



7º CONGRESSO BRASILEIRO DE EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA



07 a 09 de setembro de 2016

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE SABONETES CONTENDO ÓLEO DE BURITI

Área temática: Saúde

Thaís Conceição Morato¹; Flávia Dias Marques-Marinho¹

¹Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP); Escola de Farmácia (EF); Pró-Reitoria de Extensão (ProEx)

Resumo: A produção de sabonetes de óleo de buriti pelos moradores da Estação Ecológica de Uruçuí-PI tem lhes proporcionado trabalho e renda. A qualidade microbiológica de 4 lotes foi avaliada, por 6 meses, pelos métodos filtração por membrana e contagem em placa, este último mostrou-se mais adequado. As amostras cumpriram os limites legais para comercialização.

Palavras chave. Avaliação microbiológica; sabonete; óleo de buriti.

1. Introdução

A Estação Ecológica (ESEC) de Uruçuí – PI abrange uma área de 135.000 hectares, onde residem, aproximadamente, 100 famílias. Os moradores da reserva ESEC sofrem com o descaso do governo a mais de 30 anos e vivem em um local onde os serviços básicos que garantem os direitos humanos são restritos (LESTINGE *et al.*, 2013). Contudo, a ESEC possui riquezas naturais como o buriti (*Mauritia flexuosa* L.f.), espécie abundante na região, cujo óleo tem sido amplamente utilizado pelas indústrias cosmética e alimentícia devido à tendência mundial do emprego de constituintes vegetais em diversos produtos (BIGHETTI *et al.*, 2008; LESTINGE *et al.*, 2013). O buriti se tornou então, uma promissora fonte de renda para as famílias da ESEC. A produção artesanal de sabonetes contendo óleo de buriti pelos moradores da reserva tem transformado a realidade da comunidade, uma vez que, valoriza os conhecimentos tradicionais, proporciona a geração de trabalho e renda aos moradores (LESTINGE *et al.*, 2013).

ISBN: 978-85-93416-00-2



Apelo:





7º CONGRESSO BRASILEIRO DE EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA



07 a 09 de setembro de 2016

Sabonetes são produtos de higiene pessoal e devem apresentar os requisitos mínimos de qualidade para que seu uso não ofereça risco à segurança dos consumidores. Diante disso, é necessário atestar que o produto cumpre as exigências legais de modo que sua comercialização seja aprovada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) (ARAUJO, 2013). Neste contexto, a adoção de medidas de higiene é fundamental e deve abranger instalações, equipamentos e funcionários, bem como incluir o uso de equipamentos de proteção individual adequados (BRASIL, 2013) para atestar que o produto cumpre as exigências legais necessárias à aprovação de sua comercialização pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) (ARAUJO, 2013).

Algumas técnicas de produção de sabonete de buriti descritas se baseiam na trituração e fusão da base glicerinada, na qual é incorporado o óleo de buriti com mistura até obtenção de uma massa homogênea. Posteriormente, são adicionados os demais componentes da formulação e a mistura final é vertida em moldes para solidificação em temperatura ambiente (BIGHETTI *et al.*, 2008). Por fim, o produto é embalado e rotulado.

Os sabonetes, assim como outros produtos de higiene, cosméticos, medicamentos e alimentos, podem sofrer contaminação microbiana desde o processo de manipulação até a sua utilização. Os micro-organismos contaminantes potencialmente patogênicos ou não, podendo alterar as propriedades físicas e/ou químicas do produto. Para garantir a qualidade dos sabonetes, devem ser realizados ensaios preconizados na Farmacopeia Brasileira para determinação do número de micro-organismos viáveis e, se necessária, a pesquisa de patógenos. O número de micro-organismos viáveis no produto deve estar dentro dos limites especificados (ARAUJO, 2013).

A fim de contribuir para a qualidade dos sabonetes contendo óleo de buriti, produzidos pelos moradores da ESEC, foram realizadas análises microbiológicas mensais de amostras de sabonetes contendo óleo de buriti, empregando dois diferentes métodos farmacopeicos, durante seis meses, para o conhecimento das características de qualidade do produto e identificação do método de análise mais adequado, visando



7º CONGRESSO BRASILEIRO DE EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA



07 a 09 de setembro de 2016

propiciar ao envolvido o aprimoramento de habilidades técnicas e o desenvolvimento do senso investigativo e conhecimento científico.

2. Material e Metodologia

Amostras de três lotes de sabonetes contendo óleo de buriti e um lote de sabonete sem óleo de buriti, preparados artesanalmente foram enviadas pelos produtores da ESEC de Uruçuí – PI. De cada lote, oito unidades em sua embalagem original tiveram suas massas determinadas em balança analítica e registradas. Os resultados foram empregados na avaliação da variação de peso (BRASIL, 2010).

