

## **RELATÓRIO DA ARGILA VERDE DA EMPRESA GREEN CLAY FARM PARA USO COSMÉTICO**

Fundação Universidade Federal de Rondônia – UNIR

Grupo de Pesquisa em Tecnologia e Inovação – GPTI

Porto Velho- RO

## **EQUIPE TÉCNICA/CIENTÍFICA**

**Letícia Schirmer Clacagnotto**, bacharel em Farmácia pelo Centro Universitário de Várzea Grande (UNIVAG) em 2007. Especialista em farmacologia pela Faculdade Ingá. Especialista em Estética Facial e Corporal pelas Faculdades Integradas Aparício Carvalho (FIMCA). Mestre em Biologia Experimental (UNIR) em 2019. Atuante em farmácia magistral e compõem o Núcleo Docente Estruturante (NDE) e docente dos cursos de Farmácia e Estética e Cosmética do Centro Universitário São Lucas, nas disciplinas de Farmacotécnica, Tecnologia Farmacêutica e Cosmetologia. Orientadora do Projeto Integrador de Desenvolvimento de Medicamentos, Cosméticos e Nutracêuticos.

**Almeida Andrade Casseb**, Biólogo, formado em biologia pela faculdade UNIPEC. Obteve Mestrado e Doutorado em Biologia Experimental pela Universidade Federal de Rondônia - UNIR. Durante o Mestrado e Doutorado fui contratado pelo IPEPATRO - Instituto de Pesquisa em Patologias Tropicais, onde desempenhei a função de Pesquisador. No ano de 2009 fui aprovado na Universidade Federal de Rondônia - UNIR, onde sou professor no Departamento de Arqueologia e desenvolvo pesquisa no Laboratório de Produtos Naturais. Na UNIR ocupei os cargos de Assessoria da Reitoria, Pró-Reitor de Graduação. Minha linha de pesquisa é o estudo e identificação de agentes biológicos por métodos de biologia molecular e estudos de expressão gênica, sempre associado aos produtos naturais extraídos e identificados pelo grupo de pesquisa. E a visualização de mecanismos imunogenéticos que possam dar direcionamento para a formatação de produtos fitofarmacológicos.

**Júlio Sancho Linhares Teixeira Militão**, Possui graduação em Bacharelado Em Química pela Universidade de Fortaleza (1981), mestrado em Química pela Universidade Federal do Ceará (1988) e doutorado em Química pela Universidade Federal do Ceará (1995), com pós-doutoramento na Université de Nice - França. Atualmente é professor titular da Universidade Federal de Rondônia. Atua como Docente e Orientador no Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal - PPG-Bionorte. Tem experiência na área de Química, com ênfase em Química dos Produtos Naturais. Coordenador do Grupo de Pesquisa em Tecnologia e Inovação, que atua no desenvolvimento de projetos de P&D em parceria com concessionárias de energia elétrica, nas áreas de biocombustíveis, inversores e turbinas hidráulicas, além da síntese de materiais com propriedades magnéticas.

## RESUMO

A argila verde é um mineral que possui propriedades e características específicas, tais como, partículas muito finas, carga e área superficial elevadas, alta capacidade de troca de cátions é uma matéria-prima com ampla aplicabilidade na indústria cosmética. No presente estudo objetivou-se a caracterizar a Argila Verde da empresa Green Clay Farm LTDA, referente à área do processo ANM 820.123/2018 para avaliar sua conformidade com a legislação da ANVISA RDC nº 48/2006 e do regulamento da União Europeia a EC nº 1223/2009. Para o estudo dos metais e semimetais da argila, a amostra foi submetida à digestão ácida para liberação e quantificação dos elementos-traço no equipamento de Espectrometria de Emissão Óptica por Plasma Acoplado Indutivamente - ICP-OES. Foram realizadas análises de pH, densidade, solubilidade e teor de umidade. Foram feitos testes de esterilização via calor seco em estufa a 120 °C por 24 horas, seguidos de análises microbiológicas para validação do protocolo de desinfecção. A presença de elementos, como alumínio, magnésio, ferro, zinco, cobalto, titânio, manganês, cobre, bário, arsênio, mercúrio, cádmio, chumbo e vanádio, revelam uma diversidade de propriedades e funções dos metais e semimetais presentes na argila, destacando sua influência na saúde e nos cuidados com a pele. A discussão sobre toxicidades potenciais destaca a importância do cumprimento das legislações e normas regulatórias, especialmente no que diz respeito a elementos como bário, cromo, arsênio, chumbo, níquel, vanádio e mercúrio. Estes estão em conformidade com a RDC Nº 44/2012 da ANVISA, porém a EC nº 1223/2009 da união europeia em seu anexo consta a proibição desses metais em produtos cosméticos. Sendo assim, sugere-se testes complementares dos produtos cosméticos para averiguar a perfusão desses metais na pele. Não foram observados crescimento bacteriano na amostra submetida a descontaminação, portanto validando o processo de desinfecção. O pH 5,46 é levemente ácido e sugere compatibilidade com a pele. A compreensão mais profunda das propriedades físicas e químicas da argila verde da Green Clay Farm garantem a estabilidade e eficácia dos produtos cosméticos que a contêm.

**Palavras chaves:** argila verde, regulamentos, produtos cosméticos.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>8</b>
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>9</b>
2.1 Normas Nacionais e Internacionais para Produtos Cosméticos .....	9
2.2 Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-OES) .	11
2.3 Metais e semimetais encontrados na argila verde.....	13
<b>3 OBJETIVOS.....</b>	<b>20</b>
3.1 OBJETIVO GERAL.....	20
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	20
<b>4 METODOLOGIA .....</b>	<b>21</b>
4.1 Preparação das amostras e análise .....	22
4.2 Descontaminação da amostra de argila.....	24
4.3 Análise microbiológica.....	24
4.4 Ensaios complementares físico-químicos.....	25
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>29</b>
<b>5. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>37</b>
<b>6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>39</b>

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Esquema de funcionamento de um ICP-OES (BAIRD, 2002).....	12
Figura 2: Recebimento das amostras.....	21
Figura 3: Processo da preparação da amostra através de digestão ácida.....	22
Figura 4: Equipamento ICP-OES marca Perkin Elmer, modelo Optima 8300 com amostrador automático modelo S10 utilizado para as determinações dos elementos-traço.....	23
Figura 5: Peagâmetro digital de mesa Gehaka PG3000. ....	25
Figura 6: Análise da densidade utilizando proveta de vidro. ....	26
Figura 7: Análise de solubilidade da Argila verde da Green Clay Farm. ....	27
Figura 8: Teste de teor de umidade por estufa. ....	28
Figura 9: Análise da amostra por Emissão Óptica por Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-OES). Fonte: próprio autor.....	29
Figura 10: Crescimento bacteriano observado na amostra AV270 (BHI) após o período de 24 horas de incubação a 35°C.....	35
Figura 11: Resultado da cultura bacteriana semeadas nos meios de cultura ágar após o período de 24 horas de incubação a 35°C.....	36
Figura 12: Resultado da coloração de Gram a amostra AV 270 semeada no ágar sangue .....	36

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Limite aceitável dos elementos contidos em produtos cosméticos. ....	9
Tabela 2: Parâmetros para controle microbiológico de produtos cosméticos. ....	10
Tabela 3: Principais propriedades dos metais no uso cosmecêutico. ....	19
Tabela 4: Valores utilizados dos parâmetros do ICP-OES. ....	24
Tabela 5: Termos descritivos de solubilidade e seus significados. ....	27
Tabela 6: Parâmetros de metais encontrado na argila por Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Acoplado Indutivamente. ....	30
Tabela 7: Testes físico-químicos. ....	33

## **LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E UNIDADES**

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

Al – Alumínio

As - Arsênio

Ba - Bário

Cd - Cádmio

Co - Cobalto

Cr - Cromo

Cu - Cobre

Fe - Ferro -

ICP-OES - Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Acoplado Indutivamente

Hg - Mercúrio

K – Kelvin

MERCOSUL - Mercado Comum do Sul

Mg - Magnésio

Mn - Manganês

Ni - Níquel

Pb – Chumbo

pH - potencial hidrogeniônico

PPM- Parte por milhão

RDC - Resolução da Diretoria Colegiada

Ti - Titânio

V - Vanádio

Zn - Zinco

## 1. INTRODUÇÃO

As argilas são objetos de estudo de várias áreas como a química, agronomia, mineralogia e tecnologia dos materiais, por ser uma matéria prima de ocorrência natural e abundante, abrangendo um amplo espectro de produtos. Elas são utilizadas como adsorventes em processos de clareamento na indústria têxtil e de alimentos, carreadora de medicamentos e excipientes na indústria farmacêutica ou mesmo em processos de remediação de solos (BERGAYA, THENG, LAGALY, 2006; TEIXEIRA-NETO, E; TEIXEIRA-NETO, A, 2009)

Presentes em diversos tipos de solos, as argilas são constituídas por partículas cristalinas extremamente pequenas de um número restrito de minerais conhecidos como argilominerais. Além disso, podem conter matéria orgânica, impurezas na forma de sais e minerais residuais, bem como minerais amorfos. As argilas são muito utilizadas em tratamentos estéticos por apresentarem funções características como absorção de impurezas, hidratante, tensora dentre várias outras (SANTOS, 1989; SILVA, 2011; TEIXEIRA-NETO, E; TEIXEIRA-NETO, A; 2009).

Possuem inúmeras finalidades terapêuticas e são utilizadas desde os primórdios na civilização para tratamento de feridas, inibição de hemorragias, picadas de animais e em tratamentos estéticos. As máscaras faciais argilosas são as preparações cosméticas mais antigas usadas para tratamentos de beleza (MATTIOLI et. al, 2016; SILVA, 2011).

As argilas utilizadas para fins cosméticos e farmacêuticos devem seguir uma série de requisitos de segurança química (pureza, estabilidade, inércia química), física (tamanho da partícula, textura) e toxicológica (controlado teor de metais pesados). Para oferecerem produtos com alto grau de qualidade (BERGAYA, THENG, LAGALY, 2006; MATTIOLI et. al, 2016, LOPÉZ-GALINDO; VÍSERAS, 2004).

As Argilas Verdes são conhecidas como um mineral derivado da decomposição de rochas feldspáticas, formado por uma mistura de várias substâncias, como o óxido de ferro, magnésio, cálcio, potássio, manganês, fósforo, zinco, silício, cobre, selênio e cobalto. De uma maneira geral sua composição depende da fonte de extração e está sujeita a variações que implicam em sua aderência às normas vigentes para utilização na cosmética.

