

ESCOLA SUPERIOR DE TECNOLOGIA DA SAÚDE
DO PORTO
INSTITUTO POLITÉCNICO DO PORTO

Andreia Carina Martins Rebelo

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE QUÍMICA E
MICROBIOLÓGICA DE TINTAS
DIDÁCTICAS DO ENSINO PRÉ-ESCOLAR

Dissertação submetida à Escola Superior de Tecnologia da Saúde do Porto para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Ambiente, Higiene e Segurança em Meio Escolar, realizada sob a orientação científica da Prof. ^ª Dr.^ª Manuela Vieira da Silva, da área científica de Saúde Ambiental.

O u t u b r o , 2 0 1 1

Agradecimentos

A realização deste trabalho não teria sido possível sem o contributo fundamental de várias pessoas, às quais desde já expressei o meu profundo reconhecimento. Quero agradecer em especial:

À minha orientadora, Prof.^a Dr.^a Manuela Vieira da Silva, pela sua orientação, ensinamento, disponibilidade e apoio, fundamentais para a realização deste trabalho;

À Marisa Freitas e ao Edgar Pinto, por toda a ajuda e contributo imensurável na realização deste trabalho;

À Joana Santos, pelo auxílio e apoio que sempre demonstrou;

Ao gabinete de Saúde Ambiental da Escola Superior de Tecnologia da Saúde do Porto, em especial à Prof.^a Mafalda Nunes, à Matilde Rodrigues, à Mafalda Aguiar e ao Rui Oliveira pelo apoio demonstrado;

Ao Luís, um agradecimento muito especial pela paciência, motivação e ajuda;

Aos meus pais e irmã, por todo o amor e carinho;

Aos meus avós, Lucinda e Francisco, um obrigado muito especial por terem possibilitado que chegasse até aqui;

E por último, mas não menos importante, às Educadoras de Infância e Responsáveis pelos estabelecimentos de ensino que me acompanharam durante as visitas e que demonstraram sempre disponibilidade.

Resumo

As tintas utilizadas nas actividades didácticas possuem na sua composição ingredientes que dada a sua natureza, modo de fabrico e de utilização, podem representar um risco para a saúde das crianças. Neste âmbito, procurou-se com este estudo avaliar a qualidade química e microbiológica das tintas utilizadas pelas crianças no ensino pré-escolar. Vinte e nove amostras de tintas, incluindo guaches, tintas de águas, digitintas e tintas para pinturas faciais foram recolhidas em oito estabelecimentos de ensino, nomeadamente, Jardins de Infância, do conselho de Vila Nova de Gaia. A avaliação microbiológica envolveu não só a determinação da concentração microbiana presente nas amostras, como também, a avaliação da estabilidade microbiana nas tintas das espécies *S.aureus* e *E.coli*. Na avaliação química procedeu-se à determinação da concentração dos metais chumbo (Pb), cádmio (Cd), crómio (Cr), cobalto (Co), níquel (Nq), manganês (Mn), cobre (Cu) e zinco (Zn) quer em algumas das amostras recolhidas nos estabelecimentos de ensino, quer em tintas adquiridas em três estabelecimentos comerciais. Os resultados obtidos da avaliação microbiológica revelam uma contaminação estática na generalidade das tintas. Três amostras de tintas apresentaram ainda elevada contaminação por fungos, nomeadamente *Aspergillus spp.* e *Trichophyton spp.* Da avaliação da estabilidade microbiana das espécies *S.aureus* e *E.coli* observou-se uma sensibilidade das mesmas às tintas, sendo evidenciado, em alguns casos, um decrescimento da concentração ao longo do tempo de exposição, e noutros, uma sensibilidade imediata. A espécie *S.aureus* revelou, contudo, maior capacidade de resistência que a *E.coli*. Os resultados obtidos da avaliação química revelaram a presença de Cr em todas as amostras, registando as tintas adquiridas em estabelecimentos comerciais concentrações mais elevadas para este metal. Os metais Cu e Zn foram detectados, em algumas amostras de tintas artísticas, em concentrações acima dos valores limites. Nas tintas para a cara foram encontrados os metais Pb, Cd, Cr e Nq, cuja utilização é interdita nestes produtos. O conhecimento das características químicas e microbiológicas das tintas utilizadas por crianças do ensino pré-escolar revelou-se de grande importância, nomeadamente, para a determinação dos riscos a que este grupo de indivíduos pode estar exposto no seu dia-a-dia quando utilizam estes produtos.

Palavras-chave: crianças, tintas, actividades didácticas, qualidade química, qualidade microbiológica.

Abstract

Playing paints used in educational activities have in their composition several ingredients that given its nature, mode of manufacture and way of use may represent a risk for children health. In this context, the purpose of this study was to evaluate the microbiological and chemical composition of the paints used by children in pre-school. Twenty-nine samples of paints, including gouaches, water paints, finger-paints and face paints were collected from eight schools, of Vila Nova de Gaia. In microbiological evaluation make part not only the determination of microbial concentration, but also assessing of microbial stability of *S.aureus* and *E.coli* in these paints. The chemical assessment involved the determination of metals concentration, in particularly, lead (Pb), cadmium (Cd), chromium (Cr), cobalt (Co), nickel (Ni), manganese (Mn), copper (Cu) and zinc (Zn), in some samples collected in schools and in paints purchased in stores. The results of microbiological assessment reveal a static contamination in most of the samples. Three samples of paints had also high contamination by fungi, including *Aspergillus spp.* and *Trichophyton spp.* Assessing the microbial stability of the species *S.aureus* and *E.coli* showed a sensitivity to the paints, with a decrease of concentration over the exposure time, in some cases, and an immediate sensitivity, in others. However, *S.aureus* revealed higher resistance than *E.coli*. The results of chemical evaluation revealed the presence of Cr in all samples, with the paints purchased in stores presenting higher concentrations of this metal. Cu and Zn were detected, in some samples of artistic paints, above the limits. In the face paints were found lead, cadmium, chromium and nickel, whose use is forbidden in these products. The chemical and microbiological knowledge of paints used by children proved to be very important in the risk assessment that this group of individuals are daily exposed when contact with this paints.

Keywords: Children, paints, educational activities, chemical quality, microbiological quality.

ÍNDICE GERAL

INTRODUÇÃO	1
CAPÍTULO I - Revisão Bibliográfica	4
1.1 Composição básica das tintas	5
1.1.1 Pigmentos e Corantes	6
1.1.1.1 Pigmentos Orgânicos	7
1.1.1.2 Pigmentos Inorgânicos.....	8
1.1.1.3 Corantes.....	11
1.1.2 Ligantes	12
1.1.3 Solventes	13
1.1.4 Aditivos	14
1.1.4.1 Conservantes.....	14
1.1.4.2 Plastificantes.....	16
1.1.4.3 Detergentes.....	16
1.2 Tintas Infantis – Materiais de uso didático	17
1.2.1 Tintas de Aguarela.....	18
1.2.2 Tintas de Guache/Têmpera.....	18
1.2.3 Tintas para pinturas com os dedos (<i>Fingerpaints</i> ou <i>digitintas</i>)	19
1.2.4 Tintas Acrílicas.....	20
1.2.5 Tintas para a Cara/Corpo.....	20
1.3 Enquadramento legal	23
1.4 Qualidade química e microbiológica das tintas – risco para a saúde das crianças	26
1.4.1 Elementos tóxicos.....	27
1.4.1.1 Chumbo.....	31
1.4.1.2 Cádmiio.....	33
1.4.1.3 Crómio, Cobalto e Níquel.....	34
1.4.1.4 Manganês.....	36

1.4.1.5 Cobre.....	37
1.4.1.6 Zinco.....	37
1.4.2 Corantes – Tipologia Azo.....	38
1.4.3 Microrganismos.....	39
CAPÍTULO II – Métodos.....	45
3.1 Amostra.....	46
3.1.1 Selecção da amostra	46
3.2 Caracterização das tintas – Diagnostico de situação	47
3.3 Avaliação da qualidade microbiológica das tintas.....	49
3.4 Avaliação da estabilidade microbiana nas tintas quando inoculado culturas de <i>E.coli</i> e <i>S.aureus</i>	50
3.4.1 Preparação das suspensões celulares.....	50
3.4.2 Inoculação das espécies bacterianas nas tintas.....	51
3.5 Análise Química – Determinação de elementos tóxicos	51
CAPÍTULO III – Resultados e Discussão	53
4.1 Caracterização das tintas escolares e análise das práticas de utilização.....	54
4.1.1 Caracterização geral das tintas	55
4.1.2 Análise das práticas de utilização.....	58
4.2 Avaliação da qualidade microbiológica das tintas.....	61
4.3 Avaliação da estabilidade microbiana nas tintas quando inoculado culturas de <i>E.coli</i> e <i>S.aureus</i>	66
4.1 Avaliação da qualidade química das tintas.....	78
CONCLUSÃO	84
BIBLIOGRAFIA	88
ANEXOS.....	94
Anexo I.....	95
Anexo II.....	97

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela I. Valores limites aplicáveis às tintas artísticas, enquanto brinquedos	30
Tabela II. Principais efeitos da biodeterioração das tintas	40
Tabela III. Limites de bactérias não patogénicas para produtos cosméticos.....	44
Tabela IV. Caracterização das tintas recolhidas nos estabelecimentos de ensino.....	48
Tabela V. Caracterização das tintas adquiridas nos estabelecimentos comerciais.....	49
Tabela VI. Caracterização das tintas, consoante a tipologia e a marca	55
Tabela VII. Escala de classificação do crescimento microbiano.....	61
Tabela VIII. Avaliação do crescimento microbiano.....	62
Tabela IX. Distribuição da concentração de <i>E.coli</i> ao longo do tempo em Log UFC.mL ⁻¹	66
Tabela X. Distribuição da concentração de <i>S.aureus</i> ao longo do tempo em Log UFC.mL ⁻¹	68
Tabela XI. Quantidade de chumbo, cádmio, crómio total, níquel, manganês, cobre e zinco nas amostras de tintas recolhidas nos estabelecimentos de ensino.....	78
Tabela XII. Quantidade de chumbo, cádmio, cobalto, crómio total, níquel, manganês, cobre e zinco nas tintas adquiridas em estabelecimentos comerciais.....	79
Tabela XIII. Limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) para cada metal.	79
Tabela XIV. Distribuição do número de amostras de tintas artísticas que apresentaram concentrações de crómio, cobalto e níquel, superiores a 5 mgKg ⁻¹ , entre 1 e 5 mgKg ⁻¹ e inferiores a 1 mgKg ⁻¹	81

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura I. Composição básica das tintas	5
Figura II. Classificação dos pigmentos quanto à sua natureza.....	7
Figura III. Valores típicos dos principais grupos de matérias-primas consoante o tipo de tinta.....	13
Figura IV. Níveis de chumbo no sangue e repercussões ao nível da saúde, em crianças e adultos.....	31
Figura V. Amostras de tintas recolhidas nos estabelecimentos de ensino.....	47
Figura VI. Factores que as escolas consideram importantes na aquisição das tintas.....	58
Figura VII. Práticas comuns na conservação e armazenamento das tintas.....	59
Figura VIII Práticas comuns durante a utilização das tintas.....	60
Figura IX. <i>Aspergillus</i> spp. (40x).....	64
Figura X. Morfologia de diferentes estruturas, hifas (b) e (c) e esporos (a) e (d), de <i>Trichophyton</i> spp. (40x).....	65
Figura XII. Crescimento em placa de <i>S.aureus</i> pela Técnica <i>Miles and Misra</i> . Colónias de <i>S.aureus</i> por toda a área pigmentada mais concentrada (a) e menos concentrada (b).....	73
Figura XI. Crescimento de <i>E.coli</i> em placa pela Técnica <i>Miles and Misra</i> . Colónias de <i>E.coli</i> à volta da área pigmentada (a) e colónias de <i>E.coli</i> por toda a área (b).....	73
Figura XIII. Distribuição da concentração de <i>E.coli</i> + <i>S.aureus</i> ao longo do tempo em tintas da tipologia guache de cor vermelha (a), de cor amarela (b) de cor laranja (c) e de cor azul (A ₁), rosa (H ₂₇) e roxa (F ₁₈) (d).....	74
Figura XIV Crescimento em placa de <i>S.aureus</i> + <i>E.coli</i> na amostra B ₆ (a) e na amostra A ₂ (b) para o tempo T _{0h}	75
Figura XV Distribuição da concentração de <i>E.coli</i> + <i>S.aureus</i> ao longo do tempo em tintas do tipo acrílica (E ₁₇) e <i>Transform Textil</i> (D ₁₁), ambas de coloração branca.....	77

Siglas

ACD – *Allergic Contact Dermatitis*

ACMI - *Art & Creative Materials Institute*

ANSI - *American National Standards Institute*

AP – *Approved Products*

APT – *Associação Portuguesa de Tintas*

ASTM - *American Society for Testing and Materials*

ATSDR – *Agency for Toxic Substances and Disease Registry*

CDC - *Centers for Disease Control and Prevention*

CEPE - *European Council of the Paint, Printing Ink and Artists' Colours Industry*

CI – *Colour Index*

EMA - *European Medicines Agency*

IARC - *International Agency for Research on Cancer*

REACH - *Registration, Evaluation and Authorization of Chemicals*

UK's FSA – *United Kingdom's Food Standards Agency*

U.S EPA – *United States Environmental Protection Agency*

U.S FDA – *United States Food and Drug Administration*

INTRODUÇÃO

A escola preconiza-se como um espaço educativo que visa não só desenvolver as potencialidade de cada indivíduo a nível cognitivo, afectivo, físico, psíquico e social, como também, promover a adopção de comportamentos saudáveis quer na comunidade educativa quer na comunidade envolvente (Ministério da Saúde, 2006).

No ensino pré-escolar as actividades artísticas, como o desenho e a pintura, possibilitam o desenvolvimento educativo e criativo das crianças, constituindo processos complexos através dos quais as crianças reflectem emoções e opiniões sobre tudo o que as rodeia (Oğuz, 2010). Nestas actividades escolares, as tintas representam não só um material lúdico como também didáctico, sendo duplamente apreciado, quer pelas crianças quer pelos educadores.

As tintas utilizadas nos estabelecimentos de ensino pré-escolar compreendem, sobretudo, tintas de base aquosa, como guaches, tintas de águas e digitintas, e tintas para pinturas faciais (consideradas produtos cosméticos), que parecem, à partida, não representar um perigo para as crianças. Contudo, considerando não só a variabilidade de ingredientes químicos que constituem estes produtos, assim como, a susceptibilidade dos mesmos a contaminação microbiana (La Rosa, Giese, Dekker, Pelayo & Barbosa, 2008), quer durante o processo de fabrico quer durante a utilização final pelos utilizadores, torna-se imperioso garantir produtos de qualidade e adequados à faixa etária em questão.

As crianças representam um grupo etário considerado por natureza particularmente vulnerável, não só pelas características intrínsecas ao seu processo de desenvolvimento, como também, pelos seus comportamentos fora do padrão que potenciam a exposição a determinados perigos.

A principal preocupação associada à utilização das tintas por crianças advém do facto destes produtos compreenderem na sua composição elementos potencialmente tóxicos. Este tema ganhou especial atenção quando em 2007 vários brinquedos infantis foram recolhidos do mercado por apresentarem excesso de chumbo (Pb) na tinta utilizada no

acabamento dos mesmos (Bentlin, Pozebon & Depoi, 2009). Para além do chumbo, outros elementos como o cádmio (Cd), crómio (Cr), cobalto (Co) e níquel (Ni), têm sido alvo de estudo, nomeadamente, em tintas utilizadas para pinturas faciais em crianças (*Campaign for Safe Cosmetics*, 2009; Corazza, Baldo, Pagnoni, Miscioscia & Virgili, 2009). A presença destes elementos em determinadas concentrações nos produtos utilizados pelas crianças pode representar um risco para a sua saúde, associado não só aos efeitos de toxicidade de alguns metais (chumbo e cádmio), como também, à possibilidade de se desenvolverem reacções alérgicas a nível cutâneo, nomeadamente, dermatites de contacto (crómio, cobalto e níquel) (Corazza *et al.*, 2009). Por outro lado, outros autores têm focalizado a sua atenção na contaminação e biodeterioração das tintas e cosméticos (Flores, Morillo & Crespo, 1997), uma situação igualmente preocupante, tendo em conta, o potencial risco de infecção proveniente do contacto directo das crianças com estes produtos através da pele e mucosas.

A segurança das tintas didácticas, encontra-se preconizada pela Directiva 2009/48/CE do Parlamento Europeu e do Conselho de 18 de Junho, relativa à segurança dos brinquedos. Este documento normativo assenta em princípios que procuram estabelecer um elevado nível de protecção das crianças contra os riscos provocados por substâncias químicas presentes nos brinquedos, definindo que o uso de substâncias perigosas deve ser objecto de uma cuidadosa atenção, em especial no que respeita a substâncias classificadas como cancerígenas, mutagénicas ou tóxicas para a reprodução, substâncias alérgicas e determinados metais. Neste âmbito, o conhecimento mais aprofundado das características químicas e microbiológicas das tintas utilizadas nas actividades didácticas do ensino pré-escolar revela-se de particular importância.

OBJECTIVOS DO ESTUDO

- i. Caracterizar as tintas didácticas utilizadas em estabelecimentos de ensino pré-escolar de acordo com os pressupostos legislativos aplicáveis em matéria de rotulagem;
- ii. Analisar as práticas de utilização envolvidas no processo de aquisição, manuseamento e armazenamento das tintas, pelos estabelecimentos de ensino;

- iii. Avaliar a qualidade microbiológica e química das tintas didácticas disponíveis nos estabelecimentos de ensino e nos estabelecimentos comerciais;
- iv. Avaliar a estabilidade microbiana de uma cultura de *E.coli* e *S.aureus* nas tintas;
- v. Identificar e analisar potenciais factores de risco associados à qualidade química e microbiológica das tintas utilizadas comumente pelas crianças nas suas actividades escolares.

O alcance dos objectivos propostos não seria possível sem o levantamento prévio de informação relevante ao nível dos vários componentes associados a esta temática. Assim, a revisão bibliográfica efectuada focaliza aspectos relacionados com a composição geral das tintas, atribuindo especial atenção às diferentes tipologias de tintas utilizadas, normalmente, pelas crianças, assim como, informação relativa a alguns parâmetros que caracterizam a qualidade química e microbiológica destes produtos.

CAPÍTULO I - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 COMPOSIÇÃO BÁSICA DAS TINTAS

Desde os tempos pré-históricos que as tintas têm ocupado um papel marcante na história cultural da Humanidade. O fascínio pelas cores e pelo aspecto decorativo das tintas surgiu sobre a forma registada de imagens pintadas em pedras, denominadas pinturas rupestres, cuja tinta era feita sobretudo à base de gordura animal e terras coradas ou pigmentos naturais, como o ocre. Uma vez descobertos os pigmentos e a aplicabilidade dos mesmos em colorirem superfícies, iniciou-se também a prática da pintura corporal, a qual tem persistido até aos dias de hoje (Barnett, Miller & Pearce, 2006).

A tinta constitui um material de revestimento pigmentado, no estado líquido ou em pasta ou na forma de pó, que quando aplicado num substrato forma uma película opaca com propriedades protectoras, decorativas ou propriedades técnicas específicas (*Thailand Environment Institute*, 2003). No que respeita à sua composição e segundo a Associação Portuguesa de Tintas (APT), a tinta representa uma mistura devidamente estabilizada de pigmentos e cargas (matérias pulverulentas) suspensas num meio de ligação, ou ligante (normalmente uma ou mais resinas que constituem o veículo fixo), numa base de solventes (veículo volátil). Como apresentado na Figura I, pode ainda compreender na sua composição materiais aditivos com o objectivo de controlar uma ou mais propriedades da tinta.

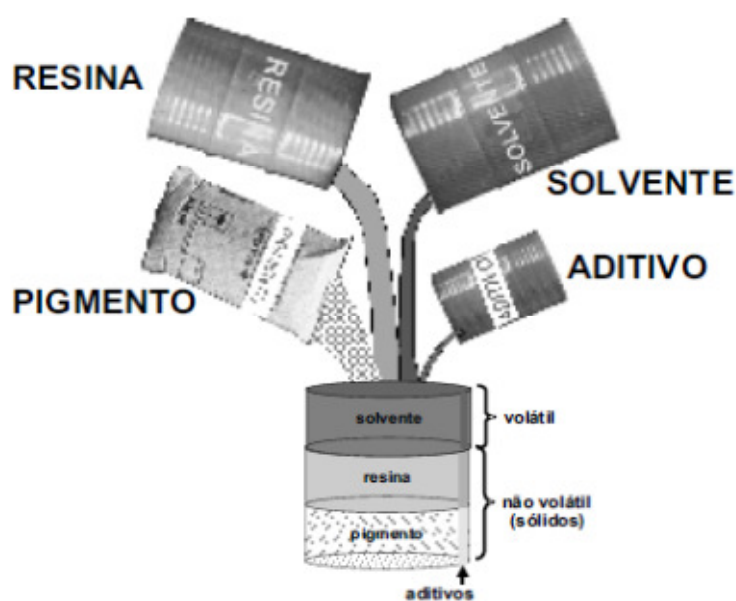


Figura I Composição básica das tintas (Fonte: Gnecco *et al.*, 2003)

Embora as tintas existentes actualmente no mercado sejam produtos com um grau de sofisticação muito superior, os seus constituintes base continuam a ser o ligante e o agente da cor, ou pigmento, tal como no passado.

