 5). Nesse teste conclui-se que, quanto maior o valor, maior será a atividade antioxidante.

Tabela 9 - Percentual antioxidante com Método (β -Caroteno)

AMOSTRAS PADRÕES	β -Caroteno % AA
Ácido Ascórbico (AA)	$10,40 \pm 140$
Hidroxianisol de Butila (BHA)	$94,69 \pm 0,74$
Hidroxitolueno de Butila (BHT)	$97,24 \pm 0,07$
Óleo Fixo da Borra de Café (O.C.)	$17,23 \pm 8,97$

Fonte: Autora (2022)

Gráfico 5 – Teste de Atividade Antioxidante – Método β -caroteno



Fonte: Autora (2022)

5.5.2 Teste de atividade antioxidante – Método do sequestro do radical DPPH

O método do sequestro do radical DPPH foi realizado através do descoramento de uma solução composta por radicais estáveis (DPPH), ou seja, ocorreu a transferência de elétrons de um composto antioxidante para um oxidante. Com a realização do método de sequestro de Radicais Livres (DPPH), o óleo fixo da borra de café não obteve atividade oxidante significativa (Tabela 10 e Gráfico 6).

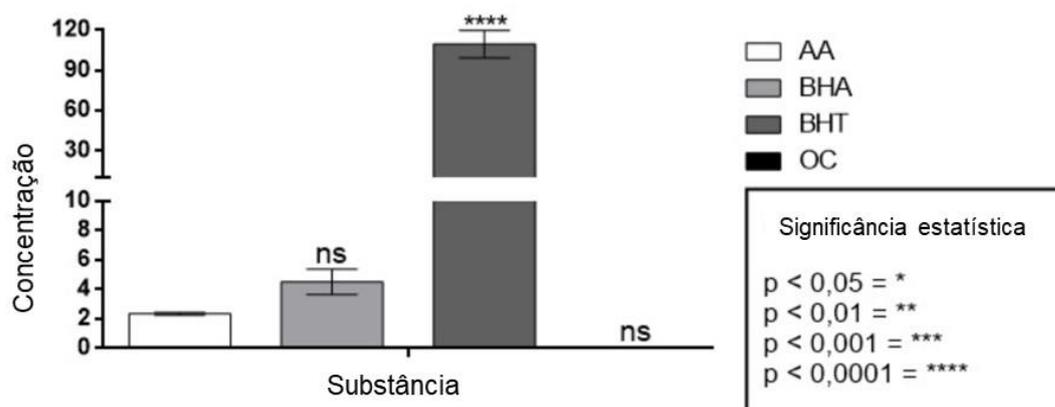
O uso de processos térmicos na produção de alimentos, produzem mudanças químicas que afetam o desenvolvimento das atividades biológicas (EVANGELISTA *et al.*, 2014).

Tabela 10 - Atividade antioxidante com Método Sequestro de Radicais Livres DPPH do óleo da borra do café

AMOSTRAS PADRÕES	DPPH (CE ₅₀ , µg/mL)
AA	2,35 ± 0,9
BHA	4,52 ± 0,85
BHT	109,6 ± 10,32
O.C.	ND

Fonte: Autora (2022)

Gráfico 6 - Teste de Atividade Antioxidante – Método de Sequestro de Radicais Livres DPPH (CE50, µg/ml)



Fonte: Autora (2022)

No método DPPH substâncias apolares, como o óleo testado, tende a ter resultados pouco expressivos visto que esse teste é mais eficiente na detecção da atividade antioxidante de compostos polares (LIM; GOH; LOH, 2016).

6 CONCLUSÃO

Este estudo permitiu a identificação dos compostos químicos presentes no óleo fixo extraído da borra de café (*Coffea arabica*), constituído por 50% de ácidos graxos saturados e 50% de ácidos graxos insaturados, sendo que o ácido linoléico (44,90%) é o constituinte majoritário. Alguns estudos identificaram ser esse constituinte responsável pela atividade potencializadora de antibióticos e da atividade larvicida.

Na avaliação da atividade antioxidante *in vitro*, foi possível verificar que no método da inibição da co-oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico o óleo apresentou atividade antioxidante superior (17,23% \pm 8,97) comparada ao padrão ácido ascórbico (10,61% \pm 2,28).

