



# **Desenvolvimento de Produto Cosmético a Partir da Valorização da Borra de Café**

**Tayna Carvalho Bitencourt De Souza**

Dissertação apresentada à Escola superior agrária do Instituto Politécnico de Bragança para obtenção do Grau de Mestre em Produtos Naturais e Bioaplicações.

Trabalho efetuado sob a orientação da:  
**Professora Doutora Maria João Sousa**

Bragança

2024





## **DESENVOLVIMENTO DE PRODUTO COSMÉTICO A PARTIR DA VALORIZAÇÃO DA BORRA DE CAFÉ**

**Tayna Carvalho Bitencourt De Souza**

Dissertação apresentada ao curso de mestrado em Produtos Naturais e Bioaplicações da Escola Superior Agrária ESA – do Instituto Politécnico de Bragança – IPB, como requisito para obtenção do título de Mestre em Produtos Naturais e Bioaplicações.  
Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dra. Maria João de Sousa

Bragança

2024

*“Somos guiados por nossos instintos, nossa intuição,  
nossos desejos e medos, nossas cicatrizes e nossos sonhos.  
E você vai cometer um deslize às vezes.  
De qualquer forma... coisas difíceis vão acontecer conosco.  
Nós vamos nos recuperar. Nós vamos aprender com isso.  
Vamos crescer mais resilientes por causa disso.”*

***Taylor Swift***

## **Agradecimentos**

Agradeço à Deus por sua bondade e bênçãos, o renovo a cada manhã e a esperança de um futuro melhor. O refúgio nos dias difíceis e a força para enfrentar todas as batalhas.

Agradeço ao meu marido, Kaio Duarte que sempre me apoiou e me incentivou nesta jornada, por sempre me ouvir e me dar todo o suporte necessário. Sem você eu não estaria aqui. Também agradeço à toda minha família que fazem parte de quem eu sou e sempre me ensinaram o valor do trabalho.

À minha orientadora, Professora Maria João de Sousa, por todo o trabalho de suporte, ajuda e aconselhamento. Obrigada por todos os valiosos ensinamentos e paciência ao longo de todas as etapas deste trabalho, sem você nada disto seria possível. Que sua profissão tão valiosa seja cada vez mais valorizada.

Agradeço também às professoras Doutora Maria Conceição e Doutora Olívia Rodrigues Pereira por toda a ajuda nos ensaios e toxicidade e nos testes cutâneos, obrigada por disponibilizarem tempo e recursos para este trabalho.

Agradeço também a Técnica Superior de laboratório Vanessa Paula por toda a preciosa ajuda nos testes microbiológicos, e aos meus colegas de mestrado que fizeram parte desta etapa comigo.

## **Resumo**

O reaproveitamento da borra de café como matéria-prima para cosméticos naturais oferece uma alternativa sustentável para a indústria, ao mesmo tempo em que reduz a quantidade de resíduos gerados. Este estudo demonstra que a valorização de resíduos alimentares pode ser uma estratégia viável para inovação e desenvolvimento de produtos cosméticos sustentáveis.

O presente estudo teve como foco o desenvolvimento de um produto cosmético a partir da valorização da borra de café, promovendo a economia circular e contribuindo para o desenvolvimento sustentável. A borra de café, comumente descartada como resíduo, contém compostos bioativos de interesse para a indústria cosmética, como ácidos clorogênicos, cafeína, melanoidinas e outros antioxidantes, com propriedades benéficas para a pele.

Foi realizado um estudo de viabilidade com estabelecimentos comerciais para avaliar a disponibilidade da borra de café como matéria-prima, diferentes métodos de extração dos compostos bioativos da borra foram explorados, como infusão, decocção, maceração e ultrassom, visando obter o melhor rendimento e preservação dos compostos antioxidantes.

A borra de café mostrou-se rica em substâncias com propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e antimicrobianas. Essas características motivaram a formulação de um cosmético natural, uma bruma facial, com foco em hidratação, proteção e revitalização da pele. O produto foi submetido a uma série de testes laboratoriais, incluindo ensaios microbiológicos, testes de toxicidade, irritação ocular e avaliação de estabilidade, para garantir sua segurança e eficácia.

Os resultados mostraram que a bruma facial desenvolvida possui um bom perfil de estabilidade e segurança, sendo eficaz na hidratação da pele, além de apresentar potencial antimicrobiano e ação antioxidante, auxiliando na proteção contra radicais livres e no retardamento do envelhecimento cutâneo.

**Palavras-chave:** borra de café, cosméticos, compostos bioativos, antioxidantes, sustentabilidade.

## **Abstract**

The reuse of coffee grounds as raw material for natural cosmetics offers a sustainable alternative for the industry while reducing the amount of waste generated. This study demonstrates that the valorization of food waste can be a viable strategy for innovation and the development of sustainable cosmetic products.

A feasibility study was conducted with commercial establishments to assess the availability of coffee grounds as a raw material, and different extraction methods for the bioactive compounds from the grounds were explored, such as infusion, decoction, maceration, and ultrasound, aiming to achieve the best yield and preservation of the antioxidant compounds.

The coffee grounds proved to be rich in substances with antioxidant, anti-inflammatory, and antimicrobial properties. These characteristics motivated the formulation of a natural cosmetic, a facial mist, focused on hydration, protection, and skin revitalization. The product underwent laboratory tests, including microbiological assays, toxicity tests, ocular irritation tests, and stability evaluations to ensure its safety and efficacy.

The results showed that the developed facial mist has a good stability and safety profile, being effective in skin hydration, and showing antimicrobial potential and antioxidant activity, helping protect against free radicals and slowing down skin aging.

**Keywords:** coffee grounds, cosmetics, bioactive compounds, antioxidants, sustainability.

## Índice

<b>Agradecimentos</b> .....	<b>V</b>
<b>Resumo</b> .....	<b>VI</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>VII</b>
<b>Índice de Figuras</b> .....	<b>X</b>
<b>Índice de Tabelas</b> .....	<b>XI</b>
<b>Abreviaturas</b> .....	<b>XII</b>
<b>1. Introdução</b> .....	<b>13</b>
1.1 Café.....	13
1.1.2 Mercado do Café .....	15
1.1.3 Cenário Português.....	17
1.1.4 Processo Produtivo .....	17
1.1.5 Resíduos.....	19
1.1.6 Toxicidade .....	19
1.2 Economia Circular e Desenvolvimento Sustentável .....	20
1.2.1 Reaproveitamento Borra de Café .....	24
1.3 Compostos Bioativos Presentes na Borra de Café.....	26
1.3.1 Ácido Linoleico e Ácido Palmítico .....	27
1.3.2 Melanoidinas .....	28
1.3.3 Ácidos Clorogénicos.....	30
1.3.4 Cafeína.....	32
1.4 Cosméticos.....	34
1.4.1 Mercado.....	35
1.4.1 Produtos Naturais em Cosméticos.....	37
1.4.2 Bruma facial .....	37
<b>2. Objetivos</b> .....	<b>39</b>
2.1 Objetivo Geral .....	39
2.2 Objetivos Específicos .....	39
<b>3. Metodologia</b> .....	<b>40</b>
3.1 Estudo de Viabilidade.....	40
3.2 Obtenção da Borra de Café.....	41
3.2.1 Quantificação da Cafeína.....	41
3.3 Extração dos Compostos Bioativos .....	42
3.3.1 Infusão .....	42
3.3.2 Decocção .....	42
3.3.3 Maceração.....	43
3.3.4 Ultrassom.....	43
3.3 Análises .....	44
3.3.1 Fenólicos Totais Extratos .....	44
3.3.2 Flavonoides Totais Extratos .....	44

3.3.3 Atividade Captadora dos Radicais Livres 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH)	45
3.3.4 Poder Redutor Extratos.....	45
3.3.5 Fator de Proteção Solar Extratos .....	46
3.4 Desenvolvimento do Produto Cosmético .....	47
3.4.1 Análise Microbiológica Bolores e Leveduras .....	47
3.4.2 Extração dos óleos essenciais .....	48
3.4.3 Ingredientes, Formulação e Embalagem .....	49
3.4.4 Testes de Estabilidade .....	49
3.4.5 Avaliação da proteção antimicrobiana do produto cosmético.....	51
3.4.6 <i>Cutibacterium acnes</i> .....	56
3.4.6.1 Teste de difusão em disco.....	56
3.4.7 Toxicidade .....	57
3.4.8 Irritação Ocular.....	59
3.4.9 Testes Cutâneos .....	61
3.5.10 Análise Sensorial.....	62
<b>4. Resultados e Discussões.....</b>	<b>63</b>
4.1 Estudo viabilidade .....	63
4.2 Borra de café.....	66
4.3 Rendimento dos Métodos de Extração .....	66
4.3.1 Fenólicos Totais Extratos .....	67
4.3.2 Flavonoides Totais Extratos .....	69
4.3.4 Atividade Captadora dos Radicais Livres 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH)	70
4.3.5 Poder Redutor Extratos.....	73
4.3.6 Fator de Proteção Solar Extratos .....	76
4.3.7 Extrato para o Produto Cosmético.....	77
4.4 Desenvolvimento do Produto Cosmético .....	78
4.4.1 Análise Microbiológica Bolores e Leveduras .....	78
4.4.2 Extração Óleos Essenciais.....	78
4.4.3 Testes de Estabilidade .....	79
4.4.4 Avaliação da proteção antimicrobiana do produto cosmético.....	84
4.4.6 <i>Cutibacterium acnes</i> .....	87
4.4.7 Toxicidade .....	88
4.4.8 Irritação Ocular.....	89
4.4.9 Testes Cutâneos .....	91
4.4.10 Análise Sensorial.....	95
<b>5. Conclusão .....</b>	<b>99</b>
<b>Referências Bibliográficas .....</b>	<b>103</b>
<b>Anexos.....</b>	<b>115</b>

## Índice de Figuras

Figura 1. <i>Coffea Arabica</i> desenho botânico. ....	14
Figura 2. Objetivos de Desenvolvimento Sustentável da ONU. ....	23
Figura 3. Representação esquemática da estrutura do Ácido Linoleico.....	27
Figura 4. Representação esquemática da estrutura do Ácido Palmítico.....	28
Figura 5. Representação esquemática da estrutura das melanoidinas .....	29
Figura 6. Estrutura Química do Ácido 5-Cafeoilquínico. ....	31
Figura 7. Fórmula Estrutural da Cafeína .....	33
Figura 8. Questionário aplicado aos estabelecimentos .....	40
Figura 9. Processo de evaporação rotativa do solvente de extrato borra de café .....	43
Figura 10. <i>Rosmarinus officinalis</i> e <i>Thymus zygis zygis</i> no momento da colheita. ....	48
Figura 11. Extração dos óleos essenciais de <i>Rosmarinus officinalis</i> e <i>Thymus zygis zygis</i> através do aparelho de Clevenger. ....	48
Figura 12. Ilustração procedimento controlo do neutralizador.....	53
Figura 13. Ilustração procedimento teste do neutralizador.....	54
Figura 14. Ilustração procedimento controlo do inóculo.....	54
Figura 15. Ilustração procedimento Challenge test .....	55
Figura 16. Esquematização do ensaio de toxicidade com <i>Artemia franciscana</i> . ....	58
Figura 17. Esquematização do ensaio HET-CAM. ....	60
Figura 18. Equipamento MPA 6.....	61
Figura 21. Aspecto das Placas teste DPPH com diferentes extratos .....	70
Figura 22. Valores da atividade captadora de radicais livres de DPPH (%) obtidos para extratos (média, n=3). ....	72
Figura 23. Valores da atividade captadora de radicais livres de DPPH (%) obtidos para extratos (média, n=3). ....	73
Figura 24. Aspecto da placa teste poder redutor dos extratos .....	74
Figura 25. Valores de absorvância a 690 nm determinados no ensaio do poder redutor para extratos de borra de café (média, n=3). ....	75
Figura 26. Mudanças cor cosmético durante o teste de estabilidade.....	81
Figura 27. Teste atividade antimicrobiana do produto cosmético.....	88
Figura 29. Teste HET-CAM realizado com produto cosmético.....	90
Figura 30. Comparativo produto cosmético e controlo negativo teste HET-CAM.....	90
Figura 31. Comparativo produto cosmético e controlo positivo teste HET-CAM.....	91
Figura 32. Gráfico perda transepidérmica voluntários. ....	92
Figura 33. Gráfico grau eritema voluntários. ....	93
Figura 34. Gráfico hidratação voluntários.....	95
Figura 35. Resultados análise sensorial aroma do produto e satisfação geral com o produto. ....	96
Figura 36. Resultados análise sensorial nível de hidratação e satisfação geral.....	97
Figura 37. Resultados análise sensorial facilidade de aplicação e funcionalidade e design da embalagem.....	97
Figura 38. Aspecto do produto cosmético embalado .....	98

## Índice de Tabelas

Tabela 1. Exportação, importação e consumo global de café de 2019 a 2023. ....	16
Tabela 2. Função de produto normalizada usada no cálculo do FPS .....	47
Tabela 3. Ingredientes formulação cosmética desenvolvida. ....	49
Tabela 4. Respostas entrevistas cafés. ....	63
Tabela 5. Rendimentos em porcentagem dos diferentes métodos de extração. ....	66
Tabela 6. Teor dos compostos fenólicos presentes em diferentes extratos de borra de café. .....	67
Tabela 7. Teor flavonoides totais presentes em diferentes extratos de borra de café.....	69
Tabela 8. Valores de EC <sub>50</sub> (mg de extrato/ml) na atividade captadora de radicais livres do DPPH em diferentes extratos de borra de café. ....	71
Tabela 9. Valores de EC <sub>50</sub> (mg de extrato/ml) do poder redutor de diferentes extratos de borra de café.....	74
Tabela 10. Fator de proteção solar em diferentes extratos de borra de café.....	76
Tabela 11. Rendimento, fenóis totais, flavonoides totais, poder redutos, atividade captadora de radicais DPPH e FPS de extratos de borra de café obtidos através de diferentes métodos.....	77
Tabela 12. Resultados pH teste de estabilidade.....	79
Tabela 13. Resultados análise de cor teste de estabilidade.....	81
Tabela 14. Resultados análise densidade teste de estabilidade. ....	82
Tabela 15. Resultados redução logarítmica Challenge Test.....	84
Tabela 16. Resultados teste disco-difusão C. Acnes. ....	87
Tabela 17. Resultados obtidos dos valores de LC <sub>50</sub> .....	88

## **Abreviaturas**

ACR- Atividade captadora de radicais

AICC - Associação Industrial e Comercial do Café

*C. acnes* - *Cutibacterium acnes*

CAS- Chemical Abstracts Service

CF- Fator de correção

CGA- Ácidos Clorogénicos

DBO - Demanda Bioquímica de Oxigênio

DPPH- 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo

EC- Concentração de eficiência

FPS- Fator de proteção solar

ICO – International Coffee Organization

INCI- Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos

ISO - International Organization for Standardization (Organização Internacional de Normalização)

m/m – Massa/massa

ONU- Organização das Nações Unidas

UFC - Unidades Formadoras de Colônia

UV- Ultravioleta

UV-Vis- Ultravioleta Visível

v/v – Volume/volume

W- Watts

## 1. Introdução

### 1.1 Café

O café é uma das bebidas mais consumidas globalmente, sendo um produto com uma cadeia produtiva complexa que abrange desde a plantação até o consumo, o café é originário das regiões tropicais da África, mais especificamente das áreas montanhosas da Etiópia e Sudão, onde ainda existem espécies silvestres de *Coffea*. Sua história remonta ao século IX, quando as tribos africanas descobriram o potencial energizante dos frutos do cafeeiro, consumindo-os ou misturando-os com gordura animal para aumentar a resistência durante longas jornadas (Wagner et al., 2001)

A disseminação do café para outras partes do mundo foi facilitada pelos árabes, que introduziram a cultura do café na Península Arábica por volta do século XV. No século XVII, o café começou a ser cultivado comercialmente em grande escala no Oriente Médio e, posteriormente, chegou à Europa, onde rapidamente se tornou uma bebida popular em cafés e casas de chá (Pendergrast, 2010).

As plantas de café pertencem ao género *Coffea*, da família Rubiaceae, e são arbustos perenes que podem atingir até 5 metros de altura, dependendo da espécie e das condições de cultivo (Davis et al., 2006). Suas folhas são opostas, coriáceas e ovais, com nervuras pronunciadas. estrutura do fruto do café é composta por várias camadas distintas, incluindo o grão ou endosperma, o pergaminho ou endocarpo, o mesocarpo mucilaginoso, a polpa e a casca externa. Cada uma dessas camadas desempenha um papel importante na proteção e no desenvolvimento do grão (Bressani; Estrada; Jarquin, 1972).

O fruto do café é uma drupa que contém duas sementes, conhecidas como grãos de café, envolvidas por várias camadas. A polpa externa é suculenta e rica em açúcares, enquanto o pergaminho é uma camada fibrosa que protege os grãos. O endosperma é a parte comestível do grão, enquanto a casca externa serve como proteção (Wagner et al., 2001).



Legenda: A - galho com flores e frutos verdes; 1 - batedor expandido; 2 - estames; 3 - pilão com cálice; 4 - ovário em corte longitudinal; 5 e 6 - semente das faces dorsal e ventral; 7 - fruto em corte transversal; 8 - semente em corte transversal; 9 - raiz do embrião mostrada; 10 - raiz do embrião

**Figura 1.** *Coffea Arabica* desenho botânico.

Fonte: (Fr. Eugen Köhler, 1887)

Originário da família *Rubiaceae* e do gênero *Coffea*, existem várias espécies de café, mas as duas mais amplamente cultivadas são *Coffea arabica* e *Coffea canephora*, também conhecida como robusta. A *Coffea arabica* é valorizada por seu sabor suave e aromático, enquanto a *Coffea canephora* é mais resistente a doenças e possui um sabor mais forte e amargo (Davis et al., 2006).

Além das diferenças entre as espécies, existem inúmeros cultivares dentro de cada espécie, cada uma com características distintas de sabor, aroma, resistência a doenças e condições de crescimento. Essas variações são resultado de seleção e melhoramento genético

ao longo dos séculos, visando adaptar o café às condições locais de cultivo e às preferências dos consumidores (ICO, 2020).

Em termos nutricionais, os grãos de café cru contêm uma variedade de nutrientes, incluindo proteínas, lipídios e minerais, bem como fitoquímicos como ácidos fenólicos, cafeína e melanoidinas. Esses compostos têm despertado interesse devido aos seus potenciais benefícios à saúde e diferentes atividades biológicas (Saldaña; Mazzafera; Mohamed, 1997).

Além de seu valor como uma bebida lazer, o café tem sido reconhecido como um alimento funcional, com potencial para promover a saúde quando consumido com moderação. No entanto, é importante ressaltar que esses efeitos estão relacionados à promoção da saúde e não à cura de doenças (Nacif, 2003; Sanders, 1998). O processo de transformação do café, desde o grão cru até a bebida final, envolve várias etapas, incluindo torrefação, moagem e preparação. Durante a torrefação, ocorrem reações químicas que conferem ao café suas características de sabor e aroma únicas (Daglia *et al.*, 2000; Amstalden; Leite; Menezes, 2001).

### **1.1.2 Mercado do Café**

Do ponto de vista econômico, o café é uma “commodity” de grande importância, sendo o segundo item mais comercializado no mercado internacional, logo após o petróleo. O Brasil lidera a produção mundial, exportando milhões de sacas de café cru e industrializado anualmente (Moreira *et al.*, 2001; Borrelli *et al.*, 2002; Encarnação; Lima, 2003; Nacif, 2003). Embora a *Coffea arabica* seja geralmente considerada superior em qualidade e sabor em comparação com a *Coffea canephora*, ambas desempenham papéis distintos no mercado global de café. A produção mundial reflete essa distinção, com a *Coffea arabica* dominando aproximadamente 70% da produção total (Lin *et al.*, 2005). O Brasil se destaca como o maior produtor mundial, contribuindo significativamente para o mercado global de café (Illy, 2002).

**Tabela 1.** Exportação, importação e consumo global de café de 2019 a 2023.  
(milhões de sacas de 60 Kg)

Exportações						Consumo					
	2019/20	2020/21	2021/22	2022/23	2023/24		2019/20	2020/21	2021/22	2022/23	2023/24
Brasil	40,256	45,675	39,685	36,145	45,350	União Europeia	40,264	41,271	41,867	44,462	42,000
Vietname	27,326	25,300	29,010	27,740	27,500	Estados Unidos	26,049	25,922	26,723	24,623	27,300
Colômbia	13,005	12,755	12,365	10,700	12,100	Brasil	22,994	22,280	22,340	22,450	22,560
Uganda	5,350	6,514	5,850	6,250	6,515	Japão	7,610	7,354	7,210	6,886	7,100
Índia	5,185	5,794	7,258	6,306	6,336	Filipinas	6,120	6,585	7,190	7,075	6,950
Honduras	4,900	6,010	4,650	5,350	5,200	Canadá	4,830	4,995	5,330	5,110	5,700
Indonésia	7,152	7,872	7,428	8,792	6,240	China	3,600	4,400	4,800	5,000	4,900
Etiópia	4,135	4,675	4,831	3,910	4,820	Indonésia	4,900	4,450	4,750	4,770	4,789
União Europeia	3,490	3,875	4,500	4,695	4,700	Rússia	4,625	4,165	4,055	4,250	4,250
Peru	3,720	3,326	4,065	3,300	4,060	Reino Unido	3,805	2,955	3,985	3,980	4,300
Outros	23,987	22,590	23,529	21,299	2,327	Etiópia	3,140	3,000	3,364	3,430	3,500
Total	138,506	144,386	14,317	134,487	146,095	Coreia do Sul	2,980	2,995	3,405	3,175	3,200
						Vietname	3,100	2,720	3,200	3,200	3,400
						México	2,620	2,589	2,850	3,000	2,950
						Austrália	1,960	2,055	2,305	2,135	2,250
						Colômbia	1,775	2,080	2,145	2,200	2,150
						Argélia	2,040	2,240	2,090	2,050	1,950
						Suíça	1,470	1,580	1,550	1,525	1,650
						Turquia	1,215	1,165	1,285	1,590	1,400
						Índia	1,170	1,180	0,875	1,240	1,285
						Argentina	0,859	0,789	0,906	1,019	1,040
						Arábia Saudita	1,040	1,200	1,140	1,300	1,000
						Ucrânia	1,270	1,235	1,300	1,080	1,175
						Marrocos	0,710	0,880	0,990	0,830	0,930
						Outros	12,210	11,920	11,631	11,861	11,804
						Total	162,661	162,430	167,921	169,011	170,233

Fonte: USDA (2023).

De acordo com as estimativas da ICO (International Coffee Organization), a produção global de café para o ano-cafeeiro 2023-2024 é projetada em aproximadamente 178 milhões de sacas de 60kg. Destas, 102,2 milhões de sacas são atribuídas aos cafés da espécie *Coffea arabica*, enquanto os cafés da espécie *Coffea canephora* (robusta+conilon) devem totalizar 75,8 milhões de sacas. Esse aumento na produção representa um crescimento de cerca de 5,8% em relação ao ano-cafeeiro anterior.

É importante destacar que, apesar do aumento na produção, o consumo global de café também está em ascensão, com uma estimativa de 177 milhões de sacas de 60 kg para o mesmo período. Isso resulta em um superávit global de aproximadamente 1 milhão de sacas, apesar de um aumento de apenas 2,2% no consumo em relação ao ano anterior.

No que diz respeito ao comércio internacional de café, os dados de exportação do mês de janeiro de 2024 mostram um crescimento significativo em várias regiões produtoras. A América do Sul, principal região produtora de café, registrou um aumento de 25,4% nas

exportações em comparação com o mesmo período do ano anterior, totalizando 5,41 milhões de sacas. A Ásia & Oceania também apresentou um crescimento expressivo, com um aumento de 47,1% nas exportações, alcançando 5,08 milhões de sacas. Por outro lado, o México & América Central registrou uma diminuição de 7,7% nas exportações, totalizando 1,11 milhão de sacas, enquanto a África viu um aumento de 6,5%, com exportações de 1,02 milhão de sacas.

### **1.1.3 Cenário Português**

De acordo com dados fornecidos pela Associação Industrial e Comercial do Café (AICC), é evidenciado que 80% da população portuguesa consome café diariamente, manifestando preferência pelo tipo expresso. A média de consumo individual é de 2,5 chavenas de café por dia, resultando em um consumo médio anual de 5 kg de café por habitante, conforme estatísticas da Federação Europeia de Café. Contrapondo-se a essa cifra, verifica-se que o consumo médio de café na Europa é de 6,4 kg por habitante por ano, segundo dados apresentados pela ChartsBin em 2015.

Destaca-se que o consumo de café em Portugal é predominantemente realizado fora do ambiente domiciliar. Este padrão é sustentado pela densidade de estabelecimentos comerciais que servem café, sendo estimado um ponto de venda para cada 160 habitantes em território português, enquanto a média europeia corresponde a um estabelecimento para cada 400 habitantes, conforme dados fornecidos pela AICC (Associação Industrial e Comercial do Café).

### **1.1.4 Processo Produtivo**

O processo de produção do café engloba uma série de etapas que começam com o cultivo e plantio das mudas em áreas adequadas para o seu desenvolvimento. Aspectos como solo, clima e outros fatores ambientais desempenham um papel crucial na determinação do sucesso da cultura do café (Davis *et al.*, 2006). A escolha das variedades de café também é um aspecto de significativa importância a ser ponderado durante esta fase do processo.

A etapa de colheita do café é crítica e requer cuidado e atenção para assegurar a seleção dos frutos no ponto ideal de maturação. A forma como a colheita é conduzida, manualmente ou mecanicamente, depende das práticas agrícolas locais e das condições climáticas.

Após a colheita, os frutos são submetidos ao beneficiamento, onde são separados das cascas e polpas, originando os grãos de café (Davis *et al.*, 2006). Os grãos são posteriormente secos para reduzir sua umidade a níveis adequados para armazenamento. Métodos de beneficiamento sustentáveis, como o processamento húmido, têm sido cada vez mais adotados visando a redução do consumo de água e minimização dos impactos ambientais.

Neste método, os frutos passam por um processo de lavagem e fermentação para remover a polpa antes da secagem. Os grãos de café recém-beneficiados são então submetidos ao processo de secagem para redução de sua umidade, podendo esta etapa ser realizada de forma natural, ao sol, ou por meio de secadores mecânicos. Em seguida, os grãos são armazenados em condições controladas para preservar sua qualidade e frescor (Davis *et al.*, 2006). A torrefação emerge como uma etapa de extrema relevância e distintiva no processo de produção do café. Durante este processo, os grãos de café são expostos a calor em temperaturas específicas, resultando em reações químicas que contribuem para o desenvolvimento do sabor e aroma característicos do café (Davis *et al.*, 2006). De acordo com Araújo *et al.* (2016), a torrefação é conduzida em tambor rotativo ou em leito fluidizado, onde os grãos são aquecidos a temperaturas entre 180°C e 240°C por um intervalo de tempo determinado. Durante este processo, ocorrem mudanças físicas e químicas nos grãos de café, incluindo a evaporação de água, a caramelização de açúcares e a formação de compostos voláteis que contribuem para o aroma do café (Bicho, 2013).

A moagem é uma etapa fundamental que visa reduzir os grãos torrados a partículas de tamanho uniforme, adequadas para a extração de sabores e aromas durante a preparação da bebida (Basseto *et al.*, 2016).

Os grãos torrados são então moídos em diferentes granulometrias, dependendo do método de preparação desejado, antes de serem embalados para preservar a sua frescura e aroma. A moagem do café exerce uma influência direta na qualidade da bebida final. Basseto *et al.* (2016) observam que, para métodos de preparação de café filtrado, como a prensa francesa ou o filtro de papel, é necessária uma moagem mais grossa, enquanto para métodos de preparação de café expresso, como as máquinas de café, é requerida uma moagem mais fina.

### **1.1.5 Resíduos**

O processo produtivo do café é reconhecidamente multifacetado, gerando uma variedade de subprodutos abrangendo desde resíduos sólidos até líquidos. Durante o beneficiamento dos grãos, a remoção das cascas destaca-se como uma etapa crítica, resultando em uma parcela significativa de resíduos (Passos *et al.*, 2018). Outro subproduto relevante é a polpa do café, que surge durante o processo de lavagem dos grãos. (Bae & Hong, 2019).

As águas residuais provenientes da lavagem dos grãos são igualmente relevantes, carregando consigo uma gama diversificada de substâncias, incluindo cafeína, o que tem impactos ambientais substanciais (Basseto *et al.*, 2016). Na etapa de torrefação e moagem, observa-se a geração de resíduos adicionais, como cascas de grãos torrados e poeira de café, o que intensifica os desafios ambientais associados à produção (Gaffney *et al.*, 2015).

Em acréscimo, as embalagens utilizadas para distribuir o café também constituem subprodutos relevantes do processo, levando considerações sobre sua gestão adequada e seu potencial impacto ambiental (Chen, 2019). É importante ressaltar que até mesmo o ato de consumir café gera resíduos, como as borras de café, que representam um desafio adicional em termos de gestão de resíduos. Essa ampla gama de subprodutos ilustra a complexidade ambiental e a diversidade de desafios associados à produção e consumo de café. (Ferreira, 2020).

### **1.1.6 Toxicidade**

A produção de café gera uma série de subprodutos ao longo de seu processo, que podem causar impactos ambientais significativos se não forem adequadamente gerenciados. Entre os principais subprodutos estão a polpa, a casca, a borra e o pergaminho, cada um com características específicas que influenciam seu potencial de toxicidade.

A polpa de café, subproduto do processamento húmido, é rica em compostos orgânicos, como carboidratos e ácidos, que podem causar alta demanda bioquímica de oxigênio (DBO) em corpos de água, levando à depleção de oxigênio e à morte de organismos aquáticos. Além disso, a polpa contém cafeína, taninos e polifenóis, compostos tóxicos para o solo e a vida aquática se não forem tratados adequadamente (Agron Food Academy, 2023).

A casca de café, resultante do processamento seco, também possui alta concentração de compostos fenólicos, que podem acidificar o solo e afetar negativamente a microbiota local, dificultando a decomposição natural e contribuindo para a poluição do ar quando queimada (Segheto, 2023). O pergaminho de café, a camada que envolve o grão, embora menos tóxico que os outros subprodutos, pode causar problemas de compactação do solo e obstrução de sistemas de drenagem se não for adequadamente descartado (Agron Food Academy, 2023). Finalmente, A borra de café, gerada após a preparação da bebida, apresenta um alto potencial poluente devido à presença de cafeína e outros compostos fenólicos, que podem alterar as propriedades físico-químicas do solo e afetar o crescimento de plantas. O manejo inadequado deste resíduo pode levar à contaminação ambiental (Segheto, 2023).

Para reduzir esses impactos ambientais, é essencial a implementação de práticas sustentáveis, como a compostagem controlada, o uso de tecnologias de biodigestão anaeróbia para a produção de biogás, e a incorporação desses subprodutos na cadeia produtiva de alimentos e cosméticos. Isso não só minimiza a toxicidade dos subprodutos (Agron Food Academy, 2023), como também contribui para uma economia circular no sector cafeeiro, promovendo a sustentabilidade e reduzindo a pegada ambiental da produção de café (Segheto, 2023).

## **1.2 Economia Circular e Desenvolvimento Sustentável**

A Economia Circular é um conceito que vem ganhando destaque como uma solução sustentável para os desafios ambientais e económicos do século XXI. Ela se contrapõe ao modelo económico linear tradicional, que se baseia no princípio de "extrair, produzir, descartar". Em vez disso, a Economia Circular promove a ideia de manter os recursos em uso pelo maior tempo possível, extraíndo o máximo valor deles enquanto estão em uso, e recuperando e regenerando produtos e materiais ao final de sua vida útil (Kirchherr, Reike, & Hekkert, 2017).

Um dos principais objetivos da Economia Circular é a redução de resíduos, o que é alcançado por meio da implementação de estratégias como reduzir, reciclar, repensar. De acordo com Geissdoerfer et al. (2017), essa abordagem não só minimiza o impacto ambiental, mas também oferece benefícios económicos significativos, como a redução dos custos de produção e a criação de novas oportunidades de negócios. Além disso, a Economia Circular

pode estimular a inovação ao incentivar o desenvolvimento de novos materiais e tecnologias que sejam mais eficientes e menos prejudiciais ao meio ambiente.

