

ATIVIDADE INIBITÓRIA MICROBIANA DE ÓLEO DE GRÃOS DE CAFÉ PARA FINS COSMÉTICOS

Sarah Gabriela Santos^{1,2}; Elizabeth Uber Bucek^{1,2}

¹ Universidade de Uberaba, Programa de Pós-Graduação Especialização em Microbiologia

² Universidade de Uberaba, Programa de Mestrado Profissional em Engenharia Química

RESUMO – O foco na pesquisa em sustentabilidade e mudanças de ações no atual cenário, demanda o reestudo dos vegetais em busca de novas aplicações de produto. Empresas de vários setores, estão investindo em pesquisas a fim de lançar produtos de qualidade que atenda o mercado, onde a indústria cosmética tem se destacado. No intuito de substituir matérias prima sintéticas por naturais, pesquisas vem enriquecendo e trazendo novidades, no âmbito dos vegetais. O Brasil ao longo dos séculos, se destaca pela produção do café, vegetal este rico em propriedades antioxidantes e que trazem benefícios para a pele, onde o óleo do café ganhou destaque. O objetivo deste trabalho, foi avaliar a atividade inibitória microbiana frente ao óleo extraído do grão cru e do grão torrado de café. O método de análise empregado foi o sistema de Concentração Mínima Inibitória (CMI), dos óleos obtidos por maceração a frio e extração por soxhlet. A leitura dos resultados foi feita por densidade óptica, avaliando a eficiência de inibição frente aos microrganismos: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, como consta na legislação brasileira. Os dados obtidos foram avaliados pelo programa estatístico ANOVA. O teor de óleo presente no grão de café cru é semelhante ao grão torrado. O óleo do grão cru de café apresentou atividade inibitória satisfatória, frente aos microrganismos *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. O óleo do grão torrado não apresentou inibição no crescimento microbiano. Concluímos que o óleo do grão cru, é 100% mais potente que o óleo do grão torrado, frente aos microrganismos testados.

Palavras-chave: cosmético, sustentabilidade, óleo de café, soxhlet, inibição microbiana, microrganismos.

ABSTRACT - The focus on sustainability research and changes in actions in the current scenario demands the re-study of vegetables in search of new product applications. Companies from various sectors are investing in research in order to launch quality products that meet the market, where the cosmetic industry has stood out. In order to replace synthetic raw materials with natural ones, researches have been enriching and bringing new ones, in the scope of vegetables. Over the centuries, Brazil stands out for the production of coffee, a plant rich in antioxidant properties that bring benefits to the skin, where coffee oil has gained prominence. The objective of this work was to evaluate the microbial inhibitory activity against oil extracted from raw and roasted coffee beans. The method of analysis used was the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) system, for oils obtained by cold maceration and Soxhlet extraction. The reading of the results was done by optical density, evaluating the inhibition efficiency against microorganisms: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, as stated in the Brazilian legislation. The data obtained were evaluated by the statistical program ANOVA. The oil content in raw coffee beans is similar to roasted beans. The crude coffee bean oil showed satisfactory inhibitory activity against the microorganisms *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. The roasted grain oil did not show inhibition of microbial growth. We conclude that the oil from the raw grain is 100% more potent than the oil from the roasted grain, against the microorganisms tested.

1. INTRODUÇÃO

O café é mundialmente conhecido como uma bebida muito saborosa e presente no dia a dia de diversos países e culturas. O fruto do café, vem da região chamada “Kaffa” (Etiópia), onde é denominada “Planta de Deus”; a Etiópia é a responsável pela diversificação e disseminação do café. Existem diversas espécies, mas comercialmente o Café Arábica representa 66% da produção mundial, seguido do Café Canophora 34% (AYELIGN *et al.*, 2013). O fruto do café chegou no Brasil por volta de 1727, sendo usada como moeda consolidada de desenvolvimento social e econômico no país (MARTINS, 2007). O Brasil se tornou o maior produtor de café do mundo, e o segundo maior consumidor (BASTOS; CARDILLO, 2017).

1.1 – GRÃOS DE CAFÉ CRU E TORRADO

A qualidade do café está diretamente ligada com as seguintes condições: secagem, moagem, torrefação e armazenamento. A origem geográfica também é de grande valia na avaliação da qualidade dos grãos. (AYELIGN *et al.*, 2013). No estudo da composição química dos grãos torrados de café, que no processo da torrefação, ocorre alteração na composição química, causando a degradação de grupos

lipídicos, dos ácidos clorogênicos, compostos voláteis, proteínas e polissacarídeos. A degradação dos ácidos clorogênicos, juntamente com o ác. cítrico, ác. málico, proporciona o aumento dos teores de ácido quínico. Na composição química dos grãos cru de café podemos citar vários ácidos, tais como: ác. cítrico, ác. acético, ác. málico, ác. fórmico, ác. quínico, ác. fosfórico, ác. clorogênicos correspondendo a 11% de sua composição (JACINTHO; BRAGAGNOLO; 2002). Segundo (AYELIGN *et tal.*, 2013), a torrefação degrada os ácidos clorogênicos, com uma variação significativa entre as amostras de café crua e torrada, a torrefação degrada e contribui no processo de isomeração dos componentes químicos, formando o anel lactona e contribuindo para desidratação.

