

Efeito da fermentação fúngica no teor de compostos fenólicos em casca de café robusta

The effect of fungal fermentation in phenolics content in robusta coffee husk

Lady Rossana Palomino García^{1*}; Vanildo Luiz Del Bianchi²

Resumo

A casca de café é um subproduto abundante gerado pela indústria cafeeira, que pode ser usado para a produção de compostos fenólicos com alto valor agregado. Na atualidade, este resíduo não possui utilização comercial, devido à presença de compostos antinutricionais e é retornado ao solo ou queimado. O objetivo deste trabalho foi a avaliação do teor de compostos fenólicos na casca de café Robusta, a adequação deste resíduo como substrato para processos fermentativos, assim como, a avaliação da influência da fermentação fúngica em estado sólido na obtenção de compostos fenólicos a partir desse resíduo. Foi estudado o uso de diferentes solventes na extração dos polifenóis. O teor de compostos fenólicos na casca de café variou desde 96,9 até 159,5 mg de ácido gálico (AG)·g⁻¹ substrato dependendo do solvente usado. O melhor solvente foi a acetona portanto, o mesmo foi selecionado para as extrações. Foi avaliado o efeito da fermentação em estado sólido na liberação dos compostos fenólicos, usando o fungo filamentososo *Penicillium purpurogenum*. O conteúdo de fenólicos totais aumentou de 159,5 até 243,2 mg AG·g⁻¹ substrato por efeito da fermentação em estado sólido.

Palavras-chave: *Coffea canephora*, compostos bioativos, fermentação em estado sólido, *Penicillium purpurogenum*

Abstract

Coffee husk is an abundant by-product generated by the coffee industry and it can be used for the production of value-added phenolic compounds. Currently, this residue has no commercial use due to the presence of anti-nutritional compounds and it is returned to the soil or burned. The aim of this study was to evaluate the content of phenolic compounds in Robusta coffee husk, the adequacy of this residue as substrate for fermentation processes, as well as evaluating the influence of fungal solid state fermentation to obtain phenolic compounds from this residue. In the present study, the use of different solvents for the extraction of polyphenols was evaluated and the content was found to be in the range of 96.9-159.5 mg of galic acid (GA)·g⁻¹ substrate, depending on the solvent used. The best solvent was acetone, therefore it was selected for extraction. Studies were carried out to evaluate the effect of solid-state fermentation in the release of phenolic compounds, using the filamentous fungi *Penicillium purpurogenum*. The total phenolic content increased from 159.5 up to 243.2 mg GA·g⁻¹ substrate as a result the solid-state fermentation.

Key words: *Coffea canephora*, bioactive compounds, solid state fermentation, *Penicillium purpurogenum*

¹ Eng^a Química, Discente do Curso de Doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos, Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, UNESP, Campus de São José do Rio Preto, SP. E-mail: ladypalominog@gmail.com

² Eng^o Químico, Prof. Dr., Dept^o de Engenharia e Tecnologia de Alimentos, UNESP, Campus de São José do Rio Preto, SP. E-mail: vanildo@ibilce.unesp.br

* Autor para correspondência

Introdução

A economia do Brasil, uma das maiores do mundo, está baseada na agricultura, cujos principais produtos de exportação são o café, a cana de açúcar, a soja, a mandioca e as frutas. No entanto, esta grande produção agroindustrial é responsável pela geração de enormes quantidades de resíduos (SOCCOL; VANDENBERGHE, 2003). Atualmente, existe uma grande preocupação na utilização eficiente desses resíduos agroindustriais, assim como na agregação de valor aos mesmos. Na área de bioprocessos, estes resíduos proporcionam substratos alternativos, e seu uso ajuda a resolver problemas de contaminação ambiental (MACHADO et al., 2012).

O café é uma das bebidas mais consumidas no mundo, além de ser a segunda mercadoria mais comercializada depois do petróleo (MUSSATTO et al., 2011). Em toda a cadeia produtiva do café, são gerados por ano mais de dois milhões de toneladas de subprodutos (FAN et al., 2000). O processamento industrial da cereja de café para a obtenção de grãos de café verdes comercializáveis gera vários subprodutos, dependendo do método de processamento utilizado. No Brasil, aproximadamente 80% do café produzido é proveniente do processamento pela via seca (SOCCOL, 2002). Desse modo, o principal subproduto constitui-se de um resíduo composto pela pele, a polpa, a mucilagem e o pergaminho, todos juntos em uma única fração denominada casca de café (ESQUIVEL; JIMÉNEZ, 2012). O Brasil é um dos maiores produtores de café no mundo (BRASIL, 2013), sendo responsável por grande parte da geração de subprodutos, em especial de casca, que é considerada uma impureza pelo regulamento técnico de identidade e de qualidade para classificação do café beneficiado grão cru (BRASIL, 2003b).