Na atividade bacteriana o óleo fixo da borra de café apresentou concentração inibitória (CIM) menor para as cepas da *Escherichia coli* 06 (256 μ g/mL). Para a cepa da *E.coli* o óleo da borra de café apresentou CIMs dentro de um padrão clinicamente relevante, tanto na bactéria resistente quanto na padrão.

O óleo da borra de café em estudo apresentou efeitos sinérgicos na associação com gentamicina, norfloxacin e ampicilina contra cepas resistentes, com reduções nas CIM dos antibióticos. Os resultados sugerem que o óleo fixo de BC possui ácidos graxos com potencial para modificar sinérgicamente a atividade antibiótica.

Os resultados para atividade larvicida foram significativos na concentração de 500 μ g/mL do óleo da borra de café e no tempo de exposição (72 horas) frente a larvas do mosquito *Aedes aegypti*.

Diante do estudo realizado foi possível observar que o óleo fixo extraído da borra de café, apresenta resultados relevantes e promissores nas atividades antioxidantes, larvicida e adjuvantes potencializadores na atividade antibacteriana, as quais podem estar relacionadas a sua composição química, sobretudo a presença dos ácidos palmítico e linoléico.

O uso de resíduos para produção de novos materiais com alto valor agregado tem sido um desafio proposto pela economia circular, onde um resíduo de um processo produtivo, como a borra de café, pode servir de matéria prima para um novo produto, como o óleo fixo e este ter aplicação útil a sociedade. Os resultados da presente pesquisa contribuem com estudos que visam o aproveitamento do resíduo do café (borra).

REFERÊNCIAS

- ABIC. Associação Brasileira da Indústria de Café. **Rio de Janeiro: 2021. Disponível em:** <https://estatisticas.abic.com.br/estatisticas/indicadores-da-industria.2021>. **Acesso em:** 20 jul. 2022.
- ABRAHÃO, S. A.; PEREIRA, R. G. F. A.; LIMA, A. R.; FERREIRA, E. B.; MALTA, M. R. Compostos bioativos em café integral e descafeinado e qualidade sensorial da bebida. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 12, p. 1799-1804, 2008.
- ABUQAMAR, S.; MOUSTAFA, K.; TRAN L. S. Mechanisms and strategy of plant defense against *Botrytis cinerea*. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 37, n. 2, p. 262-274, 2017.
- ACEVEDO, F.; RUBILAR, M.; SCHEUERMANN, E.; CANCINO, B.; UQUICHE, E.; GARCÉS, M.; SHENE, C. Spent Coffee Grounds as a Renewable Source of Bioactive Compounds. **Journal of Biobased Materials and Bioenergy**, v. 7, n. 3, p. 420-428, 2013.
- AGUIAR, A. T. E. **Atributos químicos de espécies de café**. 2005. 87f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.
- AL-ASMARI, K. M. *et al.* Medicinal Properties of Arabica coffee (*Coffea arabica*) Oil: An Overview. **Adv. Life Sci**, v. 8, n. 1, p. 20-29, 2020.
- ALEXANDRI, E.; AHMED, R.; SIDDIQUI, H.; CHOUDHARY, M. I.; TSIAFOULIS, C. G.; GEROTHANASSIS, I. P. High Resolution NMR Spectroscopy as a Structural and Analytical Tool for Unsaturated Lipids in Solution. **Molecules**, v. 22, n. 10, p. 1663, 2017.
- ALPHEY, L. *et al.* Sterile-insect methods for control of mosquito-borne diseases: an analysis. **Vector Borne Zoonotic Dis.**, v. 10, n. 3, p. 295-311, 2010.
- ALVAREZ, A. M. R.; RODRÍGUEZ, M. L. G. Lipids in pharmaceutical and cosmetic preparations. **Grasas y Aceites**, v. 51, p. 74-96, 2000.
- ALVAREZ-ORTEGA, Carolina; OLIVARES, Jorge; MARTÍNEZ, José L. RND multidrug efflux pumps: what are they good for?. **Frontiers in microbiology**, v. 4, p. 7, 2013.
- AMORIM, L. L. B.; DA FONSECA DOS SANTOS, R.; NETO, J. P. B.; GUIDA-SANTOS, M.; CROVELLA, S.; BENKO-ISEPPON, A. M. Transcription Factors Involved in Plant Resistance to Pathogens. **Curr Protein Pept Sci**, v. 18, n. 4, p. 335-351, 2017.
- AQUINO JUNIOR, A. E. *et al.* Efeito da suplementação com ácido linoléico conjugado e do treinamento em natação sobre a composição corporal e os parâmetros bioquímicos de ratos Wistar em crescimento. **Revista de Nutrição**, v. 22, n. 4, p. 493-502, 2009.

