

MÉTODO DE DESCONTAMINAÇÃO DE ARGILAS PARA APLICAÇÃO EM FORMULAÇÕES COSMÉTICAS

J. P. Peterle (1)*; V. Weiss-Angeli (1); R. N. Brandalise (2); L. B. Gomes (3);
C. P. Bergmann (3); V. dos Santos (2)

(1) Universidade de Caxias do Sul (UCS), Centro de Ciências da Saúde (CECS), Rua Francisco Getúlio Vargas, 1.130, Laboratório de Farmacotécnica, CEP 95070-560, Caxias do Sul – RS

*jppeterle@ucs.br

(2) Universidade de Caxias do Sul (UCS), Centro de Ciências Exatas e Tecnologia (CCET)

(3) Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Laboratório de Materiais Cerâmicos,
Av. Osvaldo Aranha, 99 – sala 711, CEP 90036-190, Porto Alegre – RS

RESUMO

O uso de argilas na área cosmética dermatológica facial tem despertado interesse, sobretudo por suas propriedades, tais como: calmante, cicatrizante, absorvente, esfoliante suave e adstringente. A aplicabilidade de matérias-primas na área cosmética exige avaliação microbiológica destas, principalmente quando obtidas de fontes naturais. Neste contexto, o presente trabalho visa avaliar a carga microbiana de quatro amostras de argilas provenientes de resíduos de mineradoras do interior do estado de São Paulo, bem como propor um método de descontaminação destas amostras. Os métodos propostos foram a partir da associação entre álcool 70°GL e o calor seco a 120°C em estufa por 24 horas. Os resultados demonstraram que o método de descontaminação com álcool 70°GL e o calor seco foram efetivos reduzindo a contagem de bactérias iniciais, tornando-se um método bastante eficaz para a redução de carga microbiana e posterior uso desta matéria-prima na área cosmética.

Palavras-chave: Argila; Método de Descontaminação; Formulações Cosméticas.

INTRODUÇÃO

As argilas são compostas por argilomineirais de silicatos de Al, Fe e Mg hidratados, com estruturas cristalinas em camadas (filossilicatos) e folhas contínuas de SiO₄ (tetraedros) ordenados de forma hexagonal, condensados com folhas octaédricas de hidróxidos de metais tri e divalentes ⁽¹⁾. São comumente definidas como materiais naturais, terrosos, de granulação fina, com diâmetros inferiores a 2 µm, que quando umedecidos com água, apresentam plasticidade devido às suas características hidrofílicas ⁽²⁾, otimizando os processos bioquímicos cutâneos ⁽³⁾. O interesse em seu uso vem ganhando força atualmente, devido ser uma matéria-prima de baixo impacto ambiental, encontrada em abundância e ter baixo custo ^(2,4).

O uso de argilas em tratamentos estéticos vem sendo cada vez mais divulgado na Cosmetologia, sendo empregadas como princípios ativos em máscaras faciais e corporais devido a sua alta capacidade na absorção de lipídios e toxinas presentes na pele. As formulações contendo argila possuem propriedades frente a processos inflamatórios, acne, furúnculos e úlceras, conferindo um efeito calmante, cicatrizante, esfoliante suave e adstringente à pele ⁽⁵⁾. Em um estudo realizado por Carretero e colaboradores ⁽⁶⁾, foi verificado que formulações fotoprotetoras contendo argilas foram capazes de refletir a radiação UV-A solar, responsável pelo envelhecimento cutâneo. Além disso, as argilas apresentam uma importante relação com a manutenção da estrutura cutânea, sendo capazes de induzir a expressão gênica de involucrina, loricrina, transglutaminase-I e filagrina, nos queratinócitos da epiderme. A epiderme é a camada mais externa da pele atuando como uma barreira na retenção de água, evitando o ressecamento da pele e também o envelhecimento precoce das células cutâneas ^(7,8).

No entanto, por apresentarem uma grande biocarga, as argilas, antes de serem incorporadas em formulações cosméticas, devem passar por algum processo de descontaminação efetivo para reduzir a quantidade microbiana a valores aceitáveis, especificados pela legislação brasileira através da Resolução nº 481, de 23 de setembro de 1999, publicada pela ANVISA ⁽⁹⁾, para que não sejam comprometidas as características físico-químicas de um produto cosmético e preservadas a segurança e eficácia do produto ao consumidor.