Outro aspecto importante da Economia Circular é a consideração do ciclo de vida completo dos produtos, desde a extração de matérias-primas até o descarte final. Essa abordagem holística ajuda a identificar e mitigar impactos ambientais em todas as fases do ciclo de vida do produto. Ghisellini, Cialani e Ulgiati (2016) argumentam que a implementação da Economia Circular pode contribuir significativamente para a sustentabilidade global ao promover a conservação dos recursos naturais, reduzir a dependência de matérias-primas não renováveis e diminuir a emissão de gases de efeito estufa.

No entanto, a transição para uma Economia Circular enfrenta desafios significativos. Kirchherr *et al.* (2017) destacam que um dos principais obstáculos é a necessidade de mudança de comportamento tanto por parte das empresas quanto dos consumidores. As empresas precisam adotar novos modelos de negócios que priorizem a sustentabilidade, enquanto os consumidores devem estar dispostos a adotar práticas de consumo mais responsáveis. Além disso, a implementação de políticas públicas que incentivem a Economia Circular é crucial para superar as barreiras existentes. Em conclusão, a Economia Circular representa uma abordagem inovadora e necessária para enfrentar os desafios ambientais e económicos atuais. Ao promover a eficiência dos recursos, a redução de resíduos e a inovação sustentável, ela oferece um caminho promissor para a construção de uma economia mais resiliente e sustentável no futuro.

O conceito de Desenvolvimento Sustentável é fundamental no contexto das políticas globais contemporâneas, visando harmonizar o crescimento económico, a inclusão social e a proteção ambiental. Desde a sua definição pelo Relatório Brundtland em 1987, o desenvolvimento sustentável tem sido uma referência central para estratégias de longo prazo que buscam atender às necessidades das gerações presentes sem comprometer a capacidade das gerações futuras de satisfazerem as suas próprias necessidades (World Commission on Environment and Development, 1987).

Um dos pilares do desenvolvimento sustentável é a interconexão entre as dimensões económica, social e ambiental. De acordo com Sachs (2015), a sustentabilidade económica requer que os sistemas produtivos sejam organizados de forma a garantir a viabilidade

económica de longo prazo, o que implica em práticas empresariais responsáveis, que não esgotem os recursos naturais e que favoreçam a inovação. Nesse sentido, o crescimento económico deve ser visto como um meio para atingir o desenvolvimento humano, e não como um fim em si mesmo.

A dimensão social do desenvolvimento sustentável envolve a promoção da equidade, justiça social e inclusão. Isso inclui o combate à pobreza, a redução das desigualdades e a garantia de acesso equitativo a recursos e oportunidades. Nesse contexto, as políticas de desenvolvimento devem ser direcionadas para a criação de um ambiente que permita que todas as pessoas, independentemente de sua origem ou condição social, possam usufruir dos benefícios do crescimento económico (Raworth, 2017).

Por outro lado, a dimensão ambiental é talvez a mais enfatizada nas discussões sobre sustentabilidade. A degradação ambiental, incluindo a perda de biodiversidade, a mudança climática e a poluição, representa uma ameaça direta ao desenvolvimento sustentável. Stern (2016) destaca que a transição para uma economia de baixo carbono é crucial para evitar os impactos catastróficos das mudanças climáticas, sendo imperativo que as políticas globais se alinhem a metas de redução de emissões de gases de efeito estufa.

Os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da Agenda 2030, adotados pela ONU em 2015, são um exemplo de como o conceito de desenvolvimento sustentável é operacionalizado no âmbito global. Esses objetivos abrangem uma ampla gama de questões, desde a erradicação da pobreza até a ação climática, refletindo a necessidade de uma abordagem integrada para enfrentar os desafios globais (United Nations, 2015).



**Figura 2.** Objetivos de Desenvolvimento Sustentável da ONU.

Fonte: ONU, 2015.

Contudo, a implementação do desenvolvimento sustentável enfrenta desafios significativos, incluindo a falta de integração efetiva entre as políticas económicas, sociais e ambientais, bem como a resistência de setores económicos que se beneficiam do *status quo*. Nesse sentido, a transição para modelos de desenvolvimento verdadeiramente sustentáveis requer não apenas mudanças nas políticas públicas, mas também uma transformação nas práticas empresariais e nos padrões de consumo (Kates, Parris, & Leiserowitz, 2016).

Em conclusão, o desenvolvimento sustentável permanece como uma meta global vital, exigindo uma abordagem que integre as dimensões económica, social e ambiental. A implementação efetiva desse conceito é essencial para garantir que o desenvolvimento atual não comprometa as oportunidades das futuras gerações, promovendo um futuro mais justo e sustentável para todos.

A integração dos conceitos de Economia Circular e Desenvolvimento Sustentável com o reaproveitamento de resíduos industriais e domésticos representa uma abordagem inovadora e necessária. A Economia Circular propõe um modelo em que os resíduos são vistos não como um fim, mas como recursos que podem ser reintegrados ao ciclo produtivo, reduzindo a necessidade de extração de matérias-primas virgens e minimizando os impactos ambientais associados ao descarte (Kirchherr, Reike, & Hekkert, 2017). Para que essa integração seja efetiva, é necessário superar desafios como a falta de infraestrutura adequada

para a coleta e processamento de resíduos e a necessidade de mudanças nos padrões de consumo.

As mudanças climáticas têm afetado diretamente a produção de café, com variações bruscas de temperatura, secas prolongadas e chuvas irregulares prejudicando as plantações. Com a oferta global reduzida, o preço do café tende a subir, criando desafios para consumidores e indústrias. Nesse cenário, o reaproveitamento das borras de café se torna ainda mais valioso (Venancio et al., 2020).

### **1.2.1 Reaproveitamento Borra de Café**

O reaproveitamento da borra de café tem sido objeto de crescente interesse na pesquisa científica, devido ao seu potencial para diversas aplicações e sua contribuição para a economia circular e o desenvolvimento sustentável.

Um dos principais focos de pesquisa sobre o reaproveitamento da borra de café é sua utilização para a produção de biocombustíveis. Recentemente, um estudo conduzido por Blinová et al. (2017) demonstrou que a borra de café pode ser convertida em biodiesel através de processos de transesterificação. Este processo aproveita os lípidos presentes na borra, que representam cerca de 10% a 20% do peso seco, resultando em um biodiesel de alta qualidade. Além disso, a pesquisa sublinhou o benefício ambiental desse processo, uma vez que reduz a quantidade de resíduos sólidos e diminui a dependência de combustíveis fósseis.

Outra área de pesquisa relevante é a aplicação da borra de café como fertilizante e condicionador de solo. Segundo um estudo de Khan MO et al. (2023), a borra de café, quando compostada adequadamente, pode melhorar as propriedades físico-químicas do solo, aumentando a retenção de água e a disponibilidade de nutrientes. O estudo também identificou que a aplicação da borra em solos agrícolas pode reduzir a necessidade de fertilizantes químicos, promovendo práticas agrícolas mais sustentáveis.

Adicionalmente, a borra de café tem sido explorada na produção de materiais compostos. Um estudo realizado por Mendes *et al.* (2019) investigou a incorporação da borra de café em polímeros biodegradáveis, resultando em materiais com boas propriedades mecânicas e menor impacto ambiental. Esses materiais têm potencial para substituir plásticos

convencionais em embalagens e outros produtos, alinhando-se com os princípios da economia circular.

O reaproveitamento da borra de café na indústria cosmética tem ganhado significativa atenção nos últimos anos, sendo explorado em diversos produtos devido às suas propriedades benéficas, como antioxidantes, esfoliantes e emolientes. A borra de café, antes vista como um resíduo sem valor, agora é reconhecida por sua rica composição química, que inclui ácidos clorogênicos, cafeína, lipídios e polifenóis, que podem ser utilizados de forma eficaz em produtos de cuidados pessoais.

A borra de café contém uma alta concentração de antioxidantes, principalmente ácidos clorogênicos, que combatem os radicais livres, moléculas instáveis que podem causar danos celulares e acelerar o envelhecimento da pele. Estudos recentes, como o de Zhao *et al.* (2024), destacam o uso de extratos de borra de café em formulações de cremes anti-envelhecimento e hidratantes.

A textura granular da borra de café a torna um excelente esfoliante natural, capaz de remover células mortas da pele e estimular a circulação sanguínea. Mas também são mais suaves para a pele e menos abrasivos, o que os torna adequados para uma ampla gama de tipos de pele (Kourmentza *et al.*, 2018).

Além de suas capacidades antioxidantes e esfoliantes, a borra de café contém lipídios que agem como emolientes naturais. Esses lipídios ajudam a manter a hidratação da pele, formando uma barreira protetora que impede a perda de água. Campos-Vega *et al.*, (2015) investigaram a incorporação de borra de café em formulações de loções corporais e cremes hidratantes, observando uma melhoria significativa na retenção da umidade da pele, após o uso regular desses produtos. Esse efeito é particularmente benéfico em climas secos, onde a pele tende a perder mais água.

A cafeína presente na borra de café também tem sido amplamente estudada por suas propriedades lipolíticas, que auxiliam na quebra de gordura acumulada nas células, um processo que ajuda a reduzir a aparência da celulite. Segundo Silva *et al.* (2013), produtos cosméticos à base de cafeína mostraram-se eficazes na redução da celulite quando aplicados regularmente, graças à sua capacidade de melhorar a circulação e promover a lipólise.

Além dos benefícios diretos para a pele, o uso da borra de café em cosméticos também se alinha com os princípios da economia circular e do desenvolvimento sustentável. A

reciclagem da borra de café para uso em cosméticos reduz a quantidade de resíduos sólidos que seriam descartados em aterros, ao mesmo tempo que diminui a necessidade de recursos virgens para a produção de ingredientes cosméticos. Este aspecto sustentável foi destacado por Griffin *et al.* (2018), que realssou o impacto positivo da integração de resíduos orgânicos em cadeias de valor de alto impacto, como a indústria cosmética.

### **1.3 Compostos Bioativos Presentes na Borra de Café**

Os ácidos clorogênicos são uma classe significativa de compostos fenólicos encontrados na borra de café. Estes compostos têm demonstrado forte atividade antioxidante, o que os torna potenciais agentes protetores contra o stresse oxidativo, que pode levar a doenças crônicas como diabetes e doenças cardiovasculares. Machado *et al.* (2023), têm explorado o uso de ácidos clorogênicos extraídos do café em formulações de suplementos alimentares e cosméticos, destacando sua eficácia como antioxidantes e anti-inflamatórios.

A cafeína, um alcaloide conhecido principalmente por suas propriedades estimulantes, está presente na borra de café em quantidades significativas. Além de sua capacidade de melhorar a atenção e o estado de alerta, a cafeína também apresenta propriedades antioxidantes e lipolíticas. Recentemente, Jiménez *et al.* (2015) destacaram o uso da cafeína da borra de café em produtos de cuidado pessoal, como cremes anti-celulite, devido à sua capacidade de estimular a circulação sanguínea e promover a degradação de gorduras subcutâneas.

As melanoidinas são compostos formados durante a torrefação do café através da reação de Maillard e estão presentes em grande quantidade na borra de café. Estes compostos são responsáveis pela cor escura do café e têm sido estudados por suas propriedades antioxidantes e antimicrobianas.

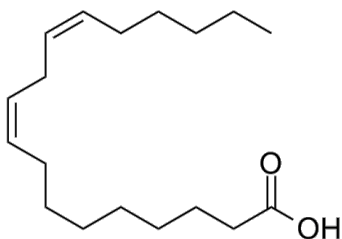
Além dos ácidos clorogênicos e melanoidinas, a borra de café é rica em outros antioxidantes, como tocoferóis e flavonoides. Esses compostos desempenham um papel crucial na neutralização de radicais livres, que estão associados ao envelhecimento celular e ao desenvolvimento de doenças crônicas. De acordo com Campos-Vega *et al.* (2015), esses antioxidantes podem ser incorporados em produtos nutracêuticos e cosméticos, oferecendo benefícios adicionais à saúde e à beleza.

### 1.3.1 Ácido Linoleico e Ácido Palmítico

O ácido linoleico é um ácido gordo poli-insaturado, pertencente à família dos ácidos gordos ômega-6. Sua fórmula química é  $C_{18}H_{32}O_2$ , e possui duas ligações duplas na configuração cis localizadas nas posições 9 e 12 da cadeia carbonada. A presença dessas duplas ligações confere ao ácido linoleico uma estrutura flexível e um ponto de fusão relativamente baixo, aproximadamente  $-5^{\circ}C$ . Devido às suas propriedades de dupla ligação, o ácido linoleico é líquido à temperatura ambiente e é sensível à oxidação (Kris-Etherton *et al.*, 2021).

O ácido linoleico é um ácido gordo essencial, o que significa que não pode ser sintetizado pelo corpo humano e deve ser obtido através da dieta. Este ácido gordo é encontrado em altas concentrações em óleos vegetais, como o óleo de girassol, óleo de soja e óleo de milho. As plantas sintetizam o ácido linoleico a partir do ácido oleico através da ação da enzima delta-12 dessaturase, que introduz uma segunda ligação dupla na cadeia carbonada (Burdge & Calder, 2015).

O ácido linoleico é amplamente utilizado na indústria alimentícia como um componente essencial de óleos de cozinha e margarinas. Além disso, devido às suas propriedades anti-inflamatórias, o ácido linoleico é frequentemente utilizado em formulações de suplementos dietéticos para a saúde cardiovascular e na prevenção de doenças inflamatórias (Johnson *et al.*, 2019). Na indústria cosmética, o ácido linoleico é valorizado por suas propriedades hidratantes e é frequentemente incluído em produtos para cuidados com a pele, como loções e cremes, para melhorar a função de barreira da pele e reduzir a perda de água transepidermica (Lin *et al.*, 2021).



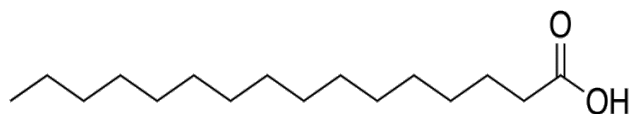
**Figura 3.** Representação esquemática da estrutura do Ácido Linoleico.

Fonte: UNIIQUIM - UNAM”, 2016.

O ácido palmítico, ou ácido hexadecanoico, é um ácido gordo saturado com a fórmula  $C_{16}H_{32}O_2$ . Ao contrário do ácido linoleico, o ácido palmítico não possui ligações duplas, o que o torna um ácido gordo saturado com uma estrutura rígida e um ponto de fusão relativamente alto, em torno de  $63^{\circ}C$ . Devido à ausência de ligações duplas, o ácido palmítico é menos suscetível à oxidação, o que o torna estável em diversas condições ambientais (Sun *et al.*, 2023).

O ácido palmítico é sintetizado endogenamente em organismos vivos através da via da biossíntese de ácidos gordos. Este processo ocorre no citoplasma das células e envolve a condensação de unidades de acetil-CoA através de uma série de reações catalisadas pelo complexo enzimático ácido gordo sintase. O ácido palmítico é o primeiro ácido gordo saturado produzido nesta via e serve como precursor para a biossíntese de outros ácidos gordos de cadeia mais longa (Zhang *et al.*, 2019).

O ácido palmítico tem ampla utilização na indústria alimentícia como um componente de gorduras e óleos saturados. Ele é utilizado na fabricação de produtos como manteigas vegetais, biscoitos, e outros alimentos processados. Além disso, o ácido palmítico é um precursor essencial na biossíntese de esfingolípídios e glicerolípídios, que são componentes importantes das membranas celulares (Mancini *et al.*, 2015). Na indústria cosmética, o ácido palmítico é frequentemente utilizado em formulações de sabonetes, cremes e loções devido às suas propriedades emolientes e estabilizadoras (Rabasco Alvarez; González Rodríguez, 2000).



**Figura 4.** Representação esquemática da estrutura do Ácido Palmítico.

Fonte: UNIIQUIM - UNAM”, [s.d.]

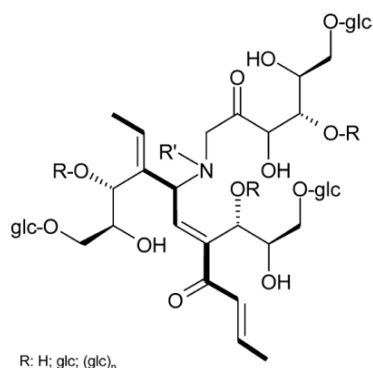
### 1.3.2 Melanoidinas

As melanoidinas são compostos de alto peso molecular formados durante a reação de Maillard, um processo não enzimático que ocorre entre aminoácidos e açúcares redutores quando os alimentos são aquecidos. Esses compostos estão presentes numa variedade de

alimentos, especialmente em produtos torrados como o café e são responsáveis por características sensoriais como cor, sabor e aroma (Murata, 2020). Além de sua importância sensorial, as melanoidinas têm despertado interesse significativo devido às suas propriedades biológicas e potenciais aplicações industriais.

As melanoidinas são compostos complexos com estruturas variáveis, dependendo dos precursores envolvidos na reação de Maillard e das condições de processamento, como temperatura e pH. Esses compostos são poliméricos e contêm uma mistura de unidades de açúcar, produtos de degradação de açúcares e derivados de aminoácidos. Devido à complexidade de suas estruturas, as melanoidinas têm uma ampla gama de propriedades físico-químicas, como capacidade de ligação a metais, solubilidade em água e propriedades antioxidantes (Morales & Somoza, 2021).

As melanoidinas são coloridas, geralmente apresentando coloração castanho a preto, e possuem alta afinidade por luz ultravioleta devido à presença de cromóforos em suas estruturas. Isso faz com que as melanoidinas sejam eficazes na absorção de radicais livres e outros agentes oxidantes, conferindo-lhes propriedades antioxidantes significativas. A estrutura polimérica das melanoidinas também lhes permite interagir com proteínas e outras macromoléculas, influenciando as propriedades físicas dos alimentos, como a textura e a retenção de umidade (Gänzle, 2022).



**Figura 5.** Representação esquemática da estrutura das melanoidinas

Fonte: Cämmerer, Jalyschkov e Kroh, 2002.

As melanoidinas são formadas no estágio final da reação de Maillard, um processo complexo que envolve várias etapas, incluindo glicação, rearranjo de Amadori, e a formação de intermediários reativos que, eventualmente, polimerizam para formar as melanoidinas. A

reação de Maillard ocorre mais intensamente em temperaturas elevadas, geralmente acima de 120°C, e em condições de baixa umidade, o que é típico em processos como torrefação e panificação (Fogliano & Morales, 2019).

Durante a torrefação do café, por exemplo, os açúcares redutores como a glicose e a frutose reagem com os aminoácidos presentes nos grãos, resultando na formação de uma série de intermediários que, através de uma série de reações de condensação e ciclização, levam à formação das melanoidinas. Essas reações não apenas contribuem para a coloração e o aroma do café torrado, mas também influenciam suas propriedades antioxidantes e antimicrobianas (Bekedam *et al.*, 2021).

Devido às suas fortes propriedades antioxidantes, as melanoidinas têm sido investigadas como conservantes naturais em alimentos, capazes de retardar a oxidação lipídica e prolongar a vida útil dos produtos alimentares. Estudos recentes, como o de Almeida e Benassi (2011), indicam que as melanoidinas extraídas de café e outros alimentos torrados podem ser usadas como ingredientes antioxidantes naturais em embalagens alimentares ativas, contribuindo para a preservação de alimentos processados.

Além de seu uso como antioxidantes, as melanoidinas têm sido estudadas por suas potenciais propriedades probióticas e efeitos benéficos sobre a microbiota intestinal. Segundo Sharma *et al.*, (2022), as melanoidinas resistem à digestão no trato gastrointestinal superior e podem servir como substrato para a fermentação pelas bactérias benéficas no cólon, promovendo a saúde intestinal. Além disso, essas propriedades prebióticas das melanoidinas podem contribuir para a redução do risco de doenças metabólicas e inflamatórias.

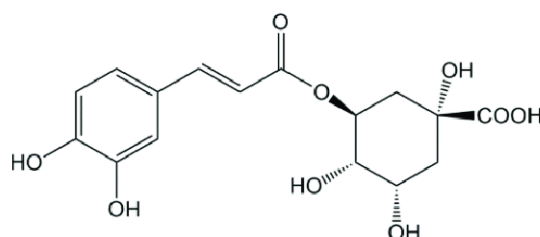
Na indústria cosmética, as melanoidinas têm sido exploradas por suas propriedades antioxidantes e de proteção UV. Como destacado por Panusa *et al.*, (2013), a incorporação de melanoidinas em formulações cosméticas pode fornecer proteção adicional contra os danos causados pela radiação ultravioleta, além de melhorar a estabilidade dos produtos. A capacidade das melanoidinas de neutralizar radicais livres também as torna ingredientes promissores em produtos antienvhecimento.

### **1.3.3 Ácidos Clorogénicos**

Os ácidos clorogénicos (CGA) possuem uma estrutura química caracterizada pela presença de grupos fenólicos e carboxílicos, que contribuem para sua solubilidade em água

e para suas propriedades antioxidantes. A estrutura básica destes ácidos inclui a ligação do ácido cafeico ao ácido quínico, formando diferentes isômeros dependendo da posição da ligação (Alcázar Magaña *et al.*, 2021)

O isômero mais comum, o ácido 5-cafeoilquínico, é o principal responsável pelas propriedades antioxidantes dos ácidos clorogênicos. Devido à presença de grupos hidroxila, os ácidos clorogênicos são altamente reativos com radicais livres, tornando-os poderosos agentes na prevenção da oxidação lipídica em sistemas biológicos e alimentares. A capacidade dos ácidos clorogênicos de sequestrar radicais livres e quelar metais de transição os torna especialmente úteis como antioxidantes naturais em alimentos e produtos farmacêuticos (Flieger *et al.*, 2021)



**Figura 6.** Estrutura Química do Ácido 5-Cafeoilquínico.

Fonte: Ideia, Pedro. 2016.

Os ácidos clorogênicos são sintetizados nas plantas através da via do ácido chiquímico, que é responsável pela biossíntese de fenilpropanóides e outros compostos aromáticos. Durante o processo de torrefação do café, os ácidos clorogênicos sofrem degradação térmica e transformações químicas que podem diminuir seu conteúdo total, mas também gerar derivados de ácido cafeico que contribuem para o perfil de sabor do café torrado (Xu *et al.*, 2019).

A formação dos CGA resulta da esterificação de ácido quínico entre alguns ácidos fenólicos, como o ácido cafeico. A variação nas condições de crescimento das plantas, como luz e nutrição, pode influenciar a concentração de ácidos clorogênicos nas plantas. Além disso, a maturação dos frutos e o processamento pós-colheita também desempenham um papel crítico na determinação dos níveis de ácidos clorogênicos nos produtos vegetais (Naveed *et al.*, 2018).

Os ácidos clorogênicos têm sido amplamente estudados por seu papel na saúde humana, especialmente na prevenção de doenças crônicas. Pesquisas indicam que os ácidos clorogênicos podem ajudar a regular os níveis de glicose no sangue, melhorar a sensibilidade

à insulina e reduzir o risco de desenvolver diabetes tipo 2 (Meng *et al.*, 2013). Além disso, suas propriedades antioxidantes contribuem para a prevenção de doenças cardiovasculares e neurodegenerativas, como Alzheimer e Parkinson, ao reduzir o estresse oxidativo e a inflamação (Fukutomi *et al.*, 2021).

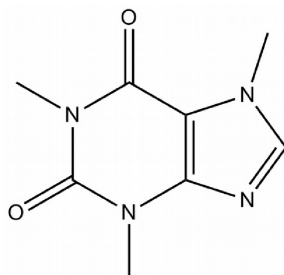
Na indústria alimentar, os ácidos clorogénicos são utilizados como antioxidantes naturais para prolongar a vida útil dos alimentos, prevenindo a oxidação lipídica e a perda de qualidade sensorial. Eles também são explorados em formulações de bebidas funcionais e suplementos dietéticos devido ao seu potencial de melhorar a saúde metabólica e proteger contra o estresse oxidativo (Santana-Gálvez *et al.*, 2017).

Na indústria cosmética, os ácidos clorogénicos são valorizados por suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, que ajudam a proteger a pele contra os danos causados por radicais livres e pela radiação ultravioleta. Eles são frequentemente incorporados em formulações de cremes e loções para retardar o envelhecimento da pele e melhorar sua elasticidade (Ermi Girsang *et al.*, 2021).

#### **1.3.4 Cafeína**

A cafeína, também conhecida como 1,3,7-trimetilxantina, possui a fórmula molecular  $C_8H_{10}N_4O_2$ . Estruturalmente composta por um anel de xantina metilado, que lhe confere características lipofílicas e hidrofílicas, permitindo-lhe atravessar facilmente a barreira hematoencefálica e exercer seus efeitos estimulantes (Institute of Medicine (US) Committee on Military Nutrition Research, 2001).

Fisicamente, a cafeína é um pó cristalino branco, amargo ao paladar, com um ponto de fusão de aproximadamente 238°C. É solúvel em água quente e em solventes orgânicos como etanol e clorofórmio, o que facilita sua extração e utilização em diferentes formulações. A cafeína é estável ao calor, mas pode sofrer degradação em condições de acidez extrema ou na presença de luz UV (Humans, 1991).



**Figura 7.** Fórmula Estrutural da Cafeína  
Fonte: Prasniewski, Anaclara & Aguiar, 2018.

A cafeína é biossintetizada em plantas como *Coffea arabica* (café), *Camellia sinensis* (chá) e *Theobroma cacao* (cacau) através de uma via metabólica complexa que envolve a conversão de xantosina em cafeína. Este processo começa com a desmetilação da xantosina, catalisada por enzimas metiltransferases, que adicionam grupos metila à estrutura da xantina. Ao longo de várias etapas, a xantosina é convertida em teobromina e, finalmente, em cafeína (Jin *et al.*, 2014).

As plantas sintetizam cafeína como um mecanismo de defesa contra herbívoros e patógenos, aproveitando as propriedades tóxicas da cafeína em grandes concentrações. Além disso, a cafeína também pode condicionar a germinação de sementes e o crescimento de plantas vizinhas, conferindo uma vantagem competitiva na natureza (KIM; CHOI; SANO, 2010).

A cafeína é amplamente utilizada na medicina devido às suas propriedades estimulantes e analgésicas. Ela é comumente encontrada em medicamentos de venda livre para dores de cabeça e enxaquecas, onde potencializa os efeitos dos analgésicos tradicionais. Estudos indicam que a cafeína pode melhorar a vigilância, a atenção e o desempenho cognitivo, especialmente em condições de fadiga (Temple *et al.*, 2019).

Além disso, a cafeína tem sido estudada por seus efeitos termogênicos, sendo um ingrediente popular em suplementos para perda de peso. Seu consumo aumenta a taxa metabólica basal e promove a lipólise, contribuindo para a queima de gordura corporal (Van Schaik *et al.*, 2021).

Na indústria alimentar, a cafeína é usada como um aditivo em bebidas energéticas, refrigerantes e chocolates. Além de melhorar o sabor, a cafeína atua como um estimulante que atrai consumidores que buscam aumentar seus níveis de energia e concentração. A

indústria de alimentos e bebidas continua a explorar novas formulações que utilizam cafeína para melhorar o desempenho e o bem-estar do consumidor (Cappelletti *et al.*, 2015).

A cafeína também encontra aplicações na indústria cosmética, onde é valorizada por suas propriedades antioxidantes e lipolíticas. Produtos para a pele que contêm cafeína, como cremes anti-celulite e cremes para os olhos, ajudam a reduzir a inflamação, melhorar a circulação e refirmar a pele. A cafeína é capaz de penetrar na epiderme e estimular a degradação de lipídios, o que pode reduzir a celulite (Herman & Herman, 2013)

#### **1.4 Cosméticos**

Os cosméticos têm uma longa história que remonta a civilizações antigas, onde eram utilizados não apenas para embelezamento, mas também para rituais religiosos e práticas culturais. No Egito Antigo, por exemplo, substâncias como o kohl (uma mistura de galena e outros minerais) eram aplicadas nos olhos, tanto por razões estéticas quanto para proteção contra o sol e possíveis infecções oculares. Os romanos e gregos também utilizavam cosméticos, incluindo perfumes e óleos essenciais, em seus cuidados pessoais e rituais diários (Barel, Paye & Maibach, 2009).

O termo “cosmético” deriva da palavra grega "kosmetikos", que significa “habilidoso na ornamentação”. A prática de usar cosméticos se espalhou ao longo dos séculos, evoluindo com o tempo para se tornar uma indústria global multifacetada que abrange produtos para a pele, cabelos, fragrâncias, maquiagem e higiene pessoal.

Cosméticos são definidos como produtos destinados a serem aplicados no corpo humano com o objetivo de limpar, embelezar, promover atratividade ou alterar a aparência sem afetar a estrutura ou funções do corpo. Essa definição inclui uma ampla gama de produtos, desde cremes hidratantes e champô até perfumes e produtos de maquiagem (Draelos, 2021).

No contexto regulamentar, os cosméticos são distintos de medicamentos porque não alegam tratar ou curar doenças. No entanto, a fronteira entre cosméticos e produtos terapêuticos pode ser tênue, especialmente com o aumento dos cosmeceúticos, que são produtos que combinam cosméticos com ingredientes bioativos para fornecer benefícios além do simples embelezamento (Laxmi, 2015).

Os cosméticos possuem uma variedade de características que determinam sua eficácia, segurança e aceitabilidade pelo consumidor. Entre essas características estão:

- Estabilidade: Refere-se à capacidade do produto de manter suas propriedades físicas, químicas e microbiológicas durante o prazo de validade.
- Textura e Sensação: A textura e a sensação do produto na pele são fundamentais para a aceitação do consumidor. A reologia, ou comportamento de fluxo, é frequentemente ajustada para garantir uma aplicação suave e agradável (Asanuma *et al.*, 2018).
- Compatibilidade Cutânea: É essencial que os cosméticos sejam compatíveis com diferentes tipos de pele e não causem irritação ou reações alérgicas. Testes dermatológicos são cruciais para garantir a segurança do produto (Draelos, 2021).
- Eficácia: A eficácia de um cosmético é medida pela sua capacidade de cumprir as promessas feitas ao consumidor, como hidratação, redução de rugas ou proteção contra raios UV (Elsner & Maibach, 1999).

Os cosméticos podem ser classificados de acordo com suas principais funções:

- Limpeza: Produtos como champô, sabonetes e loções de limpeza são formulados para remover sujidade, sebo, células mortas e outras impurezas da pele e do cabelo.
- Proteção: Protetores solares e hidratantes são usados para proteger a pele contra os efeitos nocivos do sol e do ambiente, incluindo a poluição e o clima extremo.
- Embelezamento: A maquiagem, incluindo batons, sombras e bases, é usada para realçar ou modificar a aparência.
- Hidratação e Nutrição: Cremes, loções e sérums fornecem hidratação essencial e nutrientes para manter a saúde da pele, prevenindo o ressecamento e melhorando a elasticidade (Barel, Paye & Maibach, 2009).

#### **1.4.1 Mercado**

O mercado global de cosméticos tem experimentado um crescimento robusto nas últimas décadas, impulsionado por fatores como o aumento da consciencialização sobre cuidados pessoais, a crescente demanda por produtos naturais e orgânicos, e a expansão das economias emergentes. Em 2023, o mercado global de cosméticos foi avaliado em cerca de 313,22 bilhões de dólares, com previsões de crescimento para 417,44 bilhões de dólares até 2030, a uma taxa de crescimento anual composta (CAGR) de 4.2% (Insights, 2023).

As principais demandas globais incluem produtos para cuidados com a pele, maquiagem, cuidados capilares e fragrâncias. Os cuidados com a pele lideram o mercado, representando aproximadamente 39% do total, seguidos por produtos capilares e maquiagem. A demanda crescente por produtos que combinam eficácia com ingredientes naturais e sustentáveis tem impulsionado a inovação no setor, especialmente em mercados maduros como a América do Norte e a Europa (Euromonitor International, 2018).

A Europa é o maior mercado de cosméticos do mundo, com um valor estimado em 96 bilhões de euros em 2023 (Cosmetics Europe, 2023). A região continua sendo um líder global, não apenas em termos de consumo, mas também como um centro de inovação e regulamentação rigorosa. A União Europeia possui alguns dos regulamentos mais restritos em relação à segurança e composição de cosméticos, o que impulsiona a procura por produtos de alta qualidade e segurança.