Ao longo dos tempos o Homem tem utilizado as tintas nas mais diversas situações, não só como registo histórico, como também, na expressão da sua espiritualidade, na produção de arte, entre outras. No que respeita em particular ao mercado das tintas utilizadas para fins artísticos este pode ser dividido em três segmentos: belas artes, escolar e recreativo. As tintas utilizadas no campo das belas artes incluem sobretudo tintas aquosas, de óleo, acrílicas e pastéis para pintura artística. Relativamente às tintas escolares estas são produtos para fins escolares e, conseqüentemente, adequados para crianças, destacando-se as tintas de aguarela e guache/têmpera. Por último o segmento recreativo inclui tintas para decorar materiais, nomeadamente vidro, madeira e têxteis (European Council of the Paint, Printing Ink and Artists' Colours Industry [CEPE], 2005).

1.1.1 PIGMENTOS E CORANTES

A maioria dos produtos destinados a conferir cor a um determinado substrato consistem principalmente em produtos químicos que absorvem a luz visível, ou seja, os denominados colorantes. Os colorantes podem ser divididos em dois grupos: os pigmentos e os corantes. Estes constituem normalmente o grosso do produto, com concentrações muito acima dos 50% (w/w) (Baumler, Lundsgaard & Talberg, 2003).

A utilização destes dois termos gera por vezes alguma confusão, sendo que em muitos casos são considerados sinónimos. A principal diferença entre pigmentos e corantes está no tamanho da partícula e na solubilidade no meio em que esta é inserida (Saron & Felisberti, 2006). A solubilidade de um determinado colorante pode ser determinada pela presença de certos grupos químicos na estrutura do composto, os quais podem ocasionar as diferenciações entre pigmentos e corantes (Saron & Felisberti, 2006).

De acordo com a *American Dry Color Manufacturers' Association* (citado por Baumler *et al.*, 2003) o pigmento é qualquer partícula sólida, colorida, preta, branca ou fluorescente,

insolúvel no veículo ou substrato no qual é incorporado, não sendo praticamente afectado por este. O pigmento é utilizado para dar cor, opacidade e certas características à tinta. Pode apresentar-se como pigmento activo que confere cor/opacidade ou inerte (carga) que atribui determinadas propriedades à tinta como a diminuição de brilho ou uma maior consistência. Os pigmentos inertes não apresentam por isso cor e não são opacos, destacando-se os mais importantes como a mica, talco, caulim, óxido de ferro micáceo, sílicas, quartzo e óxido de alumínio (Gnecco, Mariano & Fernandes, 2003). Como se encontra esquematizado na Figura II, os pigmentos podem ainda ser classificados quanto à sua natureza em orgânicos ou inorgânicos.

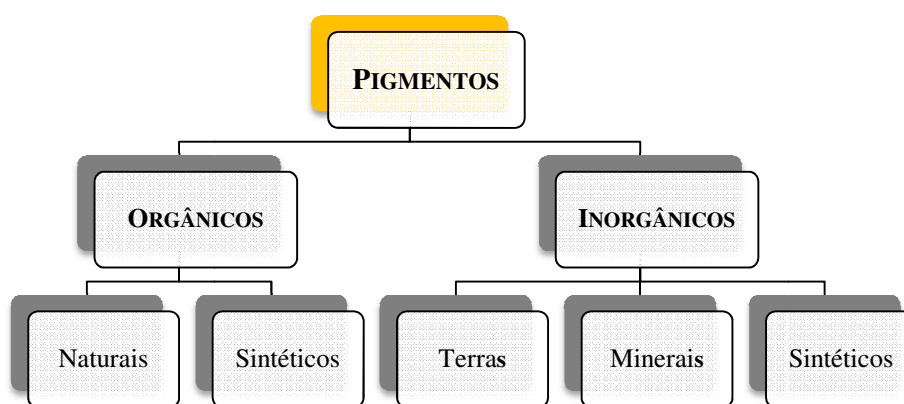


Figura II. Classificação dos pigmentos quanto à sua natureza.

1.1.1.1 Pigmentos orgânicos

Os pigmentos orgânicos derivam dos componentes do carvão. Os que provêm de fontes naturais podem ser de origem animal ou vegetal. Muitos servem de matéria corante e são solúveis, sendo por isso necessário torná-los insolúveis para poderem ser utilizados como pigmentos, processo este que pode ser obtido através da precipitação destes corantes em substratos inorgânicos. Um pigmento vermelho ainda hoje utilizado é o laca de garança, feito de tintos alizarino e purpurino extraídos da raiz da granza-dos-tintureiros. Outro pigmento orgânico natural ainda utilizado nos dias de hoje e muito familiar na Europa desde meados do século XVI, é o carmim também conhecido como cochirilha, ácido carmínico ou carmine E120, sendo obtido a partir de um insecto denominado *Coccus cacti*, por extração aquosa (Barata, 2002). Este grupo de pigmentos é contudo, pouco estável ao calor, luz e pH, pelo que a sua utilização está naturalmente limitada.

O grupo dos pigmentos orgânicos sintéticos corresponde a compostos de carvão complexos que não surgem naturalmente, sendo sintetizados em laboratório. Este grupo de pigmentos existe desde 1935 com a invenção do Azul Ftalo e do Verde Ftalo, de produção relativamente barata e bastante intensos e resistentes à luz. De entre os pigmentos orgânicos sintéticos mais utilizados na actualidade encontram-se as ftalocianinas, os monoazóicos, diazóicos e dioxazina (Bentlin, Pozebon & Depoi, 2009). Segundo Smith (2003) incluem-se também neste grupo os Quinacridonas e Isoindolinonas.

1.1.1.2 Pigmentos Inorgânicos

Os pigmentos inorgânicos são elaborados a partir de elementos químicos isentos de carvão, embora os compostos simples de carvão, como os carbonatos, sejam com frequência considerados inorgânicos. Estes pigmentos têm fraco poder corante quando comparados com os pigmentos orgânicos, mas em contra-partida são muito mais estáveis.

Este grupo de pigmentos é geralmente constituído por óxidos, cromatos, sulfatos de metais, muitos deles tóxicos (Pb, Cr, Co, Sb, Cd etc.) conferindo diferentes tonalidades de cor às tintas, consoante a concentração de pigmentos (Bentlin *et al.*, 2009). A principal utilização destes pigmentos, nomeadamente dos óxidos de ferro, verifica-se na formulação de cosméticos decorativos para os olhos e face, com tonalidades de preto, vermelho e amarelo (Barata, 2002).

Os pigmentos terra incluem produtos naturais resultantes da oxidação do ferro, minério de manganésio e rocha de feldspato (contendo alumínio e silício), destacando-se neste grupo de pigmentos os Ocre. A palavra ocre provem do grego *Ochros*, que significa amarelo. O composto químico responsável por esta cor é o óxido de ferro mono-hidratado $Fe_2O_3 \cdot H_2O$, vulgarmente conhecido por ferrugem, e encontrado em combinação com sílica e argila (Barnett *et al.*, 2006). O vermelho ocre é obtido através do aquecimento do ocre amarelo, de forma a libertar a água e a produzir óxido férrico anidro. A temperatura a que é submetido determinará uma variação de cores que vão desde o amarelo quente ao vermelho brilhante. Considerando a sua excelente permanência e a abundância em termos de matéria prima o ocre permanece entre as cores disponíveis, em contexto artístico, mais economicamente acessíveis.

Dos pigmentos minerais evidenciam-se o Cinábrio (vermelhão) o Lápis-Lazúli (ultramarino) e os minerais brancos. No que respeita ao Cinábrio, este é conhecido desde os tempos pré-históricos na china sendo obtido a partir do mercúrio e enxofre. Devido a problemas de toxicidade durante a sua produção este pigmento está praticamente fora de utilização nos dias de hoje. Dos minerais brancos existem o caulino da china, também conhecido por argila branca ou caulim, o cré, o gesso e o hidróxido de bário, sendo importantes pigmentos em superfícies polidas e em gesso, embora sejam transparentes em óleo. O uso destes minerais brancos para efeitos artísticos encontra-se particularmente associado ao continente asiático. No Japão, pigmentos de argila branca apareceram mais comumente até ao século XV e XVI sendo posteriormente substituídos por um carbonato de cálcio branco obtido através da pulverização de conchas de ostras (Hradil, Grygar, Hradilová & Bezdička, 2003).

Por último os pigmentos inorgânicos sintéticos não existem naturalmente sendo por isso manufacturados. O primeiro pigmento sintético a ser produzido foi o azul egípcio, um pigmento quimicamente designado por silicato de cobre cálcico ($\text{CaCuSi}_4\text{O}_{10}$), bastante estável, resultando da combinação de sal de cálcio (carbonato, sulfato ou hidróxido), com um composto de cobre (óxido ou malaquita) e areia (sílica) (Fitzhugh, 1997). Este pigmento encontra-se listado no *Colour Index* (CI) ou Índice de Cor (1971) como Pigmento Azul 31, n.º 77437 e o seu processo de fabrico data do ano 3100 a.C. (Fitzhugh, 1997). Outro pigmento sintético é o branco de chumbo ou carbonato de chumbo básico tendo sido manufacturado no século IV a.C. Contudo, a sua utilização é restrita devido à sua toxicidade. Destaque ainda para o óxido de zinco - ZnO (branco de zinco) e dióxido de titânio – TiO_2 (branco de titânio) introduzidos no ano de 1834 e de 1918, respectivamente.

De uma forma mais generalizada é então possível classificar os pigmentos em naturais, sendo estes aplicados simplesmente após um simples pré-tratamento mecânico e de separação não afectando, por isso, a sua composição química, ou sintéticos (fabricados) preparados através de reacções químicas por matérias-primas substancialmente diferentes (Hradil *et al.*, 2003).

Os pigmentos são considerados partículas coloridas de tamanho coloidal (Stuiver & Barkema, 2010), que alteram a aparência de um objecto através da absorção e/ou dispersão

selectiva da luz. Os átomos responsáveis pela cor do pigmento são conhecidos por cromóforos (do tipo azo, nitroso, nitro entre outros) e os átomos secundários que intensificam a cor designam-se de auxócromos (do tipo hidroxila, aminas entre outros) (Smith, 2003; Bentlin *et al.*, 2009).

A preparação da cor desejada numa determinada tinta envolve a adição de vários pigmentos com diferentes cores segundo uma fórmula de cor pré-determinada (Stuiver & Barkema, 2010). O tamanho da partícula do pigmento é crítica atribuindo apenas a cor e transparência desejada se o tamanho for bem definido e controlado (Baumler *et al.*, 2003). A força da cor está também relacionada com a distribuição das partículas do pigmento na tinta, ou seja, cores mais fortes resultam de uma distribuição homogénea dos pigmentos em toda a película de tinta e, no caso de ser observada uma cor fraca indica possivelmente que as partículas dos pigmentos se encontram aglomeradas (Stuiver & Barkema, 2010). Desta forma, antes de se aplicar e manipular o pigmento é necessário dispersá-lo num diluente. Um pigmento perfeitamente diluído tem cada partícula separada e envolvida por uma película de diluente (Smith, 2003).

São vários os factores que afectam a distribuição do pigmento na tinta nomeadamente a termodinâmica de equilíbrio que irá determinar a distribuição a longo prazo das partículas de pigmento (Stuiver & Barkema, 2010). O aspecto do pigmento pode então modificar-se pela natureza do diluente em que as partículas se encontram suspensas e que as fixa ao suporte, pela natureza do próprio suporte ou da superfície a que este adere e ainda pela acção variável da luz (Smith, 2003).

A resistência à luz, ou estabilidade, dum pigmento é a sua reacção à luz, nomeadamente aos raios ultra-violeta. Tal factor irá depender da natureza química do pigmento, da sua concentração e do diluente empregue. Por exemplo, comparativamente, a tinta de aguarela é menos resistente à luz que a tinta de óleo, pois a concentração de pigmento na aguarela é menor, o que contribui para uma camada de tinta mais fina, assim como o diluente aquoso protege menos o pigmento do que o óleo. Contudo, de uma forma geral, os pigmentos apresentam elevada estabilidade à luz e são quimicamente resistentes, especialmente os sais metálicos (Baumler *et al.*, 2003).

Os principais aspectos da qualidade das tintas, como a estabilidade da cor e o poder de cobertura, podem depender fortemente do tempo, devido às interações das espécies químicas dentro da mistura e devido ao ambiente circundante (Hradil *et al.*, 2003).

1.1.1.3 Corantes

Contrariamente aos pigmentos que são insolúveis no meio em que são aplicados, os corantes são solúveis quer em água quer em solventes orgânicos não polares. Quando um composto químico apresenta uma solubilidade inferior a 1 mg.mL^{-1} a 22°C , é geralmente caracterizado como insolúvel, como é o caso da maioria dos pigmentos. Contudo, tem sido demonstrado que pelo menos, alguns pigmentos são na verdade solúveis ou um pouco solúveis em água podendo ainda ser solvidos em outros solutos (Baumler *et al.*, 2003).

Os corantes fixam-se na superfície que vão colorir através de mecanismos de adsorção, ou ligações iônicas e covalentes ao contrário dos pigmentos que são dispersos no meio, ou seja, na tinta, formando uma dispersão relativamente estável (Yamanaka *et al.*, 2008). Esta tipologia de colorantes é amplamente utilizada em muitos campos da tecnologia contemporânea (Teh & Mohamed, 2011). Existem mais de 100.000 corantes comercialmente disponíveis e mais de cerca de 7×10^5 toneladas de corantes são produzidas anualmente (Teh & Mohamed, 2011).

Os corantes desempenham um papel muito importante em vários ramos da indústria têxtil, sendo utilizados, normalmente, corantes de natureza sintética, derivando nomeadamente de duas fontes: intermediários de carvão e petróleo. Os corantes orgânicos sintéticos fazem assim parte do grupo dos pigmentos orgânicos sintéticos, em conjunto com os tintos insolúveis e as lacas, pigmentos feitos por precipitação ou fixação de um tinto solúvel sobre um pigmento ou substrato inerte (Smith, 2003).

Os corantes sintéticos tornaram-se poluentes comuns na água e são normalmente encontrados em quantidades vestigiais nas águas residuais industriais devido à sua elevada solubilidade em água. Muitos dos corantes utilizados na indústria são tóxicos e cancerígenos, constituindo um sério risco para os organismos aquáticos. Muitos corantes

são difíceis de descolorar, devido à sua origem sintética e estrutura complexa. Estes corantes podem ter muitas variedades estruturais, compreendendo, normalmente, estruturas do tipo ácido, básico, azo, dispersante, à base de atroquinona, e estruturas metálicas complexas (Teh & Mohamed, 2011).

1.1.2 LIGANTES

O meio de ligação também conhecido por ligante, aglutinante ou formador de película é constituído por uma ou mais resinas que compõem o veículo fixo, e cuja finalidade é ligar os pigmentos e atribuir integridade à tinta. A resina constitui a parte não volátil da tinta que serve para aglomerar as partículas de pigmentos, sendo também o elemento responsável pela transformação do produto, do estado líquido para o estado sólido, convertendo a tinta em película. As resinas são responsáveis pelas propriedades físico-químicas da tinta, determinando inclusivamente o tipo de uso do produto e a sua secagem (Yamanaka *et al.*, 2008).

Nas tintas de uso artístico, os agentes de ligação mais vulgarmente utilizados são a cola, a gelatina e caseínas (proteínas), solúveis na água e de origem animal e ainda a dextrina e gomas (hidratos de carbono), de origem vegetal. As proteínas são utilizadas nas tintas artísticas principalmente como aderentes ou para ligação. Quanto aos hidratos de carbono estes utilizam-se para ligar, engrossar ou plastificar sobretudo em tintas de aguarela (Smith, 2003).

O principal aglutinante utilizado em tintas do tipo guache e aguarela é a goma arábica, uma secreção da acácia – Acácia arábica ou Acácia senegalesa – solidificada com a forma de torrões e que é solúvel na água. Outro agente de ligação utilizado como estabilizador em tintas de aguarela, em detrimento da goma arábica é a goma tragacanto, que permite a formação de um gel mais forte do que a goma arábica (Cuevas, 1997).

1.1.3 SOLVENTES

Entende-se por solvente um líquido em que um sólido possa dispersar-se para formar uma solução (Smith, 2003). O solvente é assim o composto responsável pelo aspecto líquido da tinta, atribuindo-lhe uma determinada viscosidade. Caracteriza-se por ser um líquido volátil e geralmente de baixo ponto de ebulição.

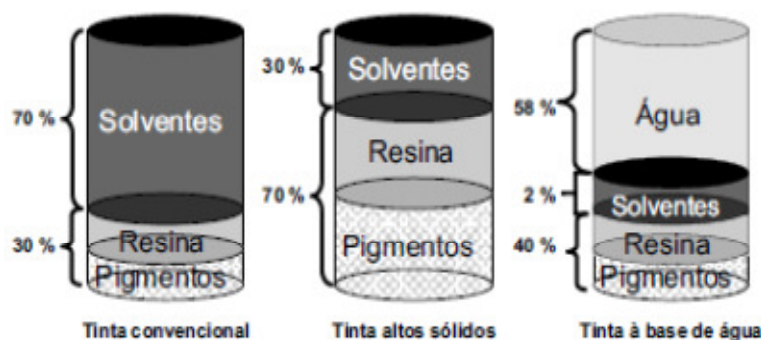


Figura III. Valores típicos dos principais grupos de matérias-primas consoante o tipo de tinta (fonte: Gnecco *et al*, 2003).

Como mostra a Figura III, as tintas podem ser divididas em dois grandes grupos consoante a base utilizada no início da formulação, existindo assim tintas à base de água e tintas à base de solventes.

A água não constitui o solvente da resina mas sim um meio de dispersão, sendo o meio mais vulgar e o mais seguro universalmente utilizado nas tintas de uso artístico. A utilização de solventes orgânicos voláteis tem sido descartada sobretudo nesta área, dado o perigo que representam para os indivíduos e para o ambiente, sendo mais inflamáveis e apresentando uma maior toxicidade que as tintas à base de água.

Os solventes orgânicos podem ser divididos em dois grupos: os hidrocarbonetos e os oxigenados (Yamanaka *et al.*, 2008). Os solventes comerciais de hidrocarbonetos, que se obtêm por destilação do petróleo, provêm de misturas ligadas a compostos, pertencendo a três classes: *Alifáticos*, nos quais se incluem gasolina, parafina, vaselina e cera; *Naftínicos*; e *Aromáticos* como o tolueno e xileno. No que respeita aos solventes oxigenados (polares)

estes englobam os álcoois, ésteres, acetonas e ésteres de glicol (Smith, 2003). As tintas de base aquosa utilizam como fase volátil água adicionada de uma pequena quantidade de líquidos orgânicos compatíveis.

A escolha de um solvente é feita de acordo com determinadas características da tinta, nomeadamente a solubilidade das resinas presentes, a viscosidade e a forma de aplicação da mesma (Yamanaka *et al.*, 2008).

1.1.4 ADITIVOS

Os aditivos constituem um grupo de produtos químicos que envolvem uma vasta gama de componentes utilizados em concentrações baixas (normalmente <5%) (Yamanaka *et al.*, 2008) e cuja finalidade é conferir importantes propriedades às tintas, nomeadamente, fluidez, estabilidade, resistência, viscosidade entre outras (Thailand Environment Institute, 2003). Os aditivos são frequentemente utilizados como “correctivos” para obtenção de uma tinta minimamente satisfatória.

Existem diferentes tipologias de compostos aditivos, cada uma com funcionalidades específicas, salientando os conservantes, plastificantes, secantes, detergentes, diluentes e espessantes. Seguidamente serão abordados de forma mais detalhada o grupo dos conservantes, dos plastificantes e dos detergentes.

1.1.4.1 Conservantes

Os conservantes adicionam-se particularmente às tintas de aguarela e acrílicas para evitar a contaminação por fungos e bactérias. Certas bactérias podem afectar a estabilidade das tintas, especialmente as do tipo aguarela cuja goma (ligante) pode ser “atacada” por estes microrganismos, contribuindo assim para o adelgaçamento da mesma (Smith, 2003).