Os grãos crus de café, geralmente contêm de 7% a 17% de lipídeos, 75% triacilgliceróis e ácidos graxos, existem também a parte insaponificável do óleo, que é rica em diterpenos, esteróis, tocoferóis, fosfatídeos e ceras. O óleo de grãos de café crus é usado como emoliente, e confere propriedade sensorial ao produto cosmético (TSUKUI; OIGMAN; REZENDE 2014). Os lipídeos presentes nos grãos crus de café são definidos como uma classe abrangente de estrutura e funções biológicas, com a característica de serem insolúveis em água e solúveis em solventes orgânicos. Dentro do grupo lipídico, temos os triglicerídeos que abrange os óleos e gorduras (LOPES; ROSSO, 2005). Os lipídeos obtidos dos grãos crus são bastante usados em formulações cosméticas, conferindo uma ação hidratante a pele, promovendo a vantagem do óleo extraído dos grãos crus do café, em conferir, ao produto cosmético, a espalhabilidade, a boa emoliência, a boa estabilidade e o efeito antioxidante como benefícios para a pele (GALVAO, 2015). Por ser rico em polifenóis, antioxidantes e diterpenos, o óleo extraído dos grãos crus de café tem se tornado também uma alternativa sustentável na produção de cosméticos, se destacando no seguimento de filtros solares, já que ele pode substituir compostos sintéticos (WAGEMAKER, 2013).

No ser humano, atividade celular se encarrega do equilíbrio, quando acontece um desequilíbrio intracelular ocorre a formação de radicais livres, isto porque a pele é exposta a fatores físicos ou químicos. Os radicais livres causam o envelhecimento precoce da célula (GUARANTINI; SARTORI; LOPES, 2010). Os antioxidantes primários são os grupos de polifenóis, que funcionam como doadores de H para neutralizar ou eliminar a atividade oxidante, interrompendo a reação química (Figura 1).

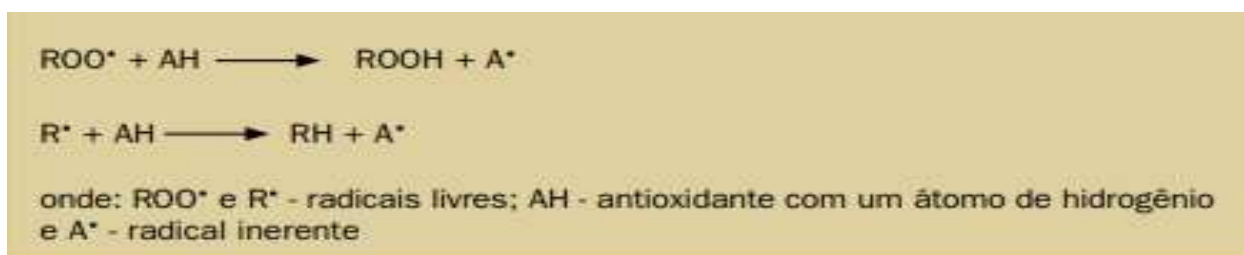


Figura 1 – Reação Antioxidante: minerais, vitaminas, dentre outros componentes químicos, que bloqueiam a ação danosa dos radicais livres dentro das células.

Fonte: <http://www.unirio.br/ib/dmp/nutricao-integral/arquivos/fontes-de-consulta-complementar/Antioxidantes%20-%20FOOD%20INGREDIENTS%20BRASIL%20No6%20-%20202009.pdf>

1.2 – ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

A importância do controle microbiológico em produtos cosméticos e higiene pessoal é realizado visando a segurança do usuário, uma vez que altas cargas microbianas acarretam danos à saúde do ser humano (TEODORO; TORRES; BARBOSA, 2019). Em 1840, Friedrich Henlen, patologista alemão, propôs critérios que sugeriram que os microrganismos causavam doenças em humanos. Em 1880, Louis Pasteur, com diversos experimentos provou que os microrganismos são responsáveis por causar diversas doenças no homem (MADIGAN; MARTINKO; PARKER, 2004). A partir de 1960, os estudos avançaram a partir relatos de infecções relacionadas a produtos cosméticos, onde foi verificou se a presença de bacilos gram (+), micrococos, bolores e leveduras (PINTO *et al.*, 2010).