Meios de cultura ágar caseína-soja (lote 121213201, Kasvi®) e ágar Sabouraud-dextrose (lote 106675, Acumedia®) foram avaliados quanto à esterilidade (não menos que 72 horas) e capacidade nutritiva (BRASIL, 2010). Micro-organismos padrão *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538, INCQS 00039), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027, INCQS 00230) e *Candida albicans* (ATCC 10231, INCQS 40006) foram utilizados no preparo de inóculos padronizados de forma a conter não mais que 100 unidades formadoras de colônias (UFC)/ml. A manutenção das cepas microbianas foi realizada pela transferência de células para tubos contendo os meios de cultura ágar caseína-soja (30-35 °C, 18-24 horas) para as bactérias e ágar Sabouraud-dextrose (20-25 °C, 2-3 dias) para fungo (BRASIL, 2010). Fosfato de potássio monobásico, fosfato de sódico bibásico, cloreto de sódio e peptona foram utilizados no preparo do diluente solução salina peptonada tamponada (SSPT). Todos os meios e diluentes foram esterilizados em autoclave a 121 °C por 15 minutos (BRASIL, 2010).

Foram empregados agitador de tubos vórtex, autoclaves, balança analítica, banho-maria, bomba de vácuo, chapa aquecedora, deionizador de água, espectrofotômetro, estufas, cabine de fluxo laminar, refrigerador e medidor de pH, dentre outros equipamentos disponíveis no Laboratório de Controle de Qualidade Biológico do Instituto José Badini foram utilizados nas análises microbiológicas. Além das vidrarias comuns de laboratório tais como bastão de vidro, erlenmeyers, kitsatos, pipetas graduadas de 1 mL e 10 mL, placas de Petri, provetas, sistema de filtração, tubos de ensaio; bem como demais instrumentos de laboratório microbiológico, alça



7º CONGRESSO BRASILEIRO DE EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA



07 a 09 de setembro de 2016

bacteriológica, fita indicadora de autoclavação, fita crepe, membranas de 0,45 µm de diâmetro, papel kraft, suportes.

Método contagem em placa: 10 g das amostras de sabonete contendo óleo de buriti, previamente fragmentadas por raspagem, foram diluídos em 90 mL de SSPT previamente aquecida a 43° C (diluição 1:10 da amostra). Esta solução foi submetida a diluições sucessivas 1:100 e 1:1000 no mesmo diluente. De cada diluição, transferiu-se 1 mL para placas de Petri (n=4), a metade adicionaram-se 15 mL de ágar caseína-soja e a outra metade, mesmo volume de ágar Sabouraud-dextrose, ambos mantidos a 46–48 °C. As análises foram realizadas mensalmente, por seis meses para acompanhamento da estabilidade microbiológica dos sabonetes.

Método de filtração por membrana: 10 mL da amostra diluída (1:10) aquecida a 45 °C foram transferidos para membrana e a filtração realizada imediatamente, em condições assépticas. A membrana foi lavada pelo menos três vezes com aproximadamente 100 mL de água destilada esterilizada e transferida para a superfície de uma placa contendo ágar caseína-soja solidificado. O procedimento foi repetido e a membrana transferida para a superfície de uma placa contendo ágar Sabouraud-dextrose solidificado.

As placas contendo ágar caseína-soja (bactérias) foram incubadas a 30-35 °C por 3-5 dias e, e àquelas contendo ágar Sabouraud-dextrose (fungos) a 20-25 °C por 5-7 dias. Em caso de ser observado o crescimento de bactérias em ágar caseína-soja, procedeu-se a pesquisa dos micro-organismos com potencial patogênico *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* (BRASIL, 2010). Os controles negativos foram preparados empregando as mesmas técnicas, porém na ausência da amostra. Os controles positivos de cada micro-organismo: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans* foram preparados por adição de 1 mL de inóculo padronizado de micro-organismo na ausência e na presença da amostra empregando as técnicas estabelecidas.



7º CONGRESSO BRASILEIRO DE EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA

07 a 09 de setembro de 2016



3. Resultados e Discussões

A análise visual possibilitou identificar variação no tamanho dos sabonetes dentro de um mesmo lote, em todos os lotes analisados. Os resultados da determinação da massa das unidades de cada lote de amostra são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Massa das unidades de sabonete contendo óleo de buriti (I, II, III) ou não (IV)

| Unidade | Massa (g) das unidades do lote | | | |
|---------------|--------------------------------|--------------|--------------|--------------|
| | I | II | III | IV |
| 1 | 78,75 | 83,30 | 77,81 | 79,25 |
| 2 | 75,62 | 84,36 | 67,69 | 81,33 |
| 3 | 83,34 | 89,36 | 74,18 | 85,86 |
| 4 | 82,71 | 82,97 | 79,28 | 80,55 |
| 5 | 97,18 | 78,55 | 82,72 | 79,58 |
| 6 | 70,62 | 81,85 | 75,73 | 78,86 |
| 7 | 77,00 | 84,78 | 79,26 | 75,73 |
| 8 | 79,22 | 80,74 | 77,04 | 81,08 |
| Média | 80,56 | 83,24 | 76,71 | 80,28 |
| Desvio padrão | 7,83 | 3,19 | 4,46 | 2,86 |