Os biocidas constituem um grupo heterogéneo de agentes químicos com diversos mecanismos de acção antimicrobiana vulgarmente utilizados na formulação das tintas. Os biocidas podem ser subdivididos em microbioestáticos, que inibem o crescimento

microbiano e microbiocidas, que causam danos irreversíveis ou irreparáveis na célula microbiana (La Rosa *et al.*, 2008).

Tradicionalmente, os principais anti-sépticos e desinfectantes utilizados são a cânfora, timol e eugenol. Compostos como o fenol e formaldeído eram bastante utilizados nas tintas de aguarela mas a sua elevada toxicidade levou à imposição de rigorosas restrições acerca dos níveis permitidos (Smith, 2003). Contudo, o fenol é ainda na actualidade considerado como um dos maiores poluentes encontrados em águas residuais provenientes do sector industrial, em particular da indústria das tintas (Wang *et al.*, 2010). Este composto para além de ser difícil de decompor biologicamente, é tóxico para plantas, microrganismos, animais e seres humanos causando graves problemas ambientais (Wang *et al.*, 2010). Quanto ao formaldeído trata-se de um gás incolor e com cheiro intenso, cuja utilização pode desencadear efeitos graves na saúde humana e como substância cancerígena que é, não deve ser utilizado na formulação das tintas (Thailand Environment Institute, 2003).

Em substituição a estes compostos têm sido utilizadas substâncias menos tóxicas e agressivas para o ambiente como isothiazolinones, embora se tratem de biocidas que não ofereçam a mesma eficácia que os outros compostos tóxicos (La Rosa *et al.*, 2008). Outro composto aditivo que pode ser acrescentado pelos fabricantes à tinta é o pentaclorofenato de sódio, com acção fungicida (Cuevas, 1997).

A quantidade de conservante exigida pode ser influenciada pelo(s) tipo(s) de pigmento(s) existente(s), ou seja, por exemplo os pigmentos pretos necessitam de concentrações de conservantes mais elevadas, possivelmente porque a sua absorção de calor ajuda a incubação de microrganismos, nomeadamente bactérias (Smith, 2003). Outro factor importante é o tipo de agente ligante. Tintas que contenham na sua composição goma de tragacanto são mais susceptíveis à contaminação por fungos do que outras, pelo que as cores que a incorporarem deverão conter maior concentração de conservante.

1.1.4.2 Plastificantes

Quanto aos compostos plastificantes estes são utilizados para ligar materiais de forma a transmitir flexibilidade a uma película de pintura. A glicerina ou glicerol é o plastificante mais utilizado nas tintas de aguarela e guache, conferindo uma maior cremosidade à tinta (Cuevas, 1997). Por vezes, em aguarelas de menor qualidade é utilizado o sorbitol também denominado de glucitol, obtido a partir da hidrogenação da glicose.

1.1.4.3 Detergentes

Os detergentes, ou agentes activos de superfície são adicionados para baixar a tensão numa interface entre duas superfícies como, por exemplo, entre o pigmento e o elemento de ligação ou entre a tinta líquida e o suporte. Alguns detergentes são utilizados como agentes de liquefacção em tintas de aguarela, óleo e acrílica auxiliando também na dispersão do pigmento, especialmente para obtenção de boas características de fluência (Smith, 2003).

1.2 TINTAS INFANTIS – MATERIAIS DE USO DIDÁCTICO

Segundo a Portaria n.º 262/2011, de 31 de Agosto as instituições de ensino pré-escolar proporcionam à criança um *espaço de socialização e de desenvolvimento integral, com base num projecto pedagógico adequado à sua idade e potenciador do seu desenvolvimento, no respeito pela sua singularidade.*

A educação pré-escolar estabelece assim um processo que possibilita às crianças o desenvolvimento de atitudes, a aprendizagem da linguagem, a expressão artística e o conhecimento geral sobre o mundo (Dionísio & Pereira, 2006). Nesta fase educacional, as actividades artísticas afectam grandemente a criatividade e educação das crianças sendo as actividades didácticas como o desenho e a pintura processos complexos em que a criança reflecte as suas emoções e opiniões sobre o mundo que a rodeia. Através do desenho as crianças conseguem descrever o seu estado de espírito, se estão felizes ou infelizes, os seus sonhos para o futuro, as vivências passadas e aspectos da vida actual que querem que se mantenham (Oğuz, 2010). Para as crianças a pintura representa assim uma simples maneira de expressão, sendo por isso, considerada nos primeiros anos de vida como um meio de expressão ainda mais forte que as próprias palavras (Arda, 2009).

As tintas didácticas fazem parte do quotidiano das actividades desenvolvidas nos estabelecimentos de ensino pré-escolar, representando um material bastante atractivo não só para as crianças como para os próprios educadores. A utilização deste tipo de material estimula sobretudo a criatividade das crianças contribuindo assim para o seu desenvolvimento cognitivo e social.

As substâncias que constituem estes produtos são sobretudo de base química, e embora na maioria dos casos se encontrem regulamentados por sistemas normativos, existe sempre alguma apreensão no que respeita à segurança dos mesmos, sobretudo quando os principais utilizadores são as crianças, um grupo de consumidores considerados por natureza particularmente vulneráveis.

Segundo a Directiva 2009/48/EC, e de forma a assegurar um elevado nível de protecção das crianças contra os riscos provocados por substâncias químicas presentes nos brinquedos, neste caso em particular das tintas, o uso de substâncias perigosas deve ser objecto de uma cuidadosa atenção, em especial no que respeita a substâncias classificadas como cancerígenas, mutagénicas ou tóxicas para a reprodução, substâncias alergénicas e determinados metais. O conhecimento do tipo e da tipologia das tintas utilizadas nas actividades didácticas do ensino pré-escolar apresenta assim particular importância.

1.2.1 TINTAS DE AGUARELA

As tintas de aguarela obtêm-se a partir da trituração de pigmentos em pó num meio aderente solúvel em água, meio este que consiste sobretudo em goma-arábica podendo também incluir glicerina como plastificante, um agente húmido como bílis de boi e, quando necessário, um espessante, normalmente goma de tragacanto. É também comum, adicionar-se um conservante que actua como fungicida e bactericida (Smith, 2003).

Estas tintas podem incluir uma diversidade de pigmentos orgânicos e inorgânicos. Do grupo dos pigmentos inorgânicos destacam-se, por exemplo, o Vermelho de Cádmio, o Amarelo de Cádmio, o Amarelo Ocre, o Azul Cerúleo e o Azul Cobalto. Dos pigmentos orgânicos utilizados incluem-se o Vermelho Quinacridona, o Azul Ftalo, o Violeta Quinocridona e o Dioxazina Violeta.

1.2.2 TINTAS DE GUACHE/TÊMPERA

Guache deriva da palavra francesa *gouache* cuja proveniência resulta muito provavelmente da tradução fonética do termo inglês *wash*, que significa lavagem ou mais correntemente aguada (Cuevas, 1997).

As tintas de guache são feitas pelo mesmo processo da aguarela transparente e com os mesmos ingredientes. Contudo no guache a película de tinta tem de ser mais espessa e mais flexível do que a da aguarela, que se usa mais diluída. Para torná-lo mais espesso emprega-se uma maior quantidade de glicerina na tinta de guache, a fim de a tornar mais solúvel que a aguarela. A opacidade é uma característica essencial da cor espessa, própria do guache, a

qual é obtida com uma maior proporção de pigmento (Smith, 2003). No caso de pigmentos naturalmente transparentes é comum utilizar-se outros componentes, normalmente pigmentos brancos inertes. Estes componentes podem variar consoante a cor, podendo ser sulfato de cálcio, sulfato de bário, sulfato de zinco, carbonato de cálcio, sílica, bentonito, silicatos de alumínio, entre outros (Cuevas, 1997).

Segundo a *Lefranc & Bourgeois* (2011), uma marca bastante conhecida no fabrico de tintas para crianças, o guache é feito de pigmentos ou corantes provenientes sobretudo da indústria cosmética, combinados com um agente amargurante que confere ao produto um sabor amargo impedindo assim que as crianças o ingiram.

Outro termo pelo qual o guache costuma identificar-se é *têmpera*, versão italiana da palavra castelhana *temple*. O que habitualmente se conhece como *têmpera* é um guache de qualidade inferior, próprio para uso escolar e sem possibilidades na pintura profissional. Os pigmentos utilizados no fabrico das têmperas escolares são considerados não tóxicos e utilizam-se em menor concentração que as variedades de têmperas de qualidade profissional (Cuevas, 1997).

Actualmente, o termo *têmpera* é ainda conhecido como a técnica característica dos painéis medievais em madeira, uma técnica de pintura em que se utilizava o ovo como aglutinante.

1.2.3 TINTAS PARA PINTURAS COM OS DEDOS (*FINGERPAINTS* OU DIGITINTAS)

Fingerpaints ou digitintas são preparações coloridas de textura pastosa ou na forma de géis, especialmente concebidas para as crianças, sendo directamente aplicadas em superfícies adequadas com os dedos e as mãos (EN 71-7:2002).

Para além de água, estas tintas são constituídas essencialmente por colorantes (pigmentos ou corantes), espessantes, agentes de ligação, humectantes (reguladores de humidade), conservantes, surfactantes (substâncias activas específicas) e agentes amargurantes.

1.2.4 TINTAS ACRÍLICAS

As formas mais comuns dos acrílicos, para aplicações artísticas, baseiam-se em poliacrilatos e polimetacrilatos, utilizados como veículo de dispersão com o qual se misturam os pigmentos. A emulsão polimérica acrílica é solúvel na água originando, depois de seca, uma película flexível e impermeável. Tal como nas tintas de guache, a acrílica pode igualmente ser misturada com água, contudo, quando se pretende trabalhar segundo uma maior consistência não será necessário a adição da mesma (Smith, 2003).

Alguns dos solventes coalescentes com potencial para serem utilizados no fabrico de cores acrílicas podem libertar compostos orgânicos voláteis (COV's) de efeito danoso no ambiente e nos seres humanos, porém, acredita-se que em virtude destas tintas terem por base a água, não contêm na sua formulação estes compostos (Smith, 2003).

A gama de pigmentos utilizados pelos fabricantes de tintas acrílicas para uso artístico é menos extensa que as tintas de aguarela. Os fabricantes tendem a incorporar os mais recentes pigmentos sintéticos e inorgânicos, excluindo por isso alguns dos pigmentos mais tradicionais e de carácter mais tóxico. Os pigmentos permanentes de uso comum nas tintas acrílicas incluem Vermelho de Cádmio, Vermelho Quinacridona, Carmim de Naftol, Vermelho de Óxido de Ferro, Amarelo Azo, Amarelo de Cádmio, Verde de Óxido de Crómio, Branco de Titânio, Negro de Marfim, entre outros (Smith, 2003).

Actualmente, existem também no mercado cores acrílicas iridescentes, numa gama metálica que vai desde o ouro ao bronze, cores estas conseguidas com pedaços de mica cobertos com cores de dióxido de titânio e óxido de ferro.

1.2.5 TINTAS PARA A CARA/CORPO

As tintas utilizadas nas práticas de pintura da cara e/ou corpo das crianças são actualmente um material cada vez mais comum nas instituições de ensino pré-escolar, assumindo particular interesse nas actividades escolares festivas. Estas tintas para além de serem consideradas brinquedos, no caso de serem concebidas ou destinadas a serem utilizadas por

crianças, encontram-se também abrangidas pelos pressupostos legislativos que regulamentam os produtos cosméticos, ainda que não se enquadrem perfeitamente em nenhuma categoria destes produtos.

Os produtos cosméticos são definidos como substâncias ou preparados que se destinam a serem postos em contacto com diversas partes superficiais do corpo humano (epidermes, sistemas pilosos e capilares, unhas, lábios e órgãos genitais externos), ou com os dentes e as mucosas bucais, com o intuito de, exclusiva ou principalmente, os limpar, perfumar, modificar o seu aspecto, proteger, manter em bom estado ou de corrigir os odores corporais (alínea p, art.2 do Decreto-Lei n.º 189/2008 de 24 de Setembro). De acordo com a sua função, os produtos cosméticos podem ainda ser divididos em quatro categorias: produtos de higiene; produtos de tratamento; produtos de bem-estar; e produtos decorativos (Barata, 2002). Considerando a sua principal utilidade e composição básica, estas tintas assemelham-se especialmente com os cosméticos decorativos.

Toda a formulação cosmética é basicamente constituída por um excipiente, de natureza variável, no qual são introduzidos elementos específicos (por vezes ditos “activos”), conservantes, corantes (eventualmente) e perfumes (Barata, 2002).

As tintas para a cara e/ou corpo das crianças encontram-se, normalmente, sob a forma de pastas ou emulsões, fazendo parte da sua composição constituintes como água, emolientes, humectantes, óleos, pigmentos e outras substâncias específicas.

A emulsão é definida como um sistema disperso de dois ou mais líquidos imiscíveis, em que um deles está finamente dividido em gotículas no seio do outro. As emulsões são constituídas por duas fases, aquosa e oleosa. Da fase aquosa fazem normalmente parte humectantes, espessantes hidrófilos, surfactantes, conservantes e antioxidantes, substâncias aromatizantes, corantes e pigmentos e água tratada (isenta de iões, de germes e de partículas). A fase oleosa é constituída normalmente por óleos polares, não polares e ceras, co-emulsionantes (elementos de consistência) e emolientes (hidrocarbonetos e óleos hidrófilos) (Barata, 2002).

Os agentes conservantes utilizados na formulação destes produtos têm como função suprimir a proliferação microbiana. O metilparabeno e o propilparabeno são os conservantes mais comumente encontrados em cosméticos. Normalmente, um sistema de conservantes deste tipo contém cerca de 0,3% de metilparabeno e 0.1 % de propilparabeno, podendo a concentração total variar até 1% (Sonia, Taylorb, Greenbergc & Burdocka, 2002). Outros agentes conservantes utilizados nestes produtos incluem etanol, propileno glicol ou glicerol (Pack, Wickham, Enloe & Hill, 2008).

1.3 ENQUADRAMENTO LEGAL

A segurança das tintas destinadas a serem utilizadas pelas crianças, encontra-se preconizada pela Directiva 2009/48/CE do Parlamento Europeu e do Conselho de 18 de Junho de 2009, relativa à segurança dos brinquedos. Segundo esta directiva um brinquedo é considerado “*qualquer produto ou material concebido ou destinado exclusivamente ou não para uso em jogos pelas crianças com idade inferior a 14 anos de idade*”.

A Directiva 2009/48/CE encontra-se transposta para ordem jurídica nacional pelo Decreto-Lei n.º43/2011 de 24 de Março que estabelece as regras de segurança dos brinquedos disponibilizados no mercado. O presente Decreto-Lei alarga o âmbito de aplicação do precedente Decreto-Lei n.º 237/92, de 27 de Outubro, que transpôs para direito nacional a Directiva n.º 88/378/CEE, do Conselho, de 3 de Maio. Esta directiva procurou harmonizar a segurança dos brinquedos a nível europeu, de forma a responder aos requisitos essenciais que presidem ao seu fabrico. No Anexo I encontram-se referenciadas as normas harmonizadas ao abrigo desta Directiva e os respectivos títulos.

Os brinquedos que respeitem as normas impostas pelos organismos europeus de normalização ostentam a marcação CE de conformidade, encontrando-se por isso, também abrangidos pelo Regulamento (CE) n.º 765/2008 do Parlamento Europeu e do Conselho, que estabelece os requisitos de acreditação e fiscalização do mercado relativos à comercialização de produtos. A ostentação da marcação CE nestes produtos subentende que os mesmos cumprem com o disposto no Decreto-Lei n.º 43/2011.

As tintas artísticas destinadas às crianças enquadram-se na categoria dos *brinquedos químicos*, que se destinam à manipulação directa de substâncias e misturas químicas, a serem utilizadas numa idade adequada, sob vigilância de adultos.

Esta categoria de brinquedos deve igualmente respeitar o disposto no Regulamento (CE) n.º1272/2008, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 16 de Dezembro, relativo à classificação, rotulagem e embalagem de substâncias e misturas. Este regulamento vem alterar e/ou revogar os seguintes diplomas:

- i. **Directiva n.º 67/548/CEE¹**, do Conselho, de 27 de Junho, relativa à aproximação das disposições legislativas, regulamentares e administrativas respeitantes à classificação, embalagem e rotulagem das substâncias perigosas;
- ii. **Directiva n.º 1999/45/CE**, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 31 de Maio, relativa à aproximação das disposições legislativas, regulamentares e administrativas dos Estados membros respeitantes à classificação, embalagem e rotulagem das preparações perigosas;
- iii. **(Alteração) Regulamento (CE) n.º 1907/2006**, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 18 de Dezembro, relativo ao registo, avaliação, autorização e restrição de substâncias químicas (REACH - *Registration, Evaluation and Authorization of Chemicals*). O documento REACH substitui mais de 40 directivas e regulamentos já existentes, pretendendo conferir uma maior responsabilidade à indústria no que respeita à gestão dos riscos dos produtos químicos e ao fornecimento de informações relativas à segurança das substâncias e preparações.

Algumas tintas encontram-se ainda certificadas por entidades internacionais, nomeadamente americanas como a *Art & Creative Materials Institute (ACMI)*. A ACMI é uma associação sem fins lucrativos de fabricantes de arte, artesanato e outros materiais criativos. Desde 1940 que esta associação tem patrocinado num programa de certificação para os materiais de arte para crianças, certificando que estes produtos não são tóxicos e cumprem normas voluntárias de qualidade e desempenho.

Os produtos certificados pela ACMI e que apresentam o selo de Produto Aprovado (AP – *Approved Products*) são considerados seguros, encontrando-se certificados segundo uma avaliação toxicológica, efectuada por uma pessoa competente, assegurando que não contêm substâncias em quantidades consideradas tóxicas ou prejudiciais para os humanos, em particular as crianças, ou que sejam responsáveis por problemas de saúde agudos e crónicos. Os requisitos de qualidade definidos por esta associação são desenvolvidos não só pela mesma como por outras reconhecidas organizações de padrões como a *American*

¹ A Directiva n.º 67/548/CEE encontra-se alterada pela Directiva n.º 2006/121/CE, com o intuito de a adaptar ao Regulamento (CE) n.º 1907/2006, relativo ao registo, avaliação, autorização e restrição dos produtos químicos (REACH).

Society for Testing and Materials (ASTM) e a *American National Standards Institute (ANSI)*.

Como já foi mencionado anteriormente, as tintas utilizadas para a pintura da cara e/ou corpo das crianças encontram-se abrangidas, para além da directiva dos brinquedos e do regulamento REACH, pela Directiva 76/768/CEE, do Conselho, de 27 de Julho relativa à aproximação das legislações dos Estados membros respeitantes aos produtos cosméticos. Este diploma é denominado como legislação “vertical”, específica para produtos cosméticos acabados e seus ingredientes. Existem, contudo, outros documentos legislativos que abrangem várias substâncias presentes nestes produtos devendo, como tal, ser igualmente tidos em consideração aquando o levantamento de informação sobre um determinado ingrediente cosmético (Pauwels & Rogiers, 2007).

A nível nacional o Decreto-Lei n.º 189/2008 de 24 de Setembro estabelece o regime jurídico aplicável aos produtos cosméticos e de higiene corporal, alterado pelo Decreto-Lei n.º 115/2009, de 18 de Maio e pelo Decreto-Lei n.º 113/2010, de 21 de Outubro. Este decreto transpõe para a ordem jurídica interna um conjunto de directivas que alteram, completam e modificam, bem como adaptam o progresso científico e técnico, a Directiva n.º76/768/CEE.

Mais recentemente foi imposto a nível comunitário o Regulamento (CE) n.º 1223/2009, de 30 de Novembro de 2009 do Parlamento Europeu e do Conselho relativo aos produtos cosméticos, que procura reformular e simplificar a Directiva n.º76/765/CEE, que tem vindo a ser sujeita a sucessivas alterações.

1.4 QUALIDADE QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DAS TINTAS – RISCO PARA A SAÚDE DAS CRIANÇAS

No que concerne às tintas utilizadas pelas crianças, nomeadamente à sua comercialização, esta não se encontra na maioria dos casos, dirigida especificamente a este público-alvo, uma vez que, se tratam de produtos que facilmente podem ser utilizados pelos adultos noutras actividades. Consequentemente, o fabrico destes produtos traduz-se muitas vezes em processos que não têm em consideração a vulnerabilidade das crianças face à exposição a determinadas substâncias utilizadas na formulação dos mesmos.

