

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

BRENDA CECILIA DE MAMAN RIBEIRO

OTIMIZAÇÃO DE SISTEMAS CONSERVANTES EM BASES COSMÉTICAS
EMULSIONADAS

CURITIBA

2013

BRENDA CECILIA DE MAMAN RIBEIRO

OTIMIZAÇÃO DE SISTEMAS CONSERVANTES EM BASES COSMÉTICAS
EMULSIONADAS

Monografia apresentada à disciplina Trabalho de Conclusão de Curso II como requisito parcial à conclusão do Curso de Biomedicina, Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Jorge Guido Chociai

CURITIBA

2013

TERMO DE APROVAÇÃO

BRENDA CECILIA DE MAMAN RIBEIRO

OTIMIZAÇÃO DE SISTEMAS CONSERVANTES EM BASES COSMÉTICAS EMULSIONADAS

Monografia apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Bacharel no curso de graduação em Biomedicina, pela seguinte banca examinadora:

Orientador: Prof. Dr. Jorge Guido Chociai
Departamento de Farmácia, UFPR

Prof. Dr. Débora Do Rocio Klisiowicz
Setor de Ciências Biológicas, UFPR

Prof. Dr.
Setor de Ciências Biológicas, UFPR

Curitiba, ____ de dezembro de 2013.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer, em primeiro lugar, aos meus pais, que estão presentes em todas as conquistas da minha vida, oferecendo apoio, incentivo e carinho.

Agradeço também ao Prof. Dr. Jorge Guido Chociai, pela paciência na orientação e incentivo que tornaram possível a conclusão desta monografia; aos professores que me acompanharam durante a graduação, em especial à Prof. Dr. Débora Do Rocio Klisiowicz, pela amizade e conselhos que vão além dos assuntos acadêmicos, e ao Prof. Dr. Diogo Ducatti, pela atenção e orientação do estágio.

Às meninas mais fofas e queridas da turma, Bruna, Caroline, Elisa, Débora, Marina, Juliana e Renata, pela amizade desde o começo do curso, a qual espero levar para a vida toda.

Também não posso esquecer de agradecer ao Grupo Boticário, por oferecer a infra-estrutura necessária à realização desse trabalho. Especialmente à Isabela, por ter sido fundamental em todos os processos dessa pesquisa, além de todo o time de Pele e Novas Texturas (Ana, Patrícia, Alessandra, Fabíola e Kauê) pelo companheirismo no decorrer desse ano de 2013.

RESUMO

Muitas substâncias utilizadas na fabricação de cosméticos são susceptíveis à degradação biológica por microrganismos. Assim, os conservantes são adicionados aos produtos por duas razões: para evitar sua deterioração e para proteger o consumidor de uma possível infecção. Entretanto, observa-se que eles são adicionados numa concentração relativamente alta, seja para ocultar procedimentos falhos de fabricação, ou para garantir a eficácia do sistema conservante quando os produtos estão expostos ao abuso do consumidor. Nesta situação, além de aumentar o custo também há um aumento do potencial alergênico dos produtos, uma vez que dentre os alérgenos mais comuns presentes nas formulações cosméticas estão os conservantes. Visto isso, é de suma importância o envolvimento das indústrias cosméticas no estudo de formulações que utilizem a menor quantidade possível de substâncias alérgicas, para que desta forma haja a otimização e o aumento da segurança de seus produtos, e em conjunto a satisfação dos consumidores. Neste trabalho doze emulsões, contendo quatro conservantes diferentes foram avaliadas através de um estudo de estabilidade incluindo quatro condições durante 90 dias e acompanhamento das características organolépticas, pH e viscosidade. Além disso, todas as fórmulas testadas passaram pelo *challenge test*, onde seus sistemas conservantes foram desafiados. Os resultados mostraram que as emulsões foram estáveis às condições de estudo e que o emprego de porcentagens reduzidas de conservantes, quando boas práticas de fabricação são adotadas, é uma alternativa viável na busca de otimização da fórmula neste quesito. Desta forma, ganhos são gerados para as indústrias cosméticas e também há uma redução do potencial alergênico dos produtos.

Palavras-chave: Cosméticos. Conservantes. Microrganismos.

ABSTRACT

Many substances used in cosmetics are susceptible to biological degradation by microorganisms. Thus, preservatives are added to products for two reasons: to prevent deterioration and to protect consumers from possible infection. However, it is observed that they are added in relatively high concentration in order to conceal faulty manufacturing procedures or ensure the effectiveness of the preservative system, since products are exposed to abuse the consumer. In this situation, besides the increasing on the cost, there is also an increase in allergenic potential of the product, once the preservatives are one of the most common allergens in cosmetic formulations. With that been said, it is extremely important the involvement of industries in the study of cosmetic formulations that uses reduced concentrations of allergens, thus providing formula optimization and improving the safety of their products. In this study, twelve emulsions containing four different preservatives were evaluated through a stability study, including four conditions for 90 days and monitoring the organoleptic characteristics, pH and viscosity. In addition, all preservative systems were challenged by the *challenge test*. The results showed that the emulsions were stable on the conditions of study and that the use of low percentages of preservatives, when good manufacturing practices are adopted, is a viable alternative in optimizing a formula. Therefore, earnings are generated for cosmetic industries and there is also a reduction in the allergenic potential of the products.

Keywords : Cosmetics. Preservatives. Microorganisms.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 -	CARACTERÍSTICA ANFIFILICA DO EMULSIFICANTE.....	15
FIGURA 2 -	ESTABILIZAÇÃO DE UMA EMULSÃO POR EMULSIFICANTES.....	15
QUADRO 1 -	MICROORGANISMOS USADOS NOS TESTES DE DESAFIO.....	20
FIGURA 3 -	EM SENTIDO HORÁRIO, ESTRUTURA MOLECULAR DO ÁCIDO p-HIDROXIBENZÓICO, PARABENO, PROPILPARABENO E METILPARABENO.....	23
FIGURA 4 -	ESTRUTURA MOLECULAR DO FENOXIETANOL E DO ÁLCOOL BENZÍLICO	28
QUADRO 2 -	ATIVIDADE ANTIMICROBIANA: CONCENTRAÇÃO MÍNIMA INIBITÓRIA (MIC) DO FENOXIETANOL PARA DIFERENTES MICROORGANISMOS.....	29
FIGURA 5 -	REATOR DA MARCA BECOMIX EM QUE AS EMULSÕES FORAM PREPARADAS.....	32
GRÁFICO 1 -	PERFIL DE CRESCIMENTO MICROBIOLÓGICO DURANTE O PERÍODO DE 28 DIAS DE TESTE NA BASE 1 SEM CONSERVANTES.....	43
GRÁFICO 2 -	PERFIL DE CRESCIMENTO MICROBIOLÓGICO DURANTE O PERÍODO DE 28 DIAS DE TESTE NA BASE 1 COM 0,08% DE ÁLCOOL BENZÍLICO E 0,08% DE FENOXIETANOL	44
GRÁFICO 3 -	PERFIL DE CRESCIMENTO MICROBIOLÓGICO DURANTE O PERÍODO DE 28 DIAS DE TESTE NA BASE 1 COM 0,16% DE ÁLCOOL BENZÍLICO E 0,16% DE FENOXIETANOL.....	44
GRÁFICO 4 -	PERFIL DE CRESCIMENTO MICROBIOLÓGICO DURANTE O PERÍODO DE 28 DIAS DE TESTE NA BASE 1 COM 0,24% DE ÁLCOOL BENZÍLICO E 0,24% DE FENOXIETANOL.....	45

GRÁFICO 5 - PERFIL DE CRESCIMENTO MICROBIOLÓGICO DURANTE O PERÍODO DE 28 DIAS DE TESTE NA BASE 1 COM 0,32% DE ÁLCOOL BENZÍLICO E 0,32% DE FENOXIETANOL.....	45
GRÁFICO 6 - PERFIL DE CRESCIMENTO MICROBIOLÓGICO DURANTE O PERÍODO DE 28 DIAS DE TESTE NA BASE 1 COM 0,40% DE ÁLCOOL BENZÍLICO E 0,40% DE FENOXIETANOL.....	46
GRÁFICO 7 - PERFIL DE CRESCIMENTO MICROBIOLÓGICO DURANTE O PERÍODO DE 28 DIAS DE TESTE NA BASE 2 SEM CONSERVANTES.....	47
GRÁFICO 8 - PERFIL DE CRESCIMENTO MICROBIOLÓGICO DURANTE O PERÍODO DE 28 DIAS DE TESTE NA BASE 2 COM 0,01% DE PROPILPARABENO, 0,03% DE METILPARABENO E 0,08% DE FENOXIETANOL.....	47
GRÁFICO 9 - PERFIL DE CRESCIMENTO MICROBIOLÓGICO DURANTE O PERÍODO DE 28 DIAS DE TESTE NA BASE 2 COM 0,02% DE PROPILPARABENO, 0,06% DE METILPARABENO E 0,16% DE FENOXIETANOL.....	48
GRÁFICO 10 - PERFIL DE CRESCIMENTO MICROBIOLÓGICO DURANTE O PERÍODO DE 28 DIAS DE TESTE NA BASE 2 COM 0,03% DE PROPILPARABENO, 0,09% DE METILPARABENO E 0,24% DE FENOXIETANOL.....	48
GRÁFICO 11 - PERFIL DE CRESCIMENTO MICROBIOLÓGICO DURANTE O PERÍODO DE 28 DIAS DE TESTE NA BASE 2 COM 0,04% DE PROPILPARABENO, 0,12% DE METILPARABENO E 0,32% DE FENOXIETANOL.....	49
GRÁFICO 12 - PERFIL DE CRESCIMENTO MICROBIOLÓGICO DURANTE O PERÍODO DE 28 DIAS DE TESTE NA BASE 2 COM 0,05% DE PROPILPARABENO, 0,15% DE METILPARABENO E 0,40% DE FENOXIETANOL.....	49

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - ATIVIDADE ANTIMICROBIANA: CONCENTRAÇÃO MÍNIMA INIBITÓRIA (MIC) DO METILPARABENO PARA DIFERENTE MICRORGANISMOS.....	24
TABELA 2 - SOLUBILIDADE DO METILPARABENO EM DIFERENTES SOLVENTES.....	25
TABELA 3 - SOLUBILIDADE DO PROPILPARABENO EM DIFERENTES SOLVENTES.....	27
TABELA 4 - ATIVIDADE ANTIMICROBIANA: CONCENTRAÇÃO MÍNIMA INIBITÓRIA (MIC) DO PROPILPARABENO PARA DIFERENTES MICRORGANISMOS.....	27
TABELA 5 - CONCENTRAÇÕES DE CONSERVANTES APLICADAS NA BASE 1.....	33
TABELA 6 - CONCENTRAÇÕES DE CONSERVANTES APLICADAS NA BASE 2.....	34
TABELA 7 - LEITURAS DE pH NO TEMPO ZERO.....	39
TABELA 8 - LEITURAS DE pH AOS 30 DIAS DE ESTUDO.....	39
TABELA 9 - LEITURAS DE pH AOS 60 DIAS DE ESTUDO.....	39
TABELA 10 - LEITURAS DE pH AOS 90 DIAS DE ESTUDO.....	40
TABELA 11 - LEITURAS DE VISCOSIDADE APARENTE NO TEMPO ZERO....	41
TABELA 12 - LEITURAS DE VISCOSIDADE APARENTE AOS 30 DIAS DE ESTUDO.....	41
TABELA 13 - LEITURAS DE VISCOSIDADE APARENTE AOS 60 DIAS DE ESTUDO.....	41
TABELA 14 - LEITURAS DE VISCOSIDADE APARENTE AOS 90 DIAS DE ESTUDO.....	42

SUMÁRIO

1 OBJETIVO	11
1.1 OBJETIVO GERAL.....	11
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	11
2 INTRODUÇÃO	12
2.1 PRODUTOS DE HIGIENE PESSOAL, COSMÉTICOS E PERFUMES.....	13
2.2 EMULSÕES.....	14
2.3 CONSERVANTES.....	16
2.4 TESTE DO DESAFIO (<i>CHALLENGE TEST</i>).....	18
2.5 LEGISLAÇÃO.....	20
3 REVISÃO DA LITERATURA	22
3.1 PARABENOS.....	22
3.1.1 Metilparabeno.....	24
3.1.2 Propilparabeno.....	26
3.2 COMPOSTOS FENÓLICOS.....	28
3.2.1 Fenoxietanol Puro.....	28
3.2.2 Álcool Benzílico.....	30
4 METODOLOGIA	31
4.1 PESQUISA BIBLIOGRÁFICA.....	31
4.2 PESQUISA METODOLÓGICA.....	31
4.2.1 Base 1.....	33
4.2.2 Base 2.....	33
4.2.3 <i>Challenge test</i>	34
4.2.4 Estudo de estabilidade.....	35
4.2.5 Avaliação dos parâmetros organolépticos.....	36
4.2.6 Análises físico-químicas.....	36
5 RESULTADOS	38
5.1 AVALIAÇÃO ORGANOLÉPTICA.....	38
5.2 AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA.....	38
5.2.1 pH.....	38
5.2.2 Viscosidade aparente.....	40

5.3	AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DAS CONCENTRAÇÕES DE CONSERVANTES TESTADAS - <i>CHALLENGE TEST</i>	42
5.3.1	<i>Challenge test</i> na base 1.....	43
5.3.2	<i>Challenge test</i> na base 2.....	46
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	51
	REFERÊNCIAS	52

1 OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral desta pesquisa foi otimizar dois sistemas conservantes em duas bases cosméticas emulsionadas distintas.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar o panorama da atual da sobredosagem de conservantes em cosméticos;
- Levantar dados técnicos, como espectro de ação, concentração máxima permitida segundo a legislação brasileira, e estabilidade dos conservantes: metilparabeno, propilparabeno, fenoxietanol puro e álcool benzílico;
- Analisar o crescimento microbiológico nas bases cosméticas em função de alterações na concentração dos conservantes em estudo;
- Contribuir para a otimização do uso de conservantes em produtos cosméticos.

2 INTRODUÇÃO

Muitas substâncias utilizadas na fabricação de cosméticos são susceptíveis à degradação biológica por microrganismos. Assim, os conservantes são adicionados aos produtos por duas razões: para evitar sua deterioração, ou seja, prolongar sua vida comercial, e para proteger o consumidor de uma possível de infecção (WILKINSON; MOORE, 1990).