As bactérias, podem ser classificados nas formas de cocos, bacilos, espirilos e vibriões, já os bolores e leveduras podem ser unicelulares ou pluricelulares e sua morfologia pode variar de espécie para espécie (MADIGAN; MARTINKO; PARKER, 2004). Os microrganismos patogênicos são definidos como sendo aqueles que causam doenças, e na legislação brasileira recomenda se a pesquisa de coliformes totais e fecais (*Escherichia coli*); *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* *Clostridium Sulfito Redutores*, exclusivos para talcos (PDS-HPPC, 2015). Existem diversos fatores que afetam a sobrevivência e o crescimento dos organismos vivos: atividade de água, pH do ambiente, temperatura, dentre outros fatores.

A legislação brasileira baseia-se em compêndios oficiais, como a Farmacopéia Européia e a Farmacopéia Americana, na definição do manual de análises microbiológicas harmonizadas com o Mercosul (TEODORO; TORRES; BARBOSA, 2019). Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária brasileira (BRASIL, 1999), os produtos cosméticos podem ser divididos em dois grupos: os de Tipo I, que entram em contato com a mucosa, produtos infantis e os produtos para área dos olhos, que devem estar dentro dos seguintes parâmetros:

- a) Contagem de microrganismos mesófilos totais aeróbios, não mais que 10^2 UFC/g ou ml Limite máximo: 5×10^2 UFC/g ou ml;
- b) Ausência de *Pseudomonas aeruginosa* em 1g ou 1 mL;
- c) Ausência de *Staphylococcus aureus* em 1g ou 1mL;
- d) Ausência de Coliformes totais e fecais.

A avaliação da atividade antimicrobiana ocorre de forma que se busca a concentração mínima inibitória do microrganismo (CIM). A busca por ativos alternativos, que se apresentam menos tóxicos e eficazes na conservação de cosméticos, como os de origem natural, vem crescendo anualmente. Muito se fala em sustentabilidade e desenvolvimento, e existem diversas linhas de pesquisas na área de extrato vegetais visando este foco (BONA *et al.*, 2010).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 – OBTENÇÃO DOS GRÃOS E DO ÓLEO DE CAFÉ

Os grãos de café, amostrados para a pesquisa são provenientes do município de Patrocínio (Minas Gerais). Foram amostrados grãos inteiros, onde os grãos crus foram obtidos antes da torra e os grãos torrados foram obtidos à partir do produto envasado para comercialização (Café da Feira® - Arábica do Cerrado), pela Empresa Minas Coffee Cafés e Complementos Ltda (Uberaba, MG). Os experimentos foram realizados na Universidade de Uberaba (Lab de Farmacognosia e Lab de Microbiologia).

Os grãos de café torrados foram submetidos ao processo de trituração manual por esmagamento em do gral e pistilo de vidro, obtendo-se 140,105 g de pó, seguido de extração com hexano do óleo em soxhlet (70°C) por 24h e o solvente foi evaporado a 38°C, obtendo assim o óleo de café de grão torrado (OCT).

Os grãos crus foram triturados em moinho contínuo de faca de bancada MARCONI® (modelo MA 048), obtendo-se 106,484 g de triturado, seguido de extração com hexano por maceração a temperatura ambiente (28°C) durante 1 semana. A maceração com renovação do solvente foi repetida 3 vezes, onde os macerados foram reunidos e o solvente foi evaporado a 38°C, obtendo assim o óleo de café de grão cru (OCC).

2.2 – ANÁLISE DA ATIVIDADE INIBITÓRIA MICROBIANA

Foram analisadas a atividade inibitória microbiana dos óleos de grãos de café crus e torrados frente aos microrganismos: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, de acordo com as exigências da legislação brasileira (BRASIL, 1999). A curva de crescimento das bactérias foi determinada individualmente pelo método da microdiluição (OSTROSKY *et al.*, 2008) utilizando microplacas com 96 poços de fundo arredondado, organizado em 12 colunas com 8 poços cada coluna. Cada poço recebeu 150µL de caldo BHI. A primeira coluna recebeu 150µL do óleo/poço, que foi homogeneizado e em seguida foi retirado uma alíquota de 150µL adicionado no poço da 2ª coluna, da 2ª coluna para o 1º poço da 3ª coluna, e assim sucessivamente até a coluna 8. Após esse processo, adicionou-se 5µL de bactéria em cada poço contendo o óleo ou na coluna contendo hexano para verificar a influência do solvente usado na extração, no crescimento. Para cada microrganismos realizou-se o processo em quadruplicada. Para comparar a diferença das cores a serem desenvolvidas como resposta de inibição de crescimento dos microrganismos, foram mantidas: o branco (poço contendo apenas BHI; branco solvente contendo BHI e solvente usado no processo de extração; e o padrão contendo BHI e microrganismo, de acordo com o esquema abaixo (Figura 2). As placas permaneceram incubadas em

estufa bacteriológica a 37°C por 24 horas, e a leitura foi realizada em uma absorvância ($\lambda=630$ nm). Os resultados foram obtidos através da densidade óptica, da média das leituras de cada microrganismo em função da concentração. O esquema abaixo (Figura 2), exemplifica a maneira como os testes microbiológicos foram realizados.