ARAUJO, A. F. O. *et al.* Larvicidal activity of *Syzygium aromaticum* (L.) Merr and *Citrus sinensis* (L.) Osbeck essential oils and their antagonistic effects with temephos in resistant populations of *Aedes aegypti*. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 111, n. 7, p. 443-449, 2016.

ATABANI, A. E. *et al.* Valorization of spent coffee grounds recycling as a potential alternative fuel resource in Turkey: An experimental study. **Journal of the Air & Waste 121 Management Association**, v. 68, n. 3, p. 196–214, 2017.

BANERJEE, A. *et al.* Combi-protein coated microcrystals of lipases for production of biodiesel from oil from spent coffee grounds. **Sustainable Chemical Processes**, v. 1, n. 1, p. 1-9, 2013.

BOTAS, G. S. *et al.* *Baccharis reticularia* DC. and Limonene Nanoemulsions: Promising Larvicida agentes for *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) control. **Molecules**, v. 22, n. 11, p. 1-14, 2017.

BRAINER, M. S. C. P.; XIMENES, L. F. Produção e mercado do café. **Caderno setorial ETENE.**, v. 6, n. 207, p. 1-13, 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Dengue instruções para pessoal de combate ao vetor: manual de normas técnicas**. 3. ed., rev. Brasília, DF: Ministério da Saúde, Fundação Nacional de Saúde, 2001.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. DEPARTAMENTO DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA. **Diretrizes nacionais para prevenção e controle de epidemias de dengue**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2022.

CAGLIANI, L. R.; PELLEGRINO, G.; GIUGNO, G.; CONSONNI, R. Quantification of *Coffea arabica* and *Coffea canephora* var. *robusta* in roasted and ground coffee blends. **Talanta**, v. 106, p. 169-173, 2013.

CARVALHO, A. C. O. **Características físico-químicas de óleos vegetais comestíveis puros e adulterados**. 2017. 79f. Monografia (Licenciatura em Química) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2017.

CDC - CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Ciclo de vida do mosquito *Aedes Aegypti*. Disponível em: https://stacks.cdc.gov/view/cdc/41424/cdc_41424_DS1.pdf?>. Acesso em 18 dez 2022

CERVERA-MATA, A. *et al.* Spent coffee grounds improve the nutritional value in elements of lettuce (*Lactuca sativa* L.) and are an ecological alternative to inorganic fertilizers. **Food Chemistry**, v. 1, n. 282, p. 1-8, 2019.

CERVERA-MATA, A.; DELGADO, G.; FERNÁNDEZ-ARTEAGA, A.; FORNASIER, F.; MONDINI, C. Spent coffee grounds by-products and their influence on soil C-N dynamics. **J Environ Manage**. v. 15, 302(Pt B), p. 114075, 2022.

CHANDRASEKARAN, M.; SENTHILKUMAR, A.; VENKATESALU V. Antibacterial and antifungal efficacy of fatty acid methyl esters from the leaves of *Sesuvium portulacastrum* L. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, v. 15, n. 7, p. 775-780, 2011.

CHOTANAKOON, K.; NARADISORN, M. Antioxidant and antimicrobial activities of spent coffee residues. **Acta Horticulturae**, n. 973, p. 187-192, 2013.

COELHO, A. A.; PAULA, J. E.; ESPÍNDOLA, L. S. Larvicidal Activity of Plant Extracts on *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae), under Laboratory Conditions. **BioAssay**, v. 4, n. 3, p. 1-6, 2009.

CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira de café: Safra 2021, Quarto levantamento**. Brasília, DF: 2021. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cafe>. Acesso em: 16 dez. 2021.

CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento de safra brasileiro – grãos: Safra 2022 - Primeiro levantamento**. Brasília, DF: 2022. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cafe/boletim-da-safra-de-cafe>. Acesso em: 20 jul. 2022.

CONCEIÇÃO, Júnia Cristina Péres Rodrigues da; ELLERY JUNIOR, Roberto de Goes; CONCEIÇÃO, Pedro Henrique Zuchi da. **Cadeia agroindustrial do café no Brasil: uma análise do período recente**. 2017.