Usos alternativos para os subprodutos do café têm sido estudados, especialmente na área de nutrição animal, no entanto, a baixa ingestão, a pouca digestibilidade da proteína e a retenção de

nitrogênio são os principais fatores que limitam a sua utilização (BRAND et al., 2000). A presença de alguns compostos químicos afetam negativamente o valor nutritivo da casca de café, sendo que a sua inclusão na dieta de ruminantes deve ser realizada com cautela (RIBEIRO-MALTA et al., 2013).

Tem sido reportado que os resíduos de café são ricos em nutrientes e compostos orgânicos como cafeína, taninos e polifenóis, e que seus extratos podem apresentar boa atividade antioxidante (SOCCOL; VANDENBERGHE, 2003; MURTHY; NAIDU, 2012). Os compostos fenólicos constituem uma das principais classes de antioxidantes naturais e estão amplamente distribuídos em frutos, legumes, grãos, sementes, folhas, raízes e cascas (DE MORAIS-LEMOS et al., 2009). Além da atividade antioxidante, tem sido atribuído aos compostos fenólicos efeitos benéficos na saúde humana, retardando ou prevenindo o surgimento de doenças, devido às atividades antialérgica, anti-inflamatória, antimicrobiana, antitrombótica, cardioprotetora e vasodilatadora que têm sido atribuídas a estes compostos (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006; DE MORAIS-LEMOS et al., 2009; RICE-EVANS; MILLER; PAGANGA, 1997; VATTEM; SHETTY, 2003). Assim, os compostos fenólicos presentes na casca de café podem apresentar atividade biológica e potencial antioxidante, sendo a extração dos mesmos uma possibilidade de aproveitamento desses resíduos.

A fermentação em estado sólido (FES) é entendida como o processo microbiológico que ocorre numa superfície sólida que pode ou não ser biodegradável, e que tem a propriedade de absorver ou conter água, com ou sem nutrientes solúveis (VINIEGRA-GONZÁLEZ, 1997). A FES realiza-se em quase ausência de água disponível, mas o substrato deve possuir umidade suficiente para sustentar o crescimento e metabolismo do microrganismo (VINIEGRA-GONZÁLEZ, 1997; NIGAM, 2009). Os fungos são ideais para este tipo de cultivo porque são capazes de crescer em condições de baixa atividade de água, enquanto as

bactérias requerem a presença de água no sistema de fermentação (NIGAM, 2009). Tem-se sugerido que as culturas em superfície sólida são os *habitats* naturais dos organismos fúngicos, o que explicaria a facilidade deles se desenvolverem (VINIEGRA-GONZÁLEZ, 1997). Quando cultivados em substratos sólidos, um grande número de fungos tem demonstrado uma ampla variedade de produção de metabólitos secundários. A produção desses metabólitos parece estar associada com a formação de hifas aéreas e com o aparecimento de esporos na fase estacionária de crescimento. Tem sido observado, que vários metabólitos secundários podem ser produzidos unicamente durante o crescimento dos fungos em substratos sólidos, embora os fungos em questão possam ser facilmente cultivados em processos submersos (MARTINS et al., 2011).

Diversos subprodutos agroindustriais têm sido usados em processos fermentativos. Por exemplo, ácidos orgânicos como o ácido cítrico e o ácido láctico têm sido produzidos por FES; *Aspergillus niger* produziu ácido cítrico a partir de casca de café, e *Lactobacillus delbrueckii*, cultivada em bagaço de mandioca e de cana de açúcar, produziu o ácido láctico (SHANKARANAND; LONSANE, 1994; JOHN; NAMPOOTHIRII; PANDEY, 2006). Diferentes resíduos, como o farelo de trigo, de arroz ou de milho, a casca de arroz, a farinha de milho e de sorgo e o bagaço de cana foram testados na produção de Neomicina por *Streptomyces marinensis* (ELLAIAH; SRINIVASULU; ADINARAYANA, 2004). O fungo *Ceratocystis fimbriata*, cultivado em estado sólido, aumentou o aroma da polpa quando cultivado em polpa de frutas cítricas (ROSSI et al., 2009), e desenvolveu um forte aroma de abacaxi quando cultivado em casca de café (SOARES et al., 2000). Os resíduos agroindustriais também têm sido usados para obtenção de compostos bioativos por FES. Vattem e Shetty (2003), por exemplo, reportaram que houve incremento no conteúdo dos compostos fenólicos em bagaço de arando vermelho, utilizando o fungo *Lentinus edodes*.