A susceptibilidade das crianças difere em muitos aspectos da susceptibilidade dos adultos. As crianças bebem mais líquidos, comem mais alimentos, respiram mais ar por quilograma de peso corporal e têm uma maior superfície de pele em proporção ao seu volume corporal. A própria dieta da criança, os seus comportamentos e estilos de vida influenciam a sua exposição, assim como o facto de estarem em maior contacto com o chão e a sujidade, de colocarem objectos na boca, ingerirem objectos impróprios (ex: pedaços de tinta) e passarem mais tempo ao ar livre (Agency for Toxic Substances and Disease Registry [ATSDR], 2008a).

Embora existam directrizes relativas à rotulagem destes produtos, o que permite aos pais e educadores de infância optarem por produtos com o menor teor possível de substâncias perigosas, existe ainda alguma escassez de informação acerca dos mesmos, nomeadamente no que concerne a alguns compostos utilizados na sua formulação. Relativamente à regulamentação dos produtos cosméticos esta não atribui nenhum valor limite a elementos tóxicos, como por exemplo os metais pesados, que podem estar presentes nos produtos sob a forma de impurezas.

Das substâncias químicas que podem estar presentes nestes produtos e que possam representar um potencial perigo, destacam-se alguns elementos tóxicos, nomeadamente metais pesados, e alguns corantes do tipo Azo considerados cancerígenos. Também em função do tipo e da tipologia do produto, podemos encontrar teores de água elevados, o

que potencia crescimento microbiano. Neste caso, pode igualmente se constituir risco para as crianças dado o contacto directo com a pele, mucosas, entre outras.

1.4.1 ELEMENTOS TÓXICOS

O grau de toxicidade das tintas, qualquer que seja a sua tipologia, depende muito dos pigmentos utilizados na formulação das suas cores. Pigmentos derivados do chumbo e cádmio (alguns vermelhos, laranjas e amarelos) são considerados os mais tóxicos. Já no que respeita aos pigmentos inorgânicos de óxidos de ferro, zinco e titânio (vermelhos terrosos, terras e brancos) os mesmos parecem não oferecer perigo.

A problemática associada à utilização de pigmentos considerados tóxicos, em diferentes tipologias de indústrias (alimentar, farmacêutica, tintas, entre outras), deve-se em muitos casos ao desconhecimento por parte dos fabricantes do grau de pureza destes compostos, uma vez que, os produtores dos mesmos apenas disponibilizam informação sobre a intensidade da cor, poder de cobertura, resistência à luz, entre outras características (Baumler *et al.*, 2003). Quando se tratam de produtos em que a quantidade de pigmento é considerável, como no caso das tintas utilizadas pelas crianças, a situação torna-se ainda mais preocupante.

A natureza e o grau de toxicidade varia consoante o metal envolvido, o nível de exposição, os estados químicos e de valência (inorgânicos *vs* orgânicos), o modo de exposição (aguda *vs* crónica) e a idade do indivíduo (Ibrahim, Froberg, Wolf & Rusyniak, 2006).

As crianças do ensino pré-escolar, com idades inferiores aos 5 anos encontram-se particularmente vulneráveis a envenenamento por metais pesados, devido ao facto de se encontrarem num estado de desenvolvimento físico e comportamental, com especial ênfase para o crescimento total e diferencial do cérebro nos primeiros anos de vida. Nesta idade as crianças apresentam uma maior sensibilidade, quer em termos neurológicos quer em termos do tecido sanguíneo ao nível da hemoglobina (em particular ao chumbo). Além disso, apresentam uma absorção gastrointestinal a contaminantes mais eficaz que nos adultos, situando-se na ordem dos 50% nas crianças e 8% nos adultos (Tong & Lam,

1998). É de referir que devido à elevada exigência de oxigénio e a um peso corporal pequeno, as crianças inalam mais ar que os adultos, traduzindo-se, conseqüentemente, numa maior probabilidade de inalação de toxinas presentes no ar. Muitos agentes podem também ser absorvidos através da pele, encontrando-se novamente as crianças mais susceptíveis a absorção cutânea que os adultos, dado que, a barreira de protecção ainda não se encontra completamente desenvolvida (Graeter & Mortemen, 1996). Já Barata (2002) defende que a permeabilidade cutânea é semelhante à do adulto sendo principalmente a relação superfície/peso que revela risco de penetração excessivo de princípios activos. O mesmo acrescenta que, uma vez respeitadas estas condições, a pele do recém-nascido não será nem mais, nem menos frágil que a do adulto.

Segundo Hostynek (1998) (citado por Omolaoye, 2010), alguns elementos tóxicos são solúveis na água e, por isso, quando aplicados na pele esta pode promover a absorção percutânea de elementos que se encontram sobre a forma de impurezas em pigmentos (Omolaoye, Uzairu & Gimba, 2010). Contudo, importa referir que o risco de absorção percutânea é variável consoante o local de aplicação do produto, daí os produtos que são aplicados directamente nas mucosas constituírem um maior risco. Neste contexto, os produtos cosméticos assumem particular importância, podendo constituir uma fonte de sensibilização, considerando o facto de poderem ser aplicados em zonas da pele mais finas, como a área peri-ocular e lábios, onde a absorção é mais elevada.

A crescente preocupação relacionada com a exposição das crianças a elementos tóxicos presentes nas tintas ficou marcada quando em 2007 vários brinquedos infantis foram recolhidos do mercado por apresentarem excesso de chumbo (Pb) na tinta utilizada no acabamento dos mesmos (Bentlin *et al.*, 2009). Desde então, alguns estudos têm focalizado a sua atenção nesta categoria de produtos com fim à prossecução de análises que permitam determinar o risco a que as crianças possam estar expostas aquando a utilização destes brinquedos.

Um estudo realizado em Itália investigou os níveis de níquel (Nq), cobalto (Co) e crómio (Cr) em 52 brinquedos de maquilhagem tendo encontrado uma relação entre a presença destes elementos e efeitos ao nível da irritação da pele (Corazza, Baldo, Pagnoni, Miscioscia & Virgili, 2009). Da análise efectuada, observaram que 28 das 52 amostras

analisadas apresentavam concentrações de crómio muito acima dos 5 ppm, registando ainda, para este metal, valores superiores a 1000 ppm em 3 amostras de sombras para os olhos. Em 14 e 5 amostras analisadas observaram ainda concentrações de níquel e cobalto, respectivamente, acima dos 5 ppm. Dos produtos estudados verificaram que os brinquedos de maquilhagem em pó (sombras para os olhos) apresentaram os níveis mais elevados de metais, enquanto que aqueles que se encontravam na forma de creme (*gloss* e *stick* para os lábios) apresentaram as concentrações mais baixas. Observaram ainda que as crianças tinham tendência a desenvolver reacções a estes metais, especialmente se manifestassem propensão ao desenvolvimento de alergias da pele ou se apresentassem a pele danificada, como cortes e arranhões.

Recentemente, a organização *Campaign for Safe Cosmetics* (2009), uma coligação sem fins lucrativos entre grupos ambientalistas e da área da saúde, criada nos Estados Unidos da América, estudou um conjunto de 10 tintas, de marcas bastante conhecidas no mercado, e utilizadas em pinturas faciais de crianças. Dos resultados obtidos concluíram que todas as tintas analisadas apresentavam na sua composição chumbo em concentrações que variavam entre os 0.054 ppm e 0,65ppm. Seis dos dez produtos encontravam-se ainda contaminados por metais considerados alérgenos para a pele como o níquel, cobalto e /ou crómio, em concentrações muito superiores às recomendadas por estudos realizados na área (1 ppm). A maioria dos produtos apresentou dois, três ou mesmo os quatro metais na sua composição. Este estudo analisou ainda a composição dos rótulos destes produtos e observou que um deles, rotulado “não-tóxico” e “hipoalergénico”, apresentava uma das concentrações mais elevadas de chumbo, níquel e cobalto determinadas neste estudo.

Embora a nível nacional e dos estados membros as orientações legais proíbam a presença de chumbo, cádmio, crómio, níquel e alguns compostos de cobalto e restrinjam a utilização de alguns compostos de zinco sob determinadas condições nos produtos cosméticos, existe alguma preocupação no que concerne à presença destes elementos sob a forma de impurezas nestes produtos, as quais não se encontram contempladas pela legislação. Por esta razão alguns estudos têm proposto valores limites para alguns destes elementos, nomeadamente, para o crómio, cobalto e zinco. Um limite máximo de 5ppm para cada elemento (Cr, Co e Nq) tem sido referenciado para qualquer produto de consumo ou para a casa, de forma a assegurar que a maioria dos indivíduos alérgicos aos mesmos não

manifeste alergia, assim como, limitar que novos indivíduos desenvolvam sensibilidade a estes metais. Os mesmos estudos referem ainda como meta final uma concentração não superior a 1 ppm que garanta um nível de protecção ainda maior (Basketter *et al.*, 2001; Basketter, Angelini, Ingber, Kern & Menne, 2003).

No caso das tintas artísticas de uso didáctico (guaches, aguarelas, acrílicas, entre outras) e no que diz respeito às exigências legais aplicáveis, em termos da presença de elementos tóxicos, a situação é bastante diferente, como mostra a Tabela I.

Tabela I Valores limites aplicáveis às tintas artísticas, enquanto brinquedos (adaptado de Decreto-Lei n.º 43/2011, de 24 de Março)

ELEMENTO	mgKg ⁻¹ DE MATERIAL DO BRINQUEDO LÍQUIDO OU VISCOSO
ALUMÍNIO	1406
ANTIMÓNIO	11.3
ARSÉNIO	0.9
BÁRIO	1125
BORO	300
CÁDMIO	0.5
CRÓMIO ^{III}	9.4
CRÓMIO ^{VI}	0.005
COBALTO	2.6
COBRE	156
CHUMBO	3.4
MANGANÊS	300
MERCÚRIO	1.9
NÍQUEL	18.8
SELÉNIO	9.4
ESTRÔNCIO	1125
ESTANHO	3750
ESTANHO NA FORMA ORGÂNICA	0.2
ZINCO	938

Considerando os estudos na área e os principais elementos tóxicos associados às tintas utilizadas pelas crianças, serão abordados mais especificamente os efeitos ao nível da saúde dos elementos chumbo, cádmio, crómio, cobalto, níquel, manganês, cobre e zinco.

1.4.1.1 Chumbo

O chumbo (Pb) é um poderoso neurotóxico, cujos efeitos de toxicidade são os mesmos, independentemente da sua via de entrada, normalmente por ingestão ou inalação. Uma vez absorvido, o chumbo liga-se aos eritrócitos e viaja pelo sangue até aos tecidos moles, como o fígado, rins, pulmões, cérebro, baço e músculos, incluindo o coração (Meyer, Brown & Falk, 2008). Este metal afecta praticamente todos os órgãos e sistemas do organismo, interferindo em processos bioquímicos essenciais como a absorção de cálcio, inibindo ou mimetizando a acção deste mineral, podendo ainda interagir com proteínas (Meyer *et al.*, 2003).

Crianças	Concentração de chumbo no sangue (µg/dL)	Adultos
	150	← Encefalopatia ← Nefropatia
Morte →		
Encefalopatia →	100	
Nefropatia →		← Anemia
Anemia →		← Efeitos reprodutivos (homens)
Cólicas →	50	← ↓ Síntese da hemoglobina Efeitos reprodutivos (mulher)
	40	← ↓ Velocidade da condução nervosa
↓ Síntese da hemoglobina →		← Aumento da pressão arterial
↓ Metabolismo da vitamina D →	30	← ↑ Protoporfirina eritrocitária (homens)
	20	← ↑ Protoporfirina eritrocitária (mulheres)
↓ Velocidade da condução nervosa →		
↑ Protoporfirina eritrocitária →		
↓ Metabolismo da vitamina D →	10	
Toxicidade no desenvolvimento →		
↓ IQ ↓ Audição ↓ Crescimento		
Transferência transplacentar →		

Figura IV. Níveis de chumbo no sangue e repercussões ao nível da saúde, em crianças e adultos (Adaptado de Meyer *et al.*, 2003)

Como apresentado na Figura IV, as crianças representam um grupo mais vulnerável aos efeitos tóxicos do chumbo que os adultos. Segundo a ATSDR (2007) a exposição ao chumbo durante a infância e adolescência pode resultar em anemia, danos neurológicos, alterações renais, cólicas e défice no metabolismo da vitamina D.

Determinadas características das crianças contribuem para que estas sejam mais vulneráveis ao envenenamento por chumbo, de destacar a elevada capacidade de absorção do tracto digestivo, o aumento da absorção em estados de Anemia Ferropénica ou deficiente ingestão de cálcio (frequente nestas idades), o acto comum de levarem a mão à boca, e o rápido desenvolvimento do sistema nervoso, característico desta fase de crescimento (Montgomery & Mathee, 2005; Solé, Ballabriga & Domínguez, 1998).

A principal via de exposição ao chumbo em crianças é através do tracto gastrointestinal (Ibrahim *et al.*, 2006), contudo, este metal pode igualmente entrar no organismo através de absorção dérmica, embora seja considerada geralmente muito inferior à absorção por inalação ou ingestão (ATSDR, 2007). Segundo Apostoli *et al.* (2006) a exposição cutânea a compostos de chumbo orgânico, tais como, tetraetil e tetrametil de chumbo podem levar a uma intoxicação aguda, ao contrário do chumbo metálico e dos sais de chumbo inorgânico que não são significativamente absorvidos através da pele.

Apesar dos níveis de chumbo no sangue não poderem ser estritamente correlacionados com sintomas específicos, existe a tendência para associar algumas características a determinadas gamas de valores. Em particular no grupo das crianças, a exposição ao chumbo em concentrações consideradas baixas (10-50 $\mu\text{g}/\text{dl}$) pode causar alterações cognitivas e comportamentais imperceptíveis de diferenciar das mudanças normais próprias do desenvolvimento da criança. A concentrações moderadas (50-70 $\mu\text{g}/\text{dl}$) este grupo de indivíduos pode apresentar uma diminuição global da actividade, apresentando-se como crianças que não gostam de jogar ou cujo desenvolvimento apresenta atrasos comparativamente aos seus pares. Estes sintomas foram classificados como sintomas pré-encefálicos sendo mais proeminentes entre 1 e 5 anos de idade. Com uma intoxicação aguda por chumbo (> 70 $\mu\text{g}/\text{dl}$) as crianças podem desenvolver encefalopatia com sintomas que podem ir desde convulsões, alterações do estado mental, sintomas consistentes com o aumento da pressão intracraniana e, em última instância, coma (Lidsky & Schneider, 2003).

1.4.1.2 Cádmi

O cádmio (cd) é um metal pesado com elevado poder de toxicidade. É considerado tóxico mesmo em baixos níveis de exposição, provocando efeitos agudos e crónicos na saúde e no ambiente (*Nordic Council of Ministers*, 2003).

A absorção do cádmio através dos pulmões ou do tracto gastrointestinal resulta, numa fase inicial, no transporte deste elemento no sangue, principalmente através de proteínas de elevado peso molecular (albuminas). No sangue o cádmio é distribuído pelos eritrócitos (90%) ligando-se também à albumina no plasma, sendo este complexo cádmio-albumina posteriormente retido no fígado e noutros órgãos (*Apostoli et al.*, 2006).

Os efeitos ao nível da saúde observados em crianças expostas a níveis tóxicos de cádmio parecem ser semelhantes aos feitos observados em adultos, compreendendo danos ao nível dos rins, pulmões, e intestino, dependendo da via de entrada. Dados recolhidos a partir de experimentações em animais e humanos revelaram que a absorção através dos pulmões (via inalação) é superior à absorção através do sistema gastrointestinal (via ingestão) (*Nordic Council of Ministers*, 2003). Ao nível dos rins, a acumulação de cádmio no córtex renal pode levar a uma disfunção tubular renal prejudicando a reabsorção de alguns componentes essenciais como por exemplo, proteínas, glucose e aminoácidos (*Apostoli et al.*, 2006).

A U.S *Environmental Protection Agency* (EPA) (2011), classificou o cádmio como um elemento pertencente ao grupo B1 – possível agente cancerígeno para o Homem. Por sua vez, a *International Agency for Research on Cancer* (IARC) (2011), classifica o cádmio como cancerígeno para os seres humanos.

Embora a utilização de cádmio na produção de pigmentos tenha vindo, de um modo geral, a ser eliminada em alguns países, no ano 2000 esta aplicação representava ainda, ao nível da União Europeia (UE), uma parte significativa do consumo total de cádmio (*Nordic Council of Ministers*, 2003).

1.4.1.3 Crómio, Cobalto e Níquel

Os metais de transição crómio (Cr), cobalto (Cb) e níquel (Nq) são causas comuns de dermatites de contacto (ACD – *Allergic Contact Dermatitis*), estando a sua presença associada não só a objectos metálicos, mas também a pigmentos de tatuagens e cosméticos (Basketter *et al.*, 2003); Corazza *et al.*, 2009). Estes elementos metálicos são considerados sensibilizadores cutâneos e do sistema respiratório (Apostoli *et al.*, 2006).

O crómio é um metal que pode ser encontrado em diversas formas numa variedade de produtos, estando as formas trivalente (Cr^{III}) e hexavalente (Cr^{VI}) associadas nomeadamente à formulação de pigmentos (ATSDR, 2008c). As propriedades químicas e toxicológicas do crómio diferem marcadamente conforme o estado de valência do metal sendo que o crómio hexavalente apresenta maior toxicidade que o crómio trivalente, o qual representa uma espécie essencial. Contrariamente aos compostos de crómio trivalente, os compostos de crómio hexavalente são agentes oxidantes capazes de induzirem directamente danos ao nível dos tecidos (Apostoli *et al.*, 2006).

Os efeitos ao nível da saúde associados à exposição a este elemento metálico são semelhantes quer nos adultos quer nas crianças, variando consoante a via de entrada no organismo. A inalação de elevados níveis de crómio hexavalente pode causar irritação da mucosa nasal, úlceras nasais, corrimento nasal e problemas respiratórios como a asma (ATSDR, 2008c). Estes efeitos encontram-se sobretudo associados a uma exposição ocupacional pelo que os efeitos ao nível da ingestão e contacto dérmico são mais relevantes quando o público alvo são as crianças.

A ingestão de crómio hexavalente encontra-se sobretudo associada, em animais, a irritação e úlceras no estômago e intestino grosso, bem como, a estados de anemia. No que respeita ao contacto dérmico com alguns compostos de crómio hexavalente este pode resultar em úlceras na pele (ATSDR, 2008c; Gondal & Hussain, 2007). Alguns indivíduos apresentam elevada sensibilidade a ambas as formas de crómio, Cr^{III} e Cr^{VI} , contudo, sabe-se que o crómio hexavalente penetra melhor o tecido da pele que o crómio trivalente e, por isso, o primeiro induz mais facilmente uma reacção alérgica (Apostoli *et al.*, 2006).

O cobalto é um elemento muito utilizado na produção de ligas metálicas embora também possa ser encontrado em tintas, funcionando sobretudo como pigmento e agente secante (ATSDR, 2004a). Por norma, os pigmentos de cobalto apresentam uma cor azul característica, o que não implica que não existam outros compostos de cobalto com outra coloração.

A exposição a baixas concentrações de cobalto pode ocorrer através da respiração e ingestão de alimentos e água. A comida e a água de beber constituem as principais fontes de exposição a este elemento, para a população em geral. Os efeitos do cobalto na saúde podem ser benéficos ou prejudiciais. Por um lado, este elemento é considerado útil nos seres humanos, uma vez que, faz parte da vitamina B12, por outro, a exposição a elevadas concentrações pode resultar em efeitos nefastos ao nível dos pulmões e coração, assim como, dermatoses (ATSDR, 2004a). A IARC (2011) classifica o cobalto e os seus compostos como possíveis agentes cancerígenos para o Homem.

A susceptibilidade das crianças ao cobalto é um campo ainda pouco explorado, no entanto, acredita-se que os efeitos ao nível da saúde sejam semelhantes aos efeitos observados em adultos. Não obstante, estudos realizados em animais indicam que as crianças podem absorver maior percentagem de cobalto que os adultos (ATSDR, 2004a).

Tal como o cobalto, o níquel (Ni) é um metal com características próprias que o tornam muito cobiçado na formação de ligas metálicas, em combinação com outros metais. O níquel pode ser combinado com outros elementos como o cloro, enxofre, e oxigénio para formar compostos de níquel. Muitos destes compostos dissolvem-se facilmente em água sendo utilizados, entre outras situações, na formulação de tintas.