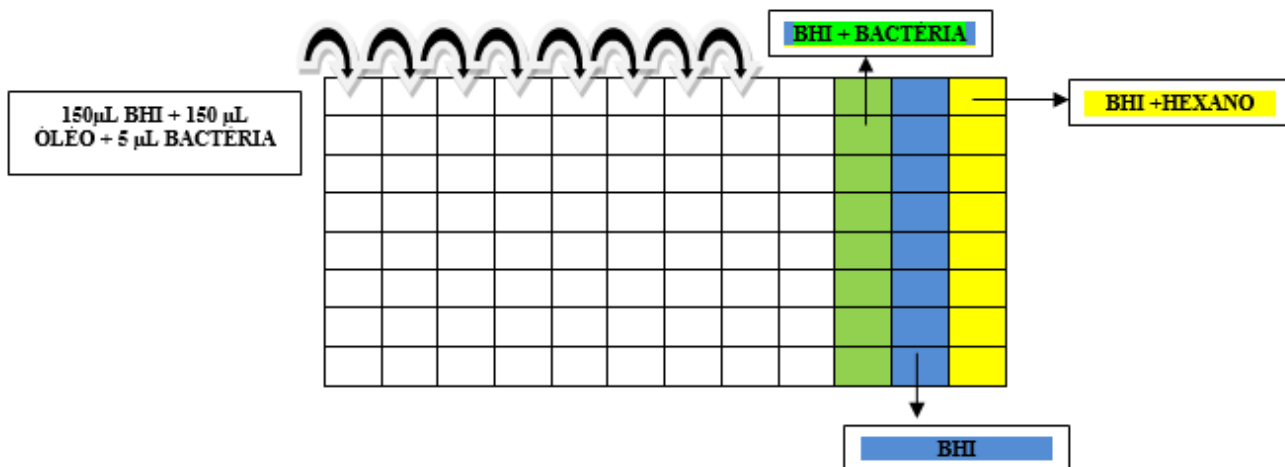


Figura 2 – Esquema de manipulação dos testes microbianos realizados.

Fonte: do autor (2021)

A metodologia dos testes de sensibilidade antimicrobiana utilizada, foi baseado no termo de cooperação estabelecido entre o Brasil (ANVISA/SVS) e a Organização PAN Americana de Saúde (OPAS/OMS), onde foi estabelecido a metodologia dos testes de sensibilidade a agentes antimicrobianos por diluição para bactéria de crescimento aeróbico, controle de qualidade em microbiologia clínica (BRASIL, 2006) e na norma M7-A6 que trata da metodologia do teste de sensibilidade a agentes antimicrobianos por diluição para bactéria de crescimento aeróbico (NCCLS; OPAS; ANVISA, 2003).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No processo de extração dos óleos de grãos cru (OCC) e torrado (OCT) foram obtidos: 13,39% de OCC e 13,86% de OCT, sugerindo que no processo de torra a perda de óleo do grão é desprezível. Após evaporação do solvente o OCC apresentou aspecto viscoso, amarelo claro e o OCT apresentou aspecto viscoso e coloração marrom caramelado (castanho). A temperatura de torra dos grãos de café, é superior a 100°C, e pode variar entre 160°C a 218°C (OSPINA, 2020). Assim a extração do óleo de grãos de café torrado por soxhlet a 70°C, não altera a sua composição, uma vez que esta temperatura é bem inferior à da torra.

O óleo do grão cru de café apresentou atividade inibitória satisfatória, frente aos microrganismos *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Enquanto que, o óleo do grão torrado não inibe o crescimento microbiano. Os resultados das análises microbiológicas obtidos, após análise estatística, o Teste de Tukey (BLAIR; TAYLOR, 2018) levando em conta a repetibilidade, foi detectado diferença significativa entre as amostras, após leitura óptica nas placas. Segue a descrição dos resultados obtidos.

As Tabelas 1, 2 e 3 correspondem as amostras do óleo dos grãos crus de café (OCC), e as Tabelas 4, 5 e 6 correspondem as amostras do óleo dos grãos torrados (OCT), extraídos por maceração. Na Tabela 1 podemos observar que as amostras classificadas como “A” pelo teste Tukey, teve um crescimento microbiano acima da média se comparado com o grupo “B” (grupo controle), e o grupo “C” (grupo negativo) mostra inibição do microrganismo.