Não foi encontrada legislação vigente referente aos limites de variação de massa para produtos de higiene pessoal. A Portaria n°95 de 22 de agosto de 1997 do Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial – INMETRO, que estabelecia a metodologia para execução da verificação da quantidade líquida de sabonetes em barra e os critérios para sua comercialização foi revogada em 21 de março de 2007 pela Portaria INMETRO n°103 (MINISTÉRIO, 1997; MINISTÉRIO, 2007). Considerando que os sabonetes enviados pelos moradores da ESEC são comercializados com peso de 90 gramas, todos os lotes apresentaram unidades de massa inferior àquela declarada. Apenas uma unidade, do lote I, apresentou valor superior a 90 gramas. Menor valor de desvio padrão foi observado no lote IV isento de óleo de buriti, o que sugere que a adição do óleo de buriti pode interferir na homogeneidade de massa entre as unidades. Os resultados revelam a necessidade de adoção de medidas para padronizar o tamanho dos sabonetes de forma que contenham 90 gramas.



7º CONGRESSO BRASILEIRO DE EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA



07 a 09 de setembro de 2016

Staphylococcus aureus, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans* foram utilizados como controles, uma vez que, estes micro-organismos não devem estar presentes em preparações para uso tópico, e em produtos de higiene íntima (BRASIL, 2010), além de serem mencionados entre os principais contaminantes de cosméticos (ARAUJO, 2013). *Staphylococcus aureus* é encontrado na pele, fossas nasais, intestino. *Pseudomonas aeruginosa* é frequentemente encontrada na área de produção, em áreas com resquícios de água, principalmente, após a higienização (ARAUJO, 2013). Suspensões padronizadas de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans* foram obtidas a 25%, 20% e 26% de transmitância, respectivamente, para posterior diluição.

Os meios de cultura ágar caseína soja e ágar Sabouraud-dextrose promoveram o crescimento de bactérias (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*) e fungos (*Candida albicans*), respectivamente, comprovando a capacidade nutritiva dos meios e a viabilidade das suspensões microbianas. Não houve crescimento microbiano nas placas dos meios após 72 horas de incubação em condições adequadas, comprovando a esterilidade dos meios.

Independentemente do método, os controles negativos dos meios ágar caseína-soja e ágar Sabouraud-dextrose, realizados em duplicata, não apresentaram crescimento microbiano após incubação em condições adequadas de tempo e temperatura, comprovando a esterilidade do meio de cultura, diluente e materiais, como por exemplo, placas de Petri, tubos de ensaio e pipetas, utilizados no ensaio.

Houve crescimento de colônias microbianas isoladas nos controles positivos preparados a partir dos micro-organismos *Staphylococcus aureus* (75 UFC/mL), *Pseudomonas aeruginosa* (60 UFC/mL), em ágar caseína-soja e *Candida albicans* (38 UFC/mL) em ágar Sabouraud-dextrose. No teste empregando micro-organismo na presença da amostra, houve recuperação satisfatória não inferior a 50% de *Staphylococcus aureus* (60,6%), *Pseudomonas aeruginosa* (103,3%) e *Candida albicans* (94,8%) nas amostras (BRASIL, 2010). Tais resultados indicaram não haver interferência de constituintes da amostra no crescimento de bactérias e fungos.

ISBN: 978-85-93416-00-2

Realização:



Patrocínio:



Apoio:





7º CONGRESSO BRASILEIRO DE EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA

07 a 09 de setembro de 2016



As amostras de sabonetes foram fragmentadas por raspagem, e a camada superficial, mais susceptível a contaminação microbiana, foi empregada na análise. Os resultados das amostras dos lotes de sabonetes pelo método de contagem em placa por profundidade não revelaram o crescimento de bactérias mesófilas em ágar caseína-soja e de bolores em ágar Sabouraud-dextrose. Sendo assim, as amostras de todos os lotes de sabonetes de óleo de buriti cumpriram os requisitos estabelecidos pela Anvisa na Resolução Diretoria Colegiada nº 481, de 23 de setembro de 1999 para contagem total de micro-organismos mesófilos aeróbios totais, de não mais que 5.000 UFC/g (BRASIL, 1999), bem como, os limites microbianos para produtos não estéreis da Farmacopeia Brasileira, de 200 UFC/g na contagem total de bactérias aeróbicas e 20 UFC/g na contagem total de fungos/leveduras (BRASIL, 2010).