A fermentação em estado sólido é uma alternativa para a produção de compostos fenólicos e para o aumento do seu conteúdo (MACHADO et al., 2012). O uso de subprodutos de café como substratos em processos de FES tem sido estudado, entretanto, a produção de compostos fenólicos a partir destes resíduos não tem sido muito reportada. Não obstante, várias cepas de fungos filamentosos foram capazes de crescer e liberar grande quantidade de compostos fenólicos a partir do tegumento procedente da torrefação e da borra de café (HÖLKER; LENZ, 2005).

A determinação do conteúdo de proteínas, lipídeos e açúcares redutores e totais nos subprodutos de café, a serem utilizados em processos de fermentação, é necessária para avaliar a possibilidade de seu uso com ou sem a necessidade da adição de nutrientes para a multiplicação do microrganismo responsável pela fermentação.

Na literatura não foram encontrados trabalhos que comparem o teor de compostos fenólicos iniciais da casca de café com o teor apresentado depois do processo de fermentação. Desta maneira, o objetivo deste trabalho foi avaliar o teor de compostos fenólicos na casca obtida a partir do processamento de café e verificar a influência da fermentação fúngica em estado sólido na obtenção destes compostos.

Material e Métodos

Casca de café

A casca de café (*Coffea canephora*) da variedade Robusta foi cedida pela indústria Cocam, Companhia de Café Solúvel e Derivados (Catanduva, SP, Brasil). Antes de serem utilizadas, as cascas foram secas em estufa a 60 °C até ser obtido peso constante, sendo posteriormente trituradas.

Microrganismo e inóculo

Utilizou-se o fungo filamentoso *Penicillium purpurogenum* CCT 2008 doado pela Coleção

de Culturas Tropical, Fundação André Tosello (Campinas, SP, Brasil), o qual foi mantido em meio BDA (Batata-Dextrose-Ágar) a 30 °C. O inóculo da fermentação consistiu de esporos obtidos depois de 7 dias a partir do meio de cultura esporulado, os quais foram coletados numa solução de Tween 80 com concentração de 0,1 mL·100mL⁻¹ e contados numa câmara de Neubauer.

Extração de compostos fenólicos

A metodologia de extração dos compostos fenólicos foi realizada segundo Ajila et al. (2011) com algumas modificações. Pesou-se 1,0 g de cada substrato antes e após a fermentação, adicionando-se 20 mL de solvente. As amostras foram colocadas em frascos Erlenmeyer em uma incubadora Shaker (Lucadema, modelo LUCA-222) a 40°C e 120 rpm por 30 min, e posteriormente centrifugadas por 15 min a 3200 rpm em uma centrífuga Excelsa Baby II (Fanem, modelo 206-R). A extração foi realizada com água destilada e misturas aquosas de etanol, metanol e acetona com concentração de 80 mL·100mL⁻¹. Todos os solventes utilizados foram grau analítico marca Synth, Utilizou-se o sobrenadante na determinação dos compostos fenólicos. Cada extração foi realizada em duplicata.

Determinação de compostos fenólicos totais

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado nos extratos fenólicos obtidos a partir dos substratos sem fermentar e também após fermentação. Empregou-se a metodologia descrita por Palomino et al. (2009). Ao tubo de reação foram adicionadas alíquotas de 100 µL de cada extrato, 1600 µL de água destilada e 200 µL do reagente Folin-Ciocalteu (grau analítico, Dinâmica). Agitou-se o tubo e deixou-se em repouso por 8 minutos. Depois, foram adicionados 100 µL de Na₂CO₃ 10 g·100mL⁻¹. A mistura de reação foi estocada por 1 h em ausência de luz e a absorvância lida em um espectrofotômetro (Biospectro, modelo SP-22, faixa

325-1000nm) a 760 nm. Para cada extrato fenólico, a análise foi feita em triplicata.