As origens da contaminação são: as matérias primas, equipamentos utilizados na fabricação, equipe de operadores, materiais de envase ou meio ambiente (WILKINSON; MOORE, 1990).

Desta forma, se admite que os produtos necessitam de uma proteção prévia devido à contaminação que ocorre durante a produção, que é dada pela adição de conservantes à fórmula. Entretanto, esta adição nunca deve ser utilizada para ocultar procedimentos falhos de fabricação. Também deve ser considerado que os produtos cosméticos, possivelmente mais que os farmacêuticos, estão expostos ao abuso do consumidor. Apesar dos produtos não serem protegidos contra abusos extremos, como usos indevidos, o formulador deve se antecipar a essas situações quando desenvolve o produto, simulando os piores casos de uso (WILKINSON; MOORE, 1990).

Por isso, é imperativo que a questão microbiológica seja investigada desde a fase de desenvolvimento de um produto até a produção e controle de linhas já existentes de qualidade, com a realização de testes completos e práticos que assegurem a eficácia de seu sistema conservante.

Além disso, existe a preocupação com reações alérgicas causadas pelos conservantes. Dentre os ingredientes utilizados nas formulações cosméticas, os alérgenos mais comuns presentes são as fragrâncias e os conservantes (WETTER *et al.*, 2010).

Estima-se que a mulher dos dias de hoje utiliza em média 12 produtos de higiene pessoal diariamente, o que compreende em média 168 ingredientes. Já o homem utiliza em média seis produtos de higiene pessoal, totalizando aproximadamente 85 ingredientes (EWB's Skin Deep Cosmetics Database, 2012). Desta forma, essa enorme variedade de produtos cosméticos e matérias-primas

disponíveis no mercado atualmente tornam esperadas taxas elevadas de reações cutâneas adversas. E como a utilização de cosméticos é generalizada, se destaca a importância de controlar possíveis efeitos secundários de cada ingrediente inserido em um cosmético, inclusive dos conservantes.

Visto isso, é de suma importância o envolvimento das indústrias cosméticas no estudo de formulações que envolvam a menor quantidade possível de substâncias alérgicas, para que desta forma haja a otimização e o aumento da segurança de seus produtos, e em conjunto a satisfação dos consumidores.

2.1 PRODUTOS DE HIGIENE PESSOAL, COSMÉTICOS E PERFUMES

Segundo a Resolução da ANVISA RDC Nº 211, de 14 de julho de 2005, "Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes, são preparações constituídas por substâncias naturais ou sintéticas, de uso externo nas diversas partes do corpo humano, pele, sistema capilar, unhas, lábios, órgãos genitais externos, dentes e membranas mucosas da cavidade oral, com o objetivo exclusivo ou principal de limpá-los, perfumá-los, alterar sua aparência e ou corrigir odores corporais e ou protegê-los ou mantê-los em bom estado".

Eles são classificados em produtos Grau 1 e Grau 2, que indicam qual o nível de risco que seu uso oferece ao consumidor. Os de Grau 1 são produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes de risco mínimo, que se caracterizam por possuírem propriedades básicas ou elementares, cuja comprovação não seja inicialmente necessária e não requeiram informações detalhadas quanto ao seu modo de usar e suas restrições de uso, devido às características intrínsecas do produto. Já os de Grau 2 são aqueles com risco potencial, que possuem indicações específicas, cujas características exigem comprovação de segurança e/ou eficácia, bem como informações e cuidados, modo e restrições de uso. Exemplos de produtos de Grau 2 são aqueles destinados ao uso infantil (RDC Nº 211).

2.2 EMULSÕES

Emulsão é um sistema heterogêneo definido como mistura íntima de dois líquidos imiscíveis, em que uma delas se dispersa na outra em forma de glóbulos visíveis ao microscópio – cujo diâmetro em geral não ultrapassa 0,1 μ m. Ela é usualmente composta por três fases: fase aquosa, fase oleosa e fase emulsificante. A fase que está em forma de gotículas é chamada de fase dispersa interna ou descontínua, e a fase que forma a matriz que suspende essas gotículas se chama fase contínua externa. Por ser um sistema termodinamicamente instável, é necessário um considerável aporte de energia para obtê-las, geralmente energia mecânica (BECHER, 1972).

Como já foi abordado, este sistema pode ter uma fase aquosa e uma oleosa, como é o exemplo clássico do óleo e água. Desta forma, pode existir uma emulsão óleo em água, em que o óleo é a fase descontínua, outra água em óleo, em que a água é a fase descontínua. Esses tipos de emulsão se abreviam convenientemente como *w/o* e *o/w*, respectivamente (BECHER, 1972).

As propriedades físico-químicas das fases influenciam o processo de obtenção, o comportamento das fases, o tipo e a estabilidade do sistema de dispersão. Este sistema possui uma estabilidade mínima, e, para que possam ser aplicadas nas mais derivadas áreas, como a cosmética, devem apresentar um período definido e predeterminado de estabilidade química. Assim, essa estabilidade pode ser acentuada pela ação de meios mecânicos, como agitação aumentada, e também pela adição de emulsionantes químicos. Esses últimos são chamados de tensoativos, e possuem a função de reduzir a tensão interfacial do sistema de modo a formar um filme interfacial com propriedades estéricas e eletrostáticas em torno dos glóbulos da fase interna (SCHULLER; ROMANOWSKY, 1998).

Os tensoativos (ou agentes emulsificantes) são moléculas com características anfifílicas (FIGURA 1) que se adsorvem na interface entre a fase dispersa e a dispersante durante o processo de emulsificação, e podem prontamente prevenir fenômenos de instabilidade e uma possível separação de fases (FIGURA 2) (HOLMBERG *et al.*, 2002).

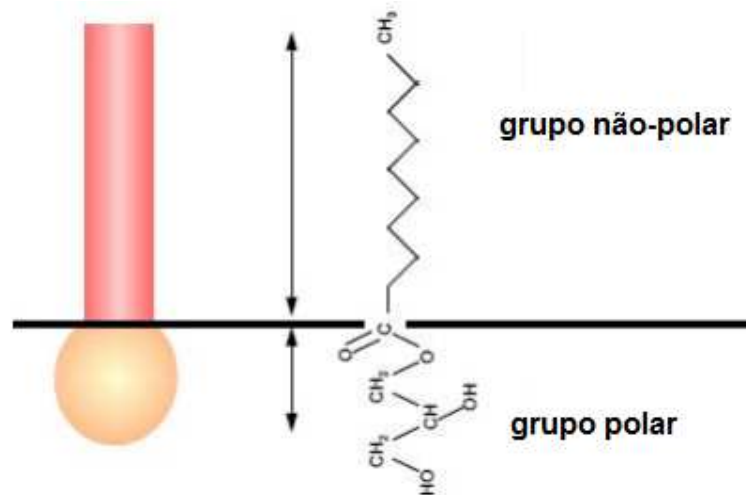


FIGURA 1 - CARACTERÍSTICA ANFIFILICA DO EMULSIFICANTE
 FONTE: DOS SANTOS (2008)

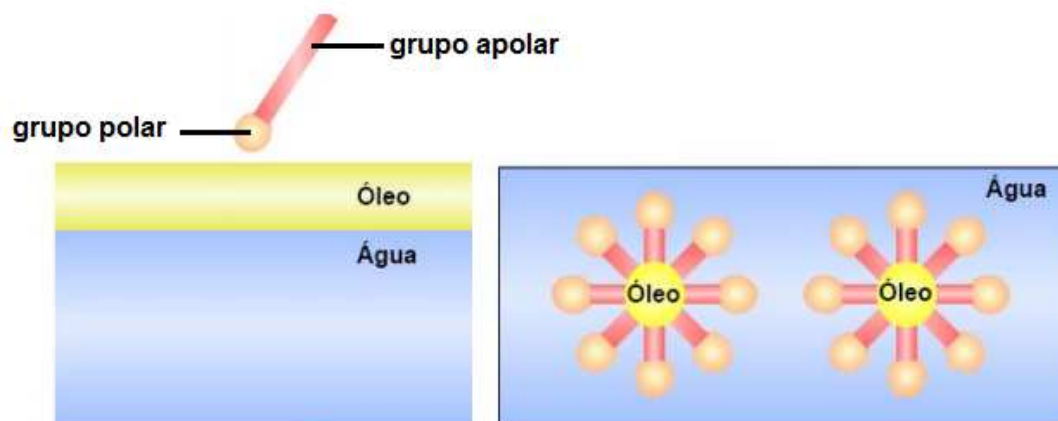


FIGURA 2 - ESTABILIZAÇÃO DE UMA EMULSÃO POR EMULSIFICANTES
 FONTE: DOS SANTOS (2008) Modificado pelo autor (2013)

Além da tensão interfacial, uma outra característica físico-química da emulsão é de suma importância: a tensão superficial. Ela ocorre na interface entre dois líquidos de polaridades diferentes, como água e óleo. As moléculas situadas no interior de um líquido são, em média, sujeitas a forças de atração iguais em todas as direções, ao passo que as moléculas numa superfície ou interface estão submetidas a forças de atração não equilibradas, do que resulta em uma força em direção ao interior do líquido (HOLMBERG *et al.*, 2002).

Assim, as moléculas de tensoativos afetam a tensão superficial/ interfacial diminuindo esta significativamente mesmo em baixas concentrações, sendo que esta diminuição é crescente com o aumento da concentração de tensoativos até que a

concentração micelar crítica seja alcançada, e a emulsão se estabilize (HOLMBERG *et al.*, 2002).

2.3 CONSERVANTES

A regulamentação da ANVISA RDC N° 162, de 2001, define que conservantes são substâncias que são adicionadas como ingrediente aos Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes com a finalidade de inibir o crescimento de microrganismos durante sua fabricação e estocagem, ou para proteger os produtos da contaminação inadvertida durante o uso.

Assim, entende-se que os conservantes são adicionados em uma formulação cosmética com o intuito de evitar o crescimento excessivo de microrganismos e proteger contra oxidações indesejáveis, assegurando, dessa forma, seu prazo de validade e segurança de uso (REBELLO, 2005).

Os micróbios encontrados em cosméticos são originários do ambiente de produção na indústria. Estão presentes em locais como: ar, água, matérias-primas e pessoas envolvidas com o processo de produção. Outros componentes que influenciam o agravamento deste estado são os procedimentos deficientes de higiene e limpeza, tanto do ambiente de produção quanto dos funcionários envolvidos no processo (PINTO, 2000).

Os produtos cosméticos não precisam ser estéreis, contudo a RDC n° 481 de 23 de setembro de 1999 estabelece os parâmetros de controle microbiológico para produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes.

Segundo a RDC n° 481 os produtos para uso infantil, para área dos olhos e que entram em contato com mucosas são considerados seguros quando a contagem de microrganismos mesófilos aeróbios totais não ultrapassam 10^2 UFC/g, sendo que o limite máximo é 5×10^2 UFC/g, e que deve ter ausência de *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e de coliformes totais e fecais em 1g de produto, e ainda ausência de clostrídios sulfito redutores em 1 g de produto (exclusivamente para talco).

Já para o demais produtos susceptíveis à contaminação microbiológica, a regra é a mesma, com apenas uma diferença: a contagem de microrganismos mesófilos aeróbios totais não deve ser maior que 10^3 UFC/g, com um limite máximo de 5×10^3 UFC/g (RDC nº 481).

Além da contaminação advinda da produção, os produtos cosméticos também estão expostos a frequentes recontaminações durante o manuseio pelo cliente, pois entram em contato com a pele humana a cada novo uso. Como são normalmente armazenados em temperatura ambiente e contém matérias-primas que favorecem o crescimento de microrganismos como água, óleos, peptídeos e vários tipos de carboidratos, são um meio propício ao desenvolvimento microbiano (WOLF *et al.*, 2001; PINTO, 2000), mostrando a necessidade do uso de conservantes antimicrobianos.

Além dos conservantes antimicrobianos, os químicos também são muito utilizados. O princípio básico da conservação química reside na inibição da reação de oxidação dos componentes que são passíveis dessa reação em presença do oxigênio, principalmente os lipídios (WILKINSON; MOORE, 1982). Conservantes químicos são os antioxidantes, como o BHT (butil-hidroxi-tolueno) que promove remoção ou inativação de radicais livres e acetato de tocoferol, que inibe a reação de oxidação, o e quelantes como o EDTA, que complexam íons metálicos que catalisam a oxidação lipídica (*Food ingredients Brasil*, 2009).

Desta forma, os conservantes químicos são empregados nas formulações cosméticas com o objetivo de prevenir essa degradação, a qual pode trazer riscos à saúde do usuário, como irritações e infecções, e modificar características físicas do produto, como cor, odor e textura (LERANOZ, 2002). Entretanto, além de ser tóxico para os microrganismos, os conservantes podem também ser tóxicos aos seres humanos (GONÇALVES, 2007).

De forma geral, encontrar o conservante ideal, que atenda a todos os critérios de conservação, segurança e toxicidade representa um desafio para o formulador (LERANOZ, 2002). O conservante ideal deve apresentar amplo espectro de ação, ser estável em ampla faixa de pH e temperatura, compatível com ingredientes da fórmula e com a embalagem, não deve alterar as características do produto nem ser agressivo ao consumidor e ao ambiente e ser aprovado pelas agências reguladoras e ativo em baixas concentrações (WILKINSON; MOORE,

1982). Ou seja, é uma tarefa difícil para o formulador. Na tentativa de atender a todos, ou pelo menos a maioria dos requisitos, normalmente os formuladores compõem um sistema conservante, que é constituído por um ou mais conservantes.

Na seleção do sistema conservante devem se considerar as propriedades referentes à fórmula, como pH, atividade de água, componentes, embalagem e modo de uso, e também as propriedades do conservante, como coeficiente de partição, pH, temperatura, compatibilidade com outros componentes da fórmula, concentração recomendada, solubilidade e estabilidade (WILKINSON; MOORE, 1982).

Assim, quando os sistemas conservantes são formados, a maioria desses requisitos são considerados e atendidos, e a eficácia no combate ao crescimento microbiológico é garantida.

2.4 TESTE DO DESAFIO (*CHALLENGE TEST*)

O *challenge test* é uma ferramenta que nos permite estudar a evolução de um determinado microrganismo num produto, seja um alimento ou um cosmético. Nesta ferramenta, microrganismos selecionados são inoculados em uma amostra do produto e, durante um período determinado de tempo, seu crescimento é avaliado. Para conservantes, esse teste é utilizado para avaliar a eficácia do sistema conservante.