COSTA, J. G. M.; BRITO, S. A.; NASCIMENTO, E. M. M.; BOTELHO, M. A.; RODRIGUES, F. F. G.; COUTINHO, H. D. M. Antibacterial Properties of Pequi Pulp Oil (*Caryocar coriaceum*– WITTM.). **International Journal of Food Properties**, v. 14, n. 2, p. 411-416, 2011.

COSTA, J. R. V.; ROSSI, J. R.; MARUCCI, S. C.; ALVES, E. C.C.; VOLPE, H. X. L.; FERRAUDO, A. S.; DESIDÉRIO, J. A. Atividade tóxica de isolados de *Bacillus Thuringiensis* a larvas de *Aedes Aegypti* (L.) (diptera: culicidae). **Neotropical Entomology**, v. 39, n. 5, p. 757–766, 2010.

COSTA, R. O. B. **Influência da temperatura e ciclo circadiano na eclodibilidade, desenvolvimento, características celulares e sexo do mosquito *Aedes aegypti***. 2019. 41f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biotecnologia) - Universidade Federal da Paraíba, Centro de Biotecnologia, Departamento de Biologia Celular e Molecular, João Pessoa, 2019.

COUTINHO, H. D. M. *et al.* Enhancement of the antibiotic activity against a multiresistant *Escherichia coli* by *Mentha arvensis* L. and chlorpromazine. **Chemotherapy**, v. 54, n. 1, p. 328-330, 2008.

COUTO, C. C.; SANTOS, T. F.; MAMEDE, A. M. G. N.; OLIVEIRA, T. C.; SOUZA A. M.; FREITAS-SILVA, O.; OLIVEIRA, E. M. M. *Coffea arabica* and *C. canephora* discrimination in roasted and ground coffee from reference material candidates by real-time PCR. **Food research International**, v. 115, p. 227-233, 2019.

CUSSOLIM, P. A. *et al.* Mecanismos de resistência do *Staphylococcus aureus* a antibióticos. **Revista faculdades do saber**, v. 6, n. 12, p. 831-843, 2021.

DA CRUZ, Rafael Pereira *et al.* Chemical Composition and Antimicrobial Potential of Essential Oil of *Acritopappus confertus* (Gardner) RM King & H. Rob.(Asteraceae). **Pharmaceuticals**, v. 15, n. 10, p. 1275, 2022.

DA SILVA, J. A. G.; DE RESENDE, M. L. V.; RIBEIRO, I. S.; LIMA, A. R.; ALBUQUERQUE, L. R. M.; MONTEIRO, A. C. A.; PEREIRA, M. H. B.; BOTELHO, D. M. D. S. Chemical Composition, Production of Secondary Metabolites and Antioxidant Activity in Coffee Cultivars Susceptible and Partially Resistant to Bacterial Halo Blight. **Plants**, v. 10, n. 9, p. 1915, 2021.

DA SILVA, J. A. G.; DE RESENDE, M. L. V.; RIBEIRO, I. S.; LIMA, A. R.; ALBUQUERQUE, L. R. M.; MONTEIRO, A. C. A.; PEREIRA, M. H. B.; BOTELHO, D. M. S. Chemical Composition, Production of Secondary Metabolites and Antioxidant Activity in Coffee Cultivars Susceptible and Partially Resistant to Bacterial Halo Blight. **Plants**, v. 10, n. 9, p. 1915, 2021.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. **Química de alimentos**. 4. ed. São Paulo: Artmed, 2010.

DATTATRAYA, S. G.; BHOSALE, R.; SHOBANA, S.; BANU, J. R.; PUGAZENDHI, A.; MAHMOUD, E.; KUMAR, G. A review on valorization of spent coffee grounds (SCG) towards biopolymers and biocatalysts production. **Bioresource Technology**, v. 314, p. 123800, 2020.

DE MELO, A. R.; PEREIRA GARCIA, I. J.; SERRÃO, J. E.; SANTOS, H. L.; RODRIGUES DOS SANTOS LIMA, L. A.; ALVES, S. N. Toxicity of different fatty acids and methyl esters on *Culex quinquefasciatus* larvae. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 154, p.1-5, 2018.

DERRAIK, J. G. B.; SLANEY D. The toxicity of used coffee grounds to the larvae of *Ochlerotatus* (Finlaya) *notoscriptus* (Skuse) (Diptera: Culicidae). **The Annals of Medical Entomology**, v. 14, p. 14-24, 2005.

