

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

VITÓRIA BACHINE GALHARDO VIDA

**AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE DE CEPA DE ACIDOBACTERIA AB23 NA
TRANSFORMAÇÃO BIOLÓGICA DE RESÍDUOS GERADOS DA CULTURA
DO CAFÉ**

PATOS DE MINAS- MG
DEZEMBRO DE 2025

VITÓRIA BACHINE GALHARDO VIDA

**AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE DE CEPA DE ACIDOBACTERIA AB23 NA
TRANSFORMAÇÃO BIOLÓGICA DE RESÍDUOS GERADOS DA CULTURA
DO CAFÉ**

Monografia apresentada ao Instituto de
Biotecnologia da Universidade Federal de
Uberlândia como requisito final para a
obtenção do título de Bacharel em
Biotecnologia

Prof. Dra. Cristine Chaves Barreto

**PATOS DE MINAS- MG
DEZEMBRO DE 2025**

VITÓRIA BACHINE GALHARDO VIDA

Avaliação da capacidade de cepa de acidobacteria AB23 na transformação biológica de resíduos gerados da cultura do café

Monografia apresentada ao Instituto de Biotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia como requisito final para a obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia

Banca examinadora:

Profª. Dra. Cristine Chaves Barreto - Universidade Federal de Uberlândia, campus Patos de Minas
Presidente

Prof. Dra. Líbia Diniz Santos- Universidade Federal de Uberlândia, campus Patos de Minas
Membro

Prof. Dr. Gilvan Caetano Duarte - Universidade Federal de Uberlândia, campus Patos de Minas
Membro

Os membros da Comissão Examinadora acima assinaram a Ata de Defesa que se encontra no Sistema Eletrônico de Informações (SEI) da Universidade Federal de Uberlândia.

Patos de Minas, 15 de dezembro de 2025

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter me guiado durante todos esses anos, com muita fé para alcançar todos os meus objetivos.

Agradeço imensamente a minha família minha mãe Marlene, ao meu pai Josmaro e meus irmãos João Paulo e Matheus por todo apoio, incentivo e ajuda nesse período de graduação, por todos os ensinamentos ao longo de minha vida que foram essenciais para que eu chegasse aqui, são minha base e meu orgulho, meu refúgio para os momentos de dificuldades. Agradeço ao meu namorado Matheus por todo carinho, apoio, presença e incentivo para que essa etapa se concretizasse. Coloco esse trabalho em memória de minha avó Maria, por todos os finais de semana que passei a sua presença estudando, acredito que de onde ela estiver estará muito orgulhosa.

Agradeço a minha orientadora, por todo auxílio nessa jornada, pelos puxões de orelha, pelos ensinamentos, e por mostrar a paixão pela pesquisa. Agradeço também ao meu grupo de pesquisa MicroCer, por todo ensinamento que foram essenciais para que esse projeto fosse realizado.

RESUMO

A cafeicultura global, com o Brasil como principal produtor e exportador, gera desafios de sustentabilidade devido à significativa quantidade de resíduos produzidos. A casca e outros subprodutos representam cerca de 90% do fruto. O descarte inadequado desses materiais causa contaminação ambiental, devido à presença de cafeína e compostos fenólicos, desequilibrando a microbiota do solo e da água. O objetivo do trabalho foi avaliar o crescimento da *Acidobactéria* AB23 utilizando a casca melosa e o pergaminho como única fonte de carbono, sua toxicidade e capacidade de degradar celulose. Neste trabalho utilizou-se a cepa de *Acidobactéria* AB23, um microrganismo abundante no Cerrado, conhecido pela capacidade de degradar celulose e hemicelulose, os principais componentes dos resíduos de café por meio da ação de enzimas glicosídeo hidrolases. Os resultados demonstraram que o resíduo não foi tóxico para o crescimento da *Acidobactéria*, e em comparação com o controle positivo (xilana), o crescimento em meio de cultura contendo resíduo não revelou diferença estatística significativa entre os tratamentos. Além disso, o ensaio de coloração com Vermelho Congo permitiu observar a degradação da celulose, comprovando a atividade hidrolítica. Concluiu-se que os resíduos puderam ser empregados como fonte alternativa de crescimento para a *Acidobactéria* AB23, atestando seu potencial para degradação do material lignocelulósico presente no resíduo do café. Futuros experimentos podem avaliar a degradação em ensaios enzimáticos, utilizar meio líquido e aplicação do resíduo em sua forma natural, não processada, para simular condições agrícolas. Destaca-se também a necessidade de caracterização química dos resíduos para quantificar seus nutrientes, além de investigar a degradação de outros compostos presentes, como hemicelulose e proteínas.

Palavras-chave: AB23. Biotransformação. Cafeicultura. Glicosídeo hidrolases. Resíduos.

ABSTRACT

Global coffee farming, with Brazil as the main producer and exporter, poses sustainability challenges due to the significant amount of waste produced. The husk and other by-products account for about 90% of the fruit. Improper disposal of these materials causes environmental contamination due to the presence of caffeine and phenolic compounds, unbalancing the soil and water microbiota. The objective of this study was to evaluate the growth of Acidobacteria AB23 using honeycomb and parchment as the sole source of carbon, its toxicity, and its ability to degrade cellulose. In this study, the Acidobacteria AB23 strain was used, a microorganism abundant in the Cerrado, known for its ability to degrade cellulose and hemicellulose, the main components of coffee waste, through the action of glycoside hydrolase enzymes. The results showed that the residue was not toxic to the growth of Acidobacteria, and compared to the positive control (xylan), growth in culture medium containing residue did not reveal a statistically significant difference between treatments. In addition, the Congo Red staining test allowed the degradation of cellulose to be observed, proving the hydrolytic activity. It was concluded that the residues could be used as an alternative growth source for Acidobacteria AB23, attesting to its potential for degrading the lignocellulosic material present in coffee residues. Future experiments may evaluate degradation in enzymatic assays, use liquid medium, and apply the residue in its natural, unprocessed form to simulate agricultural conditions. It is also important to chemically characterize the waste to quantify its nutrients, in addition to investigating the degradation of other compounds present, such as hemicellulose and proteins.

Keywords: AB23. Biotransformation. Coffee farming. Glycoside hydrolases. Waste.