Sendo assim, o presente estudo busca caracterizar uma amostra de argila da verde visando seu uso na cosmética, avaliando sua composição química, além de estabelecer um



protocolo de descontaminação da amostra de argila validado por análises microbiológicas, os resultados dos experimentos foram aos exigidos nos regimentos cosméticos da legislação da ANVISA RDC nº 48/2006 e do regulamento da União Europeia a EC nº 1223/2009.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Normas Nacionais e Internacionais para Produtos Cosméticos

A resolução Nº 79 de 25 de agosto de 2000 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária ANVISA, estabelece normas e procedimentos para registro de Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes. Adota a definição de Produto Cosmético. No artigo 2º desta resolução diz a respeito das listas de substâncias permitidas em seus anexos, sendo conservantes, corantes, filtro UV, que devem ser devidamente atualizadas.

A resolução atualizada vigente que trata de metais pesados, presentes em corantes em concentrações permitidas para produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes em todo o Mercosul, é a RDC Nº 44, de agosto de 2012. Em seu anexo e no parágrafo de esclarecimento no tópico 2 trata-se das impurezas nas concentrações máximas permitidas para corantes orgânicos artificiais conforme a tabela 1. Adicionalmente, essa resolução determina que lascas insolúveis de Bário (Ba), Estrôncio (Sr) e Zircônio (Zr), assim como sais e pigmentos derivados desses corantes, podem ser autorizados desde que sua insolubilidade seja comprovada por meio de um teste apropriado (ANVISA, 2012).

**Tabela 1: Limite aceitável dos elementos contidos em produtos cosméticos.**

Elemento	Quantidade em PPM
Bário solúvel em ácido clorídrico 0,001N (expresso em cloreto de bário)	500 ppm
Arsênico (expresso em As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )	3 ppm
Chumbo (expresso em Pb)	20 ppm
Outros metais pesados	100 ppm

Fonte: ANVISA (2012)

Os parâmetros de controle microbiológico para os produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes e seus limites aceitáveis estão descritos na tabela 2 e são estabelecidos pela resolução RDC Nº 630, de 10 de março de 2022, e internalizam a Resolução GMC

MERCOSUL nº 51/1998, e segundo seu artigo 1º classifica os produtos como tipo I: produtos para uso infantil; produtos para área dos olhos; e produtos que entram em contato com mucosas e tipo II demais produtos cosméticos suscetíveis a contaminação microbiológica.

**Tabela 2: Parâmetros para controle microbiológico de produtos cosméticos.**

	<b>Área de aplicação e faixa etária</b>	<b>Limites de aceitabilidade</b>
TIPO-1	Produtos para uso infantil	a) Contagem de microrganismos mesófilos totais aeróbios, não mais que 10 <sup>2</sup> UFC/g ou ml
	Produtos para área dos olhos	b) Ausência de pseudomonas aeruginosas em 1g ou 1ml;
	Produtos que entram em contato com mucosas	c) Ausência de Staphylococcus aureus em 1g ou 1ml;
		d) Ausência de coliformes totais e fecais em 1g ou 1ml;
		e) Ausência de clostrídios sulfito redutores em 1g (exclusivamente para talcos).
TIPO-II	Demais produtos cosméticos susceptíveis a contaminação microbiológica	f) Contagem de microrganismos mesófilos totais aeróbios, não mais que 10 <sup>3</sup> UFC/g ou ml;
		g) Ausência de pseudomonas aeruginosas em 1g ou 1ml;
		h) Ausência staphylococcus aureus em 1g ou 1ml;
		i) Ausência de coliformes totais e fecais em 1g ou 1 ml;
		j) Ausência de clostrídios sulfito redutores em 1g (exclusivamente para talcos).

**Fonte: ANVISA (2022)**

Atualmente, a Resolução RDC nº 83, emitida em junho de 2016, revoga certas disposições da Resolução RDC nº 48 (ANVISA, 2006, 2016). Esta resolução atualizada lista 1373 substâncias proibidas em produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes, alinhando-se com a relação de substâncias proibidas estabelecida no documento da União Europeia.

Elementos como: Cl, Ni, As, Be, Cd, Cr, I, P, Pb, Hg, Se, Zr, Co, Te, Tl e substâncias radioativas estão entre os itens mencionados na lista (ANVISA, 2016; UNIÃO EUROPEIA, 2009).

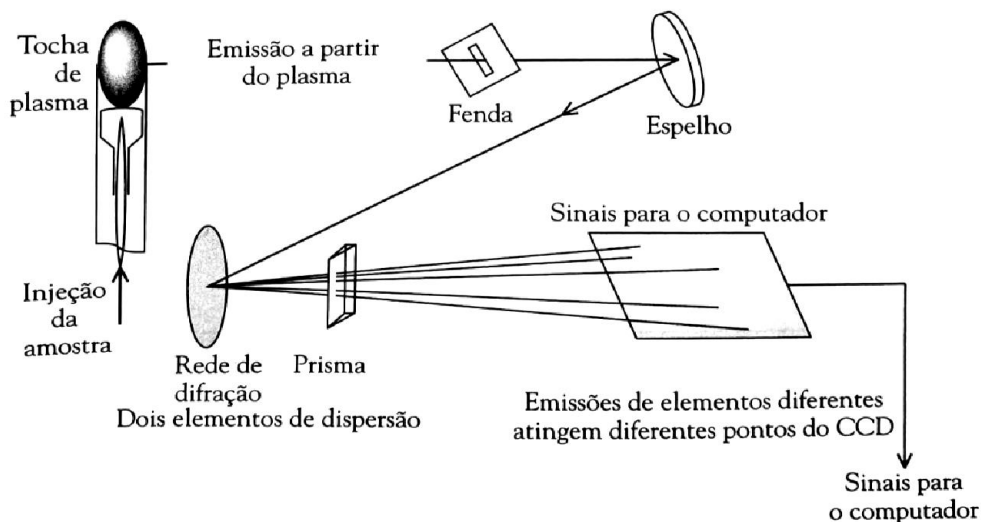
A Diretiva 76/768/CEE do Conselho Europeu é uma legislação importante que tratava da regulamentação de produtos cosméticos na União Europeia. No entanto, é importante notar que esta diretiva foi substituída pela Regulamentação (CE) nº 1223/2009 do Parlamento Europeu e do Conselho, que entrou em vigor em 11 de julho de 2013. A Regulamento (CE) nº 1223/2009 substitui a Diretiva 76/768/CEE e estabeleceu requisitos mais rigorosos e detalhados para a segurança dos produtos cosméticos. Esta nova regulamentação aborda de maneira mais específica a presença de substâncias perigosas, incluindo metais pesados, impondo limites mais precisos e exigindo testes mais abrangentes para garantir a conformidade dos produtos com esses limites. Portanto, embora a Diretiva 76/768/CEE tenha sido importante na introdução de algumas restrições para metais pesados em cosméticos, a Regulamento (CE) nº 1223/2009 é a legislação mais recente e abrangente que atualmente rege a segurança dos produtos cosméticos na União Europeia, incluindo as disposições relacionadas aos metais pesados.

## **2.2 Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-OES)**

O ICP-OES possui a capacidade de alcançar altíssimas temperaturas e possui uma atmosfera inerte, além de possibilitar a determinação de até 70 elementos simultaneamente. Quando há disponibilidade de altos volumes de amostra é possível alcançar limites de detecção considerados baixos (chegando a determinar ppb), dependendo da aplicação e também do analito, por exemplo, para a análise de alguns metais em argila é possível alcançar limites de detecção bem mais baixos que os valores determinados pela legislação, o que a torna uma técnica muito recomendada (HOU, JONES, 2000; OLESIK, 1991).

O ICP-OES é uma técnica baseada na emissão de fótons, oriundos de íons excitados pelo plasma, que é gerado por uma bobina de radiofrequência (HOU, JONES, 2000). Após a inserção da amostra no equipamento esta é convertida em um aerossol que é direcionado para o plasma, onde os átomos são convertidos em íons e depois são elevados para um nível excitado. Estas espécies quando retornam ao estado fundamental emitem fótons, que são característicos de cada espécie química, bem como a quantidade de fótons é proporcional à concentração do analito. Uma porção destes fótons é coletada com uma lente ou espelhos côncavos, que formam uma imagem na abertura de um equipamento de seleção de comprimentos de onda. Estes comprimentos de onda são convertidos em sinais elétricos por um fotodetector, e em um

computador o sinal é amplificado e processado, a operação do equipamento está esquematizado na figura 1 (HOU, JONES, 2000; BAIRD, 2002).



**Figura 1: Esquema de funcionamento de um ICP-OES (BAIRD, 2002).**

O ICP-OES opera com emissão de radiação eletromagnética na região do visível e ultravioleta do espectro, e a técnica de análise é baseada na excitação do analito pelo plasma de argônio. As temperaturas do plasma alcançam valores muito elevados (7000 a 15000 K), o que propicia uma baixa interferência nas análises dos elementos químicos, uma vez que o plasma alcança temperaturas muito mais elevadas e devido à presença do ambiente estável e quimicamente inerte da atmosfera de argônio, quando comparado às análises que fazem o uso de chamas, cujo ambiente é violento e altamente reativo (SKOOG et al., 2002). A análise dos elementos é feita através de uma relação estabelecida com um padrão de referência e a intensidade de energia detectada no comprimento de onda indicado, é possível determinar a concentração do analito na amostra. Esta relação é construída através das curvas analíticas (CIENFUEGOS, VAITSMAN, 2000).

Esta técnica é muito utilizada para a determinação de metais em diferentes matrizes por apresentar muitas vantagens, quando comparada as demais técnicas espectrométricas, como eficiente ionização ou excitação dos elementos (dada pelas altas temperaturas alcançadas no plasma), pela possibilidade de realizar análises multielementares, por apresentar alta sensibilidade e possibilitar a análise de uma ampla faixa de concentrações, por conta de sua linearidade característica.

## **2.3 Metais e semimetais encontrados na argila verde**

Segue a descrição das propriedades de alguns metais e semimetais analisados neste estudo.

### **2.3.1 Alumínio**

O alumínio é o metal predominante e o terceiro elemento químico mais abundante na crosta terrestre, depois do oxigênio e do silício. Os seres humanos estão constantemente expostos ao alumínio, na forma de pó e de partículas dispersas no meio ambiente (NASCIMENTO, 2004). É sempre encontrado combinado com outros elementos como oxigênio, silício e flúor.