O uso do método de filtração por membrana para a contagem do número total de micro-organismos mesofílicos nas amostras de sabonete, não se mostrou adequado, pois houve entupimento dos poros da membrana pela amostra. Tal fato decorreu da dificuldade de manutenção da temperatura da amostra e do sistema filtrante a 45 °C durante todo o procedimento de modo a garantir a solubilidade da amostra. Além disso, este método requer a utilização de equipamento e de membranas de filtração de custo elevado em relação ao método de contagem em placa por profundidade. Logo, o método de contagem em placa por profundidade mostrou-se mais adequado para análise das amostras de sabonete, visto que se mostrou efetivo, e de simples execução e custo acessível quando comparado ao método de filtração por membrana. Este método foi empregado na análise das amostras dos lotes ao longo do tempo. Nenhum crescimento microbiano foi observado nas placas contendo ágar caseína-soja e Sabouraud-dextrose das amostras dos lotes de sabonetes contendo óleo de buriti, em qualquer dos seis meses de análise.

4. Conclusão

O estudo da Resolução de Diretoria Colegiada Nº 48 de 25 de outubro de 2013 e da Resolução de Diretoria Colegiada Nº 481 de 23 de setembro 1999 e de guias



7º CONGRESSO BRASILEIRO DE EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA



07 a 09 de setembro de 2016

relacionados a cosméticos e produtos de higiene possibilitou a avaliação da qualidade microbiológica do óleo de buriti e das amostras de sabonetes;

O método de contagem em placa por profundidade foi adequado para determinação do número total de micro-organismos mesofílicos em amostras de sabonetes contendo óleo de buriti;

As amostras dos quatro lotes de sabonetes analisadas durante seis meses apresentaram qualidade microbiológica em conformidade com os limites estabelecidos por lei.

5. Referências

ARAÚJO, Ana Carolina Fernandes. **Avaliação da qualidade microbiana de sabonetes comercializados em feiras de artesanato de Brasília**. 2013. 72 p. – Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2013.

BIGHETTI, Aparecida Érica *et al.* **Desenvolvimento de sabonete em barra com óleo de buriti (*Mauritia flexuosa* L.)**. *Infarma – Informativo Profissional do Conselho Federal de Farmácia*. Brasília, v. 20, n. 5/6, p. 10-16, 2008.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia Brasileira**. 5 ed. Brasília: ANVISA; 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº. 48, de 25 de outubro de 2013**. Aprova o regulamento técnico de boas práticas de fabricação para produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes, e dá outras providências. *Diário Oficial da União*, Brasília, 28 out 2013b, seção 1, p. 59.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº. 481, de 23 de setembro de 1999**. Estabelece os parâmetros de controle microbiológico para os produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes. *Diário Oficial da União*, Brasília, 23 set 1999, seção 1.

LESTINGE, Sandra *et al.* **Agregar valor ao ouro do Cerrado: o buriti (*Mauritia flexuosa* L.) na melhoria da qualidade de vida dos trabalhadores rurais da Estação Ecológica de Uruçuí-Una/PI**. Uruçuí, 2013.

MINISTÉRIO da Indústria, do Comércio e do Turismo. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial – INMETRO. **Portaria nº 95, de 22 de agosto de 1997**. Aprova o regulamento Técnico Metrológico que estabelece os critérios para comercialização e metodologia para execução do exame de verificação da quantidade líquida dos produtos sabão e sabonete em barra. 1997. *Diário Oficial da União*, Brasília, 27 ago 1997, seção 1, p. 18683-5.

ISBN: 978-85-93416-00-2



7º CONGRESSO BRASILEIRO DE EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA



07 a 09 de setembro de 2016

MINISTÉRIO da Indústria, do Comércio e do Turismo. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial – INMETRO. **Portaria nº 95, de 22 de agosto de 1997.** Aprova o regulamento Técnico Metrológico que estabelece os critérios para comercialização e metodologia para execução do exame de verificação da quantidade líquida dos produtos sabão e sabonete em barra. 1997. *Diário Oficial da União*, Brasília, 27 ago 1997, seção 1, p. 18683-5.

MINISTÉRIO do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial – INMETRO. **Portaria INMETRO nº 103, de 21 de março de 2007.** *Diário Oficial da União*, Brasília, 23 mar 2007, seção 1, p. 104.

ISBN: 978-85-93416-00-2

Realização:



Patrocínio:



Apoio:

