

## Efeito da adição de borra de café fresca e compostada na atividade antioxidante de alface

T. Delgado<sup>1,2</sup>, A. Ferreira<sup>1</sup>, T. Gomes<sup>1</sup>, J.A. Pereira<sup>1</sup>, P. Baptista<sup>1</sup>, S. Casal<sup>2</sup> e E. Ramalhosa<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Mountain Research Centre (CIMO), School of Agriculture – Polytechnic Institute of Bragança, Campus Sta Apolónia, Apartado 1172, 5301-855 Bragança, Portugal, e-mail: [elsa@ipb.pt](mailto:elsa@ipb.pt)

<sup>2</sup> REQUIMTE/Laboratório de Bromatologia e Hidrologia, Departamento de Ciências Químicas, Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto, Rua de Jorge Viterbo Ferreira, n°228, 4050-313 Porto, Portugal

### Resumo

O café é um dos produtos agrícolas de maior importância no comércio mundial, sendo maioritariamente produzido nas regiões tropicais e consumido, principalmente, na Europa e Estados Unidos da América. Ao consumo elevado de café encontra-se associado a produção de resíduos de baixo valor. A reutilização de resíduos do café tem sido uma das prioridades dos países produtores, tanto por razões ecológicas como económicas e sociais. As potencialidades do aproveitamento da borra de café têm sido pouco exploradas. Nesse sentido no presente trabalho avaliou-se os efeitos da aplicação da borra de café, compostada e não compostada, e da sua concentração nas propriedades biológicas de plantas de alface (*Lactuca sativa* L.).

Estudaram-se dois substratos para o cultivo das plantas: borra de café fresca e borra de café compostada, ambos misturados com terra vegetal em diversas proporções. Após obtenção de extratos das alfaces determinou-se a capacidade redutora total (CRT), o efeito bloqueador do radical livre de DPPH e o poder redutor.

Em relação à aplicação de borra de café no cultivo de alface, verificou-se que ao usar borra de café compostada, o efeito bloqueador do radical livre DPPH e o poder redutor para essas plantas, foram semelhantes aos determinados para o controlo, independentemente da concentração em borra de café utilizada. Pelo contrário, foi obtida maior atividade antioxidante em alfaces cultivadas em borra de café fresca, principalmente para as concentrações de 15 e 20% (v/v). Estes resultados indicam que o uso de elevadas concentrações de borra de café fresca pode funcionar como um indutor de stress, originando uma maior produção de compostos com atividade antioxidante.

Palavras chave: Borras de café; Alface; Atividade antioxidante; Compostagem.

### Abstract

Coffee is one of the most important agricultural products produced mostly in tropical regions and consumed in Europe and USA. With the high consumption of coffee it is associated the production of low-value residues. The reuse of coffee wastes has been one of the priorities of the producing countries, both for ecological reasons, as well as economic and social issues. Few studies have been performed until now on the potential of exploitation of coffee grounds. In this way the present study evaluated the effects of applying coffee grounds, composted and non-composted, and the effect of the concentration on the biological properties of lettuce (*Lactuca sativa* L.).

Two substrates were used: fresh coffee grounds and composted coffee grounds, both mixed with plain topsoil in different concentrations. Total reducing capacity (TRC), blocking effect of DPPH free radical and reducing power were evaluated on lettuce extracts.

Regarding application of coffee grounds in lettuce production, it was observed that when using composted coffee grounds, the blocking effect of DPPH free radical and reducing power of those plants were similar to the ones determined for control samples, regardless of the coffee grounds concentration. On contrary, higher antioxidant activity was obtained in lettuce grown in the presence of fresh coffee grounds, especially for the 15 and 20% (v/v) concentrations. These results show that high concentrations of fresh coffee grounds may induce stress in plants, yielding a higher production of compounds with antioxidant activity.

Keywords: Coffee grounds; Lettuce; Antioxidant activity; Composting.

## Introdução e Objetivos

Estudos realizados até ao momento indicam que somente 6% da colheita de café é utilizada na preparação da bebida. Além dos resíduos decorrentes da lavagem, despolpagem e secagem do fruto do cafeeiro, no processo de obtenção da bebida de café é gerado um resíduo final, a borra de café. A reutilização de resíduos do café tem sido uma das prioridades dos países produtores, tanto por razões ecológicas como económicas e sociais. Entre outros, encontra-se já descrita a utilização na produção de cogumelos, biogás, composto/vermicomposto e de biodiesel.