TABELA 1 – Resultado Concentração Inibitória Mínima do óleo dos grãos crus do Café (OCC), frente ao microrganismo *Staphylococcus aureus*.

CIM de <i>Staphylococcus aureus</i> -OCC - ANOVA: fator único						
Grupo	Contagem	Soma	Média	Variância	Teste TUKEY	
1	4	0,569	0,142	0,000776	C	
2	4	0,672	0,168	0,014574	C	
3	4	1,979	0,494	0,002296	B	
4	4	2,359	0,589	0,000175	B	
5	4	2,762	0,690	0,000998	A	
6	4	3,060	0,765	0,013785	A	
7	4	3,011	0,752	0,004838	A	
8	4	2,960	0,740	0,010031	A	
9	4	2,341	0,585	0,003964	B	
10	4	0,471	0,117	0,000838	C	
11	4	0,529	0,132	0,001248	C	
<i>Fonte da variação</i>	SQ⁽¹⁾	gl⁽²⁾	MQ⁽³⁾	F⁽⁴⁾	valor-P⁽⁵⁾	F crítico⁽⁶⁾
Entre grupos	3,01400	10	0,30140	61,94306	1,83E-18	2,13250
Dentro dos grupos	0,16057	33	0,00486	-	-	-
Total	3,17457	43	0,00486	-	-	-

FONTE: Dados do autor (2021); (1) SQ = soma dos quadrados; (2) gl = graus de liberdade; (3) MQ = média do quadrado; (4) F = Teste F; (5) valor-P = probabilidade de significância; (6) F crítico = ponto crítico, define se a hipótese é nula ou não; “A” crescimento microbiano acima da média comparado com “B”; “B” grupo controle (meio de cultura + microrganismo); “C” grupo negativo onde houve inibição do microrganismo.

Na Tabela 2 as amostras classificadas como “A” pelo teste Tukey, tiveram um crescimento microbiano acima da média se comparado com “B” (grupo controle com presença de microrganismo). As amostras “C” (grupo negativo) apresentaram inibição do microrganismo.

TABELA 2 – Resultado Concentração Inibitória Mínima do óleo dos grãos crus (OCC) do café, frente ao microrganismo *Escherichia coli*.

CIM de <i>Escherichia coli</i> -OCC - ANOVA: fator único						
Grupo	Contagem	Soma	Média	Variância	Teste TUKEY	
1	4	0,741	0,185	0,003441	C	
2	4	0,537	0,134	0,000596	C	
3	4	1,362	0,340	0,007862	B	
4	4	1,938	0,484	0,008892	B	
5	4	2,842	0,710	0,001596	A	
6	4	3,110	0,777	0,003762	A	
7	4	3,231	0,807	0,007021	A	
8	4	3,273	0,818	0,003100	A	
9	4	3,155	0,788	0,001001	A	
10	4	0,463	0,115	0,000980	C	
11	4	0,475	0,118	0,003792	C	
<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i> ⁽¹⁾	<i>gl</i> ⁽²⁾	<i>MQ</i> ⁽³⁾	<i>F</i> ⁽⁴⁾	<i>valor-P</i> ⁽⁵⁾	<i>F crítico</i> ⁽⁶⁾
Entre grupos	3,79150	10	0,37915	99,20118	1,14E-21	2,13250
Dentro dos grupos	0,12612	33	0,00382	-	-	-
Total	3,91763	43	-	-	-	-

FONTE: Dados do autor (2021); (1) *SQ* = soma dos quadrados; (2) *gl* = graus de liberdade; (3) *MQ* = média do quadrado; (4) *F* = Estatística F; (5) *valor-P* = probabilidade de significância; (6) *F crítico* = ponto crítico, define se a hipótese é nula ou não. “A” crescimento microbiano acima da média se comparado com o grupo “B” (grupo controle = meio de cultura + microrganismo); “C” é o grupo negativo onde houve inibição do microrganismo.

Na Tabela 3 as amostras classificadas como “A” pelo teste Tukey, tiveram um crescimento microbiano estatisticamente igual, se comparado com o grupo “B” (grupo controle com presença de microrganismo). As amostras classificadas como “C” (controle negativo) onde não há crescimento microbiano.

TABELA 3 – Resultado Concentração Inibitória Mínima do óleo dos grãos crus (OCC) do café, frente ao microrganismo *Pseudomonas aeruginosa*.