Com o objetivo de expressar os resultados como equivalentes de ácido gálico (mg de AG·g⁻¹ de substrato), realizou-se uma curva de calibração com este padrão (grau analítico, Vetec) nas concentrações de 50 a 500 µg·mL⁻¹. O coeficiente de correlação da curva analítica foi 0,996. Para cada concentração, as análises foram realizadas em triplicata.

Fermentação em estado sólido

A casca de café previamente seca e triturada foi esterilizada em uma autoclave vertical (Phoenix, modelo AV 75) a 120 °C por 15 minutos. Foi utilizado como meio de fermentação soro de queijo esterilizado nas mesmas condições, como uma fonte adicional de açúcares fermentescíveis.

A fermentação foi realizada em sacos plásticos, contendo 10 g do substrato esterilizado e umidificado com soro de queijo, numa relação 1:1 do material seco e o líquido. A inoculação foi feita com uma suspensão de esporos a uma concentração de aproximadamente 6,3 x 10⁶ esporos·g⁻¹ de substrato. Os sacos foram incubados a 30 °C por 14 dias. A primeira avaliação correspondente ao tempo zero foi realizada imediatamente após a inoculação. No decorrer do experimento, foi retirado a cada dia um saco plástico da estufa de incubação para a obtenção do extrato fenólico. Neste caso os extratos fenólicos foram obtidos utilizando uma mistura aquosa de acetona 80 mL·100mL⁻¹. O procedimento de extração foi realizado como mencionado anteriormente.

Métodos analíticos

A quantificação de proteína, lipídeos e açúcares redutores e totais foi realizada por métodos oficiais da AOAC. A determinação de proteínas foi feita pelo método de Kjeldahl (AOAC, 1997; método 991.20), utilizando o fator de conversão de 5,75

(BRASIL, 2003a). Os lipídeos totais foram obtidos com extração da fração etérea por fluxo intermitente, utilizando éter de petróleo como solvente sob refluxo, em aparelho Soxhlet (AOAC, 1997; método 963.15). As determinações de açúcares redutores e açúcares totais foram realizadas pelo método de Lane-Eynon (AOAC, 1997; método 923.09), baseado na redução de cobre pelos grupos redutores dos açúcares.

Análise estatística

As análises foram realizadas em triplicata. Os dados amostrais foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey através do programa Minitab 16®. Os tratamentos foram considerados significativos para $p \leq 0,05$.

Resultados e Discussão

O conteúdo de proteína, lipídeos e açúcares redutores e totais na casca de café da variedade Robusta apresentam-se na Tabela 1. A composição química da casca de café não tem sido amplamente estudada e encontra-se divergências entre vários

autores. O teor de proteína ($13,6 \text{ g}\cdot 100\text{g}^{-1}$) encontrado na casca foi mais elevado que os reportados por Pandey et al. (2000) e por Esquivel e Jiménez (2012), que citaram teores de proteína de $9,2 \text{ g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ e $5,2 \text{ g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ respectivamente. A diferença na composição porcentual dos componentes depende do tipo de processamento e da eficiência deste, da variedade da cultura, do clima, e das condições de cultivo, como o tipo de solo. O teor de lipídeos quantificado neste estudo ($2,2 \text{ g}\cdot 100\text{g}^{-1}$) concorda com os valores reportados na literatura para casca de café, os quais variam de $1,5$ a $2 \text{ g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ (PANDEY et al., 2000; BRAND et al., 2000). Por outra parte, o teor de açúcares totais encontrado neste estudo foi $3,0 \text{ g}\cdot 100\text{g}^{-1}$, enquanto que o teor encontrado por Brand et al. (2000), utilizando o método Somogyi, foi de $26,5 \text{ g}\cdot 100\text{g}^{-1}$, cerca de nove vezes superior.

A presença destes compostos faz da casca de café um substrato adequado para o crescimento de microrganismos. Este tipo de resíduo pode exercer simultaneamente o papel de suporte e fonte de nutrientes em processos de fermentação em estado sólido e desta forma reduzir os custos do processo e ao mesmo tempo evitar problemas ambientais causados por sua disposição final.

Tabela 1. Análises Físico-Químicas da casca de café variedade Robusta.

Componente	$\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ em base seca
Proteína	$13,62 \pm 0,34$
Lipídeos	$2,20 \pm 0,49$
Açúcares redutores	$2,57 \pm 0,28$
Açúcares totais	$3,01 \pm 0,28$

Valores expressos em média \pm desvio padrão, $n = 3$

Fonte: Elaboração dos autores.