A concentração de inoculo inicial é relativamente alta, fornecendo uma indicação de como o produto se sairá na "vida real" no caso de ser contaminado com microrganismos durante a fabricação ou após a venda pelo consumidor (SIEGERT, 2013).

Existem vários protocolos para este teste, e alguns são comumente disponíveis e utilizados na indústria de cosméticos: o que consta no guia microbiológico do CTFA (*Cosmetic, Toiletry, and Fragrance Association*), da USP (*United States Pharmacopeia*), da EU (*European Pharmacopoeia*) (SIEGERT, 2013).

A utilização de microrganismos específicos e que são conhecidos por provocar a deterioração de produtos cosméticos é recomendada pelo *Scientific*

Committee on Consumer Safety (SCCS). Recomenda-se também utilizar uma variedade de microrganismos representativos de contaminações fabris, hospitalares e domésticas, incluindo bactérias gram-negativas e gram-positivas, leveduras e bolores (SIEGERT, 2013).

Os microrganismos recomendados para o teste são diferentes dependendo do método utilizado e são exemplificados no QUADRO 1. Na EU e na USP, os testes utilizam somente microrganismos patogênicos, sendo que no último os englobados são os: *Candida albicans*, *Aspergillus brasiliensis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*. Eles apenas cumprem parcialmente a recomendação do SCCS no uso de germes específicos, que são conhecidos como aqueles que estragam o produto (SIEGERT, 2013).

Já nos métodos do CTFA, para produtos em geral miscíveis em água, o uso de pelo menos um fungo (como *Aspergillus niger* e espécies de *Penicillium*), uma bactéria gram-positiva (como *Staphylococcus aureus*), uma gram-negativa fermentativa (como *Escherichia coli* e *Enterobacter cloacae*) e outra não fermentativa (como *Pseudomonas aeruginosa*) é obrigatório, e o uso de uma levedura é recomendado (como *Candida albicans*) (CTFA, 2007). Tanto os métodos do CTFA como da USP e EU a duração no teste é de 28 dias (SIEGERT, 2013).

	Ph. Eur.	USP <51>	CTFA M-3
Bactérias			
<i>Acinetobacter species</i>			
<i>Bacillus subtilis</i>			
<i>Burkholderia cepacia</i>			≥1
<i>Enterobacter aerogenes</i>			
<i>Enterobacter cloacae</i>			≥1
<i>Enterobacter gergoviae</i>			≥1
<i>Escherichia coli</i>	(+)	+	≥1
<i>Flavobacterium species</i>			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>			≥1
<i>Kocuria rhizophila</i>			
<i>Proteus species</i>			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	+	≥1
<i>Pseudomonas fluorescens</i>			≥1
<i>Pseudomonas putida</i>			≥1
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	≥1
<i>Staphylococcus epidermidis</i>			≥1
Leveduras			
<i>Candida albicans</i>	+	+	(+)
<i>Candida parapsilosis</i>			
Fungos			
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	+	+	≥1
<i>Penicillium luteum</i>			
<i>Penicillium pinophilum</i>			
<i>Penicillium species</i>			≥1
<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	(+)		
germes específicos que são conhecidos por causar deterioração de produtos	(+)		(+)

+	uso obrigatório		
(+)	opcional		
≥1	≥1	≥1	≥1
≥2	utilizar pelo menos dois desse grupo		

QUADRO 1 - MICRORGANISMOS USADOS NOS TESTES DE DESAFIO, "Ph. Eur".= EU
 FONTE: SIEGERT (2013) Modificado pelo autor (2013)

2.5 LEGISLAÇÃO

A primeira legislação brasileira que regulamenta a vigilância sanitária de produtos cosméticos foi criada apenas em 1976, pela lei Nº 6360. Ela dispõe não apenas sobre a vigilância de cosméticos, mas também de medicamentos, drogas, insumos farmacêuticos e correlatos, saneantes e outros produtos. Nela, os cosméticos são definidos como:

Produtos para uso externo, destinados à proteção ou ao embelezamento das diferentes partes do corpo, tais como pós faciais, talcos, cremes de beleza, creme para as mãos e similares, máscaras faciais, loções de beleza, soluções leitosas, cremosas e adstringentes, loções para as mãos, bases de

maquiagem e óleos cosméticos, ruges, blushes, batons, lápis labiais, preparados anti- solares, bronzeadores e simulatórios, rímeis, sombras, delineadores, tinturas capilares, agentes clareadores de cabelos, preparados para ondular e para alisar cabelos, fixadores de cabelos, laquês, brilhantinas e similares, loções capilares, depilatórios e epilatórios, preparados para unhas e outros. (LEI Nº 6360, de 1976).

Nesta lei também são estabelecidas regras para o registro de cosméticos, produtos de higiene e perfumes; para a autorização de funcionamento das empresas (que é dado pelo Ministério da Saúde) e licenciamento dos estabelecimentos (cuja aprovação deve ser concedida pelo Ministério da Saúde); para responsabilidade técnica da produção, rotulagem, publicidade e meios de transporte dos produtos; para embalagens; para infrações e penalidades para produtos adulterados, falsificados ou impróprios; e para fiscalização, a qual é realizada pela Vigilância Sanitária e por outros órgãos competentes.

Entretanto, uma regulamentação mais específica sobre o uso de conservantes em cosméticos no Brasil surgiu apenas em 2001, com a publicação da RDC Nº 162 pela ANVISA. Esta resolução descreve uma listagem de conservantes que tem seu uso permitido em produtos comercializados no país, lista na qual consta a concentração permitida de cada conservante e algumas informações e restrições de uso. Um bom exemplo é o do formaldeído, cuja resolução determina que pode ser usado na concentração de 0,1 % em produtos destinados para higiene oral e 0,2 % nos demais produtos, apresenta a limitação que proíbe seu uso em aerossóis, e traz como condição de uso a necessidade de aparecer na embalagem do produto a expressão “contém formaldeído” sempre que a concentração no produto final for maior que 0,05 %.

3 REVISÃO DA LITERATURA

Os conservantes são utilizados em muitos cosméticos com o objetivo de aumentar a vida útil dos produtos, impedindo o desenvolvimento de microrganismos que podem causar doenças ou, simplesmente, prejudicar o bom aspecto do produto final. Um conservante ideal deve ser efetivo em uma concentração baixa e não tóxica; apresentar boa solubilidade em água, compatibilidade com outros excipientes, características organolépticas adequadas, um amplo espectro de atividade para bactérias e fungos e um custo razoável (AULTON, 2003).

3.1 PARABENOS (HIDROXIBENZOATOS)

Dentre os conservantes mais utilizados em formulações farmacêuticas e cosméticas, destacam-se os parabenos. Metil-, etil-, propil-, butil- e benzil parabenos são os ésteres de alquil de ácido para-hidroxibenzóico amplamente utilizados como conservantes antimicrobianos em cosméticos, fármacos, alimentos e bebidas, uma vez que possuem baixa toxicidade e custo reduzido (CRINNION, 2010).

Apesar de serem mais ativos contra fungos, os hidroxibenzoatos contêm propriedades antibacterianas principalmente contra bactérias gram-positivas, apresentando assim um amplo espectro de ação; além de serem incolores, inodoros e insípidos (CRINNION, 2010; SONI *et al.*, 2002).

Sabe-se ainda que a atividade antimicrobiana desses compostos aumenta com o aumento da cadeia carbônica do substituinte do éster, mas sua solubilidade em água decresce proporcionalmente (FERNANDES, 2013; SONI *et al.*, 2002). Desta forma, o uso de ésteres com menor cadeia torna-se mais comum por causa da elevada solubilidade em água, e ainda para uma atividade antimicrobiana aperfeiçoada, recomenda-se o sinergismo da combinação de dois hidroxibenzoatos de cadeia alquil curta (ZHANG *et al.*, 2005).

Como são substâncias potencialmente tóxicas, a RDC Nº 162 regulamenta que a concentração máxima permitida de parabenos nas formulações é de 0,4%

individualmente e 0,8% de misturas de sais ou ésteres. Contudo, sua elevada eficiência faz com que suas concentrações nas formulações usualmente não ultrapassem 0,3% individualmente, e 0,3% de metilparabeno e 0,1% de propilparabeno no sistema conservante mais comum encontrado (SONI *et al.*, 2002).

Os ésteres do ácido p-hidroxibenzóico, assim como muitos conservantes, apresentam atividade antimicrobiana reduzida em presença de alguns tensoativos não-iônicos (CLARIANT, 2003). Abrutyn (2010) ainda relata certa incompatibilidade também com tensoativos catiônicos e proteínas.

Apesar da enorme utilização destes biocidas, o mecanismo de ação deles é ainda desconhecido. Entretanto, propõe-se que eles apresentam ação sobre a síntese de DNA e RNA, sobre enzimas-chave como ATPases e fosfotransferases ou ainda sobre os mecanismos de transporte de membranas (NES; EKLUND, 1983; MA; MARQUIS, 1996; KAMARU; SUKHAREV, 2008). Soni *et al.* (2002) sugere que a chave do mecanismo de ação seja sobre a membrana e processos mitocondriais, através de efeitos inibitórios sobre o transporte pela membrana dos microrganismos.

Entre os parabenos mais utilizados como conservantes, estão o metilparabeno e o propilparabeno (FERNANDES, 2013) (FIGURA 3).

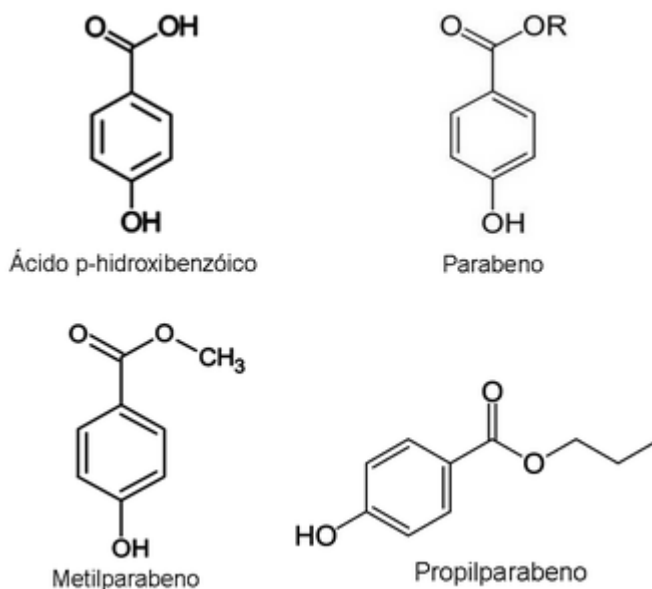


FIGURA 3 - EM SENTIDO HORÁRIO, ESTRUTURA MOLECULAR DO ÁCIDO p-HIDROXIBENZÓICO, DO PARABENO, PROPILPARABENO E METILPARABENO
 FONTE: Metilparabeno

3.1.1 METILPARABENO

Também conhecido como 4-hidroxibenzoato de metila ou Nipagin, o metilparabeno é um de uma série homóloga de parabenos, utilizado isoladamente ou em combinação dependendo do efeito antimicrobiano desejado. Possui fórmula $C_8H_8O_3$, peso molecular igual a $152,15 \text{ g.mol}^{-1}$ e é uma substância sólida nas condições ambientes - temperatura de fusão igual a 131°C (MINCEA *et al.*, 2009; SONI *et al.*, 2002).

Este hidroxibenzoato pode ser utilizado em cremes, loções, condicionadores, pastas, géis, shampoos, desodorantes, cremes dentais, maquiagem para a área dos olhos, produtos infantis, entre outros. Apresenta baixa toxicidade, é estável até 80°C e efetivo numa larga faixa de pH, compreendida entre 4 e 8, sendo mais ativo e estável quimicamente em condições ácidas (pH de 4 a 5). Além disso, apresenta um amplo espectro de ação antimicrobiana, pois proporciona ação contra leveduras, fungos, bactérias gram-positivas e gram-negativas (CLARIANT, 2010; SONI *et al.*, 2002) (TABELA 1).

TABELA 1 - ATIVIDADE ANTIMICROBIANA: CONCENTRAÇÃO MÍNIMA INIBITÓRIA (MIC) DO METILPARABENO PARA DIFERENTES MICRORGANISMOS

Microrganismo	MIC - % de metilparabeno
Bactéria gram-negativa	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0.200
<i>Escherichia coli</i>	0.100
<i>Klebsiella aerogenes</i>	0.075
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0.100
<i>Serratia marcescens</i>	0.075
<i>Proteus vulgaris</i>	0.100
<i>Salmonella enteritidis</i>	0.150
<i>Salmonella typhi</i>	0.150
Bactéria gram-positiva	
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.150
<i>Streptococcus haemolyticus</i>	0.100
<i>Bacillus cereus</i>	0.075
<i>Bacillus subtilis</i>	0.100
<i>Lactobacillus buchneri</i>	0.100
Leveduras	
<i>Candida albicans</i>	0.100
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0.100
Fungos	
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	0.100
<i>Penicillium digitatum</i>	0.050
<i>Rhizopus nigricans</i>	0.050

FONTE: CLARIANT (2010) Modificado pelo autor (2013)

Ele possui uma boa solubilidade em etanol, propilenoglicol e acetona. Apesar disso, sua solubilidade em água é baixa, mas suficiente para garantir uma concentração efetiva na fase aquosa (TABELA 2). Como a replicação microbiana ocorre na fase aquosa, a quantidade de parabeno dissolvida nesta fase geralmente determina a eficácia do conservante (SONI *et al.*, 2002).

TABELA 2 - SOLUBILIDADE DO METILPARABENO EM DIFERENTES SOLVENTES

Solvente	% (P/P)
Água 10°C	0.13
Água 25°C	0.25
Água 80°C	3.1
Água 100°C	6.2
Acetona	39
Metanol	37
Etanol	32
Propilenoglicol	26
Glicerol	3.3
Óleos vegetais	2.4
Parafina líquida	0.02

FONTE: CLARIANT (2010) Modificado pelo autor (2013)

Este biocida pode ser incorporado na formulação de diferentes maneiras. Como a maioria das fórmulas possui uma grande quantidade de água, e sua solubilidade em água aumenta com o acréscimo da temperatura, o ideal é primeiro aquecer a água entre 60 e 100°C para posteriormente adicionar o conservante. Outra forma de incorporação é solubilizá-lo em componentes lipofílicos, introduzindo-o na fase oleosa com aquecimento antes de qualquer processo de emulsificação. Da mesma forma, como é solúvel em solventes orgânicos polares, ainda existe a opção de preparar uma solução à 32% de metilparabeno em etanol por exemplo, para posteriormente adicionar na formulação. É importante ressaltar que sua baixa solubilidade em água não afeta sua atividade microbiológica (CLARIANT, 2010).