DIENG, H. *et al.* Coffee, its roasted form, and their residues cause birth failure and shorten lifespan in dengue vectors. **Environ Sci Pollut Res**, v. 24, n. 17, p. 14782-14794, 2017.

DILIKA, F.; BREMNER, P.; MEYER, J. J. Antibacterial activity of linoleic and oleic acids isolated from *Helichrysum pedunculatum*: a plant used during circumcision rites. **Fitoterapia**, v. 71, n. 4, p. 450-452, 2000.

DONG, W. *et al.* Comparison of the effect of extraction methods on the quality of green coffee oil from Arabica coffee beans: Lipid yield, fatty acid composition, bioactive components, and antioxidant activity. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 74, p. 105578, 2021.

DONG, W.; TAN, L.; ZHAO, J.; HU, R.; LU, M. Characterization of Fatty Acid, Amino

Acid and Volatile Compound Compositions and Bioactive Components of Seven Coffee (*Coffea robusta*) Cultivars Grown in Hainan Province, China. **Molecules.**, v. 20, n. 9, p. 16687-708, 2015.

EVANGELISTA, S. R.; SILVA, C. F.; PEDROZO DA CRUZ MIGUEL, M. G.; DE SOUZA CORDEIRO, C.; PINHEIRO, A. C. M.; DUARTE, W. F.; SCHWAN, R. F. Improvement of coffee beverage quality by using selected yeasts strains during the fermentation in dry process. **Food Res Int.**, v. 61, p. 183–195, 2014.

FALCÃO-SILVA, V. S.; GONÇALVES, G. F.; MELO COUTINHO, H. D. RESISTÊNCIA BACTERIANA DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS À METICILINA. **Revista de Ciências da Saúde Nova Esperança**, v. 6, n. 1, p. 80-87, 2008.

FAROOQ, Muhammad et al. **Efficacy Evaluation of Medium-Chain Fatty Acids as Skin and Spatial Repellents Against Aedes aegypti (Diptera: Culicidae) Mosquitoes.** Journal of Medical Entomology, 2022.

FUENTEFRIA, D. B. *et al.* Pseudomonas aeruginosa: spread of antimicrobial resistance in hospital effluent and surface water. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, p. 470-473, 2008.

GALVÃO, E. L. *et al.* Avaliação do potencial antioxidante e extração subcrítica do óleo de linhaça. **Food Science and Technology**, v. 28, p. 551-557, 2008.

GAMBARRA NETO, F. F. **Classificação de óleos vegetais utilizando voltametria de onda quadrada e métodos quimiométricos.** 2013. 103f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2008.

GAN, Y. *et al.* Association of coffee consumption with risk of colorectal cancer: a meta-analysis of prospective cohort studies. **Oncotarget**, v. 8, n. 12, p. 18699-18711, 2017.

GARCIA, C. M. **Transesterificação de óleos vegetais.** 2006. 136f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, Departamento de Química Orgânica, Campinas, São Paulo, 2006.

GOMES, P. R. B. *et al.* Avaliação da atividade larvicida do óleo essencial do *Zingiber officinale Roscoe* (gengibre) frente ao mosquito *Aedes aegypti*. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v. 18, n. 2, p. 597-604, 2016.

GUILLÉN, M. D.; RUIZ, A. ¹H nuclear magnetic resonance as a fast tool for determining the composition of acyl chains in acylglycerol mixtures. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 105, p. 502–507, 2003.

GUIMARÃES, D. O.; MOMESSO, L. S.; PUPO, M. T. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Química Nova**, v. 33, p. 667-679, 2010.

GUIRADO, M. M.; BICUDO, H. E. M. C. Effect of used coffee grounds on larval mortality of *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae): suspension concentration and age

versus efficacy. **BioAssay**, v. 2, n. 0, p. 1–7, 2007.

HAN, J.; SUN, R.; ZENG, X.; ZHANG, J.; XING, R.; SUN, C.; CHEN, Y. Rapid classification and quantification of camellia (*Camellia oleifera* Abel.) oil blended with rapeseed oil using FTIR-ATR spectroscopy. **Molecules**, v. 25, n. 9, p. 2036, 2020.

HEMAISWARYA, S.; KUMAR, A.; DOBLE, M. Synergism between natural products and antibiotics against infectious diseases. **Phytomedicine**, v. 15, p. 639–652, 2008.