CIM de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> -OCC - ANOVA: fator único						
Grupo	Contagem	Soma	Média	Variância	Teste TUKEY	
1	4	0,768	0,192	0,001239	B	
2	4	1,834	0,458	0,009664	A	
3	4	1,902	0,475	0,012167	A	
4	4	2,389	0,597	0,034606	A	
5	4	2,532	0,633	0,052533	A	
6	4	1,861	0,465	0,006241	A	
7	4	2,074	0,518	0,010609	A	
8	4	2,349	0,587	0,017241	A	
9	4	2,780	0,695	0,041263	A	
10	4	0,550	0,137	0,001372	B	
11	4	0,488	0,122	0,005750	B	
<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i> ⁽¹⁾	<i>gl</i> ⁽²⁾	<i>MQ</i> ⁽³⁾	<i>F</i> ⁽⁴⁾	<i>valor-P</i> ⁽⁵⁾	<i>F crítico</i> ⁽⁶⁾
Entre grupos	1,66425	10	0,16442	9,38666	3,93E-07	2,13504
Dentro dos grupos	0,57806	33	0,01752	---	---	---
Total	2,24231	43	---	---	---	---

FONTE: Dados do autor (2021); (1) *SQ* = soma dos quadrados; (2) *gl* = graus de liberdade; (3) *MQ* = média do quadrado; (4) *F* = Estatística F; (5) *valor-P* = probabilidade de significância; (6) *F crítico* = ponto crítico, define se a hipótese é nula ou não; “A” = crescimento; “B” controle negativo sem crescimento microbiano.

Se avaliarmos a tabela 1, 2 e 3 podemos concluir que o *F* é maior do que o *F crítico*, o que indica que há uma diferença estatística nos grupos. O grupo nove é meu controle positivo (BHI + bactéria), o grupo 10 é meu controle negativo (BHI) e o grupo 11 (BHI + hexano). O grupo 1 e o grupo 2 inibiu em 100% o crescimento bacteriano se compararmos com nosso controle positivo e negativo, avaliando os três microrganismos usados nos experimentos (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia Coli* e *Pseudomonas aeruginosa*), entretanto nos demais grupos houve crescimento bacteriano. A atividade antibacteriana está associada aos terpenos e seus associados encontrados no óleo do café, entretanto deve se atentar ao método de manuseio, extração e armazenamento, pois os componentes químicos podem sofrer degradação. Esses compostos químicos interferem na atividade da célula bacteriana, inibindo assim seu crescimento (PROBST, 2012).

Os resultados das Tabelas 4, 5 e 6, se referem aos testes realizados com óleo extraído dos grãos torrados do café, por Soxhlet usando como solvente, o hexano. Se observamos, o “*F*” das Tabelas 4 e 5 são maiores do que “*F crítico*”, o que indica que há uma variância estatística entre os grupos, porém não capaz de inibir o crescimento dos microrganismos.

TABELA 4– Resultado Concentração Inibitória Mínima do óleo dos grãos torrados do café, frente ao microrganismo *Staphylococcus aureus*.

CIM de <i>Staphylococcus aureus</i> -OCT - ANOVA: fator único						
Grupo	Contagem	Soma	Média	Variância	Teste TUKEY	
1	4	2,724	0,681	0,045939	A	
2	4	0,760	0,190	0,003619	B	
3	4	0,912	0,228	0,006369	A	
4	4	0,582	0,145	0,006006	B	
5	4	1,394	0,348	0,093431	A	
6	4	1,490	0,372	0,114386	A	
7	4	1,889	0,472	0,039383	A	
8	4	1,911	0,477	0,083858	A	
9	4	2,267	0,566	0,000494	A	
10	4	0,492	0,123	0,000255	B	
11	4	0,503	0,125	0,000220	B	
<i>Fonte da variação</i>	SQ ⁽¹⁾	gl ⁽²⁾	MQ ⁽³⁾	F ⁽⁴⁾	valor-P ⁽⁵⁾	F crítico ⁽⁶⁾
Entre grupos	1,48459	10	0,14846	4,14523	0,00092	2,13250
Dentro dos grupos	1,18188	33	0,03581	---	---	---
Total	2,66647	43	---	---	---	---

FONTE: Dados do autor (2021); (1) SQ = soma dos quadrados; (2) gl = graus de liberdade; (3) MQ = média do quadrado; (4) F = Estatística F; (5) valor-P = probabilidade de significância; (6) F crítico = ponto crítico, onde se define se a hipótese é nula ou não. “A” crescimento microbiano estatisticamente igual se comparado com o grupo “B”; “B” = controle negativo – ausência de micro-organismos

TABELA 5– Resultado Concentração Inibitória Mínima do óleo dos grãos torrados do café, frente ao microrganismo *Escherichia coli*.