O método de incorporação do conservante nas formulações ou a ordem em que é adicionado pode alterar sua atividade. Por exemplo, ao interagir diretamente com polisorbatos e derivados de celulose, proteínas e lectinas, o metilparabeno pode realizar ligações de hidrogênio, reduzindo sua atividade. Também ocorre a diminuição de sua atividade antimicrobiana na presença de macromoléculas e alguns tensoativos não-iônicos, usualmente empregados em formulações de cremes (KURUP *et al.*, 1995).

Alguns estudos relatam que este parabeno pode apresentar atividades semelhantes a do hormônio estrogênio, o que aumentaria as chances de desenvolvimento do câncer de mama. Porém, pesquisas demonstraram que os parabenos não se acumulam nos tecidos e possuem atividade mais de mil vezes menor do que o estrogênio, sendo, então, seguros para uso (SONI *et al.*, 2005).

3.1.2 PROPILPARABENO

O propilparabeno, ou Nipasol, é um éster do ácido p-hidroxibenzóico produzido pela esterificação ácido com o n-propanol, que se apresenta na forma de pequenos cristais incolores ou brancos, sem praticamente nenhum odor ou gosto. Sozinho ou em combinação, é utilizado em todas as categorias de formulações cosméticas (SONI *et al.*, 2000).

Quanto à sua estabilidade, é quimicamente estável, não é volátil e é resistente à hidrólise em água quente e fria e também em soluções ácidas. Apesar de sua hidrólise ocorrer em pH 7, é altamente estável a variações de pH, mantendo sua efetividade entre pH 4,5 e 7,5. Este biocida mantém sua atividade em presença de gomas, mucilagens, gorduras e óleos (SONI *et al.*, 2000, CLARIANT, 2003).

O método de incorporação na fórmula é similar ao do metilparabeno. Como ele é solúvel na maioria dos óleos, ceras, alcoóis graxos e emulsionantes, mas apresenta solubilidade relativamente baixa em água, o ideal é primeiro aquecer a água entre 60 e 100 °C para posteriormente adicionar o conservante, ou também pode ser facilmente solubilizado em componentes lipofílicos, podendo ser introduzido nas formulações pela adição do mesmo na fase oleosa com aquecimento antes de qualquer processo de emulsificação. Além disso, como é solúvel em solventes orgânicos polares, ainda existe a opção de preparar uma solução à 50% de propilparabeno em etanol por exemplo, para posteriormente adicionar na formulação. Aqui também é importante ressaltar que sua baixa solubilidade em água não afeta sua atividade microbiológica (TABELA 3) (CLARIANT, 2003).

TABELA 3 - SOLUBILIDADE DO PROPILPRABENO EM DIFERENTES SOLVENTES

Solvente	% (P/P)
Água 10°C	0.018
Água 25°C	0.04
Água 80°C	0.45
Água 100°C	0.7
Acetona	51
Metanol	50
Etanol	50
Propilenoglicol	29
Glicerol	1.0
Óleos vegetais	1.4
Parafina líquida	0.033

FONTE: CLARIANT (2003) Modificado pelo autor (2013)

Além de ser um bom inibidor de crescimento de fungos, vem sendo usado por mais de meio século e possui amplo espectro de atividade antimicrobiana, incluindo também bactérias gram-positivas, gram-negativas, sendo particularmente efetivo em baixas concentrações de uso (TABELA 4). Apresenta baixa toxicidade, não sendo irritante para os olhos, pele e mucosa na concentração indicada de uso. Sob as regulações do FDA e da ANVISA, sua concentração máxima de uso permitida é de 1,0% (SONI *et al.*, 2000; CLARIANT, 2003).

TABELA 4 - ATIVIDADE ANTIMICROBIANA: CONCENTRAÇÃO MÍNIMA INIBITÓRIA (MIC) DO PROPILPARABENO PARA DIFERENTES MICRORGANISMOS

Microrganismo	MIC - % de propilparabeno
Bactéria gram-negativa	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0.080
<i>Escherichia coli</i>	0.040
<i>Klebsiella aerogenes</i>	0.040
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0.025
<i>Serratia marcescens</i>	0.040
<i>Proteus vulgaris</i>	0.025
<i>Salmonella enteritidis</i>	0.040
<i>Salmonella typhi</i>	0.060
Bactéria gram-positiva	
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.040
<i>Streptococcus haemolyticus</i>	0.040
<i>Bacillus cereus</i>	0.025
<i>Bacillus subtilis</i>	0.025
<i>Lactobacillus buchneri</i>	0.025
Leveduras	
<i>Candida albicans</i>	0.013
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0.013
Fungos	
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	0.020
<i>Penicillium digitatum</i>	0.006
<i>Rhizopus nigricans</i>	0.013

FONTE: CLARIANT (2003) Modificado pelo autor (2013)

3.2 COMPOSTOS FENÓLICOS

Dentre os compostos fenólicos, destacamos o fenoxietanol e o álcool benzílico, cujas estruturas são apresentadas na FIGURA 4.



FIGURA 4 - ESTRUTURA MOLECULAR DO FENOXIETANOL E DO
 ÁLCOOL BENZÍLICO
 FONTE: Conservantes, 2007.

3.2.1 FENOXIETANOL

O fenoxietanol é um líquido ligeiramente viscoso, incolor e de baixo odor aromático. Além disso, tem boa solubilidade em água (2,4 g/100 mL a 20 ° C), e é altamente solúvel em álcool, éter, acetona, glicerol, propilenoglicol, soluções de hidróxido de sódio, e pouco solúvel em óleos minerais. Apresenta também compatibilidade com outras matérias-primas, como tensoativos catiônicos e aniônicos (CLARIANT, 2003).

É um produto estável em condições normais de temperatura e de pressão, bem como na presença de ácidos e bases, suportando temperaturas de até 80°C e pH de 3 a 8,5 (CLARIANT, 2003). Possui boa compatibilidade com tensoativos aniônicos, como sulfatos, éter sulfatos e sulfosucinatos, e mantém sua atividade em presença de proteínas (SCHULKE; MAYR GMBH, 2010). Entretanto, tensoativos não iônicos podem conduzir a uma redução de sua eficácia (ABRUTYN, 2010).

Ele pode ser facilmente incorporado nas formulações, uma vez que também é solúvel em diversos ingredientes lipossolúveis. Assim, pode ser adicionado

diretamente em surfactantes, sem aquecimento, e também em emulsões antes ou após a preparação da emulsão (CLARIANT, 2003).

Este biocida apresenta um amplo espectro de ação contra microorganismos, mas é mais efetivo contra bactérias gram-negativas, principalmente *Pseudomonas aeruginosa* numa concentração mínima inibitória de 0,32% (KABARA, 1984). Em maiores concentrações, combate também organismos gram-positivos, como *Staphylococcus aureus* (numa concentração de pelo menos 0,85%) e leveduras, como *Candida Albicans* (a 0,54%) (HALL, 1981; MITCHELL *et al.*, 1993; FLORES *et al.*, 1997). O fenoxietanol é também eficaz como um conservante de amplo espectro quando usado em combinação com outros conservantes, como os parabenos (WILKINSON; MOORE, 1982) (QUADRO 2).

Bactérias (gram-positivo)	MIC	Bactérias (gram-positivo)	MIC	Leveduras	MIC
<i>Burkholderia cepacia</i>	1,00	<i>Bacillus subtilis</i>	1,00	<i>Candida albicans</i>	0,32
<i>Enterobacter cloacae</i>	0,32	<i>Staphylococcus aureus</i>	0,75	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0,25
<i>Escherichia coli</i>	0,32	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0,64		
<i>Proteus vulgaris</i>	0,75			Fungos	MIC
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,00			<i>Aspergillus niger</i>	0,25
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1,50			<i>Penicillium funiculosum</i>	0,06
<i>Pseudomonas putida</i>	0,32			<i>Trichoderma virens</i>	0,25
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	0,32				

QUADRO 2 - ATIVIDADE ANTIMICROBIANA: CONCANTRACAO MINIMA INIBITORIA (MIC) DO FENOXIETANOL PARA DIFERENTES MICRORGANISMOS
 FONTE: SCHULKE; MAYR GMBH (2010).

Segundo Gilbert *et al.* (1976 e 1977), os quais estudaram a inibição do crescimento de *Escherichia coli* pelo fenoxietanol, o mecanismo de ação deste composto fenólico é aumentar a permeabilidade da membrana celular microbiana à íons de potássio, inibir a síntese de DNA e RNA, e indiretamente alterar o abastecimento de ATP e/ou precursores metabólicos.

O fenoxietanol é aprovado no Brasil, União Europeia e Japão em concentração máxima de 1%, sem restrições para todas as aplicações de *personal care* (CLARIANT, 2003).

3.2.2 ÁLCOOL BENZILICO

O álcool benzílico ou fenilmetanol é um composto orgânico aromático líquido que possui fórmula C_7H_8O . Além de ser usado como conservante em cosméticos, pode ser utilizado para outros fins específicos, respeitando-se as concentrações e limites estabelecidos em outras listas, quando houver. É utilizado como componente de fragrâncias e aromas, solvente, e também como conservante para produtos oftálmicos, injetáveis, orais e tópicos (SCOGNAMIGLIO *et al.*, 2012).

Este conservante possui propriedades letais para microrganismos pela sua capacidade de alterar as membranas e inibir a síntese de proteínas (LUCHINNI *et al.*, 1990). É parcialmente solúvel em água (4g/100mL) e completamente solúvel em alcoóis e éter dietílico. É mais efetivo contra bactérias gram-positivas, mas também atua contra gram-negativas e leveduras, e é pouco efetivo para bolores (HOLZL, *et al.*, 2004; WOODRUFF, 2004; CONSERVANTES, 2007).

Segundo a resolução da ANVISA (RDC Nº 162) sua concentração máxima de uso é 1,0% para aplicações em cosméticos.

Apresenta incompatibilidade com tensoativos não-iônicos e agentes oxidantes, e atua em pH ótimo de aproximadamente 5,0 (ABRUTYN, 2010).

4 METODOLOGIA

Esta pesquisa foi desenvolvida em duas etapas: pesquisa bibliográfica e pesquisa metodológica.

4.1 PESQUISA BIBLIOGRAFICA

A pesquisa bibliográfica foi desenvolvida a partir de um minucioso levantamento bibliográfico nos principais bancos de dados de estudos indexados em fontes nacionais e internacionais como: Pubmed, Lilacs, Scielo, Periódicos Capes e na literatura biomédica.

4.2 PESQUISA METODOLÓGICA

O desenvolvimento das atividades experimentais foi realizado em parceria com o Grupo Boticário no setor de Desenvolvimento de Produtos, Laboratório de Microbiologia e de Desenvolvimento Analítico.

Os produtos adotados como modelo neste estudo foram emulsões tipo óleo em água, sem fragrâncias nem corantes. Todas as matérias-primas utilizadas foram previamente analisadas e aprovadas quanto aos parâmetros de qualidade físico-químicos e microbiológicos.

Foram preparadas doze formulações, utilizando as duas emulsões base e variando somente as substâncias testadas (conservantes), conforme a metodologia a seguir.

As porcentagens de conservantes aplicadas foram determinadas tomando como máximas aquelas já conhecidas como sendo efetivas nessas bases cosméticas.

Todas as formulações foram manipuladas pelo mesmo operador em um reator marca BECOMIX que possui um homogeneizador ao fundo do reator e uma barra agitadora de aço inox (FIGURA 5). A pesagem dos ingredientes foi realizada em uma balança *Explorer®Pro* com sensibilidade de duas casas decimais utilizando-se o mesmo processo de produção em todos os casos.

O processo de emulsificação foi feito com aquecimento das fases aquosa e oleosa até 75°C, onde o tempo de aquecimento da fase aquosa foi de aproximadamente 10 minutos e da fase oleosa, como foi realizado sobre uma chapa quente, aproximadamente 25 minutos. Durante todo o processo a ancora agitou o produto numa velocidade de 0,6 m/s, e o homogeneizador a 10 m/s. Quando totalmente fundida, a fase oleosa foi vertida sobre a aquosa, e o homogeneizador teve sua velocidade aumentada para 15m/s por aproximadamente 10 minutos. O tempo de resfriamento até 40°C foi de 20 minutos. Os 4 conservantes testados foram adicionados após a emulsificação numa temperatura abaixo de 40°C.



FIGURA 5 - REATOR DA MARCA BECOMIX EM QUE AS EMULSÕES FORAM PREPARADAS
FONTE: PACKEXPO

4.2.1 BASE 1

Essa emulsão foi constituída pelos seguintes ingredientes: AQUA, DISODIUM EDTA, GLYCERIN, ACRYLATES/C10-30 ALKYL ACRYLATE CROSSPOLYMER, TRIETHANOLAMINE, DICAPRYLYL ETHER, GLYCERYL STEARATE, CETYL ALCOHOL, BHT, MINERAL OIL, STEARIC ACID, DIMETHICONE, SORBITAN STEARATE, ALUMINIUM STARCH OCTENYLSUCCINATE, SODIUM ACRYLATE/SODIUM ACRYLOYLDIMETHYL TAURATE/ACRYLAMIDE COPOLYMER, POLYSORBATE 60, BUTYL METHOXYDIBENZOYLMETHANE, ETHYLHEXYL SALICYLATE, ETHYLHEXYL METHOXYCINNAMATE.

Nesta base foi estudado o sistema conservante fenoxietanol com álcool benzílico em diferentes concentrações, como mostra a TABELA 5.

TABELA 5 - CONCENTRAÇÕES DE CONSERVANTES APLICADAS NA BASE 1

Formulação	Fenoxietanol	Álcool benzílico
6	0,40%	0,40%
5	0,32%	0,32%
4	0,24%	0,24%
3	0,16%	0,16%
2	0,08%	0,08%
1	0% (controle negativo)	0% (controle negativo)

4.2.2 BASE 2

Essa emulsão foi constituída pelos seguintes ingredientes: AQUA, DISODIUM EDTA, GLYCERIN, ACRYLATES/C10-30 ALKYL ACRYLATE CROSSPOLYMER, TRIETHANOLAMINE, GLYCERYL STEARATE, CETYL ALCOHOL, BHT, MINERAL OIL, STEARIC ACID, DIMETHICONE, ALUMINIUM STARCH OCTENYLSUCCINATE, SODIUM ACRYLATE/SODIUM ACRYLOYLDIMETHYL TAURATE/ACRYLAMIDE COPOLYMER, POLYSORBATE 60, PROPYLENE GLYCOL, GLYCOL DIESTEARATE.

Nesta base foi estudado o sistema conservante fenoxietanol com parabenos em diferentes concentrações, como mostra a TABELA 6.

TABELA 6 - CONCENTRAÇÕES DE CONSERVANTES APLICADAS NA BASE 2

Formulação	Metilparabeno	Propilparabeno	Fenoxietanol
12	0,15%	0,05%	0,4%
11	0,012%	0,04%	0,32%
10	0,09%	0,03%	0,24%
9	0,06%	0,02%	0,16%
8	0,03%	0,01%	0,08%
7	0% (controle negativo)	0% (controle negativo)	0% (controle negativo)

4.2.3 CHALLENGE TEST

Logo após a aplicação dos conservantes, todas as amostras foram submetidas ao *challenge test*, o qual seguiu os critérios do CTFA e utilizou as bactérias padrões: *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Proteus mirabilis* (ATCC 15290), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027), *Burkholderia cepacia* (ATCC 25416), *Enterobacter cloacae* (CDC 3443), e levedura e fungo padrões: *Candida albicans* (ATCC 10231) e *Aspergillus niger* (ATCC 16404).

A ativação das cepas e o repique das mesmas foram realizados com estria em TSA (*trypticase soy agar*) incubado em estufa a $35^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas para as bactérias, em SAB (*Sabouraud Dextrose Agar*) em estufa a $26^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 5 dias para a levedura e estria em SAB inclinado por 5 dias para o bolor. A massa celular resultante foi recolhida em solução salina 0,85% estéril, e a concentração final desta suspensão de microrganismos ficou em torno de 10^8 UFC/ml para bactérias e 10^7 UFC/ml bolores e leveduras.

Assim, dois *pool's* de microrganismos foram preparados, um contendo todas as cepas de bactérias e outro contemplando o fungo e a levedura, e cada *pool* foi inoculado em 40 gramas de amostra. A incubação das placas foi feita a $35^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ por 48 horas (bactérias) e a $26^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ por 5 dias (fungo e levedura), e foi efetuada a reinoculação após 7 dias e outra após 14 dias do início do teste em cada amostra.

Como critério de avaliação da eficácia dos sistemas conservantes, também foi considerado o critério do Guia Microbiológico do CTFA (2007), que considera

eficiente aquele que apresentar uma redução de 99,99% de bactérias no sétimo dia após o inóculo ou reinóculo, com redução futura ou não crescimento nos demais dias de estudo, e também que apresentar uma redução de 90% de fungos e leveduras no sétimo dia, com redução futura ou não crescimento nos demais dias de estudo.

4.2.4 ESTUDO DE ESTABILIDADE

Para a avaliação da estabilidade foram seguidos os critérios recomendados pela ANVISA presentes no Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos, porém o estudo foi adaptado para viabilizar sua execução. As adaptações são as seguintes: as formulas não foram centrifugadas antes dos testes serem iniciados; as avaliações organolépticas realizadas foram aspecto, cor e odor, e as físico-químicas pH e viscosidade.

Conforme recomendação da ANVISA e com o objetivo de desafiar a estabilidade das emulsões com concentrações de conservantes reduzidas, alíquotas de 100g de cada formulação foram acondicionadas em frascos de vidro inerte e com tampas com boa vedação e submetidas a um estudo de estabilidade com a duração de 90 dias nas seguintes condições protegidas da incidência de luz: ambiente (temperatura de $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$); geladeira a $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$; estufa a $37 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e estufa a $50 \pm 2^{\circ}\text{C}$. As estufas tiveram sua umidade relativa controlada a 50%.

A leitura do tempo zero (t_0) foi realizada mais de 24 horas após a fabricação da emulsão, para garantir o resfriamento do produto e a acomodação estrutural da emulsão.

Nos 30^o, 60^o e 90^o dias foram realizadas novas leituras de pH e viscosidade das formulações, assim como novas análises das características organolépticas. As amostras foram retiradas das condições de exposição e armazenadas a temperatura de 23°C , sendo as leituras realizadas somente quando as amostras já estava nesta temperatura ambiente de 23°C .

4.2.5 AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS ORGANOLÉPTICOS

As características organolépticas determinam os parâmetros de aceitação do produto pelo consumidor, e o objetivo destas análises é garantir que possíveis alterações nos produtos não sejam perceptíveis pelos sentidos e não trarão perda na segurança ou eficácia do produto (BONTORIM, 2009).

Neste estudo os parâmetros analisados foram: aspecto, cor e odor da emulsão. Para a avaliação dos dois primeiros parâmetros foi realizada uma análise visual das amostras comparativa com o padrão estabelecido (amostra acondicionada a 4°C). A avaliação do odor também foi comparativa em relação ao padrão.

Segundo o Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos (ANVISA, 2004) o aspecto do produto deve se manter íntegro durante todo o teste enquanto cor e odor devem permanecer estáveis por, no mínimo, quinze dias de exposição à luz solar.

A avaliação do aspecto das amostras foi realizada através da observação direta no frasco de acondicionamento, buscando-se encontrar alterações macroscópicas como formação de estrias ou separação de fases. As amostras foram avaliadas periodicamente, nos 30^o, 60^o e 90^o dias de estudo, segundo critério estabelecido no estudo de estabilidade.

4.2.6 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

As análises físico-químicas de pH e viscosidade são importantes para avaliar alterações nas estruturas das emulsões que podem não ser percebidas nas avaliações organolépticas (MASMOUDI *et al.*, 2005).

As determinações de pH foram realizadas nas datas determinadas pelo estudo de estabilidade em pHmetro Mettler Toledo MP220, sempre após o ajuste do equipamento com soluções tampão pH 7,00 e 4,01 (Mettler-Toledo).

Já a leitura de viscosidade das amostras foi realizada em viscosímetro DV-II+ Brookfield, com *spindle* número 5, a 20 rpm, por 30 segundos, seguindo o

Procedimento Operacional Padrão do equipamento. Após cada período de incubação nas condições de estudo as amostras foram analisadas a 23°C.

5 RESULTADOS

5.1 AVALIAÇÃO ORGANOLÉPTICA

Na análise organoléptica realizada logo após o preparo de cada emulsão, o padrão encontrado foi: creme opaco, branco com odor característico da emulsão.

Durante o período de estudo todas as formulações mantiveram o mesmo aspecto e não houve separação de fases mesmo nas condições 37°C e 50°C, o que indica que as emulsões em testes são termodinamicamente estáveis.

5.2 AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA

5.2.1 pH

A razão para a determinação do pH das emulsões durante o estudo de estabilidade foi obter informações relativas à estabilidade química das formulas testadas. Segundo Masmoudi *et al.* (2005), uma diminuição nos valores encontrados pode indicar oxidação da fase oleosa com formação de cadeias oxidadas ou hidrólise de triglicerídeos com a formação de ácidos graxos livres.

Os resultados encontrados nas diferentes datas de leitura estão expostos nas TABELAS 7, 8, 9 e 10:

TABELA 7 - LEITURAS DE pH NO TEMPO ZERO

Formulação	PH
1	7,05
2	7,02
3	6,80
4	6,98
5	7,10
6	6,74
7	7,16
8	7,25
9	7,12
10	7,03
11	7,16
12	7,20

TABELA 8 - LEITURAS DE pH AOS 30 DIAS DE ESTUDO

Formulação	Ambiente	37°C	50°C	4°C
1	7,15	7,15	7,05	7,12
2	7,18	7,16	7,12	7,20
3	6,99	7,09	7,10	7,19
4	7,13	7,20	7,22	7,17
5	6,80	7,15	7,18	7,03
6	7,22	7,28	7,16	7,28
7	7,25	7,23	7,17	7,27
8	7,21	7,18	7,10	7,15
9	7,27	7,17	7,19	7,27
10	7,31	7,19	7,22	7,29
11	7,26	7,21	7,18	7,19
12	7,29	7,14	6,98	7,32

TABELA 9 - LEITURAS DE pH AOS 60 DIAS DE ESTUDO

Formulação	Ambiente	37°C	50°C	4°C
1	6,67	6,51	6,35	6,61
2	6,68	6,69	6,42	6,76
3	6,62	6,46	6,49	6,68
4	6,66	6,36	6,48	6,71
5	6,65	6,48	6,56	6,07
6	6,69	6,37	6,59	6,73
7	7,27	7,19	7,30	7,48
8	7,14	7,09	7,07	7,20
9	7,32	7,29	7,28	7,47
10	7,36	7,37	7,10	7,38
11	7,45	7,34	7,25	7,50
12	7,34	7,26	7,43	7,43

TABELA 10 - LEITURAS DE pH AOS 90 DIAS DE ESTUDO

Formulação	Ambiente	37°C	50°C	4°C
1	7,62	7,14	7,09	6,97
2	7,31	7,17	7,12	7,13
3	7,33	7,21	7,20	7,23
4	7,22	7,17	7,16	7,22
5	7,18	7,11	7,10	7,15
6	7,20	7,19	7,02	7,05
7	7,15	7,01	7,05	7,17
8	6,99	7,06	7,15	7,17
9	6,77	6,92	7,04	7,07
10	7,14	6,95	6,90	7,02
11	7,38	7,21	7,20	7,45
12	7,25	7,17	7,02	7,20

Os dados das tabelas acima indicam que os valores do pH das formulações não sofreram alterações significativas. Desta forma, as emulsões foram consideradas estáveis e não susceptíveis a variações nesta característica físico-química frente às condições estudadas, durante os 90 dias de teste.

Estas informações indicam ausência de contaminação microbiológica significativa e de geração de produtos de degradação de ingredientes capazes de alterar o pH das amostras (ROSSATO, 2010).

5.2.2 VISCOSIDADE APARENTE

As determinações de viscosidade foram realizadas com o objetivo de avaliar a estabilidade física das emulsões. Bontorim (2009) afirma que a redução nos valores de viscosidade indica desestabilização na estrutura da fórmula e que cada componente presente na formulação, seja ele ativo ou não, pode influenciar nesta variável.

Os resultados de viscosidade encontrados durante o estudo estão expostos nas TABELAS 11, 12, 13 e 14:

TABELA 11 - LEITURAS DE VISCOSIDADE APARENTE NO TEMPO ZERO

Formulação	Viscosidade (cP)
1	17000
2	17550
3	16000
4	15500
5	15100
6	16800
7	15760
8	16300
9	16500
10	15900
11	17850
12	17200

TABELA 12 - LEITURAS DE VISCOSIDADE APARENTE AOS 30 DIAS DE ESTUDO

Formulação	Ambiente	37°C	50°C	4°C
1	19500	22500	22600	18900
2	16550	21400	18300	16550
3	15450	21250	22150	15900
4	12350	12350	19700	12800
5	13150	19800	13400	20150
6	12800	21750	21800	12400
7	18100	19700	18750	18850
8	14300	17720	23200	16750
9	15750	19900	20700	17500
10	16800	19650	22050	18900
11	15800	15140	15800	15450
12	13180	14860	16160	15220

* Viscosidade expressa em cP (centiPoise)

TABELA 13 - LEITURAS DE VISCOSIDADE APARENTE AOS 60 DIAS DE ESTUDO

Formulação	Ambiente	37°C	50°C	4°C
1	17550	21000	21500	18450
2	16050	19650	20150	15950
3	16100	18650	20800	15550
4	12450	16850	17600	12400
5	12000	17550	19350	13300
6	12500	19150	18450	13100
7	15520	18200	15800	17000
8	14100	17180	19820	17050
9	14560	16780	16240	15120
10	15780	18080	15840	16720
11	12240	14220	15380	13320
12	12220	13580	14540	12540

* Viscosidade expressa em cP (centiPoise)

TABELA 14 - LEITURAS DE VISCOSIDADE APARENTE AOS 90 DIAS DE ESTUDO

Formulação	Ambiente	37°C	50°C	4°C
1	18150	21150	18450	18600
2	15800	20200	16100	16950
3	12000	18950	18600	16100
4	12600	17650	16650	13000
5	12600	18350	17050	13500
6	13200	17500	16800	14650
7	15280	17500	16360	17480
8	13600	16250	16550	16900
9	14260	15600	16680	15940
10	14500	16500	17340	16100
11	11820	13120	14720	12520
12	11980	13050	12350	12100

* Viscosidade expressa em cP (centiPoise)

A partir das tabelas acima, observa-se que durante do estudo ocorreram variações na viscosidade das formulações avaliadas. De maneira geral pode-se afirmar que enquanto a viscosidade se manteve quase constante nas condições ambiente e geladeira, com uma leve tendência de aumento de viscosidade nesta última condição, as amostras ganharam viscosidade nas condições de estufa (a 37°C 50°C).

Rossato (2010) afirma que frente ao calor as emulsões se tornam líquidas e as micelas se reorganizam de forma mais compacta, o que se reflete em um aumento na viscosidade da emulsão. Este fenômeno explica o aumento na viscosidade das formulações submetidas ao calor de 37°C e 50°C. Ainda segundo Rossato (2010), na geladeira as emulsões podem adquirir viscosidade devido a uma maior rigidez no sistema e diminuição da possibilidade de reorganização das micelas, o que justifica o leve aumento deste parâmetro nas amostras expostas à temperatura de 4°C.

5.3 AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DAS CONCENTRAÇÕES DE CONSERVANTES TESTADAS - CHALLENGE TEST

5.3.1 CHALLENGE TEST NA BASE 1

Para a Base 1, o controle negativo (fórmula 1- sem conservantes) foi reprovado no *challenge test* como já era esperado (GRÁFICO 1). As amostras 2, 3 e 4, cujo perfil de crescimento microbiológico está apresentado nos GRÁFICOS 2, 3 e 4, apresentaram um crescimento fora do padrão considerado seguro pela metodologia de análise de resultados utilizada, pois não apresentaram redução ou não crescimento de microrganismos após o 7º dia de experimento. A fórmula 2 não apresentou redução na contagem de microrganismos significativa em nenhum dia de estudo, na fórmula 3 houve crescimento de fungos e leveduras do 14º ao 21º dia, e na fórmula 4 do 7º ao 21º dia, sendo que nesta ultima ele foi muito acentuado.

Assim, a menor concentração que foi considerada eficaz no *challenge test* foi a testada na fórmula 5, ou seja, 0,32% de álcool benzílico e 0,32% de fenoxietanol (GRÁFICO 5). A partir do gráfico, observamos que até o sétimo dia de estudo houve redução na quantidade de micróbios e que a partir desse dia não houve crescimento, seguindo, desta forma, as normas do CTFA. A fórmula 6 também foi eficaz (GRÁFICO 6).

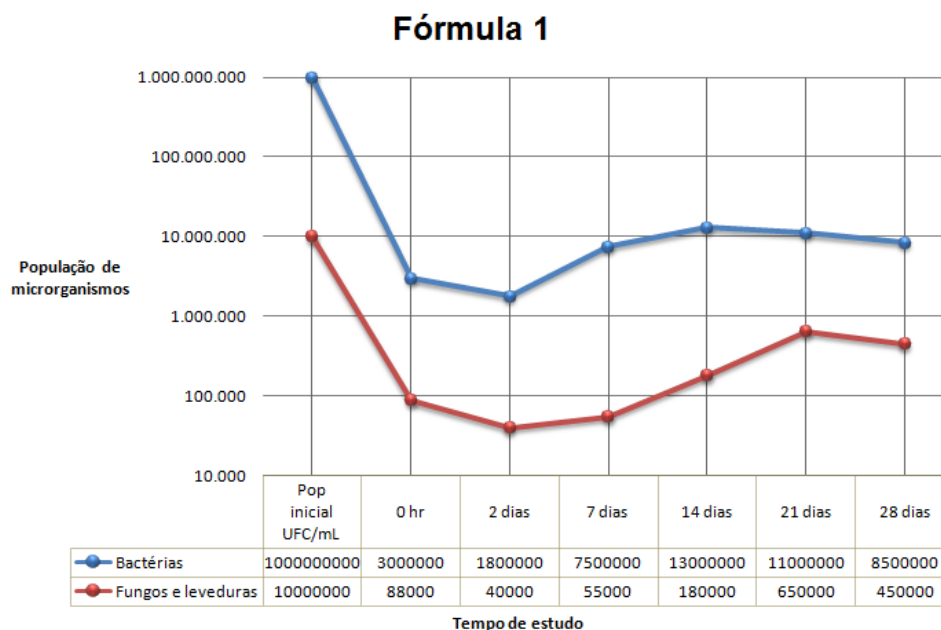


GRÁFICO 1 - PERFIL DE CRESCIMENTO MICROBIOLÓGICO DURANTE O PERÍODO DE 28 DIAS DE TESTE NA BASE 1 SEM CONSERVANTES

Fórmula 2

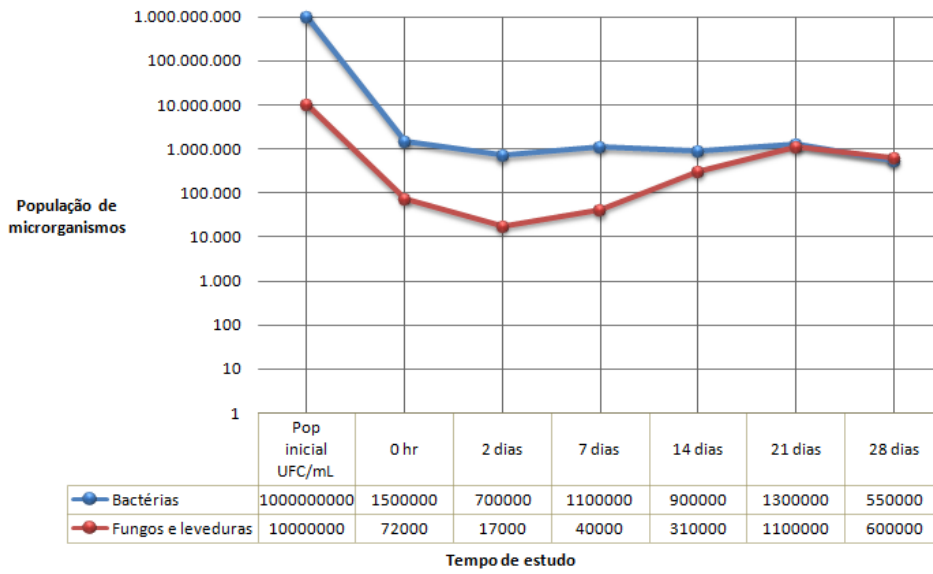


GRÁFICO 2 - PERFIL DE CRESCIMENTO MICROBIOLÓGICO DURANTE O PERÍODO DE 28 DIAS DE TESTE NA BASE 1 COM 0,08% DE ÁLCOOL BENZILICO E 0,08% DE FENOXIETANOL

Fórmula 3

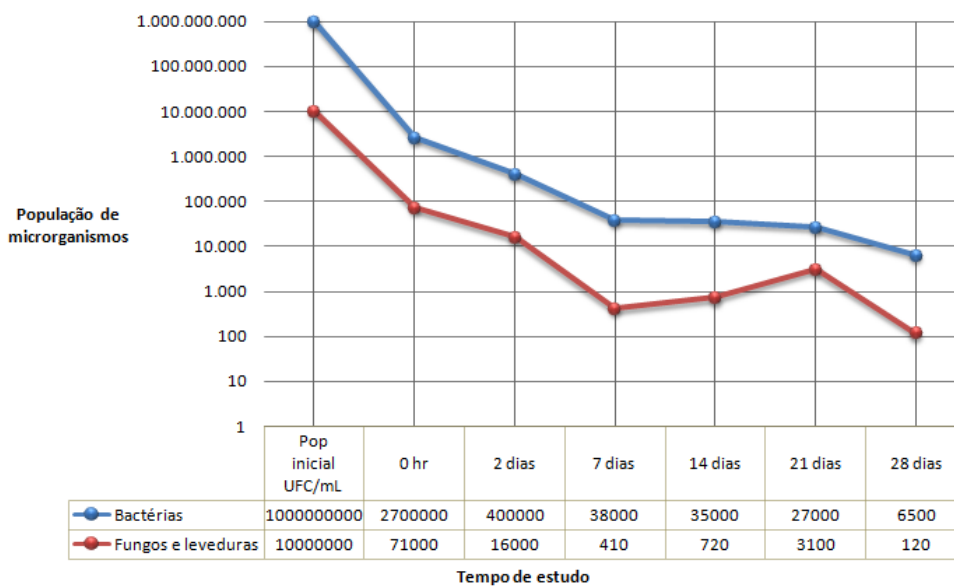


GRÁFICO 3 - PERFIL DE CRESCIMENTO MICROBIOLÓGICO DURANTE O PERÍODO DE 28 DIAS DE TESTE NA BASE 1 COM 0,16% DE ÁLCOOL BENZILICO E 0,16% DE FENOXIETANOL

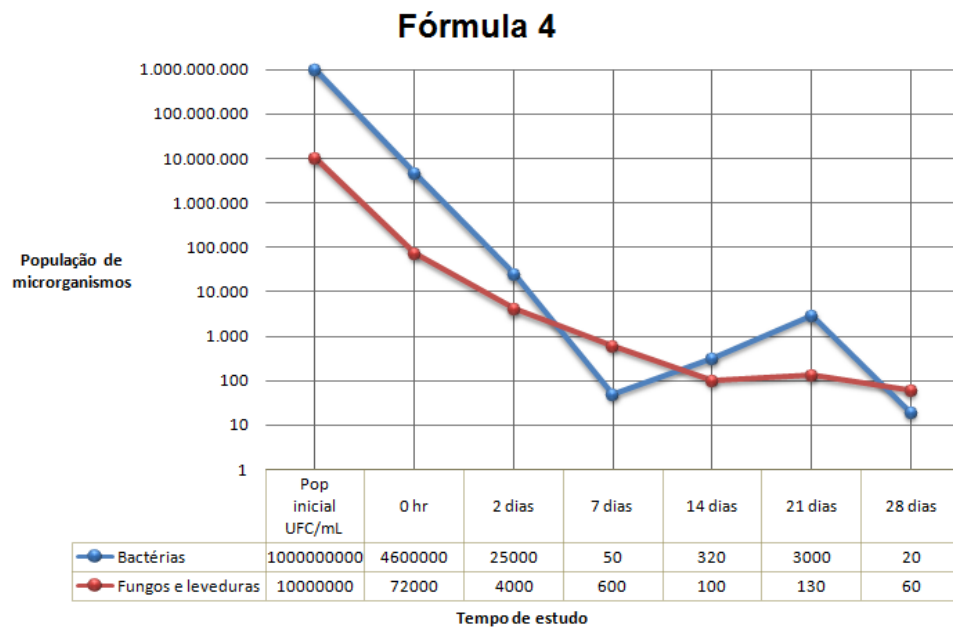


GRÁFICO 4 - PERFIL DE CRESCIMENTO MICROBIOLÓGICO DURANTE O PERÍODO DE 28 DIAS DE TESTE NA BASE 1 COM 0,24% DE ÁLCOOL BENZILICO E 0,24% DE FENOXIETANOL

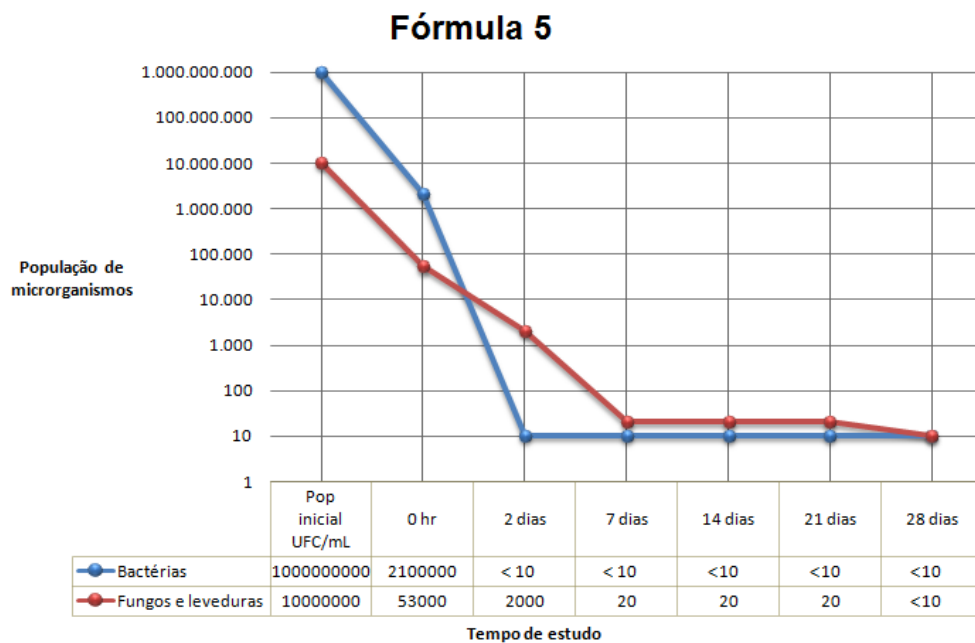


GRÁFICO 5 - PERFIL DE CRESCIMENTO MICROBIOLÓGICO DURANTE O PERÍODO DE 28 DIAS DE TESTE NA BASE 1 COM 0,32% DE ÁLCOOL BENZILICO E 0,32% DE FENOXIETANOL

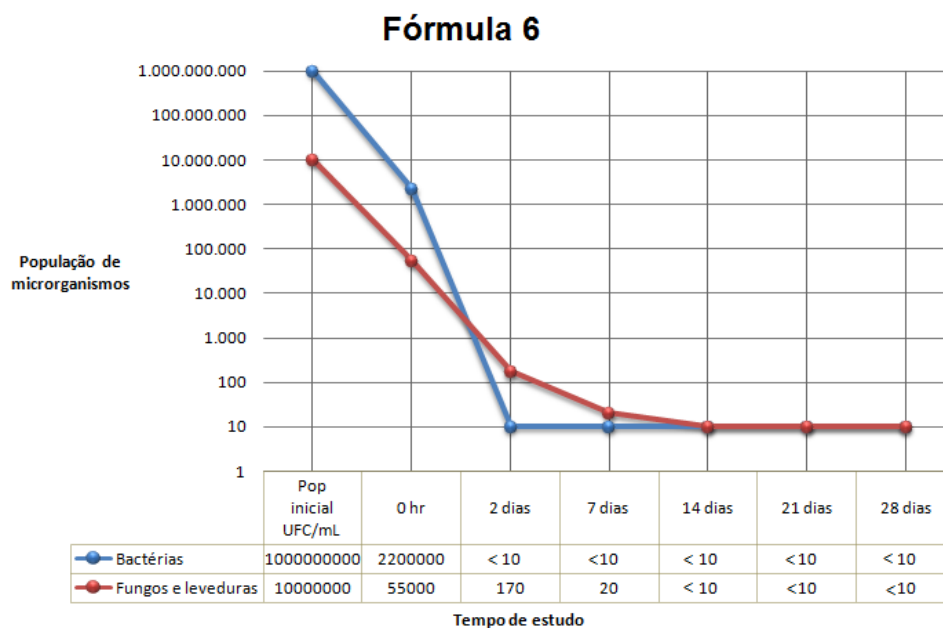


GRÁFICO 6 - PERFIL DE CRESCIMENTO MICROBIOLÓGICO DURANTE O PERÍODO DE 28 DIAS DE TESTE NA BASE 1 COM 0,40% DE ÁLCOOL BENZILICO E 0,40% DE FENOXIETANOL

5.3.2 CHALLENGE TEST NA BASE 2

Para este sistema conservante na base 2, o controle negativo (sem conservantes) também foi reprovado no *challenge test* como já era esperado (GRÁFICO 7). Neste caso, a menor concentração testada de conservantes passou no teste, ou seja, 0,01% de propilparabeno, 0,03% de metilparabeno e 0,08% de fenoxietanol se mostraram em conjunto um sistema eficaz no controle de crescimento microbiológico nesta base, assim como as outras concentrações testadas (fórmulas 8, 9, 10, 11 e 12, representados nos GRÁFICOS 8, 9, 10, 11 e 12 respectivamente). Da fórmula 9 em diante, todas a partir do 7º dia de experimento já apresentaram contagem menor que 10 UFC/mL de produto na contagem.

Fórmula 7

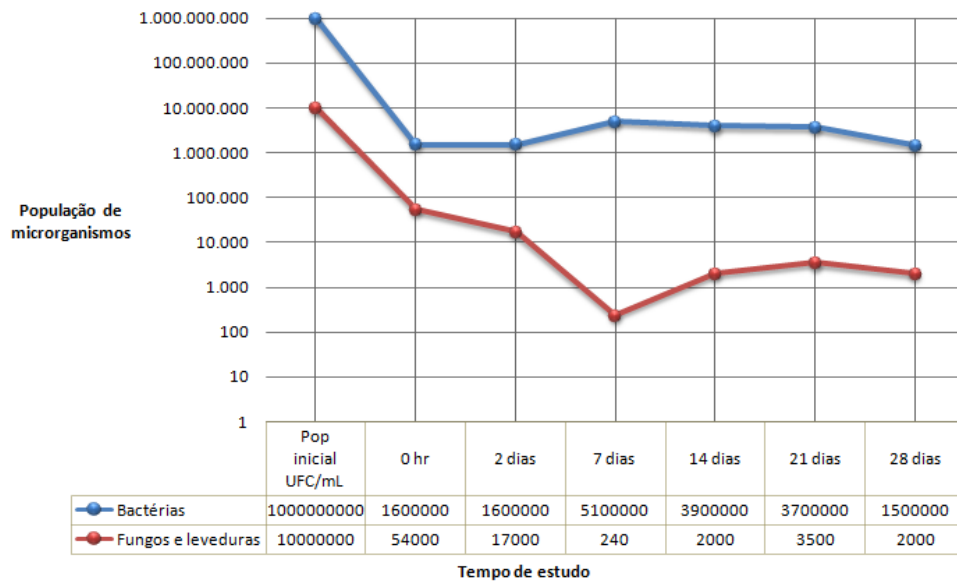


GRÁFICO 7 - PERFIL DE CRESCIMENTO MICROBIOLÓGICO DURANTE O PERÍODO DE 28 DIAS DE TESTE NA BASE 2 SEM CONSERVANTES

Fórmula 8

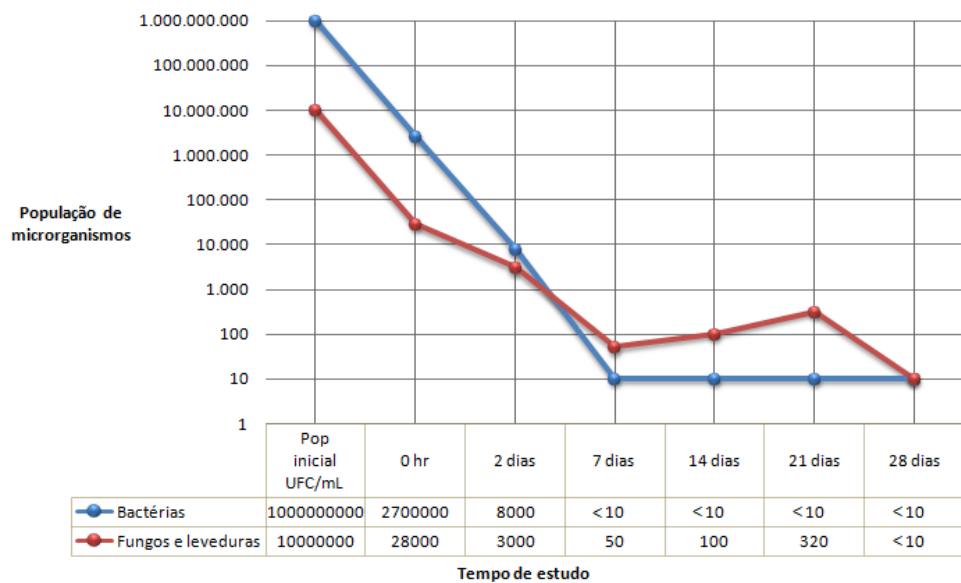


GRÁFICO 8 - PERFIL DE CRESCIMENTO MICROBIOLÓGICO DURANTE O PERÍODO DE 28 DIAS DE TESTE NA BASE 2 COM 0,01% DE PROPILPARABENO, 0,03% DE METILPARABENO E 0,08% DE FENOXIETANOL

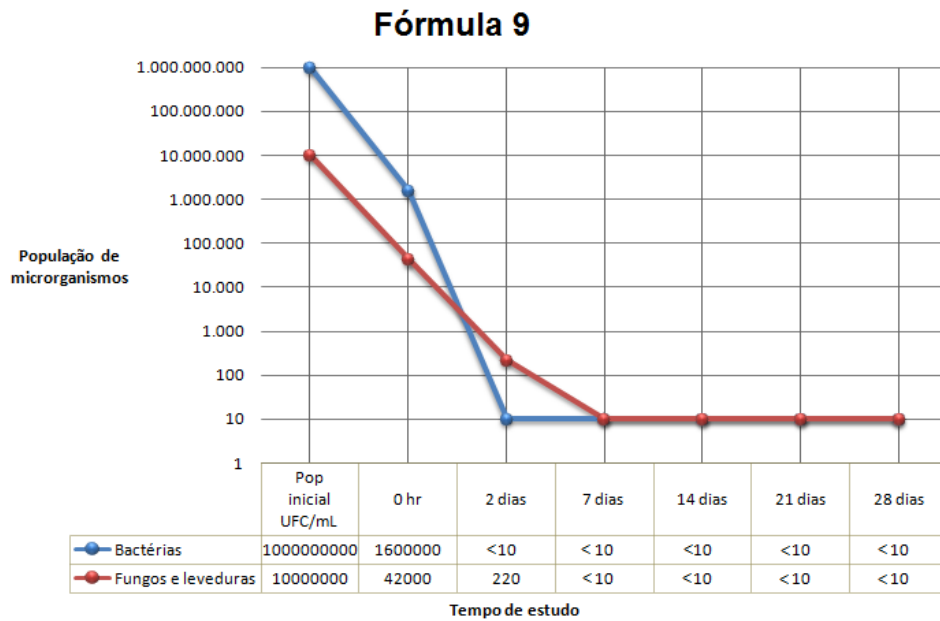


GRÁFICO 9 - PERFIL DE CRESCIMENTO MICROBIOLÓGICO DURANTE O PERÍODO DE 28 DIAS DE TESTE NA BASE 2 COM 0,02% DE PROPILPARABENO, 0,06% DE METILPARABENO E 0,16% DE FENOXIETANOL

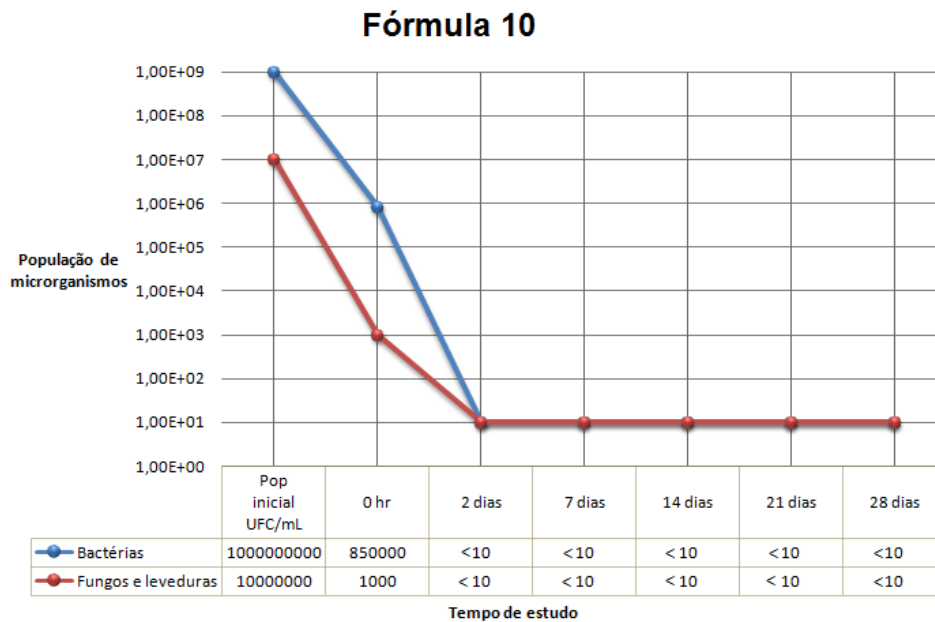


GRÁFICO 10 - PERFIL DE CRESCIMENTO MICROBIOLÓGICO DURANTE O PERÍODO DE 28 DIAS DE TESTE NA BASE 2 COM 0,03% DE PROPILPARABENO, 0,09% DE METILPARABENO E 0,24% DE FENOXIETANOL

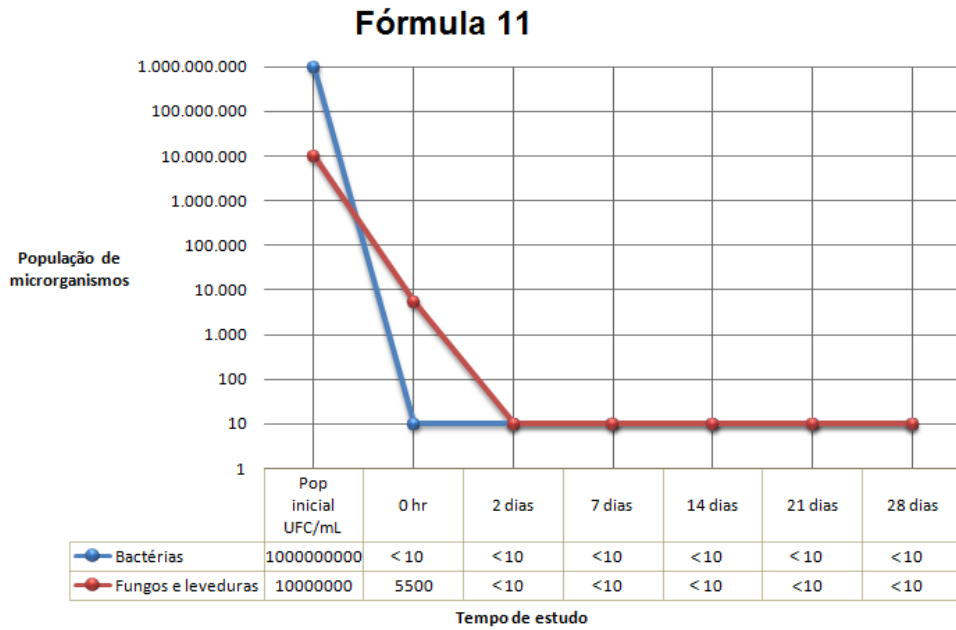


GRÁFICO 11 - PERFIL DE CRESCIMENTO MICROBIOLÓGICO DURANTE O PERÍODO DE 28 DIAS DE TESTE NA BASE 2 COM 0,04% DE PROPILPARABENO, 0,12% DE METILPARABENO E 0,32% DE FENOXIETANOL

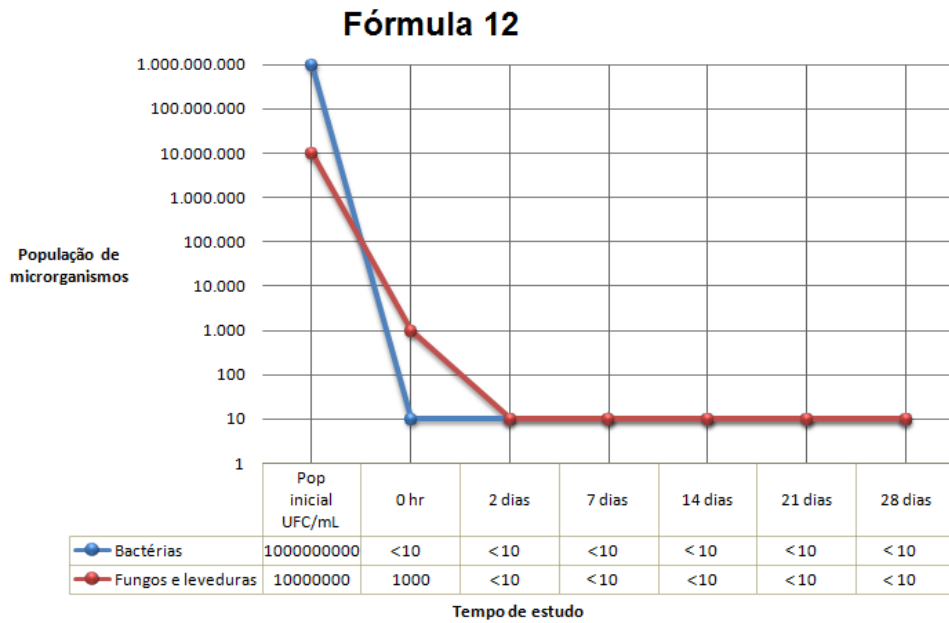


GRÁFICO 12 - PERFIL DE CRESCIMENTO MICROBIOLÓGICO DURANTE O PERÍODO DE 28 DIAS DE TESTE NA BASE 2 COM 0,05% DE PROPILPARABENO, 0,15% DE METILPARABENO E 0,40% DE FENOXIETANOL

Para validação dos resultados, foi enviado para teste também um sistema com concentrações menores do que a fórmula 8, que continha 0,005% de propilparabeno, 0,015% de metilparabeno e 0,04% de fenoxietanol, e um sistema com concentrações maiores que a fórmula 8 e menores que a amostra 9, que continha 0,015% de propilparabeno, 0,045% de metilparabeno e 0,12% de fenoxietanol, além de uma replicata da fórmula 8. O primeiro sistema não passou no teste, e o segundo e a replicata da amostra 8 passaram no teste, o que confirma que as concentrações testadas na fórmula 8 são as menores recomendadas para a base 2.

É sabido que os parabenos apresentam maior eficácia quando associados a outras classes de conservantes. E talvez esse seja um dos motivos pelo qual os testes que foram realizados na base 2, que utilizou parabenos e fenoxietanol, apresentou bom desempenho no controle do crescimento microbiológico dessa fórmula.

Abrutyn (2010), embora não tenha descrito os dados técnicos, afirmou que filtros solares UV podem desativar conservantes doadores de formol. Porém, nenhuma informação a respeito disso foi encontrada referente a outros tipos de conservantes. A base 1 possui filtros solares químicos, e exigiu uma concentração relativamente maior de conservantes para garantir eficácia no *challenge test*. Em contrapartida, a base 2, que não possui filtros solares em sua formulação, apresentou bons resultados no teste de desafio já em baixas porcentagens de conservantes. Esse fato indica a possibilidade dos filtros solares estarem inativando o fenoxietanol e o álcool benzílico.