HERNÁNDEZ, M. L.; SICARDO, M. D.; ALFONSO, M.; MARTÍNEZ-RIVAS, J. M.; ROUSSEAU, M. C. Transcriptional Regulation of Stearoyl-Acyl Carrier Protein Desaturase Genes in Response to Abiotic Stresses Leads to Changes in the Unsaturated Fatty Acids Composition of Olive Mesocarp. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, n. 3, p. 1-12, 2019.

HINTON JR, A.; INGRAM, K. D. Use of oleic acid to reduce the population of the bacterial flora of poultry skin. **Journal of Food Protection**, v. 63, n. 9, p. 1282-1286, 2000.

HOLTREMAN, F.; COSTA, S. S.; ROSA, M.; VIVEIROS, M.; POMBA, C.; COUTO, I. Characterization of plasmid encoded efflux determinants from *Staphylococcus epidermidis*. In: CONGRESSO NACIONAL DE MICROBIOLOGIA E BIOTECNOLOGIA, 17., 2017, Porto. **Anais [...]** Porto: SBM, 2017. p. 273.

HUANG, J.; SUN, Q.; SONG, G.; QI, S.; CHEN, J.; ZHANG, P.; GENG, T.; LIN, Q.; DUAN, Y. Antioxidant and antiisomerization effects of sesamol and resveratrol on high oleic acid peanut oil. **LWT - Food Science and Technology**, v. 123, p. 1-10, 2020.

HUSSEIN, Hany et al. **The Valorization of Spent Coffee Ground Extract as a Prospective Insecticidal Agent against Some Main Key Pests of Phaseolus vulgaris in the Laboratory and Field**. *Plants*, v. 11, n. 9, p. 1124, 2022.

INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION. **Aspectos botânicos**. Londres: 2022. Disponível em: https://www.ico.org/pt/botanical_p.asp. Acesso em: 20 jul. 2022.

JAVADPOUR, M. M. *et al.* De novo antimicrobial peptides with low mammalian cell toxicity. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 39, p. 3107–3113, 1996.

JORGE, N. **Química e tecnologia de óleos vegetais**. São Paulo: Cultura Acadêmica, Universidade Estadual Paulista, Pró-Reitoria de Graduação, 2009.

KAATZ, G. W.; MOUDGAL, V. V.; SEO, S. M. Identification and characterization of a novel efflux-related multidrug resistance phenotype in *Staphylococcus aureus*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 50, n. 6, p. 833-838, 2002.

KABARA, J. J. **Fats are good for you and other secrets**. Berkeley: North Atlantic Books, 2008.

KARMEE, S. K. A spent coffee grounds based biorefinery for the production of biofuels, biopolymers, antioxidants and biocomposites. **Waste management**, v. 72,

p. 240-254, 2018.

LA SCALIA, G.; SAELI, M.; MIGLIETTA, P.P. *et al.* Coffee biowaste valorization within circular economy: an evaluation method of spent coffee grounds potentials for mortar production. **IntJ Life Cycle Assess**, v. 26, p. 1805–1815, 2021.

LARANJA, A. T. *et al.* Effects of caffeine and used coffee ground on biological features of *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) and their possible use in alternative control. **Genetics and Molecular Biology**, v. 26, n. 4, p. 419-429, 2003.

LARANJA, A. T.; MANZATTO, A. J.; BICUDO, H. E. M. D. C. Effects of caffeine and used coffee grounds on biological features of *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) and their possible use in alternative control. **Genetics and Molecular Biology**, v. 26, n. 4, p. 419-429, 2003.

LIM, S. M.; GOH, Y. M.; LOH, S. P. Nutritional Compositions and Antioxidant Activities of Non-Polar and Polar Extracts of Germinated Brown Rice. **Pertanika Journal Tropical Agricultural Science**, v. 39, n. 2, p. 219 – 233, 2016.

LIMA, C. C.; BENJAMIM, S. C. C.; SANTOS, R. F. S. Bacterial Resistance Mechanism Against Drugs: A Review Mecanismo De Resistencia Bacteriana Frente A Los Fármacos: Una Revisión. **CuideArte Enfermagem**, v. 11, n. 1, p. 105-113, 2017.

LIVERMORE, D. M. Multiple Mechanisms of Antimicrobial Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: Our Worst Nightmare? **Clinical Infectious Diseases**, v. 34, p. 634-640, 2002.