A utilização de borra de café na agricultura doméstica é uma prática muito mencionada, mas existe pouca evidência científica da sua efetividade ou mesmo segurança. Atualmente, não há referência a nenhum estudo detalhado do efeito da aplicação da borra de café na agricultura (culturas, solo e ambiente), como fertilizante. Sendo a borra uma excelente fonte de nutrientes minerais e de compostos bioativos (cafeína, compostos fenólicos), é importante avaliar a efetividade da sua utilização para melhorar as características nutricionais e bioativas dos vegetais produzidos, dando assim suporte a um destino sustentável a este resíduo orgânico, reduzindo simultaneamente o seu impacto ambiental e de certa forma melhorando o ecossistema agrícola.

Nesse sentido no presente trabalho avaliou-se os efeitos da aplicação da borra de café, compostada e não compostada, e da sua concentração nas propriedades biológicas, designadamente antioxidantes, de plantas de alface (*Lactuca sativa* L.). Escolheu-se a alface como planta modelo para este estudo por apresentar um crescimento rápido, atingindo em poucos meses a fase adulta, e por ser uma das espécies hortícolas com maior produção a nível mundial (cerca de 23 milhões de toneladas por ano).

## Material e Métodos

### 1. Preparação das amostras

A alface utilizada no presente estudo foi a variedade comercial Quatro Estações, cultivada no complexo de estufas da Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Bragança. Sucintamente, foram usados dois substratos para o cultivo das plantas: um composto por terra vegetal e borra de café fresca e outro substrato composto por terra vegetal e borra de café compostada. Para cada um dos substratos foram estudadas diferentes concentrações em borra de café, tanto em fresco como compostada, designadamente de 0%, 2,5%, 5%, 10%, 15% e 20%.

Após 39 dias de desenvolvimento das plantas, as mesmas foram colhidas. O material fresco (parte aérea da planta) foi posto a secar em placas de Petri de vidro em estufa ventilada (Memmert) a 60 °C, até peso constante. Após 3 dias de secagem, as plantas foram trituradas (Moulinex, Modelo Depose, Type D56), tendo sido armazenadas em Tubos Falcon de 50 mL até à análise da actividade antioxidante, devidamente identificadas e protegidas da luz.

### 2. Condições de Extração

Utilizou-se metanol a 30% (v/v) a 60 °C durante 60 minutos, na proporção de 1/25 (g matéria seca/mL), na preparação dos extratos, segundo o método descrito por Gomes et al. (2013). De seguida, filtraram-se as soluções através de papel de filtro Whatman nº42. Todas as experiências efectuadas foram realizadas em triplicado.

Nos extratos obtidos determinou-se a Capacidade Redutora Total, o Efeito Bloqueador do Radical Livre de DPPH e o Poder Redutor.

### 3. Avaliação da Capacidade Redutora Total e da Atividade Antioxidante

#### a. Capacidade Redutora Total

A Capacidade Redutora Total (CRT) dos extratos de alface foi determinada pelo método colorimétrico de Folin-Ciocalteu, descrito por Singleton and Rossi (1965). Em mais pormenor, a 1 mL de solução de extrato foi adicionado 1 mL de reagente de Folin Ciocalteu. Após três minutos, foi adicionado 1 mL de solução saturada de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  e 7 mL de água destilada. A reação foi mantida no escuro por 90 minutos, sendo depois a absorvância lida a 725 nm (UV-Vis espectrofotómetro Thermo Electron Corporation Genesys 10). Simultaneamente, foram preparadas várias soluções padrão de ácido gálico (0.01 a 0.4 mmol/L) de forma a obter a curva de calibração. Os resultados foram expressos em mg equivalentes de ácido gálico / g alface fresca.

#### b. Efeito Bloqueador do Radical Livre DPPH

A capacidade sequestradora do radical livre DPPH (%DPPH) foi determinada segundo o método de Hatano et al. (1988). A 0.3 mL de extrato adicionaram-se 2.7 mL de uma solução contendo radicais DPPH ( $6 \times 10^{-5}$  mol/L). Após agitação, a mistura foi colocada no escuro durante uma hora. Após esse período, determinaram-se as absorvâncias a 517nm (Espectrofotómetro UV-Vis da Thermo Electron Corporation Genesys 10).