A verificação da efetividade do processo de descontaminação (redução da biocarga) faz-se necessário, portanto, a realização de testes microbiológicos que

avaliem a quantidade de micro-organismos presentes em uma determinada amostra, é essencial para verificar a qualidade dos insumos, processos de armazenamento e da possibilidade de contaminação externa ^(10,11).

MATERIAIS E MÉTODOS

As quatro amostras de argila provenientes de resíduo de mineradoras localizadas na cidade de São Paulo/Brasil foram separadamente imersas em cerca de 100 mL de etanol 70°GL (Vetec Química Fina Ltda.), na proporção amostra:solvente 1:10, durante 10 minutos, sob agitação manual. Em seguida, filtrou-se a mistura utilizando papel filtro e pressão reduzida. Posteriormente, sobre a porção sólida, adicionou-se novamente cerca de 100 mL de etanol 70°GL e agitou-se por mais 10 minutos. O procedimento foi realizado por três vezes para aumentar a efetividade do processo ⁽¹²⁾. A seguir, as amostras foram secas em estufa com calor seco (De Leo Equipamentos para Laboratório, DL-AF06) a uma temperatura de 120°C durante 24 horas. O processo de descontaminação descrito foi adaptado do Manual de limpeza e desinfecção de superfícies, promovido pela ANVISA (2010) ⁽¹²⁾.

Após a secagem, 10 g de cada amostra foram dispersas em 30 mL de água peptonada tamponada e 60 mL de caldo neutralizador, deixando-as em repouso por 10 minutos. Posteriormente, a mistura foi transferida a um frasco contendo caldo TSB, e assim, prepararam-se as diluições necessárias para o ensaio de contagem de bactérias mesófilas, bolores e leveduras, como também, os testes de detecção de micro-organismos patogênicos (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*) ^(13,14,15).

Os ensaios microbiológicos realizados foram baseados na metodologia descrita pelo Guia ABC de Microbiologia: Controle microbiológico na indústria de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes, publicado em 1998, pela Associação Brasileira de Cosmetologia (ABC) ⁽¹³⁾ e também nas Farmacopeias Britânica (*British Pharmacopeia*) ⁽¹⁴⁾ e Brasileira ⁽¹⁵⁾.

Os ensaios microbiológicos foram compostos pela contagem de bactérias mesófilas e contagem de bolores e leveduras (ambas pelo método de contagem de colônias em placas de *petry*) ⁽¹⁴⁾. A detecção de coliformes fecais e totais foi determinada pela presença de crescimento de colônias bactérias no meio de cultivo VRB ^(14,15). A pesquisa da presença de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e

Staphylococcus aureus são confirmados a partir da visualização do crescimento microbiano nas placas contendo o meio de cultivo seletivo ^(14,15).

Os testes microbiológicos foram desenvolvidos conforme apresentado na Figura 1.