MACHADO, N. S. **Modelos de previsão via análise de séries temporais da produção de café no brasil no período de 1960 a 2021**. 2022. 47f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Estatística) - Universidade Federal de Uberlândia, Faculdade de Matemática, Uberlândia, MG, 2022.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; DUNLAP, P. V.; CLARK, D. P. **Biology of microorganisms**. 12. ed. New York: Pearson Benjamin Cummings, 2009.

MANCINI, A.; IMPERLINI, E.; NIGRO, E.; MONTAGNESE, C.; DANIELE, A.; ORRÙ, S.; BUONO, P. Biological and Nutritional Properties of Palm Oil and Palmitic Acid: Effects on Health. **Molecules**, v.20, n.9, p. 17339-17361, 2015.

MATA, T. M.; MARTINS, A. A.; CAETANO, N. S. Bio-refinery approach for spent coffee grounds valorization. **Bioresource Technology**, v. 247, p. 1077–1084, 2018.

MIRANDA, F. R.; FERNANDES, K. M.; BERNARDES, R. C.; MARTINS, G. F. 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, p. 116307, 2020.

MOREIRA, M. A. S. *et al.* Antimicrobial resistance dependent on multidrugs efflux in *Escherichia coli* isolated from the mastitic milk. **Arq Bras Med Vet Zootec.**, v. 60, n.

6, p. 1307-1314, 2008.

MUSSATTO, S. I. *et al.* Production, composition, and application of coffee and its industrial residues. **Food and Bioprocess Technology**, v. 4, n. 5, p. 661-672, 2011.

NCCLS. National Committee for Clinical Laboratory Standards. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically**. 11 ed. Wayne: CLS, 2008.

NOGUEIRA, T. L. .; DA SILVA, S. D. A. .; DA SILVA, L. H. .; LEITE, M. V. S. .; DA ROCHA, J. F. A. .; ANDREZA, R. S. Pós covid-19: as sequelas deixadas pelo Sars-Cov-2 e o impacto na vida das pessoas acometidas. **Archives of Health**, v. 2, n. 3, p. 457-471, 2021.

OIC. Organização Internacional do Café. **Relatório sobre o mercado de café**. Viçosa: OIC, 2018. Disponível em: <http://www.sbicafe.ufv.br/handle/123456789/12830>. Acesso em: 10 jul. 2022.

ORCHARD, A.; VAN VUUREN, S. F. Carrier oils in dermatology. **Archives of Dermatological Research**, v. 311, n. 9, p. 653–672, 2019.

PANUSA, A.; ZUORRO, A.; LAVECCHIA, R.; MARROSU, G.; PETRUCCI, R. Recovery of natural antioxidants from spent coffee grounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, p. 4162–4168, 2013.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. **Introdução à Espectroscopia**. 4. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2010.

PEREIRA, M.; DA ROSA BITTENCOURT, C.; TERRA CREXI, V.; MACHADO MORAIS, M. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO ÓLEO DA AMÊNDOA DO BUTIÁ (BIUTIA QUARAIMANA). **Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão**, v. 6, n. 2, 14 fev. 2020.

PERUMALSAMY, H.; JANG, M. J.; KIM, J.-R.; KADARKARAI, M.; AHN, Y.-J. Larvicidal activity and possible mode of action of four flavonoids and two fatty acids identified in *Millettia pinnata* seed toward three mosquito species. **Parasites & Vectors**, v. 8, n. 237, 2015.

QUALLS, Whitney A. *et al.* **Evaluation of lotions of botanical-based repellents against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae)**. *Journal of Medical Entomology*, v. 58, n. 2, p. 979-982, 2021.

RABA, D. N. *et al.* The influence of high-temperature heating on composition and thermo-oxidative stability of the oil extracted from Arabica coffee beans. **PLoS ONE**, v. 13, n. 7, p. 1–13, 2018.

RAHUMAN, A. A.; VENKATESAN, P.; GOPALAKRISHNAN, G. Mosquito larvicidal activity of oleic and linoleic acids isolated from *Citrullus colocynthis* (Linn.) **Schrad. Parasitology Research**, v. 103, p. 1383-1390, 2008.

RIOS, J. L.; RECIO, M. C. Medicinal plants and antimicrobial activity. **Journal of**

ethnopharmacology, v. 100, n. 1-2, p. 80-84, 2005.

ROCHA, C. C.; REIS, C.; CHAVES, A. R. M. **Caracterização qualitativa de ácidos graxos como componentes dos óleos de grão de café verde, café torrado e borra de café**. Brasília, DF: Embrapa Café, 2013.