CIM de <i>Escherichia coli</i> -OCC - ANOVA: fator único						
Grupo	Contagem	Soma	Média	Variância	Teste TUKEY	
1	4	3,080	0,770	0,044213	A	
2	4	0,855	0,213	0,010829	B	
3	4	1,283	0,320	0,002370	B	
4	4	2,249	0,562	0,057949	B	
5	4	2,957	0,739	0,021600	A	
6	4	3,467	0,866	0,009875	A	
7	4	2,987	0,746	0,079778	A	
8	4	4,079	1,019	0,008746	A	
9	4	3,352	0,838	0,020664	A	
10	4	0,575	0,143	0,000320	C	
11	4	0,545	0,136	0,000716	C	
<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>⁽¹⁾	<i>gl</i>⁽²⁾	<i>MQ</i>⁽³⁾	<i>F</i>⁽⁴⁾	<i>valor-P</i>⁽⁵⁾	<i>F crítico</i>⁽⁶⁾
Entre grupos	4,08112	10	0,40811	17,46376	1,86E-10	2,13250
Dentro dos grupos	0,77118	33	0,02336	---	---	---
Total	4,85230	43	---	---	---	---

FONTE: Dados do autor (2021); (1) *SQ* = soma dos quadrados; (2) *gl* = graus de liberdade; (3) *MQ* = média do quadrado; (4) *F* = Estatística F; (5) *valor-P* = probabilidade de significância; (6) *F crítico* = ponto crítico, onde se define se a hipótese é nula ou não. “A” crescimento microbiano estatisticamente igual se comparado com o grupo “B”. “B” (controle positivo), “C” (controle negativo), onde não há crescimento microbiano.

Na Tabela 6, observa-se o “F” menor do que o “F crítico”, ou seja, não há diferença estatística significativa entre os grupos, sendo eles considerados pertencentes ao mesmo grupo.

TABELA 6– Resultado Concentração Inibitória Mínima do óleo dos grãos torrados do café, obtido por extração–soxhlet, frente ao microrganismo *Pseudomonas aeruginosa*.

CIM de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> -OCC - ANOVA: fator único						
Grupo	Contagem	Soma	Média	Variância		
1	4	2,298	0,574	0,094498		
2	4	1,296	0,324	0,168106		
3	4	2,287	0,571	0,163491		
4	4	2,786	0,696	0,231234		
5	4	2,368	0,592	0,143236		
6	4	2,570	0,642	0,136975		
7	4	2,691	0,672	0,173367		
8	4	2,577	0,644	0,139517		
9	4	2,444	0,611	0,104003		
10	4	0,598	0,149	0,005112		
11	4	0,474	0,118	0,005551		
<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i> ⁽¹⁾	<i>gl</i> ⁽²⁾	<i>MQ</i> ⁽³⁾	<i>F</i> ⁽⁴⁾	<i>valor-P</i> ⁽⁵⁾	<i>F crítico</i> ⁽⁶⁾
Entre grupos	1,75798	10	0,17579	1,41659	0,21628	2,13250
Dentro dos grupos	4,09527	33	0,12409	---	---	---
Total	5,85325	43	---	---	---	---

FONTE: Dados do autor (2021); (1) *SQ* = soma dos quadrados; (2) *gl* = graus de liberdade; (3) *MQ* = média do quadrado; (4) *F* = Estatística F; (5) *valor-P* = probabilidade de significância; (6) *F crítico* = ponto crítico, onde se define se a hipótese é nula ou não.

3. CONCLUSÃO

O grão de café cru apresenta uma concentração de óleo equivalente ao grão de café torrado, sugerindo que não há perda do óleo do grão de café no processo de torra. Durante a torra do grão de café, ocorre alteração química em sua composição, o que justifica a diferença na atividade inibitória microbiana entre o óleo de grãos de café cru e torrado, onde o óleo do grão de café cru é mais eficaz.

O óleo extraído do grão cru, é 100% mais potente que o óleo do grão torrado, frente aos microrganismos testados. A análise estatística permitiu comprovar a diferença na capacidade inibitória dos microrganismos dos óleos testados, o que deve ser associado com a perda das propriedades químicas

durante o processo de torra do grão, devido a altas temperaturas usadas na torra. Apesar da extração do óleo do grão torrado ter usado aquecimento, esta foi bem inferior à temperatura da torra, sugerindo a não alteração sua composição.

Porém, devemos ressaltar a importância do prosseguimento da pesquisa, visando o desenvolvimento de produto cosmético a base de óleo de grão cru de café, além de complementar os testes microbiológicos, uma vez que, esse trabalho se consolidou no quesito qualitativo.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo suporte disponibilizado ao desenvolvimento deste estudo. Agradeço a Uniube por disponibilizar seu espaço físico e pelo apoio técnico no laboratório da Otília Cristina Rodrigues Brandão.