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO | 8 |
| 1.1 Referencial Teórico | 9 |
| 1.1.1 Resíduos orgânicos do café | 9 |
| 1.1.2 Características das Acidobactérias | 10 |
| 1.2 Hipótese | 12 |
| 2 OBJETIVOS | 12 |
| 2.1 Objetivo Geral | 12 |
| 2.2 Objetivos específicos | 12 |
| 3 MATERIAL E MÉTODOS | 12 |
| 3.1 Preparação do Resíduo | 12 |
| 3.2 Cepa Bacteriana | 13 |
| 3.3 Meios de Cultura | 13 |
| 3.3.1 VL-55 | 13 |
| 3.4 Tratamentos | 14 |
| 3.5 Análise Estatística | 14 |
| 3.6 Avaliação da degradação do substrato em meio sólido | 14 |
| 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 15 |
| 4.1 Avaliação do Crescimento | 15 |
| 5 CONCLUSÃO | 20 |
| REFERÊNCIAS | 22 |

1 INTRODUÇÃO

O café, fruto originado na Etiópia, pertence ao gênero *Coffea*, e abrange cerca de 124 espécies reconhecidas. No entanto, as variedades mais comercializadas em escala global na cafeicultura são *Coffea arabica* e *Coffea canephora*, (FERRÃO *et al.*, 2017) as quais são amplamente cultivadas em países tropicais e subtropicais devido a sua qualidade climática favorável (PATAY *et al.*, 2016). Essa adaptação climática permitiu que o café se tornasse uma das bebidas mais consumidas em todo o planeta, transcendendo fronteiras culturais e geográficas e consolidando-se como uma das commodities agrícolas mais importantes globalmente.

No Brasil, a cafeicultura é de suma importância para a economia do país, que se destaca como o maior produtor e exportador do grão. A espécie mais utilizada nas plantações é a *C. arabica*, conhecida por sua qualidade superior. Conforme dados do Conab, a safra de 2024 totalizou 54,2 milhões de sacas beneficiadas em uma área cultivada de 2,23 milhão de hectares, com 50,5 milhões de sacas destinadas à exportação (CONAB, 2025). Os estados brasileiros que são os maiores produtores são, Minas Gerais que ocupa a liderança com cerca de 54,3%, seguida de Espírito Santo (19,7%), São Paulo (9,8%), Bahia (7,5%), Rondônia (4,3%) e Paraná (2,7%) (FERREIRA, 2018).

Apesar do sucesso econômico da cafeicultura brasileira, a indústria enfrenta desafios significativos de sustentabilidade, especialmente na gestão dos resíduos gerados durante o processamento. Da colheita ao grão, cerca de 90% do fruto se transforma em subprodutos como a casca, polpa, pergaminho, casca melosa e película prateada (IRIONDO-DEHOND *et al.*, 2020). Esses resíduos orgânicos são notáveis por conterem potássio (K), um macronutriente essencial que otimiza a absorção de outros nutrientes pelas plantas. Dessa forma, o método de compostagem surge como uma estratégia eficiente para a incorporação desses resíduos no solo, promovendo o aproveitamento e a valorização desse subproduto agroindustrial (NEVES *et al.*, 2016). Contudo, a elevada escala de produção resulta em um volume expressivo de resíduos, o que, na prática, culmina na sua não utilização total. Essa insuficiência no reaproveitamento leva ao descarte inadequado desses efluentes, elevando os problemas ambientais da cadeia produtiva.

O descarte inadequado desses materiais, no ambiente, é um problema ambiental sério, ocasionando a contaminação do solo e água devido a presença de cafeína e

compostos fenólicos, ocasionando um desequilíbrio da microbiota do solo (MACHADO et al. 2023). Para poder diminuir os impactos ambientais, é possível adotar uma nova abordagem para o reaproveitamento sustentável dos resíduos, convertendo-o em um subproduto rentável dada a sua elevada taxa de produção.

Por meio da biotecnologia, esses resíduos podem ser utilizados como substrato nutricional para microorganismos benéficos. Dentre as bactérias de solo abundantes no Cerrado estão as Acidobactérias, que são comumente detectadas em seus solos ácidos e oligotróficos, (ARAUJO *et al.*, 2012). Considerando que é no Cerrado que se concentra uma parcela das lavouras cafeeiras no Brasil, seria interessante a utilização das bactérias nativas desse bioma para a biotransformação dos resíduos em produtos que possam ser reaproveitados. Esse processo não apenas reduz o volume de resíduos, mas também oferece um insumo biológico valioso para a cafeicultura, promovendo uma agricultura mais ecológica e economicamente viável.

1.1 Referencial Teórico

1.1.1 Resíduos orgânicos do café

Os resíduos orgânicos, definidos como materiais de origem biológica resultantes de atividades antrópicas, como restos animais e vegetais (LANA; PROENÇA, 2021) são gerados em diversas etapas do processamento agrícola. No contexto do beneficiamento do café, que sucede a colheita do fruto maduro, esses resíduos são particularmente proeminentes durante o processo de descascamento.

Este processo pode ocorrer por duas vias principais: "Via Úmida" que consiste na lavagem do café por máquinas que removem a casca e são armazenadas em tanques com água para a remoção de sua polpa, antes da secagem. Já a "Via Seca", muito utilizada no Brasil, o café não passa por processo de remoção da casca, o grão recém-colhido vai direto para a secagem (PEREIRA *et al.*, 2000). Durante essa etapa, são gerados resíduos como o epicarpo (casca), o mesocarpo (polpa ou mucilagem) e o endocarpo (pergaminho, casca melosa e película prateada) (NEVES et al., 2016).

As cascas de café destacam-se como o principal subproduto do beneficiamento, representando aproximadamente 50% da massa total do fruto (REZENDE, 2022). Sua composição tem a presença de polissacarídeos, lipídeos, proteínas, cafeína, compostos fenólicos (PALOMINO et al, 2015) e material lignocelulósico, que inclui celulose,

hemicelulose e lignina (RATNADEWI et al., 2019). O grão de café é protegido por camadas que são removidas durante o processo da secagem onde a umidade do fruto é reduzida para 11%. Neste processo, a polpa e a casca externa são removidas, revelando o pergaminho e a casca melosa que possuem uma casca fina e de tonalidade clara envolvendo o grão. (REZENDE, 2022). O interesse crescente no pergaminho e na casca melosa deve-se aos seus valores nutricionais, tornando-os promissores tanto para a suplementação alimentar animal (GOMES, 2001) quanto como fonte de nutrientes para o cultivo de microorganismos.

Os resíduos orgânicos podem ser submetidos a processos de biodegradação pela ação de microrganismos, notadamente as bactérias. Durante este processo, a matéria orgânica serve como substrato nutritivo para esses organismos, resultando na sua decomposição e subsequente transformação em novos subprodutos ou metabólitos. Esta degradação é catalisada por enzimas sintetizadas pelos microrganismos, que se destacam pela capacidade de hidrolisar e despolimerizar os componentes estruturais complexos presentes nos resíduos, como é o caso da celulose, (COLUCCIA, BESAURY, 2023) convertendo-os em compostos de menor peso molecular e maior biodisponibilidade.

1.1.2 Características das Acidobactérias

As acidobactérias constituem um filo bacteriano amplamente distribuído em diversos ecossistemas (PROCÓPIO et al., 2021; KIELAK et al., 2016). Caracterizam-se por serem Gram-negativas, não formadoras de esporos e exibem um metabolismo quimio-heterotrófico. Demonstram preferência por solos ácidos se classificando acidófilas e apresentam crescimento aeróbico ou em condições mesofílicas (KIELAK et al., 2016). Essas bactérias são abundantes em solos, representando 54,9% da microbiota, e em sedimentos (semi)aquáticos, onde correspondem a 20,3%. Estudos sugerem que esse filo apresenta um papel importante para os ciclos biogeoquímicos, podendo ser essenciais para o controle da fertilidade de solos, preparação do crescimento de vegetação e a decomposição de matérias orgânicas (CATÃO *et al.*, 2014; KALAM et al., 2020).

A identificação inicial das acidobactérias ocorreu em 1993, com base na análise de seu gene 16S rRNA (STAKENBRANDT et al., 1993). No entanto, sua associação formal ao filo Acidobactéria foi estabelecida apenas em 1997, e, em 2007, o filo foi

classificado em 26 subdivisões (BARNES et al., 2007; KIELAK et al., 2016). Atualmente, após reconhecimento do nível taxonômico "Filo" pelo "International Committee on Systematics of Prokaryotes" (ICSP) e passou a ser chamado de Acidobacteriota (OREN *et al.*, 2021)

Estudos genômicos em cepas de Acidobacteriota revelaram a presença significativa de genes codificadores de enzimas ativas em carboidratos (CAZymes), as quais desempenham um papel crucial na degradação de carboidratos (COLUCCIA, BESAURY, 2023). Dentre as classes de CAZymes, as glicosídeo hidrolases (GH) exibem a maior prevalência nos genomas de diversas espécies deste filo. Essa característica é de suma importância, pois a atividade catalítica destas enzimas possibilita a decomposição eficiente de compostos orgânicos (GONÇALVES et al., 2025).

As glicosídeo hidrolases que se destacam pela maior quantidade de cópias em genomas de Acidobacteriota da família Acidobacteriaceae, são aquelas responsáveis pela hidrólise de celulose e xilana, os carboidratos mais abundantes do planeta (GONÇALVES et al., 2025). Essa capacidade enzimática é relevante para a biotransformação de resíduos de café que são compostos por celulose e hemicelulose. Dessa forma, a utilização de acidobactérias para o tratamento desses resíduos emerge como uma estratégia essencial.

Apesar de seu potencial biotecnológico, membros do filo Acidobacteriota são notoriamente de difícil cultivo e muitas cepas apresentam lento crescimento. A cepa AB23 foi isolada de solo de Cerrado em meio de cultura contendo xilana como fonte de carbono apresentando crescimento visível em meio sólido apenas após duas semanas de crescimento (CATÃO *et al.*, 2014; GONÇALVES et al., 2025). Assim como em outras Acidobacterias, a cepa AB23 teve seu genoma sequenciado apresentando múltiplas cópias de genes de glicosídeo hidrolases envolvidas na degradação de material lignocelulósico (PINTO., 2017).

Portanto o objetivo da presente pesquisa é analisar a capacidade do crescimento de acidobactéria AB23 em meios onde possuem como fonte de nutrientes os resíduos de café, como a casca melosa e o pergaminho, para poder averiguar a atuação dessas enzimas glicosídeo hidrolases na decomposição da matéria orgânica oriunda do beneficiamento do café. Os resultados contribuirão para a redução da poluição ambiental, mas também a viabilização para a geração de subprodutos economicamente viáveis para a cafeicultura, agregando valor à cadeia produtiva. Com isso o presente

trabalho está associado ao Objetivo de Desenvolvimento Sustentável (ODS) 15 da ONU.

"ODS 15. Vida terrestre - Proteger, recuperar e promover o uso sustentável dos ecossistemas terrestres, gerir de forma sustentável as florestas, combater a desertificação, deter e reverter a degradação da Terra e deter a perda da biodiversidade." (Disponível em: <https://brasil.un.org/pt-br/sdgs/15>).

1.2 Hipótese

Acidobactéria cepa AB23 é capaz de crescer e degradar resíduos lignocelulósicos originados do café.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral: Avaliar o crescimento de Acidobactéria AB23 usando a casca melosa e o pergaminho como fonte de carbono.

2.2 Objetivos específicos:

1. Obter o resíduo em forma biodisponível para uso em meio de cultura
2. Avaliar a toxicidade do resíduo à bactéria AB23
3. Comparar o crescimento bacteriano em concentrações diferentes do inóculo
4. Avaliar a degradação do resíduo em meio de cultura sólido

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Preparação do Resíduo

O fruto do café foi colhido e secado no terreiro pelo grupo de pesquisa "Da semente à Xícara"; sua umidade caiu de 60 % para 11,5 %. Após essa etapa, o fruto é descascado para ser comercializado. É nesse estágio que ocorreu a retirada do

pergaminho e da casca melosa que foi cedida para o presente estudo e, daqui em diante, será referido como "resíduo".

O resíduo foi pulverizado com o auxílio de um cadinho e de nitrogênio líquido, transformando-o em um pó com partículas de tamanho heterogêneo. Esse pulverizado foi usado em meio de cultura na concentração de 0,05 % (m/m).

3.2 Cepa Bacteriana

A bactéria utilizada para o estudo é a AB23, uma acidobactéria isolada de uma amostra do Cerrado (DE CASTRO et al., 2013). O sequenciamento de seu genoma revelou a presença de uma alta prevalência de enzimas hidrolíticas, o que fundamenta sua escolha para as investigações propostas (PINTO., 2017).