O metal de alumínio é leve e tem aparência branco-prateada. É pouco absorvido após exposição oral ou por inalação e essencialmente não é absorvido por via dérmica e possui propriedades adstringentes e seu efeito tende a encolher ou contrair os tecidos do corpo, geralmente no local de aplicação de um medicamento tópico ou cosmético. Os adstringentes aplicados externamente, causam leve coagulação das proteínas da pele, resseca, endurece e protege a pele. Pessoas que sofrem de acne e pele oleosa são frequentemente aconselhadas a usar produtos com ação adstringente (PUBCHEM, 2023).

### **2.3.2 Ferro**

O ferro é um mineral vital para a homeostase celular. A sua habilidade em aceitar e doar elétrons o torna imprescindível para diversas reações biológicas (GROTTO, 2010). Elemento metálico, em quase todos os solos e em águas minerais. É um constituinte essencial da hemoglobina, do citocromo e de outros componentes dos sistemas enzimáticos respiratórios. Suas principais funções estão no transporte de oxigênio para os tecidos (hemoglobina) e nos mecanismos de oxidação celular (PUBCHEM, 2023).

O oligoelemento ferro desempenha um papel crucial na respiração celular e na transferência de elétrons. Reconhecido como um remineralizante, é responsável pela tonalidade saudável da pele, sendo um nutriente essencial para o metabolismo do oxigênio e desempenhando função vital na mitocôndria da pele. Sua importância na homeostase cutânea se reflete na capacidade de reparação de danos e na participação nos processos intracelulares de oxirredução. Além de regular o DNA mitocondrial durante a síntese das células basais metabolicamente ativas da epiderme. Ele também estimula a produção de colágeno e contribui

para o processo de cicatrização na derme. A deficiência desse elemento na pele se manifesta por uma epiderme fina, ressecada e com perda de elasticidade. Quando presente na forma biodisponível, promove uma aparência saudável e equilibrada para a pele como um todo (COSTA,2012).

### **2.3.3 Magnésio**

O magnésio é classificado como um metal alcalino terroso e possui 2 camadas de hidratação. O elemento pode ser encontrado em abundância na hidrosfera (PUBCHEM, 2023). Segundo Costa (2012) é particularmente indicado para as reações biológicas da derme, facilitando a transferência do íon sulfato do 3-fosfoadenosina-5-fosfossulfato (PAPS), que representa a forma biologicamente ativa desse íon.

O papel do íon magnésio está interligado ao do cálcio e desempenha diversas funções, tais como: Contribui para a produção de proteínas específicas codificadas geneticamente, auxiliando na estabilização da estrutura da dupla hélice do DNA, é um elemento essencial na síntese de vários compostos com ligações energéticas elevadas, como a ligação anidrido fosfórico encontrada, principalmente, no ATP ou ITP, além de participar ativamente como cofator de aproximadamente 300 enzimas essenciais para os metabolismos de carboidratos, ácidos nucleicos, proteínas e lipídios.

Essa breve explicação sobre o magnésio destaca sua extrema importância na biologia. Quando em sua forma biodisponível por meio de tecnologia biotecnológica, ele energiza e tonifica a pele, atuando em conjunto com o zinco para promover a revitalização natural (propriedades revitalizadoras). Em parceria com a vitamina C em aplicações tópicas, o magnésio inibe a atividade da tirosinase, estimula a síntese de colágeno e exibe atividade antioxidante contra os radicais livres (COSTA,2012).

### **2.3.4 Titânio**

Classificado como um metal de transição, o titânio, na forma de dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>), é amplamente empregado nas indústrias farmacêutica e cosmética para a produção de uma variedade de itens de maquiagem, incluindo pós compactos, blushes, sombras e esmaltes, além de desempenhar um papel fundamental em protetores solares. Ele é frequentemente combinado com diferentes pigmentos para criar efeitos perolados e acetinados, deixando a pele

opaca. Desempenhando um papel crucial como um filtro solar físico, o dióxido de titânio é isento de efeitos irritativos encontrados em outros produtos químicos (COSTA, 2012).

### **2.3.5 Zinco**

O zinco foi identificado como cofator para mais de 70 enzimas diferentes, incluindo fosfatase alcalina, desidrogenase láctica e RNA e DNA polimerase. O zinco facilita a cicatrização de feridas, ajuda a manter as taxas normais de crescimento, a hidratação normal da pele e os sentidos do paladar e do olfato (PUBCHEM, 2023).

Segundo Costa (2012) o zinco na sua forma biodisponível ajuda a melhorar a aparência saudável da pele, minimizando as linhas finas causadas pelo estresse ambiental, normalizando a superfície da pele os suplementos de zinco são úteis no tratamento de problemas cutâneos, como, por exemplo, nas úlceras dos membros inferiores, mas apenas nos casos cujos níveis iniciais de zinco se encontram reduzidos. As pomadas à base deste mineral, aplicadas diretamente na pele, parecem ser mais eficazes que os suplementos, na redução das infecções e na estimulação da cicatrização de feridas, exceto em casos de deficiência sérica deste metal, como ocorre na acrodermatite enteropática.

### **2.3.6 Cobalto**

O cobalto desempenha um papel essencial na síntese da vitamina B12, também conhecida como cianocobalamina. Essa vitamina é uma molécula orgânica complexa, cujo núcleo ativo é o átomo de cobalto, apresentando uma estrutura semelhante à hemoglobina. A vitamina B12 é crucial para o funcionamento de diversos sistemas enzimáticos envolvidos na utilização de energia.

A deficiência de vitamina B12 pode resultar na falta de formação de hemoglobina, levando a uma série de danos no sistema nervoso central, conforme observado em estudos anteriores (LEHNINGER, 1985). Em animais ruminantes, a ausência dessa vitamina afeta significativamente processos metabólicos vitais, como a gluconeogênese e a hematopoiese. Além disso, influencia o metabolismo de carboidratos, lipídios e ácidos nucleicos, conforme destacado por (GRAHAM, 1991).

### **2.3.7 Manganês**



O manganês é um metal natural encontrado em muitos tipos de rochas. O manganês puro tem cor prata, mas não ocorre naturalmente. Combina-se com outras substâncias, como oxigênio, enxofre ou pode ser encontrado em vários alimentos, incluindo grãos e cereais, e é encontrado em grandes quantidades em outros alimentos, como o chá. O manganês é um oligoelemento essencial e necessário para uma boa saúde (ATSDR, 2021).

### **2.3.8 Cobre**

O cobre, na sua forma natural como íons  $\text{Cu}^{2+}$ , oferece vários benefícios para a saúde e cuidados dermatológicos. Desde os anos 1970, estudos evidenciaram que peptídeos de cobre, como o GHK Cu, auxiliam na reparação de feridas e aumentam a expressão de moléculas importantes na matriz extracelular. O uso do cobre foi notado em cremes para cicatrização de feridas e, mais tarde, incorporado em hidratantes cosméticos para redução de rugas, já que estimula a produção de colágeno. Além disso, demonstrou-se sua eficácia na melhoria da pele facial através de travesseiros com óxido de cobre, no pós-tratamento com laser CO<sub>2</sub> e na redução do risco de infecções em diabéticos através de meias impregnadas com cobre. O cobre exibe propriedades algicidas, fungicidas, nematocidas, moluscocidas, antibacterianas, antivirais e anti-inflamatórias. Recentemente, foi descoberto que íons de cobre que absorvem água podem estimular a produção de melanina, oferecendo uma possível cura natural para o vitiligo, seja através da aplicação tópica ou do consumo de água armazenada ou cozinhada em recipientes de cobre, aumentando a absorção oral do metal. Embora o cobre penetre com dificuldade na pele, ele se associa a proteínas para exercer atividade biológica. Está envolvido em mais de 100 enzimas, incluindo citocromo C-oxidase, superóxido dismutase, tirosinase, lisil-oxidase, dopamina beta-hidroxilase e fator V, promovendo a formação de trombina. A deficiência sistêmica de cobre pode afetar a síntese de colágeno e diminuir a produção de melanina. Em áreas específicas, como a região anogenital, o cobre pode ser utilizado em cremes reparadores para vitiligo localizado e em lavagens locais com água contendo íons de cobre, com propriedades antibacterianas e antivirais (COSTA, 2012).

### **2.3.9 Cádmio**

Trata-se de um metal encontrado na crosta terrestre, com uma coloração branca prateada e utilizado como pigmento, entre outras aplicações. O cádmio é um elemento tóxico e suscetível de causar câncer em seres humanos (ATSDR, 2012). Apesar disso, regulamentações da ANVISA



(2016) e da União Europeia (2009) proíbem o uso desse elemento em formulações cosméticas. No entanto, análises conduzidas por Grosser, Davidowski e Thompson (2011) demonstraram a presença de  $^{111}\text{Cd}$  em concentrações variando de  $0,0110 \mu\text{g/g}$  a  $0,0832 \mu\text{g/g}$ .

### **2.3.10 Bário**

O bário é um metal branco prateado que existe na natureza apenas em minérios contendo misturas de elementos. Combina-se com outros produtos químicos, como enxofre ou carbono e oxigênio, para formar compostos de bário. Os compostos de bário são usados pelas indústrias de petróleo e gás para fazer lamas de perfuração. As lamas de perfuração facilitam a perfuração da rocha, mantendo a broca lubrificada. Eles também são usados para fazer tintas, tijolos, cerâmica, vidro e borracha. O sulfato de bário às vezes é usado por médicos para realizar exames médicos e tirar radiografias do trato gastrointestinal (ATSDR, 2021).

### **2.3.11 Cromo**

O cromo é usado em diversas aplicações químicas, industriais e de manufatura, como preservação de madeira e metalurgia. Os usos dos compostos de cromo dependem da valência do cromo, onde os compostos trivalentes de Cr (III) são usados para suplementação dietética de Cr e os compostos hexavalentes de Cr (VI) são usados como inibidores de corrosão em ambientes comerciais e são conhecidos por serem cancerígenos humanos (DRUGBANK, 2023).

### **2.3.12 Arsênio**

É um semimetal encontrado em quantidades significativas na crosta terrestre. O arsênio inorgânico, em contato com a pele, pode provocar irritação e dermatite de contato. Os efeitos podem variar de leves a graves, podendo cessar quando a exposição é interrompida. Os sintomas leves incluem vermelhidão e inchaço, enquanto os graves podem resultar em pápulas, bolhas ou lesões necróticas (ATSDR, 2007).

O arsênio é reconhecido por sua carcinogenicidade em seres humanos, estando associado a neoplasias cutâneas, pulmonares e vesicais, e possivelmente a cânceres renais, hepáticos e prostáticos (LIU, GAYER e WAALKES, 2012). Em argilas cosméticas, foram detectadas concentrações de arsênio variando de  $0,6$  a  $8,9 \mu\text{g/g}$  (Silva et al., 2011).