O efeito bloqueador do radical livre DPPH foi avaliado através da seguinte expressão (Equação 1):

$$\text{Efeito Bloqueador do Radical DPPH (\%)} = [(A_{\text{DPPH}} - A_S) / A_{\text{DPPH}}] \times 100 \text{ (Equação 1)}$$

, onde  $A_S$  é a absorvância da solução quando um volume de extrato de alface foi adicionado, e  $A_{\text{DPPH}}$  a absorvância da solução de DPPH (controlo). Na determinação foram utilizadas diferentes concentrações de extrato de alface, o que permitiu determinar o  $\text{EC}_{50}$ , que corresponde à concentração que origina um efeito bloqueador do radical livre DPPH igual a 50%.

#### c. Poder Redutor

O poder redutor foi determinado de acordo com o método de Oyaizu (1986). À solução de extrato, 1 mL, adicionou-se 2.5 mL de tampão fosfato de sódio 0.2 M (pH 6.6) e 2.5mL de ferricianeto de potássio a 1% (m/v). Após agitação, a mistura foi colocada num banho termostatizado a 50 °C durante 20 minutos. De seguida, adicionou-se 2.5 mL de ácido tricloroacético a 10% (m/v) e agitou-se. Transferiu-se 2.5 mL da solução para um tubo de ensaio e adicionaram-se 2.5 mL de água destilada e 0.5 mL de  $\text{FeCl}_3$  a 0.1% (m/v). Leu-se a absorvância a 700 nm. Diferentes concentrações das soluções de extração foram preparadas de forma a calcular-se o  $\text{EC}_{50}$ , o qual é igual ao valor da concentração que origina uma absorvância de 0.5.

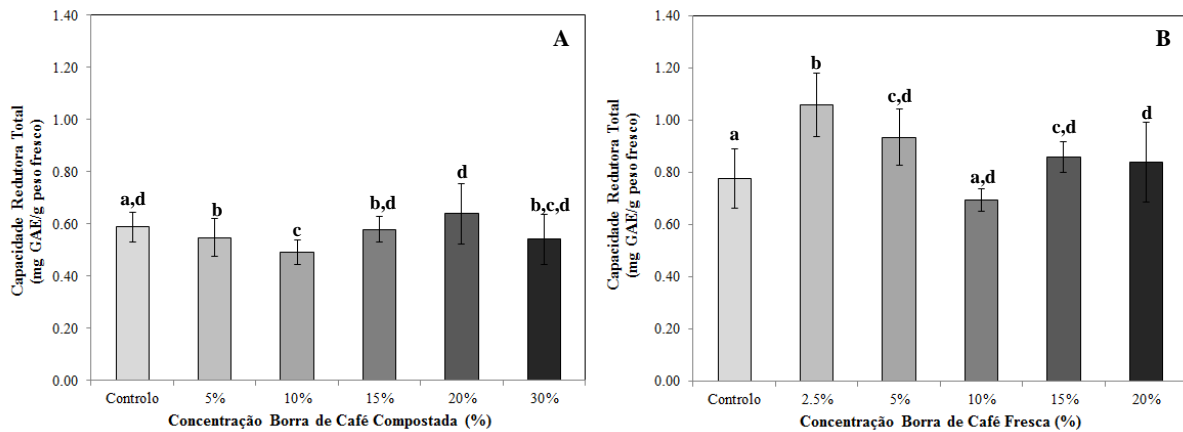
## Resultados e Discussão

No presente trabalho pretendeu-se avaliar o efeito da adição de borra de café fresca e compostada na capacidade redutora total e na atividade antioxidante de alfases. A atividade antioxidante foi avaliada pelo Efeito Bloqueador do Radical Livre DPPH e Poder Redutor.

### 1. Capacidade Redutora Total

Os resultados obtidos para a capacidade redutora total encontram-se descritos na Figura 1. Verificou-se que ao usar borra de café compostada (Figura 1A), a capacidade redutora total dos extractos de alface foram semelhantes à do controlo, não se tendo verificado diferenças entre as concentrações de borra de café usadas, com a exceção das concentrações de 5 e 10% (v/v). Pelo contrário, no substrato constituído por borra fresca, observaram-se maiores diferenças nas alfases produzidas com diferentes concentrações de borra de café fresca, registando-se uma superior capacidade redutora total nas concentrações de borra de café mais baixas (2.5 e 5%). O valor registado na concentração de 2.5%

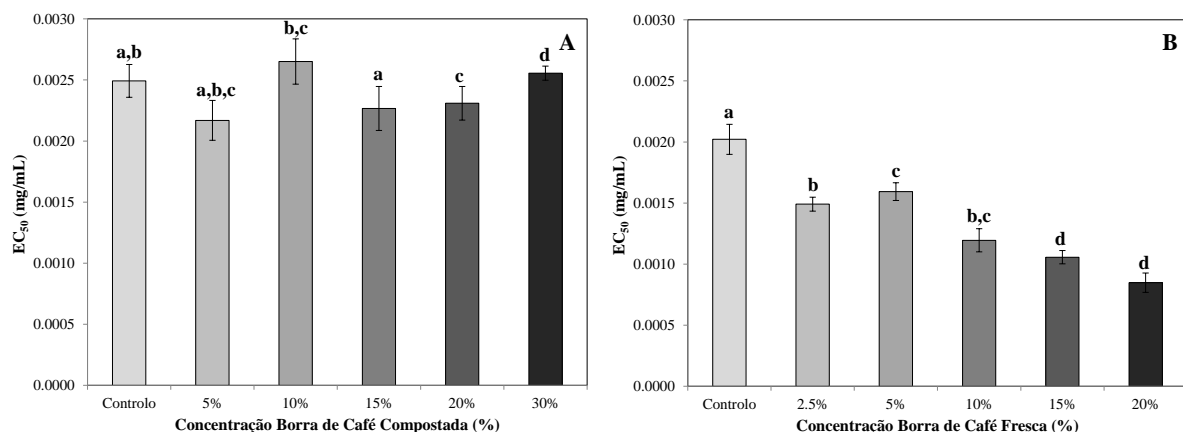
(v/v) foi estatisticamente diferente dos restantes. Ao comparar os resultados obtidos entre a borra compostada e a fresca, maiores valores médios de capacidade redutora total foram obtidos em plantas cultivadas em borra fresca.



**Figura 1. Capacidade Redutora Total (mg equivalentes de ácido gálico/g alface fresca), determinada em alface cultivada em terra vegetal e borra compostada (A) e substrato de terra vegetal e borra fresca (B) com diferentes concentrações de borra de café.**

## 2. Efeito Bloqueador do Radical Livre DPPH

Relativamente aos resultados do Efeito Bloqueador do Radical Livre DPPH, verificou-se que os valores de  $EC_{50}$  relativos aos extratos das plantas cultivadas na presença de borra de café compostada (Figura 2A) foram semelhantes aos do controlo, com exceção das concentrações de 20 e 30%. No que diz respeito às plantas cultivadas em substratos de borra de café fresca (Figura 2B), verificou-se uma diminuição no valor médio do valor do  $EC_{50}$  do Efeito Bloqueador do Radical Livre DPPH à medida que a concentração em borra de café fresca aumentou.



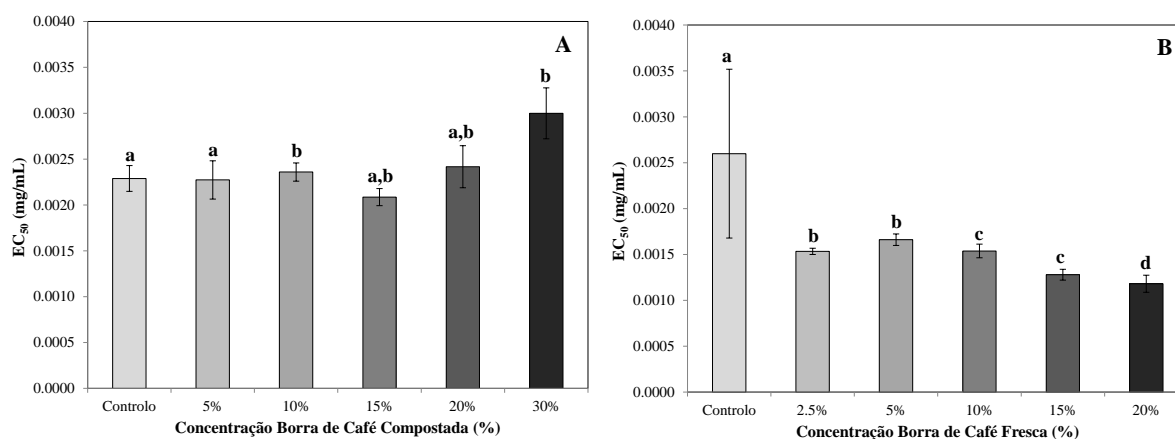
**Figura 2. Valores de  $EC_{50}$  do Efeito Bloqueador do Radical Livre do DPPH (mg alface fresca/mL), determinada para alface cultivada em terra vegetal e borra de café compostada (A) e substrato de terra vegetal e borra de café fresca (B) para diferentes concentrações de borra de café.**

As menores médias de  $EC_{50}$  foram determinadas para as concentrações de 15 e 20% (v/v) de borra de café fresca (Figura 2B).