Os principais mercados dentro da Europa incluem a Alemanha, França, Reino Unido, Itália e Espanha, com a Alemanha e a França liderando em termos de consumo. O mercado europeu tem visto um aumento na demanda por produtos naturais e orgânicos, à medida que os consumidores se tornam mais conscientes dos impactos ambientais e dos ingredientes sintéticos. A sustentabilidade e a transparência são agora fatores críticos que influenciam as decisões de compra dos consumidores europeus (Kneipp GmbH, 2023).

As projeções futuras indicam um crescimento contínuo, embora mais moderado, devido à maturidade do mercado e à crescente competição. Estima-se que o mercado europeu de cosméticos cresça a uma taxa de aproximadamente 4,5% ao ano até 2028, com um foco crescente em produtos de nicho, como cosméticos veganos e *cruelty-free* (Europe Beauty and Personal Care Products Market | Growth | Forecasts, n.d.)

As projeções futuras para o mercado global e europeu de cosméticos indicam um crescimento contínuo, impulsionado por inovações em formulações, o aumento da procura por produtos personalizados e o crescimento dos canais de venda online. O mercado de cosméticos, especialmente na Europa, tende a ser mais informado e exigente, buscando produtos que alinhem eficácia, segurança e sustentabilidade.

O mercado português, embora menor, seguirá as tendências europeias, com um foco crescente em produtos naturais, orgânicos e sustentáveis. As marcas que podem oferecer

produtos de alta qualidade com um forte compromisso com a responsabilidade ambiental provavelmente se destacarão num mercado cada vez mais competitivo.

#### **1.4.1 Produtos Naturais em Cosméticos**

O uso de produtos naturais em cosméticos tem-se tornado uma tendência crescente, o impacto das redes sociais e da Internet aumentou a sensibilização para os riscos associados à utilização de muitos produtos químicos nos cosméticos e para os benefícios para a saúde dos produtos naturais derivados de plantas e de outros recursos naturais. Como resultado, a indústria cosmética está agora mais atenta aos produtos naturais (Alves *et al.*, 2020).

Os cosméticos naturais não só atraem consumidores preocupados com a saúde e o meio ambiente, mas também oferecem uma alternativa viável e eficaz aos produtos sintéticos. A indústria cosmética tem respondido a essa demanda com um aumento significativo no lançamento de produtos que utilizam ingredientes naturais certificados e embalagens ecológicas (Dini, 2024).

Apesar dos benefícios e do apelo dos cosméticos naturais, a indústria enfrenta desafios relacionados à padronização, estabilidade e eficácia dos ingredientes naturais. A variabilidade na composição química dos extratos vegetais, que pode ser influenciada por fatores como local de cultivo, condições climáticas e métodos de extração, apresenta desafios para a padronização de produtos (Xu *et al.*, 2017). Além disso, a estabilidade dos ingredientes naturais durante o armazenamento e a aplicação é uma preocupação que a indústria continua a abordar por meio de avanços tecnológicos e inovações em formulação (Wang *et al.*, 2023).

#### **1.4.2 Bruma facial**

As brumas faciais, conhecidas também como *face mist*, têm se destacado no universo dos cosméticos devido à sua capacidade de revitalizar e refrescar a pele de maneira imediata. Oferecem benefícios tanto para peles oleosas quanto para secas e mistas hidratando sem sobrecarregar as peles muito oleosas, aliviam a sensação de repuxamento das peles secas e mantêm o equilíbrio das mistas. (Elle Brasil, 2021).

As brumas faciais são altamente multifuncionais, o que as torna uma excelente adição à rotina de cuidados com a pele. Além de hidratarem, elas preparam a pele para a aplicação de maquiagem, ajudam a diluir cosméticos sem comprometer sua eficácia, acalmam peles sensíveis, removem o excesso de oleosidade e protegem contra a poluição ambiental. Outro

benefício significativo é sua capacidade de selar a humidade na pele, potencializando a hidratação fornecida por outros produtos aplicados em conjunto.

A aplicação da bruma facial é simples e rápida. O produto é pulverizado em forma de *spray*, criando uma névoa sobre o rosto que não necessita enxaguar. Para aplicá-la corretamente, recomenda-se segurar o frasco a cerca de 30 centímetros de distância do rosto, sempre com os olhos fechados. Esta técnica garante uma distribuição uniforme do produto, promovendo seus efeitos benéficos de maneira otimizada.

## **2. Objetivos**

### **2.1 Objetivo Geral**

Com o objetivo de desenvolver um produto cosmético, uma bruma facial a partir de resíduos comerciais do café, este trabalho busca extrair compostos bioativos presentes na borra de café e desenvolver uma formulação natural visando atender a demandas do mercado e ambientais atuais.

### **2.2 Objetivos Específicos**

- Realizar um estudo de viabilidade do uso da borra de café, provenientes dos cafés na cidade de Bragança;
- Analisar os compostos bioativos presentes em extratos obtidos a partir de diferentes métodos de extração;
- Desenvolver um produto cosmético natural utilizando extrato da borra de café, com um método adaptável para uma escala produtiva média ou grande.
- Analisar a estabilidade, toxicidade e eficiência da formulação cosmética

### 3. Metodologia

#### 3.1 Estudo de Viabilidade

Neste trabalho será realizado um estudo de campo com os cafés de Bragança com a finalidade de compreender qual o destino dado aos resíduos do café nestes estabelecimentos atualmente e se existe a possibilidade de destiná-los a um fim mais sustentável. Foram entrevistadas uma parcela dos cafés da cidade e caso fosse aceite, foi aplicado um questionário. O questionário que utilizado foi adaptado a partir do trabalho realizado por Pires & Gewandsznajder (2020), A intenção deste questionário é entender como o setor percebe a questão do resíduo de café e se estão dispostos a encontrar uma solução mais apropriada para este subproduto. Na figura 8 encontra-se o questionário que foi aplicado durante as entrevistas aos estabelecimentos.

1. De que forma a borra de café é descartada atualmente neste estabelecimento?
2. Existe algum tipo de reaproveitamento da borra gerada?
3. Quanto de borra é gerado por dia, aproximadamente?
4. Estariam dispostos a separar a borra de café dos demais resíduos e disponibilizá-la gratuitamente a uma empresa que realizasse a coleta para o seu reaproveitamento?
5. Estariam dispostos a vender a borra do café devidamente separada, entregando-a em um ponto de coleta? E para trocá-la por algum produto/serviço?
6. Pagariam por um serviço de coleta de borra de café, sabendo-se que seria disponibilizado um recipiente especial para a separação da borra e podendo-se utilizar este serviço como discurso de sustentabilidade para a marca?

**Figura 8.** Questionário aplicado aos estabelecimentos

Fonte: Adaptado de Pires & Gewandsznajder (2020).

Para se obter uma visão mais abrangente do cenário de Bragança, investigou-se quantos estabelecimentos que comercializam café de forma significativa estão presentes no conselho. Isto será realizado com a finalidade de compreender se o volume de resíduo gerado na cidade seria viável para a demanda industrial. Os locais identificados serão cafés e pastelarias e para essa análise, serão utilizados dados provenientes do Google Maps e do guia Portugalio.

## 3.2 Obtenção da Borra de Café

A borra de café foi obtida no dia 25 de outubro de 2023, através da contribuição de um café local no distrito de Bragança. O café utilizado é da marca Café Tony®, (Bispo & Sampaio-Torrefacção e Comércio de Café) que possui a sua sede localizada em Porto e a espécie de café utilizada é *Coffea arabica*.

O volume total recolhido foi 1,480 Kg, provenientes de um dia de atividade, após a recepção da amostra, a borra húmida foi submetida a secagem em estufa a 50 °C durante 3 dias.

### 3.2.1 Quantificação da Cafeína

A quantificação da cafeína foi realizada com a finalidade de se perceber se na borra utilizada haveria concentrações elevadas desta substância, que pode ser tóxica em altas concentrações. Para quantificar utilizaram-se métodos clássicos descritos por Vogel (1984), que se baseia nos princípios de extração com solvente orgânico e purificação por recristalização.

Pesaram-se 60 g da borra de café, que foram colocadas em um goblé de 400 mL com 200 mL de água destilada, seguida da adição de carbonato de sódio em pó, fervendo a mistura por 15 minutos. A mistura quente foi filtrada em um funil de Büchner sob pressão reduzida, utilizando um aparato conectado à torneira do lavatório. O material retido no funil foi recolhido no goblé utilizado anteriormente, adicionado a 50 mL de água, fervido novamente por cerca de 10 minutos, e filtrado outra vez sob pressão reduzida. A mistura foi então transferida para uma ampola de decantação e adicionaram-se 15 mL de diclorometano ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) Sigma Aldrich. A ampola foi agitada suavemente, invertida, e agitada novamente, com a abertura regular da torneira para liberar a pressão interna.

Após a separação visível das fases inorgânica e orgânica, preparou-se um balão de fundo redondo seco, que foi pesado e registrado, e foi coberto com papel de filtro e algodão, sobre os quais se colocou sulfato de sódio. A fase orgânica (inferior) foi recolhida num goblé, repetindo-se a extração com mais duas vezes com 15 mL de diclorometano e recolhendo todas as fases do goblé. As fases orgânicas recolhidas foram filtradas por gravidade usando o funil e o balão preparados previamente, com diclorometano adicional sendo utilizado para lavar o sulfato de sódio no funil, recolhendo o filtrado no balão de fundo redondo. O diclorometano foi evaporado no evaporador rotativo (Adam et al., 1996), e no dia seguinte o

pó branco remanescente nas paredes do balão foi pesado, determinando-se assim a quantidade de cafeína extraída da borra de café.

Após pesar novamente o balão contendo o pó obtido da evaporação do diclorometano, calcularam-se a quantidade de cafeína impura obtida e o rendimento do processo, considerando a quantidade de material inicial utilizado. A cafeína obtida foi então dissolvida em 6 a 7 mL de acetona quente (aproximadamente 40°C), utilizando placas de aquecimento e um goblé com a acetona, que, após ser aquecida, foi acrescentada ao balão com o pó. A solução foi transferida para um tubo de ensaio seco usando uma pipeta de Pasteur. Enquanto a solução ainda estava quente, adicionaram-se algumas gotas de éter de petróleo (40-60°C), agitando a mistura até que ficasse turva. Em seguida, a solução foi reaquecida e depois arrefecida, primeiro em água fria e depois em gelo, até que se obtivesse uma cristalização abundante. Os cristais foram recolhidos em um funil de Büchner com papel de filtro e lavados novamente com éter de petróleo, sendo então secos sob vácuo.

### **3.3 Extração dos Compostos Bioativos**

A extração dos compostos bioativos foi realizada nos mesmos padrões de massa de amostra, tipo de solvente e volume de solvente utilizado, para que nas próximas etapas os métodos executados sejam comparados e avaliados em termos de melhor rendimento e maior concentração de compostos antioxidantes.

#### **3.3.1 Infusão**

Num goblé, adicionou-se aproximadamente 10 g da borra de café seca e 200 mL de solução de etanol e água (80:20, v/v) após atingir a ebulição. A amostra e a solução hidroalcolica quente foram mantidas em contato por um período de 5 minutos fora da fonte de calor, e em seguida a solução foi filtrada com papel filtro. Após a filtração removeu-se o solvente em evaporador rotativo a uma temperatura de 50 °C e rotação de 250 rpm. O extrato seco obtido foi armazenado a 4 °C.

#### **3.3.2 Decocção**

Num goblé, adicionou-se aproximadamente 10 g de borra de café seca e 200 mL de solução de etanol e água (80:20, v/v). A amostra e a solução hidroalcolica são submetidas a aquecimento até atingir o ponto de ebulição do solvente, e são mantidos em fervura durante

5 minutos. Em seguida a solução foi filtrada com o auxílio de um papel filtro e posteriormente removeu-se o solvente em evaporador rotativo a uma temperatura de 50 °C e rotação de 250 rpm. O extrato seco obtido foi armazenado a 4 °C.

### 3.3.3 Maceração

A extração por maceração também foi realizada por meio da solução hidroalcolica com 10 g de borra de café seca. A mistura foi submetida a agitação e aquecimento com temperatura de 40 °C durante 1 hora, em seguida filtrou-se a mistura com papel filtro e realizou-se a evaporação do solvente com evaporador rotativo a 50 °C e rotação de 250 rpm. O extrato seco obtido foi armazenado a 4 °C.

### 3.3.4 Ultrassom

Num goblé com 200 mL de solução etanol e água (80:20, v/v) e 10 g da borra de café seca foi submetido a ultrassons durante 3 minutos em temperatura ambiente e 250 W de potência, em seguida a mistura foi filtrada com o auxílio de papel filtro e destinada ao evaporador rotativo a uma temperatura de 50 °C e rotação de 250 rpm até total evaporação do solvente. O extrato seco obtido foi armazenado 4 °C.



**Figura 9.** Processo de evaporação rotativa do solvente de extrato borra de café

### **3.3 Análises**

#### **3.3.1 Fenólicos Totais Extratos**

A determinação dos compostos fenólicos por espectrofotometria foi realizada seguindo o método descrito por Slinkard & Singleton (1977), empregando o reagente de Folin-Ciocalteu.

O procedimento foi realizado com 50 mg de extrato ressuspensando em 10 ml de água ultrapura (0,5 mg/ml de cada extrato). Em triplicado, numa microplaca de 96 poços adicionou-se 25 µL de amostra e 125 µL de reagente de Folin-Ciocalteu, após 5 minutos adicionou-se 100 µL de solução de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 7,5% em água. Em seguida a placa foi mantida à temperatura ambiente ao abrigo da luz durante 2 horas e mediu-se as absorvâncias.

As absorvâncias foram medidas utilizando um espectrofotômetro UV-VIS SPECTROstar Nano a 760 nm, com três réplicas para cada análise. A curva de calibração foi gerada a partir de cinco diluições de ácido gálico, variando entre 0,0125 e 0.2 mg/mL. Os resultados foram expressos como miligramas de equivalente de ácido gálico (EAG) por grama de amostra.

#### **3.3.2 Flavonoides Totais Extratos**

A determinação de flavonoides foi realizada seguindo a metodologia descrita por Dewanto *et al.* (2002), com algumas adaptações. Essa técnica baseia-se na medição da absorvância a 415 nm, correspondente ao complexo formado entre o flavonoide e o alumínio presente no reagente de cor, resultando em compostos de coloração amarelada.

O procedimento foi realizado com aproximadamente 50 mg de extrato ressuspensando em 10 ml de água ultrapura (0,5 mg/ml de cada extrato). Em uma microplaca de 96 poços, em triplicado, adicionou-se 50 µL de amostra, 130 µL de Metanol puro, 10 µL de Acetato de Potássio (1M) e 10 µL de Nitrato de Alumínio (10%). Após 40 minutos realizou-se a medição da absorvância das amostras.

Os resultados foram expressos em equivalentes de Kaempferol (EK) por grama de amostra. As análises foram conduzidas em um espectrofotômetro UV-VIS Thermo.

### 3.3.3 Atividade Captadora dos Radicais Livres 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH)

Para avaliar a capacidade dos diferentes extratos de borra de café de neutralizar os radicais livres de DPPH, foi seguido o método descrito por Mensor *et al.* (2001), com adaptações. Neste procedimento, numa microplaca de 96 poços adicionou-se em triplicado 30 µL de soluções de diferentes concentrações dos extratos e foram misturados a 270 µL de uma solução metanólica de DPPH ( $6 \times 10^{-3}$  mol/L). Em seguida a mistura foi mantida no escuro à temperatura ambiente por 60 minutos.

A capacidade antioxidante foi determinada por meio de leitura espectrofotométrica SPECTROstar a 517 nm, sendo os resultados calculados expressos em EC<sub>50</sub> através seguinte equação:

$$Xa = \frac{X2 - X1}{Y2 - Y1} * (YA - Y1) + X1$$

Xa = valor de EC<sub>50</sub>

X1 e X2 = concentrações: X1 concentração < Abs 0,5 e X2 concentração >%ACR 50%

Y1 e Y2 = %ACR correspondentes às concentrações.

YA= 50

Valor de EC<sub>50</sub> é concentração de amostra responsável pelo sequestro de 50% de radicais DPPH ou a concentração de amostra que fornece 0,5 de absorvância. A percentagem de atividade captadora de radicais (%ACR) foi calculada de acordo com a equação abaixo, onde Ac equivale à absorvância do controlo, e a absorvância da amostra.

$$\%ACR = 100 \times [(Ac - Aa) / Ac]$$

### 3.3.4 Poder Redutor Extratos

A metodologia descrita por Berker *et al.* (2007) foi adaptada e utilizada para avaliar o poder redutor dos extratos. A cor amarela da solução inicial altera-se para diferentes tons de verde e azul, dependendo da capacidade redutora de cada extrato (Alasalvar *et al.*, 2006), devido à presença de compostos antioxidantes, que reduzem o complexo Fe<sup>3+</sup>/ferricianeto para sua forma ferrosa, resultando em uma coloração azul conhecida como "Perl's Prussian" (Ferreira *et al.*, 2007).

Numa microplaca de 96 poços 50 µL do extrato em diferentes concentrações (de 10 a 0,125 mg/mL) e misturado com 50 µL de tampão fosfato de sódio 0,2M, com pH ajustado para 6,6, e 50 µL de solução de ferricianeto de potássio a 1%(m/v).

A mistura foi então incubada a 50°C por 20 minutos. Após esse período, a mistura foi arrefecida e 50 µL de ácido tricloroacético a 10% foram adicionados, e em seguida, 80 µL do sobrenadante resultante foram retirados e combinados com 80 µL de água destilada e 16 µL de cloreto férrico (III) a 0,1%. (A capacidade redutora dos extratos foi medida pela leitura da absorbância a 690 nm em um espectrofotômetro UV-VIS Thermo.

A concentração de extrato necessária para atingir uma absorvância de 0,5 (EC<sub>50</sub>) foi determinada a partir da curva que relaciona a absorvância medida a 690 nm com a concentração do extrato

### **3.3.5 Fator de Proteção Solar Extratos**

O Fator de Proteção Solar (FPS) é uma medida crítica para avaliar a eficácia de um protetor solar. Um valor de FPS mais alto indica uma maior capacidade do produto em proteger a pele contra os danos causados pela radiação ultravioleta (UV). Essa proteção pode ocorrer de várias maneiras, incluindo a absorção da radiação UV pela pele, a reflexão das ondas solares ou a dispersão da luz, minimizando sua penetração. Preparou-se soluções dos extratos liofilizados a uma concentração de 2000 ppm em metanol absoluto, conforme o método adaptado de Mansur *et al.* (1986) e submetidas a leitura em espectrofotômetro VWR, em uma faixa de absorvância de 290 nm a 320 nm com escala de 5 nm. Utilizou-se cuvets de quartzo.

A escala de proteção solar é utilizada para classificar a eficácia dos produtos solares na proteção contra a radiação ultravioleta (UVB), sendo baseada nos valores de Fator de Proteção Solar (FPS). Segundo Autier *et al.*, (1999) de acordo com os parâmetros estabelecidos, os produtos podem ser categorizados em quatro níveis: baixa proteção (FPS 6-14), proteção moderada (FPS 15-29), alta proteção (FPS 30-50) e muito alta proteção (FPS acima de 50). A determinação do FPS é frequentemente realizada em laboratório (*in vitro*), e a espectrofotometria UV-vis, como desenvolvida por Mansur *et al.* (1986) em que introduziram uma equação matemática simples e prática, que substitui um método *in vitro* anterior proposto por Sayre *et al.* em 1979.

Esta equação utiliza a espectrofotometria UV para calcular o Fator de Proteção Solar (FPS) de produtos solares. A equação considera vários fatores, incluindo o espectro de efeito eritemal (que mede a capacidade dos raios UV de causar vermelhidão na pele), o espectro de intensidade solar e a absorvância do protetor solar. A equação para determinar o valor de FPS pode ser vista a seguir:

$$FPS = CF * \sum_{290}^{320} * EE(\lambda) * I(\lambda) * Abs(\lambda)$$

Com base nessa equação, temos as seguintes variáveis: CF (Fator de Correção) = 10, EE (Efeito Eritemogênico), I é a intensidade simulada da luz solar, e Abs é a absorvância da amostra. O valor de EE x I pode ser visto na Tabela x.

**Tabela 2.** Função de produto normalizada usada no cálculo do FPS

Comprimento de Onda (nm)	EE x I
290	0,0150
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0839
320	0,0180

Fonte: (Sayre *et al.*, 1979)

### 3.4 Desenvolvimento do Produto Cosmético

#### 3.4.1 Análise Microbiológica Bolores e Leveduras

A análise microbiológica do extrato que será utilizado como princípio ativo no cosmético, tem como objetivo avaliar a possível proliferação de leveduras e bolores, micro-organismos frequentemente associados a esse tipo de subproduto, além da humidade associada resultante do processo da preparação do café. Portanto, é preciso investigar a concentração desses micro-organismos que podem representar potenciais contaminantes para o produto cosmético em desenvolvimento.

Utilizou-se placas de petrí com meio MYP ágar para quantificar *Bacillus cereus*, o ágar DRBC (Rosa Bengala) para quantificar bolores e leveduras gerais e o meio BP (Baird Parker) para quantificar *Staphylococcus aureus*. Em cada placa adicionou-se 100 µL do extrato e as placas foram incubadas durante 48 horas a 37 °C em estufa.

### 3.4.2 Extração dos óleos essenciais

Para a extração dos compostos voláteis, foram coletadas amostras da parte aérea de *Rosmarinus officinalis* (alecrim) na área do Parque Urbano de Ferverença e da parte aérea e inflorescências de *Thymus zygis zygis* (tomilho) na aldeia de Rebordãos.



**Figura 10.** *Rosmarinus officinalis* e *Thymus zygis zygis* no momento da colheita.

Para o processo de extração do alecrim, utilizou-se uma alíquota de 150 g da planta, juntamente com 1,0 L de água ultrapura. No caso do tomilho, foram utilizados 100 g da planta e 1,0 L de água ultrapura. As amostras e a água são adicionadas a um Erlenmeyer e submetidas ao sistema de extração de Clevenger. A destilação ocorreu por um período de 1 hora, contada a partir do início da ebulição da água. Após o processo, os óleos essenciais foram recolhidos, sendo determinados os rendimentos das extrações, e o material obtido foi armazenado a  $-18^{\circ}\text{C}$  para uso posterior.



**Figura 11.** Extração dos óleos essenciais de *Rosmarinus officinalis* e *Thymus zygis zygis* através do aparelho de Clevenger.

### 3.4.3 Ingredientes, Formulação e Embalagem

O extrato da borra de café foi incorporado a um produto cosmético, o produto em si trata-se de uma bruma facial, a composição foi elaborada a partir do trabalho de Fatthiya Lisyanti *et al.*, 2022 com adaptações. Para este trabalho, os ingredientes selecionados são de origem natural. A formulação deste tipo de produto envolve a adição dos ingredientes num goblé. A concentração do extrato da borra café foi decidida a partir da recomendação geral encontrada na literatura onde, concentração recomendada de extratos botânicos em cosméticos naturais varia de acordo com o tipo de extrato e seu uso pretendido, mas normalmente está entre 2% e 5%. Essa faixa é indicada para garantir a eficácia dos ingredientes sem comprometer a segurança ou a estabilidade do produto. Isso é importante porque concentrações muito altas podem causar irritações, enquanto concentrações muito baixas podem não proporcionar os benefícios desejados. Essa orientação é suportada por órgãos reguladores e referências sobre a formulação de cosméticos seguros e eficazes (Monagas *et al.*, 2022).

**Tabela 3.** Ingredientes formulação cosmética desenvolvida.

Ingredientes	INCI	CAS	%(m/m)	Função
Água destilada	Aqua	7732-18-5	93	Base/Veículo
Glicerina	Glycerol	56-81-5	4	Emoliente
Extrato café	<i>Coffea Arabica</i> seed extract	84650-00-0	2	Substância ativa
Óleo essencial de alecrim	<i>Rosmarinus officinalis</i> leaf oil	84604-14-8	0,25	Conservante
Óleo essencial de Tomilho	<i>Thymus zygis</i> oil	85085-75-2	0,75	Conservante
Óleo semente de cenoura	<i>Daucus carota</i> seed oil	84929-61-3	0,1	Vitamina E

A embalagem escolhida para o produto cosmético foi um frasco de vidro fosco, para diminuir o contacto da luz solar com o produto, além disto o frasco possui também um pulverizador para a aplicação do produto que se trata de um líquido, uma bruma facial.

### 3.4.4 Testes de Estabilidade

Os testes foram conduzidos em conformidade com a norma ISO/TR 18811:2018, *Cosmetics - Guidelines on the Stability Testing of Cosmetic Products*. Para a realização dos testes, 25 g do produto foram distribuídos em cinco frascos de vidro que simulam a

embalagem final. Cada frasco foi submetido a diferentes condições de iluminação e temperatura, conforme descrito abaixo:

- 4 °C
- Temperatura ambiente em ambiente escuro
- Temperatura ambiente sob exposição à luz solar
- 45 °C

Os testes foram realizados em intervalos de tempo determinados: no momento do desenvolvimento do produto, após 30, 60 e 90 dias, além de uma amostra submetida a uma condição acelerada que simula um período de 120 dias.

#### **3.4.4.1 pH**

A medição do pH foi realizada utilizando-se um potenciômetro digital (Mettler Toledo). As leituras foram efetuadas mediante a submersão do eletrodo diretamente na amostra. Considerando que a amostra analisada era água, não houve a necessidade de processos de dissolução prévios

#### **3.4.4.2 Cor**

O teste de cor foi realizado com o colorímetro (Chroma meter CR-400 utilizando o sistema de cor CIELab, observando os parâmetros de cor a\*, b\* e luminosidade.

#### **3.4.4.3 Densidade**

A massa de uma proveta de 10 mL foi tarada utilizando uma balança de precisão. Em seguida, foram adicionados exatamente 10 mL da amostra na proveta, garantindo a máxima precisão na medição do volume. A massa correspondente ao volume adicionado foi anotada, permitindo a determinação da densidade de cada amostra. A equação a seguir foi utilizada para determinar a densidade:

$$\text{Densidade} = \frac{\text{massa (g)}}{\text{volume (mL)}}$$

#### **3.4.4.4 Aspecto e Odor**

Este é um teste organolético, sendo realizado com o uso dos sentidos (aroma, cor, textura e sensação na aplicação cutânea) para avaliar a qualidade destas características da amostra.

#### **3.4.4.5 Separação de Fases**

Este teste foi realizado para avaliar a estabilidade da formulação. Para tal, em três réplicas, foram utilizados 1 g de amostra, acondicionados em tubos de Eppendorf de 1,5 mL, que foram submetidos à centrifugação a 3000 RPM por 30 minutos.

#### **3.4.4.6 Teste de Estabilidade Acelerado**

O teste acelerado simula através da temperatura e humidade o tempo equivalente a 6 meses em 15 dias, para isto, a amostra é submetida a temperatura de 40 °C e humidade relativa de 75%. Após este período realizou-se as mesmas análises de estabilidade da amostra.

### **3.4.5 Avaliação da proteção antimicrobiana do produto cosmético**

Conhecido como Challenger test ou teste desafio é um procedimento realizado para determinar a capacidade de proteção antimicrobiana do conservante do produto cosmético, o mesmo está descrito na ISO 11930- Evaluation of the antimicrobial protection of a cosmetic product (ISO, 2019). Todos os testes foram realizados com materiais esterilizados e em câmara de fluxo laminar horizontal.

#### **3.4.5.1 Meios de Cultura, Diluentes e Neutralizador**

Os microrganismos utilizados para o Challenger test compreendem em três tipos de bactérias, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* e dois tipos de fungos, *Candida albicans* e *Aspergillus brasiliensis*. Os meios de culturas utilizados para crescimento das bactérias é o tryptic soy agar (TSA), para a *Candida* Sabouraud dextrose agar (SDA) e para o *Aspergillus* potato dextrose agar. Estes meios podem ser adquiridos prontos ou preparados conforme as instruções presentes na ISO 11930.

O diluente foi utilizado para a preparação das soluções dos inóculos e realizar as diluições seriadas no teste de controlo do inóculo, a composição do mesmo é de 1,0 g de peptona, 8,5 g de cloreto de sódio e 1 L de água estéril. Também se preparou a solução de polisorbato 80 (0,5 g/L) para a suspensão de *Aspergillus brasiliensis*, utilizada para a contagem dos esporos. O neutralizador utilizado foi a solução Eugon LT 100, este produto tem a função de neutralizar os conservantes da formulação cosmética para que qualquer ação do conservante seja inibida durante as análises periódicas do Challenge test.

#### **3.4.5.2 Preparação dos microrganismos e soluções dos inóculos**

Os microrganismos utilizados são identificados nas seguintes estirpes NCTC®12923 *Escherichia coli*, PPA27021 *Pseudomonas aeruginosa*, PSA12110 *Staphylococcus aureus*, PCA25100 *Candida albicans* e PAB16110-A *Aspergillus brasiliensis*.

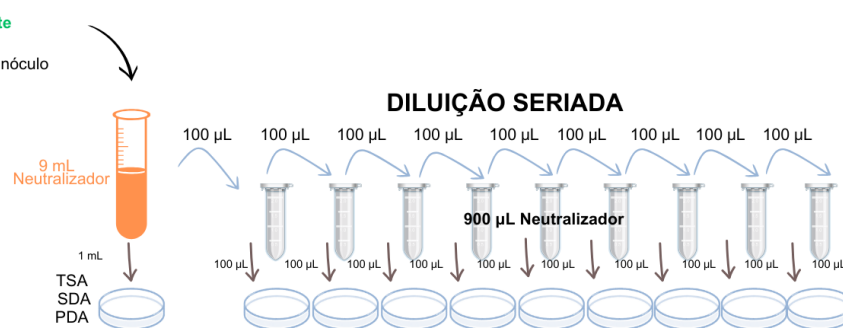
Inicialmente foi realizada a ativação dos microrganismos, as estirpes liofilizadas são dissolvidas em 20 mL de água estéril e plaqueadas em seus meios de culturas específicos (detalhados anteriormente). As baterias são incubadas de 24 a 48 h a 37 °C, a *C. albicans* por 48 h a 25 °C e o tempo de incubação para o *A. brasiliensis* é de 5 dias a 25 °C. Foram feitas quatro repicagens das placas conforme é recomendado pelo procedimento, para se obter microrganismos mais ativos, estas repicagens foram realizadas nos dias que antecedem o dia do teste e as culturas utilizadas encontravam-se em fase de crescimento exponencial.

No dia em que o teste foi realizado preparou-se então as soluções dos inóculos. As bactérias e a *C. albicans* são calibradas através do método espectrofotométrico com a densidade ótica (testes de concentração foram realizados anteriormente). Para as bactérias utilizou-se soluções de  $1 \times 10^7$  CFU/mL a  $1 \times 10^8$  CFU/mL e para *C. albicans*  $1 \times 10^6$  CFU/mL a  $1 \times 10^7$  CFU/mL, as soluções foram preparadas com o diluente e após preparadas devem ser utilizadas em 2 h.

A calibração do *Aspergillus brasiliensis* realizou-se através do método de contagem com a câmara de Neubauer, na placa com os esporos adicionou-se 10 mL da solução de polisorbato e realizou-se a contagem desta suspensão, após determinação da concentração esta é ajustada para  $1 \times 10^6$  esporos/mL a  $1 \times 10^7$  esporos/mL com o diluente.