4. REFERÊNCIAS

AYELIGN, A.; SABALLY, K. Determination of Chlorogenic Acids (CGA) in Coffee Beans using HPLC. **American Journal of Research Communication**, v. 1, n. 2, p. 78-91, 2013.

BASTOS, A.; CARDILLO, M. **Pesquisa identifica marcadores químicos na torrefação do café**. Brasília: EMBRAPA, 2017.

BLAIR, R. C.; TAYLOR, R.A. **Bioestatística para Ciência da Saúde**. Editora: Person, 2018. p. 237-238.

BONA, E. A. M; PINTO, F. G. S; FRUET, T. K.; JORGE, T. C. M.; MOURA, A. C. Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de extratos vegetais aquosos e etanólicos. **Arq. Inst. Biol.**, v. 81, n. 3, p. 218-225, 2014.

BRASIL. **Parâmetros de Controle Microbiológico para os Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes**. Brasília: ANVISA, Resolução 481, de 23 setembro de 1999.

BRASIL. **Tecnologia em serviços da saúde: Controle Interno da Qualidade para Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos.** Termo de Cooperação n°37. Brasília: ANVISA-SVS, OPAS-OMS, 2006. 58 p.

NCCLS; OPAS; ANVISA. **Metodologia dos testes de sensibilidade a agentes antimicrobianos por diluição para bactéria de crescimento aeróbico:** Norma. M7-A6. 6. ed., v. 23, n. 2, West Valley Road: NCCLS global consensus standard, 2003. 53 p.

GALVÃO, J. G. **Desenvolvimento de formulação cosmética contendo carreadores lipídicos nanoestruturados à base de manteiga de *Oureate* sp.: uma estratégia nanotecnológica para o aumento da hidratação cutânea.** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Sergipe, UFS São Cristovão, 2015. 95 p.

GUARATINI, T; LOPES, P. N; SARTORI, R. L. **A Química no Cuidado da Pele.** São Paulo: Sociedade da Brasileira da Química, 2010. p. 39-41.

JACINTHO, M. I. M; BRAGAGNOLO, N. **Efeito do modo de preparo na composição química de grãos de café cru e torrado. Relação da composição química com a qualidade da bebida.** Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas. São Paulo, 2002. p. 19-20.

LOPES, S.; ROSSO, S. **Biologia.** São Paulo: Editora Saraiva, ed. 1, 2005. 608 p.

MARTINS, A. L. **Histórias do Café.** Editora Contexto: 2. ed., São Paulo, 2007. 36 p.

OSTROSKY, E. A.; MIZUMOTO, M. K.; LIMA, M. E. L.; KANEKO, T. M; NISHIKAWA, S. O.; FREITAS. B. R. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira Farmacognosia.** v. 18, n. 2, p. 301-307, 2008.

PDS-HPPC. **Guia da Microbiologia.** 1. ed., São Paulo: Programa de Desenvolvimento Setorial de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosmético ABDI, ABIHPEC e SEBRAE, 2015. 107 p.

PINTO, T. J. A; KANEKO, T. M; PINTO, A. F. **Controle Biológico de Qualidade de Produtos Farmacêuticos, Correlatos e Cosméticos.** São Paulo: Atheneu, 3. ed., 2010; p.116-117.

PROBST, I. S. **Atividade Antimicrobiana de Óleos Essenciais e Avaliação de Potencial Sinérgico**. Dissertação (Mestre no Programa de PósGraduação em Biologia Geral e Aplicada), Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Botucatu, 2012; p. 24-25.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. N.; PARKER, J. **Microbiologia de Brock**. 10. ed., São Paulo: Prentice Hall, 2004; p.11-30.

OSPINA, A. M. **Guia de torra: como controlar a temperatura de entrada**. São Paulo: Perfect Daily Grind Brasil, conteúdo patrocinado por PDG Brasil, 2020.

TEODORO, L. L. I; TORRES, I. M. S; BARBOSA, N. P. Avaliação Microbiológica dos Produtos de Higiene Pessoal das Indústrias de Cosméticos de Goiânia e Região Metropolitana. **Revista de Processos Químicos**, p.63-69, 2019.

TSUKUI, A. OIGMAN, S. S; REZENDE, C.M. Óleo de Grãos de Café Cru: Diterpenos, Cafestol e Caveol. **Revista Química Virtual**. v .6, n. 1, p. 16-33, 2014.

WALGEMAKER, T. A. L. **Aplicação do Óleo de Café verde em Formulações Cosméticas: Avaliação da Estabilidade e da Eficácia Fotoprotetora**. Tese (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade de São Paulo: Faculdade de Ciências Farmacêutica de Ribeirão Preto, 2013.