### **2.3.13 Chumbo**

Trata-se de um dos metais que mais causam intoxicações nos seres humanos e que mais poluem o meio ambiente. O homem moderno tem no organismo de 500 a 1.000 vezes mais chumbo acumulado que seus ancestrais pré-históricos. Considerado uma neurotoxina, atinge todos os tecidos nobres do organismo e promove o deslocamento de minerais essenciais para seu bom funcionamento, tais como cálcio, ferro, cobre e zinco. Além disso, bloqueia e inativa enzimas e aumenta a permeabilidade da membrana celular. Em doses grandes de contaminação, afeta seriamente o sistema nervoso central e causa lesões no fígado, rins e órgãos reprodutores e na região gastrointestinal (COSTA, 2012).

### **2.3.14 Níquel**

O níquel é um metal com aparência prateada. É empregado na pintura de cerâmicas, na fabricação de certos tipos de baterias e é encontrado em moedas e joias. A exposição ao níquel é frequentemente associada a reações alérgicas, afetando cerca de 10% a 20% da população sensível a esse metal. Alguns compostos de níquel foram identificados como carcinogênicos para os seres humanos (ATSDR, 2005; LIU, GAYER e WAALKES, 2012).

### **2.3.15 Vanádio**

O vanádio é um composto que ocorre na natureza como um metal branco a cinza e é frequentemente encontrado na forma de cristais. O vanádio puro não tem cheiro. Geralmente se combina com outros elementos, como oxigênio, sódio, enxofre ou cloreto. Vanádio e compostos de vanádio podem ser encontrados na crosta terrestre e em rochas, alguns minérios de ferro e depósitos de petróleo bruto. O vanádio é principalmente combinado com outros metais para formar misturas metálicas especiais chamadas ligas. O vanádio na forma de óxido de vanádio é um componente de tipos especiais de aço usados em peças automotivas, molas e rolamentos de esferas. A maior parte do vanádio usado nos Estados Unidos é usada para fazer aço. O óxido de vanádio é um pó amarelo-laranja, flocos cinza-escuros ou cristais amarelos. O vanádio também é misturado ao ferro para fazer peças importantes para motores de aeronaves. Pequenas quantidades de vanádio são usadas na fabricação de borracha, plásticos, cerâmica e outros produtos químicos (ATSDR, 2021).

### **2.3.16 Mercúrio**

Esse elemento pode ser metálico (mercúrio elementar), orgânico e inorgânico. O mercúrio metálico apresenta coloração branco prateado (ATSDR, 1999).

O mercúrio tem propensão a se acumular principalmente nos rins e nos ossos, fígado, baço, cérebro e tecido adiposo do corpo humano. O que não é expelido através da urina ou das fezes permanece no organismo, interferindo na síntese de proteínas. Além disso, sua ação prejudicial se estende ao sistema nervoso central, aumentando a liberação de vários neurotransmissores. Foi observada uma forte associação desta substância com casos de esclerose múltipla (COSTA, 2012).

**Tabela 3: Principais propriedades dos metais no uso cosmecêutico.**

<b>Cobre</b>	Clareador Atua no desenvolvimento do tecido conjuntivo e síntese da melanina.
<b>Zinco</b>	Seborregulador Manutenção do pH cutâneo fisiológico, síntese do colágeno e da elastina, fundamental para a oxigenação celular e reconstituição da membrana celular. Protege os ácidos nucleicos (RNA-DNA) e garante a integridade molecular e celular da pele e cabelo. Inibe a ação da enzima 5a-redutase. Ação seborreguladora e antimicrobiana.
<b>Magnésio</b>	Anti-idade Melhora o transporte de elétrons e a produção de proteínas. Tem o poder de fixar os íons potássio e cálcio e participa da síntese de colágeno responsável pelo tônus muscular. Auxilia no combate ao envelhecimento cronológico da pele.
<b>Ferro</b>	Hidratação Tem papel importante na respiração celular e na transferência de elétrons. Na pele, as carências deste elemento manifestam-se por epiderme fina, seca e com falta de elasticidade.
<b>Alumínio</b>	Agente antiperspirante, adsorvente de melanina, espessante, pigmento.
<b>Titânio</b>	Pigmento de uso variado, bloqueador solar físico.

Fonte: Costa (2012)

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GERAL**

Caracterizar a Argila Verde da empresa Green Clay Farm LTDA, referente à área do processo ANM 820.123/2018 para avaliar sua conformidade com a legislação da ANVISA RDC nº 48/2006 e do regulamento da União Europeia a EC nº 1223/2009.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Determinar a composição química da argila da verde da Green Clay Farm, por Espectrometria de Emissão Óptica por Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-OES).
- Estimar o perfil físico-químico da amostra da argila da verde da Green Clay Farm.
- Realizar uma avaliação da atividade microbiana da amostra da argila da verde da Green Clay Farm.
- Verificar se a argila de estudo está em conformidade com a legislação da ANVISA RDC nº 48/2006 2006 e do regulamento da União Europeia a EC nº 1223/2009 acerca da presença de metais nocivos à saúde.

## 4 METODOLOGIA

Os trabalhos de pesquisa da Argila verde ficaram adstritos à área do processo ANM 820.123/2018, propondo-se em uma área de 33,09 hectares, onde MRP Participações Eireli, estabeleceu uma nova empresa a Green Clay Brazil Ltda, a jazida situa-se na Fazenda Trevo Branco, localizada no município de Quadra, estado de São Paulo, Brasil.

A argila passou por ensaios de caracterização mineralógica, onde foram realizados dois conjuntos de análises, sendo um deles concluído pela Empresa Lito Jr – Empresa Júnior de Geologia da Unesp/Rio Claro. A outra bateria de análises foi realizada no CETEM – Centro de Tecnologia Mineral, sediado no Rio de Janeiro. O relatório concluiu que as amostras colhidas em diversos pontos da jazida possuíam uma grande semelhança, o que é bastante interessante, visando o controle de qualidade do produto. A mineralogia básica identificada abrange caulinita, illita, quartzo e muscovita.

As amostras de argilas chegaram no município de Porto Velho - RO, no dia 30 de setembro de 2023, acondicionadas em uma caixa de papelão, que continham três amostras distintas embaladas em um saco plástico, como pode ser observado na figura 2.



Legenda: (a) caixa recebida; (b) amostras das argilas recebidas

**Figura 2: Recebimento das amostras.**

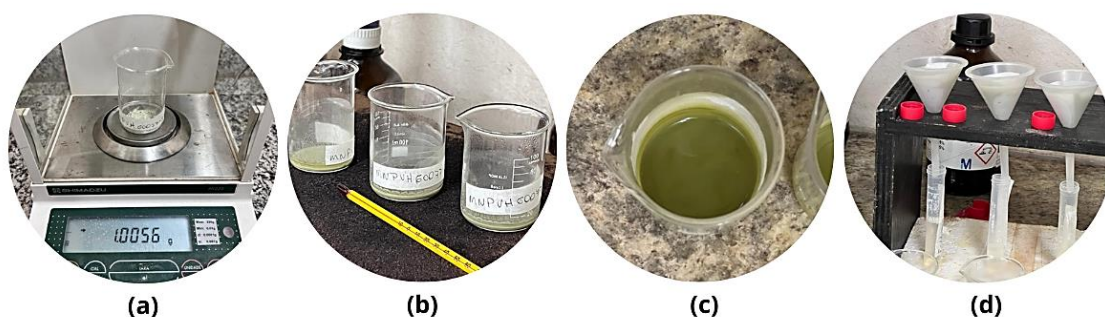
Foi recebido 3 amostras da Argila Verde da empresa Green Clay Farm, uma em seu estado natural e mais duas amostras pré processadas, através de secagem, trituração e tamisação:

1. 3,5 kg, argila bruta.
2. 0,9 kg, tamisada em 270 mesh, granulometria do pó a 53 micrômetro
3. 0,5 kg, tamisada em 325 mesh, granulometria a 44 micrômetro.

## 4.1 Preparação das amostras e análise

### 4.1.1 Digestão ácida da amostra

Para a quantificação dos elementos-traço na argila verde da Green Clay Farm foi usada a amostra de 325 mesh, pesou-se cerca de 1,0 grama de amostra em triplicata, em um béquer de 100 mL para a realização da solubilização química. Para esse processo, adicionou-se cerca de 8,0 mL de HNO<sub>3</sub> (ácido nítrico, Merck, Alemanha) 65% (m.m-1) em cada béquer e levado para evaporar sob aquecimento em chapa aquecedora (Q313F, Quimis – Brasil) a uma temperatura de 120°C. Depois, adicionou-se cerca de 8,0 mL de solução de água régia (HCl:HNO<sub>3</sub> [3:1]) em cada béquer e repetiu-se a evaporação da solução. Após a evaporação, as amostras foram ressuspensa com HCl 0,1N e armazenadas em tubos do tipo Falcon para o volume final de 15 mL. Algumas etapas do processo estão ilustradas na figura 3.



Legenda: (a) pesagem da amostra; (b) evaporação do ácido na chapa aquecedora; (c) argila após a evaporação do ácido; (d) amostras foram re-suspensa.

**Figura 3: Processo da preparação da amostra através de digestão ácida.**

Após preparadas, os elementos-traços presentes nas amostras foram quantificados pela técnica de ICP-OES.

### 4.1.2 Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-OES)

O controle de qualidade analítica tem como finalidade fornecer uma maior confiabilidade nos resultados obtidos ao final de todo o procedimento analítico. Dentre os artifícios disponíveis, pode-se citar o uso de amostras branco, do uso de triplicatas e de materiais de referência certificados (MRC). Esses últimos são disponibilizados por entidades reconhecidas, e fornecem



valores conhecidos de certos analitos, assim como as incertezas associadas. Esses valores nada mais são que resultados consensuais de laboratórios acreditados e não podem ser considerados como valores verdadeiros, mas os que mais se aproximam do que é considerado como tal (JARDIM e SODRÉ, 2009).

Para o cálculo dos Limites de Detecção da Técnica Analítica (LDT) das amostras de Argila verde para os dezesseis elementos-traço avaliados, utilizou-se a seguinte equação:

$$LDT = [(média dos brancos \cdot volume \ final) / média \ das \ massas]$$

Os brancos foram realizados através da execução de todo o procedimento analítico, porém apenas com os reagentes químicos utilizados, ou seja, sem a presença de amostra, multiplicando pelo volume final (15 mL) e dividindo pela média das massas de todas as amostras analisadas (BASTOS et al., 1998).

O controle de qualidade analítico foi realizado através da análise em triplicada e adoção de duplicatas em cada amostra, branco e controle, para a verificação de possíveis contaminantes presentes nos reagentes utilizados durante todo o processo. Além disso, foram utilizadas amostras da referência certificada SS2 (SSP-SCIENCE), cuja função é determinar a exatidão dos resultados obtidos pela análise do equipamento ICP-OES apresentada na figura 4.



**Figura 4: Equipamento ICP-OES marca Perkin Elmer, modelo Optima 8300 com amostrador automático modelo S10 utilizado para as determinações dos elementos-traço.**

Adotou-se as seguintes condições de análise no ICP-OES para a operação no equipamento através do software WinLab 32 for ICP versão 5.5.0.0174 da Perkin Elmer. Os principais parâmetros podem ser verificados detalhadamente na tabela 4:

**Tabela 4: Valores utilizados dos parâmetros do ICP-OES**

Parâmetro	Valor estabelecido
Fluxo do plasma	8,0 L.min-1
Fluxo auxiliar	0,2 L.min-1
Fluxo do nebulizador	0,70 L.min-1
Potência da rádio frequência	1500 w
Visão do plasma	Axial
Tempo de integração	5 s
Tempo de estabilização	11 s
Fluxo da amostra	1,00 mL.min-1
Tempo de aspiração da amostra	15 s
Tempo de enxágue	15 s
Números de replicatas	2

#### 4.2 Descontaminação da amostra de argila

Atualmente, para a argila ser incorporada em formulações cosméticas, é essencial validar um processo de descontaminação. Esse procedimento visa garantir a remoção efetiva de microrganismos indesejados. Inicialmente, a descontaminação por temperatura foi testada, submetendo a amostra a calor seco em estufa, mantendo-a a 120 °C por 24 horas.

#### 4.3 Análise microbiológica

Dispondo da colaboração da FIOCRUZ-RO, pode-se realizar a análise microbiológica, para a validação do processo de descontaminação da amostra de Argila Verde Green Clay Farm, foram enviados dos tubos tipo Falcon de 50 mL, denominados AV 270 e AV 270 DEFINFEC, aos cuidados da Dra. Naja Benevides Matos, com o objetivo de avaliar a pureza microbiológica dessas amostras. O experimento fundamentando-se em uma abordagem científica criteriosa, como a realização de análises em triplicata e reanálises para confirmação dos resultados.

Os materiais utilizados neste estudo foram, alças plásticas de 10µL, estéreis e descartáveis, tubos de ensaios, contendo 5 mL de meios de cultura Luria Bertani (LB) e Brain Heart Infusion (BHI), placas de Petri, com ágar Sangue, ágar MacConkey, Chromagar e ágar Manitol, lâminas de vidro e o kit de reagentes para a coloração de Gram, além dos equipamentos de microscopia e a estufa bacteriológica na temperatura de 37°C

As amostras de argila, foram inoculadas nos tubos de ensaio com meio LB e meio BHI. A disseminação das amostras nas placas de Petri, com diferentes meios de cultura, proporciona um ambiente diversificado para o crescimento microbiano.



A incubação das placas de Petri na estufa bacteriológica a 37°C por 24 a 48 horas é essencial para o desenvolvimento microbiano e permite a observação de formação de colônias bacterianas, que segue para a análise microscópica, com a preparação das lâminas coradas pelo Kit de Coloração de Gram, para a observação microscópica.

#### 4.4 Ensaios complementares físico-químicos

A amostra da argila verde da Green Clay Farm, passou por experimentos físico-químicos para a obtenção de dados complementares para a ficha técnica, documento este importante para o controle de qualidade de matérias-primas farmacêuticas.

##### 4.4.1 Determinação do Ph



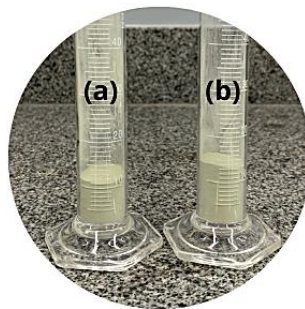
**Figura 5:** Peagâmetro digital de mesa Gehaka PG3000.

Para estimar o pH da Argila Verde, foi pesado 1 grama da amostra de argila e um Becker de 100 mL e adicionado de água destilada até completar o volume de 100 mL. A preparação foi analisada com o auxílio do equipamento peagâmetro da GEHAKA, foram coletados os resultados dos pH e temperatura. O experimento foi realizado em triplicada e a média dos resultados foram calculadas.

##### 4.4.2 Densidade

A densidade real representa a massa por unidade de volume de uma substância, considerando seu volume real sem incluir espaços vazios ou porosidade. A determinação da densidade da argila foi segmentada em duas fases distintas: densidade não compactada e densidade compactada. Para a condução deste experimento, foram necessários amostras da

argila, uma balança analítica da Uni Bloc de alta precisão e uma proveta de 50 mL.



Legenda: (a) argila compactada; (b) argila não compactada

**Figura 6: Análise da densidade utilizando proveta de vidro.**

Inicialmente a proveta pesada e seu valor zerado, em seguida, a proveta foi preenchida com um volume de 13 mL de argila, resultando em uma massa medida de 10,3 gramas. Posteriormente, argila foi compactada, reduzindo seu volume para 11 mL. Os valores foram calculados pela fórmula:

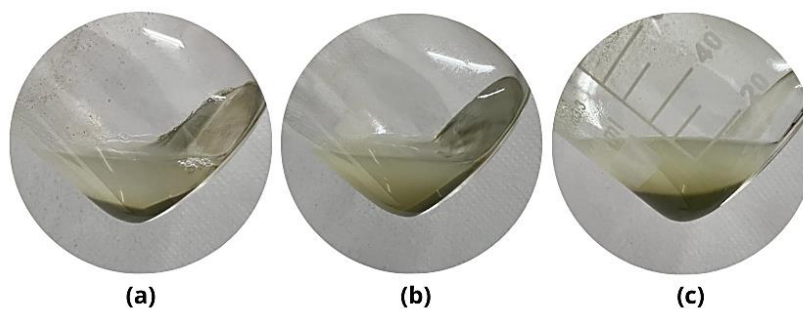
$$D = \frac{m}{v}$$

Em que: (D) Densidade; (m) Massa; (v) Volume

A segmentação em duas etapas, primeiro avaliando a densidade não compactada e, em seguida, a densidade compactada, permitiu a compreensão das variações na densidade da argila em diferentes condições de compactação.

#### 4.4.3 Solubilidade

De acordo com a Farmacopeia Brasileira, o teste de solubilidade é realizado para avaliar a adequação de uma substância para uso farmacêutico, considerando sua dissolução em diferentes solventes. O experimento foi conduzido utilizando três amostras distintas e três solventes variados, água destilada, álcool Mega química um solvente orgânico a acetona PA Êxodo científica, como demonstrado na figura 7.



Legenda: (a) Água destilada; (b) Álcool Absoluto; (c) Acetona PA.

**Figura 7: Análise de solubilidade da Argila verde da Green Clay Farm.**

Para o experimento, utilizou-se três béqueres de vidro de 100 mL, nos quais foram pesados em balança analítica da marca Uni Bloc, 1 grama da Argila verde da green clay farm. Os solventes foram adicionados em temperatura de 25 °C. A expressão *partes* se refere ao número de mililitros de solvente por grama de sólido a ser dissolvido. As solubilidades aproximadas estabelecidas nas monografias são designadas em termos descritivos, cujos significados estão relacionados na Tabela 4:

**Tabela 5: Termos descritivos de solubilidade e seus significados.**

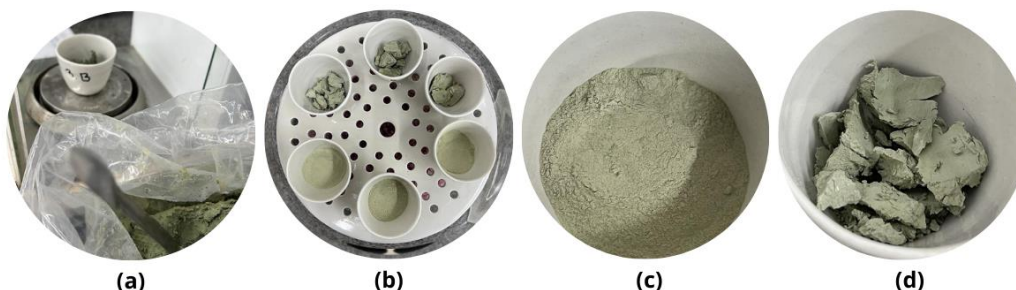
<b>Termo descritivo</b>	<b>Volumes aproximados de solvente em mililitros por grama de substância</b>
Muito solúvel	Menos de 1 parte
Facilmente solúvel	De 1 a 10 partes
Solúvel	De 10 a 30 partes
Moderadamente solúvel	De 30 a 100 partes
Pouco solúvel	De 100 a 1000 partes
Muito pouco solúvel	De 1000 a 10000 partes
Praticamente insolúvel ou insolúvel	Mais de 10000 partes

**Fonte: Farmacopeia Brasileira, 6ª edição**

Para cada amostra de argila, foram adicionadas 10 partes de cada solvente. A solubilidade indicada não deve ser considerada estritamente como constante física, mas como complemento dos demais ensaios.

#### **4.4.4 Teor de Umidade por método de estufa**

Até hoje, esse é o método mais preciso de determinação do teor de umidade dos solos, sendo aplicado em laboratórios. Essa metodologia apresenta vantagem em relação às demais, porque apresenta resultados confiáveis, porém traz como inconveniente, o tempo excessivo para obtenção desse índice físico.



Legenda: (a) Pesagem da argila(a) bruta; (b) Amostras esfriando no dessecador; (c) Argila processada após estufa; (d) Argila bruta após estufa.

**Figura 8: Teste de teor de umidade por estufa.**

Foi pesado o cadinho vazio onde a massa variou em 37,2 g a 45,7 g, em seguida foi colocado 10 g da argila verde, o teste foi realizado em triplicada para a argila bruta em seu estado natural, quanto a processada. Os cadinhos com as amostras foram colocados na estufa pré-aquecida a uma temperatura específica de 105°C a 120°C, por 32hs, neste período ocorreram duas pesagens de monitoramento. Após o tempo de secagem, os cadinhos com as amostras foram removidos da estufa e foi para um dessecador esfriar e evitar a absorção da umidade atmosférica. Com os cadinhos com a amostra resfriadas e secas ocorreu a pesagem final do experimento. Para os cálculos do teor de umidade foi utilizada a fórmula abaixo e o resultado expresso em porcentagem.

O teor de umidade (UM) pode ser calculado usando a fórmula:

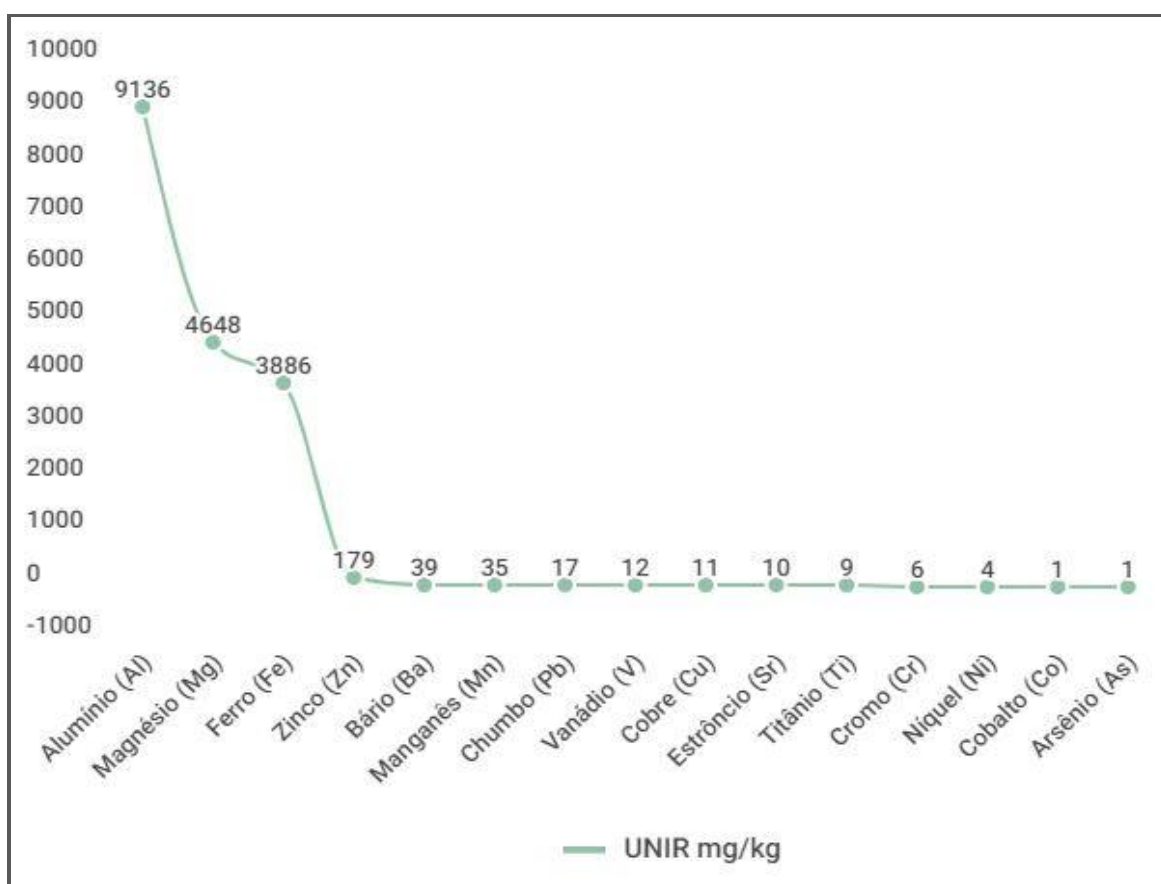
$$UM(\%) = \left( \frac{m2 - m3}{m2 - m1} \right) \times 100$$

Onde:  $m1$  - é a massa do cadinho vazio;  $m2$  - é a massa do cadinho com a amostra úmida;  $m3$  - é a massa do cadinho com a amostra seca.

Este método fornece uma estimativa confiável do teor de umidade na amostra, sendo essencial para garantir a qualidade e a conformidade em diversos setores industriais.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise dos metais, semimetais mencionados no estudo evidencia a diversidade de propriedades e funções desempenhadas por esses elementos no âmbito cosmético e dermatológico. Cada um desses elementos exibe características singulares que exercem influência significativa tanto na manutenção da saúde quanto nos cuidados com a pele, sendo passíveis de aplicação em produtos cosméticos, medicamentos e, em contrapartida, podem representar riscos quando presentes em concentrações desproporcionais, a tabela 6, e o gráfico 1 ilustram os parâmetros presentes no estudo da argila verde da *Green Clay Farm*.



**Figura 9: Análise da amostra por Emissão Óptica por Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-OES). Fonte: próprio autor**

Ao observar o gráfico fica evidente que os elementos químicos de maiores concentrações são, Alumínio, Magnésio, Ferro e Zinco, esses metais foram detectados através de Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Acoplado Indutivamente e a relação das

substâncias encontradas na amostra de argila verde da Green Clay Farm e suas respectivas quantidades estão expressas na tabela 6.

**Tabela 6: Parâmetros de metais encontrado na argila por Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Acoplado Indutivamente**

<b>Parâmetro</b> <i>Ppm</i>	<b>Unir</b> <i>mg/kg</i>
Alumínio (Al)	9.136,10
Magnésio (Mg)	4.648,06
Titânio (Ti)	9,22
Ferro (Fe)	3.886,78
Zinco (Zn)	179,48
Cobalto (Co)	1,60
Manganês (Mn)	35,63
Cobre (Cu)	11,16
Cádmio (Cd)	0
Bário (Ba)	39,83
Cromo (Cr)	6,43
Arsênio (As)	1,55
Chumbo (Pb)	17,40
Níquel (Ni)	4,54
Vanádio (V)	12,27
Mercúrio (Hg)	0,079

Fonte: próprio autor

A partir dos resultados das análises realizadas através do ICP-OES, expressos na Tabela 6, os elementos químicos verificados na amostra de argila verde, foram expressas pela unidade de medida, partes por milhão (ppm), miligramas por quilograma (mg/kg). Os resultados revelam uma composição química diversificada, destacando-se alguns elementos em particular.

O elemento de maior concentração é o Alumínio (Al) de 9.136,10 ppm, uma presença marcante, que se justifica segundo Gardolinsk (2001) devido a presença do mineral argiloso Caulinita ( $\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$ ) que é um aluminosilicato natural, este resultado está intrinsecamente ligado à natureza da argila verde.

Também se destaca as concentrações de Magnésio (Mg), Ferro (Fe) e Zinco (Zn), nas respectivas concentrações 4.648,06 ppm, 3.886,78 ppm e 179,48 ppm. Esses elementos são característicos da composição mineralógica qualitativa de argila verde, que correspondente a uma mistura de quartzo, esmectita, illita e caulinita. É formada essencialmente de óxido de ferro, magnésio, silício e zinco oferecendo atividade adstringente e purificadora. Sendo assim, eficaz na regulação da oleosidade na pele (AMORIM; PIAZZA, 2012; BUENO; RODRIGUES, 2018; GOPINATH; CRUZ; FREIRE, 2003; SANTANA et al., 2021).

A presença dos elementos, Cobalto (Co), Titânio (Ti), Manganês (Mn) e Cobre (Cu) podem contribuir para a capacidade da argila verde de nutrir a pele e promover a regeneração celular, além de desempenhar um papel nas propriedades antimicrobianas o Co e o Ti mostram potencial em inibição do crescimento de *staphylococcus aureus* bactéria essa responsável por causar infecções cutâneas, estudos relatam que apesar de pouco pesquisado o Mn pode agir inibido bactérias da família *mycobacterium* que também causa infecções na pele (ASSIS, 2008; VALLEJO, 2016; QUIAN, 2022; COSTA, 2012).

Foi detectado na amostra analisada uma concentração de 39,83 ppm de Bário (Ba) um metal alcalino terroso de ocorrência natural no solo. É constituinte de carbonatos, sulfatos e silicatos e ocorre em minerais, como substituto isomórfico de elementos como Ca e K (VÁZQUEZ & ANTA, 2009). Quando disponível em elevados teores no solo, pode causar toxicidade a plantas e invertebrados (KUPERMAN et al., 2006; COSCIONE & BERTON, 2009). Entretanto, um estudo realizado na França por Labarthe e colaboradores (2023), analisou a difusão do bário para o organismo. O experimento utilizou uma argila com um dos maiores teores de Ba disponíveis na França para terapia médica e voluntários com maior característica para difusão transcutânea (indivíduos jovens com baixa massa gorda). As pastas terapêuticas derivadas de argila, são aplicadas na pele para o tratamento de algumas condições reumatológicas. Foi pesquisado vinte e quatro jovens voluntários saudáveis, foram colhidas amostras de sangue e urina no pré e pós-tratamento e analisadas com espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado e nenhum aumento sistemático significativo nos níveis



plasmáticos ou urinários de Ba foi evidenciado, portanto o estudo concluiu inequivocamente que não há risco de superexposição de Ba em pacientes recebendo argiloterapia de acordo com o procedimento utilizado nos spas médicos franceses.

A baixa concentração de Arsênio (As), 1,55 ppm e traços de Mercúrio (Hg) sugere um nível aceitável de segurança, conforme legislações vigentes citadas no texto logo abaixo. Já o elemento Cádmio (Cd), foi testado e foi considerado ausente e a inexistência é um aspecto positivo, indicando um produto livre de elementos potencialmente tóxicos. O cádmio é classificado como uma substância tóxica considerada cancerígena para o ser humano. Em contato com o organismo acumula-se por um longo tempo especialmente nos rins e fígado, ao ser constatado sua meia vida biológica é em torno de 10 anos, podendo chegar a 40 anos no organismo (FERNANDES, 2014).

Em contrapartida foram encontrados Chumbo (Pb) e Vanádio (V) nas concentrações de 17,40 ppm e 12,27 ppm, respectivamente, em um estudo realizado por Whiteside e colaboradores em 2020, testaram as concentrações totais de chumbo em 3 marcas distintas de Argila verde de origem francesa e encontraram concentrações médias de chumbo que variaram de 21,457 a 54,754 ppm, no mesmo estudo foi dosado Arsênio (As) e revelou altas concentrações, na média de 8,483 a 31,607 ppm. Outro dado relevante deste estudo é que ratos com dermatites foram tratados com essas argilas para avaliarem os efeitos nocivos biológicos causados por esses metais, porém observaram que a absorção cutânea não era uma via significativa de absorção, o estudo analisou amostras de pele de camundongos tratados com solução salina, comparados com os tratados com argila e não viram diferenças nas concentrações totais de arsênico e chumbo entre os ratos tratados com solução salina e grupos tratados com argila.

Esses resultados entrelaçados proporcionam uma compreensão abrangente da composição da argila verde, fundamentando sua aplicação em diversos contextos, desde procedimentos estéticos até terapias específicas. A análise desses elementos é respaldada pela legislação vigente, em especial pela Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) Nº 44, de agosto de 2012, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

Por outro lado, é crucial destacar que elementos como Cd, Ba, Cr, As, Pb, Ni, V e Hg, quando presentes em concentrações inadequadas ou formas tóxicas, podem representar riscos à saúde dérmica. Nesse sentido, a presença de Cd e Hg, conhecidos por sua toxicidade, assim



como outros elementos como As, Pb e Ni, demanda cautela em sua utilização em produtos cosméticos.

É relevante salientar que, apesar de suas toxicidades potenciais, as concentrações desses metais na argila verde são mínimas e encontram-se dentro dos padrões estabelecidos pela ANVISA, conforme previsto na RDC Nº 44/2012. De maneira geral, nas suas edições mais recentes, tanto a Farmacopeia Brasileira quanto a Européia (EP) dentro das legislações dos órgãos regulatórios vigentes, destacam a necessidade de testes limites para metais pesados em diversas matérias-primas e produtos acabados. Esses testes estão praticamente presentes em todas as outras farmacopeias. Alguns desses testes são direcionados a elementos específicos, como Pb, Hg, Ni, As, entre outros (BARIN, 2007).

Estabelecer o controle de qualidade é imprescindível na indústria farmacêutica para assegurar que os medicamentos e cosméticos comercializados tenham segurança, eficácia e qualidade comprovada. Os procedimentos realizados a fim de garantir o padrão adequado desses produtos devem estar de acordo com especificações pré-estabelecidas na Farmacopeia Brasileira e compêndios internacionais reconhecidos pela ANVISA, sendo liberados para comercialização após resultados satisfatórios para a utilização destes.

As matérias-primas devem ter documentação contendo testes feitos de algumas propriedades, como características organolépticas, pH, peso médio, densidade, volume, teor de umidade, solubilidade, pureza microbiológica entre outros, para que sejam realizados os mesmos testes afins de comparar e garantir que não houve nenhuma alteração ou violação dos produtos.

**Tabela 7: Testes físico-químicos**

<b>Testes de Físico-químico</b>	<b>Parâmetros</b>
<b>Ph</b>	5,46 em 24,5 °C
<b>Densidade compactada</b>	0,93 g/ml
<b>Densidade não compactada</b>	0,79 g/ml
<b>Solubilidade</b>	Não solúvel em água, álcool e acetona
<b>Teor de umidade argila bruta</b>	37%
<b>Teor de umidade argila processada</b>	2,51%
<b>Cor</b>	Verde menta

<b>Brilho</b>	Brilhoso opaco
<b>Odor</b>	Suave característico da argila
<b>Sensação de tato</b>	Liso

Fonte: próprio autor

O pH desempenha um papel crucial nas formulações de produtos cosméticos, especialmente para garantir sua compatibilidade com a pele humana. O pH medido foi de 5,46, caracterizado como ligeiramente ácido. Isso sugere que o pH da argila pode manter o equilíbrio natural da pele, estando alinhado com a faixa de pH da pele humana, que varia de 4,7 a 5,75. Essa similaridade pode contribuir para uma pele mais saudável e protegida. O conhecimento do pH é essencial para orientar o desenvolvimento de formulações específicas de cosméticos.

Outro ponto importante é a análise da Densidade Compactada e Não Compactada, revelando diferenças estruturais que afetam as propriedades físicas dos produtos cosméticos, como textura, absorção e aplicação na pele. Em comparação com um estudo anterior sobre densidade de argilas (DIAS, 2019), foram encontrados valores variando de 3,285 g/ml a 0,808 g/ml. Neste estudo revelou densidades de 0,93 g/ml para a argila compactada e 0,79 g/ml para a não compactada. Essa variação sugere diferenças na estrutura física da argila, indicando maior porosidade ou menor compactação em sua forma original, com uma considerável densificação após o processo de compactação.

A argila se mostrou insolúvel em água, álcool e acetona, uma característica vantajosa para sua aplicação em formulações cosméticas, pois não se degrada rapidamente como substâncias hidrossolúveis, mantendo uma durabilidade maior (ROCHA, 2022). Isso permite a incorporação estável da argila em produtos, sem dissolução ou perda de suas propriedades desejáveis.

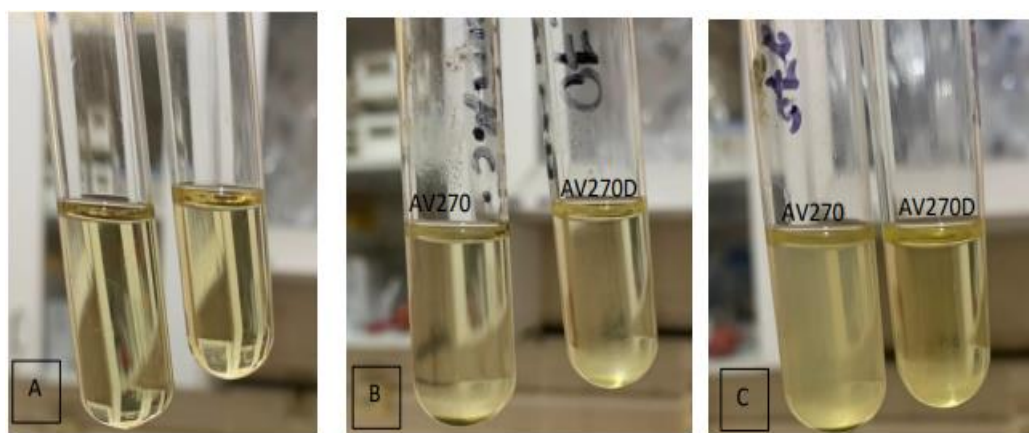
O teor de umidade da argila bruta é de 37% e da argila processada é de 2,51%, essa redução na concentração de água indica um processo eficaz de secagem ou purificação da argila natural para a argila refinada. A redução significativa no teor de umidade é crucial para a estabilidade do produto, garantindo durabilidade e prevenindo o crescimento indesejado de microrganismos. Essa redução contribui para a consistência e eficácia dos produtos cosméticos nos quais a argila é utilizada. Segundo Souza Santos (1975), as argilas não eliminam completamente a água intercalada, de coordenação e adsorvida, as temperaturas inferiores a 250°C. Portanto, abaixo dessas temperaturas, os valores dificilmente se manterão constantes.

Na análise organoléptica são descritas as características, sensoriais, além da cor, brilho e odor. A cor indicada é verde menta, que segundo Branco (2014) são devidos dos compostos de

ferro na forma reduzida, presentes em minerais como clorita, montmorillonita e glauconita. Em alguns casos, a cor pode ocorrer devido a minerais de cobre ou olivinas. O brilho opaco pode sugerir uma superfície luminosa, mas não refletiva, a sua aparência sofre influência da secagem e do processamento de trituração. O odor suave característico da argila, gera um fator relevante para a aceitação do produto por parte dos consumidores e pode influenciar na percepção sensorial durante o uso. A sensação tátil descrita como lisa propõe uma textura suave ao toque, esse aspecto é crucial, pois afeta a experiência do usuário ao aplicar produtos cosméticos contendo argila. Essas características organolépticas fornecem uma visão inicial e subjetiva das propriedades da argila e realçam as percepções sensoriais que podem influenciar na aceitação e na eficácia dos produtos cosméticos que a contenham.

O processo de análise microbiológica visa confirmar a ausência de alguns microrganismos ou verificar o limite máximo permitido por lei dos seguintes agentes: Bactérias Totais, coliformes totais, fecais e Clostrídios sulfito redutores (exclusivamente para talcos).

A amostra AV 270 é a que não passou pelo processo de desinfecção, já a amostra AV 270 DESINFEC (AV 270D) houve o processo de descontaminação por calor seco, os resultados da análise microbiológica obtidos podem ser observados nas figuras 7, 8 e 9.

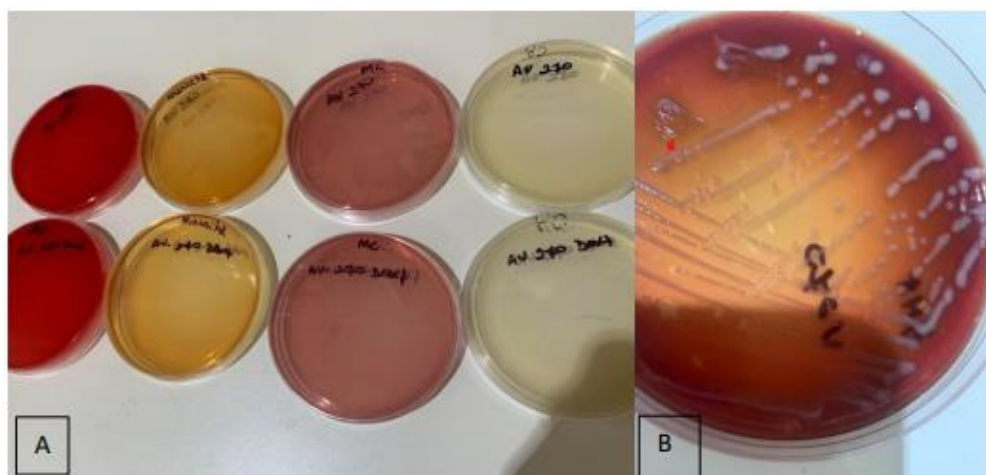


Legenda: A) Meio LB e BHI estéril. B) Meio LB com AV 270 e AV 270D após incubação. C) Meio BHI com AV 270 e AV 270D após incubação.

**Figura 10: Crescimento bacteriano observado na amostra AV270 (BHI) após o período de 24 horas de incubação a 35°C.**

Na figura 7A estão os meios LB e BHI, estéreis. Na figura 7B não foi observado crescimento bacteriano no meio LB contendo as amostras AV 270 e AV 270D. Quando se

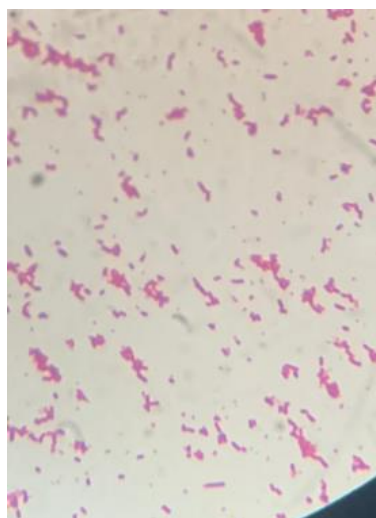
analisou o meio BHI foi observado crescimento bacteriano relacionado a amostra AV 270 e não foi observado crescimento na cultura correspondendo à amostra AV 270D (Figura C).