### 3.4.5.3 Controlo do Neutralizador

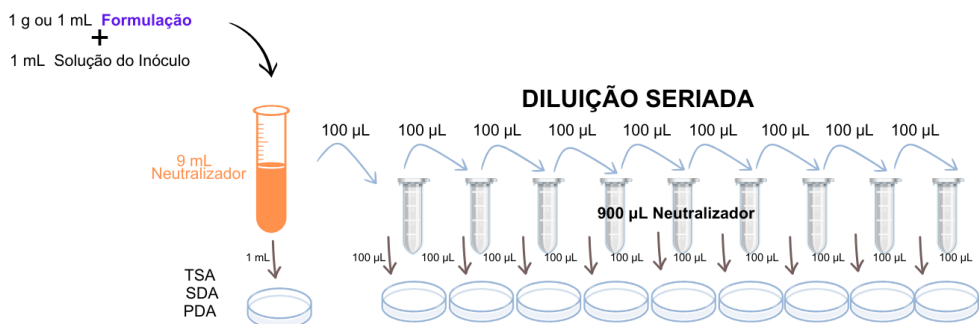
O controlo do neutralizador é conduzido com o objetivo de assegurar que os componentes presentes na solução neutralizadora não interferem na viabilidade dos microrganismos, garantindo, assim, que o challenge test forneça resultados fidedignos. Para tal, é adicionado 1 mL do diluente e 1 mL da solução de inóculo a 9 mL do neutralizador. Em seguida, são realizadas diluições seriadas e as amostras são incubadas em duplicado, seguindo as condições específicas para cada microrganismo avaliado



**Figura 12.** Ilustração procedimento controlo do neutralizador

### 3.4.5.4 Teste do Neutralizador

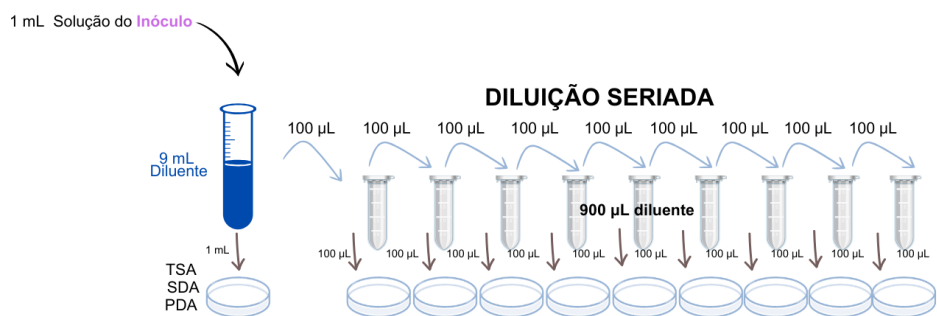
Neste teste se verifica se a substância neutralizadora utilizada no teste é capaz de inativar completamente os conservantes presentes no produto cosmético, sem afetar a viabilidade dos microrganismos. Isso é fundamental porque, se os conservantes não forem neutralizados, eles podem continuar a agir durante a fase de incubação, levando a resultados falsamente baixos de contagem microbiana. Para tal, é adicionado 1 mL da formulação e 1 mL da solução de inóculo a 9 mL do neutralizador. Em seguida, são realizadas diluições seriadas e as amostras são incubadas em duplicata, seguindo as condições específicas para cada microrganismo avaliado.



**Figura 13.** Ilustração procedimento teste do neutralizador

### 3.4.5.5 Controlo do Inóculo

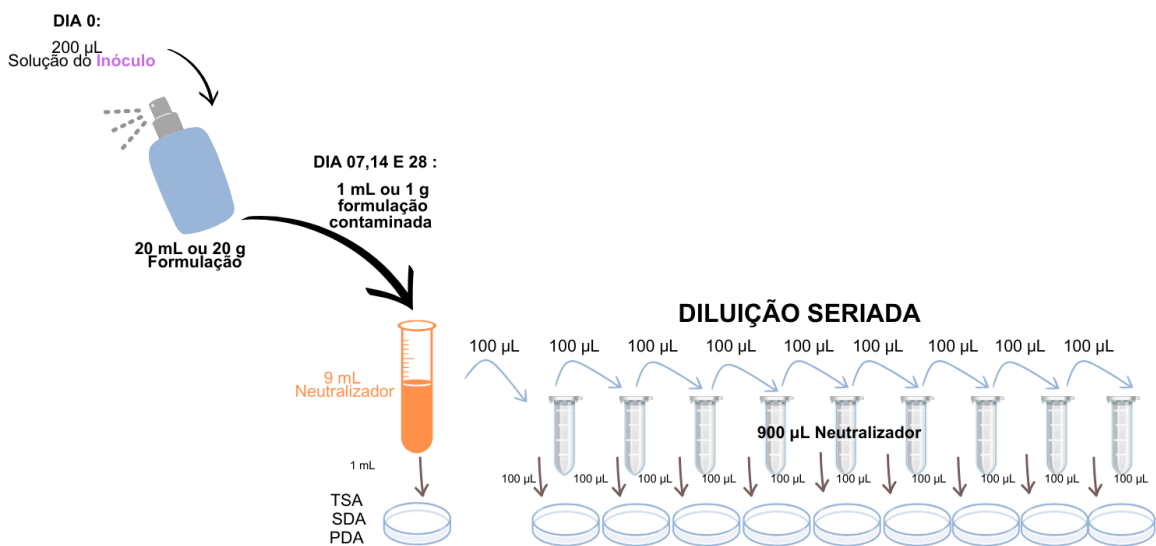
O objetivo do controlo do inóculo é verificar a concentração exata de microrganismos adicionados ao produto cosmético, garantindo que a quantidade utilizada seja a correta e conhecida. Além disso, assegura que os microrganismos estejam em condições viáveis, ou seja, que sejam capazes de se reproduzir antes de serem expostos ao sistema preservativo. inicialmente é adicionado 1 mL da solução de inóculo a 9 mL do diluente. Em seguida, são realizadas diluições seriadas e as amostras são incubadas em duplicata, seguindo as condições específicas para cada microrganismo avaliado.



**Figura 14.** Ilustração procedimento controlo do inóculo

### 3.4.5.6 Determinação da Eficácia de Preservação da Formulção

No dia que se inicia o teste, 200 µL da solução calibrada dos microrganismos é inoculada no produto cosmético (uma amostra de produto para cada microrganismo), após isto a contagem microbiana é realizada ao longo do tempo de 7, 14 e 28 dias para avaliar a eficácia do sistema preservativo.



**Figura 15.** Ilustração procedimento Challenge test

### 3.4.5.7 Cálculos

A contagem de UFC (Unidades Formadoras de Colónia) por mililitro é um cálculo importante para quantificar o número de microrganismos no produto testado em diferentes estágios do *Challenge Test*. Após a diluição e o plaqueamento das amostras, o número de colónias formadas é contado e, em seguida, convertido para UFC/mL com base na diluição realizada. A fórmula básica para esse cálculo é:

$$\text{UFC/mL} = \frac{\text{Número de colónias contadas}}{\text{Volume Plaqueado}} \times \text{Fator de Diluição}$$

A eficácia do conservante foi mensurada a partir da redução logarítmica de microrganismos. Esse cálculo expressa a diminuição do número de microrganismos ao longo do tempo, em diferentes pontos de avaliação (0, 7, 14 e 28 dias), e compara a contagem inicial com a contagem residual de microrganismos após o período de incubação.

A fórmula para o cálculo da redução logarítmica é:

$$\text{Redução Logarítmica} = \text{Log}_{10} \left( \frac{N_0}{N_t} \right)$$

Onde:

- $N_0$  é o número de microrganismos inicialmente presentes (inóculo inicial).
- $N_t$  é o número de microrganismos sobreviventes após um período  $t$ .

Após a determinação da redução logarítmica, utiliza-se a tabela de avaliação de critério disponibilizada pela ISO (ANEXO 1) e o diagrama de decisão (ANEXO 2) para avaliar a segurança microbiológica do produto cosmético.

#### **3.4.6 *Cutibacterium acnes***

O produto cosmético foi submetido a dois testes com a bactéria *Cutibacterium acnes* para analisar o potencial antiacne bacteriana do mesmo, os testes realizados estão descritos a seguir.

##### **3.4.6.1 Teste de difusão em disco**

O teste de difusão em disco (também conhecido como teste de Kirby-Bauer) é uma técnica amplamente utilizada para avaliar a atividade antimicrobiana de substâncias, como antibióticos, conservantes ou outros agentes antimicrobianos. O método é simples, reprodutível e fornece resultados visuais sobre a sensibilidade ou resistência de microrganismos a agentes antimicrobianos. O meio de cultura utilizado foi o Brain Heart Infusion (BHI) em placa de petri, neste meio foi inoculada a bactéria *C. Acnes*. A placa foi então dividida em quatro quadrantes: um quadrante para o controlo negativo (disco com água estéril) e três quadrantes para a amostra, de forma a avaliar a sua capacidade conservante, bactericida ou bacteriostática. No centro da placa foi colocado um disco com o antibiótico Cloranfenicol 30 mcg que serviu como controlo positivo e as placas foram posteriormente incubadas a 37 °C durante 48 horas. Após isto os halos foram medidos para obtenção de resultados.

##### **3.4.6.2 Atividade Antimicrobiana *Cutibacterium acnes***

Nas análises microbiológicas todos os procedimentos foram realizados em ambiente estéril, ou seja, as amostras e a bactéria são manipuladas em câmara de fluxo laminar e o material utilizado esterilizado de modo a evitar qualquer tipo de contaminação.

Para a preparação da bactéria, 24 h antes da sua utilização foi feita a repicagem de uma das colónias para meio BHI líquido fresco a uma temperatura de 37 °C.

Para a solução da bactéria foi retirado um pequeno volume do meio líquido, e colocado num tubo de ensaio com água estilizada e agitado no vórtex. Posteriormente foi feita a leitura da sua densidade ótica com espectrofotómetro medindo a absorvância e ajustando a solução para

obter o valor de 0,189 a 560 nm sendo esta metodologia uma adaptação do uso do densímetro que deve atingir o valor de 0,5 que correspondente a  $1.5 \times 10^8$  CFU/mL de acordo com a escala de Mcfarland.

Para a realização do ensaio, colocou-se 100  $\mu$ L do meio de cultura BHI em todos os poços da microplaca, foram feitos 3 controlos, um com apenas o meio de cultura, outro com meio de cultura + bactéria (controle positivo) e um só com o produto.

Pipetou-se 100  $\mu$ L do produto cosmético para os primeiros poços da microplaca em triplicado. Com auxílio de uma micropipeta retirou-se 100  $\mu$ L dos poços da concentração de 0,5 g/mL e pipetou para os poços abaixo e assim sucessivamente até ao fim da placa. Fazendo, assim, diluições sucessivas. Adicionou-se a todos os poços, 10  $\mu$ L de bactéria e 40  $\mu$ L de um marcador biológico denominado de corante Resazurina (7-Hydroxy-3H-phenoxazin-3-one-10-oxide sodium salt) a uma concentração de 0,1%. Após isso, levou-se a placa a incubar na estufa a 37 °C durante 18 h. Com este corante, é possível verificar se a bactéria foi ou não inibida, ou seja, se alterar a cor significa que a bactéria não foi inibida. Para calcular a CMB (concentração mínima bactericida, onde a bactéria morre) retirou-se 10  $\mu$ L do poço da CMI (concentração mínima para a qual não houve alteração de cor) e do poço acima e coloca-se em meio fresco, se a bactéria não crescer significa que morreu e esta será a concentração bactericida

### **3.4.7 Toxicidade**

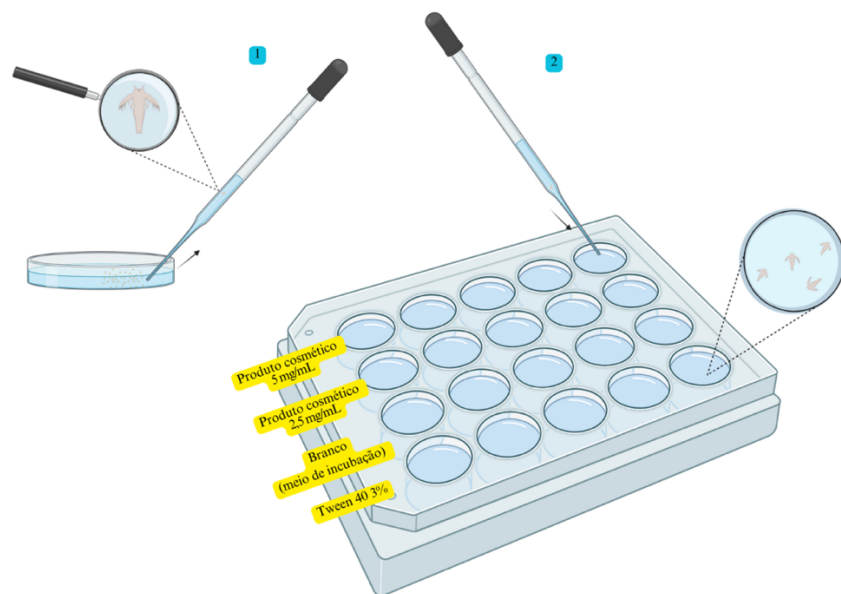
Para avaliar o valor da concentração letal média  $LC_{50}$  do produto cosmético utilizou-se uma espécie de crustáceo chamado *A. Fransiscana*, este organismo é submetido a meios com diferentes concentrações do produto e no período de 24 horas avalia-se a taxa de mortalidade da população.

Os ensaios de biotoxicidade aguda decorreram de acordo com o protocolo de Ensaio de Toxicidade Aguda com *Artemia Franciscana* – Laboratório de Aquacultura, ESA. As artemias são disponibilizadas em cistos que precisaram ser lavados com água da torneira em uma peneira de 60  $\mu$ m e hidratados com água destilada por duas horas, após isto eles são incubados em meio de incubação sob aerificação em temperatura entre 21 a 25 °C e iluminação constante (3000 a 4000 lux). O tempo de incubação para eclosão dos quistos leva

em torno de 30 a 48 horas. Para o teste utiliza-se artemias no estado de desenvolvimento instar I ou metanúplios.

O produto cosmético foi avaliado nas concentrações de 2,5 mg/mL e 5 mg/mL. Dado que o produto se apresenta em duas fases, ele foi diluído com meio de incubação contendo 3% de Tween 40 (Polissorbato 40), a fim de garantir o contato pleno dos ingredientes com o organismo. Além disso, testou-se a toxicidade do Tween 40 a 3% como um controle do solubilizante. Foi realizado também um controle de sensibilidade com náuplios de *Artemia franciscana* utilizando soluções de meio de incubação contendo dicromato de potássio ( $K_2Cr_2O_7$ ) em concentrações variadas: 100, 56, 32, 18 e 10 mg/mL, sendo o controle positivo apenas o meio de incubação.

O ensaio consistiu em incubar os náuplios de artemia em placas de 20 poços, utilizando uma média de 4 a 5 organismos por poço e 5 mL da substância teste em cada poço, com um total de 5 poços para cada concentração, ou seja, de 20 a 25 náuplios por concentração testada. Os náuplios foram inseridos nos poços com o auxílio de uma pipeta Pasteur. Após 2 horas de incubação, verificou-se o estado das artemias, e as placas de poços foram mantidas em ambiente escuro por um período adicional de 24 horas.



**Figura 16.** Esquematização do ensaio de toxicidade com *Artemia franciscana*.

Após as 24 horas, procedeu-se à contagem do número de náuplios vivos e que se movem em cada poço, e o percentual de mortalidade foi calculado para cada concentração testada. Esses valores foram posteriormente convertidos em valores de Probit. (A  $LC_{50}$

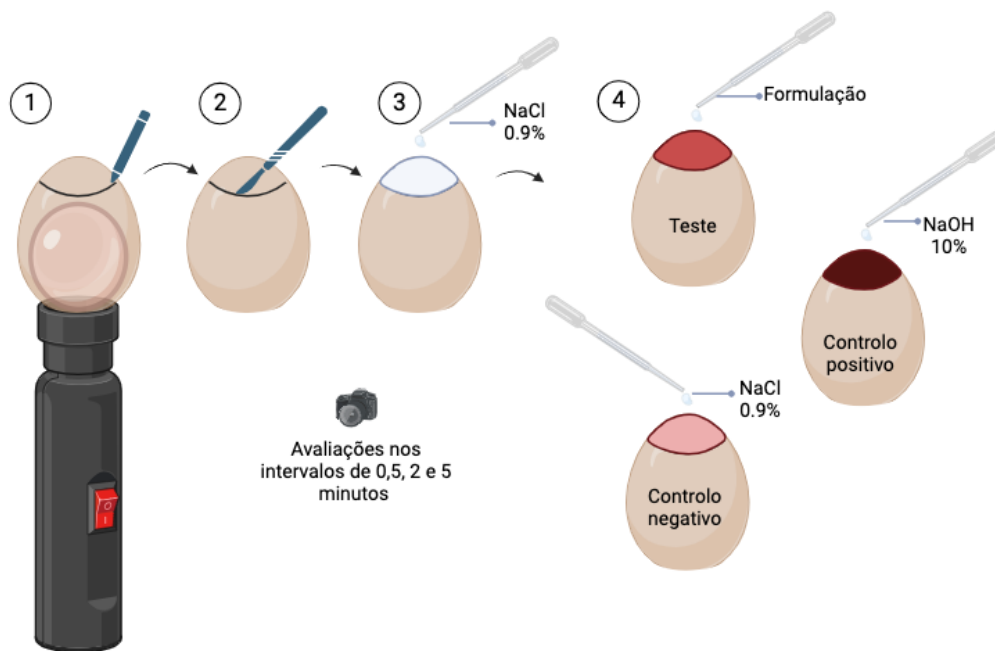
(Concentração Letal Media) foi então determinada através de regressão linear entre o logaritmo decimal das concentrações ( $\text{Log}_{10}$ ) e os valores de Probit.

Para a classificação da toxicidade, os valores de  $\text{LC}_{50}$  podem ser interpretados com base em Escalas qualitativas de toxicidade estabelecida por Meyer *et al.*, (1982) . Segundo essa escala, substâncias são consideradas muito tóxicas quando  $\text{LC}_{50} < 10 \mu\text{g/mL}$ , moderadamente tóxicas entre  $10 \mu\text{g/mL}$  e  $100 \mu\text{g/mL}$ , pouco tóxicas entre  $100 \mu\text{g/mL}$  e  $1000 \mu\text{g/mL}$  e praticamente não tóxicas quando  $\text{LC}_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$ . Essa abordagem fornece uma estimativa da segurança das substâncias testadas.

### 3.4.8 Irritação Ocular

O teste de irritação ocular utilizando o método HET-CAM (Hen's Egg Chorioallantoic Membrane) foi conduzido para avaliar o potencial irritante do produto cosmético em questão. O método HET-CAM é amplamente aceito como uma alternativa ao teste de irritação ocular em modelos animais, que é uma prática proibida em diversos países atualmente, sendo considerado uma ferramenta valiosa para a previsão de reações irritativas oculares devido à semelhança da membrana córioalantoide de ovos de galinha com a membrana ocular humana. Esse método segue as recomendações do Comité Interagências de Coordenação para a Validação de Métodos Alternativos (ICCVAM, 2010).

Foram utilizados sete ovos fertilizados de galinhas da linhagem Leghorn, incubados horizontalmente a  $37,5^{\circ}\text{C}$  e com humidade relativa entre 46 e 65% por um período de dez dias (Steiling *et al.*, 1999). Utilizou-se uma fonte de luz para demarcar a área e a remoção da casca foi feita com precisão usando um bisturi e uma pinça, de forma a expor a membrana córioalantoide, sem danificá-la. Antes da aplicação da formulação, as membranas foram pré-hidratadas com uma solução de NaCl a 0,9% durante 30 minutos (ICCVAM, 2010). Em seguida, três gotas da formulação a ser testada, correspondendo a cerca de 0,1 mL por gota, totalizando 0,3 mL, foram aplicadas diretamente sobre a membrana córioalantoide de três ovos. O grupo controlo negativo recebeu a mesma solução de NaCl a 0,9%, enquanto o grupo controlo positivo foi tratado com uma solução de NaOH a 10%, induzindo uma resposta inflamatória (Palmeira-de-Oliveira, 2018).



**Figura 17.** Esquemática do ensaio HET-CAM.

Os efeitos irritativos, como hiperemia (aumento do fluxo sanguíneo), hemorragia (ruptura dos vasos sanguíneos) e coagulação (desnaturação de proteínas dentro e fora dos vasos), foram observados e registrados ao longo de 300 segundos (5 minutos), com avaliações nos intervalos de 0,5, 2 e 5 minutos (Steiling *et al.*, 1999). A atribuição de pontuação foi baseada na rapidez com que cada evento foi detectado: menos de 30 segundos (hiperemia: 5; hemorragia: 7; coagulação: 9), entre 30 e 120 segundos (hiperemia: 3; hemorragia: 5; coagulação: 7) e entre 120 e 300 segundos (hiperemia: 1; hemorragia: 3; coagulação: 5). Se nenhum efeito fosse observado após os 5 minutos, a pontuação atribuída seria 0 (Mansur *et al.*, 2016).

Cada formulação testada foi classificada de acordo com o valor médio da soma das pontuações obtidas, resultando em um índice de irritação (IS) que varia de 0 a 21. As categorias de irritação foram definidas como: não irritante/pouco irritante (IS = 0 - 4,99), moderadamente irritante (IS = 5 - 8,99) e severamente irritante (IS = 9 - 21). Após o período de observação, o índice de irritação (IS) foi calculado para cada formulação, permitindo a avaliação de seu potencial irritativo e a segurança para uso tópico em produtos cosméticos (Palmeira-de-Oliveira, 2018).

### 3.4.9 Testes Cutâneos

Os testes cutâneos foram conduzidos no dia 16 de julho de 2024, com a participação de 12 voluntários avaliando a perda transepidermica de água, grau de eritema e hidratação da pele antes da aplicação do produto e após 60 minutos da aplicação, esta etapa experimental foi conduzida após a realização prévia dos testes de toxicidade e irritação ocular do produto cosmético.

Todos os participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (ANEXO 3) antes da aplicação do produto, que foi administrado no antebraço direito de cada voluntário. Para a execução desses testes, foi utilizado o equipamento MPA 6, juntamente com o software Courage Khazaka electronic GmbH, este equipamento agrega diferentes sondas que fazem leituras de diferentes parâmetros. Três parâmetros principais foram avaliados, conforme detalhado abaixo.



**Figura 18.** Equipamento MPA 6.

#### 3.4.9.1 Determinação da Perda Transepidermica da Água (TEWL)

A perda transepidermica de água (TEWL) é um processo fisiológico de evaporação da água através da pele, sendo um indicativo da integridade da barreira cutânea, composta por água e lipídios. Em condições normais, esse processo ocorre sem prejuízo à pele. Contudo, em casos de desidratação ou lesões no estrato córneo, observa-se um aumento significativo da perda de água. A avaliação da TEWL visa identificar possíveis reações irritativas na pele decorrentes da aplicação do produto cosmético.

Para a medição da TEWL, foi utilizado a sonda *Tewameter*® TM Hex (Courage-Khazaka, Alemanha), o qual opera com base em sensores de condutância elétrica para medir o vapor de água. O dispositivo contém dois sensores posicionados em diferentes distâncias da superfície da pele, e os resultados são expressos em g/h/cm<sup>2</sup>.

#### **3.4.9.2 Determinação do grau de Eritema**

A avaliação do grau de eritema, que corresponde à vermelhidão da pele, foi realizada para medir a resposta inflamatória potencialmente induzida pela aplicação do produto cosmético. O eritema pode ser resultado da exposição a substâncias irritantes. Para essa análise, utilizou-se o *Mexameter*® MIX 18 (Courage-Khazaka, Alemanha), que detecta alterações na coloração da superfície cutânea, relacionadas à presença de hemoglobina e, conseqüentemente, ao eritema.

#### **3.4.9.3 Determinação da Hidratação da Pele**

A hidratação da pele foi avaliada por meio da sonda *Corneometer*® CM 825, capaz de medir a capacitância da pele, a qual é diretamente influenciada pelo seu nível de hidratação. Quanto maior o teor de água na pele, maior a sua capacidade de armazenar carga elétrica. O Corneometer quantifica essa diferença de capacitância, permitindo a comparação dos níveis de hidratação antes e após a aplicação do produto.

#### **3.5.10 Análise Sensorial**

A análise sensorial foi realizada com os mesmos voluntários que participaram dos testes cutâneos. Neste procedimento, os voluntários aplicaram o produto no antebraço esquerdo e, em seguida, responderam a um questionário virtual disponibilizado por meio da plataforma Google Forms™. O questionário (ANEXO 6) foi adaptado a partir do estudo de Santos (2016), com o objetivo de avaliar a experiência de uso do consumidor durante a aplicação do produto. Essas adaptações foram feitas para compreender as percepções sensoriais dos voluntários, focando em aspectos como aroma, aplicação, sensação na pele, e eventuais reações percebidas após o uso do produto.

## 4. Resultados e Discussões

### 4.1 Estudo viabilidade

As entrevistas foram realizadas em diferentes localidades da cidade, para compreender a dinâmica em cafeterias de diferentes portes. O resultado das entrevistas realizadas em algumas cafeterias de Bragança pode ser observado na Tabela 14, onde as seguintes perguntas foram respondidas:

1. Qual a forma de descarte da borra de café?
2. É realizado algum reaproveitamento da borra?
3. Qual a quantidade aproximada de borra gerada?
4. Estariam dispostos a separar a borra de café dos demais resíduos e disponibilizá-la gratuitamente à uma empresa que realizasse a coleta para o reaproveitamento?
5. Estariam dispostos a vender a borra do café devidamente separada, entregando-a em um ponto de coleta? E para trocá-la por algum produto/serviço?
6. Pagariam por um serviço de coleta de borra de café, sabendo-se que seria disponibilizado um recipiente especial para a separação da borra e poderia utilizar este serviço como um discurso de sustentabilidade para a marca?

**Tabela 4.** Respostas entrevistas cafés.

Localidade	1	2	3	4	5	6
Centro	Descarte no lixo orgânico	Não	1-2 Kg	Sim	Talvez	Não
Centro	Descarte no lixo orgânico	Não	2-3 Kg	Sim	Talvez	Talvez
Braguinha	Descarte no lixo orgânico	Não	1-2 Kg	Sim	Sim	Não
Centro	Descarte no lixo orgânico	Não	3-4 Kg	Sim	Sim	Não
Cantarias	Descarte no lixo orgânico	Não	0,5-1 Kg	Sim	Talvez	Não
Sé	Descarte no lixo orgânico	Não	1-2 Kg	Sim	Sim	Não
Centro	Descarte no lixo orgânico	Não	1-2 Kg	Sim	Sim	Não
Cantarias	Descarte no lixo orgânico	Não	0,5-1 Kg	Sim	Talvez	Não
Sé	Descarte no lixo orgânico	Não	1-2 Kg	Sim	Talvez	Não
Braguinha	Descarte no lixo orgânico	Não	0,5-1 Kg	Sim	Sim	Não

A análise das respostas recolhidas nos cafés de Bragança revela um cenário interessante quanto à disposição dos estabelecimentos para destinar a borra de café de forma mais sustentável. Atualmente, todos os estabelecimentos entrevistados descartam a borra no lixo orgânico, sem qualquer forma de reaproveitamento direto. Isso indica que, até o momento, o reaproveitamento desse resíduo não é uma prática comum na cidade, mas, por outro lado, abre um grande potencial de intervenção, uma vez que os estabelecimentos parecem dispostos a mudar essa prática. Um exemplo disto é o café Apolo 70 localizado na zona central da cidade que disponibiliza gratuitamente sacos de borra de café para aqueles que possuem interesse de usá-la como fertilizante de plantas.

Nenhuma cafeteria relatou reaproveitar a borra de café, o que reforça a ausência de iniciativas sustentáveis nessa área. Contudo, o volume de borra gerada é significativo, variando de 0,5 kg a 4 kg por dia, dependendo do estabelecimento. Estimando-se que Bragança conta com 84 cafés e 34 pastelarias, o volume total de borra de café gerado na cidade diariamente pode ser expressivo, tornando-se viável para demandas industriais ou outros tipos de reaproveitamento, como na compostagem ou em aplicações cosméticas. Outro ponto positivo é que todos os estabelecimentos entrevistados demonstraram disposição em separar a borra de café dos demais resíduos e disponibilizá-la gratuitamente para uma empresa que realizasse a coleta. Isso é um indicativo muito favorável para a viabilidade do projeto, pois sugere que os estabelecimentos estão abertos a colaborar para uma destinação mais adequada desse resíduo, o que viabilizaria a implementação de um programa de coleta. No entanto, quando questionados sobre a possibilidade de realizar a entrega e vender a borra ou trocá-la por produtos ou serviços, as respostas foram divididas, com alguns mostrando interesse e outros demonstrando dúvidas sobre essa opção.

Por outro lado, a maior parte dos estabelecimentos não estaria disposta a pagar por um serviço de coleta, mesmo sabendo que poderia usar esse serviço como discurso de sustentabilidade para a marca. Isso indica que, para garantir a adesão ao projeto, a coleta da borra deve ser gratuita ou, caso envolva algum custo, deve haver benefícios adicionais que justifiquem o pagamento, como incentivos ou recompensas por participação.

Com base nos volumes de borra gerados e na disposição dos estabelecimentos em participar de um programa de coleta, o projeto de reaproveitamento da borra de café em Bragança tem potencial viável. A quantidade de borra gerada é suficiente para atender a demandas industriais, e o envolvimento dos estabelecimentos em um programa de coleta seria facilitado pela disposição demonstrada nas respostas. Embora muitos não paguem diretamente pelo serviço, há uma oportunidade de promover a adesão ao programa através de incentivos, como trocas por produtos ou o uso de práticas sustentáveis como diferencial de marketing.

Para garantir a viabilidade do projeto, será fundamental calcular os custos de operação do programa de coleta, incluindo logística, transporte e armazenamento, além de buscar parcerias com empresas interessadas no reaproveitamento da borra de café. Assim, o projeto

poderia se sustentar a longo prazo, promovendo um destino mais sustentável para o resíduo e contribuindo para uma imagem positiva dos estabelecimentos que aderirem à iniciativa. Em resumo, o estudo de viabilidade para a destinação sustentável da borra de café em Bragança aponta para uma boa aceitação dos estabelecimentos e para um volume de resíduo suficiente para justificar a implementação do programa. Com uma estrutura de coleta eficiente e incentivos adequados, o projeto pode se tornar uma solução sustentável viável para a cidade.

Com base nas respostas dos estabelecimentos analisados, a maioria gera entre 0,5 kg e 4 kg de borra de café por dia, o que pode parecer pequeno em uma análise individual, mas se multiplicado pelos 118 estabelecimentos identificados (cafés e pastelarias), com uma produção de 0,5 kg de borra de café por estabelecimento, a quantidade total de borra de café gerada diariamente é de aproximadamente 59 kg por dia sendo um expressivo volume acumulado diariamente. Considerando esse cenário hipotético, o potencial de reaproveitamento sustentável da borra de café em Bragança torna-se claro, especialmente se a recolha for organizada de forma centralizada, facilitando o recolhimento e o transporte do material para fins de processamento ou reaproveitamento.

A disposição demonstrada pelos estabelecimentos em separar e disponibilizar gratuitamente a borra de café também se alinha ao fato de que a cidade já conta com uma quantidade significativa de produtores desse resíduo, o que reforça o interesse e viabilidade em iniciar um programa de recolha e reaproveitamento. Essa quantidade acumulada diariamente teria potencial para suprir a demanda industrial de processos como compostagem, fabricação de cosméticos ou até produção de biocombustíveis, consolidando Bragança como uma cidade com práticas de sustentabilidade inovadoras.

Por fim, a existência de um número considerável de estabelecimentos no setor de cafés e pastelarias em Bragança, combinada com a disposição em participar de iniciativas sustentáveis, cria um ambiente propício para a implementação de um programa que possa transformar a borra de café em um recurso valioso, promovendo benefícios ambientais, económicos.

## 4.2 Borra de café

A massa total da borra húmida fornecida foi de 1,480 Kg e a massa resultante após a secagem foi de 694,32 g, portanto para cada Kg de borra húmida se obtém 469,13 g de borra seca. Na borra de café utilizada obteve-se 0,033 mg de cafeína pura por grama de borra (0,0033%) sendo um bom indicativo de segurança. Conforme a literatura a cafeína usada em sprays exemplo, em uma concentração máxima até 0,2% em sprays para rosto e pescoço (Johnson et al., 2017).

## 4.3 Rendimento dos Métodos de Extração

A eficácia de diferentes métodos de extração foi avaliada através dos rendimentos obtidos em cada procedimento.

**Tabela 5.** Rendimentos em porcentagem dos diferentes métodos de extração.

Método de Extração	Rendimento (%)
Ultrassom	4,80
Maceração	7,20
Decocção	6,83
Infusão	7,08

Os resultados revelaram variações significativas entre os métodos, sugerindo que a escolha do método de extração impacta diretamente na quantidade de extrato seco obtido. O método de maceração apresentou o maior rendimento (7,20%), o que indica que a extração prolongada à temperatura morna permite uma liberação eficaz dos compostos antioxidantes. Este achado está em concordância com estudos anteriores, que também observaram que métodos de extração mais frios tendem a preservar compostos termossensíveis, resultando em extratos ricos em antioxidantes (Scepankova *et al.*, 2018). Infusão e decocção apresentaram rendimentos próximos (7,08% e 6,83%, respectivamente), ambos superiores ao método de ultrassom. A diferença sutil entre os dois métodos sugere que o aumento da temperatura e o tempo de extração podem impactar na degradação ou precipitação de certos compostos.