ROCHA, M. M.; RODRIGUES, R. D. S.; GUIMARÃES, P. H. V.; GONSALVES, J. K. M. da C. Larvicide potential of essential oils from Brazilian plants against *Aedes aegypti*. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 2, p. e53211226140, 2022.

RUBAYIZA, A. B.; MEURENS, M. Chemical Discrimination of Arabica and Robusta Coffees by Fourier Transform Raman Spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n.12, p. 4654–4659, 2005.

SAGIRI, S. S.; SINGH, V. K.; PAL, K.; BANERJEE, I.; BASAK, P. Stearic acid based oleogels: A study on the molecular, thermal and mechanical properties. **Materials Science and Engineering**, v. 48, p. 688-699, 2015.

SANTOS, L. C. D.; LIMA, L. A. R. S.; CASTRO, A. H. F. Ácidos Graxos Vegetais: Composição química, atividade biológica e potencial biotecnológico. *In*: PANIAGUA, C. E. S. **Trabalhos nas áreas de fronteira da química 2**. Ponta Grossa: Atena, 2021. cap. 4, p. 34-42.

SHARMA, A. *et al.* Efflux pump inhibitors for bacterial pathogens: From bench to bedside. **Indian J Med Res.**, v. 149, n. 2, p. 129-145, 2019.

SILVA, L. F. S. *et al.* Avaliação da atividade antimicrobiana e alelopática de borra de café. *In*: SIMPÓSIO DE SEGURANÇA ALIMENTAR E SAÚDE, 5, 2015, Bento Gonçalves. **Anais [...] Bento Gonçalves: SSAS**, 2015.

SILVEIRA, G. P. *et al.* Estratégias Utilizadas no Combate a Resistência Bacteriana. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 844-855, 2006.

SOUSA, C. M. M. *et al.* Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 351- 355, 2007.

STYLIANOU, M.; AGAPIOU, A.; OMIROU, M.; VYRIDES, I.; IOANNIDES, I. M.; MARATHEFTIS, G.; FASOULA, D. Converting environmental risks to benefits by using spent coffee grounds (SCG) as a valuable resource. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 36, p. 35776-35790, 2018.

SU, Xinghua *et al.* **Fast emerging insecticide resistance in *Aedes albopictus* in Guangzhou, China: Alarm to the dengue epidemic**. PLoS neglected tropical diseases, v. 13, n. 9, p. e0007665, 2019.

SUAREZ, C.; GUDIOL, F. Beta-lactam antibiotics. **Enfermedades Infecciosas Y Microbiología Clínica**, v. 27, n. 2, p. 116-29, 2009.

SUCUPIRA, N. R. *et al.* Métodos para determinação da atividade antioxidante de frutos. **Journal of Health Sciences**, v. 14, n. 4, p. 263-269, 2012.

TASEW, T.; MEKONNEN, Y.; GELANA, T.; REDI-ABSHIRO, M.; CHANDRAVANSI, B. S.; ELE, E.; MAMO, H. In vitro antibacterial and antioxidant activities of roasted and green coffee beans originating from different regions of Ethiopia. **International Journal of Food Science**, v. 2020, p. 8490492, 2020.

THOMPSON, G. D.; DUTTON, R.; SPARKS, T. C. Spinosad – a case study: an example from a natural products discovery programme. **Pest Management Science**, v. 56, p. 696-702, 2000.

TINTINO, S. R. **Avaliação da inibição de bombas de efluxos em linhagens de Staphylococcus aureus por substâncias sintéticas de origem natural**. 2018. 133f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Pernambuco, Recife, 2018.

TODA, T. A. **Minimização de resíduos do processamento do café solúvel através do reaproveitamento da borra para extração de óleo utilizando solvente renovável**. 2016. 111f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, São Paulo. 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides**. World Health Organization, 2005. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/69101>. Acesso em: 29 jul. 2022.

YOU DIM, A. K.; MARTIN, A.; JOSEPH, J. A. Essential fatty acids the brain: possible health implications. **Int J Dev Neurosci.**, v. 18, p. 383-399, 2000.

YU, G. *et al.* Loss of p53 sensitizes cells to palmitic acid-induced apoptosis by reactive oxygen species accumulation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 24, p. 6268, 2019.

ZHANG, Shougang et al. **Larvicidal Activity of Natural Repellents Against the Dengue Vector, Aedes aegypti**. Journal of the American Mosquito Control Association, v. 36, n. 4, p. 227-232, 2020.