3.3 Meios de Cultura

3.3.1 VL-55

Para a análise do crescimento bacteriano, foi empregado o meio VL-55 (SAIT; HUGENHOLTZ; JANSSEN, 2002), cuja formulação é amplamente reconhecida e utilizada no cultivo de Acidobactérias. As concentrações dos componentes deste meio foram precisamente ajustadas em função do volume total a ser preparado. Utilizando como referência 1 litro de meio, serão utilizadas as seguintes quantidades: MgSO_4 0,4 mM), $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (0,4 mM), CaCl_2 (0,6 mM) e MES (3,9 g). Foram adicionados os seguintes micronutrientes: 2 mL de solução de tungstato/selenito (por litro: NaOH, 0,5 g; $\text{Na}_2\text{SeO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 3 mg; $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 4 mg), 2 mL de elementos traço ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) (ácido nitroacético 1,5; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,556; MgSO_4 , 0,5; $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,5; Na_2MoO_4 , 0,24; $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0,1; $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0,1; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,1; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0,01; $\text{AlK}(\text{SO}_4)_2$, 0,01; H_3BO_3 ,) 0,01, vitaminas (por litro: Biotina, 2 mg/L, Ácido fólico 2 mg/L, Piridoxina-HCl 10 mg/L, Tiamina - HCl 5 mg/L, Riboflavina 5 mg/L, Ácido nicotínico 5 mg/L, Ácido pantotênico 5 mg/L, Cianocobalamina 0,1 mg/L e Ácido lipóico 5 mg/L).

Como fonte de carbono foi adicionado xilana (0,05%) ou resíduo (0,05%) e meio foi solidificado com 1,5% de ágar nobre.

3.4 Tratamentos

Os tratamentos investigaram a capacidade de crescimento da cepa AB23 em meio de cultura VL-55 sólido com alteração das fontes de carbono. Foram conduzidos tratamentos experimentais variando suas condições. No Tratamento A, o resíduo foi utilizado como única fonte de carbono, com concentração de 0,05% (m/m). O Tratamento B o controle positivo, empregando xilana a 0,05% (m/m).

As bactérias foram inoculadas e incubadas por um período de três semanas, após o qual foi possível quantificar o seu crescimento que foi avaliado de forma semiquantitativa pelo método de contagem de viáveis, usando o método de diluição em gota. Para tal, realizou-se uma série de diluições seriadas abrangendo o intervalo de 10^{-1} a 10^{-8} para ambos os tratamentos, com cada diluição inoculada em 20 μ L, em triplicada. Cada tratamento foi realizado em duplicata.

3.5 Análise Estatística

A análise se baseou na observação do crescimento bacteriano realizando-se a contagem das Unidades Formadoras de Colônia (UFC). Na ocorrência de crescimento microbiano, foi utilizada a média do número de colônias observadas na diluição que apresentou de 2 a 20 colônias visíveis. A média e o desvio padrão das triplicatas em cada placa foram calculados e, foi empregado o Teste *t* de Welch para a comparação estatística entre as duas amostras independentes: resíduo e xilana.

O objetivo primordial é determinar se existem diferenças significativas nas taxas de crescimento bacteriano induzidas em função da presença de cada um desses substratos.

3.6 Avaliação da degradação do substrato em meio sólido

A avaliação da degradação do substrato foi conduzida pelo método de coloração com Vermelho Congo, visando detectar a hidrólise da celulose presente no meio de cultivo por meio da interação com o corante. Este corante, originalmente da indústria têxtil, possui a capacidade de complexar com compostos celulósicos devido ao alinhamento molecular ao longo das cadeias poliméricas lineares da celulose,

estabelecendo ligações de hidrogênio (YAKUPOVA, et al. 2019). Adicionalmente, o Vermelho Congo atua como um indicador de pH, exibindo coloração violeta ou azul em pH inferior a 3 e vermelha em pH superior a 5,2.

O protocolo, baseado na literatura (TEATHER, R M, and P J Wood. 1982), envolve a cobertura da placa de cultura já desenvolvida com a solução de Vermelho Congo a 0,8% (m/v) e incubação por 15 minutos, seguida pela remoção do excesso e adição de solução de cloreto de sódio (NaCl) 1M para a lavagem e diferenciação por mais 15 minutos, finalizando com a observação e análise das placas.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Avaliação do Crescimento

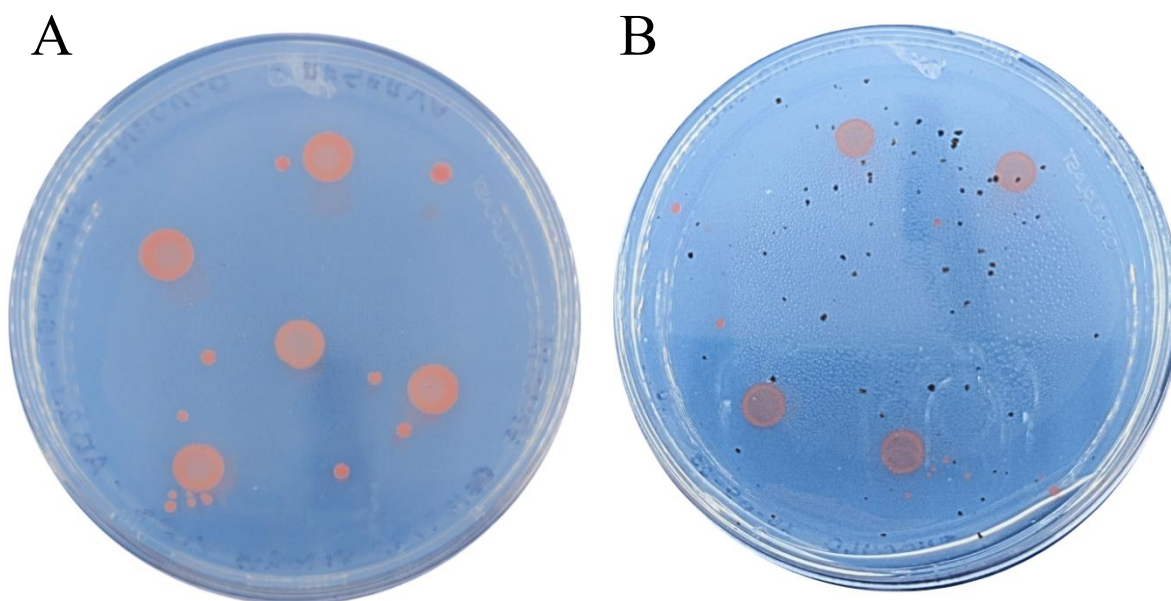
Crescimento foi observado em meio contendo xilana como fonte de carbono após as três semanas de incubação (Figura 1A). Conforme o esperado e já reportado para a cepa AB23 (DE CASTRO et al., 2013). Xilana é a fonte de carbono mais utilizada para o crescimento de acidobactérias sendo considerada evidência para presença e ação de enzimas glicosídeo hidrolases (SAIT; HUGENHOLTZ; JANSSEN, 2002; GONÇALVES et al., 2025; COLUCCIA; BESAURY, 2023).