O método de ultrassom, realizado por banho, resultou no menor rendimento (4,80%). Embora o ultrassom seja conhecido por sua capacidade de melhorar a extração de compostos

bioativos ao facilitar a ruptura das paredes celulares através da cavitação, o uso de um banho ultrasónico pode ter sido insuficiente para maximizar esse efeito. Yusuf *et al.* (2021) destacam que a cavitação gerada por um banho ultrasónico é menos intensa em comparação à cavitação gerada por sondas ultrasónicas diretas, o que pode explicar o rendimento inferior. Futuros estudos poderiam explorar o uso de sondas ultrasónicas, que proporcionam uma cavitação mais localizada e potente, potencialmente aumentando o rendimento do extrato, adicionalmente, os resultados sugerem que a estabilidade térmica dos compostos antioxidantes extraídos da borra de café deve ser considerada ao escolher o método de extração. Em suma, a escolha do método de extração deve ser orientada tanto pela eficiência na obtenção dos compostos antioxidantes quanto pela preservação das propriedades bioativas desejadas no produto.

#### 4.3.1 Fenólicos Totais Extratos

A quantificação dos compostos fenólicos totais nas diferentes amostras de extrato de borra de café revelou variações significativas entre os métodos de extração testados. O gráfico e a equação da curva de calibração, obtida por regressão linear, é apresentada em anexo (ANEXO 4).

**Tabela 6.** Teor dos compostos fenólicos presentes em diferentes extratos de borra de café.

Amostra	ng de GAE/g de amostra
Decocção	205,28 ± 5,11
Maceração	149,18 ± 1,55
Infusão	167,83 ± 3,31
Ultrasom	108,59 ± 6,84

Valores foram expressos como média ± D.P. (n=3).

A análise de variância (ANOVA) indicou que há uma diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,001$ ) entre as concentrações médias de fenólicos totais nos diferentes extratos. Isso sugere que o método de extração tem uma influência substancial sobre a quantidade de compostos fenólicos extraídos, corroborando a hipótese de que a escolha do método é um fator determinante na eficácia da extração de compostos bioativos.

Os resultados obtidos indicam que alguns métodos de extração são mais eficientes na extração de compostos fenólicos do que outros. Essa diferença pode ser atribuída a diversos

fatores, como a intensidade e duração da aplicação de calor, o tipo de solvente utilizado, e as condições específicas de cada método.

A decocção, que envolve a fervura prolongada do material em água, pode favorecer a extração de compostos fenólicos por várias razões. O calor elevado e o tempo prolongado de contacto facilitam a ruptura das paredes celulares da borra de café, libertando uma quantidade significativa de compostos fenólicos que podem estar ligados ou encapsulados em estruturas celulares. A água em ebulição pode atuar como um solvente eficiente para compostos fenólicos, que geralmente são bem solúveis em água quente, permitindo uma extração mais completa (Furmanek *et al.*, 2024).

Apesar da noção comum de que o calor pode degradar compostos bioativos, como alguns compostos fenólicos, é possível que, no caso da borra de café, o calor intenso da decocção ajude a quebrar complexos fenólicos insolúveis ou libertar compostos que estão fortemente ligados à matriz celular. Estudos prévios sugerem que em certas matrizes vegetais, a aplicação de calor intenso pode aumentar a disponibilidade de fenólicos totais ao romper estruturas que os mantêm inacessíveis em métodos de extração mais suaves (Bashi, 2016).

A maceração e a infusão, embora eficazes para preservar compostos mais sensíveis, podem não fornecer o calor ou a duração de contato necessários para libertar a mesma quantidade de compostos fenólicos que a decocção. Isso é consistente com a literatura que discute como métodos de extração a frio, embora gentis, podem resultar em uma menor libertação de compostos bioativos que requerem condições mais rigorosas para serem extraídos eficientemente (Gil-Martín *et al.*, 2022).

O desvio padrão observado em cada conjunto de dados reflete a variabilidade intrínseca do processo de extração e a possível heterogeneidade nas amostras de borra de café. Essa variabilidade pode ser minimizada através da padronização rigorosa das condições experimentais e do uso de técnicas analíticas robustas para a quantificação dos compostos fenólicos.

A diferença significativa detectada pela análise ANOVA sugere que ajustes nos parâmetros de extração (como tempo, temperatura, tipo de solvente, e uso de tecnologias avançadas) podem otimizar a recuperação de compostos fenólicos. Estes resultados são consistentes com a literatura, onde diferentes estudos demonstram que métodos de extração

como a maceração e os ultrassons podem ser otimizados para maximizar a recuperação de compostos bioativos, dependendo das características específicas da matriz a ser extraída (Martins *et al.*, 2014).

#### 4.3.2 Flavonoides Totais Extratos

A análise do teor de flavonoides totais nos diferentes extratos de borra de café demonstrou uma variação significativa entre os métodos de extração, com a decocção apresentando a concentração mais elevada de flavonoides. O teor de flavonoides foi determinado a partir da equação da curva de calibração obtida por regressão linear (ANEXO 5).

**Tabela 7.** Teor flavonoides totais presentes em diferentes extratos de borra de café.

Amostra	mg de EK/g de amostra
Decocção	23,76 ± 0,10
Infusão	13,95 ± 0,58
Maceração	12,45 ± 0,23
Ultrassons	7,32 ± 0,12

Valores foram expressos como média ± D.P. (n=3). O valor do p calculado a partir da análise ANOVA para todas as amostras é extremamente <0,001, indicando que há uma diferença estatisticamente significativa entre as médias das concentrações de flavonoides totais nas diferentes amostras. Isso significa que pelo menos uma das amostras tem uma média de concentração de flavonoides significativamente diferente das outras, sugerindo que o método de extração influencia significativamente os resultados.

A decocção, que envolve a fervura prolongada do material em água, pode favorecer a extração de flavonoides por várias razões. Primeiramente, o calor elevado e o tempo prolongado de contato podem quebrar as paredes celulares da borra de café de maneira mais eficaz, libertando uma quantidade maior de flavonoides que, de outra forma, poderiam permanecer retidos na matriz vegetal.

Embora seja conhecido que temperaturas elevadas podem levar à degradação de compostos fenólicos, incluindo flavonoides (Bashi, 2016), este efeito pode ser contrabalançado ou até superado em alguns casos. Especificamente, pode haver um aumento na solubilização de flavonoides conjugados ou ligados a outras estruturas celulares na borra de café, que são libertados apenas sob condições de calor intenso. Estudos anteriores mostraram que, em alguns casos, o aquecimento prolongado pode aumentar a liberação de

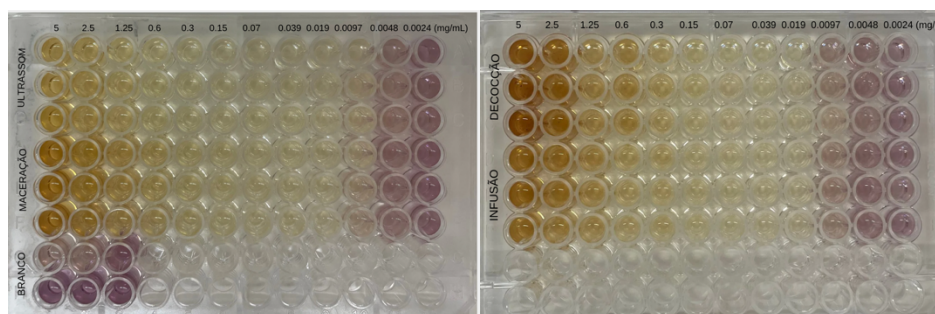
flavonoides totais ao quebrar complexos fenólicos insolúveis que se tornam disponíveis apenas sob calor intenso (Antony & Farid, 2022).

Além disso, a composição específica da borra de café e a natureza dos flavonoides presentes podem ser tais que a decocção se mostre mais eficaz do que outros métodos de extração. A estrutura química de certos flavonoides pode torná-los mais resistentes ao calor, permitindo que eles sejam extraídos em maior quantidade durante a decocção. Isso contrasta com outros compostos fenólicos que podem ser mais sensíveis ao calor e, portanto, menos presentes após a decocção (Antony & Farid, 2022).

A maceração e a infusão, embora eficazes na extração de compostos bioativos em outras situações, podem ter resultado em uma menor liberação de flavonoides devido à falta de calor ou tempo de contato suficiente para romper as estruturas celulares de forma tão eficaz quanto a decocção. No caso dos ultrassons, apesar de sua capacidade de facilitar a liberação de compostos bioativos, as condições empregadas (intensidade e duração) podem não ter sido as ideais para maximizar a extração de flavonoides específicos da borra de café.

#### 4.3.4 Atividade Captadora dos Radicais Livres 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH)

Os resultados revelaram diferenças significativas na capacidade antioxidante dos extratos obtidos por diferentes métodos de extração, com valores de  $EC_{50}$  variando de 0,0060 mg/ml para o extrato obtido por ultrassons até 0,0211 mg/ml para o extrato obtido por infusão. A análise estatística (ANOVA) confirmou que essas diferenças são estatisticamente significativas ( $p < 0,001$ ).



**Figura 19.** Aspecto das Placas teste DPPH com diferentes extratos

**Tabela 8.** Valores de EC<sub>50</sub> (mg de extrato/ml) na atividade captadora de radicais livres do DPPH em diferentes extratos de borra de café.

Amostra	EC <sub>50</sub> mg/ml
Ultrassons	0,0060 ± 0,0008
Maceração	0,0075 ± 0,0005
Decocção	0,0092 ± 0,0019
Infusão	0,0211 ± 0,0024

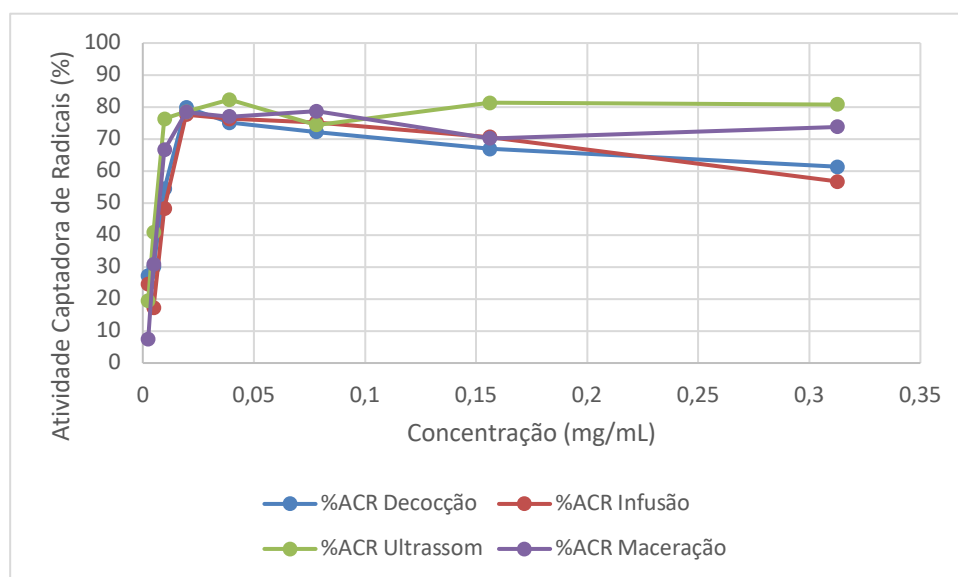
Valores foram expressos como média ± D.P. (n=3). Valor p <0,001

O extrato obtido por ultrassons apresentou o menor valor de EC<sub>50</sub> (0,0060 mg/ml), indicando a maior eficiência na captura de radicais livres. Este desempenho superior pode ser explicado pela cavitação ultrasónica, que facilita a ruptura das células vegetais e liberta uma maior quantidade de compostos bioativos, como fenólicos e flavonoides, responsáveis pela atividade antioxidante. A cavitação gerada pelos ultrassons aumenta significativamente a eficiência da extração, permitindo a liberação de compostos com alta atividade antioxidante que, de outra forma, permaneceriam retidos na matriz vegetal (Chemat *et al.*, 2017). A eficácia dos ultrassons na extração de compostos antioxidantes é particularmente útil em aplicações onde uma alta capacidade antioxidante é desejada, como em cosméticos e alimentos funcionais (Xie *et al.*, 2023).

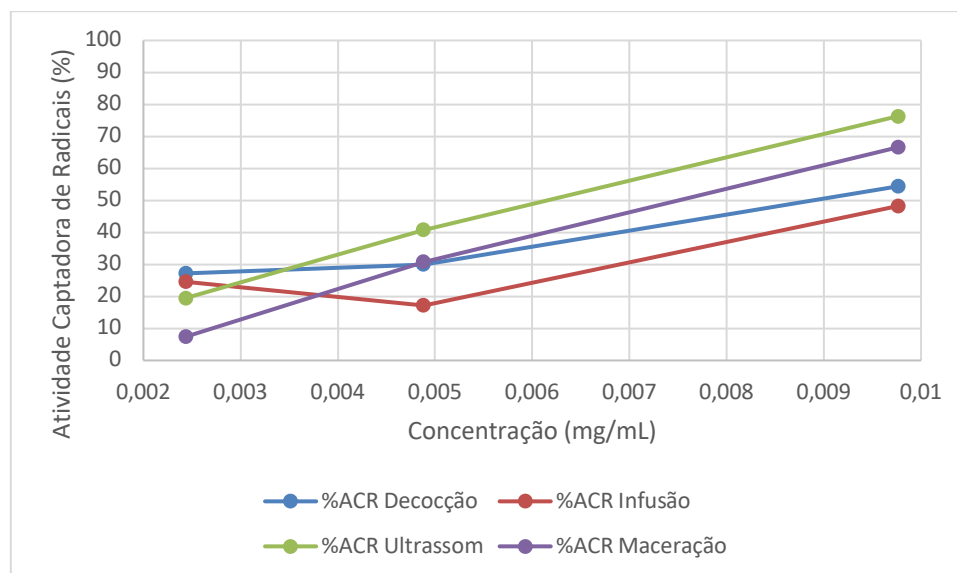
A maceração, com um EC<sub>50</sub> de 0,0075 mg/ml, também demonstrou alta eficácia na extração de compostos antioxidantes. Este método, apesar de ser mais simples e menos intensivo em termos de energia, permite um tempo prolongado de contato entre o solvente e a matriz, facilitando a extração de compostos fenólicos e flavonoides. De acordo com Silva *et al.* (2019), a maceração pode ser altamente eficaz na preservação de compostos antioxidantes, especialmente quando comparada a métodos que envolvem calor, pois minimiza o risco de degradação térmica (Ghanem *et al.*, 2019). Este resultado destaca a maceração como uma alternativa viável para a extração de antioxidantes, especialmente quando a simplicidade e a preservação de compostos sensíveis são prioritárias.

O extrato obtido por decocção apresentou um EC<sub>50</sub> de 0,0092 mg/ml, que, embora ainda indicativo de uma boa capacidade antioxidante, foi superior aos valores obtidos por ultrassons e maceração. Isso pode ser explicado pelo efeito do calor prolongado na decocção, que embora liberte uma quantidade significativa de compostos fenólicos, pode também induzir a diminuição da sua eficácia antioxidante.

Por fim, a infusão resultou no maior valor de  $EC_{50}$  (0,0211 mg/ml), indicando a menor capacidade antioxidante entre os métodos testados. A infusão, que envolve um aquecimento moderado por um período curto, pode não ser tão eficaz quanto os outros métodos na extração de compostos antioxidantes potentes, resultando em um extrato com menor capacidade de neutralizar radicais livres. A literatura sugere que a extração em condições moderadas de calor, como na infusão, pode não libertar a mesma quantidade de compostos antioxidantes do que métodos mais intensivos (Gil-Martín *et al.*, 2022).



**Figura 20.** Valores da atividade captadora de radicais livres de DPPH (%) obtidos para extratos (média, n=3).

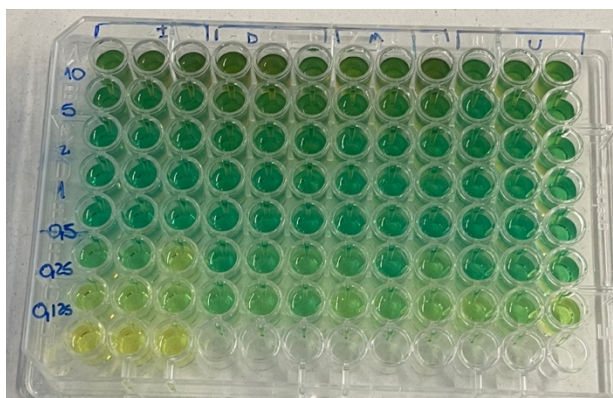


**Figura 21.** Valores da atividade captadora de radicais livres de DPPH (%) obtidos para extratos (média, n=3).

Os gráficos de atividade captadora de radicais livres (ACR) corroboram estes resultados, mostrando que o ultrassom proporciona a maior ACR em concentrações mais baixas, seguido pela maceração, decocção e infusão. Em concentrações baixas, a eficiência dos ultrassons é particularmente evidente, o que reflete sua capacidade de extrair compostos antioxidantes altamente reativos desde o início da reação. Isso é consistente com estudos que mostram que o ultrassom não apenas acelera a extração, mas também maximiza a atividade bioativa dos compostos extraídos (Danjoli-Hashani & Selen-Işbilir, 2022).

#### 4.3.5 Poder Redutor Extratos

Os valores de  $EC_{50}$  indicam que o extrato obtido por ultrassom apresentou o menor valor (0,22 mg/mL), sugerindo que este método foi o mais eficaz na extração de compostos com alta capacidade redutora. Esse resultado é consistente com a literatura, que frequentemente destaca os ultrassons como uma técnica superior para a extração de compostos bioativos, devido à sua capacidade de romper as paredes celulares e libertar compostos antioxidantes mais eficazmente.



**Figura 22.** Aspecto da placa teste poder redutor dos extratos

**Tabela 9.** Valores de  $EC_{50}$  (mg de extrato/ml) do poder redutor de diferentes extratos de borra de café.

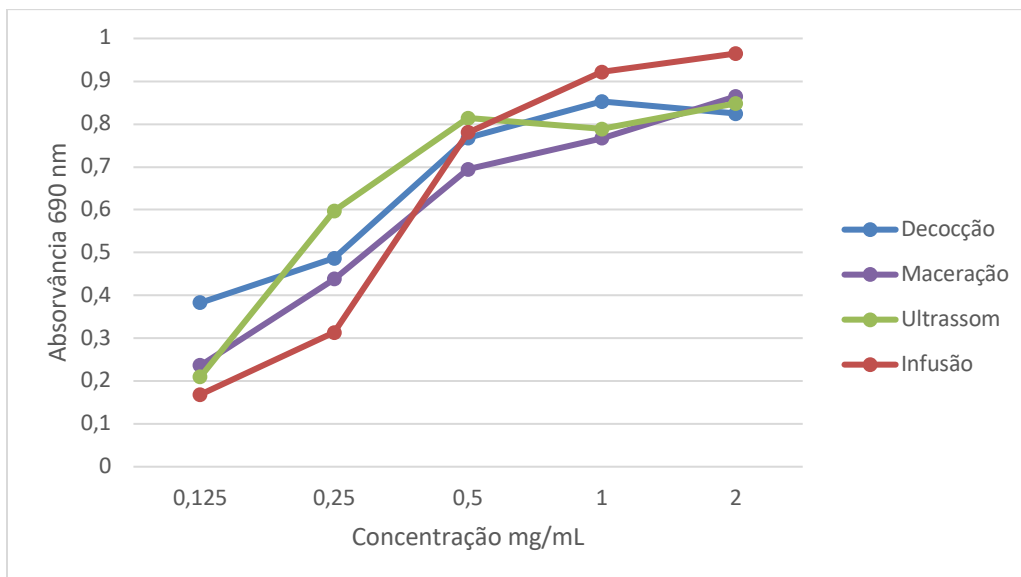
<b>Amostra</b>	<b><math>EC_{50}</math> mg/mL</b>
Ultrassons	$0,22 \pm 0,004$
Maceração	$0,30 \pm 0,06$
Decocção	$0,27 \pm 0,08$
Infusão	$0,34 \pm 0,08$

Valores foram expressos como média  $\pm$  D.P. (n=3).  $p > 0,05$

A maceração apresentou um  $EC_{50}$  de 0,30 mg/mL, indicando uma boa capacidade redutora, sendo um método menos intensivo e que depende do tempo prolongado de contato entre o solvente e o material vegetal, ainda conseguiu extrair uma quantidade significativa de compostos com poder redutor. Este resultado sugere que, apesar de ser um método passivo, a maceração é eficiente para a extração de antioxidantes.

A decocção resultou em um  $EC_{50}$  de 0,27 mg/mL, o que indica uma capacidade redutora intermediária entre a ultrassons e a maceração. Embora o calor prolongado utilizado na decocção possa promover a liberação de compostos fenólicos, ele também pode causar a degradação de alguns desses compostos, o que pode explicar a eficiência moderada observada.

O extrato obtido por infusão apresentou o maior valor de  $EC_{50}$  (0,34 mg/mL), indicando a menor capacidade redutora entre os extratos testados. Isso pode ser devido à combinação de uma temperatura mais baixa e um tempo de extração mais curto, que são menos eficazes na extração de compostos antioxidantes com alta atividade redutora.



**Figura 23.** Valores de absorvância a 690 nm determinados no ensaio do poder redutor para extratos de borra de café (média, n=3).

O gráfico de absorvância a 690 nm reforça os resultados de  $EC_{50}$ . Observa-se que, em concentrações mais baixas (até 0,5 mg/mL), os extratos obtidos por ultrassons e maceração apresentam maior absorvância, indicando um poder redutor mais elevado. Isso é consistente com os valores de  $EC_{50}$ , onde os ultrassons mostrou ser o mais eficaz.

A decocção mostra um padrão intermediário, onde o calor utilizado no processo parece ser suficiente para extrair compostos com poder redutor em níveis comparáveis à maceração, mas menos eficaz que os ultrassons em concentrações mais baixas. Isso sugere que, enquanto a decocção é eficaz em liberar compostos redutores, os ultrassons pode ser mais eficiente em preservar e libertar esses compostos de forma otimizada.

O fato de não haver uma diferença estatisticamente significativa sugere que, apesar das diferenças nos valores de  $EC_{50}$ , todos os métodos de extração testados (ultrassons, maceração, decocção e infusão) têm uma eficácia relativamente semelhante em termos de extração de compostos com poder redutor. Isso pode indicar que todos os métodos são adequados para a extração desses compostos da borra de café, dependendo dos recursos disponíveis e das preferências no processo de extração.

#### 4.3.6 Fator de Proteção Solar Extratos

A análise do Fator de Proteção Solar (FPS) dos extratos de borra de café obtidos por diferentes métodos de extração revelou valores muito semelhantes, variando de 25,22 a 25,52. Estes valores são indicativos de uma moderada capacidade fotoprotetora.

**Tabela 10.** Fator de proteção solar em diferentes extratos de borra de café

Amostra	FPS
Ultrassons	25,22±0,17
Maceração	25,51±0,06
Decocção	25,52±0,11
Infusão	25,24±0,09

Valores foram expressos como média ± D.P. (n=3).  $p > 0,05$

Os compostos fenólicos presentes na borra de café, como os ácidos cafeico, ferúlico e p-cumárico, são amplamente reconhecidos por suas propriedades antioxidantes e capacidade de absorver radiação ultravioleta (UV). Esses compostos não apenas neutralizam os radicais livres gerados pela exposição solar, mas também previnem danos ao DNA, contribuindo para a proteção contra o fotoenvelhecimento e o desenvolvimento de câncer de pele (Aguiar *et al.*, 2021).

Os valores de FPS obtidos foram estatisticamente semelhantes entre os diferentes métodos de extração ( $p > 0,05$ ). Este resultado sugere que os compostos fotoprotetores extraídos da borra de café são robustos em relação ao método de extração utilizado, mantendo sua eficácia independentemente do processo empregado. A estabilidade desses compostos ao longo de diferentes processos de extração é um fator positivo, indicando que a borra de café pode ser processada de várias maneiras sem perda significativa de suas propriedades fotoprotetoras.

O uso de ingredientes naturais com propriedades fotoprotetoras está em crescimento na indústria cosmética, motivado pela demanda dos consumidores por produtos mais seguros e ambientalmente sustentáveis. A borra de café, sendo um resíduo da indústria de alimentos, oferece uma solução sustentável e econômica para a criação de protetores solares naturais, alinhada às tendências atuais de economia circular e valorização de subprodutos.

Do ponto de vista prático, a semelhança dos valores de FPS entre os métodos de extração significa que os fabricantes têm a flexibilidade de escolher o método de extração mais conveniente em termos de custo, eficiência ou disponibilidade de equipamentos, sem

comprometer a eficácia fotoprotetora do produto. A capacidade de utilizar diferentes métodos sem impactar o FPS é um fator crucial para a escalabilidade da produção e para a incorporação da borra de café em uma variedade de formulações cosméticas.

#### 4.3.7 Extrato para o Produto Cosmético

O extrato da borra de café será utilizado como o produto que exerce a principal função do produto cosmético, a propriedade antioxidante. Portanto, através da tabela 11 que reúne todos os resultados apresentados anteriormente, é possível realizar uma comparação e seleção do método de extração mais favorável.

**Tabela 11.** Rendimento, fenóis totais, flavonoides totais, poder redutores, atividade captadora de radicais DPPH e FPS de extratos de borra de café obtidos através de diferentes métodos.

Método de Extração	Rendimento (%)	Fenóis totais mg de EAG/g de amostra	Flavonoides totais mg de EK/g de amostra	Poder Redutor EC <sub>50</sub> mg/mL	DPPH EC <sub>50</sub> mg/mL	FPS
Ultrassons	4,80	108,59 ± 6,84	7,32 ± 0,12	0,22±0,004	0,0060 ± 0,0008	25,22±0,17
Maceração	7,20	149,18 ± 1,55	12,45 ± 0,23	0,30± 0,06	0,0075 ± 0,0005	25,51±0,06
Decocção	6,83	203,86 ± 5,11	23,76 ± 0,10	0,27± 0,08	0,0092 ± 0,0019	25,52±0,11
Infusão	7,08	167,83 ± 3,31	13,95 ± 0,58	0,34±0,08	0,0211 ± 0,0024	25,24±0,09
Valor p		<0,001	<0,001	>0,05	<0,001	>0,05

Valores foram expressos como média ± D.P. (n=3). O valor do p calculado a partir da análise ANOVA

Baseado nos dados apresentados, o método de decocção mostrou-se mais vantajoso em termos de extração de fenóis e flavonoides totais, que são os principais compostos antioxidantes presentes na borra de café. Esse método extraiu as maiores concentrações desses compostos, o que sugere que a decocção é altamente eficaz para maximizar a capacidade antioxidante do extrato.

No entanto, em termos de poder redutor e atividade antioxidante medida pelo DPPH, o ultrassons apresentou os melhores resultados, indicando que, embora a decocção extraia mais compostos totais, o ultrassom pode ser mais eficiente em preservar ou extrair compostos que têm uma ação antioxidante mais potente.

Maceração também se destaca como um método equilibrado, oferecendo bom rendimento e alta concentração de compostos antioxidantes, com excelente desempenho em poder redutor

e DPPH, ficando muito próximo ao ultrassons. Todos os métodos apresentaram valores de FPS muito semelhantes (em torno de 25), com pequenas diferenças que não são estatisticamente significativas.

O foco para este estudo é a máxima eficácia oxidante, portanto o método de extração de compostos bioativos a ser utilizado será o ultrassons pois observa-se um melhor desempenho termos de atividade captadora de radicais livres DPPH e poder redutor, mesmo com um rendimento menor.

#### **4.4 Desenvolvimento do Produto Cosmético**

##### **4.4.1 Análise Microbiológica Bolores e Leveduras**

As concentrações encontradas de micro-organismos no extrato foi de <10 CFU/mL de extrato para *Bacillus cereus*, <10 CFU bolores e leveduras e <10 CFU/mL para *Staphylococcus aureus*. Valores abaixo de 10 UFC/mL indicam que o extrato está praticamente isento desses micro-organismos, o que sugere que o risco de contaminação microbiana no produto final é baixo, tornando o extrato seguro para uso em cosméticos, desde que mantidas as condições de armazenamento e manipulação adequadas.

Esses resultados também indicam que, mesmo com o histórico de subprodutos de café apresentarem umidade e serem propícios à proliferação microbiana, o processo de extração foi eficiente em minimizar essa contaminação.

##### **4.4.2 Extração Óleos Essenciais**

Os rendimentos obtidos para os óleos essenciais de alecrim e tomilho, 0,5% e 0,7% respectivamente, são considerados satisfatórios dentro do contexto de extração de óleos essenciais, uma vez que esses compostos voláteis geralmente apresentam baixos rendimentos devido à sua concentração natural reduzida nas plantas. Quantidades relativamente pequenas dessas substâncias podem ser obtidas a partir de grandes massas vegetais. No entanto, isso não invalida a viabilidade do uso desses óleos como conservantes, uma vez que sua eficácia ocorre em baixas concentrações, geralmente entre 0,1% e 1% do volume total do produto cosmético.

### 4.4.3 Testes de Estabilidade

#### 4.4.3.1 pH

Os resultados do teste de estabilidade de pH mostraram variações significativas nas diferentes condições de armazenamento, o que fornece informações valiosas sobre a estabilidade do produto cosmético desenvolvido. O pH é um parâmetro crucial na formulação de cosméticos, pois pode impactar a eficácia dos conservantes, a estabilidade da emulsão e a segurança do produto para a pele.

**Tabela 12.** Resultados pH teste de estabilidade

4°C		45 °C		Luz		Escuro	
Amostra	pH	Amostra	pH	Amostra	pH	Amostra	pH
T30	4.6	T30	4.9	T30	4.4	T30	5.2
T60	4.4	T60	4.7	T60	3.6	T60	4.8
T90	4.2	T90	5.1	T90	3.4	T90	4.8
<b>T0</b>	4.8	<b>T180</b>	6.8				

Inicialmente, observou-se uma pequena redução no pH para a amostra mantida a 4°C, caindo de 4,8 para 4,2 ao longo de 90 dias. Embora a variação tenha sido mínima, essa redução pode estar associada a calibragem do equipamento. No entanto, a variação foi considerada dentro de uma faixa aceitável para cosméticos, não apresentando grande risco de comprometimento da estabilidade (Lukić et al., 2021).

A amostra mantida a 45°C mostrou uma tendência oposta, com um aumento no pH, de 4,8 para 5,1, ao final de 90 dias. O aumento do pH em condições de calor pode estar relacionado à degradação térmica de componentes ácidos ou à reação de substâncias com a formulação, gerando compostos mais alcalinos.

A condição mais crítica foi observada nas amostras expostas à luz solar direta, onde o pH caiu de 4,8 para 3,4 após 90 dias. Essa acidificação acentuada é um forte indicativo de degradação oxidativa, provavelmente causada pela exposição dos óleos essenciais e do extrato de café à radiação ultravioleta. A queda para um pH tão baixo pode comprometer não apenas a estabilidade química do produto, mas também a segurança de sua aplicação na pele, tornando-o potencialmente irritante. Este resultado ressalta a importância de embalar o produto em recipientes opacos ou com proteção UV para evitar essa degradação acelerada.

Por outro lado, a amostra mantida em ambiente escuro e em temperatura ambiente se mostrou bastante estável, com o pH variando apenas minimamente ao longo do tempo, permanecendo na faixa de 4,8 após 90 dias. Esse resultado sugere que o produto pode ser armazenado de forma segura em condições normais de temperatura ambiente, desde que protegido da luz, sem grandes riscos de degradação.

O teste acelerado, que simulou condições de 180 dias em 15 dias a 40°C e 75% de humidade, apresentou uma elevação significativa do pH, que chegou a 6,8. Esse aumento expressivo pode indicar uma degradação mais acelerada dos componentes da formulação, o que sugere que, ao longo do tempo, o produto pode se tornar menos ácido, o que pode prejudicar a estabilidade microbiológica, uma vez que o pH mais elevado pode reduzir a eficácia dos conservantes naturais presentes (óleos essenciais de alecrim e tomilho). Esse resultado alerta para a possibilidade de o produto apresentar instabilidade a longo prazo, caso não seja feito um ajuste na formulação para manter o pH dentro da faixa ideal durante sua vida útil.