Legenda: A) Placas de petri de ágar Sangue, Manitol, MacConkey e Chromagar. B) Cultura de ágar sangue da amostra AV 270.

**Figura 11: Resultado da cultura bacteriana semeadas nos meios de cultura ágar após o período de 24 horas de incubação a 35°C.**

Para confirmação dos resultados, como visto na figura 8, todas as culturas foram semeadas nos meios de cultura ágar Sangue, ágar Manitol, ágar MacConkey, ágar Chromagar. E não houve crescimento microbiológico nas placas correspondentes às culturas do meio LB e nem no meio BHI, nas culturas correspondentes a amostra AV 270D. No entanto observamos o crescimento bacteriano no meio de cultura de ágar sangue da amostra AV 270 como pode ser observado na figura 8B.



**Figura 12: Resultado da coloração de Gram a amostra AV 270 semeada no ágar sangue**

O crescimento bacteriano da amostra AV 270 observado no ágar sangue foi submetido a coloração de gram. Na análise foi observado que consiste em uma bactéria bacilo Gram negativo conforme notado na figura 9.

Silva (2011) realizou uma pesquisa com algumas amostras de argila e os resultados das avaliações microbiológicas indicaram que há microrganismos presentes. Portanto, as amostras foram esterilizadas e novas avaliações microbiológicas foram realizadas. A ausência de microrganismos na segunda avaliação microbiológica realizada mostra a importância da descontaminação neste processo, visto que, após a esterilização as amostras apresentaram resultados negativos. Corroborando com os resultados apresentados neste estudo.

## **5. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Os resultados e discussões revelam a diversidade de propriedades e funções dos metais e semimetais presentes na argila, destacando sua influência na saúde e nos cuidados com a pele. A análise detalhada dos elementos, como alumínio, magnésio, ferro, zinco, cobalto, titânio, manganês, cobre, bário, arsênio, mercúrio, cádmio, chumbo e vanádio, fornece uma compreensão abrangente da composição da argila verde da Green Clay Farm.

A concentração significativa de alumínio, associada à presença de caulinita na argila, destaca-se, juntamente com os benefícios de magnésio, ferro e zinco na regulação da oleosidade da pele. A presença de elementos como cobalto, titânio, manganês e cobre sugere propriedades nutritivas e regenerativas, contribuindo para a saúde da pele e a inibição do crescimento bacteriano.

A presença controlada de bário, reforça a segurança do uso dessa substância. A baixa concentração de arsênio, a ausência de cádmio e os níveis aceitáveis de mercúrio indicam a conformidade da argila com as legislações vigentes, como a RDC Nº 44/2012 da ANVISA.

Por outro lado, a presença de chumbo e vanádio, embora dentro dos limites regulatórios, ressalta a necessidade de cautela, pois em altas concentrações pode causar toxicidade como citado em outros artigos. A análise integrada dos resultados fornece uma base sólida para a aplicação da argila verde em diversos contextos cosmetológicos, desde procedimentos estéticos até terapias específicas.

A discussão sobre toxicidades potenciais destaca a importância do cumprimento das legislações e normas regulatórias, especialmente no que diz respeito a elementos como bário,

cromo, arsênio, chumbo, níquel, vanádio e mercúrio. Estes estão em conformidade com a RDC Nº 44/2012 da ANVISA, porém a EC nº 1223/2009 da união europeia em seu anexo consta a proibição desses metais em produtos cosméticos, sendo assim, sugere-se testes complementares dos produtos cosméticos para averiguar a perfusão desses metais na pele.

Não foram observados crescimento bacteriano da amostra AV 270D em nenhuma condição submetida nesta análise. Observou-se crescimento bacteriano da amostra AV 270 no meio BHI e no ágar sangue. O meio BHI (Brain Heart Infusion Broth), que pode ser traduzido para Caldo Cérebro Coração é um meio de cultura rico e indicado para o desenvolvimento de microrganismos exigentes. Portanto o método utilizado para descontaminação da amostra foi eficiente, visto que, o método do calor seco causa a morte celular pelo fato da penetração do calor oxidar as células bacterianas, resultando na esterilização da amostra

A análise do pH, densidade compactada e não compactada, solubilidade e teor de umidade contribui para uma compreensão mais profunda das propriedades físicas da argila. O pH levemente ácido sugere compatibilidade com a pele, enquanto a solubilidade limitada e a redução no teor de umidade após processamento garantem a estabilidade e eficácia dos produtos cosméticos que a contêm.

Em síntese, a argila verde da empresa Green Clay Farm apresenta uma composição rica em elementos benéficos para a pele, com resultados que respaldam sua aplicação segura e eficaz em produtos cosméticos.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMORIM, M. I.; PIAZZA, F. P. Uso das argilas na estética facial e corporal. Universidade do Vale do Itajaí, 2012.

ATSDR - Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological Profile for Arsenic. U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES. Public Health Service. Atlanta, Georgia. 2007.

ATSDR - Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological Profile for Barium. U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES. Public Health Service. Atlanta, Georgia. 2021.

ATSDR - Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological Profile for Manganês. U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES. Public Health Service. Atlanta, Georgia. 2021.

ATSDR - Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological Profile for Mercury. U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES. Public Health Service. Atlanta, Georgia. 1999.

ATSDR - Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological Profile for Vanadium. U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES. Public Health Service. Atlanta, Georgia. 2021.

BARIN, Juliano Smanioto et al. Desenvolvimento de procedimentos alternativos de preparo e de determinação de metais pesados em fármacos tricíclicos. 2007. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Santa Maria.

BERGAYA, F.; THENG, B.C.G.; LAGALY, G. Handbook of clay science. In:\_\_\_\_\_. General introduction: Clay, clays minerals and clay science. Amsterdam: Elsevier, 2006. Cap. 1. p. 1-18.

BRANCO, P. M. Minerais Argilosos. Serviço Geológico do Brasil – CPRM. 18 de agosto de 2014.

BRASIL. Farmacopeia Brasileira, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, v.1, 6ª ed. p.415, 2019.



BUENO, A. K. DE J.; RODRIGUES, D. S. As propriedades das argilas na atividade celular. Revista Leia Cambury, v. 1, n. 1, 2018.

CIENFUEGOS F. e VAITSMAN, D. Análise instrumental. Rio Janeiro: Interciências, 2000.

COSCIONE, A.R. & BERTON, R.S. Barium extraction potencial by mustard, sunflower and castor bean. Sci. Agric., 66:59-63, 2009.

COSTA, A. Tratado Internacional de Cosmecêuticos. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012. ISBN: 978-85277-2146-2.

DRUG BANK. Drug Bank. Disponível em:  
<<https://go.drugbank.com/drugs/DB11136#reference-L1982>>. Acesso em: 2023.

FERNANDES, Lisiane Heinem; MAINIER, Fernando Benedicto. Os riscos da exposição ocupacional ao cádmio. Sistemas & Gestão, v. 9, n. 2, p. 194-199, 2014.

GARDOLINSKI J. E. C. F.; WYPYCH F. Química Nova, 2001. p.761-767.

GOLDIN, A. Reassessing the use of loss-on-ignition for estimating organic matter content in noncalcareous soils. Commun. Soil Sci. Plant. Anal., 18:1111-1116, 1987.

GOPINATH, T. R.; CRUZ, V. C. DE A.; FREIRE, J. A. Estudo comparativo da composição química e as variedades de argilas bentoníticas da região de Boa Vista, Paraíba. Open Journal Systems, v. 16, n. 1, 2003.

GRAHAM, T.W. Trace element deficiencies in cattle. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice, v.7, n.1, p.153-215,1991.

HOU, X. e JONES, B. T. Inductively coupled plasma/ optical emission Spectrometry. In: MEYERS, R. A. (Ed.) Encyclopedia of analytical chemistry applications, theory and instrumentation, John Wiley & Sons: Chichester, 2000. p. 9468-9485.

JARDIM, W. F.; SODRÉ, F. F. Desempenho analítico de laboratórios prestadores de serviço na determinação de metais em águas. Química Nova. Vol. 32(4), p. 1083-1088, 2009.

KUPERMAN, R.G.; CHECKAL, R.T.; SIMINI, M.; PHILLIPS, C.I.; SPEICHER, J.A. & BARCLIFT, D.J. Toxicity benchmarks for antimony, Ba and beryllium determined using



reproduction endpoints for *Folsomia candida*, *Eisenia fetida* and *Enchytraeus crypticus* Environ. Toxic. Chem., 25:754-762, 2006.

LABARTHE, Sébastien et al. “Assessment of barium diffusion from therapeutic mud wrapped in micro-perforated polyethylene bags towards the human organism.” International journal of biometeorology. Vol. 67,5, 2023.

LEHNINGER, A. L. Princípios de bioquímica. São Paulo: Savier, 1985. p. 194, 195 e 553.

LIU, Jie; GOYER, Robert A.; WAALKES, Michael P. Efeitos tóxicos dos metais. In: KLAASEN, Curtis D. e III WATKINS, John B. Fundamentos da toxicologia de Casarett e Doull. Porto Alegre: AMGH, 2021.

LÓPEZ-GALINDO, A., VISERAS, C. Clay Surfaces: Fundamentals and Applications. In: Wypych, F., Satyanarayana, K.G. Pharmaceutical and cosmetic applications of clays. Ed Amsterdam, Elsevier, 2004. Cap 9. p. 267–289, 2004.

MATTIOLI, M; GIARDINI, L; ROSELLI, C; DESIDERI, D. Mineralogical characterization of commercial clays used in cosmetics and possible risk for health. Applied Clay Science. V.119. p. 449-454. 2016.

OLESIK, J. W. Elemental analysis using an evaluation and assessment of remaining problems. Analytical Chemistry. vol. 63, 1 ed, p. 12A-21A, 1991.

ROCHA, Caroline Sagrilo et al. A NANOTECNOLOGIA APLICADA AOS COSMÉTICOS: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA. 2022.

SILVA, M. L. G. Obtenção e caracterização de argila piauiense paligorsquita (atapulgita) organofilizada para uso em formulações cosméticas. 2011. 106 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2011.

## **Anexos**

[Certificados das amostras de referências de contaminantes de solo SS-2 da SCP-SCIENCE.pdf](#)

[Anexo tabela comparativa.pdf](#)

[RELATORIO ANALISE MICROBIOLÓGICA\[1\].pdf](#)

**X**

---

Letícia Schirmer Calcagnotto  
Farmacêutica - Coordenadora

**X**

---

Júlio Sancho L. T. Militão  
Químico

**X**

---

Almeida A. Casseb  
Biólogo