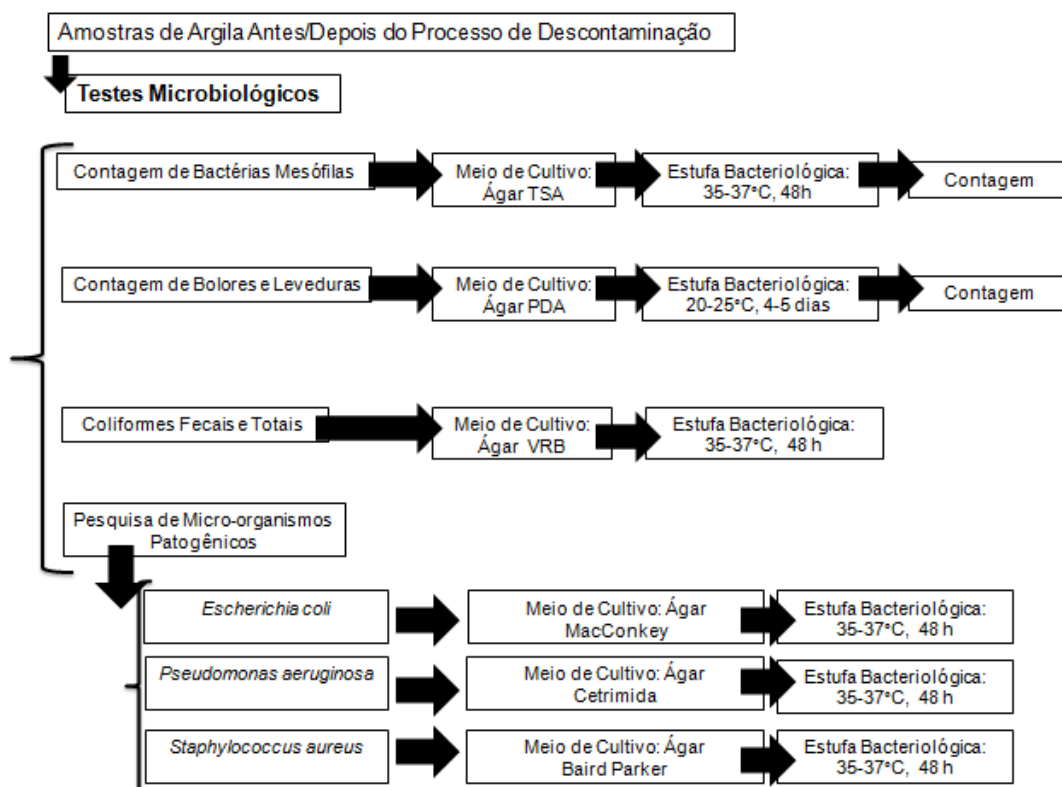


Figura 1. Metodologia empregada na análise microbiológica das amostras.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta os resultados microbiológicos obtidos para todas as amostras analisadas de acordo com a biocarga inicial.

Tabela 1. Resultados microbiológicos da biocarga inicial das amostras de argila

Amostra	Resultados	
	Contagem de Bactérias Mesófilas (UFC/g) *	Contagem de Bolores e Leveduras (UFC/g) *
I	$> 3,0 \times 10^5$	$1,6 \times 10^2$
II	$1,2 \times 10^5$	$2,1 \times 10^2$
III	$> 3,0 \times 10^5$	$6,0 \times 10^3$
IV	$2,4 \times 10^5$	$1,6 \times 10^2$

* Valor Estimado; UFC = Unidades Formadoras de Colônias

Conforme apresentado na Tabela 1, todas as amostras não estão em conformidade no ensaio de contagem de bactérias mesófilas, enquanto a amostra III não está em conformidade, também, na contagem de bolores e leveduras ^(9,14). O resultado encontrado na análise microbiológica, o qual apresentou uma quantidade de micro-organismos acima do especificado, já era esperado, uma vez que as amostras do estudo foram oriundas do resíduo industrial de mineração de empresas de São Paulo. Essas argilas foram removidas do fundo de rios e lagoas. Em ambientes aquáticos são encontrados animais, plantas e conseqüentemente micro-organismos responsáveis pelo equilíbrio do ecossistema aquático, e a matéria orgânica presente na composição química das argilas, serve de alimento para algumas espécies, como também agentes de decomposição ⁽¹⁶⁾.

Foram utilizadas neste trabalho, como parâmetros de aceitação, as especificações adotadas pela Resolução nº 481, de 23 de setembro de 1999 publicada pela ANVISA ⁽⁹⁾ e pela Farmacopeia Britânica ⁽¹⁴⁾, que determina os valores máximos de micro-organismos para os testes empregados no estudo. Para a contagem de bactérias mesófilas e contagem de bolores e leveduras, deve haver no máximo $5,0 \times 10^3$ UCF/g de amostra para cada teste ⁽⁹⁾.

A Resolução nº 481/99 e a Farmacopeia Britânica, também determinam a ausência de bactérias patogênicas como *E. coli*, *P. aeruginosa* e *S. aureus*, bem como de coliformes fecais e totais ^(9,14).

Nos testes microbiológicos não foi observado a presença micro-organismos patogênicos como *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*, bem como a ausência de coliformes fecais e totais. Não foi visualizado crescimento de nenhuma colônia microbiana nas placas com os respectivos meios de cultura. Assim, todas as amostras estão de acordo com as especificações nesse parâmetro ^(9,14), no entanto, não estão em conformidade na quantidade de bactérias mesófilas e/ou bolores e leveduras.

A Tabela 2 apresenta os resultados microbiológicos de todas as amostras de argila após o processo de descontaminação com álcool etílico 70ºGL associado ao calor seco a 120ºC por 24h.

Tabela 2. Resultados microbiológicos das amostras de argila após a descontaminação

Amostra	Resultados	
	Contagem de Bactérias Mesófilas (UFC/g) *	Contagem de Bolores e Leveduras (UFC/g) *
I	$1,0 \times 10^0$	$< 1,0 \times 10^1$
II	$4,7 \times 10^0$	$< 1,0 \times 10^1$
III	$6,0 \times 10^0$	$< 1,0 \times 10^1$
IV	$1,0 \times 10^0$	$< 1,0 \times 10^1$

* Valor Estimado; UFC = Unidades Formadoras de Colônias

Conforme apresentado na Tabela 2, todas as amostras estão conforme as especificações estabelecidas ^(9,14). Novamente, não foi detectada a presença de micro-organismos patogênicos tais como *E. coli*, *P. aeruginosa* e *S. aureus*.

Os resultados obtidos demonstraram que o processo de descontaminação utilizado foi efetivo uma vez que foi capaz de proporcionar a redução da carga microbiana presente nas amostras havendo diminuição da carga microbiana de 10^5 UFC para 10^0 UFC nas amostras I, III e IV para bactérias mesófilas e redução de 10^5 UFC para 10^2 UFC para a amostra II, adequando-se as mesmas às especificações descritas na Resolução nº 481/99 ⁽⁹⁾ e na Farmacopeia Britânica ⁽¹⁴⁾. A Figura 2 apresenta uma comparação entre as amostras analisadas, antes e depois do processo de descontaminação, sendo visível a diminuição do crescimento de micro-organismos nas placas contendo os meios de cultivo:

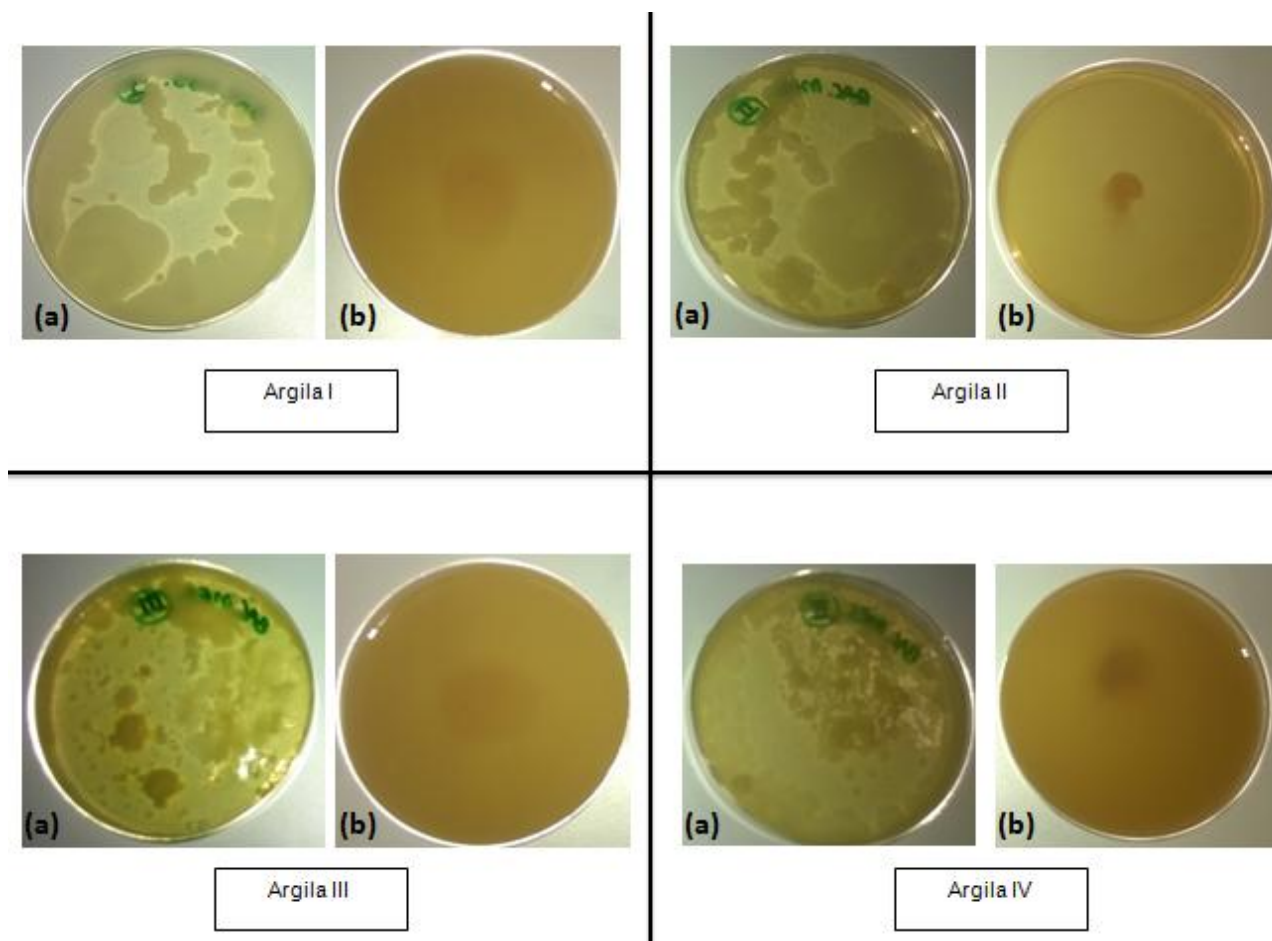


Figura 2. Comparação das placas da contagem de bactérias mesófilas: (a) antes e (b) depois do processo de descontaminação das amostras.

A partir da observação da Figura 2, é possível visualizar uma grande diminuição no crescimento microbiano, comparando as imagens de antes do processo de descontaminação (a), há uma grande quantidade de micro-organismos, enquanto que após o processo de descontaminação (b), não há a visualização de numerosas colônias bacterianas. Também, é possível ressaltar que nas imagens das argilas *in natura*, as colorações dos meios de cultivo TSA estão em menor intensidade, quando comparadas com as argilas após o processo de descontaminação. Isso é explicado pelo fato de que como há bactérias presentes nas amostras, as mesmas utilizarão os nutrientes presentes no meio de cultivo para os seus processos metabólicos, retirando assim, os macro e micronutrientes do meio de cultura, tornando-o mais pálido⁽¹³⁾.

A Figura 3 apresenta os resultados microbiológicos da amostra I, para os ensaios de coliformes fecais e totais e pesquisa de *E. coli*, *P. aeruginosa* e *S. aureus*. Todos os testes obtiveram resultados negativos, assim como no restante as amostras analisadas.

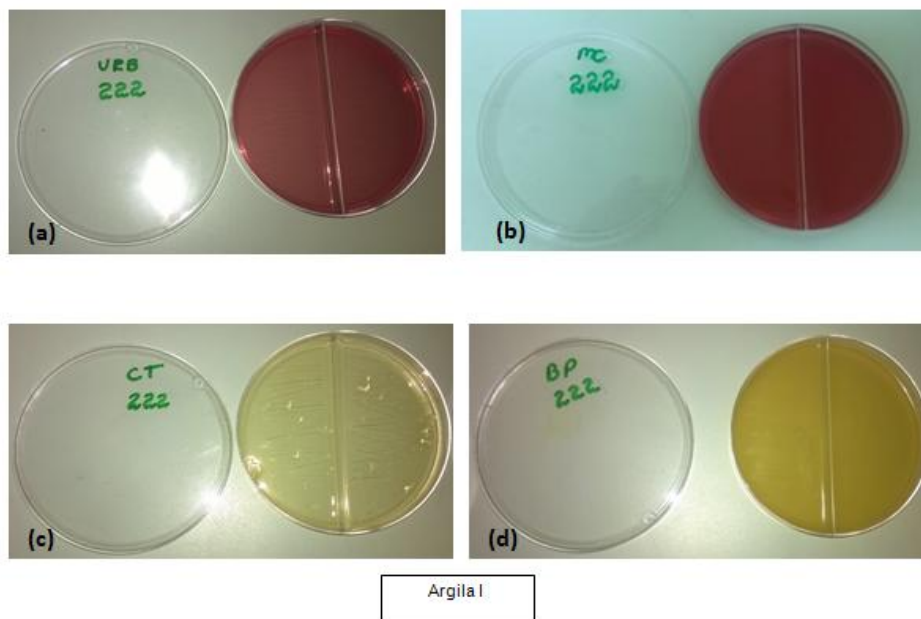


Figura 3. Resultado da análise microbiológica da amostra I nos testes de: **(a)** coliformes fecais e totais e **(b)** pesquisa de *E. coli*, **(c)** *P. aeruginosa* e **(d)** *S. aureus*.

O sucesso do processo de descontaminação é explicado pela associação de métodos bastante efetivos. Para a descontaminação de superfícies hospitalares, é indicada a aplicação de três sequências de solvente. Dessa forma, visando a diminuição da carga microbiana, aplicou-se esse método para as amostras de argila. A adição de quantidades semelhantes de álcool etílico 70°GL permitiu que a amostra entrasse em contato com maior quantidade de solvente novo e puro, atribuindo assim, maior capacidade de penetração do solvente na amostra e conseqüentemente inativação dos micro-organismos ⁽¹²⁾.

A associação de métodos de descontaminação pode ser mais efetiva do que se aplicados isoladamente. Os resultados obtidos demonstraram que a associação do métodos químico (utilizando etanol 70°GL) e físico (calor seco)⁽¹⁰⁾ foram efetivas no processo de descontaminação das amostras. Para fins comparativos, foram realizados os testes microbiológicos antes e depois do processo de descontaminação, para avaliar a redução microbiana frente à biocarga inicial.

O álcool etílico é um potente e rápido bactericida e bacteriostático. A eficácia do etanol se refere a proporção álcool:água enquadrada entre 60 e 80% de álcool, não apresentando eficácia em concentrações abaixo de 50% de teor alcoólico. Suas propriedades são atribuídas ao fato de causar desnaturação das proteínas

bacterianas e inibição da produção de metabólitos essenciais para a divisão celular das bactérias ⁽¹¹⁾.

Associando a ação do álcool etílico 70ºGL com calor seco, houve um sinergismo na eficiência do processo de descontaminação. O calor seco é vantajoso na capacidade de penetração do calor às células bacterianas, havendo morte por oxidação celular, embora seja um método moroso e de elevado gasto energético, para alcançar seu objetivo quando comparado com o etanol ⁽¹¹⁾.

CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos, foi possível verificar que o processo de descontaminação proposto foi efetivo para a redução da carga microbiana das amostras. Já para a presença de bolores e leveduras houve redução microbiana nas quatro amostras analisadas, se enquadrando nas especificações. Por serem de origem natural, as argilas possuem biocarga elevada, no entanto, utilizando um resíduo industrial e empregando-o em benefício à saúde populacional é deveras satisfatório. Assim, com valores adequados dentro dos parâmetros propostos pela legislação cosmética brasileira, através da Resolução nº 481/99, o processo é capaz de reduzir a carga microbiana, indicando que o método de descontaminação foi eficaz, adequando os valores que antes estavam fora da conformidade, em valores aceitáveis dentro das especificações, e dessa forma, podem ser incorporados em formulações cosméticas não prejudicando a estabilidade da formulação e garantindo segurança ao consumidor.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Universidade de Caxias do Sul (UCS), à Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e à Fundação de Amparo a Pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS) pelo financiamento do Projeto.

REFERÊNCIAS

1. FERREIRA, M. J. D. Argilominerais puro e quimicamente modificados como adsorventes para corantes catiônicos. 2009, 80 p. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.
2. TEIXEIRA-NETO, E. & TEIXEIRA-NETO, A. A. Modificação química de argilas: desafios científicos e tecnológicos para obtenção de novos produtos com maior valor agregado. *Quím. Nova*, v. 32, n. 3, p. 809-817, 2009.
3. COSTA, A. C. S.; TORINO, C. A.; RAK, J. G. Capacidade de troca catiônica dos coloides orgânicos e inorgânicos de latossolos do Estado do Paraná. *Acta. Scientiarum Agronomy*. Maringá, v. 21, n. 3, p. 491-496, 1999.
4. BERGAYA, F.; THENG, B. K. G.; LAGALY, G. *Handbook of Clay Science*, Elsevier: Amsterdam, 2006.
5. CARRETERO, M. I. Clay minerals and their beneficial effects upon human health. *Applied Clay Science*, v. 21, p. 155-163, 2001.
6. CARRETERO, M. I.; POZO, M. Clay and non-clay minerals in the pharmaceutical and cosmetic industries, Part II: Active ingredients. *Applied Clay Science*, v. 47, p. 171-181, 2010.
7. VALENTI, D. M. Z.; SILVA, J. A.; TEODORO, W. R.; VELOSA, P. A.; MELLO, S. B. V. Avaliação da histoarquitetura do colágeno no tecido cutâneo após a utilização tópica da argila em ratos. *Revista Brasileira de Ciências da Saúde*, v. 8, n. 23, p. 22-31, 2010.
8. GREYER-BECK, S.; MÜHLBERG, K.; BRENDEN, H.; FELSNER, I.; BRYNJÓLFSDÓTTIR, A.; EINARSSON, S. & KRUTMANN, J. Bioactive molecules from the Blue Lagoon: *in vitro* an *in vivo* assessment of silica mud and microalgae extracts for their effects on skin barrier function and prevention of skin ageing. *Experimental Dermatology*, v. 17, n. 9, p. 771-779, 2008.
9. BRASIL. Resolução RDC Nº 481, de 23 de setembro de 1999. Estabelece os parâmetros de controle microbiológico para os produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Diário Oficial da União, Brasília, DF, 27 de set. 1999.
10. KALIL, E. M.; COSTA, A. J. F. Desinfecção e esterilização. *Acta. Ortop. Bras.*, v. 2, n. 4, p. 1-4, 1994.
11. ANSEL, H. C.; POPOVICH, N. G.; ALLEN JR., L. V. *Farmacotécnica: formas farmacêuticas & sistemas de liberação de fármacos*. 6ª edição. São Paulo, SP: Premier, 568 p., 2000.
12. BRASIL. Segurança do paciente em serviços de saúde: limpeza e desinfecção de superfícies. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Brasília, D.F., 116 p., 2010.
13. CARTURAN, G. & HANSEN, J. A. *Guia ABC de Microbiologia – Controle microbiológico na indústria de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes: Parâmetros, metodologia analítica e orientações*. Ed. Associação Brasileira de Cosmetologia (ABC). São Paulo, 1998.
14. BRITISH PHARMACOPEIA. London: Her Majesty's Stationery Office, 10.952 p., 2008.
15. BRASIL. *Farmacopeia Brasileira*. 5ª ed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Parte I: Métodos Gerais, 546 p., 2010.

16. MALTCHIK, L. Ecologia de rios intermitentes tropicais. *In*: POMPÊO, M. L. M. Perspectivas da limnologia no Brasil. São Luís: Gráfica e Editora União, 191 p., 1999.

DECONTAMINATION METHOD OF CLAY FOR USE IN COSMETIC FORMULATIONS

ABSTRACT

The use of clays in the area cosmetic facial dermatology has attracted attention, especially for your properties like: soothing, healing, absorbent, gentle exfoliating and astringent. The applicability of raw materials in the cosmetic area requires microbiological evaluation of these, especially when obtained from natural sources. In this context, this study objective to evaluate the microbial load of four samples of clay from waste mining in the state of São Paulo, and propose a method for the decontamination of these samples. The proposed methods were based on the association between alcohol 70°GL and the dry heat at 120°C in an oven for 24 hours. The results showed that the decontamination method with 70°GL and dry heat were effective in reducing the initial bacteria count, making it a very effective method to reduce microbial load and subsequent use of this raw material in the cosmetic field.

Keywords: Clay; Decontamination Method; Cosmetic Formulations.