De forma análoga, os tratamentos que utilizaram resíduos de café especificamente, pergaminho e casca melosa na mesma concentração de 0,05% como única fonte de carbono apresentaram um desenvolvimento microbiano comparável ao do controle positivo (Figura 1B). Este resultado demonstra que apesar da complexidade do resíduo ele não é tóxico para o crescimento da cepa AB23, mas sugere a degradação da matéria orgânica do café. A toxicidade poderia ser causada pela presença dos compostos fenólicos (ALMAJANO et al., 2008). Como o resíduo possui um conjunto de substratos que podem ser usados pela bactéria, como o material lignocelulósico e proteínas é possível que o crescimento seja resultado da ação de enzimas, incluindo CAZYmes (GONÇALVES et al., 2025; COLUCCIA; BESAURY, 2023).

A avaliação da proliferação microbiana, permitiu determinar a ausência de toxicidade do resíduo para a linhagem bacteriana. Diante disso o resíduo demonstrou toxicidade nula para as bactérias, uma vez que o crescimento e a morfologia celular

observados foram equivalentes aos do controle positivo, mesmo com a presença de cafeína e compostos fenólicos (PALOMINO et al, 2015) em sua composição.

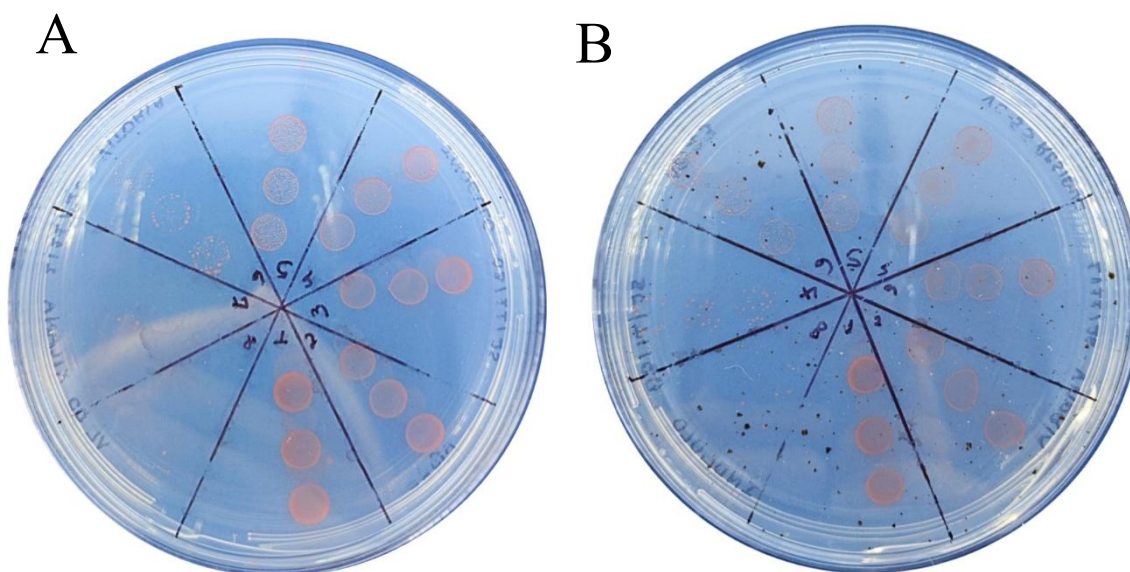
Figura 1: Crescimento de acidobactérias AB23 nos tratamentos A) xilana como fonte de carbono, B) resíduo (pergaminho e casca melosa) como fonte de carbono.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Um ensaio semiquantitativo foi conduzido com o intuito de comparar o crescimento no controle (xilana como fonte de carbono) e no resíduo. Após o período de incubação de três semanas, a formação de colônias foi detectada em todas as concentrações testadas, incluindo a diluição máxima de 10^{-8} tanto no controle quanto no tratamento. (Figura 2)

Figura 2: Crescimento bacteriano em diferentes concentrações do inóculo, A) tratamento com xilana fonte de carbono, B) resíduo fonte de carbono.

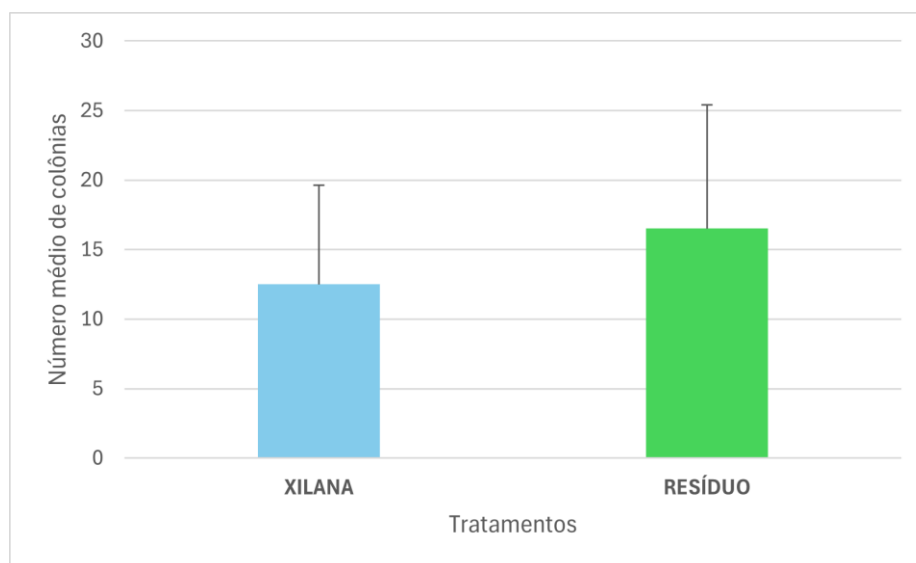


Fonte: Elaborada pelo autor.

A contagem das Unidades Formadoras de Colônia (UFC) foi realizada a partir do crescimento das culturas. A diluição de 10^{-7} foi selecionada como a ideal para a determinação do número de células viáveis no ensaio semiquantitativo, pois possibilitou uma visualização e contagem das colônias individualizadas nas gotas onde o inóculo foi semeado. As diluições inferiores foram excluídas da contagem devido ao excesso de crescimento de colônias, enquanto na diluição de 10^{-8} o desenvolvimento microbiano foi baixo, inviabilizando a contagem de colônias, pela ausência de colônias visíveis.

A partir desta contagem, foi possível calcular a média de crescimento para os dois tratamentos, permitindo a comparação do crescimento das distintas fontes de carbono. O tratamento utilizando xilana como fonte de carbono apresentou uma média de 12,5 UFC com um desvio-padrão de 4,23. Em contrapartida, o tratamento que utilizou o resíduo demonstrou uma média superior de 16,5 UFC e um desvio-padrão de 3,27 (Figura 3), porém não foi detectada diferença estatística entre os dois tratamentos.