Segundo a literatura, os quatro conservantes apresentam incompatibilidade com tensoativos não-iônicos, e esse estudo trabalhou com bases possuem esse tipo de tensoativo em sua formulação (CLARIANT, 2003; KURUP *et al.*, 1995; ABRUTYN, 2010). A base 1, que necessitou de uma concentração maior de conservantes, possui 4,3% de tensoativos não iônicos em sua composição, já a base 2 possui 3,72%. Isso também pode indicar uma interferência desses tensoativos na ação dos conservantes.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho foi motivado pela necessidade da indústria cosmética em avaliar a possibilidade de reduzir a concentração de conservantes nas formulações cosméticas sem que a eficácia do sistema conservante seja diminuída, de modo a reduzir o potencial alergênico e irritante, e o custo dos produtos acabados.

Os conservantes empregados como foco do estudo, quando em associação, possuem amplo espectro de ação.

Foram testados quatro diferentes compostos, que, segundo a literatura, apresentam a capacidade de proteger os produtos contra contaminações microbiológicas. Para avaliar este potencial foram testadas doze formulações, submetidas a estudo de estabilidade, concomitantemente a análises organolépticas, físico-químicas, e a teste de desafio do sistema conservante.

Os resultados obtidos indicam que:

- Os resultados das avaliações organolépticas de aspecto, cor e odor não indicaram alterações significativas das emulsões ao longo do estudo, refletindo estabilidade das mesmas.

- Os resultados referentes às determinações dos valores de pH e viscosidade também não apresentaram diferenças significativas durante o estudo.

- Os resultados do *challenge test* mostraram que o emprego de porcentagens reduzidas de conservantes, quando boas práticas de fabricação são adotadas, é uma alternativa viável na busca de otimização da fórmula neste quesito, de forma a trazer ganhos para as indústrias cosméticas, como redução do custo e também por garantir um menor potencial alergênico aos produtos. Neste estudo, as menores concentrações consideradas eficazes e recomendadas para uso foram as aplicadas nas fórmulas 5 (referente à base 1) e 8 (referente à base 2). Porém, não é possível expandir a aplicação para outros tipos de fórmulas sem que sejam realizados novos testes, visto a relevância de cada ingrediente da fórmula no crescimento microbiano.

REFERÊNCIAS

ABRUTYN, E.S. Optimizing Formula Preservation. **Cosmetics & Toiletries**. 2010. v.125. Disponível em: <<http://www.cosmeticsandtoiletries.com/formulating/function/preservatives/85519567.html>>. Acessado em: 04/08/2013.

AULTON, M. E. **Delineamento de Formas Farmacêuticas**. 2ª edição, Porto Alegre: Artmed, 2005.

BECHER, P. **Emulsiones. Teoria y Pratica**. 2ª Edição. Madrid: Blume, 1972.

BONTORIM, G. **Estudo de estabilidade de emulsão cosmética utilizando reologia e técnicas convencionais de análise**. 74f. Dissertação (Mestrado) - Setor de Ciências Exatas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Agência Nacional de Vigilância Sanitária: **Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos, maio de 2004**. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/divulga/public/series/cosmeticos.pdf>>. Acesso em: 13/09/2010.

BRASIL. Lei n. 6260, de 23 de setembro de 1976. Dispõe sobre a vigilância sanitária a que ficam sujeitos os medicamentos, as drogas, os insumos farmacêuticos e correlatos, cosméticos, saneantes e outros produtos, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 23 set 1976. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 25/09/2013.

BRASIL. RDC n. 481, de 23 de setembro de 1999. Estabelece os parâmetros de controle microbiológico para os produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes conforme anexo dessa Resolução. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 27 set. 1999. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 25/09/2013.

BRASIL. RDC n. 162, de 11 de setembro de 2001. Estabelece a Lista de Substancias de Ação Conservante para Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 12 set 2001. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 25/09/2013.

BRASIL. RDC n. 211, de 14 de julho de 2005. Estabelece a Definição e a Classificação de Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes, conforme Anexo I e II desta Resolução e dá outras definições. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 18 jul 2005. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 25/09/2013.

CONSERVANTES. Revista Cosméticos & Perfumes. p. 29-52. 2007.Nº 44 Editora: Insumos. Disponível em: <http://www.insumos.com.br/cosméticos_e_perfumes/artigos/conservantes_n%2044.pdf>. Acesso em: 17/04/2013

CLARIANT. **Phenoxetol®. Conservante para a indústria cosmética.** Functional Chemicals Division. 2003. Disponível em: <<http://www.clariant.com>>. Acesso em: 18/10/2013. Relatório técnico.

CLARIANT. **Nipazol® M. Conservante para a indústria cosmética.** Functional Chemicals Division. 2003. Disponível em: <<http://www.clariant.com>>. Acesso em: 18/10/2013. Relatório técnico.

CLARIANT. **Nipagin™ M. Conservante para a indústria cosmética.** Functional Chemicals Division. 2010. Disponível em: <<http://www.clariant.com>>. Acesso em: 18/10/2013. Relatório técnico.

CRINNION, W.J. Toxic effects of the easily avoidable phthalates and parabens. **Alternative Medicine Review.** v. 15 (3), p. 190-196, 2010.

DOS SANTOS, L. V. **Emulsificantes – modo de ação e utilização nos alimentos.** 39 f. Trabalho de Graduação (Disciplina de Seminários em Alimentos - Curso de Bacharelado em Química de Alimentos, Departamento de Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2008.

ENVIRONMENTAL WORKING GROUP'S SKIN DEEP COSMETIC SAFETY DATABASE. USA: Environmental Work Group. 2007-2013. Disponível em: <<http://www.cosmeticsdatabase.com/research>>. Acessado em: 20/04/2013.

FERNANDES, J.P.S.; SAVINO, G.; AMARANTE A.C.G. **Estudo das Relações Entre Estruturas e Atividade de Parabens: Uma Aula Prática.** Química Nova, Vol. XY, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Presbiteriana Mackenzie, São Paulo, 2013.

FLORES, M.; MORILLO, M.; CRESPO, M.L. Deterioration of Raw Materials and Cosmetic Products by Preservative Resistant Microorganisms. International Biodeterioration and Biodegradation. **Elsevier Science Limited.** v. 40, p. 157-160, 1997.

GILBERT, P., BEVERIDGE, E.G., and CRONE, P.B. The action of phenoxyethanol upon respiration and dehydrogenase enzyme systems in *Escherichia coli*. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**. 51 f. 1976

GILBERT, P., BEVERIDGE, E.G., and CRONE, P.B. Effect of phenoxyethanol on the permeability of *Escherichia coli* NCTC 5933 to inorganic ions. **Microbios**. p. 17-26, 1977.

GILBERT, P., BEVERIDGE, E.G., and CRONE, P.B. The lethal action of 2-phenoxyethanol and its analogues upon *Escherichia coli* NCTC 5933. **Microbios**. p. 125-41, 1977.

GONÇALVES, S. D. Tendências em sistemas preservantes. **Cosmetics & Toiletries**, v.19, n.4, p.48-50, 2007.

HALL, A.L. Phenoxyethanol cosmetically acceptable preservative. **Cosmetics & Toiletries**. 1981.

HOLMBERG, K.; JONSSON, B.; KRONBERG, B.; LINDMAM, B. **Surfactants and polymers in aqueous solution**. 2ª Edição. New York: John Wiley & Sons Ltd., 2002.

HOLZL, W.; KOPPOLD, J.; MARQUAIS-BIENEWALD, S.; PREUSS/CIBA SPECIALTY CHEMICALS HOLDING INC. **Benzyl alcohol derivatives and their use as antimicrobial agents**, USA, EP 1485339 A2, 19 marco 2002, 15 dezembro 2004. Disponível em: <<http://www.google.com.br/patents/EP1485339A2?cl=em&dq=benzyl+alcohol+antimicrobial&hl=ptBR&sa=X&ei=6bVsUeC2HoHq8gTYx4CADQ&ved=0CDwQ6AEwAQ>>. Acesso em: 19/04/2013.

KABARA, J.J. **Cosmetic and Drug Preservation: Principles and Practice**. 1ª edição. Nova Iorque: Marcel Dekker, 1984.

KAMARU, K.; SUKHAREV, S. The membrane lateral pressure-perturbing capacity of parabens and their effects on the mechanosensitive channel directly correlate with hydrophobicity. **Biochemistry**. v. 47, p. 10540-10550, 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18795793>>. Acessado em: 25/06/2013.

KROWKA, J.F.; BAILEY, J.E. M3. A method for preservation testing of water-miscible personal care products. In: CTFA Microbiology Guidelines. **CTFA Technical Guidelines**, 2007. p. 189-197.

KURUP, T.R.R.; WAN, L.S.C; CHAN, L.W. Interaction of preservatives with macromolecules. Part II. Cellulose Derivatives. **Pharmaceutics Acta Helvetiae**. p. 187-193, 1995.

LERANOZ, S. Conservantes Cosméticos. **Offarm**. v. 21, p.74-78, 2002.

LUCCHINI, J. J.; CORRE, J.; CREMIEUX, A. Antibacterial activity of phenolic compounds and aromatic alcohols. **Research in Microbiology**. v. 141, p. 499-510, 1990. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0923250890900752>>. Acesso em: 19/04/2013.

MA, Y.; MARQUIS, R.E. Irreversible Paraben Inhibition of glycolysis by *Streptococcus mutans* GS-5. **Letters in Applied Microbiology**. v. 5, p. 329-33. 1996. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8987716>>. Acessado em: 25/06/2013.

MASMOUDI, H.; DREAL, Y.L.E.; PICCERELLE, P.; KIRSTER, J. The evaluation of cosmetics and pharmaceuticals emulsions aging process using techniques and a new method: FTIR. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 289, p.117-131, 2005.

METILPARABENO. Disponível em: <<http://qnint.s bq.org.br/qni/>>. Acesso em: 16/10/2013.

MINCEA, M. M.; LUPȘA, I. R.; CINGHIȚĂ, D. F.; RADOVAN, C. V.; TALPOS, I., OSTAFE. Determination of methylparaben from cosmetic products by ultra performance liquid chromatography. **Journal of the Serbian Chemical Society**. p. 669–676, 2009.

MITCHELL, P.; POWLES, REGE, K.; TRELEAVEN, J.; CATOVSKY, D.; MEHTA, J.; JAMESON, B. Phenoxyethanol is effective topical therapy of Gram-negative cellulitis in neutropenic patients. **Journal of Hospital Infection**. v. 25, p. 53-56, 1993.

NES, F.F; EKLUND, T. The Effect of Parabens on DNA, RNA and protein synthesis in *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. **The Journal of Applied Bacteriology**. v. 2, p. 237-42, 1983. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6189812>>. Acessado em: 25/06/2013.

OS ANTIOXIDANTES. *Food ingredients* Brasil. N 06 - 2009. Disponível em: <www.revista-fi.com>. Acesso em: 29/10/2013.

PACKEXPO. Disponível em: <http://my.packexpo.com/2013/Public/Booth.aspx?IndexInList=48&Upgrade=&FromPage=nz_ALExhibitorSearch.aspx&BoothID=134987&Task=ProductsDetails&PRODID=32238>. Acesso em: 16/10/2013.

PINTO, T. J. A. **Controle biológico de qualidade de produtos de qualidade, de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos**. 2ª edição. São Paulo: Atheneu, 2000.

REBELLO, T. **Guia de produtos cosméticos**. 6ª edição. São Paulo: Senac, p.161, 2005.

ROSSATO, I.C. **Estudo da fotoestabilidade de filtros solares de uso comum utilizando diferentes *quenchers***. Monografia (Curso de Farmácia) - Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

SCHULLER, R.; ROMANOWSKY, P. Understanding emulsions. **Cosmetics & Toiletries**. New York, v. 113, p. 39-44, 1998.

SCHULKE & MAYR GMBH. **Phenoxyethanol. Conservante para cosméticos e artigos de higiene pessoal**. 2010. Disponível em: <<http://microsites.schuelke.com>>. Acesso em: 18/10/2013. Relatório técnico.

SCOGNAMIGLIOA, J.; JONES, L.; VITALEA, D.; LETIZIAA, C.S.; API, A.M. Fragrance material review on benzyl alcohol. **Food and Chemical Toxicology**. p. 140 - 160, 2012.

SIEGERT, W. Comparison of microbial challenge testing methods for cosmetics. **H&PC Today - Household and Personal Care Today**. v 8, p. 32 - 39, 2013.

SONI, M.G.; CARABIN, I.G.; BURDOCK, G.A. Safety assessment of esters of p-hydroxybenzoic acid (parabens). **Food and Chemical Toxicology**. v. 43, p. 985-1015, 2005.

SONI, M.G.; TAYLOR, S.L.; GREENBERG, N.A.; BURDOCK, G.A. Evaluation of the health aspects of propylparaben: a review of the published literature. **Food and Chemical Toxicology**. v. 40, p. 1335-1373, 2000.

SONI, M.G.; TAYLOR, S.L.; GREENBERG, N.A.; BURDOCK, G.A. Evaluation of the health aspects of methylparaben: a review of the published literature. **Food and Chemical Toxicology**. v. 40, p. 1335-1373, 2002.

WETTER, D.A.; YIANNIAS, J.A.; PRAKASH, A.V; DAVIS, M.D.; FARMER, S.S.; EL-AZHARY, R.R. Results of patch testing to personal care product allergens in a standard series and a supplemental cosmetic series: an analysis of 945 patients from the Mayo Clinic Contact Dermatitis Group, 2000-2007. **Journal of the American Academy of Dermatology**. v. 63, p. 789-98, 2010.

WILKINSON, J.B.; MOORE, R.J. **Harry's Cosmeticology**, 7ª edição. Nova Iorque: Chemical Publishing, 1982.

WOLF, R.; WOLF, D.; TÜZÜN, B.; TÜZÜN, Y. Contact dermatitis to cosmetics. **Clinics in Dermatology**, v.19, p. 502-515, 2001.

WOODRUFF, J. Preservatives. **SPC EU Cosmetics Directive**. p. 1-4, 2004. Disponível em: <<http://www.creativedevelopments.co.uk/papers/Preservatives%202004.pdf>>. Acesso em: 22/04/2013.

ZHANG, Q.; LIAN, M.; LIU, L.; CUI, H. High-Performance Liquid Chromatographic Assay of Parabens in Wash-Off Cosmetic Products and Foods Using Chemiluminescence Detection. **Analytica Chimica Acta**. v. 537, p. 31-39, 2005.