O principal efeito adverso para a saúde humana resultante da exposição ao níquel é a manifestação de uma reacção alérgica. Segundo a ATSDR (2005a) aproximadamente 10-20% da população é alérgica ao níquel. Normalmente, a sensibilização ao níquel envolve um contacto inicial prolongado com este elemento ou a exposição a uma dose muito elevada do mesmo. Contudo, indivíduos que apresentem à *posteriori* sensibilidade ao níquel desenvolvem mais facilmente problemas dérmicos, mesmo quando se encontram

expostos a concentrações muito baixas deste metal, quer por ingestão quer por contacto dérmico. Embora menos frequente, podem ocorrer ataques de asma após a exposição a este metal por indivíduos alérgicos ao mesmo (ATSDR, 2005c).

Existe pouca informação relativamente à toxicidade do níquel em crianças. Várias pesquisas têm, contudo, encontrado uma maior sensibilidade a este metal nas camadas mais jovens, sobretudo como resultado de uma maior exposição a este elemento, nomeadamente através da utilização de brincos.

1.4.1.4 Manganês

O manganês (Mn) é um metal de transição que, em concentrações adequadas, representa um nutriente essencial na nossa alimentação diária. Por outro lado, em concentrações excessivas é um elemento tóxico para a saúde (Hodgson, 2004; Wright, Amarasiriwardena, Woolf, Jim & Bellinger, 2006).

Este metal pode ser encontrado numa variedade de produtos, incluindo tintas e cosméticos, sendo principalmente utilizado em combinação com outras substâncias, como o oxigénio (ATSDR, 2008b). A principal via de exposição ao manganês é através da ingestão de alimentos. A inalação e o contacto dérmico podem igualmente ocorrer, embora, neste último caso, apenas pequenas quantidades deste metal possam ser absorvidas pela pele através do contacto com líquidos contendo este elemento na sua composição.

Contrariamente ao chumbo, a neurotoxicidade do manganês ainda não se encontra completamente definida. Alguns autores têm associado a exposição a elevados níveis deste metal em crianças a comportamentos de hiperactividade e a uma diminuição do ritmo de desenvolvimento e da função intelectual (Wasserman *et al.*, 2011).

1.4.1.5 Cobre

O cobre é um metal essencial, encontrado no meio ambiente e em todos os organismos no estado oxidado (Cu^{II}) ou no estado reduzido (Cu^{I}). A sua utilização é variada podendo ser encontrado nos produtos cosméticos sob a forma de pó de cobre (Al-Saleh, Al-Enazi & Shinwari, 2009).

A população em geral encontra-se exposta ao cobre através da inalação de ar, do consumo de comida e água ou através do contacto dérmico com substância que contém este elemento. A exposição a elevadas concentrações de cobre resulta, normalmente, nos mesmos efeitos nas crianças e nos adultos. Contudo, uma percentagem pequena de crianças apresenta elevada sensibilidade a este metal. Um dos principais efeitos adversos para a saúde mais comumente reportados ao cobre são os distúrbios gastrointestinais associados, particularmente, à ingestão de soluções de sulfato de cobre. O cobre é também um elemento irritante do tracto respiratório. Estudos *in vitro* sugerem que este metal é pouco absorvido através da pele intacta. Apesar disso, alguns compostos de cobre parecem ser melhor absorvidos através da pele quando comparado com outros, como é o caso do cloreto de cobre, comparativamente ao sulfato de cobre (ATSDR, 2004b).

O cobre é responsável por reacções que podem resultar na produção de espécies de oxigénio altamente reactivas (ROS), responsável pela peroxidação lipídica das membranas, oxidação directa de proteínas, e clivagem de moléculas de DNA e RNA (Tapiero, Townsend & Tew, 2003).

1.4.1.6 Zinco

O zinco é um dos elementos mais comuns na crosta terrestre, podendo ser encontrado no ar, solo e água e estando presente em todos os alimentos. Este metal pode ser combinado com outros elementos, como o cloro, oxigénio e enxofre para formar compostos de zinco. Alguns compostos de zinco são utilizados vulgarmente na formulação de tintas, como o sulfeto de zinco (ZnS) e o óxido de zinco (ZnO), utilizados como pigmentos brancos (ATSDR, 2005b).

O zinco desempenha um importante papel no crescimento das crianças, exercendo ação em mais de 300 enzimas, e estando intimamente relacionado com a síntese de proteínas (Salgueiro *et al.*, 2002). Apesar disso, e tal como alguns elementos já abordados anteriormente, em concentrações elevadas pode ser prejudicial para a saúde. Os efeitos nocivos são sentidos, geralmente, em quantidades 10 a 15 vezes superiores à quantidade necessária deste elemento. A ingestão de elevadas doses, mesmo que por um curto período de tempo pode causar dores de estômago, náuseas e vômitos.

1.4.2 CORANTES – TIPOLOGIA AZO

Para além dos pigmentos tóxicos existem determinados colorantes que podem ser utilizados na formulação de tintas, e que são classificados como cancerígenos, como é o caso de alguns colorantes do tipo azo. Muitos dos compostos azoicos são praticamente insolúveis, sendo por isso considerados pigmentos (Møller & Wallin, 2000), no entanto, existem também corantes do tipo azo que, contrariamente aos pigmentos, são geralmente mais solúveis, o que suscita alguma preocupação pelo facto de poderem ser metabolizados e distribuídos pelo corpo de forma mais rápida e com um grau muito superior em relação às moléculas de pigmentos (Baumler *et al.*, 2003).

Os colorantes do tipo azo têm como característica a presença de um grupo “azo” em que dois átomos de azoto ($-N=N-$) se ligam para combinarem duas entidades químicas separadas, uma amina aromática e um componente acoplado (Smith, 2003). Os pigmentos orgânicos do tipo azo podem ser agrupados em vários tipos, dependendo da semelhança entre a estrutura química (Møller & Wallin, 2000), podendo ser subdivididos em monoazo, diazo, β -naftol, azo toners, benzoimidazol, diazo de condensação, azo complexado com metais e isoindolinona/isoindolina (Saron & Felisberti, 2006). A esta tipologia de corantes pertencem habitualmente formas de amarelo, laranja ou vermelho, cuja obtenção da cor depende da estrutura do grupo amina aromática, da estrutura do componente acoplado e do tipo de cristal obtido (Smith, 2003). Os colorantes do tipo azo constituem o maior grupo de corantes orgânicos produzidos mundialmente (Guaratini & Zanoni, 2000).

A problemática associada a estes colorantes está associada a estes poderem sofrer uma biotransformação, levando à formação de aminas, benzidinas e outros intermediários com

potencial carcinogénico (Baumler *et al.*, 2003; Guaratini & Zanoni, 2000), destacando-se os corantes Solvente vermelho 1 (CI 12150), Pigmento vermelho 7 (CI 12420), Pigmento amarelo 87 (CI 21107) e Pigmento laranja 16 (CI 21160). A toxicidade dos colorantes azo resulta da redução do grupo azo, pela acção de bactérias anaeróbicas presentes no intestino ou através de enzimas hepáticas, libertando assim aminas aromáticas (Borrós, Barberá, Biada & Agulló, 1999). Estas aminas aromáticas ao reagirem com as células podem desencadear o início de um processo cancerígeno. Mais concretamente, o que acontece é que as aminas ao reagirem com as células podem metabolicamente activar intermediários da cadeia de ADN que são mutagénicos e cancerígenos (Noguerol-Cal, López-Vilariño, González-Rodríguez & Barral-Losada, 2011). Desta forma a toxicidade do corante é muitas vezes relacionada com a toxicidade das aminas utilizadas durante a sua síntese.

Considerando a problemática associada a estes corantes a *European Medicines Agency* (EMA) (2010) recomenda a não utilização de corantes sintéticos do tipo azo como excipientes em formulações pediátricas.

1.4.3 MICRORGANISMOS

A necessidade em controlar a contaminação microbiana de todos os produtos para uso e consumo humano, e que propiciem o crescimento microbiano, tem sido alvo de grande preocupação, em especial para os fabricantes (Katušin- Ražem, Mihaljević & Ražem, 2003). A indústria alimentar e farmacêutica, em particular, têm-se esforçado por padrões microbiológicos elevados, procurando por um lado proteger os seus produtos da deterioração e por outro os seus consumidores de infecção (Katušin- Ražem *et al.*, 2003).

As tintas à base de água e os produtos cosméticos compreendem na sua composição materiais orgânicos e inorgânicos, o que contribui para que estes produtos sejam mais susceptíveis a contaminação microbiana durante as várias etapas de produção, através das matérias-primas, ingredientes e manipulação e/ou durante o armazenamento e utilização repetida dos produtos finais pelo consumidor (Katušin- Ražem *et al.*, 2003; La Rosa *et al.*, 2008). Temperatura e humidade elevadas têm sido evocadas como factores facilitadores do desenvolvimento microbiano (La Rosa *et al.*, 2008). A biodeterioração destes produtos

constitui um risco para a saúde dos consumidores, sobretudo quando se refere a microrganismos patogénicos oportunistas (Flores *et al.*, 1997).

No que respeita às tintas, a literatura tem associado a biodeterioração das mesmas à presença de fungos e bactérias quer no produto enquanto embalado quer após a sua utilização (La Rosa *et al.*, 2008). De entre as bactérias associadas à deterioração das tintas enquanto produto embalado têm sido identificados os géneros *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Escherichia* e *Bacillus*, responsáveis pela alteração das características destes produtos (La Rosa *et al.*, 2008).

Os efeitos da biodeterioração são facilmente detectáveis, apresentando as tintas à base de água maior susceptibilidade a processos de biodeterioração comparativamente com as tintas à base de óleo (La Rosa *et al.*, 2008). A perda de viscosidade, gaseificação, mau cheiro, alteração da cor e crescimento microbiano superficial visível são as principais alterações das tintas que evidenciam actividade microbiana, como mostra a Tabela II.

Tabela II Principais efeitos da biodeterioração das tintas (adaptado de Dey *et al.*, 2004)

COMPONENTE AFECTADO	CONSEQUÊNCIAS DA BIODEGRADAÇÃO
ESPESSANTES CELULÓSICOS	Perda de viscosidade, produção de gás, alterações de pH
DISPERSANTES	Fraco poder de cobertura, alterações de cor, precipitação de pigmentos, gelificação
GLICÓIS, AGENTES COALESCENTES	Redução do brilho, escamação, película porosa, fraco poder de adesão e de nivelamento
ANTI-ESPUMANTES	Espuma, película porosa
DISPERSÃO DA COR	Sem cor, cor irregular, aglomeração dos colorantes

As propriedades reológicas da formulação, nomeadamente a viscosidade, sofrem a acção de enzimas produzidas pelos microrganismos. Tanto as bactérias como os fungos são capazes de produzir a enzima celulase, eficaz na quebra de cadeias celulósicas de agentes espessantes, contribuindo para a produção de pequenas unidades residuais oligoméricas que não preenchem a função do material original (Dey, Hashim, Hasan & Sen Gupta,

2004). A quebra dos espessantes celulósicos traduz-se na degradação da celulose a glicose por parte das bactérias fermentativas, processo do qual resulta também a formação de ácido e dióxido de carbono (CO₂). A produção de ácidos pode causar mudanças de pH, embora as tintas sejam normalmente tamponadas de forma a resistir à rápida deterioração (Dey *et al.*, 2004).

O mau odor muitas vezes associado à biodegradação das tintas deve-se à presença de bactérias redutoras de sulfato, como a *Desulphovibrio desulphuricans*. Estas bactérias crescem em condições de anaerobiose podendo utilizar o oxigénio dos sulfatos para formar sulfureto de hidrogénio, conhecido por gás sulfídrico (H₂S) responsável pelo mau odor (Dey *et al.*, 2004). A criação de condições de anaerobiose, importantes para o crescimento destas bactérias, é favorecida por outras bactérias que consomem numa fase inicial todo o oxigénio disponível no produto.

Quanto ao processo de descoloração das tintas este ocorre pela formação de sulfuretos insolúveis, como é o caso do sulfureto de ferro. Para além destes compostos, determinados microrganismos podem igualmente contribuir para a descoloração das tintas como por exemplo *Rhodotorula rubra* e *Sporobolomyces roseus* e alguns fungos pigmentados (Dey *et al.*, 2004).

As características intrínsecas das tintas constituem um meio favorável ao crescimento e desenvolvimento microbiano, um cenário observável nesta categoria de produtos, embora pouco frequente em parte devido à acção dos agentes conservantes presentes nos mesmos.

Relativamente aos produtos cosméticos, a capacidade dos microrganismos crescerem e reproduzirem-se nestes produtos já é conhecida há muitos anos (Danish EPA, 2007). A biodeterioração destes produtos produz efeitos muito semelhantes aos observados nas tintas, alterando sobretudo as suas características físicas e químicas. Produtos com elevada contaminação microbiana normalmente apresentam mau odor, mudança de cor, formação de espuma e formação de gás, que em casos mais extremos pode levar à formação de saliências na embalagem do produto e conseqüentemente ao vazamento do produto ou reventamento da embalagem (Perry, 2001). Contudo, podem igualmente ocorrer alterações mais subtis difíceis de perceber pelo utilizador.

Um estudo realizado por Flores *et al.* (1997), baseou-se na inoculação de bactérias do género *Bacillus*, *Micrococcus* e *Staphylococcus* em cremes hidratantes, emulsões do tipo O/A (óleo em água, ou seja, cremes secos), e na observação das principais alterações do produto após um período de 28 dias à temperatura ambiente e a uma temperatura de 30°C. As principais alterações registadas revelaram um decréscimo do pH, a separação do produto em fases e alterações na cor e cheiro. As amostras incubadas à temperatura ambiente apresentaram mudanças mais lentas que as amostras incubadas a 30°C, contudo as alterações observadas em ambas as situações foram idênticas.

Para além das alterações nas características físicas e químicas dos produtos cosméticos, a presença de microrganismos representa especial preocupação relativamente aos riscos para a saúde dos utilizadores, nomeadamente quando se tratam de grupos mais vulneráveis, como as crianças. Este facto surge não só porque se tratam de produtos que são utilizados directamente na pele e mucosas, podendo permanecer em contacto com estas estruturas durante um longo período de tempo, mas também porque o consumo destes produtos tem registado nos últimos anos um aumento considerável.

Desde o momento em que o produto é aberto pelo consumidor até ser descartado, está sujeito a contaminação microbiana constante e variável proveniente do próprio ambiente a que é exposto e sobretudo das mãos do utilizador. Independentemente do produto ser contaminado durante o processo de fabrico ou durante a utilização pelo consumidor o risco é normalmente a duplicar, ou seja, não só através do contacto directo com microrganismos, como também, indirectamente pela deterioração do produto com formação de metabolitos microbianos prejudiciais (U.S Food and Drug Administration [FDA], 2009).

Os principais microrganismos comumente isolados de produtos cosméticos de fraco poder conservante englobam os géneros *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Penicillium* e *Candida* (Perry, 2001). As bactérias Gram negativas são as mais frequentes, apresentando diversas capacidades metabólicas que lhes permitem sobreviver numa ampla gama de ambientes. Estas bactérias são normalmente introduzidas nestes produtos através da água utilizada na sua formulação (Perry, 2001).

Um estudo realizado por Hugbo, Oneykweli e Igwe (2003) identificou vários géneros de bactérias, incluindo *Staphylococcus spp.* e *Bacillus spp.* e várias espécies fúngicas entre as quais *Aspergillus fumigatus*, *Microsporium canis* e *Penicillium spp.* em produtos cosméticos disponíveis no mercado. Mais recentemente, Pack, Wickham, Enloe e Hill (2008) determinaram a contaminação microbiana associada à utilização de mascaras de pestanas. Das análises efectuadas às amostras recolhidas observaram que 36.4% apresentavam crescimento microbiano, sendo os principais microrganismos identificados como *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus spp.* e fungos.

A imposição de exigências sanitárias mais restritas, assim como, o aumento da responsabilidade dos órgãos reguladores dos produtos cosméticos têm constituído uma realidade premente neste sector. Embora os processos de fabrico primem pela aplicação de critérios de qualidade, existem ainda algumas lacunas, nomeadamente, à definição precisa dos limites e tipo de microrganismos que representam risco para a saúde.

A FDA (2009) não exige que os produtos cosméticos sejam estéreis mas sim que os microrganismos infecciosos não estejam presentes e que a densidade de microrganismos não patogénicos seja baixa mesmo durante a utilização dos produtos pelos consumidores.

A nível nacional, o actual Decreto-Lei n.º 189/2008, de 24 de Setembro, que regulamenta os produtos cosméticos, define no seu artigo 6º que os critérios de pureza microbiológica destes produtos devem ser alvo de regulamentação. Considerando, contudo, a ausência de documentos reguladores quer a nível nacional quer a nível comunitário são seguidos critérios internacionalmente adoptados, nomeadamente pela *Personal Care Products Council*, anteriormente conhecida por *Cosmetic, Toiletry and Fragrance Association*. Esta associação recomenda determinados limites para bactérias não patogénicas nos produtos cosméticos, encontrando-se os mesmos representados na Tabela III.

Tabela III Limites de bactérias não patogénicas para produtos cosméticos (Adaptado de: Infarmed, 2009).

PRODUTO	VALOR LIMITE
PRODUTOS PARA BEBÉ (0-3 ANOS)	500 bactérias/grama ou mililitro
PRODUTOS UTILIZADOS EM TORNO DOS OLHOS	500 bactérias/grama ou mililitro
RESTANTES PRODUTOS	1000 bactérias/grama ou mililitro

A *Cosmetics, Toiletry & Perfumery Association*, do Reino Unido, é mais restrita e defende um limite para bactérias, fungos e leveduras de 100 UFC.g⁻¹ para os produtos para bebé e produtos utilizados em torno dos olhos (Perry, 2001).

Relativamente às bactérias patogénicas que não devem estar presentes nestes produtos após o seu fabrico destacam-se as espécies *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus fecalis*, *Pseudomonas aeruginosas*, *Escherichia coli* e *Clostridium spp* (Barata, 2002). Desta forma, os microrganismos presentes nos produtos devem ser isolados e identificados de forma a avaliar o seu potencial patogénico.

CAPÍTULO II – MÉTODOS

3.1 AMOSTRA

Para a execução da componente prática aliada a este trabalho foi estudado um conjunto de tintas, incluindo tintas para a cara/corpo (cosméticos), utilizadas pelas crianças, em 8 estabelecimentos de ensino pré-escolar, nomeadamente Jardins de Infância, de carácter público e privado, todos pertencentes ao Conselho de Vila Nova de Gaia, Distrito do Porto. A escolha dos estabelecimentos em questão para a recolha das amostras não obedeceu a nenhum critério de selecção específico.

Adicionalmente, foram também adquiridas em 3 estabelecimentos comerciais, nomeadamente de nacionalidade chinesa, tintas de diferentes tipologias destinadas a serem utilizadas por crianças. A escolha dos estabelecimentos não obedeceu, igualmente, a nenhum critério de selecção específico. Estas tintas foram unicamente estudadas em termos da sua qualidade química.

3.1.1 SELECÇÃO DA AMOSTRA

Na totalidade foram recolhidas, nos estabelecimentos de ensino, 29 amostras de tintas, correspondendo a uma média de 4 amostras por estabelecimento. As colheitas foram efectuadas durante o mês de Julho de 2011.

Foram seleccionadas para amostragem tintas das tipologias guache/têmpera e acrílica utilizadas comumente nas actividades escolares didácticas e ainda, tintas para a cara/corpo, caso as instituições tivessem disponível este cosmético.

As amostras foram recolhidas nos respectivos estabelecimentos de ensino, segundo determinados cuidados de assepsia, sendo posteriormente seladas e identificadas, como mostra a Figura V, e transportadas para laboratório em mala térmica num período máximo de 1h.

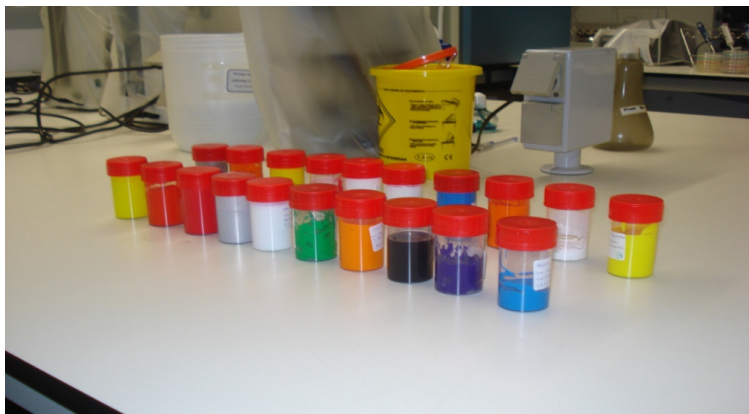


Figura V. Amostras de tintas recolhidas nos estabelecimentos de ensino.

Relativamente às tintas adquiridas nos estabelecimentos comerciais, foram estudadas 11 tintas pertencentes às tipologias guache, acrílica, tinta de água e tinta para a cara e corpo.