Figura 3: Média e desvio padrão de unidades formadoras de colônia (UFC) entre os tratamentos de xilana e resíduo

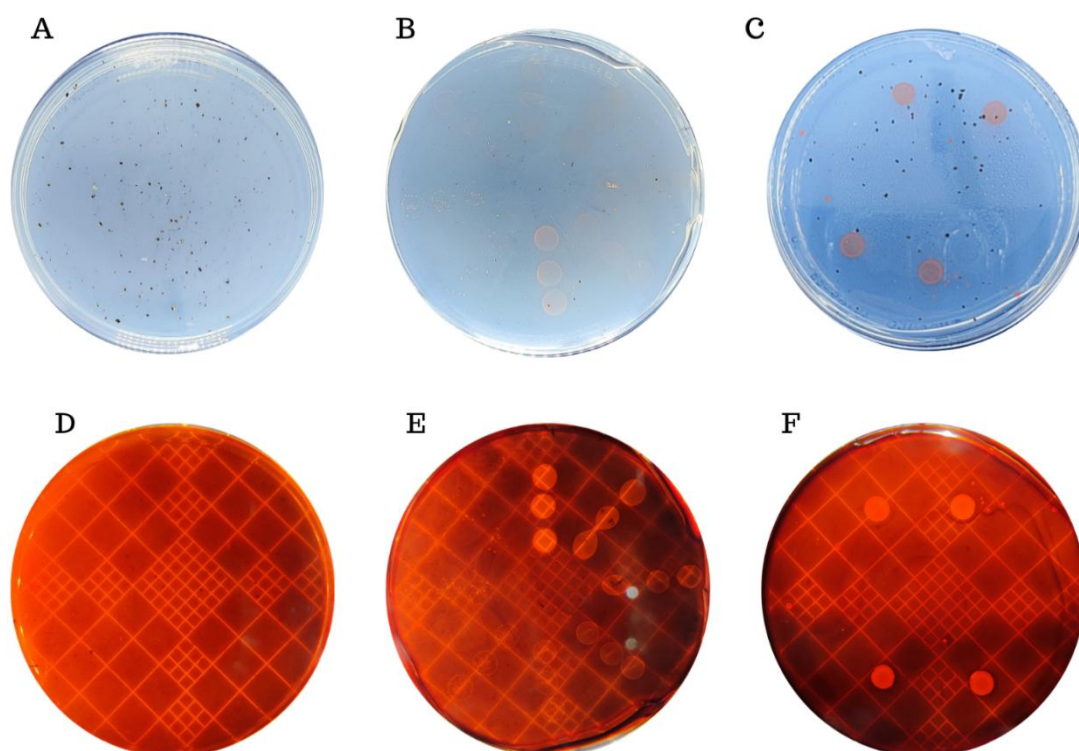


Fonte: Elaborada pelo autor.

Após a coloração, observou-se a formação de zonas de clareamento, onde o corante não se ligou, presente onde a bactéria foi inoculada, não formando halos ao seu redor. Estas regiões são indicativas da hidrólise e consequente degradação da celulose pela ação das Acidobactérias, reafirmando sua capacidade celulolítica (GONÇALVES et al., 2025) (Figura 4).

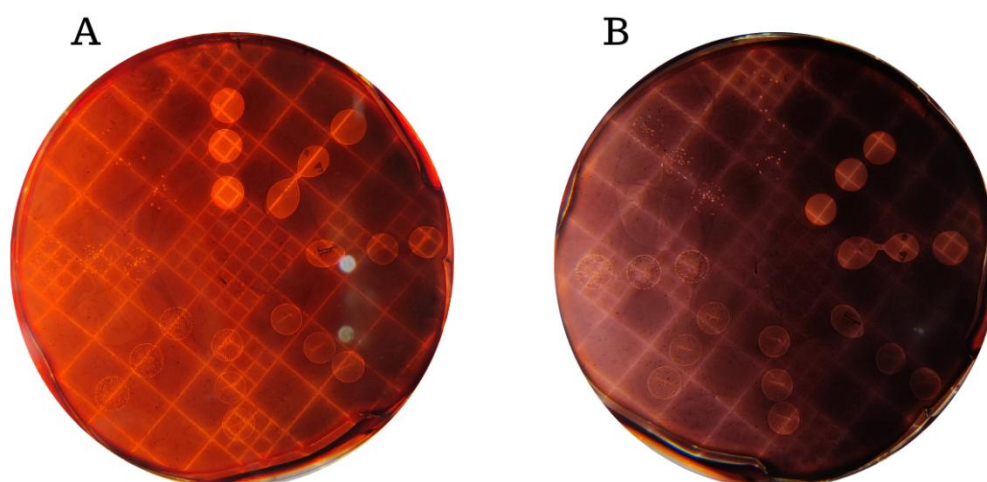
Foi também observado que, após a coloração e o decorrer do tempo de visualização, o meio de cultura, inicialmente vermelho, alterou sua coloração para azul/roxo. Esta mudança cromática sugere uma acidificação do meio, indicando que o pH atingiu um valor abaixo de 3. É importante notar que o meio de cultura VL 55 é caracteristicamente tamponado para um pH inicial de aproximadamente 5,5 (SAIT; HUGENHOLTZ; JANSSEN, 2002) (Figura 5).

Figura 4: Zonas de degradação da celulose presente no meio com resíduo. A) meio antes da coloração sem inóculo, B) meio antes da coloração com inóculo e com diluições, C) meio antes da coloração com inóculo padrão D) meio após a coloração sem inóculo, E) meio após a coloração com inóculo e diluições, F) meio depois da coloração com inóculo padrão.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 5: Avaliação do escurecimento do meio após um tempo da coloração. A) coloração padrão, B) coloração escurecida.



Fonte: Elaborada pelo autor

O resíduo, sendo um composto complexo e com análise química incompleta, contém potencialmente celulose, hemicelulose, proteínas associadas e compostos fenólicos, o que pode fornecer fontes de macro e micronutrientes para o crescimento bacteriano. O crescimento da Acidobactéria AB23 no resíduo de café foi comparável ao

controle positivo (xilana), mas superior ao reportado para celulose pura (CMC, MCC e Avicel) por SOUSA (2025), pois quando uma dessas fontes de celulose foi utilizada no meio de cultura, a acidobactéria AB23 não foi capaz de crescer. Por outro lado, as mesmas fontes de carbono quando combinadas com outros açúcares (glicose, celobiose e lactose) não apenas resultaram em crescimento como na formação de halo de degradação. Assim, é provável que o resíduo, por ser um composto complexo, tenha fornecido uma combinação de açúcares e outros nutrientes que permitiu o crescimento e a formação de halos de degradação.

Adicionalmente, os compostos fenólicos presentes no resíduo podem estar desempenhando um papel positivo no crescimento da bactéria. Embora os compostos fenólicos tenham potencial antimicrobiano (ALMAJANO *et al.*, 2008), o estudo de GARCÍA-RUIZ *et al.* (2008) indica que eles podem atuar tanto como inibidores quanto como ativadores de bactérias, dependendo de sua estrutura química e concentração. É plausível que, no resíduo de café, os compostos fenólicos estejam em concentrações favoráveis ou possuam estruturas que, ao invés de serem tóxicas, auxiliam no crescimento da Acidobactéria AB23 e na degradação da celulose.

Diante desses dados, e considerando o halo de degradação mais evidente no resíduo em comparação ao halo fraco observado por SOUSA (2025) com CMC, fica clara a necessidade de estudos mais aprofundados sobre a composição química dos resíduos. Tais análises são cruciais para quantificar os componentes e esclarecer a sinergia entre celulose, hemicelulose, proteínas e compostos fenólicos que, em conjunto, promovem o crescimento e a degradação lignocelulósica eficiente pela cepa AB23.

5 CONCLUSÃO

Diante dos resultados experimentais, a utilização do resíduo de café como substrato alternativo não exibiu toxicidade para as Acidobactérias, assegurando um crescimento microbiano equiparado e homogêneo em comparação com o controle positivo (xilana). A cepa de Acidobactéria AB23 demonstrou capacidade proliferativa utilizando os resíduos do café como fonte de carbono primária. Sobre a análise estatística comparativa descartamos a possibilidade de um melhor crescimento bacteriano no meio contendo o resíduo, onde foi revelado uma diferença não

significativa entre os tratamentos, porém esses dados revalida a viabilidade da incorporação desses subprodutos como substratos alternativos em bioprocessos. A competência degradativa dos componentes do resíduo foi confirmada pelo ensaio de coloração com Vermelho Congo, no qual se verificou a formação de halos de clareamento, que são indicativos da hidrólise da celulose. Este achado corrobora a ação de enzimas glicosídeo hidrolases (CAZymes), que estão codificadas no genoma da Acidobactéria AB23, atestando sua aptidão metabólica para material lignocelulósico.

As perspectivas futuras consistem em realizar novos ensaios experimentais com o intuito de caracterizar de forma mais aprofundada o desenvolvimento das Acidobactéria. Propõe-se a realização de ensaios de crescimento em períodos mais longos, como semanais, para monitorizar e avaliar detalhadamente a taxa de desenvolvimento a capacidade de crescimento e a utilização de meio de cultura líquido.

Em contraste com a metodologia empregada neste trabalho, que utilizou o resíduo na forma triturada, sugere-se a aplicação do resíduo na sua forma natural (não processada). Esta abordagem visa simular as condições reais de disponibilidade do material nas unidades agrícolas para poder avaliar se as acidobactérias conseguem utilizar como sua fonte de carbono. A caracterização química dos resíduos de café é essencial e indispensável. Tais análises são cruciais para quantificar com exatidão as porcentagens de nutrientes e identificar todos os componentes químicos ali presentes. A obtenção desses dados permitirá um entendimento mais sólido do papel do resíduo como substrato e de como ele afeta o metabolismo e o crescimento das Acidobactéria.

REFERÊNCIAS

ALMAJANO, M. P.; CARBO, R.; JIMÉNEZ, J. A. L.; GORDON, M. H. Antioxidant and antimicrobial activities of tea infusions. **Food Chemistry**, n. 108, p. 55–63, 2008

ARAÚJO, J. F. et al. Characterization of Soil Bacterial Assemblies in Brazilian Savanna-Like Vegetation Reveals Acidobacteria Dominance. **Microbial Ecology**, v. 64, n. 3, 2012.

BAQUETA, M. R. et al. Extração e caracterização de compostos do resíduo vegetal casca de café. **Brazilian Journal of Food Research**, Campo Mourão, v. 8, n.2, p. 68-88, abr./jun. 2017. Disponível em: <https://periodicos.utfpr.edu.br/rebrapa>

BARNS, S. M. et al. Acidobacteria phylum sequences in uranium-contaminated subsurface sediments greatly expand the known diversity within the phylum. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 73, n. 9, 2007.

CATÃO, E. C. P.; LOPES, F. A. C.; ARAÚJO, J. F.; DE CASTRO, A. P.; BARRETO, C. C.; BUSTAMANTE, M. M. C.; QUIRINO, B. F.; KRÜGER, R. H. Soil acidobacterial 16s rRNA gene sequences reveal subgroup level differences between savanna-like cerrado and atlantic forest Brazilian biomes. **International Journal of Microbiology**, v. 2014, 2014.

COLUCCIA, M., BESAURY, L. Membros de acidobactérias abrigam um repertório abundante e diverso de enzimas ativas em carboidratos (cazima) e proteossoma secretado, fatores-chave para uma potencial degradação eficiente da biomassa. **Mol Genet Genomics**, v. 298, 1135–1154 p. 2023. <https://doi.org/10.1007/s00438-023-02045-x>.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira de café**, Brasília, DF, v.11, n. 4, quarto levantamento, janeiro 2025.

DE CASTRO, V. H. L.; SCHROEDER, L. F.; QUIRINO, B. F.; KRUGER, R. H.; BARRETO, C. C. Acidobacteria from oligotrophic soil from the Cerrado can grow in a wide range of carbon source concentrations. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 59, n. 11, p. 746–753, nov. 2013.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). RESÍDUOS orgânicos. Embrapa, 2021. Disponível em: <https://www.embrapa.br/hortalica-nao-e-so-salada/secoes/residuos-organicos>. Acesso em: 19 jul. 2025.

FERRÃO, R. G.; FONSECA, A. F. A. da.; FERRÃO, M. A. G.; DE MUNER, L. H. 2 ed. **Café Conilon**. Vitória, ES: Incaper, 2017.

FERREIRA, L. T. **Seis maiores estados produtores dos Cafés do Brasil atingiram 98% do volume da safra de 2017**. EMBRAPA, 4 jan. 2018. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/31081641/seis-maiores-estados-produtores-dos-cafes-do-brasil-atingiram-98-do-volume-da-safra-de-2017>. Acesso em: 28 jul. 2025.

GARCÍA-RUIZ, A. BARTOLOMÉ, B. MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ, A, J. PUEYO, E. MARTÍN-ÁLVAREZ, J. MORENO-ARRIBAS, M, V. Potential of phenolic compounds for controlling lactic acid bacteria growth in wine. **Food Control**. vol 19, pg 835-841. 2008. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2007.08.018>.

GOMES, F. A. **Casca de café Melosa como fonte de fibra na ração de coelhos em crescimento**. 2001. 66 p. Dissertação (Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção Animal) - Universidade Federal de Lavras, 2001.

GONÇALVES, O. S. et al. "From cultivation challenges of Acidobacteriota to biotechnological promises - unveiling what is needed to fully harness their potential." **World journal of microbiology & biotechnology**. 25 jun. 2025, doi:10.1007/s11274-025-04433-4.

IRIONDO-DEHOND, A; IRIONDO-DEHOND, M; DEL CASTILLO; MD. Applications of Compounds from Coffee Processing By-Products. **Biomolecules**. 2020 Aug 21;10(9):1219. doi: 10.3390/biom10091219.

JANSSEN, P. H. Identifying the dominant soil bacterial taxa in libraries of 16S rRNA and 16S rRNA genes. **Applied and Environmental Microbiology**, 2006.

KALAM, S et al. Recent Understanding of Soil Acidobacteria and Their Ecological Significance: A Critical Review. **Frontiers in microbiology**. vol. 11 580024. 30 Oct. 2020, doi:10.3389/fmicb.2020.580024.

KIELAK, A. M.; BARRETO, C. C.; KOWALCHUK, G. A.; VAN VEEN, J. A.; KURAMAE, E. E. The ecology of Acidobacteria: moving beyond genes and genomes. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, n. MAY, p. 744, 31 maio 2016.

MACHADO M, Espírito Santo L, Machado S, Lobo JC, Costa ASG, Oliveira MBPP, Ferreira H, Alves RC. Bioactive Potential and Chemical Composition of Coffee By-Products: From Pulp to Silverskin. **Foods**. 2023 Jun 13;12(12):2354. doi: 10.3390/foods12122354.

MUSHINSKI, R. M; ZHOU Y; GENTRY, T. J, BOUTTON, T. W (2018). Bacterial metataxonomic profile and putative functional behavior associated with C and N cycle processes remain altered for decades after forest Harvest **Soil Biol. Biochem.** v. 119, 184–193 p. doi: 10.1016/j.soilbio.2018.01.008.

NEVES, T, V, G; SILVA, M, V. **Cascas Residuais de Café Orgânico:** composição química, potencial antioxidante, fatores antinutricionais e aplicação tecnológica. 2016. 25 p. Dissertação (Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos) Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, 2016.

OREN, A; GARRITY, G. M. Valid publication of the names of forty-two phyla of prokaryotes. **Int J Syst Evol Microbiol.** 2021

PALOMINO GARCÍA, L. R.; DEL BIANCHI, V. L. Capacidade antioxidante em resíduos da indústria cafeeira. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 18, n. 4, p. 307–313, out. 2015.

PATAY, É. B.; BENCSIK, T.; PAPP, N. Phytochemical overview and medicinal importance of *Coffea* species from the past until now. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, [s. l.], v. 9, n. 12, p. 1127-1135, dez. 2016. DOI: 10.1016/j.apjtm.2016.11.008.

PEREIRA, R. de C.A.; SOUZA, J.M.L.; AZEVEDO, K. de S.; SALES, F. Obtenção de café com qualidade no Acre. Rio Branco. Embrapa Acre, 2000. 27p

PINTO, Otávio Henrique Bezerra. **Caracterização taxonômica de *Occallatibacter savannae* AB23 e avaliação enzimática e pigmentos de acidobacteria: um enfoque biotecnológico**. Dissertação (Programa Stricto Sensu em Ciências Genômicas e Biotecnologia) - Universidade Católica de Brasília, Brasília, 2017.

PROCÓPIO, L., BARRETO, C. The soil microbiomes of the brazilian cerrado *J Soils Sediments* 21, 2327–2342 (2021). <https://doi.org/10.1007/s11368-021-02936-9>.

RATNADEWI, A, A, I; MASRUROH, H; Suwardiyanto; SANTOSO, A, B. Aplicação de resíduos de casca de café como matéria-prima para produção de xilooligosacarídeos. **Ciência do Café - ISSN 1984-3909**. v. 4, pág. 446–454, 2019. Disponível em: <https://coffeescience.ufla.br/index.php/Coffeescience/article/view/1610>. Acesso em: 21 jul. 2025.

REZENDE, J, A. **Aplicação do resíduo agroindustrial pergaminho do café como substrato na fermentação submersa para a produção de proteases por *Bacillus sp. SMIA-2***. 2022. 35 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2022.

SIKORSKI, J; et al. The Evolution of Ecological Diversity in Acidobacteria. **Frontiers in microbiology**. vol. 13 715637. 2 Feb. 2022, doi:10.3389/fmicb.2022.715637.

SAIT, M.; HUGENHOLTZ, P.; JANSSEN, P. H. Cultivation of globally distributed soil bacteria from phylogenetic lineages previously only detected in cultivation-independent surveys. **Environmental Microbiology**, v. 4, n. 11, p. 654–666, 9 dez. 2002.

SOUSA, T. G. G. IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO in silico E in vitro DE CELULASES EM BACTÉRIAS DO FILO ACIDOBACTERIOTA.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-graduação em Biotecnologia. Patos de Minas, 2025.

STACKEBRANDT, E.; LIESACK, W.; GOEBEL, B. M. Bacterial diversity in a soil sample from a subtropical Australian environment as determined by 16S rDNA analysis. **The FASEB Journal**, v. 7, n. 1, p. 232–236, jan. 1993.

TEATHER, R M, and P J Wood. “Use of Congo red-polysaccharide interactions in enumeration and characterization of cellulolytic bacteria from the bovine rumen.” **Applied and environmental microbiology** vol. 43,4 (1982): 777-80. doi:10.1128/aem.43.4.777-780.1982

VALLONE, M, M. FERNANDA, A, G. **Casca de café (Coffea arabica L.) tratada com óxido de cálcio: Digestibilidade e desempenho de cordeiros.** 2009. 88 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia, área de concentração em Nutrição de Ruminantes) – Universidade Federal de Lavras, 2009.

YAKUPOVA, E, I. BOBYLEVA, L, G. VIKHLYANTSEV, I, M. BOBYLE, A, G. Congo Red and amyloids: history and relationship. **Bioscience Reports**. 2019; 39(1):BSR20181415. doi: 10.1042/BSR20181415.