Os resultados do teste de pH mostram que a formulação é relativamente estável em condições escuras e refrigeradas, mas apresenta grande vulnerabilidade à luz e ao calor. Com base nesses resultados, recomenda-se que o produto seja embalado em recipientes opacos para evitar exposição à luz, além de ser mantido em locais com temperaturas amenas. Adicionalmente, pode ser necessário ajustar a formulação ou adicionar tampões de pH para garantir a estabilidade do produto em condições adversas, como aquelas simuladas no teste acelerado. O controlo do pH será fundamental para garantir a segurança, eficácia e estabilidade da formulação ao longo de sua vida útil.

#### **4.4.3.2 Cor**

Os resultados da análise de cor mostram que o produto cosmético apresentou boa estabilidade em condições de refrigeração e ambiente escuro, com variações mínimas nos parâmetros de cor L\*, a\*, e b\*. No entanto, em altas temperaturas (45°C), houve um aumento nos valores de b\*, indicando um amarelamento ao longo do tempo, o que é um possível sinal de degradação dos ingredientes naturais, como os óleos essenciais ou o extrato de café.

**Tabela 13.** Resultados análise de cor teste de estabilidade.

4 ° C			
	L	a	b
T30	78,03 ± 1,90	1,15 ± 0,05	11,97 ± 0,29
T60	85,52 ± 0,28	1,79 ± 0,15	14,34 ± 0,84
T90	80,29 ± 2,62	1,1 ± 0,21	15,82 ± 0,50
45 ° C			
	L	a	b
T30	75,81 ± 10,55	1,13 ± 0,26	11,94 ± 1,21
T60	82,96 ± 1,08	1,62 ± 0,01	16,1 ± 0,50
T90	80,07 ± 3,59	0,82 ± 0,09	17,61 ± 0,11
Luz			
	L	a	b
T30	81,17 ± 4,30	1,22 ± 0,10	10,99 ± 0,43
T60	84,24 ± 0,14	1,73 ± 0,03	12,22 ± 0,06
T90	85,57 ± 4,68	1,16 ± 0,03	13,12 ± 0,04
Escuro			
	L	a	b
T30	81,84 ± 4,06	0,51 ± 1,73	12,79 ± 0,41
T60	83,41 ± 0,92	1,77 ± 0,04	13,39 ± 0,31
T90	84,25 ± 5,57	1,22 ± 0,35	13,68 ± 0,27
	L	a	b
Acelerado 6 meses	85,91 ± 2,00	1,43 ± 0,05	16,13 ± 0,77

Valores foram expressos como média ± D.P. (n=3).

Esse tipo de alteração pode impactar a aceitação visual do produto pelos consumidores, pois mudanças perceptíveis na cor podem ser vistas como um indicador de que o produto perdeu sua qualidade.



**Figura 24.** Mudanças cor cosmético durante o teste de estabilidade.

A exposição à luz também causou mudanças nos parâmetros de cor, embora menos pronunciadas do que em altas temperaturas. Isso sugere que, enquanto a exposição à luz pode

causar alguma degradação, o efeito é menos drástico do que o causado pelo calor (Chandrayan & Hood, 2024) (Cosmetics Europe, 2004).

O teste acelerado revelou um aumento no amarelamento, indicando que, embora o produto seja relativamente estável, a cor pode sofrer mudanças em condições prolongadas de armazenamento ou quando submetido a variações extremas de temperatura e humidade. Para melhorar a estabilidade de cor, recomenda-se o uso de embalagens opacas e a indicação de armazenamento em local fresco e protegido da luz.

#### 4.4.3.3 Densidade

Os resultados indicam que o produto cosmético apresenta alta estabilidade em termos de densidade, com variações muito pequenas ao longo do tempo e sob diferentes condições de armazenamento. Essas flutuações mínimas, com a densidade variando entre 0,98 e 1, indicam que a fórmula é resistente à separação de fases e à evaporação de componentes voláteis, fatores que poderiam impactar negativamente a densidade.

A estabilidade térmica é evidente, com a densidade se mantendo estável mesmo a 45°C e sob exposição à luz. Nos testes de refrigeração e condições escuras, as variações também foram mínimas, o que reforça que o produto pode ser armazenado nessas condições sem grandes preocupações quanto à sua estabilidade física.

Mesmo no teste acelerado, que simula 180 dias, o produto manteve uma densidade estável. Isso é um bom indicativo de que o produto deve manter sua qualidade física durante seu prazo de validade.

**Tabela 14.** Resultados análise densidade teste de estabilidade.

4°C		45 °C		Luz		Escuro	
Amostra	Densidade	Amostra	Densidade	Amostra	Densidade	Amostra	Densidade
T30	0,99	T30	0,99	T30	0,99	T30	0,99
T60	0,98	T60	0,99	T60	1	T60	0,99
T90	1	T90	1	T90	1	T90	1
<b>T0</b>	1	<b>T180</b>	0,99				

#### **4.4.3.4 Aspecto e Odor**

Os resultados mostraram que o aspecto visual do produto se manteve consistente em todas as amostras não submetidas a temperaturas elevadas, independentemente das condições de armazenamento, sendo observada uma leve turbidez nas amostras submetidas a 45 °C e no teste acelerado, o que sugere uma possível degradação dos ingredientes em condições extremas de temperatura.

Essa turbidez pode ser explicada por uma leve oxidação dos ingredientes ativos, como os óleos essenciais e o extrato de café, ou por uma instabilidade na emulsão, que pode resultar em uma aparência menos homogênea sob “stress” térmico. Embora não tenha havido mudanças visuais drásticas, a turbidez indica que o produto pode ser mais vulnerável em condições de calor elevado, o que sugere a necessidade de cuidados no armazenamento.

Em relação ao odor, observou-se que as amostras mantidas a 45°C e no teste acelerado apresentaram um odor mais intenso, com um perfil "mentolado" mais proeminente. Essa intensificação do odor pode estar relacionada à volatilização dos componentes aromáticos dos óleos essenciais de alecrim e tomilho, que são sensíveis ao calor. A volatilização acelerada desses compostos, combinada com a possível oxidação dos ingredientes, pode ter resultado na liberação mais rápida de substâncias aromáticas, como o timol e o carvacrol, presentes no óleo de tomilho, que possuem um frescor característico.

A intensificação do odor mentolado em condições de calor pode ser um indicativo de que o produto perde parte de sua estabilidade olfativa sob estresse térmico, resultando em uma alteração no perfil olfativo original. Essa mudança pode comprometer a aceitação do produto pelo consumidor, uma vez que variações significativas no odor podem ser percebidas negativamente. Isso reforça a importância de garantir condições de armazenamento apropriadas para manter a integridade visual e olfativa do produto.

#### **4.4.3.5 Separação de fases**

O teste de separação de fases foi realizado para avaliar a estabilidade da bruma facial, que é composta majoritariamente por água, mas contém óleos essenciais, como o de alecrim

e o de tomilho, que não são miscíveis com água. Durante o teste, foi observada a formação de uma camada de óleo, o que já era esperado, dada a natureza bifásica do produto.

A bruma facial é, por definição, um produto bifásico, onde as fases aquosa e oleosa são naturalmente separadas e devem ser agitadas antes do uso para garantir uma mistura temporária. Portanto, a separação da fase oleosa não deve ser interpretada como um problema de estabilidade, mas sim como uma propriedade inerente à formulação. O fato de os outros componentes da fórmula não terem separado durante o teste reforça que o produto se manteve estável, com a fase aquosa permanecendo clara e homogênea, sem sinais de precipitação de outros ingredientes ativos.

Para todas as amostras a fase oleosa se comportou de acordo com a natureza bifásica da fórmula, e a fase aquosa manteve sua integridade ao longo do tempo. Para garantir a experiência ideal ao usuário, é recomendado que as instruções de uso incentivem a agitação antes da aplicação, assegurando a homogeneidade temporária do produto durante o uso.

#### 4.4.4 Avaliação da proteção antimicrobiana do produto cosmético

O Challenger Test, realizado conforme a norma ISO 11930, foi utilizado para avaliar a eficácia do sistema conservante do produto cosmético, que utilizou óleos essenciais de alecrim (0,25%) e tomilho (0,75%). Este teste simula a contaminação do produto com microorganismos específicos, avaliando sua capacidade de inibir ou reduzir seu crescimento ao longo do tempo.

**Tabela 15.** Resultados redução logarítmica Challenge Test.

<i>Staphylococcus Aureus</i>				
Contagem Inicial	3,60E+06			Critério
Contagem T7	9,50E+06	Redução Logarítmica T7	-0,4214211	X
Contagem T14	5,50E+06	Redução Logarítmica T14	-0,1840602	X
Contagem T28	1,50E+06	Redução Logarítmica T28	0,38021124	X
<i>Escherichia Coli</i>				
Contagem Inicial	3,15E+06			Critério
Contagem T7	7,23E+12	Redução Logarítmica T7	-6,3608277	X
Contagem T14	1,00E+00	Redução Logarítmica T14	6,49831055	B
Contagem T28	1,00E+00	Redução Logarítmica T28	6,49831055	B
<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>				
Contagem Inicial	4,00E+07			Critério

Contagem T7	7,25E+06	Redução Logarítmica T7	0,74172198	X
Contagem T14	1,20E+07	Redução Logarítmica T14	0,52287875	X
Contagem T28	2,00E+06	Redução Logarítmica T28	1,30103	X
<b><i>Candida Albicans</i></b>				
Contagem Inicial	1,00E+04			Critério
Contagem T7	2,00E+03	Redução Logarítmica T7	0,69897	A
Contagem T14	1,70E+02	Redução Logarítmica T14	1,76955108	A
Contagem T28	2,00E+01	Redução Logarítmica T28	2,69897	A
<b><i>Aspergillus Brasiliensis</i></b>				
Contagem Inicial	1,00E+04			Critério
Contagem T7	1,50E+00	Redução Logarítmica T7	3,82390874	A
Contagem T14	1,00E+00	Redução Logarítmica T14	0,17609126	A
Contagem T28	1,00E+00	Redução Logarítmica T28	4	A

Os resultados mostraram uma eficácia variável do sistema conservante. Para *Staphylococcus aureus*, uma bactéria Gram-positiva, observou-se que a contagem aumentou inicialmente e a redução logarítmica foi insuficiente ao longo do teste. Isso indica que o conservante não foi eficaz em controlar essa bactéria, sugerindo que a concentração dos óleos essenciais não foi suficiente para combater este micro-organismo. Para *Escherichia coli*, uma bactéria Gram-negativa, os resultados foram mais favoráveis, com uma redução logarítmica significativa já a partir do dia 14 e manutenção da eficácia até o final do teste. Isso demonstra que o sistema conservante conseguiu eliminar eficazmente essa bactéria. No caso de *Pseudomonas aeruginosa*, também uma bactéria Gram-negativa, o sistema conservante apresentou uma redução limitada, não conseguindo controlar de forma eficaz o crescimento dessa bactéria ao longo do tempo, o que indica uma proteção parcial.

Para o fungo *Candida albicans*, os resultados foram excelentes, com uma redução logarítmica significativa, atendendo aos critérios de controlo microbiológico exigidos. Da mesma forma, o sistema conservante foi altamente eficaz contra o fungo *Aspergillus brasiliensis*, com uma redução logarítmica de 4 ao final do teste, mostrando que a fórmula foi eficaz em inibir o crescimento desse micro-organismo.

Com base nos resultados, conclui-se que o sistema conservante foi ineficaz contra micro-organismos como leveduras e fungos, mesmo tendo boa performance contra *Escherichia coli*, ele apresentou eficácia limitada contra bactérias Gram-positivas, como *Staphylococcus aureus*, e não foi completamente eficaz contra *Pseudomonas aeruginosa*.

De acordo com o diagrama de decisão da ISO 11930, o produto não pode ser classificado como intrinsecamente hostil ao crescimento microbiano, visto que houve aumento nas contagens microbianas em alguns casos. O teste de desafio foi realizado corretamente, mas os resultados indicaram que o produto não atende aos critérios de eficácia para todos os tipos de micro-organismos testados. Com isso, o risco microbiológico do produto não pode ser considerado totalmente controlado, uma vez que não foi eficaz no controle de algumas bactérias.

No entanto, conforme o diagrama de decisão da ISO 11930, se o conservante não se enquadra nos perfis de eficácia esperados, é possível considerar a ISO 29621, que trata dos produtos cosméticos com baixo risco microbiológico, como uma abordagem alternativa para justificar a segurança microbiológica da formulação.

A ISO 29621 define que certos produtos cosméticos, devido às suas características intrínsecas e modo de uso, apresentam baixo risco de contaminação microbiológica, mesmo que o sistema conservante não atenda totalmente aos critérios estabelecidos pela ISO 11930. Neste caso, a bruma facial, sendo um produto bifásico composto por água e óleos essenciais, pode ser avaliada sob os critérios da ISO 29621, considerando que a bruma facial é aplicada diretamente do frasco por meio de um “spray”, sem contato direto com as mãos ou o ambiente externo. Isso reduz consideravelmente a possibilidade de contaminação durante o uso. Como o produto não é manuseado pelo usuário antes da aplicação, o risco de introdução de micro-organismos é minimizado.

Com base nesses fatores, a ISO 29621 permite a classificação de certos produtos como de baixo risco microbiológico, devido às suas características que reduzem a chance de contaminação e proliferação de micro-organismos ao longo de seu uso. Embora o sistema conservante não tenha sido totalmente eficaz contra todas as bactérias, o contexto de uso justifica uma abordagem diferente para avaliar o risco microbiológico.

Dessa forma, conclui-se que, apesar dos resultados limitados do Challenge Test segundo a ISO 11930, o produto pode ser classificado como de baixo risco microbiológico, conforme os critérios estabelecidos na ISO 29621. Isso significa que, desde que o produto seja fabricado seguindo boas práticas, e com a recomendação de armazenamento e uso adequado, ele pode ser considerado microbiologicamente seguro para o consumidor.

No entanto, conforme o diagrama de decisão da ISO 11930 (ANEXO), se o conservante não se enquadra nos perfis de eficácia esperados, é possível considerar a ISO 29621, que trata dos produtos cosméticos com baixo risco microbiológico, como uma abordagem alternativa para justificar a segurança microbiológica da formulação. Porém mostra-se necessário novos testes e melhorias no sistema conservante.

#### 4.4.6 *Cutibacterium acnes*

Em todas as três placas, foram observados halos de inibição para a amostra, com diâmetros variando entre 8 e 12 mm. Esse padrão sugere que o produto cosmético possui alguma atividade antimicrobiana contra *C. acnes*, embora a eficácia não tenha sido tão expressiva quanto o controlo positivo.

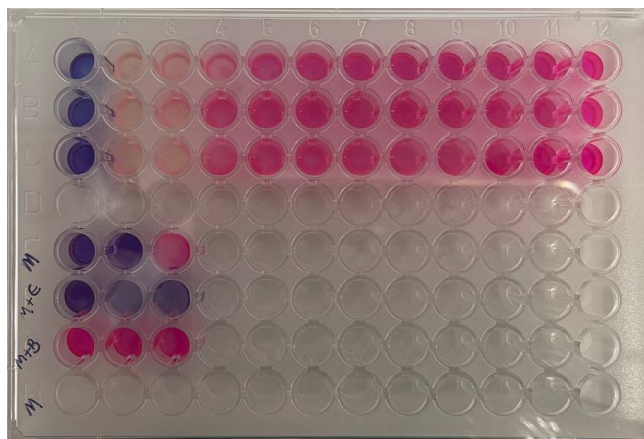
O teste de disco-difusão revelou que o produto cosmético possui atividade antimicrobiana contra *C. acnes*, uma bactéria comumente associada ao desenvolvimento de acne. Embora os halos de inibição variem de 8 a 12 mm, indicando uma eficácia moderada, o produto foi capaz de inibir parcialmente o crescimento da bactéria em todas as placas, com exceção de um quadrante na Placa 3, neste quadrante não houve atividade inibitória. Esse resultado é encorajador, pois sugere que o produto tem potencial para ser utilizado como um agente auxiliar no combate à acne, especialmente devido à presença de óleos essenciais com propriedades antimicrobianas. Contudo, a atividade observada foi inferior à do controlo positivo (Cloranfenicol), que é um antibiótico de uso tópico e sistêmico potente. Isso sugere que, embora o produto cosmético tenha algum efeito contra *C. acnes*, ele não substitui um tratamento antibiótico padrão, mas pode atuar como um complemento no tratamento da acne.

**Tabela 16.** Resultados teste disco-difusão *C. Acnes*.

	Diâmetro do Halo de Inibição, (mm)			Controlo
Placa 1	10	12	10	20
Placa 2	10	10	8	20
Placa 3	10	10	0	20

A MIC do produto cosmético foi de 0,25 g/mL. Isso significa que a concentração de 0,25 g/mL foi suficiente para inibir o crescimento de *C. acnes*. Em outras palavras, essa é a menor concentração do produto necessária para impedir que a bactéria se multiplique. A

CMB foi de 0,5 g/mL, o que significa que essa concentração foi capaz de matar completamente as bactérias. A diferença entre a MIC (0,25 g/mL) e a CMB (0,5 g/mL) mostra que uma concentração ligeiramente maior é necessária para eliminar totalmente a bactéria.



**Figura 25.** Teste atividade antimicrobiana do produto cosmético.

Essa propriedade bactericida contra *C. acnes* do produto cosmético mostra-se promissora, especialmente por conter óleos essenciais, que são uma alternativa mais natural aos produtos químicos sintéticos tradicionais. A concentração necessária (0,25 g/mL para inibir e 0,5 g/mL para matar) é moderada e indica que o produto pode ser uma opção eficaz e natural para o tratamento de acne.

#### 4.4.7 Toxicidade

O teste de toxicidade utilizando *Artemia franciscana* é amplamente aceite para avaliar o impacto tóxico de substâncias em organismos simples, permitindo a determinação da Concentração Letal Média (LC<sub>50</sub>). Esse teste foi utilizado para comparar o perfil de toxicidade do produto cosmético, do Tween 40 (1,5%) (utilizado como dispersante) e do dicromato de potássio (utilizado como controlo positivo de toxicidade). A LC<sub>50</sub> representa a concentração necessária para causar mortalidade em 50% dos organismos testados, sendo um importante indicador da toxicidade aguda de uma substância.

**Tabela 17.** Resultados obtidos dos valores de LC<sub>50</sub>

	<b>Tween 40 1,5%</b>	<b>Dicromato de Potássio</b>	<b>Produto Cosmético</b>
LC <sub>50</sub> (µg/mL)	>1000	38,1	>1000

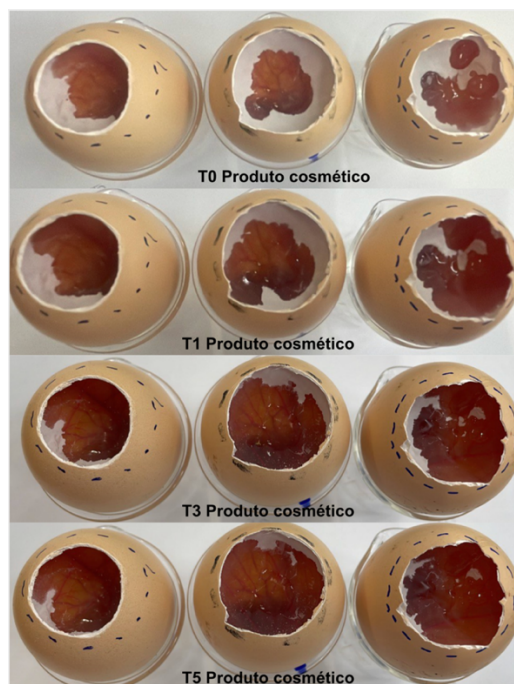
O dicromato de potássio apresentou um valor de LC<sub>50</sub> de 3,81 µg/mL, o que confirma sua alta toxicidade para *Artemia franciscana*. Este resultado era esperado, já que o dicromato é uma substância altamente tóxica, frequentemente utilizada como referência em testes de toxicidade. A baixa LC<sub>50</sub> para o dicromato de potássio valida o teste, demonstrando que o modelo utilizado é sensível o suficiente para detectar substâncias tóxicas e responder adequadamente.

O Tween 40 (1,5%), utilizado como dispersante no teste, apresentou um valor de LC<sub>50</sub> superior a 1000 µg/mL, indicando baixa toxicidade. Esse resultado é positivo, pois demonstra que o Tween 40, na concentração utilizada, não contribuiu significativamente para a mortalidade das artemias. Assim, podemos descartar a possibilidade de que o dispersante tenha influenciado negativamente os resultados de toxicidade do produto cosmético. O Tween 40 é amplamente utilizado em formulações cosméticas como emulsificante, e esses resultados confirmam sua segurança em concentrações usuais.

O produto cosmético apresentou um valor de LC<sub>50</sub> superior a 1000 µg/mL, indicando baixa toxicidade aguda em organismos simples, de acordo com os critérios de Meyer et al. (1982). Esse resultado é altamente encorajador, pois sugere que o produto pode ser considerado seguro para uso em seres humanos, pelo menos no que diz respeito à toxicidade aguda. Uma LC<sub>50</sub> elevada (>1000 µg/mL) indica que o produto cosmético não é letal para organismos simples em concentrações significativamente altas, o que é um bom indicativo de seu perfil de segurança, sendo um produto atóxico para uso em humanos.

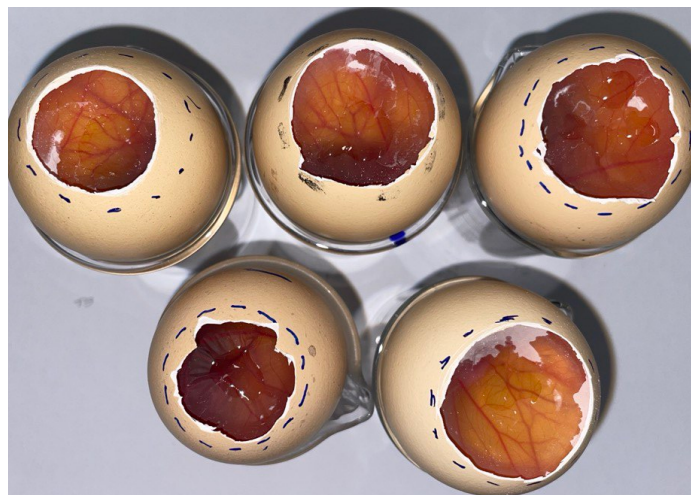
#### **4.4.8 Irritação Ocular**

Os resultados mostraram que não houve qualquer tipo de irritação nas amostras testadas com o produto cosmético. Não foram observadas reações como hiperemia, hemorragia ou coagulação ao longo dos 300 segundos de monitoramento. As amostras de ovos tratados com o produto cosmético se assemelharam ao controlo negativo. Isso indica que o produto não provocou nenhuma reação adversa ou inflamatória na membrana córneoalantoide.



**Figura 26.** Teste HET-CAM realizado com produto cosmético.

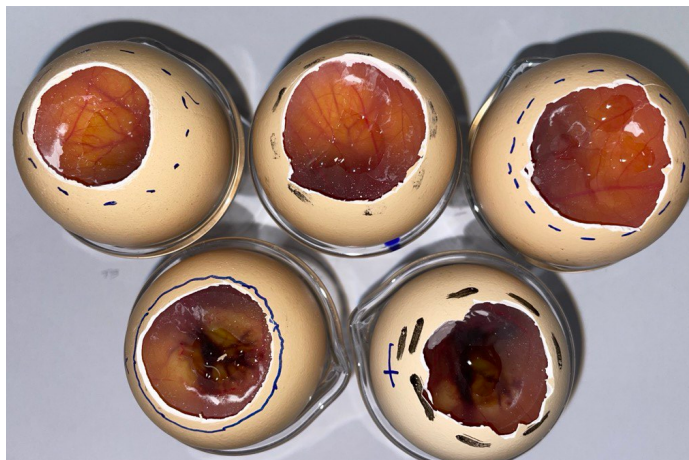
O controlo negativo, que utilizou NaCl 0,9%, não mostrou sinais de irritação, servindo como referência de uma substância não irritante. A semelhança dos resultados obtidos com o produto cosmético e o controlo negativo reforça a conclusão de que o produto não possui potencial irritativo.



**Figura 27.** Comparativo produto cosmético e controlo negativo teste HET-CAM.

Como esperado, o controlo positivo apresentou reações irritativas intensas, como hiperemia, hemorragia e coagulação, ocorrendo rapidamente após a aplicação. Isso valida o

modelo experimental, confirmando que o teste foi sensível e suficiente para detectar substâncias irritantes graves.



**Figura 28.** Comparativo produto cosmético e controle positivo teste HET-CAM.

A ausência total de reações irritativas permite concluir que o Índice de Irritação (IS) do produto cosmético é 0 (Luepke, 1985), conforme a escala de pontuação do método HET-CAM. De acordo com a classificação estabelecida, um IS = 0 significa que o produto é não irritante. A ausência de irritação nas membranas com o produto cosmético é um indicativo claro de que a formulação é segura para uso tópico, especialmente em áreas sensíveis, como o rosto e ao redor dos olhos e que o produto é adequado para uso cosmético sem risco significativo de causar desconforto ou lesões oculares em condições normais de uso.

#### 4.4.9 Testes Cutâneos

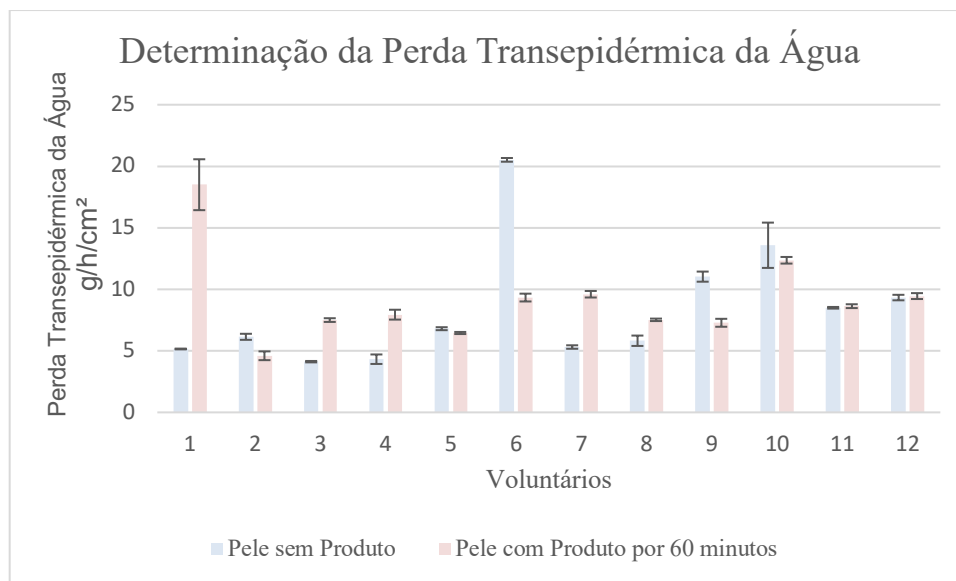
##### 4.4.9.1 Determinação da Perda Transepidérmica da Água (TEWL)

A TEWL é um indicador importante para verificar se o produto melhora ou prejudica a retenção de humidade pela pele. O voluntário **12**, que atuou como controlo (sem aplicação do produto), serviu como referência para comparar os efeitos da aplicação nas demais amostras. O anexo X representa a tabela com os valores da determinação da perda transepidérmica de água.

Outros voluntários, como os números 5 e 11, apresentaram pequenas reduções ou estabilizações na TEWL após o uso do produto. O controlo (voluntário 12) teve uma variação mínima de 0,12 g/h/cm<sup>2</sup>, o que serve como uma referência de estabilidade natural da pele

sem o produto. Comparado ao controlo, esses resultados mostram que, em muitos casos, o produto não afetou negativamente a pele e, de facto, ajudou a manter sua integridade. Em contrapartida, voluntários como os números 1, 3, 4 e 7 mostraram um aumento na TEWL após a aplicação do produto. O aumento mais significativo foi observado no voluntário 1, que teve uma diferença de 13,35 g/h/cm<sup>2</sup>, o que pode indicar uma possível sensibilização da pele ou uma interferência temporária na função de barreira. Embora esse aumento não tenha sido observado na maioria dos voluntários, é importante investigar as causas desse aumento em certos indivíduos, possivelmente relacionado a tipos de pele mais sensíveis.

Considerando que a maioria dos voluntários que utilizaram o produto cosmético apresentou uma redução na TEWL, esses resultados sugerem que o produto ajudou a preservar ou melhorar a retenção de humidade da pele. O controlo (voluntário 12), que não recebeu o produto, manteve uma TEWL estável, o que indica que as reduções observadas nos voluntários que usaram o produto foram, de fato, causadas pelo cosmético.] o produto cosmético mostrou um bom desempenho na retenção de humidade da pele para a maioria dos voluntários, resultando em uma redução da TEWL em comparação com a pele sem o produto.



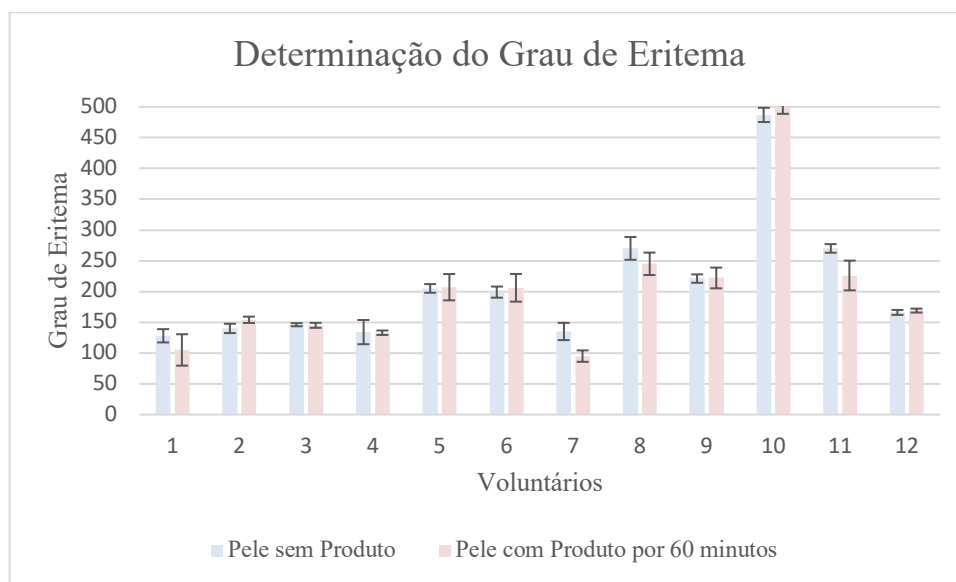
**Figura 29.** Gráfico perda transepidermica voluntários.

#### 4.4.9.2 Determinação do grau de Eritema

Os resultados obtidos mostram a comparação entre o grau de eritema antes e depois da aplicação do produto em 11 voluntários, sendo o voluntário 12 o controlo (sem aplicação do produto). Alguns voluntários (como os números 1, 7, 11) apresentaram uma redução no

grau de eritema após a aplicação do produto. O voluntário 11 teve uma redução significativa de 44 unidades, sugerindo que o produto pode ter contribuído para a redução da inflamação e da vermelhidão nesses casos. Esses resultados indicam que, para esses voluntários, o produto cosmético pode ter um efeito calmante ou, pelo menos, não irritante, o que é um indicativo positivo de sua segurança para aplicação tópica.

Alguns voluntários, como o número 10, mostraram um ligeiro aumento no grau de eritema após a aplicação do produto, com uma diferença de 13 unidades. Embora o aumento não seja excessivo, pode indicar uma leve sensibilização da pele. Os voluntários 2 e 5 também apresentaram um aumento no eritema, com diferenças de 14 e 2 unidades, respectivamente. Esses aumentos são pequenos e não sugerem uma reação adversa forte. A maioria dos voluntários (como os números 3, 4, 6, 9) apresentou pouca ou nenhuma variação no grau de eritema antes e depois da aplicação do produto. Isso é um bom sinal, pois sugere que o produto não causou irritação adicional e foi bem tolerado pela pele, mantendo a integridade sem provocar inflamações. O voluntário 12, que atuou como controlo (sem aplicação do produto), apresentou uma diferença mínima de -3 unidades no grau de eritema, o que reforça a estabilidade natural da pele sem o uso do cosmético. Esse resultado serve como referência para comparar a reação cutânea dos demais voluntários, sugerindo que a variação observada em outros indivíduos pode ser atribuída à aplicação do produto.



**Figura 30.** Gráfico grau eritema voluntários.

A avaliação do grau de eritema indica que, para a maioria dos voluntários, o produto cosmético não causou uma resposta inflamatória significativa e, em alguns casos, pode ter até reduzido a vermelhidão. Embora alguns indivíduos tenham mostrado um leve aumento na vermelhidão, a magnitude da mudança não foi preocupante, sugerindo que o produto é bem tolerado pela maioria dos usuários e tem um baixo potencial irritante.

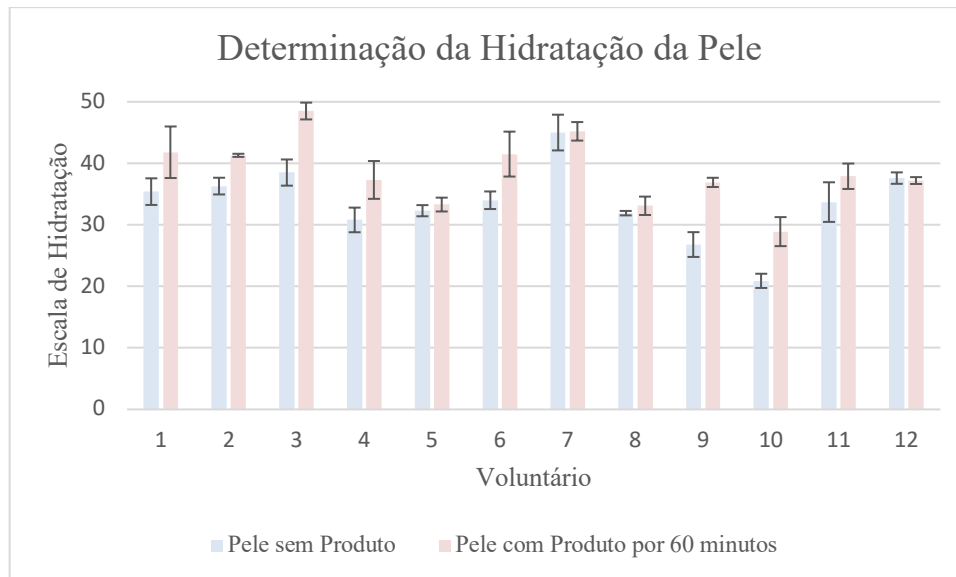
Esses resultados são encorajadores e sugerem que o produto cosmético pode ser considerado seguro para uso cutâneo, com um risco mínimo de causar irritação ou inflamação, no entanto a amostra é muito reduzida pelo que teríamos de ter estudos em painéis maiores de voluntários, para ter respostas mais conclusivas.

#### **4.4.9.3 Determinação da Hidratação da Pele**

No Anexo 9 os resultados mostram a comparação entre a hidratação da pele antes e depois de 60 minutos da aplicação do produto cosmético. Muitos voluntários mostraram um aumento notável na hidratação da pele após a aplicação do produto. Voluntários como os números 3, 6, 9 e 10 tiveram aumentos consideráveis, com diferenças de 10, 7,5, 10,1 e 8 unidades, respectivamente. Esses resultados indicam que o produto melhora a capacidade da pele de reter água, o que é um indicativo positivo de sua eficácia como hidratante.

Esses aumentos são expressivos, especialmente em peles com níveis mais baixos de hidratação inicial, como observado nos voluntários 9 e 10, que começaram com valores de 26,8 e 20,9, respectivamente, e tiveram aumentos significativos após o uso do produto.

O voluntário 12, que atuou como controlo (sem aplicação do produto), apresentou pouca variação na hidratação da pele, com uma diferença de apenas 0,4 unidade. Isso serve como uma referência de estabilidade natural da pele sem o uso do produto, reforçando que as variações observadas nos demais voluntários podem ser atribuídas à aplicação do cosmético.



**Figura 31.** Gráfico hidratação voluntários.

Para a maioria dos voluntários, a aplicação do produto cosmético aumentou a hidratação da pele, o que sugere que o produto tem a capacidade de melhorar a retenção de água na epiderme. Esse efeito é especialmente visível em peles que começaram com níveis mais baixos de hidratação, indicando que o produto pode ser particularmente útil em peles secas ou desidratadas. Os casos em que a hidratação inicial já era alta (como os voluntários 7 e 12), o produto manteve a hidratação estável, sem causar redução significativa. Isso sugere que o produto é adequado para manutenção da hidratação, sem causar efeitos adversos em peles já bem hidratadas.

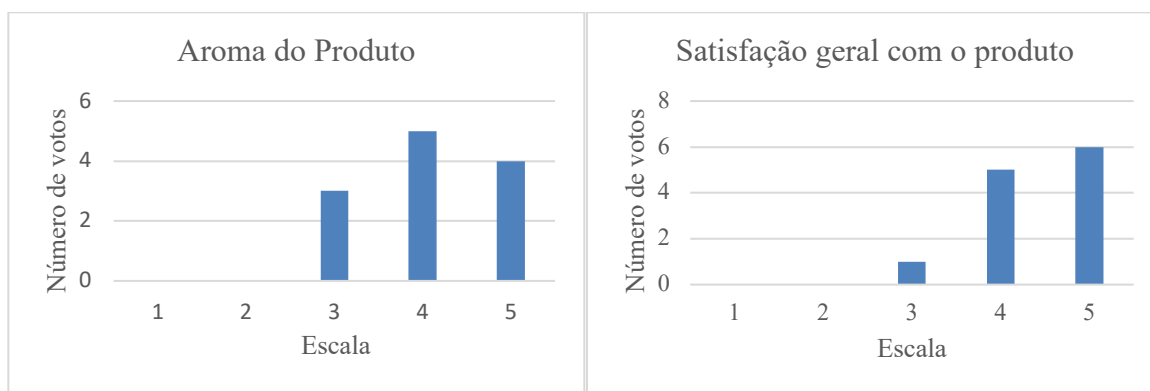
No geral, os resultados são encorajadores e sugerem que o produto é eficaz na hidratação cutânea e pode ser recomendado para manter ou melhorar o nível de humidade da pele em uma ampla variedade de usuários.

#### 4.4.10 Análise Sensorial

A maioria dos voluntários atribuiu uma pontuação de 4 para o aroma do produto, indicando que o aroma foi considerado agradável. Apenas alguns voluntários classificaram o aroma com um 3, o que sugere que ele foi neutro para eles, enquanto ninguém deu notas mais baixas, o que é um bom indicativo de aceitação geral. Esse resultado indica que o aroma do

produto foi bem aceito pela maioria dos participantes, e não houve reações negativas significativas.

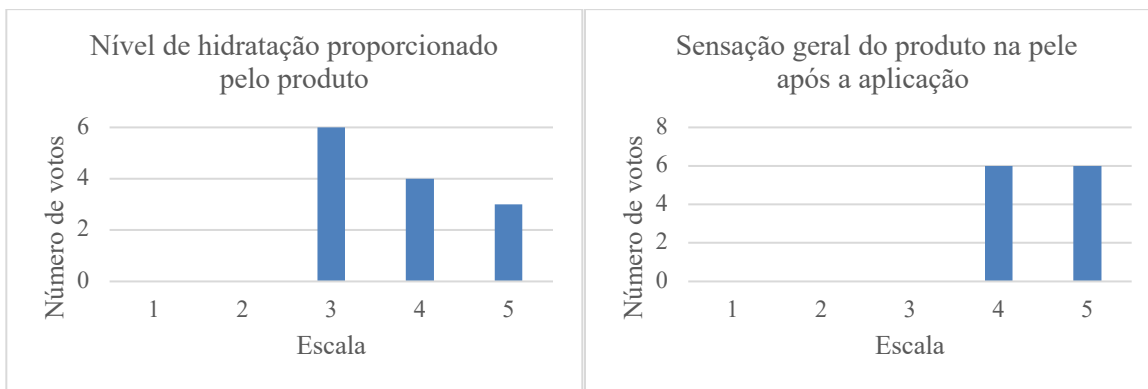
A satisfação geral foi predominantemente positiva, com a maioria dos voluntários dando uma nota 4 ou 5. Isso indica que, em termos de experiência global, o produto teve uma boa aceitação, e os voluntários ficaram satisfeitos com seu uso. Apenas um ou dois participantes deram uma nota 3, sugerindo que algumas melhorias ainda podem ser feitas, mas de modo geral o feedback foi muito positivo.



**Figura 32.** Resultados análise sensorial aroma do produto e satisfação geral com o produto.

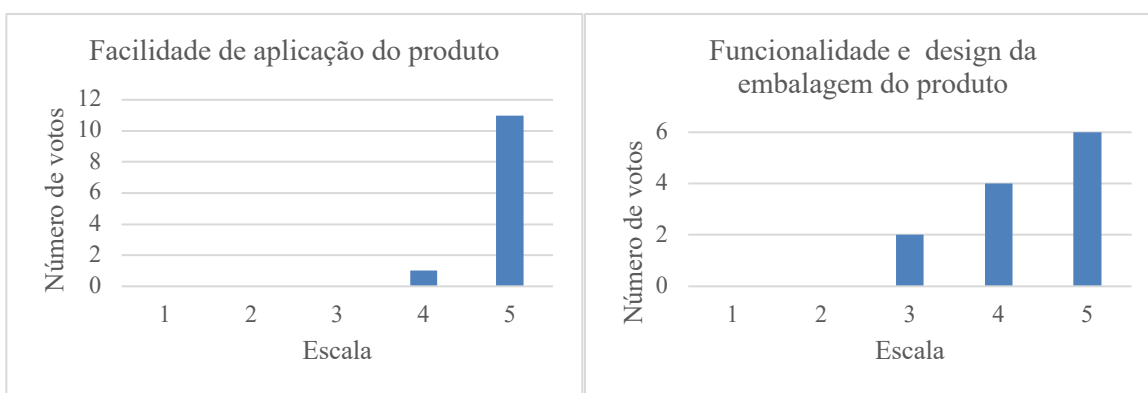
O nível de hidratação foi avaliado principalmente com 4, o que indica que o produto é percebido como hidratante pela maioria dos usuários. Embora a pontuação 4 tenha sido a mais frequente, houve também algumas avaliações de 3, o que pode indicar que, para alguns voluntários, a hidratação foi moderada e não tão intensa quanto esperavam. Esse resultado sugere que o produto cosmético tem uma boa capacidade de hidratação, mas talvez seja interessante aprimorar a formulação para aumentar o efeito hidratante para todos os tipos de pele.

A sensação do produto na pele após a aplicação foi majoritariamente classificada como 4, indicando uma boa aceitação em termos de conforto e suavidade na pele. Não foram atribuídas notas abaixo de 3, o que indica que o produto não causou desconforto ou irritação. A experiência geral foi positiva, sugerindo que a textura e a sensação do produto na pele são adequadas.



**Figura 33.** Resultados análise sensorial nível de hidratação e satisfação geral.

A facilidade de aplicação foi um dos aspectos mais bem avaliados, com a maioria dos voluntários dando uma nota 4 ou 5. Isso demonstra que o produto foi considerado fácil de usar e aplicar, o que é uma característica essencial para a aceitação do consumidor. Nenhum voluntário relatou dificuldades de aplicação significativas, o que é um excelente resultado. O design e a funcionalidade da embalagem também foram bem recebidos, com a maioria das notas sendo 4 ou 5. A embalagem foi considerada funcional e atraente, o que é importante para a experiência de uso e a percepção de qualidade do produto. No entanto, houve algumas notas de 3, o que pode sugerir que pequenos ajustes na embalagem poderiam melhorar ainda mais a experiência do consumidor.



**Figura 34.** Resultados análise sensorial facilidade de aplicação e funcionalidade e design da embalagem.

A análise sensorial do produto cosmético revela uma alta aceitação entre os voluntários, com a maioria das avaliações situando-se nas notas 4 e 5 em todos os aspectos avaliados. Os resultados sugerem que o produto é agradável de usar, hidratante e fácil de aplicar, com boa percepção de aroma e design funcional da embalagem. Na figura 38 é possível perceber que a embalagem se trata de um frasco fosco de vidro e a aplicação se dá com a pulverização do produto sobre o rosto.



**Figura 35.** Aspecto do produto cosmético embalado

## 5. Conclusão

Este estudo explorou a viabilidade da valorização da borra de café como ingrediente ativo em uma formulação cosmética, focando em suas propriedades antioxidantes e aplicação prática em um produto sustentável. A pesquisa demonstrou que a borra de café, um resíduo comumente descartado, possui um grande potencial de reaproveitamento, especialmente no desenvolvimento de cosméticos, contribuindo para a economia circular. O estudo de campo realizado em Bragança revelou que os cafés e pastelarias da cidade estão dispostas a separar e disponibilizar a borra de café para coleta, sugerindo a viabilidade de um sistema sustentável de coleta de resíduos. Com 84 cafés e 34 pastelarias no concelho, o volume de borra gerado diariamente seria suficiente para abastecer um sistema de reaproveitamento em escala industrial, seja para produção de cosméticos ou outras aplicações.

A borra de café mostrou ser rica em compostos bioativos, como fenólicos e flavonoides, que possuem propriedades antioxidantes. A análise dos métodos de extração revelou que a decocção apresentou o maior rendimento de compostos fenólicos e flavonoides, o que a torna uma técnica eficaz para maximizar a capacidade antioxidante. No entanto, o método de ultrassons destacou-se como o mais eficiente em termos de atividade antioxidante, apresentando os melhores resultados nas análises de captura de radicais livres (DPPH) e poder redutor, mesmo com um rendimento menor. Essa diferença entre os métodos de extração mostra a importância de selecionar a técnica de acordo com o objetivo desejado, seja otimizar o rendimento total ou preservar compostos antioxidantes mais reativos. Os resultados mostraram também que todos os métodos de extração resultaram em valores semelhantes de Fator de Proteção Solar (FPS), sendo 25, o que reforça o potencial da borra de café como um ingrediente fotoprotetor. Isso sugere que o extrato de borra de café pode ser utilizado em formulações cosméticas para proteger a pele contra a radiação UV, contribuindo para a prevenção do fotoenvelhecimento e dos danos causados pelo sol.

No desenvolvimento do produto cosmético, foi criada uma fórmula de bruma facial à base de água, glicerina, extrato de borra de café, óleo de semente de cenoura e óleos essenciais de alecrim e tomilho, atuando como conservantes naturais. Este produto foi submetido a testes de estabilidade que avaliaram suas características físicas e químicas ao longo do tempo em diferentes condições de temperatura e luz. Os testes mostraram que o

produto se manteve estável durante o período avaliado, sem alterações significativas no pH, cor, odor ou aparência, exceto nas condições de temperatura elevada, onde o odor se intensificou e o produto se apresentou levemente turvo, indicando que o produto deve ser mantido em locais frescos.

Os resultados do Challenge Test revelaram um desempenho variável dos óleos essenciais de alecrim e tomilho contra os diferentes microrganismos testados. O produto mostrou-se ineficaz contra as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. Em ambos os casos, houve aumento nas contagens bacterianas, sugerindo que os óleos essenciais utilizados na concentração testada, não inibiram o crescimento destas bactérias.

No entanto, os óleos essenciais demonstraram eficácia contra *Escherichia coli*, com uma redução significativa das contagens bacterianas ao longo do teste. O produto apresentou resultados positivos no controlo dos fungos *Candida albicans* e *Aspergillus brasiliensis*. As contagens de ambos os fungos foram significativamente reduzidas ao longo do tempo, confirmando a eficácia dos óleos essenciais na inibição do crescimento fúngico. Isso sugere que os compostos presentes nos óleos essenciais, como o ácido rosmarínico e o cineol do alecrim, além do timol e carvacrol do tomilho, foram capazes de romper as membranas celulares e inibir o crescimento destes microrganismos. Esses resultados destacam a eficácia seletiva dos óleos essenciais de alecrim e tomilho como conservantes naturais em cosméticos.

Embora tenham sido eficazes contra *Escherichia coli*, *Candida albicans* e *Aspergillus brasiliensis*, os óleos falharam em controlar *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. Isso sugere que, embora os óleos essenciais possam ser uma solução promissora para produtos cosméticos naturais, sua eficácia depende do tipo de micro-organismo alvo, e pode ser necessário alterar suas concentrações ou combinar esses óleos com outros conservantes naturais ou tecnologias antimicrobianas para garantir uma proteção abrangente contra bactérias e fungos. Futuros estudos devem explorar combinações de óleos essenciais ou alternativas naturais que possam aumentar a eficácia antimicrobiana e oferecer uma proteção mais ampla, sem comprometer a naturalidade da formulação.

Os testes realizados com a bactéria *Cutibacterium acnes* foram fundamentais para avaliar o potencial antimicrobiano do produto cosmético, especificamente em relação ao seu uso como um agente antiacne. No teste de disco-difusão, o produto apresentou halos de inibição, indicando que ele possui ação antimicrobiana contra a *C. acnes*. Embora os halos

de inibição variem entre as diferentes réplicas, o produto demonstrou atividade inibitória, comparável ao controlo positivo (Cloranfenicol), ainda que em menor intensidade. Isso sugere que o produto cosmético tem um potencial bacteriostático, ou seja, pode impedir o crescimento da bactéria. No teste de MIC e CMB, o produto demonstrou uma Concentração Inibitória Mínima (MIC) de 0,25 g/mL e uma Concentração Bactericida Mínima (CMB) de 0,5 g/mL. Esses resultados indicam que o produto cosmético consegue inibir o crescimento da bactéria e ser bactericida em concentrações um pouco mais altas.

O teste de toxicidade, realizado com *Artemia franciscana*, indicou que o produto cosmético não apresenta toxicidade significativa. O valor de LC<sub>50</sub> obtido foi superior a 1000 µg/mL, demonstrando que o produto é seguro para uso tópico. Esses resultados garantem que o produto é viável para aplicação em pele humana sem riscos de toxicidade.

O teste de irritação ocular utilizando o método HET-CAM (Hen's Egg Test on the Chorioallantoic Membrane), mostrou que o produto não causou qualquer irritação nas membranas testadas, apresentando um comportamento semelhante ao controlo negativo (solução de NaCl), o que classifica o produto como não irritante para os olhos.

Os testes cutâneos realizados avaliaram a eficácia do produto na pele dos voluntários. A perda transepidérmica de água (TEWL) foi reduzida na maioria dos voluntários após a aplicação do produto, indicando uma melhora na integridade da barreira cutânea e uma redução da desidratação da pele. Além disso, a determinação do grau de eritema mostrou que o produto não causou irritação cutânea, com a maioria dos voluntários apresentando uma redução da vermelhidão após a aplicação. A hidratação da pele foi significativamente aumentada em vários voluntários, demonstrando que o produto possui um efeito hidratante notável, com resultados consistentes de aumento da humidade da pele.

Para prospecções futuras, seria interessante otimizar os métodos de extração, principalmente o ultrassom, utilizando sondas ultrassónicas mais potentes e explorando novas variáveis, como tempo de extração e solventes alternativos. Além disso, testes em larga escala seriam necessários para validar a viabilidade económica e técnica do processo de reaproveitamento da borra de café. O desenvolvimento de novas formulações cosméticas também seria um caminho promissor, aproveitando as propriedades antioxidantes e fotoprotetoras da borra de café para produtos antienvhecimento, hidratantes e protetores solares.

Outra linha de pesquisa futura poderia focar em explorar outras propriedades bioativas da borra de café, como seus potenciais ações anti-inflamatórias e antimicrobianas, ampliando ainda mais suas aplicações para a área cosmeceutica. A criação de parcerias estratégicas com empresas locais para coletar e processar a borra de café também é uma oportunidade a ser considerada, promovendo a sustentabilidade e gerando valor a partir de um resíduo amplamente disponível.

Em conclusão, este estudo mostrou que a borra de café, tradicionalmente tratada como um resíduo, pode ser transformada em um recurso valioso para a indústria cosmética, contribuindo para a sustentabilidade ambiental e oferecendo benefícios econômicos. O sucesso da valorização da borra de café dependerá da otimização dos processos de extração e da implementação de um sistema eficiente de coleta, com o potencial de criar um ciclo sustentável que valorize tanto a matéria-prima quanto os produtos.

## Referências Bibliográficas

- Adam, D. J., Mainwaring, J., & Quigley, M. N. (1996). Soxhlet Extraction of Caffeine from Beverage Plants. *Journal of Chemical Education*, 73(12), 1171. <https://doi.org/10.1021/ed073p1171>
- AICC - Associação Industrial e Comercial do Café. Apresentação. [online] Available at: <http://aicc.pt/apresentacao/>. Acesso em: 14 de março de 2024.
- Agron Food Academy. (2023). Utilização de Subprodutos do Processamento de Café Arábica na Elaboração de Produtos Fermentados: Uma Revisão. Disponível em: Agron Food Academy. <https://doi.org/10.53934/IIISEMICRO-09>.
- Aguiar, B., Carmo, H., Garrido, J., Sousa, M., & Almeida, I. F. (2021). In Vitro Evaluation of the Photoreactivity and Phototoxicity of Natural Polyphenol Antioxidants. *Molecules*, 27(1), 189–189. <https://doi.org/10.3390/molecules27010189>
- Alcázar Magaña, A., Kamimura, N., Soumyanath, A., Stevens, J. F., & Maier, C. S. (2021). Caffeoylquinic acids: chemistry, biosynthesis, occurrence, analytical challenges, and bioactivity. *The Plant Journal*, 107(5), 1299–1319. <https://doi.org/10.1111/tpj.15390>
- Almeida, M. B.; Benassi, M. D. T. Atividade antioxidante e estimativa do teor de melanoidinas em cafés torrados comerciais. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 32, n. 4Sup1, p. 1893, 6 dez. 2011.
- Alves, A., Sousa, E., Kijjoa, A., & Pinto, M. (2020). Marine-Derived Compounds with Potential Use as Cosmeceuticals and Nutricosmetics. *Molecules*, 25(11), 2536. <https://doi.org/10.3390/molecules25112536>
- Amstaldem, L. C., Leite, F., Menezes, H. C. Identificação de voláteis de café através de cromatografia gasosa de alta resolução/espectrometria de massas empregando um amostrador automático de “Headspace”. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.21, n.1, p.123-128, 2001.
- Araújo, S. M. O., et al. (2016). "Coffee roasting: chemical changes and evaluation of quality". *Química Nova*, 39(1), 70-78.
- Asanuma, N., Aita, Y., & Nonomura, Y. (2018). Tactile Texture of Cosmetic Sponges and Their Friction Behavior under Accelerated Movement. *Journal of Oleo Science*, 67(9), 1117–1122. <https://doi.org/10.5650/jos.ess18038>
- Autier, P., Doré, J.-F., Négrier, S., Liénard, D., Panizzon, R., Lejeune, F. J., Guggisberg, D., & Eggermont, A. M. M. (1999). Sunscreen Use and Duration of Sun Exposure: a Double-Blind,

Randomized Trial. JNCI: Journal of the National Cancer Institute, 91(15), 1304–1309.  
<https://doi.org/10.1093/jnci/91.15.1304>

Bae J, Hong KH. Optimized Dyeing Process for Enhancing the Functionalities of Spent Coffee Dyed Wool Fabrics Using a Facile Extraction Process. *Polymers (Basel)*. 2019 Mar 28;11(4):574. doi: 10.3390/polym11040574. PMID: 30960558; PMCID: PMC6523087.

Bassetto et al., 2016, Brasília. Processo produtivo do café torrado e moído [...]. [S. l.: s. n.], 2016. Disponível em: [http://www.fecilcam.br/anais/x\\_eepa/data/uploads/11-agroindustria/11-01.pdf](http://www.fecilcam.br/anais/x_eepa/data/uploads/11-agroindustria/11-01.pdf). Acesso em: 11 fev. 2024.

Bashi. (2016). Evaluation, prediction and optimization the ultrasound-assisted extraction method using response surface methodology: antioxidant and biological properties of *Stachys parviflora* L. Iranian Journal of Basic Medical Sciences, 19(5).  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27403260/>

Barel, A. O., Paye, M., & Maibach, H. I. (2009). *Handbook of Cosmetic Science and Technology*. CRC Press.

Berker, K. I., Güçlü, K., Tor, İ., & Apak, R. (2007). Comparative evaluation of Fe(III) reducing power-based antioxidant capacity assays in the presence of phenanthroline, batho-phenanthroline, tripyridyltriazine (FRAP), and ferricyanide reagents. *Talanta*, 72(3), 1157–1165. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2007.01.019>

Borrelli, R. C., Visconti, A., Mennella, C., Anese, M., Fogliano, V. Chemical characterization and antioxidant properties of coffee melanoidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 50, n. 22, p. 6527-6533, 2002.

Bresani, R.; Estrada, E.; Jarquin, R. Pulpa y pergamino de café. I. Composición química y contenido de aminoácidos de la proteína de la pulpa. *Turrialba*, v. 22. n. 3, p. 299-304, 1972.

Blinová, Lenka & Pastierova, Alica & Sirotiak, Maroš. (2017). Biodiesel Production from Spent Coffee Grounds. *Research Papers Faculty of Materials Science and Technology Slovak University of Technology*. 25. 10.1515/rput-2017-0013.

Burdge, G. C., & Calder, P. C. (2015). Conversion of  $\alpha$ -linolenic acid to longer-chain polyunsaturated fatty acids in human adults. *Reproduction Nutrition Development*, 45(5), 581-597. <https://doi.org/10.1051/rnd:2005047>

- Campos-Vega, R. et al. Spent coffee grounds: A review on current research and future prospects. *Trends in Food Science & Technology*, v. 45, n. 1, p. 24–36, 1 set. 2015. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.04.012>
- Cämmerer, Bettina; Jalyschkov, V.; Kroh, L. W. Carbohydrate structures as part of the melanoidin skeleton. *International Congress Series*, v. 1245, p. 269–273, nov. 2002.
- Chandrayan, A., & Hood, M. (2024). Natural Preservatives in Cosmetics: Efficacy, Stability, and Regulatory Considerations. *IOSR Journal of Pharmacy*, 14, 37–40. <https://www.iosrphr.org/papers/vol14-issue4/E1404013740.pdf>
- Chen X. A review on coffee leaves: Phytochemicals, bioactivities and applications. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2019;59(6):1008-1025. doi: 10.1080/10408398.2018.1546667. Epub 2018 Dec 22. PMID: 30580549.
- Cosmetics Europe: Guidelines On Stability Testing Of Cosmetic Products All Rights Reserved To Ctfa And Cosmetics Europe Guidelines On Stability Testing Of Cosmetic Products. (2004). [https://www.cosmeticseurope.eu/files/5914/6407/8121/guidelines\\_on\\_stability\\_testing\\_of\\_cosmetics\\_ce-ctfa\\_-\\_2004.pdf](https://www.cosmeticseurope.eu/files/5914/6407/8121/guidelines_on_stability_testing_of_cosmetics_ce-ctfa_-_2004.pdf)
- Cosmetics Europe. (2023). *Cosmetics Industry*. Cosmetics Europe - the Personal Care Association. <https://cosmeticseurope.eu/cosmetics-industry/>
- Daglia, M.; Papetti, A.; Gregotti, C.; Berte, F.; Gazzani, G. In vitro antioxidant and ex vivo protective activities of green and roasted coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.48, p.1449-1454, 2000.
- Danjolli-Hashani, D., & Selen-Işbilir, Ş. (2022). Effects of Extraction Period on Bioactive Compounds Extracted from *Olea Europaea* (var. Domat) Leaves by Ultrasound-Assisted Extraction. *Acta Chimica Slovenica*, 69(2), 430–436. <https://doi.org/10.17344/acsi.2021.7332>
- Davis, Aaron P., et al. "Coffee: Botany, biochemistry and production of beans and beverage." In *Horticultural Reviews*, vol. 32, pp. 1-77. John Wiley & Sons, Inc., 2006.
- Dewanto V, Wu X, Adom KK, Liu RH. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *J Agric Food Chem*. 2002;50(10):3010-4.
- Dini, I. (2024). “Edible Beauty”: The Evolution of Environmentally Friendly Cosmetics and Packaging. *Antioxidants*, 13(6), 742–742. <https://doi.org/10.3390/antiox13060742>

- Bruma facial: 8 opções para revitalizar e hidratar a pele instantaneamente - ELLE Brasil. (2021, November 17). ELLE Brasil. [https://elle.com.br/beleza/bruma-facial-opcoes?srsltid=AfmBOopvcf6SmgW\\_rfPLquqQx4mZFEo9g3PR6B1oSNFWf4BnsIOoGg dv](https://elle.com.br/beleza/bruma-facial-opcoes?srsltid=AfmBOopvcf6SmgW_rfPLquqQx4mZFEo9g3PR6B1oSNFWf4BnsIOoGg dv)
- Elsner, P., Maibach, H. I., & Merk, H. F. (1999). *Cosmetics*. In Springer eBooks. Springer Nature. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-59869-2>
- Encarnação, R. O.; Lima, D. R. *Café & saúde humana*. Brasília: EMBRAPA Café, 2003. 64p. (Documentos, n.1).
- Ermi Girsang, Ginting, C. N., Ehrich, N., Kamila yashfa Gunawan, & Wahyu Widowati. (2021). Anti-inflammatory and antiaging properties of chlorogenic acid on UV-induced fibroblast cell. *PeerJ*, 9, e11419–e11419. <https://doi.org/10.7717/peerj.11419>
- Euromonitor International. (2018). *Beauty and Personal Care Market Research Reports*. Euromonitor.com. <https://www.euromonitor.com/beauty-and-personal-care>
- Europe Beauty and Personal Care Products Market | Growth | Forecasts. (n.d.). [www.mordorintelligence.com](http://www.mordorintelligence.com).
- Fatthiya Lisyanti, Setia Budi, & Muhammad Zulfadhilah. (2022). Formulation Test of Preparations Face Mist Combination of Pomegranate Peel Extract and Mangosteen Peel as an Antioxidants. *Journal of Advances in Medicine and Pharmaceutical Sciences*, 1(1), 15–22. <https://doi.org/10.36079/lamintang.jamaps-0101.426>
- Ferreira, *Compositos de polímeros com borras de café*. Uminho.pt, 2020. <https://hdl.handle.net/1822/65820>
- Finney, D., 1952. *Probit analysis: a statistical treatment of the sigmoid response curve*, Cambridge University Press, Cambridge.
- Flieger, J., Flieger, W., Baj, J., & Maciejewski, R. (2021). Antioxidants: Classification, Natural Sources, Activity/Capacity Measurements, and Usefulness for the Synthesis of Nanoparticles. *Materials*, 14(15), 4135. <https://doi.org/10.3390/ma14154135>
- Fr. Eugen Köhler. (1887). *Köhler's medizinal-pflanzen in naturgetreuen abbildungen mit kurz erläuterndem texte*.
- Fukutomi, R., Ohishi, T., Koyama, Y., Pervin, M., Nakamura, Y., & Isemura, M. (2021). Beneficial Effects of Epigallocatechin-3-O-Gallate, Chlorogenic Acid, Resveratrol, and Curcumin on

<https://doi.org/10.3390/molecules26020415>

- Furmanek, Ł., Czarnota, P., Agata Tekiela, Kapusta, I., & Seaward, M. R. D. (2024). A spectrophotometric analysis of extracted water-soluble phenolic metabolites of lichens. *Planta*, 260(2). <https://doi.org/10.1007/s00425-024-04474-3>
- Gaffney SH, Abelmann A, Pierce JS, Glynn ME, Henshaw JL, McCarthy LA, Lotter JT, Liong M, Finley BL. Naturally occurring diacetyl and 2,3-pentanedione concentrations associated with roasting and grinding unflavored coffee beans in a commercial setting. *Toxicol Rep*. 2015 Aug 14;2:1171-1181. doi: 10.1016/j.toxrep.2015.08.003. PMID: 28962459; PMCID: PMC5598149.
- Geissdoerfer, M., Savaget, P., Bocken, N. M., & Hultink, E. J. (2017). The Circular Economy—A new sustainability paradigm? *Journal of Cleaner Production*, 143, 757-768. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.12.048>
- Geremu, M.; Tola, Y. B.; Sualeh, A. Extraction and determination of total polyphenols and antioxidant capacity of red coffee (*Coffea arabica* L.) pulp of wet processing plants. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, v. 3, n. 1, 26 set. 2016.
- Gil-Martín, E., Forbes-Hernández, T., Romero, A., Cianciosi, D., Giampieri, F., & Battino, M. (2022). Influence of the extraction method on the recovery of bioactive phenolic compounds from food industry by-products. *Food Chemistry*, 378, 131918. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131918>
- Ghanem, C., Taillandier, P., Rizk, Z., Nehme, N., Souchard, J. P., & El Rayess, Y. (2019). Evolution of Polyphenols during Syrah Grapes Maceration: Time versus Temperature Effect. *Molecules*, 24(15), 2845. <https://doi.org/10.3390/molecules24152845>
- Ghisellini, P., Cialani, C., & Ulgiati, S. (2016). A review on circular economy: The expected transition to a balanced interplay of environmental and economic systems. *Journal of Cleaner Production*, 114, 11-32. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2015.09.007>
- Griffin S, Sarfraz M, Farida V, Nasim MJ, Ebokaiwe AP, Keck CM, Jacob C. No time to waste organic waste: Nanosizing converts remains of food processing into refined materials. *J Environ Manage*. 2018 Mar 15;210:114-121. doi: 10.1016/j.jenvman.2017.12.084. Epub 2018 Jan 12. PMID: 29331852.