3.2 CARACTERIZAÇÃO DAS TINTAS – DIAGNOSTICO DE SITUAÇÃO

Para auxiliar a recolha de informação sobre as tintas utilizadas nos estabelecimentos de ensino visitados, foi elaborada uma ficha de diagnóstico (Anexo I), reunindo vários critérios a observar nos produtos, nomeadamente em termos de informação rotular. No mesmo instrumento de auxílio foi ainda incorporado um questionário aplicável aos Educadores de Infância e/ou responsáveis do estabelecimento de ensino focalizando aspectos conducentes às práticas de utilização dos produtos, nomeadamente factores determinantes na aquisição dos mesmos, e ainda às práticas de conservação, armazenamento e manipulação das tintas. A construção do instrumento de avaliação teve por base a pesquisa bibliográfica efectuada e alguns documentos legislativos, nomeadamente o Decreto-Lei n.º189/2008, de 24 de Setembro, referente aos produtos cosméticos.

Na Tabela IV, encontram-se caracterizadas as amostras recolhidas em cada estabelecimento de ensino. Para garantir a confidencialidade dos dados foi atribuída uma codificação a cada estabelecimento de ensino e às marcas das respectivas tintas recolhidas.

Tabela IV Caracterização das tintas recolhidas nos estabelecimentos de ensino.

ESCOLA	AMOSTRA	COR	TIPO DE TINTA	MARCA	PAÍS DE FABRICO
EE_A	A ₁	Azul			
	A ₂	Amarelo	Guache	M ₀₁	Itália
	A ₃	Branco			
EE_B	B ₄	Verde	Digitinta	M ₀₂	Reino Unido
	B ₅	Branco	Cara/corpo	M ₀₃	França
	B ₆	Amarelo	Guache/Têmpera	M ₀₄	França
EE_C	C ₇	Metálica	Acrílica	M ₀₅	Itália
	C ₈	Preto	Digitinta	M ₀₆	Holanda
	C ₉	Vermelho	Guache	M ₀₁	Itália
	C ₁₀	Amarelo		M ₀₇	Itália
EE_D	D ₁₁	Branco	Transform Têxtil ²	M ₀₄	França
	D ₁₂	Azul	Acrílica	M ₀₁	Itália
	D ₁₃	Laranja	Guache/Têmpera	M ₀₈	Espanha
	D ₁₄	Metálica			
EE_E	E ₁₅	Vermelho	Guache	M ₀₅	Itália
	E ₁₆	Laranja			
	E ₁₇	Branco	Acrílica	M ₀₄	França
EE_F	F ₁₈	Roxo	Guache/Têmpera	M ₀₅	Itália
	F ₁₉	Laranja			
	F ₂₀	Rosa	Cara/corpo	M ₀₉	Espanha
	F ₂₁	Branco	Cara/corpo	M ₁₀	Alemanha
EE_G	G ₂₂	Azul metálico		M ₁₁	China
	G ₂₃	Dourado	Tinta de água	M ₀₄	Itália
	G ₂₄	Verde		M ₀₅	França
	G ₂₅	Vermelho	Cara/corpo	M ₁₂	Espanha
EE_H	H ₂₆	Vermelho	Guache/Têmpera	M ₀₅	Itália
	H ₂₇	Rosa			
	H ₂₈	Verde	M ₀₄	França	
	H ₂₉	Prateado	Cara/Corpo	M ₁₃	China

² Transform têxtil é uma tinta de cor branca adicionada às outras tintas quando se pretende pintar peças de roupa ou outro produto têxtil.

Na Tabela V encontram-se caracterizadas as tintas adquiridas nos estabelecimento comerciais.

Tabela V Caracterização das tintas adquiridas nos estabelecimentos comerciais.

TIPO DE TINTA	AMOSTRA	COR	MARCA	PAÍS DE FABRICO
GUACHES	I ₃₂	amarelo	M ₁₅	Itália
	I ₃₃	vermelho		
ACRÍLICA	I ₃₄	escarlate	M ₁₆	China
	I ₄₀	branca		
	I ₃₅	vermelho		
TINTA DE ÁGUA	I ₃₆	laranja	M ₁₇	China
	I ₃₇	roxo		
	I ₃₈	verde		
	I ₃₉	azul		
TINTA PARA A CARA/CORPO	I ₃₀	rosa	M ₁₄	China
	I ₃₁	amarelo		

3.3 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DAS TINTAS

A análise microbiológica das amostras teve como base o método padrão “Contagem total de microrganismos aeróbios” referenciado pela Farmacopeia Americana para a determinação da densidade de microrganismos nos produtos cosméticos acabados. Todo o procedimento prático aliado à componente microbiológica foi realizado em condições de assepsia.

A análise microbiológica das tintas foi realizada retirando uma porção da amostra, previamente homogeneizada, utilizando uma zaragatoa estéril, transferindo posteriormente para um tubo contendo 5 mL de solução de Ringer estéril (Oxoid, Inglaterra). Após homogeneização no vortex, durante aproximadamente 20s, foi plaqueado em duplicado 0,1 mL da amostra pela técnica de espalhamento em meio de cultura Agar Nutriente (Merck, Alemanha). As placas foram levadas a incubar a 30 ± 2 °C durante um período de 7 dias. A contagem das colónias foi efectuada ao fim de 24 - 48h para as bactérias e ao fim de 5-7

dias para os fungos, necessária para a determinação das unidades formadoras de colónias UFC.mL⁻¹.

Na identificação dos fungos, foram efectuadas preparações a fresco para observação microscópica. Para a sua identificação morfológica utilizou-se como auxílio informação disponível no Web site da *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) e informação disponibilizada por Fisher & Cook (1998).

3.4 AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE MICROBIANA NAS TINTAS QUANDO INOCULADO CULTURAS DE *E.coli* E *S.aureus*

Na avaliação da estabilidade microbiana nas tintas, foram utilizadas culturas puras de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, tendo sido estudadas separadamente, quando inoculadas nas tintas e estudadas numa cultura mista composta pelas duas bactérias. A metodologia de análise foi semelhante em ambas as fases do estudo.

3.4.1 PREPARAÇÃO DAS SUSPENSÕES CELULARES

Foram utilizadas neste estudo as estirpes bacterianas *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 e *Escherichia coli* ATCC 25922. Optou-se por estudar estas duas bactérias, uma vez que, podem ser encontradas facilmente em ambientes escolares, a *E.coli* por estar relacionada com a higiene dos estabelecimentos e procedimentos instalados e a *Staphylococcus spp.* por estar associada à flora da pele e mucosas, considerando ainda o facto de a espécie *S.aureus* se tratar de um microrganismo patogénico.

A suspensão celular de cada microrganismo foi obtida por crescimento prévio (*overnight*), em água peptonada ISO 6579 (Merck, Alemanha), a uma temperatura de incubação de 37 ± 2°C. Para a determinação da concentração celular de cada suspensão inicial, procedeu-se a uma série de diluições decimais em solução de ringer estéril, seguida de plaqueamento de 0,1 mL em meio de cultura Agar Nutriente (Merck, Alemanha).

3.4.2 INOCULAÇÃO DAS ESPÉCIES BACTERIANAS NAS TINTAS

Em condições de assepsia inoculou-se 100 μL da suspensão de *E.coli* (7.7×10^8 UFC.mL⁻¹) em cada um dos tubos contendo 5 mL de amostra de tinta. Após inoculação do microrganismo, procedeu-se à homogeneização das amostras inoculadas com auxílio de uma zaragatoa, sendo posteriormente transferida para tubo estéril contendo 5 mL de solução de ringer. Preparadas as soluções foram efectuadas para cada uma 5 diluições decimais. De cada diluição foi transferido 20 μL de inóculo e plaqueado pela técnica *Miles and Misra* (Miles & Misra, 1938) em meio de cultura Agar Nutriente (Merck, Alemanha). Após um período de incubação de 24h a uma temperatura de 30 ± 2 °C, foi calculado o número de colónias e determinadas as UFC.mL⁻¹ da respectiva amostra, para o tempo T_{0h}. As amostras permaneceram à temperatura ambiente (± 25 °C), tendo sido efectuada a quantificação das UFC.mL⁻¹ nos tempos T_{24h}, T_{48h} e T_{96h}.

O procedimento repetiu-se de igual forma para a cultura de *S.aureus* (2.2×10^7 UFC.mL⁻¹). O cálculo das UFC.mL⁻¹ das amostras foi efectuado nos tempos T_{0h}, T_{24h}, T_{48h} e T_{72h}.

Para o estudo com culturas mistas, foi transferido 50 μL da suspensão de *E.coli* (5.7×10^8 UFC.mL⁻¹) e de 50 μL da suspensão de *S.aureus* (2.2×10^7 UFC.mL⁻¹) para 5 mL das diferentes amostras de tintas. A metodologia de plaqueamento e contagem foi a mesma já referida anteriormente, tendo sido efectuada a distinção das colónias das duas bactérias na placa, dado apresentarem tamanho e características diferentes. O cálculo das UFC.mL⁻¹ para cada amostra e para cada microrganismo foi efectuado nos tempos T_{0h}, T_{24h}, T_{48h} e T_{72h}.

3.5 ANÁLISE QUÍMICA – DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS TÓXICOS

A detecção e quantificação de elementos tóxicos nas tintas utilizadas pelas crianças em actividades didácticas envolveu não só a análise de algumas amostras (21) recolhidas nos estabelecimentos de ensino, como também, um conjunto de tintas (11) adquiridas em estabelecimentos comerciais.


Para a determinação de elementos tóxicos nas tintas (Pb, Cd, Co, Cr, Ni, Mn, Cu, Zn) utilizou-se como técnica de análise a Espectrofotometria de Absorção Atômica (EAA) com atomização electrotérmica em forno de microondas MLS-1200 Mega de vasos fechados. O procedimento de preparação das soluções envolveu a pesagem de cerca de 0.3 a 0.5g de tinta para um tubo de Teflon de polifluoroetileno (PTFE) e posterior adição de 4mL de ácido nítrico (HNO₃) concentrado e de elevada pureza (trace level) a 65%, e de 1 mL de peróxido de hidrogénio (H₂O₂) a 30% e de elevada pureza. Fechado o vaso e colocado no microondas procedeu-se à digestão da amostra seguindo a sequência: (1) 250W durante 2min; (2) 0W durante 2min; (3) 600W durante 5min; (4) 500W durante 5min; (5) 400W durante 5min. Após aproximadamente 30 min de arrefecimento retirou-se o vaso do microondas, deixando-o novamente arrefecer, e abrindo-o de forma a permitir a saída do fumo durante cerca de 5min. Posteriormente transferiu-se o conteúdo do vaso para um balão volumétrico de polipropileno de 50 mL. O interior do vaso foi lavado com água desionizada sendo esta solução acrescentada ao conteúdo do balão volumétrico. O mesmo procedimento foi realizado mas sem a amostra de tinta (branco). As amostras foram armazenadas em tubos de plástico até serem analisadas.

CAPÍTULO III – RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CARACTERIZAÇÃO DAS TINTAS ESCOLARES E ANÁLISE DAS PRÁTICAS DE UTILIZAÇÃO

Na tabela VI encontram-se representadas as principais características observadas nas tintas analisadas. Para uma melhor compreensão dos dados recolhidos, as amostras foram agrupadas em duas categorias: tintas artísticas, incluindo guaches, acrílicas, digitintas e tintas de água e tintas para a cara/corpo (cosméticos). Optou-se ainda por caracterizar as tintas segundo a marca e não de forma individualizada, tendo em conta a similaridade da informação rotular entre tintas da mesma marca.

Uma análise preliminar à Tabela VI permite constatar que todas as tintas estudadas ostentavam rótulo. Apesar disso, observa-se que a informação rotular disponível em cada categoria de tinta é ligeiramente diferente. Esta desigualdade deve-se essencialmente ao facto de estas tintas serem regulamentadas por sistemas legislativos diferentes, nomeadamente em matéria de rotulagem. Para se perceber melhor os requisitos rotulares aplicáveis a estes produtos, serão analisadas de seguida e de forma isolada cada categoria.

Relativamente às tintas para a cara/corpo, embora estas possam ser consideradas brinquedos (denominados brinquedos cosméticos) encontram-se regulamentadas em matéria de rotulagem e composição pela Directiva n.º 76/768/CEE, relativa aos produtos cosméticos. Desta forma, estes produtos devem ostentar no seu rótulo, para além de outras informações, o período de validade após abertura ou a data de durabilidade mínima, e a lista dos ingredientes cosméticos, entre os quais os corantes utilizados na sua formulação. Das tintas para a cara/corpo estudadas apenas uma, pertencente à marca M₁₀, não apresentou informação relativa ao período de validade, não ostentando na embalagem o símbolo característico (), ou a data de durabilidade mínima. Não obstante, todas elas apresentaram a lista dos ingredientes, incluindo a designação dos colorantes de acordo com o número do Colour Index (CI).

4.1.1 CARACTERIZAÇÃO GERAL DAS TINTAS

Tabela VI Caracterização das tintas, consoante a tipologia e a marca.

TIPOLOGIA	MARCA	ROTULO	PERÍODO DE VALIDADE	MARCAÇÃO CE	INFORMAÇÃO ROTULAR					
					Ingredientes	Identificação dos perigos	Medidas de 1 ^{os} socorros	Manuseio e armazenamento	Propriedades físico-químicas	Informação toxicológica
TINTAS ARTÍSTICAS	M ₀₁	+	-	+	-	+	-	-	-	-
	M ₀₂	+	-	+	-	-	-	-	-	-
	M ₀₄	+	-	+	-	-	-	-	-	-
	M ₀₅	+	-	+	-	+	-	-	-	-
	M ₀₆	+	-	+	-	+	-	-	-	-
	M ₀₇	+	-	+	-	-	-	-	-	-
	M ₀₈	+	-	+	-	-	-	-	-	-
	M ₁₁	+	-	+	-	-	-	-	+	-
TINTAS PARA A CARA/CORPO	M ₀₃	+	+	-	+	-	-	-	-	-
	M ₀₉	+	+	-	+	-	-	-	-	-
	M ₁₀	+	-	-	+	-	-	-	-	-
	M ₁₂	+	+	-	+	+	-	-	-	-
	M ₁₃	+	+	-	+	+	-	+	-	-

- Ausência; + Presença

Efectuando um pesquisa mais detalhada sobre os pigmentos e corantes utilizados na formulação das tintas para cara/corpo aqui estudadas, observou-se que todos eles se encontram listados no Decreto-Lei nº 189/2008, relativo aos produtos cosméticos, como corantes admitidos em todos os produtos pertencentes a esta categoria. Alguns dos corantes encontrados nestas tintas pertencem à tipologia azo, em particular os corantes CI 19140 e CI 16035. O corante CI 19140, também denominado por Acid Yellow 23 ou Tartrazine, é classificado quimicamente como pirazol e o corante CI 16035, também denominado de Allura Red AC, é classificado como monoazo. A utilização destes e de outros corantes desta tipologia tem suscitado alguma controvérsia entre investigadores e entidades reguladoras dos produtos alimentares e farmacêuticos não existindo ainda um consenso no que respeita à segurança destes corantes. Um estudo requisitado pela UK's *Food Standards Agency* (FSA) e realizado pela universidade de Southampton no Reino Unido observou que quando misturados certos corantes, entre os quais o Tartrazine e o Allura Red AC, com determinados conservantes e ingeridos em determinados produtos alimentares aumentava os níveis de hiperactividade em crianças (McCann *et al.*, 2008). Contudo, este estudo apresentou algumas limitações não permitindo extrapolar os resultados obtidos para a população em geral.

No que respeita ainda às tintas para cara/corpo observou-se que alguns rótulos dispunham ainda de informação adicional sobre os possíveis perigos provenientes da utilização das mesmas (M_{12} e M_{13}), bem como, algumas advertências a ter em conta, nomeadamente durante a sua manipulação (M_{13}). Os principais perigos identificados prendem-se essencialmente com o risco de se poderem desenvolver reacções alérgicas ou problemas de irritação da pele provenientes da aplicação dos produtos. No que respeita às advertências, a tinta da marca M_{13} refere alguns procedimentos que devem ser considerados durante a manipulação e armazenamento do produto, como por exemplo, apenas utilizar o produto com as mãos limpas, não ingerir nem aplicar junto dos olhos e da boca, nomeadamente as tintas de cor vermelha, amarela e verde, e ainda armazená-lo em local fresco. No seu rotulo esta tinta refere ainda que a sua utilização não é recomendada para menores de 14 anos de idade, logo é possível constatar que se trata de um produto que não se enquadra na categoria dos brinquedos e ,como tal, a sua utilização não é adequada para a faixa etária em que está a ser utilizado (crianças entre os 3 e 5 anos).

Relativamente às tintas de uso artístico, a informação rotular destas é bastante elementar, comparativamente à das tintas para a cara/corpo. Estas tintas, quando destinadas a serem utilizadas, exclusivamente ou não, para fins lúdicos por crianças com idade inferior a 14 anos encontram-se abrangidas, como já foi referido anteriormente, pela legislação dos brinquedos (Decreto-Lei n.º 43/2011). Este diploma define, sem prejuízo da aplicação de disposições previstas na legislação comunitária aplicável, relativas à classificação, embalagem e rotulagem de determinadas substâncias e misturas, que as instruções de utilização destes brinquedos químicos que contenham substâncias ou misturas intrinsecamente perigosas devem ser acompanhadas da indicação do seu carácter perigoso e das precauções a tomar pelos utilizadores, de forma a evitar os riscos que lhe são inerentes, assim como, as medidas de primeiros socorros a prestar em caso de acidentes graves devido à utilização dos mesmos. Contudo, da análise rotular das tintas em estudo observou-se que nenhuma delas faz menção a potenciais perigos químicos inerentes ao produto, constatando-se inclusivamente que uma das tintas (M₁₁, uma tinta à base de água) apresentava a seguinte informação rotular “Não contem produtos químicos, contem produtos naturais como dextrina e celulose”. Na realidade a principal advertência encontrada nesta tipologia de tintas (M₀₁, M₀₄, M₀₅, M₀₆) aplicava-se a potenciais perigos físicos, mais especificamente à possibilidade de ingestão de peças pequenas que fazem parte do produto.

Segundo a Norma EN 71-7:2002, relativa à segurança dos brinquedos, nomeadamente das digitintas (tintas utilizadas nas pinturas com os dedos), estes produtos devem conter no rótulo a indicação dos conservantes e agentes amargurantes utilizados na sua formulação, um aspecto não observado nas digitintas, assim como, nas restantes tintas de uso artístico.

Na generalidade, a principal informação rotular encontrada nas tintas desta tipologia estava associada a informação sobre o fabricante ou sobre o responsável pela colocação do produto no mercado. Outro aspecto a considerar é a presença da Marcação CE em todas as tintas desta tipologia. A marcação CE é a única marcação que atesta a conformidade do produto com os requisitos aplicáveis da legislação comunitária de harmonização que aprova a sua aposição (art.30º do Regulamento 765/2008). Desta forma, presume-se que os brinquedos que ostentem esta marcação cumprem com os pressupostos legislativos, nomeadamente com o D.L n.º 43/2011, uma vez que, o responsável pela conformidade do

produto com a(s) directriz(es) aplicáveis e pela afixação da marcação CE é o fabricante, esteja ele sediado dentro ou fora da comunidade. Por último, em todas as tintas analisadas, à excepção das tintas H₂₉ da marca M₁₃ e B₅ da marca M₀₃, ambas pertencentes à categoria dos cosméticos, apresentavam no rótulo um pictograma elucidativo ou uma frase de aviso que indicava que o produto não devia ser utilizado por crianças com idade inferior a 36 meses (0-3 anos).

4.1.2 ANÁLISE DAS PRÁTICAS DE UTILIZAÇÃO

Da aplicação da ficha de diagnóstico procedeu-se também à obtenção de informação aos Educadores de Infância ou Responsáveis das escolas sobre as práticas de utilização das tintas. Os resultados encontram-se representados na Figuras VI, VII e VIII.