De um modo geral, os extratos obtidos a partir de alface cultivada em borra de café fresca foram os que apresentaram maior atividade antioxidante, traduzida nos menores valores de  $EC_{50}$ . Além disso, foram as alfaces produzidas com 15 e 20% (v/v) de borra fresca, aquelas que apresentaram a maior atividade antioxidante, indicando que o uso de borra de café fresca poderá acarretar a formação de compostos bioativos. Estes resultados podem resultar do facto das plantas, em geral, produzirem compostos fenólicos como resposta a um stress (mecanismo de defesa) (Hossain et al., 2010). Desse modo, o uso de elevadas concentrações de borra de café fresca pode ter funcionado como um indutor de stress, tendo originado uma maior produção de compostos com atividade antioxidante.

### 3. Poder Redutor

Os resultados referentes ao Poder Redutor, evidenciaram que os  $EC_{50}$  determinados para as plantas cultivadas na presença de borra de café compostada foram semelhantes ao controlo (Figura 3A), com a exceção das concentrações de 10 e 30% (v/v).



**Figura 3. Valores de  $EC_{50}$  do Poder Redutor (mg alface fresca/mL), determinada para alface cultivada em terra vegetal e borra de café compostada (A) e substrato de terra vegetal e borra de café fresca (B) para diferentes concentrações de borra de café.**

Também foi nas alfaces cultivadas em borra de café compostada (Figura 3A) onde os maiores valores de  $EC_{50}$  foram determinados face aos obtidos com borra de café fresca (Figura 3B), indicando uma menor atividade antioxidante nas primeiras plantas. Pelo contrário, as alfaces cultivadas em borra de café fresca, e principalmente as concentrações de 15 e 20% (v/v), foram as que registaram os menores valores de  $EC_{50}$ , indicativos de uma maior atividade antioxidante.

### Conclusões

Em relação ao uso de borra de café no cultivo de alface, verificou-se que ao usar borra de café compostada, a capacidade redutora total dos extractos de alface foi semelhante à do controlo, não se tendo verificado grandes diferenças entre as várias concentrações de borra de café usadas. Pelo contrário, nas alfaces produzidas com diferentes concentrações de borra fresca, registou-se uma capacidade redutora total ligeiramente superior nas concentrações de borra de café mais baixas. Relativamente aos resultados do Efeito Bloqueador do Radical Livre DPPH e do Poder Redutor, verificou-se que os extratos das plantas cultivadas em substratos de borra de café compostada foram semelhantes. Pelo contrário, menores valores de  $EC_{50}$  para o Efeito Bloqueador do Radical Livre DPPH e Poder Redutor, foram obtidos em alfaces cultivadas em borra de café fresca, e principalmente

para as maiores concentrações, indicando uma maior atividade antioxidante nessas alfaces. Estes resultados indicam que o uso de elevadas concentrações de borra de café fresca pode funcionar como um indutor de stress, originando uma maior produção de compostos com atividade antioxidante.

### Agradecimentos

Os autores agradecem à FCT o financiamento do projeto PTDC/AGR-AAM/102447/2008.

### Bibliografia

- Gomes, T., Delgado, T., Ferreira, A., Pereira, J.A., Baptista, P., Casal, S., and Ramalhosa, E. (2013). Application of Response Surface Methodology for obtaining lettuce (*Lactuca sativa* L.) by-products extracts with high antioxidative properties. *Industrial Crops and Products*, **44**, 622-629.
- Hatano, T., Kagawa, H., Yasuhara, T., and Okuda, T. (1988). Two new flavonoids and other constituents in licorice root: their relative astringency and radical scavenging effects. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **36**, 2090-2097.
- Hossain, M. B., Barry-Ryan, C., Martin-Diana, A. B., and Brunton N. P. (2010). Effect of drying method on the antioxidant capacity of six Lamiaceae herbs. *Food Chemistry* **123**, 85-91.
- Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reactions: Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*, **44**, 307-315.
- Singleton, V. L., and Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* **16**, 144-158.