Os compostos fenólicos presentes nos extratos estão frequentemente associados com outras biomoléculas como proteínas, carboidratos, lipídeos, terpenos, clorofila e outros compostos orgânicos (AJILA et al., 2011). Por isso deve se encontrar o melhor solvente para extraí-los. Tem

sido reportado que misturas de etanol/água ou acetona/água funcionam melhor na extração de compostos fenólicos que cada solvente sozinho (YILMAZ; TOLEDO, 2006). A solubilidade dos compostos fenólicos depende principalmente dos grupos hidroxila e do comprimento da cadeia

carbônica (AJILA et al., 2011). A escolha do melhor solvente para extração de compostos fenólicos tem sido objeto de estudos.

A extração dos compostos fenólicos foi realizada com diferentes solventes visando estabelecer qual é o mais eficiente neste tipo de resíduo. Encontrou-se que o conteúdo de compostos fenólicos aumenta desde 96,9 até 159,5 mg AG·g⁻¹ substrato

dependendo do solvente usado (Tabela 2). A acetona (80 mL·100mL⁻¹) extraiu uma quantidade significativamente maior de compostos fenólicos ($p \leq 0,05$) comparada com os outros solventes. Água, etanol (80 mL·100mL⁻¹) e metanol (80 mL·100mL⁻¹) foram menos eficientes na extração de compostos fenólicos quando comparados com a acetona (80 mL·100mL⁻¹).

Tabela 2. Teor de compostos fenólicos totais na casca de café variedade Robusta utilizando-se diferentes solventes.

Tipo de extrato	Teor de fenólicos totais (mg AG·g ⁻¹ substrato)
Acetônico	159,5 ± 1,1 ^A
Metanólico	125,0 ± 0,4 ^B
Etanólico	100,0 ± 2,9 ^C
Aquoso	96,9 ± 5,0 ^C

Letras maiúsculas (mesma coluna) diferentes indicam que os resultados diferem significativamente entre si ($p \leq 0,05$)
Fonte: Elaboração dos autores.

Na obtenção de extratos de trigo, observou-se que entre todos os solventes testados, os extratos de acetona (50 mL·100mL⁻¹) apresentaram maiores níveis de fenólicos totais, e o etanol 70 mL·100mL⁻¹ foi menos eficaz na extração destes compostos, o que está de acordo com os resultados obtidos neste estudo (ZHOU; YU, 2004). Já estudos na casca de amendoim estabeleceram que etanol (80 mL·100mL⁻¹) e metanol (80 mL·100mL⁻¹) foram mais eficientes que a água para extrair os fenólicos totais a partir deste subproduto, o qual também está em concordância com os resultados do presente estudo (YU; AHMEDNA; GOKTEPE, 2005). Compostos fenólicos de bagaço de maçã foram extraídos com diferentes solventes, encontrando-se que a capacidade de extração dos polifenóis pelos solventes seguiu a ordem: acetona 80 mL·100mL⁻¹ > etanol 80 mL·100mL⁻¹ > metanol 80 mL·100mL⁻¹ > água (AJILA et al., 2011). Neste estudo a capacidade de extração dos solventes a partir da casca de café foi, acetona 80 mL·100mL⁻¹ > metanol 80 mL·100mL⁻¹ > etanol 80 mL·100mL⁻¹ > água (Tabela 2). De maneira geral, encontra-se que misturas de acetona com água são os solventes mais apropriados para extrair os compostos fenólicos e a

água o solvente mais ineficiente (AJILA et al., 2011; YILMAZ; TOLEDO, 2006; YU; AHMEDNA; GOKTEPE, 2005; ZHOU; YU, 2004).

Nesta pesquisa, observou-se o crescimento do fungo durante o processo de fermentação, confirmando que a casca de café é um subproduto apropriado para atuar como substrato em processos fermentativos, pois, como demonstrado na Tabela 1, a casca de café variedade Robusta contém teores significativos de proteínas e lipídeos, e açúcares em menores proporções; e, por sua parte, o soro de queijo utilizado como meio de fermentação é soro desproteínizado, conhecido como permeado de soro, uma fração rica em lactose (4,5-5,0%), que se converte em uma fonte adicional de açúcares fermentescíveis. A utilização de soro de queijo como meio de fermentação pode ser considerada uma importante vantagem, pois se observou o crescimento de fungo sem adição de meios sintéticos. Desta forma, o sistema utilizado foi formado por um substrato sólido, que atuou como suporte e fonte de nutrientes e por um meio líquido rico em açúcares, gerando um meio apropriado para o crescimento do fungo.

Foi realizada a cinética da fermentação até o 14^o dia, visando determinar o número de dias necessários para obter o maior teor de compostos fenólicos (Tabela 3). Observou-se, que sob as condições estabelecidas, e utilizando o fungo *Penicillium purpurogenum*, houve um aumento do conteúdo dos compostos de interesse na casca de café Robusta. Os resultados da cinética mostraram um incremento de 52,4% no teor de compostos fenólicos em relação ao substrato sem fermentar. Observou-se um aumento destes compostos a partir do primeiro dia, atingindo o valor mais alto entre o terceiro e quinto dia, a

partir do qual o conteúdo de compostos fenólicos diminuiu. A literatura sugere que os metabólitos secundários acumulam-se no meio de fermentação, usualmente durante a etapa seguinte ao crescimento microbiano, chamada de Idiofase (NIGAM, 2009). Sendo assim, os resultados sugerem que o fungo *Penicillium purpurogenum* cresce rapidamente na casca de café, o que permite a maior liberação de compostos fenólicos entre o terceiro e o quinto dia, tempo depois do qual a diminuição no teor destes compostos estaria relacionada com a participação destes compostos em reações químicas ou enzimáticas não avaliadas no presente estudo.

Tabela 3. Teor de polifenóis na casca de café submetida a fermentação pelo fungo *Penicillium purpurogenum* extraídos com acetona 80 mL·100mL⁻¹

Dia	Teor de fenólicos totais (mg de AG·g⁻¹ de substrato)
0	168,6 ± 2,4 ^F
1	230,2 ± 1,5 ^B
3	239,5 ± 2,6 ^A
5	243,2 ± 4,0 ^A
6	220,8 ± 1,2 ^C
8	198,8 ± 0,6 ^D
11	194,5 ± 5,6 ^D
14	118,8 ± 2,5 ^F

Letras maiúsculas (mesma coluna) diferentes indicam que os resultados diferem significativamente entre si ($p \leq 0,05$).

Fonte: Elaboração dos autores.

Embora não tenham sido encontrados, na literatura pesquisada, resultados do mesmo processo no resíduo testado, Machado et al. (2012) encontraram que o fungo *Penicillium purpurogenum* liberou compostos fenólicos mediante fermentação em estado sólido, atingindo valores de 7,02 (mg g⁻¹ de borra de café) e 3,47 (mg g⁻¹ de tegumento de café), sugerindo que os fenóis são produtos da degradação dos resíduos de café utilizados como substrato.

Foi verificado o acréscimo no teor de fenólicos que se evidenciou no tempo zero (Tabela 3), quando comparado com o substrato *in natura* (Tabela 2),

comprovando-se que a suspensão do fungo é a responsável pelo pequeno aumento de fenóis no tempo zero.

Os resultados fazem evidente a influência positiva do processo de fermentação sobre o aumento do teor de fenóis totais nos extratos acetônicos da casca de café Robusta. Desta forma, apresenta-se uma interessante alternativa de aproveitamento deste resíduo, levado em consideração que tem sido demonstrado que os fenóis possuem excelentes propriedades antioxidantes e podem apresentar efeitos benéficos na saúde humana.

Conclusões

A casca de café da variedade Robusta contém quantidades apreciáveis de compostos fenólicos, os quais podem ser extraídos de forma mais eficiente com acetona (80 mL·100mL⁻¹).

O fungo *Penicillium purpurogenum* foi capaz de se multiplicar em casca de café umidificada com soro de queijo, confirmando que o resíduo é um substrato apropriado para ser utilizado em processos fermentativos.

Os resultados sugerem que mediante fermentação em estado sólido e depois de cinco dias, consegue-se aumentar o teor de compostos fenólicos nos extratos obtidos a partir da casca de café fermentada em presença do fungo *Penicillium purpurogenum*.

Os resultados mostram uma possibilidade de aproveitamento desse resíduo, levando em consideração a importância dos compostos fenólicos nas indústrias de alimentos e farmacêutica, e a grande quantidade disponível de casca de café como resíduo da indústria cafeeira.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao programa Paedex da Unesp pela bolsa concedida.

Referências

AJILA, C. M.; BRAR, S. K.; VERMA, M.; TYAGI, R. D.; VALÉRO, J. R. Solid-state fermentation of apple pomace using *Phanerocheate chrysosporium* – liberation and extraction of phenolic antioxidants. *Food Chemistry*, London, v. 126, n. 3, p. 1071-1080, 2011.