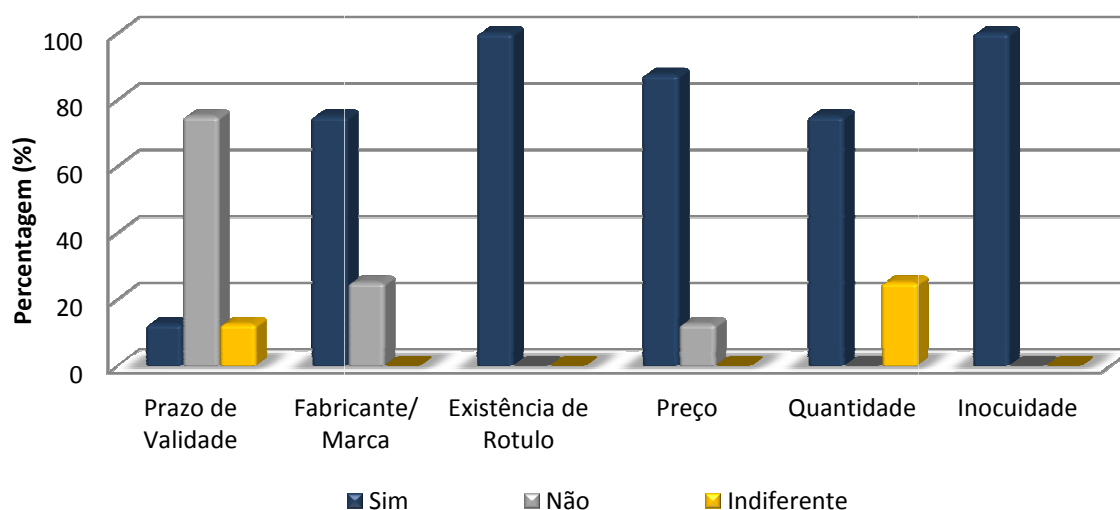


Figura VI Factores que as escolas consideram importantes na aquisição das tintas.

Pela análise da Figura VI é possível observar que, na generalidade, as escolas demonstram desde logo, alguma preocupação no processo de aquisição das tintas como material de uso didáctico. Todas os estabelecimentos de ensino inquiridos consideram a existência de rótulo e a inocuidade do produto como um factor importante na compra destes materiais, preocupando-se sobretudo com a escolha de produtos que sejam adequados para as crianças da faixa etária em questão (3-5 anos). Das escolas estudadas, 87,5% defende que o preço é um factor importante, embora a maioria não se restrinja a produtos economicamente mais acessíveis mas sim à aquisição de produtos com base num balanço entre o preço e outro factor importante, normalmente a marca. No que respeita ao

fabricante/marca e à quantidade do produto, 75% das escolas tem em consideração estes aspectos no momento da compra, optando a maioria por marcas que já conhecem e nas quais depositam a sua confiança e por embalagens com maior quantidade de produto. Contrariamente, 25% considera que a quantidade é um factor pouco relevante, assumindo que vão adquirindo o produto conforme as necessidades. Por último, quando inquiridas sobre o prazo de validade denotou-se algum desconhecimento/indecisão por parte das escolas a este nível, isto porque, embora tenham consciência da importância deste factor, 75% das escolas admite que não tem a preocupação de ver o prazo de validade dos produtos no momento da compra alegando, na generalidade, que se trata de um material facilmente consumido, não representando por isso uma preocupação. Realça-se que apenas as tintas pertencentes à categoria dos cosméticos ostentam normalmente período de validade, uma vez que, se enquadram num sistema legislativo diferente.

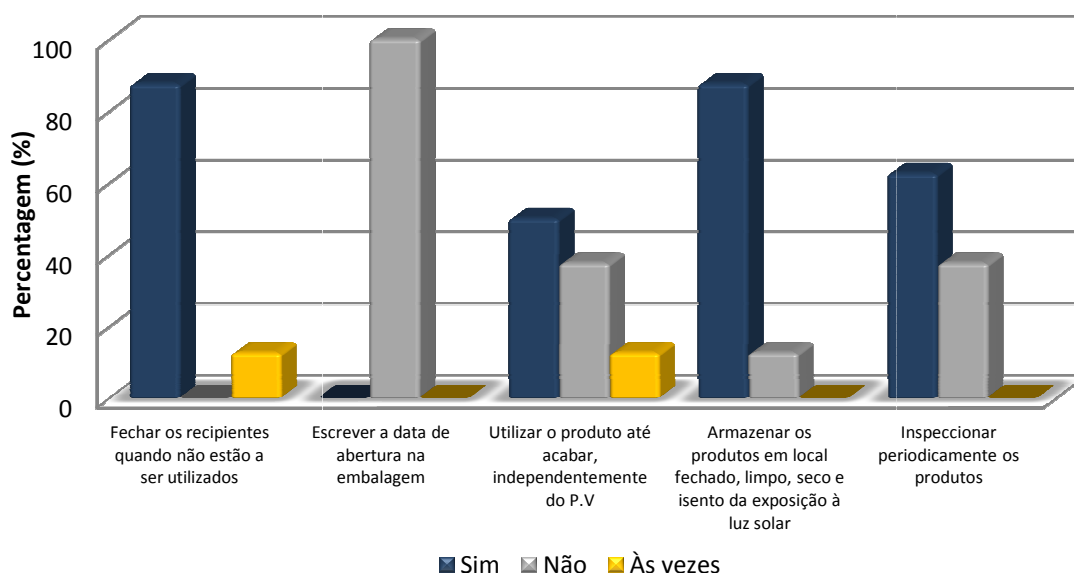


Figura VII Práticas comuns na conservação e armazenamento das tintas.

Os resultados referentes às práticas normalmente adoptadas durante o processo de conservação e armazenamento das tintas encontram-se discriminados na Figura VII. Pela análise do mesmo é, desde logo, possível perceber que há um critério de avaliação que se distingue facilmente dos restantes e que diz respeito à anotação da data de abertura do produto na embalagem observando-se que, na totalidade, as escolas não manifestam este hábito. Este procedimento assume particular importância nos produtos cosméticos que ostentam na embalagem o símbolo com o período de validade do produto após a sua

abertura, permitindo ao utilizador ter noção do espaço temporal que vai desde a abertura da embalagem até ao momento em que esta deve ser rejeitada. Este resultado acaba por ir de encontro ao obtido na Figura VI para o factor prazo de validade. Considerando a prática de utilizar o produto até ao fim, independentemente do seu prazo de validade observa-se que em metade das instituições inquiridas (50%) é comum efectuar-se este procedimento, no entanto, as mesmas consideram que os produtos se consomem facilmente e, como tal, o prazo de validade não é considerado, novamente, como um factor de preocupação. Em relação às práticas de fechar os recipientes quando não estão a ser utilizados e ao armazenamento dos mesmos em local fechado, limpo, seco e isento da exposição à luz solar, constata-se que estas práticas são hábito comum em 87,5% das escolas. Por último, a prática de *inspeccionar os produtos periodicamente* constitui um procedimento habitual em cerca de 62,5% das escolas, contrapondo com 37,5% que admitem não sentir necessidade de inspeccionar os produtos, uma vez que, estes são rapidamente gastos.

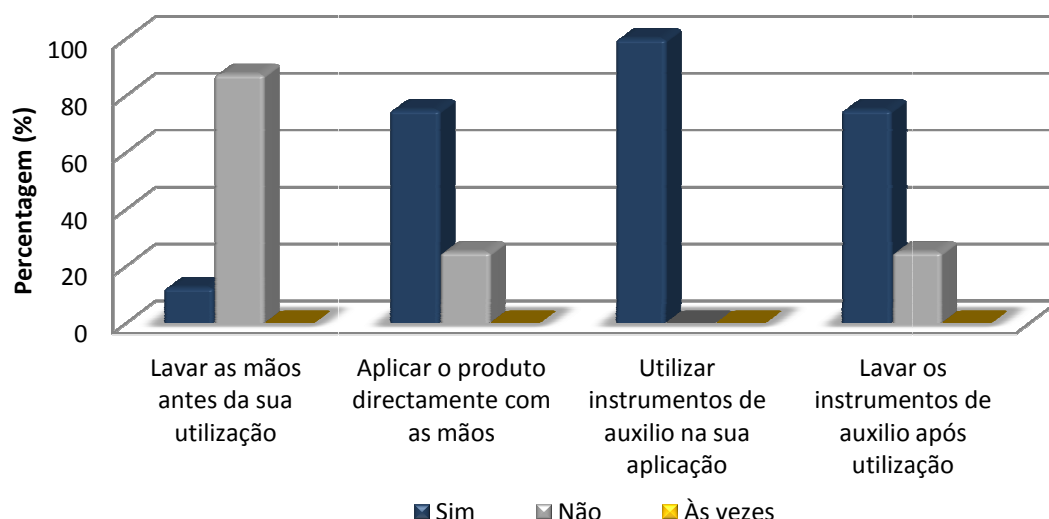


Figura VIII Práticas comuns durante a utilização das tintas.

Analisando por último as práticas adoptadas durante a utilização das tintas observa-se, através da Figura VIII, que todas as escolas recorrem habitualmente a instrumentos de auxílio para aplicação destes produtos, nomeadamente pincéis. A lavagem destes instrumentos é efectuada após a sua utilização em cerca de 75% das escolas, enquanto que as restantes 25% admitem lavar estes materiais periodicamente, normalmente de semana a semana. A lavagem dos materiais é normalmente efectuada apenas com água, embora algumas escolas recorram também a detergentes e diluentes para a sua lavagem. No que

respeita à aplicação dos produtos pelas crianças directamente com as mãos, apenas 25% das escolas admitem não o permitir. Em oposição aos resultados até agora discutidos, verifica-se que a lavagem das mãos, quer das educadoras quer das crianças, antes da utilização das tintas não é uma prática comum em 87,5% das escolas.

4.2 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DAS TINTAS

Os resultados obtidos da avaliação à qualidade microbiológica das tintas encontram-se representados segundo uma escala de classificação, adaptada de um estudo realizado por Dey *et al* (2004), e que classifica o crescimento microbiano numa escala de 0 a 6, em que 0 indica que não houve crescimento e 6 indica um crescimento muito elevado. Para uma maior objectividade optou-se por atribuir a cada classificação uma gama de valores, em termos de concentração microbiana (UFC.mL⁻¹), tendo como valor de referência o limite mais restritivo (500 bactérias.mL⁻¹) aplicado aos produtos cosméticos pela *Personal Care Products Council*. Desta forma, a cada valor classificativo correspondem as concentrações representadas na Tabela VII.

Tabela VII Escala de classificação do crescimento microbiano.

CLASSIFICAÇÃO	CONCENTRAÇÃO (UFC.mL ⁻¹)
0	Ausência de crescimento
1	0 a 99
2	100 a 199
3	200 a 299
4	300 a 399
5	400 a 499
6	500 +

Na Tabela VIII encontram-se representados os resultados obtidos da avaliação à qualidade microbiológica das tintas. Pela análise da mesma é possível observar que na generalidade as amostras apresentavam diferentes graus de contaminação, existindo uma variação

significativa entre as classificações obtidas para as tintas que apresentaram crescimento microbiano (55%), verificando-se um grupo de tintas com crescimento muito reduzido (45%) e um grupo de tintas que apresentou um crescimento muito elevado (10%).

Tabela VIII Avaliação do crescimento microbiano.

AMOSTRA	CLASSIFICAÇÃO	AMOSTRA	CLASSIFICAÇÃO
A ₁	0	E ₁₆	1
A ₂	0	E ₁₇	1
A ₃	1	F ₁₈	0
B ₄	1	F ₁₉	0
B ₅	0	F ₂₀	0
B ₆	0	F ₂₁	1
C ₇	1	G ₂₂	6
C ₈	5	G ₂₃	1
C ₉	0	G ₂₄	0
C ₁₀	0	G ₂₅	1
D ₁₁	1	H ₂₆	1
D ₁₂	0	H ₂₇	0
D ₁₃	1	H ₂₈	1
D ₁₄	6	H ₂₉	0
E ₁₅	1		

Segundo Malcolm (1976) (citado por Katušin- Ražem, Mihaljević & Ražem, 2003) é comum este tipo de produtos apresentar contaminação por uma população microbiana mista em baixas concentrações, proveniente das próprias matérias primas utilizadas ou das práticas de utilização do produto. Estes microrganismos encontram-se normalmente em equilíbrio com o meio onde estão inseridos, sendo controlados pela acção dos agentes conservantes presentes no produto, denominando-se a este equilíbrio de contaminação estática. Das amostras analisadas a maioria registou um crescimento reduzido de microrganismos, nomeadamente de bactérias e fungos, que apresentavam diferentes morfologias (A₃, B₄, C₇, D₁₁, D₁₃, E₁₅, E₁₆, E₁₇, F₂₁, G₂₃, G₂₅, H₂₆ e H₂₈). Contudo, 3 das 29 amostras analisadas registaram um elevado crescimento de microrganismos (C₈, D₁₄ e G₂₂), com predominância de colónias de fungos de similaridade aparente em cada uma das amostras. Quando ocorre este tipo de contaminação, envolvendo normalmente o crescimento elevado de uma determinada população microbiana, proveniente

essencialmente de fontes externas, dá-se o nome de contaminação dinâmica (Katušín-Ražem *et al*, 2003). Esta situação ocorre de forma esporádica neste tipo de produtos, sendo influenciada pela presença de condições favoráveis ao desenvolvimento da população. As três amostras que apresentaram elevado crescimento foram recolhidas em diferentes estabelecimentos de ensino e correspondem a diferentes tipos de tintas, embora se enquadrem todas na categoria das tintas artísticas. Nenhuma delas aparentava sinais visíveis de deterioração, à excepção da tinta D₁₄, do tipo guache, que apresentava já alguma alteração na sua reologia, com perda de viscosidade e separação da tinta em fases. Das três amostras de tintas foi a que registou um crescimento microbiano mais elevado ($> 3 \times 10^3$ UFC.mL⁻¹), um factor que pode estar possivelmente relacionado com a alteração das suas propriedades reológicas.

Ao longo da revisão bibliográfica foram referenciados diversos factores que contribuem para que as tintas sejam meios favoráveis ao desenvolvimento microbiano. Segundo Smith (2003), um dos factores que condiciona a contaminação microbiana nas tintas é a cor do(s) pigmento(s) utilizado(s) na sua formulação, acrescentando que as tintas de cor escura, absorvem melhor o calor, o que favorece a incubação de microrganismos. A amostra C₈ pertence a uma díginta de coloração preta, um factor que potencialmente pode ter contribuído para a obtenção de uma concentração microbiana elevada. Esta tipologia de tinta assume particular preocupação quando comparada às outras tintas de uso artístico destinadas a crianças, isto porque, se tratam de tintas especialmente desenhadas para serem aplicadas directamente com os dedos e as mãos, o que constitui um risco acrescido de ingestão pelas crianças e um tempo de contacto com a pele maior.

Em relação à amostra G₂₂, trata-se de uma tinta de água de cor azul metalizada, que ostentava no rótulo a informação de não conter produtos químicos e sim produtos naturais como a dextrina e celulose. Estes excipientes são facilmente biodegradáveis, especialmente por fungos, o que pode ter contribuído para a obtenção de uma concentração microbiana elevada, acrescida pelo facto de a tinta não apresentar, supostamente, produtos químicos, entre os quais, potenciais agentes conservantes importantes na inibição/eliminação destes microrganismos.

Para uma melhor caracterização da qualidade microbiológica das três amostras que apresentaram maior crescimento, procedeu-se à identificação dos fungos predominantes em cada amostra. O género *Aspergillus* foi identificado nas amostras C₈ e G₂₂, como mostra a Figura IX. Várias espécies de *Aspergillus spp.* encontram-se comumente presentes no meio ambiente, podendo facilmente contaminar este tipo de produtos. Actualmente existem mais de 250 espécies de *Aspergillus*, aproximadamente 20 das quais têm sido relacionadas com infecções oportunistas em humanos, incluindo as espécies *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, entre outras. Este fungo já foi encontrado por outros autores, com uma elevada taxa de frequência, sobretudo em produtos cosméticos (Dashen, Chollom, Okechalu & Ma'aji, 2011).

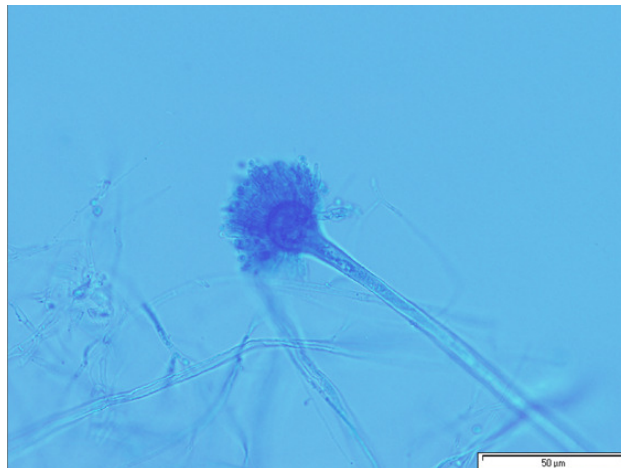


Figura IX. *Aspergillus spp.* (40x)

Na amostra D₁₄ foi ainda identificado o género *Trichophyton spp.*, apresentado na Figura X. É considerado um fungo dermatófito, sendo responsável por uma série de infecções na pele, cabelo e unhas, podendo afectar qualquer pessoa, incluindo indivíduos saudáveis. Segundo a CDC (2009) surtos de infecções por *Trichophyton spp.* são comuns em espaços como escolas.

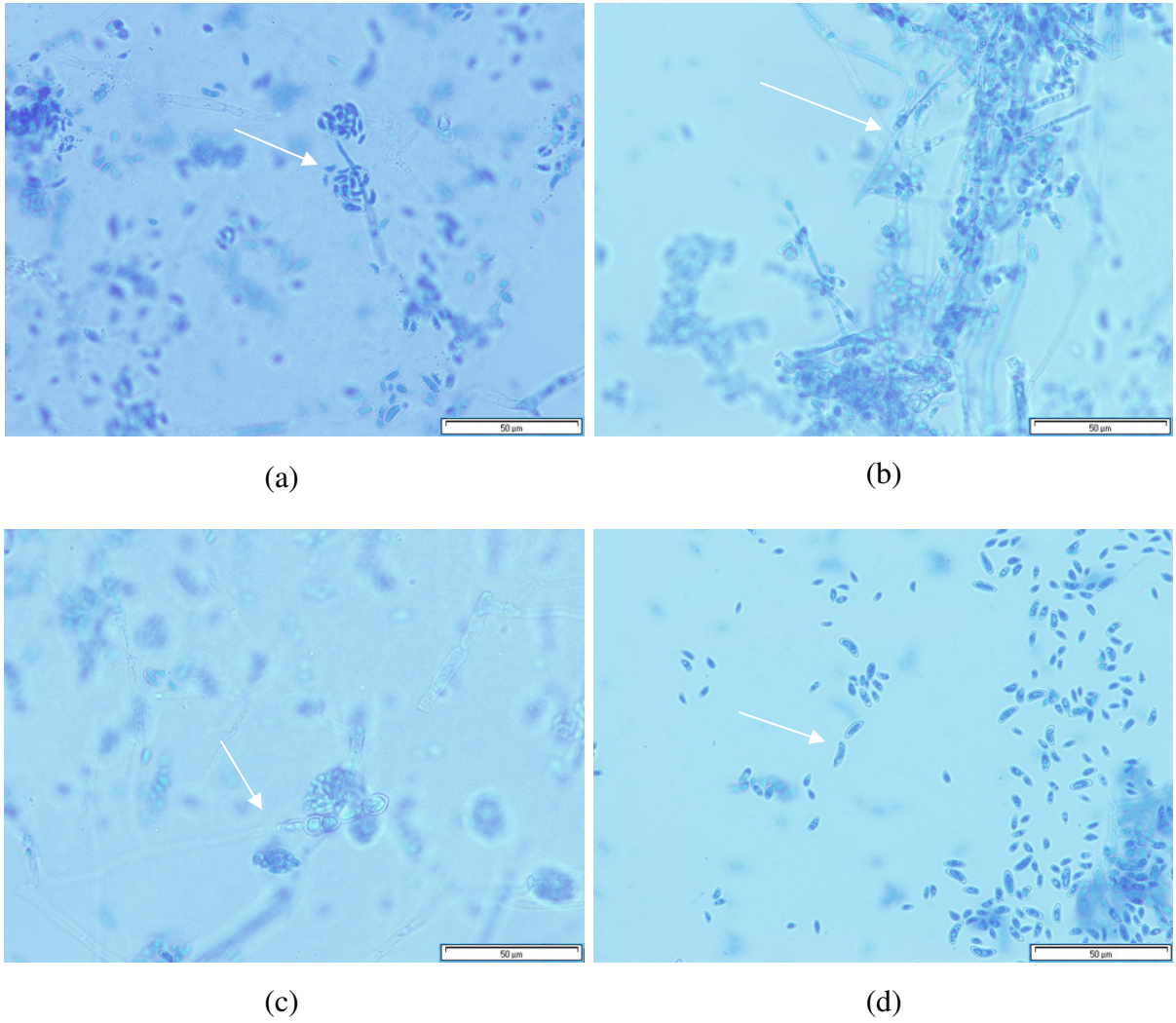


Figura X. Morfologia de diferentes estruturas, hifas (b) e (c) e esporos (a) e (d), de *Trichophyton spp.* (40x).