- Guidance Document on Aquatic Toxicity Testing of Difficult Substances and Mixtures. OECD. Environmental Health and Safety Publication. 2000. Series on Testing and Assessment. No. 23. Paris [https://www.oecd.org/en/publications/guidance-document-on-aquatic-toxicity-testing-of-difficult-substances-and-mixtures\\_0ed2f88e-en.html](https://www.oecd.org/en/publications/guidance-document-on-aquatic-toxicity-testing-of-difficult-substances-and-mixtures_0ed2f88e-en.html)
- Herman, A., & Herman, A. P. (2013). Caffeine's Mechanisms of Action and Its Cosmetic Use. *Skin Pharmacology and Physiology*, 26(1), 8–14. <https://doi.org/10.1159/000343174>
- Humans, I. W. G. on the E. of C. R. to. (1991). Caffeine. In [www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov). International Agency for Research on Cancer. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK507027/>
- ICCVAM-Recommended Test Method Protocol: Hen's Egg Test-Chorioallantoic Membrane (HET-CAM) Test Method; 2010;
- Ideia, Pedro. (2016). Resíduos da Indústria Agro-Alimentar Como Possíveis Fontes de Ácido Ferúlico. 10.13140/RG.2.2.17806.82248.
- Illy, E. Um dos prazeres simples da vida é bastante complicado: A saborosa complexidade do café. *Revista Scientific American Brasil*, p.48-53, 2002.
- Insights, F. B. (2023, August 28). Cosmetics Market to Hit USD 417.24 Billion by 2030 | With a CAGR of 4.2%. *GlobeNewswire News Room*. <https://www.globenewswire.com/news-release/2023/08/28/2732352/0/en/Cosmetics-Market-to-Hit-USD-417-24-Billion-by-2030-With-a-CAGR-of-4-2.html>
- International Coffee Organization (ICO). "Coffee Varieties." Disponível em: [https://www.ico.org/coffee\\_varieties.asp](https://www.ico.org/coffee_varieties.asp). Acesso em: [26/03/24].
- Institute of Medicine (US) Committee on Military Nutrition Research. (2001). *Pharmacology of Caffeine*. National Library of Medicine; National Academies Press (US). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK223808/>
- ISO 11930, Cosmetics - Microbiology - Evaluation of the antimicrobial protection of a cosmetic product. 2019;
- Jiménez-Zamora, A.; Pastoriza, S.; Rufián-Henares, J. A. Revalorization of coffee by-products. Prebiotic, antimicrobial and antioxidant properties. *LWT - Food Science and Technology*, v. 61, n. 1, p. 12–18, abr. 2015. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.11.031>
- Jin, L., Bhuiya, M. W., Li, M., Liu, X., Han, J., Deng, W., Wang, M., Yu, O., & Zhang, Z. (2014). Metabolic Engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for Caffeine and Theobromine Production. *PLoS ONE*, 9(8), e105368. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0105368>

- Johnson, E. J., Schaefer, E. J., & Cunnane, S. C. (2019). Role of omega-6 and omega-3 fatty acids in cardiovascular disease. *Journal of Clinical Lipidology*, 13(1), 124-137. <https://doi.org/10.1016/j.jacl.2018.11.001>
- Johnson, W., Heldreth, B., Bergfeld, W. F., Belsito, D. V., Hill, R. A., Klaassen, C. D., Liebler, D. C., Marks, J. G., Shank, R. C., Slaga, T. J., Snyder, P. W., & Andersen, F. A. (2017). Safety Assessment of *Anthemis nobilis*-Derived Ingredients as Used in Cosmetics. *International Journal of Toxicology*, 36(1\_suppl), 57S66S. <https://doi.org/10.1177/1091581817705620>
- Kates, R. W., Parris, T. M., & Leiserowitz, A. A. (2016). What is sustainable development? Goals, indicators, values, and practice. *Environment: Science and Policy for Sustainable Development*, 47(3), 8-21. <https://doi.org/10.1080/00139157.2005.10524444>
- Kim, Y.-S., Choi, Y.-E., & Sano, H. (2010). Plant vaccination: Stimulation of defense system by caffeine production in planta. *Plant Signaling & Behavior*, 5(5), 489-493. <https://doi.org/10.4161/psb.11087>
- Khan MO, Klamerus-Iwan A, Kupka D, Słowik-Opoka E. Short-term impact of different doses of spent coffee grounds, salt, and sand on soil chemical and hydrological properties in an urban soil. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2023 Aug;30(36):86218-86231. doi: 10.1007/s11356-023-28386-z. Epub 2023 Jul 4. PMID: 37402914; PMCID: PMC10404173.
- Kirchherr, J., Piscicelli, L., Bour, R., Kostense-Smit, E., Muller, J., Huibrechtse-Truijens, A., & Hekkert, M. (2018). Barriers to the circular economy: Evidence from the European Union (EU). *Ecological Economics*, 150, 264-272. <https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2018.04.028>
- Kirchherr, J., Reike, D., & Hekkert, M. (2017). Conceptualizing the circular economy: An analysis of 114 definitions. *Resources, Conservation and Recycling*, 127, 221-232. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2017.09.005>
- Kneipp GmbH. (2023, May 2). Kneipp tritt dem United Nations Global Compact bei: Bekenntnis zu verantwortungsbewusstem unternehmerischem... [Presseportal.de; Presseportal.de https://www.presseportal.de/pm/28515/5498626?utm\\_source=directmail&utm\\_medium=email&utm\\_campaign=push](https://www.presseportal.de/pm/28515/5498626?utm_source=directmail&utm_medium=email&utm_campaign=push)
- Kourmentza, C. et al. Spent coffee grounds make much more than waste: exploring recent advances and future exploitation strategies for the valorization of an emerging food waste stream. *Journal Of Cleaner Production*, [s.l.], v. 172, n. 172, p. 980-992, jan. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.10.088>.

- Lin, T. K., Zhong, L., & Santiago, J. L. (2021). Anti-inflammatory and skin barrier repair effects of topical application of some plant oils. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(1), 70. <https://doi.org/10.3390/ijms19010070>
- Luepke, N. P. (1985). Hen's egg chorioallantoic membrane test for irritation potential. *Food and Chemical Toxicology*, 23(2), 287–291. [https://doi.org/10.1016/0278-6915\(85\)90030-4](https://doi.org/10.1016/0278-6915(85)90030-4)
- Lukić, M., Pantelić, I., & Savić, S. D. (2021). Towards Optimal pH of the Skin and Topical Formulations: From the Current State of the Art to Tailored Products. *Cosmetics*, 8(3), 69. <https://doi.org/10.3390/cosmetics8030069>
- Machado F, Coimbra MA, Castillo MDD, Coreta-Gomes F. Mechanisms of action of coffee bioactive compounds - a key to unveil the coffee paradox. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2023 Jun 20:1-23. doi: 10.1080/10408398.2023.2221734. Epub ahead of print. PMID: 37338423.
- Mancini, A. et al. Biological and Nutritional Properties of Palm Oil and Palmitic Acid: Effects on Health. *Molecules*, v. 20, n. 9, p. 17339–17361, 18 set. 2015.
- Mansur, J. S.; Breder, M. N. R.; Mansur, M. C. A.; Azulay, R. D. Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. *An. Bras. Dermatol.*, Rio de Janeiro, v. 61, p. 121-124, 1986.
- Mansur, M., Leitão, S., Cesqueira-Coutinho, C., Vermelho, A., Silva, R., Presgrave, O., ... Santos, E. (2016). In vitro and in vivo evaluation of efficacy and safety of photoprotective formulations containing antioxidant extracts. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 26(2), 251–258. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2015.11.006>
- Martins, F., da Conceição, E., Bandeira, E., Silva, J., & Costa, R. R. (2014). The effects of extraction method on recovery rutin from *Calendula officinalis* L. (Asteraceae). *Pharmacognosy Magazine*, 10(39), 569. <https://doi.org/10.4103/0973-1296.139785>
- Mendes JF, Martins JT, Manrich A, Sena Neto AR, Pinheiro ACM, Mattoso LHC, Martins MA. Development and physical-chemical properties of pectin film reinforced with spent coffee grounds by continuous casting. *Carbohydr Polym*. 2019 Apr 15;210:92-99. doi: 10.1016/j.carbpol.2019.01.058. Epub 2019 Jan 18. PMID: 30732786.
- Meng, S., Cao, J., Feng, Q., & Peng, J. (2013). The role of chlorogenic acid on insulin resistance and type 2 diabetes mellitus. *BioMed Research International*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/801457>

- Mensor LL, Menezes FS, Leitao GG, Reis AS, dos Santos TC, Coube CS, Leitao SG. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytother Res.* 2001;15(2):127-30.
- Meyer, B., Ferrigni, N., Putnam, J., Jacobsen, L., Nichols, D., & McLaughlin, J. (1982). Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Planta Medica*, 45(05), 31–34. <https://doi.org/10.1055/s-2007-971236>
- Monagas, M., Brendler, T., Brinckmann, J., Dentali, S., Gafner, S., Giancaspro, G., Johnson, H., Kababick, J., Ma, C., Oketch-Rabah, H., Pais, P., Sarma, N., & Marles, R. (2022). Understanding plant to extract ratios in botanical extracts. *Frontiers in Pharmacology*, 13, 981978. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.981978>
- Moreira, R. F. A.; Trugo, L. C.; Maria, C. A. B.; Matos, A. G. B.; Santos, S. M.; Leite, J. M. C. Discrimination of brazilian arabica green coffee samples by chlorogenic acid composition. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion.* v. 51, n.1, p. 95-99, 2001.
- Murata, M. (2020). Browning and pigmentation in food through the Maillard reaction. *Glycoconjugate Journal*, 38. <https://doi.org/10.1007/s10719-020-09943-x>
- Nogueira, V. M. Valorização da Borra de Café através da Produção de Etanol. *Recipp.ipp.pt*, 2022.
- Nacif, A. P. O café e a saúde humana. Brasília: EMBRAPA Café, Abril, 2003. (Documentos, n.1). [Folheto].
- ONU. Agenda 2030 para o Desenvolvimento Sustentável. 2018. Disponível em: <https://nacoesunidas.org/pos2015/agenda2030/>. Acesso em: 13 julho de 2024.
- Palmeira-de-Oliveira, R. (2018). Testing vaginal irritation with the Hen’s Egg Test-Chorioallantoic Membrane assay. *ALTEX*, 495–503. <https://doi.org/10.14573/altex.1710091>
- Panusa, A. et al. Recovery of Natural Antioxidants from Spent Coffee Grounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 61, n. 17, p. 4162–4168, 22 abr. 2013.
- Park, Y. H. Build Capacity for International Health Agenda on the “Transforming Our World: The 2030 Agenda for Sustainable Development”. *Health Policy and Management*, v. 25, n. 3, p. 149–151, 30 set. 2015.
- Passos F, Cordeiro PHM, Baeta BEL, de Aquino SF, Perez-Elvira SI. Anaerobic co-digestion of coffee husks and microalgal biomass after thermal hydrolysis. *Bioresour Technol.* 2018 Apr;253:49-54. doi: 10.1016/j.biortech.2017.12.071. Epub 2017 Dec 26. PMID: 29328934.

- Pendergrast, M. *Uncommon grounds: the history of coffee and how it transformed our world*. New York: Basic Books, 2019.
- Pires, P. F. B.; Gewandsznajder, M. R. Identificação e avaliação de oportunidades para a valorização da borra do café no município do Rio de Janeiro. *pantheon.ufrj.br*, 27 jul. 2020.
- Prasniowski, Anaclara & Aguiar, Leticia. (2018). Determinação de cafeína em chá preto (*camellia sinensis*) por métodos cromatográficos: ccd, clae-dad e cg-em determination of caffeine in black tea (*camellia sinensis*) for chromatographic methods: TLC, HPLC-DAD AND GC-MS.
- Rabasco Alvarez, A. M.; González Rodríguez, M. L. Lipids in pharmaceutical and cosmetic preparations. *Grasas y Aceites*, v. 51, n. 1-2, 30 abr. 2000.
- Raworth, K. *Doughnut economics: seven ways to think like a 21st-century economist*. London: Random House Business Books, 2017.
- Rita, S. (2016). Desenvolvimento e caracterização de um sabonete contendo borras de café. *Bdigital.ufp.pt*. <http://hdl.handle.net/10284/5516>
- S, Laxmi. (2015). Herbal Cosmetics and Cosmeceuticals: An Overview. *Natural Products Chemistry & Research*, 3(2). <https://doi.org/10.4172/2329-6836.1000170>
- Sachs, J. *The Age of Sustainable Development*. New York: Columbia University Press, 2015.
- Saldaña, M. D. A.; Mazzafera, P.; Mohamed, R. S. Extração dos alcalóides: cafeína e trigonelina dos grãos de café com C supercrítico. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.17, n.4, p.371-376, 1997.
- Santana-Gálvez, J., Cisneros-Zevallos, L., & Jacobo-Velázquez, D. (2017). Chlorogenic Acid: Recent Advances on Its Dual Role as a Food Additive and a Nutraceutical against Metabolic Syndrome. *Molecules*, 22(3), 358. <https://doi.org/10.3390/molecules22030358>
- Sayre, R. M.; Agin, P. P.; Levee, G. J.; Marlowe, E. Comparison of in vivo and in vitro testing of suncreening formulas. *Photochem. Photobiol.*, Oxford, v. 29, p. 559-566, 1979.
- Scepankova, H., Martins, M., Estevinho, L., Delgadillo, I., & Saraiva, J. A. (2018). Enhancement of Bioactivity of Natural Extracts by Non-Thermal High Hydrostatic Pressure Extraction. *Plant Foods for Human Nutrition*, 73(4), 253–267. <https://doi.org/10.1007/s11130-018-0687-9>
- Segheto, L. (2023). Subprodutos do Processamento do Café. Disponível em: 1Library.org. Acesso em: 14 de agosto de 2024.

- Silva et al. Topical caffeine delivery using biocellulose membranes: a potential innovative system for cellulite treatment. *Cellulose*, v. 21, n. 1, p. 665–674, 4 dez. 2013.
- Sharma JK, Sihmar M, Santal AR, Prager L, Carbonero F, Singh NP. Barley Melanoidins: Key Dietary Compounds With Potential Health Benefits. *Front Nutr*. 2021 Sep 28;8:708194. doi: 10.3389/fnut.2021.708194. PMID: 34651008; PMCID: PMC8505744.
- Slinkard K, Singleton VL. Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *Am J Enol Viticult*. 1977;28:49-55.
- Sorgeloos et. al. 1986. Manual for the culture and use of brine shrimp *Artemia* in aquaculture. The Belgium Administration for Development Cooperation, FAO.
- Steiling, W., Bracher, M., Courtellemont, P., & de Silva, O. (1999). The HET–CAM, a Useful In Vitro Assay for Assessing the Eye Irritation Properties of Cosmetic Formulations and Ingredients. *Toxicology in Vitro*, 13(2), 375–384. [https://doi.org/10.1016/s0887-2333\(98\)00091-5](https://doi.org/10.1016/s0887-2333(98)00091-5)
- Stern, N. H. *Why are we waiting?: the logic, urgency, and promise of tackling climate change*. Cambridge, Massachusetts: Mit Press, 2015.
- Sun J, Su Y, Chen J, Qin D, Xu Y, Chu H, Lu T, Dong J, Qin L, Li W. Differential Roles of CD36 in Regulating Muscle Insulin Response Depend on Palmitic Acid Load. *Biomedicines*. 2023 Feb 28;11(3):729. doi: 10.3390/biomedicines11030729. PMID: 36979708; PMCID: PMC10045334.
- Temple, J. L. (2019). Review: Trends, safety, and recommendations for caffeine use in children and adolescents. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*, 58(1), 36-45. <https://doi.org/10.1016/j.jaac.2018.06.030>
- USDA - United States Department Of Agriculture. Produção, suprimento e distribuição. PSD. Disponível em: <https://fas.usda.gov/data/coffee-world-markets-and-trade>. Acesso em: 28 mar. 2024.
- Van Schaik, L., Kettle, C., Green, R., Irving, H. R., & Rathner, J. A. (2021). Effects of Caffeine on Brown Adipose Tissue Thermogenesis and Metabolic Homeostasis: A Review. *Frontiers in Neuroscience*, 15. <https://doi.org/10.3389/fnins.2021.621356>
- Venancio, L. P., Filgueiras, R., Mantovani, E. C., do Amaral, C. H., da Cunha, F. F., dos Santos Silva, F. C., Althoff, D., dos Santos, R. A., & Cavatte, P. C. (2020). Impact of drought associated with high temperatures on *Coffea canephora* plantations: a case study in Espírito

Santo State, Brazil. *Scientific Reports*, 10(1), 19719. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-76713-y>

Wagner, R. et al. *The history of coffee in Guatemala*. Bogota': Villegas Editores, 2001.

Wang, B., Xiang, J., He, B., Tan, S., & Zhou, W. (2023). Enhancing bioavailability of natural extracts for nutritional applications through dry powder inhalers (DPI) spray drying: technological advancements and future directions. *Frontiers in Nutrition*, 10. <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1190912>

World Commission on Environment and Development. (1987). *Our Common Future*. Oxford University Press.

Xie, G., Luo, J., Li, F., Li, D., Han, Y., & Tao, Y. (2023). Comparison between hydrodynamic and ultrasound cavitation on the inactivation of lipoxygenase and physicochemical properties of soy milk. *Ultrasonics Sonochemistry*, 101, 106692–106692. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2023.106692>

Xu, D.-P., Li, Y., Meng, X., Zhou, T., Zhou, Y., Zheng, J., Zhang, J.-J., & Li, H.-B. (2017). Natural Antioxidants in Foods and Medicinal Plants: Extraction, Assessment and Resources. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(1), 96. <https://doi.org/10.3390/ijms18010096>

Xu, J. L., Kim, T. J., Kim, J.-K., & Choi, Y. (2019). Simultaneous roasting and extraction of green coffee beans by pressurized liquid extraction. *Food Chemistry*, 281, 261–268. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.12.061>

Yusuf, L., Symes, M. D., & Prentice, P. (2021). Characterising the cavitation activity generated by an ultrasonic horn at varying tip-vibration amplitudes. *Ultrasonics Sonochemistry*, 70, 105273. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105273>

Zhang S, Yang W, Chen H, Liu B, Lin B, Tao Y. Metabolic engineering for efficient supply of acetyl-CoA from different carbon sources in *Escherichia coli*. *Microb Cell Fact*. 2019 Aug 6;18(1):130. doi: 10.1186/s12934-019-1177-y. PMID: 31387584; PMCID: PMC6685171.

Zhao, N. et al. Spent coffee grounds: Present and future of environmentally friendly applications on industries-A review. *Trends in food science & technology*, v. 143, p. 104312–104312, 1 jan. 2024

Zoe Kececioglu Draelos. (2021). *Cosmetic dermatology: products and procedures*. Wiley

## Anexos

### Anexo 1. Critério de avaliação eficácia do conservante (ISO 11930)

#### Evaluation criteria for the preservation efficacy test (see 5.7)

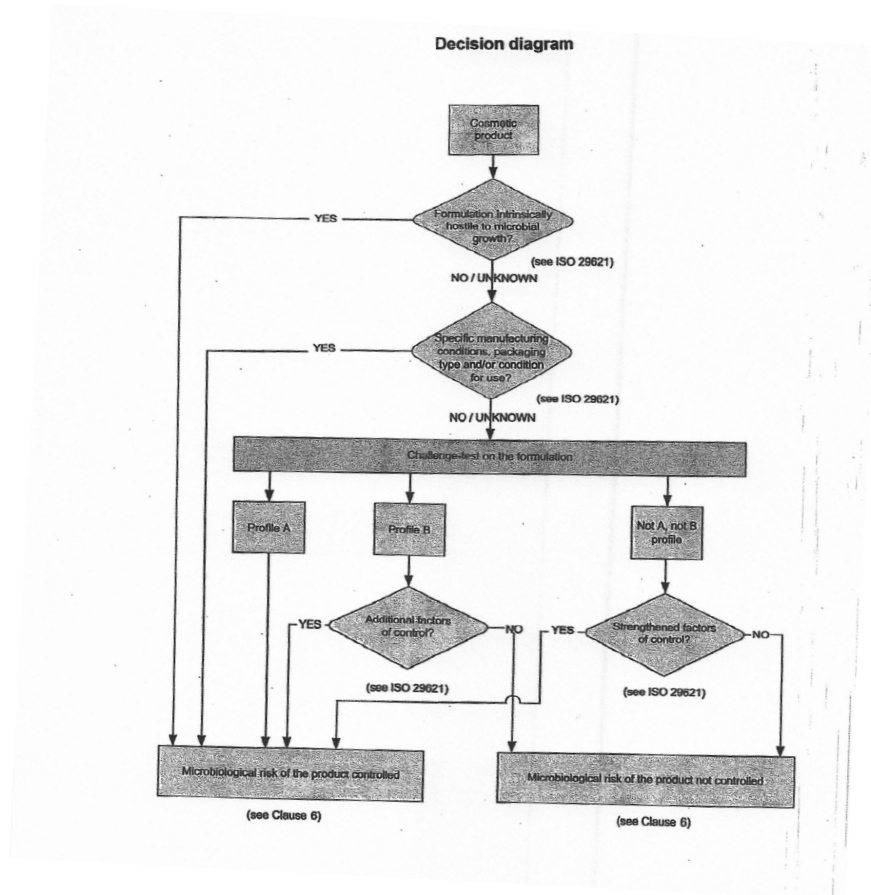
**Table B.1 — Evaluation criteria**

Log reduction values ( $R_v = \lg N_0 - \lg N_t$ ) required<sup>a</sup>

Micro-organisms	Bacteria			<i>C. albicans</i>			<i>A. brasiliensis</i>	
	T7	T14	T28	T7	T14	T28	T14	T28
Criteria A	≥3	≥3 and NI <sup>b</sup>	≥3	≥1	≥1 and NI	≥1 and NI	≥0 <sup>c</sup>	≥1 and NI
Criteria B	Not performed	≥3	≥3 and NI	Not performed	≥1	≥1 and NI	≥0	≥0 and NI

<sup>a</sup> In this test, an acceptable range of deviation of 0,5 log is accepted (see 5.7).  
<sup>b</sup> NI: no increase in the count from the previous contact time.  
<sup>c</sup>  $R_v = 0$  when  $\lg N_t = \lg N_0$  (no increase from the initial count).

### Anexo 2. Diagrama de decisão risco microbiológico produto cosmético (ISO 11930)



### Anexo 3. Termo de consentimento livre e esclarecido

## TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

### DESENVOLVIMENTO DE PRODUTO COSMÉTICO A PARTIR DA VALORIZAÇÃO DA BORRA DE CAFÉ

#### Responsáveis:

- Pesquisador(a): Tayna Carvalho Bitencourt de Souza
- Orientador(a): Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Maria João Sousa
- Instituição Acadêmica: Instituto Politécnico de Bragança, Escola Superior Agrária.

#### Introdução:

Você está sendo convidado(a) a participar de um estudo acadêmico que visa avaliar os efeitos de uma bruma facial com propriedades antioxidantes na pele. **Todas as análises toxicológicas e microbiológicas do produto foram realizadas previamente e o produto foi considerado seguro para uso.**

#### Objetivo do Estudo:

O objetivo deste estudo é medir os níveis de hidratação da pele, a perda de água transepidermica e o eritema total após a aplicação da bruma facial. Além disso, será avaliada a experiência sensorial do consumidor em relação ao produto.

#### Procedimento do Estudo:

1. **Aplicação do Produto:** O produto será aplicado no antebraço e no rosto do(a) voluntário(a).
2. **Avaliações:** Após uma hora da aplicação, serão realizadas as seguintes medições:
  - Nível de hidratação da pele
  - Perda de água transepidermica
  - Eritema total
3. **Experiência Sensorial:** Será solicitado ao(à) voluntário(a) que preencha um questionário sobre a experiência sensorial do uso do produto.

#### Participação Voluntária:

Sua participação neste estudo é totalmente voluntária. Você tem o direito de recusar ou desistir da participação a qualquer momento, sem qualquer prejuízo.

#### Benefícios:

Embora não haja benefícios diretos para você, a participação neste estudo contribuirá para o avanço do conhecimento científico sobre produtos cosméticos e seus efeitos na pele.

**Riscos e Desconfortos:**

O produto foi testado e considerado seguro. No entanto, caso ocorra algum desconforto ou reação adversa, você deve informar imediatamente aos pesquisadores. Medidas serão tomadas para assegurar seu bem-estar.

**Confidencialidade:**

Todas as informações coletadas neste estudo serão mantidas em sigilo. Seus dados serão anonimizados e utilizados apenas para fins acadêmicos e de pesquisa.

**Contato para Dúvidas:**

Se você tiver alguma dúvida sobre o estudo, pode entrar em contato com Tayna Carvalho Bitencourt de Souza pelo telefone (+351)925553317 ou pelo e-mail bitencourttayna@gmail.com.

**Termo de Consentimento:**

Declaro que fui informado(a) adequadamente sobre os objetivos, procedimentos, benefícios e riscos do estudo. Estou ciente de que minha participação é voluntária e que posso desistir a qualquer momento sem qualquer prejuízo. Compreendo que meus dados serão mantidos em sigilo.

Eu, \_\_\_\_\_ ,  
concordo em participar deste estudo.

**Assinatura do(a) Voluntário(a):** \_\_\_\_\_

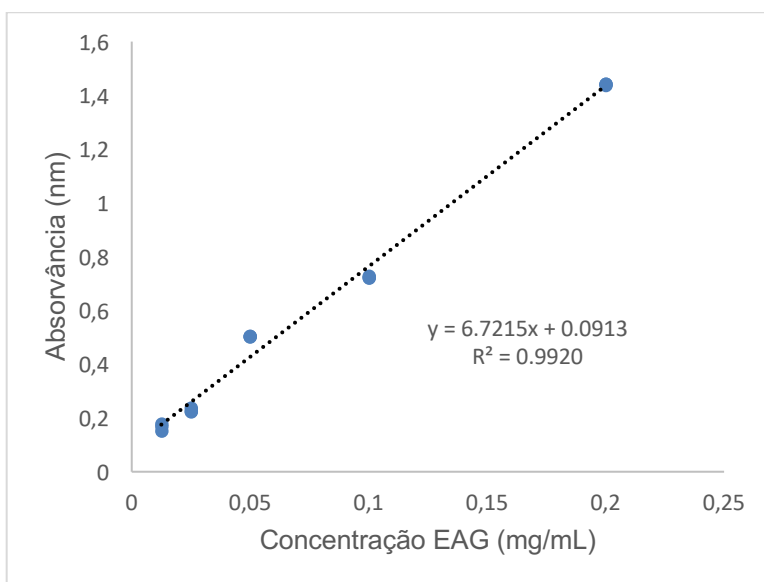
**Data:** \_\_\_\_\_

**Assinatura do Pesquisador Responsável:** \_\_\_\_\_

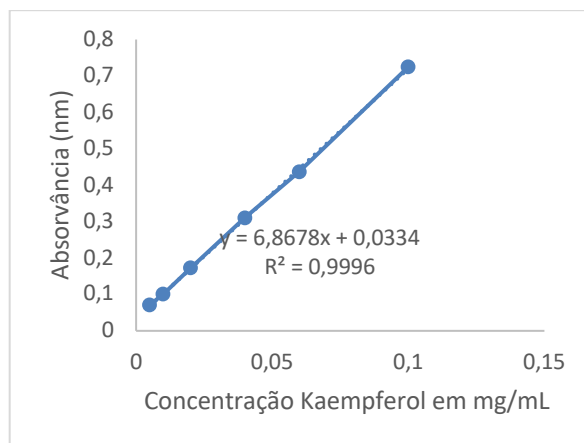
**Data:** \_\_\_\_\_

Este documento foi elaborado para garantir que você esteja completamente informado(a) e confortável com sua participação no estudo. Agradecemos imensamente sua contribuição para a pesquisa científica.

#### Anexo 4. Curva de Calibração Ácido Gálico



#### Anexo 5. Curva de Calibração Kaempferol.



**Anexo 6.** Determinação da Perda Transepidérmica da Água

Voluntário	Pele sem Produto	Pele com Produto por 60 minutos	Diferença de TEWL
1	5,15±0,03	18,5±2,07	13,35
2	6,14±0,25	4,6±0,36	-1,54
3	4,12±0,06	7,5±0,15	3,38
4	4,32±0,39	7,94±0,40	3,62
5	6,8±0,12	6,45±0,09	-0,35
6	20,52±0,15	9,33±0,32	-11,19
7	5,31±0,14	9,6±0,27	4,29
8	5,82±0,42	7,52±0,10	1,70
9	11,03±0,41	7,28±0,32	-3,75
10	13,58±1,84	12,36±0,27	-1,22
11	8,5±0,07	8,63±0,16	0,13
12	9,33±0,22	9,45±0,24	0,12

Valores foram expressos como média ± D.P. (n=3).

**Anexo 7.** Determinação do Grau de Eritema

Voluntário	Pele sem Produto	Pele com Produto por 60 minutos	Diferença do grau de Eritema
1	128±10,82	105±25,54	23,00
2	140±7,57	154±5,13	-14,00
3	146±2,52	145±4,04	1,00
4	134±19,67	133±3,60	1,00
5	205±7,02	270±21,37	-2,00
6	199±9,07	206±22,51	-7,00
7	135±14	95±9,29	40,00
8	270±18,52	245±18,24	25,00
9	221±6,81	222±16,86	-1,00
10	487±11,59	500±11,23	-13,00
11	270±7,0	226±24,19	44,00
12	166±4,04	169±3,21	-3,00

Valores foram expressos como média ± D.P. (n=3).

## Anexo 9. Determinação da Hidratação da Pele

Voluntário	Pele sem Produto	Pele com Produto por 60 minutos	Diferença de Hidratação
1	35,4 ±2,2	41,8 ±4,2	6,40
2	36,3 ±1,4	41,3 ±0,3	5,00
3	38,5 ±2,1	48,5 ±1,4	10,00
4	30,8 ±2,0	37,3 ±3,1	6,50
5	32,3 ±0,9	33,3 ±1,1	1,00
6	34 ±1,4	41,5 ±3,7	7,50
7	45 ±2,9	45,2 ±1,5	0,20
8	31,9 ±0,4	33,1 ±1,5	1,20
9	26,8 ±2,0	36,9 ±0,8	10,10
10	20,9 ±1,2	28,9 ±2,4	8,00
11	33,7 ±3,2	37,9 ±2,1	4,20
12	37,6 ±0,9	37,2 ±0,6	0,40

Valores foram expressos como média ± D.P. (n=3).

## Anexo 6. Questionário análise sensorial

**Aroma:** Avalie o quão agradável é o aroma do produto. \*

1 2 3 4 5

Muito desagradável      Muito agradável

---

**Hidratação:** Avalie o nível de hidratação proporcionado pelo produto. \*

1 2 3 4 5

Pouco hidratante      Muito hidratante

---

**Embalagem:** Avalie a funcionalidade e o design da embalagem do produto. \*

1 2 3 4 5

Nada funcional e atraente      Muito funcional e atraente

---

**Modo de aplicação:** Avalie a facilidade de aplicação do produto. \*

1 2 3 4 5

Muito difícil de usar      Muito fácil de usar

---

**Sensação na Pele:** Avalie a sensação geral do produto na pele após a aplicação. \*

1 2 3 4 5

Pouco refrescante      Muito refrescante

---

**Satisfação Geral:** Avalie sua satisfação geral com o produto. \*

1 2 3 4 5

Muito insatisfeito      Muito satisfeito