ASSOCIATION OF OFICIAL ANALYTICAL CHEMIST – AOAC. Official methods of analysis of AOAC international. 16. ed. Gaithersburg: AOAC, 1997. v. 2.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, London, v. 99, n. 1, p. 191-203, 2006.

BRAND, D.; PANDEY, A.; ROUSSOS, S.; SOCCOL, C. R. Biological detoxification of coffee husk by filamentous fungi using a solid state fermentation system. *Enzyme and microbial technology*, New York, v. 27, n. 1-2, p. 127-133, 2000.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Resolução RDC nº 360 de 23 de dezembro de 2003. *Diário Oficial [da] União*, Poder Executivo, São Paulo, 26 dez. Seção 1, p. 33. 2003a. Disponível em: <http://www.crn3.org.br/legislacao/doc/RDC_N_360_DE_23_DE_DEZEMBRO_DE_2003.pdf>. Acesso em: 6 mar. 2014.

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa Nº 8 de 11 de junho de 2003. *Regulamento técnico de identidade e de qualidade para classificação do café beneficiado grão cru*. 2003b. Disponível em: <http://www.abic.com.br/publique/media/NMQ_LEGISLAcAO_IN8.pdf>. Acesso em: 28 fev. 2014.

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. *Culturas: café*. 2013. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/cafe>>. Acesso em: 28 fev. 2014.

DE MORAIS-LEMOS, S. A.; DE AQUINO-TÔRRES, F. J.; NASCIMENTO-MENDES, P. do; NASCIMENTO, E. A. do; CHANG, R. Compostos bioativos e atividade antioxidante do café conilon submetido a diferentes graus de torra. *Química Nova*, São Paulo, v. 32, n. 2, p. 327-331, 2009.

ELLIAIAH, P.; SRINIVASULU, B.; ADINARAYANA, K. Optimisation studies on neomycin production by a mutant strain of *Streptomyces marinensis* in solid state fermentation. *Process Biochemistry*, London, v. 39, n. 5, p. 529-534, 2004.

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

FAN, L.; PANDEY, A.; MOHAN, R.; SOCCOL, C. R. Use of various coffee industry residues for the cultivation of *Pleurotus ostreatus* in solid state fermentation. *Acta Biotechnology*, Weinheim, v. 20, n. 1, p. 41-52, 2000.

HÖLKER, U.; LENZ, J. Solid-state fermentation – are there any biotechnological advantages? *Current Opinion in Microbiology*, Oxford, v. 8, n. 3, p. 301-306, 2005.

JOHN, R. P.; NAMPOOTHIRI, K. M.; PANDEY, A. Solid-state fermentation for L-lactic acid production from agro wastes using *Lactobacillus delbrueckii*. *Process Biochemistry*, London, v. 41, n. 4, p. 759-763, 2006.

- MACHADO, E. M. S.; RODRIGUEZ-JASSO, R. M.; TEIXEIRA, J. A.; MUSSATTO, S. I. Growth of fungal strains on coffee industry residues with removal of polyphenolic compounds. *Biochemical Engineering Journal*, Amsterdam, v. 60, n. 1, p. 87-90, 2012.
- MARTINS, S.; MUSSATTO, S. I.; MARTÍNEZ-AVILA, G.; MONTAÑEZ-SAENZ, J.; AGUILAR, C. N.; TEIXEIRA, J. A. Bioactive phenolic compounds: production and extraction by solid-state fermentation. A review. *Biotechnology Advances*, New York, v. 29, n. 3, p. 365-73, 2011.
- MURTHY, P. S.; NAIDU, M. M. Recovery of phenolic antioxidants and functional compounds from coffee industry by-products. *Food and Bioprocess Technology*, New York, v. 5, n. 3, p. 897-903, 2012.
- MUSSATTO, S. I.; MACHADO, E. M. S.; MARTINS, S.; TEIXEIRA, J. A. Production, composition, and application of coffee and its industrial residues. *Food and Bioprocess Technology*, New York, v. 4, n. 5, p. 661-672, 2011.
- NIGAM, P. S. Production of bioactive secondary metabolites. In: NIGAM, P. S.; PANDEY, A. (Ed.). *Biotechnology for agro-industrial residues utilisation*. Northern Ireland: Springer, 2009. p. 129-145.
- PALOMINOL, R.; GARCÍA, C. M.; GIL, J. H.; ROJANO, B. A.; DURANGO, D. L. Determinación del contenido de fenoles y evaluación de la actividad antioxidante de propóleos recolectados en el departamento de Antioquia (Colombia). *Vitae*, Medellín, v. 16, n. 63, p. 388-395, 2009.
- PANDEY, A.; SOCCOL, C.; NIGAM, P.; BRAND, D.; MOHAN, N.; ROUSSOS, S. Biotechnological potential of coffee pulp and coffee husk for bioprocesses. *Biochemical Engineering Journal*, Amsterdam, v. 6, n. 2, p. 153-162, 2000.
- RIBEIRO-MALTA, M.; DE OLIVEIRA-FASSIO, L.; MESQUITA-SILVA, M. de; MAGALHÃES-DE LIMA, P.; REZENDE-CHAGAS, R.; FERREIRA-BARCELOS, A. Composição bromatológica e fatores antinutricionais de silagens produzidas com subprodutos do processamento do café. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 8., 2013, Salvador. *Anais...* Salvador: Embrapa Café, 2013. p. 150-156. Disponível em: < http://www.sapc.embrapa.br/arquivos/consorcio/spcb_anais/150.pdf >. Acesso em: 28 fev. 2014.
- RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*, Oxford, v. 2, n. 4, p. 152-159, 1997.
- ROSSI, S. C.; VANDENBERGHE, L. P. S.; PEREIRA, B. M. P.; GAGOA, F. D.; RIZZOLO, J. A.; PANDEY, A.; SOCCOL, C. R.; MEDEIROS, A. B. P. Improving fruity aroma production by fungi in SSF using citric pulp. *Food Research International*, Barking, v. 42, n. 4, p. 484-486, 2009.
- SHANKARANAND, V. S.; LONSANE, B. K. Coffee husk: an inexpensive substrate for production of citric acid by *Aspergillus niger* in a solid-state fermentation system. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, Oxford, v. 10, n. 2, p. 165-168, 1994.
- SOARES, M.; CHRISTEN, P.; PANDEY, A.; SOCCOL, C. R. Fruity flavour production by *Ceratocystis fimbriata* grown on coffee husk in solid-state fermentation. *Process Biochemistry*, London, v. 35, n. 8, p. 857-861, 2000.
- SOCCOL, C. R. Resíduo de café um substrato promissor para a produção industrial de bioprodutos com alto valor agregado. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 1., 2002, Poços de Caldas. *Anais...* Poços de Caldas: Embrapa Café, 2002. p. 83-98. Disponível em: <<http://www.sbicafe.ufv.br/handle/10820/19>>. Acesso em: 11 set. 2013.
- SOCCOL, C. R.; VANDENBERGHE, L. P. Overview of applied solid-state fermentation in Brazil. *Biochemical Engineering Journal*, Amsterdam, v. 13, n. 2-3, p. 205-218, 2003.
- VATTEM, D. A.; SHETTY, K. Ellagic acid production and phenolic antioxidant activity in cranberry pomace (*Vaccinium macrocarpon*) mediated by *Lentinus edodes* using a solid-state system. *Process Biochemistry*, London, v. 39, n. 3, p. 367-379, 2003.
- VINIEGRA-GONZÁLEZ, G. Solid state fermentation: definition, characteristics, limitation and monitoring. In: ROUSSOS, S.; LONSANE, B. K.; RAIMBAULT, M.; VINIEGRA-GONZÁLEZ, G. (Ed.). *Advances in solid state fermentation*. Dordrecht: Kluwer Academic Publisher, 1997. p. 5-22.
- YILMAZ, Y.; TOLEDO, R. T. Oxygen radical absorbance capacities of grape/wine industry byproducts and effect of solvent type on extraction of grape seed polyphenols. *Journal of Food Composition and Analysis*, San Diego, v. 19, n. 1, p. 41-48, 2006.
- YU, J.; AHMEDNA, M.; GOKTEPE, I.; Effects of processing methods and extraction solvents on concentration and antioxidant activity of peanut skin phenolics. *Food Chemistry*, London, v. 90, n. 1-2, p. 199-206, 2005.
- ZHOU, K.; YU, L. Effects of extraction solvent on wheat bran antioxidant activity estimation. *Lebensmittel-Wissenschaft und – Technologie*, London, v. 37, n. 7, p. 717- 721, 2004.