4.3 AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE MICROBIANA NAS TINTAS QUANDO INOCULADO CULTURAS DE *E.coli* E *S.aureus*

Na Tabela IX encontram-se representados os resultados obtidos do estudo efectuado com a bactéria *E.coli* nas amostras de tintas.

Tabela IX Distribuição da concentração de *E.coli* ao longo do tempo em Log UFC.mL⁻¹.

AMOSTRA	Log UFC.mL ⁻¹			
	T _{0h}	T _{24h}	T _{48h}	T _{96h}
GUACHE				
A ₁	< 1	< 1	< 1	ND
A ₂	< 1	< 1	< 1	ND
A ₃	< 1	< 1	< 1	ND
B ₆	4.95	< 1	2	< 1
C ₉	5.81	5.78	4.54	5.95
C ₁₀	< 1	< 1	< 1	ND
D ₁₃	< 1	< 1	1.70	ND
D ₁₄	6.23	7.11	7	6.90
E ₁₅	5.93	1	< 1	ND
E ₁₆	5.90	< 1	< 1	ND
F ₁₈	5.49	< 1	< 1	ND
F ₁₉	5.54	< 1	< 1	ND
H ₂₆	5.74	< 1	< 1	ND
H ₂₇	5.32	< 1	1	ND
H ₂₈	4.30	< 1	< 1	ND
TINTA DE ÁGUA				
G ₂₂	6.11	6.43	7	6.23
G ₂₃	5.65	< 1	< 1	ND
G ₂₄	5.11	< 1	1.30	ND
ACRÍLICA				
C ₇	< 1	< 1	< 1	ND
E ₁₇	5.90	< 1	< 1	ND
DIGITINTA				
B ₄	4.20	< 1	< 1	ND
C ₈	6.18	6.88	7.40	7.20
TRANSFORM TEXTIL				
D ₁₁	5.43	< 1	< 1	ND
TINTA CARA/CORPO				
B ₅	6.08	4.45	2.15	< 1
H ₂₉	< 1	< 1	< 1	< 1

Da análise à Tabela IX a mesma evidência que existe um conjunto de tintas (C₉, D₁₄, G₂₂, C₈ e B₅), de diferentes tipologias, que apresentaram uma concentração do microrganismo *E.coli*, relativamente constante ao longo do estudo, na ordem da 10⁵-10⁷ UFC.mL⁻¹, à exceção da amostra B₅, uma tinta para a cara/corpo de cor branca, que foi registando um decréscimo gradual da concentração de *E.coli*, obtendo na última análise (T_{96h}) um valor < 10 UFC.mL⁻¹, o que significa que não houve crescimento em placa. As amostras C₈, D₁₄ e G₂₂, correspondendo às tipologias digitinta, guache e tinta de água, respectivamente, já foram mencionadas anteriormente no ponto 4.2 pelo facto de terem apresentado um elevado crescimento microbiano, por fungos, o que leva a equacionar a possibilidade de estas tintas apresentarem já um fraco poder antimicrobiano, facilitando a persistência e multiplicação de microrganismos nestes substratos. A amostra C₉, uma tinta do tipo guache de cor vermelha, apresentou uma concentração de *E.coli* relativamente estável ao longo do tempo. Outras tintas da mesma tipologia e coloração (E₁₅ e H₂₆), embora de marcas diferentes, revelaram um comportamento bastante diferente, registando um decréscimo para ausência de crescimento detectado em placa entre a concentração inicial (T_{0h}) e as concentrações determinadas nas análises posteriores. De referir ainda que as amostras da mesma marca e tipologia da C₉, em particular as amostras A₁, A₂ e A₃ apresentaram sempre, mesmo no T_{0h}, uma concentração de *E.coli* ≤10 UFC.mL⁻¹, dado que não houve crescimento, uma situação igualmente observável para as amostras C₁, D₁₃, C₁₀ e H₂₉.

Os resultados obtidos relativamente à estabilidade do *S.aureus* nas tintas após inoculação encontram-se na Tabela X.

Tabela X Distribuição da concentração de *S.aureus* ao longo do tempo em Log UFC.mL⁻¹

AMOSTRA	Log UFC.mL ⁻¹			
	T _{0h}	T _{24h}	T _{48h}	T _{72h}
GUACHE				
A ₁	5.20	< 1	ND	ND
A ₂	4.52	< 1	ND	ND
A ₃	4.81	1.48	< 1	ND
B ₆	4.08	3.49	2.63	2.47
C ₉	4.54	2.90	< 1	ND
C ₁₀	4.54	< 1	ND	ND
D ₁₃	3.93	< 1	ND	ND
D ₁₄	5.04	6.04	5.30	4.54
E ₁₅	5.08	4.78	4.18	3.78
E ₁₆	5.04	4.60	3.70	3.70
F ₁₈	5.32	4.53	< 1	ND
F ₁₉	5.11	< 1	ND	ND
H ₂₆	5.08	4.74	3.60	3.20
H ₂₇	4.93	4.85	< 1	ND
H ₂₈	5.18	< 1	ND	ND
TINTA DE ÁGUA				
G ₂₃	5.04	< 1	ND	ND
G ₂₄	5.15	< 1	ND	ND
ACRÍLICA				
C ₇	< 1	< 1	ND	ND
D ₁₂	5.18	1.95	< 1	ND
E ₁₇	5.15	4.93	4.41	3.54
DIGITINTA				
B ₄	5.11	1	< 1	ND
C ₈	5.11	5.04	4.18	3.65
TRANSFORM TEXTIL				
D ₁₁	5	4.38	2.43	< 1
TINTA CARA/CORPO				
H ₂₉	4.36	< 1	ND	ND

A análise da Tabela X permite, desde logo, constatar que a distribuição da concentração da espécie *S.aureus* nas tintas ao longo do tempo é, na sua maioria, diferente da registada anteriormente para a espécie *E.coli*. Na generalidade, observa-se uma maior sobrevivência da espécie *S.aureus* nas tintas durante o período de tempo em análise.

Analisando de forma mais detalhada as tintas em estudo verifica-se que as amostras B₆, E₁₅, E₁₆, E₁₇ e H₂₆ registaram um ligeiro decréscimo da concentração inicial de *S.aureus* ao longo das 72h seguintes, um resultado bastante diferente do obtido com a espécie *E.coli* para as mesmas amostras. No que respeita às concentrações obtidas para a C₈ e D₁₄ verifica-se uma distribuição semelhante à obtida com *E.coli*, embora na amostra C₈ se tenha observado um ligeiro decréscimo ao longo do tempo.

A amostra C7 foi a única que apresentou em todos os tempos de análise uma concentração de *S.aureus* < 10 UFCmL⁻¹, um resultado idêntico ao obtido para a *E.coli*. Por outro lado, observa-se que a amostra D₁₁, uma tinta denominada *Transform Textil* (utilizada normalmente em conjunto com outras tintas de forma a poderem ser aplicadas em produtos têxteis) foi registando um decréscimo gradual, partindo de uma concentração de 10⁵ UFC.mL⁻¹ e apresentando ao fim de 72h uma concentração ≤ 10 UFCmL⁻¹. De destacar ainda a amostra C₉, que ao contrário do que seria de esperar, revelou uma diminuição da concentração de *S.aureus* relativamente acentuada após 48h deste ser inoculado, um comportamento oposto ao observado no estudo com a *E.coli*.

Os resultados obtidos em ambos os estudos revelam que, na generalidade das amostras, à excepção da C₈, D₁₄ e G₂₂, que apresentavam já uma contaminação prévia, os microrganismos estudados apresentam uma sensibilidade às tintas, sendo evidenciado, em alguns casos, um decréscimo da concentração ao longo do tempo de exposição, e noutros, uma sensibilidade imediata. Contudo, dos microrganismos estudados o *S.aureus* apresentou uma maior resistência comparativamente à espécie *E.coli*, permanecendo durante mais tempo na maioria das amostras, não tendo neste estudo sido investigado nas amostras com menor potencial bactericida, o tempo que demoraria cada microrganismo a reduzir o seu número para zero.

Um estudo similar, realizado por Hugbo *et al.* (2003), obteve um resultado semelhante ao registado no presente trabalho, observando um decréscimo acentuado da concentração de *S.aureus*, *Aspergillus fumigatus* e *Penicillium spp.* nos primeiros 2-6 dias após serem inoculados em cremes cosméticos, verificaram, contudo, após este tempo, um rápido crescimento dos mesmos microrganismos.

Considerando a variabilidade dos ingredientes químicos que fazem parte da composição destes produtos, são vários os factores que podem contribuir para o stress celular da célula bacteriana, e conseqüentemente para a sua morte. De entre as principais substâncias que fazem parte destes produtos e que exercem efeito bactericida destaca-se sobretudo o grupo dos conservantes.

Os agentes conservantes são adicionados à formulação destes produtos com o intuito de evitar a contaminação microbiana. Os processos envolvidos nesta acção compreendem normalmente o transporte do agente antimicrobiano até à superfície da célula e a sua adsorção, difusão, penetração e interacção no local de destino. Estes processos não são instantâneos e o tempo que levam para ocorrer na totalidade, e o correspondente tempo de morte, pode variar consoante o agente antimicrobiano envolvido (Simões, Rocha, Coimbra & Vieira, 2008). Segundo La Rosa *et al.* (2008) os agentes conservantes compreendidos na composição das tintas incluem um conjunto heterogéneo de químicos com diversos mecanismos de acção antimicrobiana que podem por um lado inibir o crescimento microbiano (microbioestáticos) ou por outro causar danos irreversíveis ou irreparáveis na célula microbiana (microbiocidas), traduzindo-se muitas vezes em morte celular. Assumindo que os resultados obtidos no presente estudo se devem à acção de agentes antimicrobianos, pressupõe-se, por um lado, que estes se revelam eficazes na eliminação de elevadas concentrações dos microrganismos-alvo. Contudo, a eficácia destes agentes pode estar associada à presença de grandes concentrações dos mesmos nos produtos, podendo, por outro lado, constituir um risco para a saúde dos utilizadores.

Apesar da finalidade dos agentes antimicrobianos, vários estudos têm avaliado o potencial de resistência de algumas estirpes bacterianas a vários conservantes utilizados normalmente na formulação destes produtos, constatando que alguns microrganismos, entre os quais *Staphylococcus spp.*, apresentam resistência nomeadamente a parabenos, imidazolidinylurea e fenoxietanol (Flores *et al.*, 1997; Pack *et al.*, 2008). Esta resistência, em particular do género *Staphylococcus spp.*, pode constituir uma possível explicação para o facto da espécie *S.aureus* ter sobrevivido durante mais tempo que a espécie *E.coli* nas tintas. Contudo não é seguro correlacionar esta resistência sem se conhecer primeiro a composição, em termos de agentes conservantes, destas tintas e, como tal, a efectividade dos mesmos na eliminação dos microrganismos estudados. A contrariar estes resultados

surge o facto das bactérias Gram negativas, como a *E.coli*, possuírem uma membrana externa considerada bastante eficaz contra compostos antimicrobianos, ao contrário das bactérias Gram positivas, como o *S.aureus*, que possuem uma parede celular permeável não restringindo normalmente a penetração de antimicrobianos (Simões *et al.*, 2008). Para além da parede celular, os agentes biocidas podem, também, interagir noutras regiões da célula bacteriana vegetativa, em particular, na membrana citoplasmática e no citoplasma (Denyer & Stewart, 1998). O acesso dos agentes biocidas a estes componentes celulares é determinado pelo material extra-celular, pela morfologia da célula e pela sua composição química. Embora a parede celular das bactérias Gram negativas raramente constitua um local de acção de biocidas, a membrana citoplasmática compreende, por outro lado, canais proteicos hidrofílicos (aquaporinas) que permitem a passagem de biocidas hidrofílicos de peso molecular inferior a 600 daltons, o que predispõe esta região à acção dos biocidas (Denyer & Stewart, 1998).

Para além dos conservantes a presença de determinados metais incorporados nos pigmentos utilizados nas tintas podem também ter um efeito bactericida, nomeadamente quando são utilizados sob a forma de nanopartículas (NP). As NP são partículas de dimensão inferior a < 100 nm que têm vindo a ser amplamente utilizadas nos produtos cosméticos e nas tintas (Schwegmann, Feitz & Frimmel, 2010).

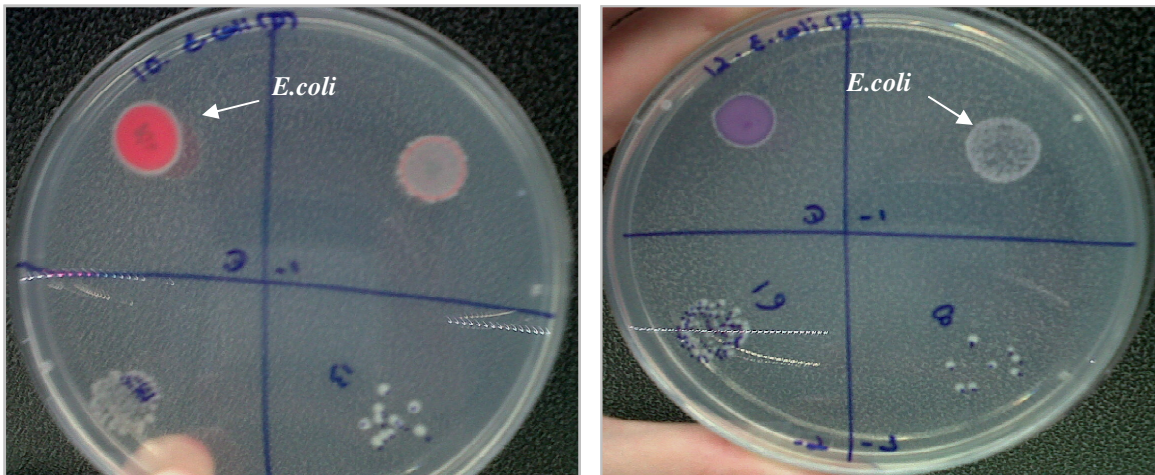
Um dos metais normalmente presente nas tintas e cosméticos é o cobre, cuja actividade antimicrobiana já se encontra bem definida, nomeadamente quando este é aplicado sob a forma de nanopartículas. As NP de cobre têm um efeito inibitório e antimicrobiano forte, bem como, um amplo espectro de actividade biocida, embora os seus mecanismos de acção antimicrobiana ainda não sejam totalmente percebidos. Segundo Zielecka, Bujnowska, Kępska, Wenda e Piotrowska (2011) as NP de cobre podem interagir com os elementos da membrana bacteriana resultando em mudanças estruturais que podem levar à morte celular. Isto acontece particularmente quando as NP de tamanho reduzido penetram a membrana celular da bactéria e inibem as enzimas respiratórias facilitando a geração de espécies reactivas de oxigénio, podendo levar a danos ao nível do DNA e conseqüente à morte celular. Acredita-se que a interacção do cobre com os grupos thiol desempenha um papel fundamental na deterioração das bactérias (Zielecka *et al.*, 2011). Segundo os resultados obtidos por um estudo realizado pelos mesmos autores a utilização de NP de cobre

revelou-se um biocida bastante eficaz em condições de desnutrição tanto contra *E.coli* como *S.aureus*. Contudo, em condições de pleno acesso a substâncias nutritivas os microrganismos apresentaram maior resistência a biocidas. O facto de as tintas em estudo compreenderem na sua composição determinados compostos orgânicos e inorgânicos leva a equacionar a hipótese de estes organismos disporem de várias substâncias nutritivas favoráveis ao seu crescimento, o que por um lado, e seguindo a lógica destes autores, pode contribuir para uma maior resistência a biocidas como as NP de cobre. Contudo, considerando os resultados obtidos na maioria das amostras inoculadas observa-se que, ambos os microrganismos estudados apresentaram fraco poder de resistência.

Para além das NP de cobre também a citotoxicidade das NP de óxido de zinco (ZnO) e de dióxido de titânio (TiO₂) tem sido investigada. A maioria dos produtos de consumo disponíveis no mercado contem NP de ZnO e TiO₂, estando ambas associadas à aplicação generalizada em tintas e cosméticos (Caballero, Whitehead, Allen & Verran, 2010; Kumar, Pandey, Singh, Shanker & Dhawan, 2011). Estes óxidos de metais são introduzidos nestes produtos sobretudo na forma de pigmentos brancos, por vezes utilizados para conferir uma certa opacidade ao produto, assumindo particular importância nas tintas do tipo guache. Um estudo realizado por Kumar *et al.* (2011) envolvendo NP de ZnO e TiO₂ revelou uma absorção significativa de NP por células bacterianas de *E.coli* observando-se uma distribuição destas partículas quer à superfície da parede celular (NP de tamanho maior) quer no interior da célula (NP de tamanho reduzido). Este estudo demonstrou ainda que as NP de ZnO e TiO₂ induziam a formação de espécies reactivas de oxigénio (ROS), a depleção de glutathione e um aumento simultâneo de peroxidação lipídica, libertação de LDH e danos ao nível do DNA, levando à morte celular. Observaram ainda que as NP de ZnO exerciam um efeito citotóxico a concentrações mais baixas que as NP de TiO₂.

Para além das diferenças nas concentrações obtidas para cada microrganismo ao longo do tempo nas tintas, observou-se ainda, durante o processo de contagem em placa, uma particularidade entre as tintas inoculadas com *E.coli* e as tintas inoculadas com *S.aureus*, que pode estar relacionada com os efeitos citotóxicos de alguns pigmentos nestas bactérias. Através do crescimento em placa da espécie *E.coli*, pela técnica *Miles and Misra* verificou-se que em determinadas colorações de tinta as colónias desta bactéria cresciam sobretudo à volta do local onde o inoculo fora depositado. Esta situação acontecia particularmente no

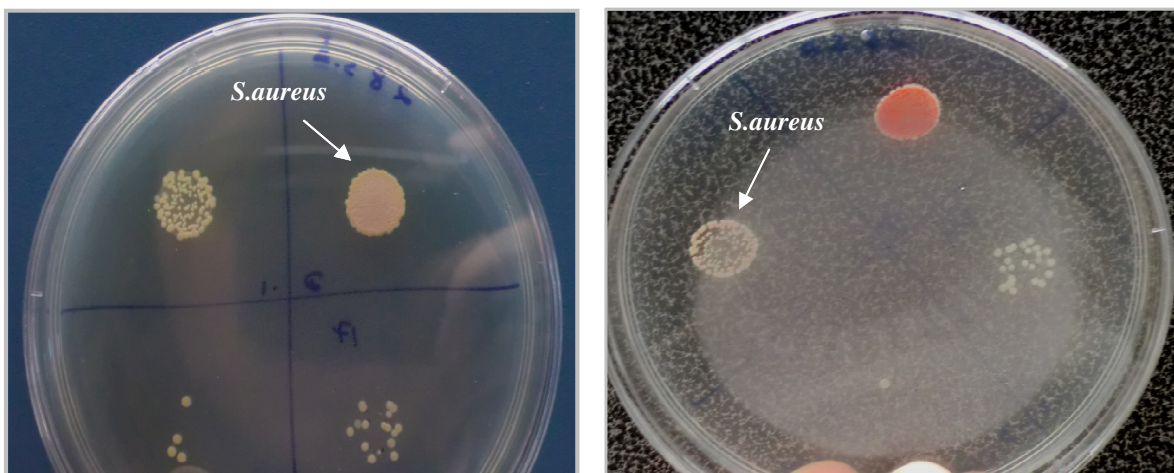
quadrante correspondente ao plaqueamento directo da amostra de tinta inoculada, o qual apresentava por isso uma maior concentração de pigmento e possivelmente de agentes conservantes (Figura XI.a). Por outro lado, à medida que as diluições iam aumentando e a concentração de pigmento diminuindo era já visível o crescimento de *E.coli* por toda a área (Figura XI.b).



(a)

i à volta da área pigmentada

Contrariamente ao observado para a *E.coli*, verificou-se que o crescimento em placa da bactéria *S.aureus* se propagava por toda a área correspondente ao inoculo mesmo nos quadrantes que apresentavam maior concentração de pigmento (Figura XII).



(a)

Figura XII Crescimento em placa de *S.aureus* pela Técnica *Miles and Misra*. Colónias de *S.aureus* por toda a área pigmentada mais concentrada (a) e menos concentrada (b).

A observação destes resultados pode indicar uma possível relação de toxicidade entre os pigmentos e os seus metais e o dano ou morte celular da *E.coli*, referenciado por vários autores. Contudo, este assunto será debatido mais adiante juntamente com os resultados obtidos na análise química das tintas.

Considerando que existem efeitos sinérgicos ou antagonistas, foi ainda estudado o efeito da presença na mesma tinta de *S.aureus* e *E.coli*. Para uma melhor perceptibilidade do comportamento apresentado por estas bactérias ao longo do tempo, encontram-se representados na Figura XIII alguns dos principais resultados obtidos.

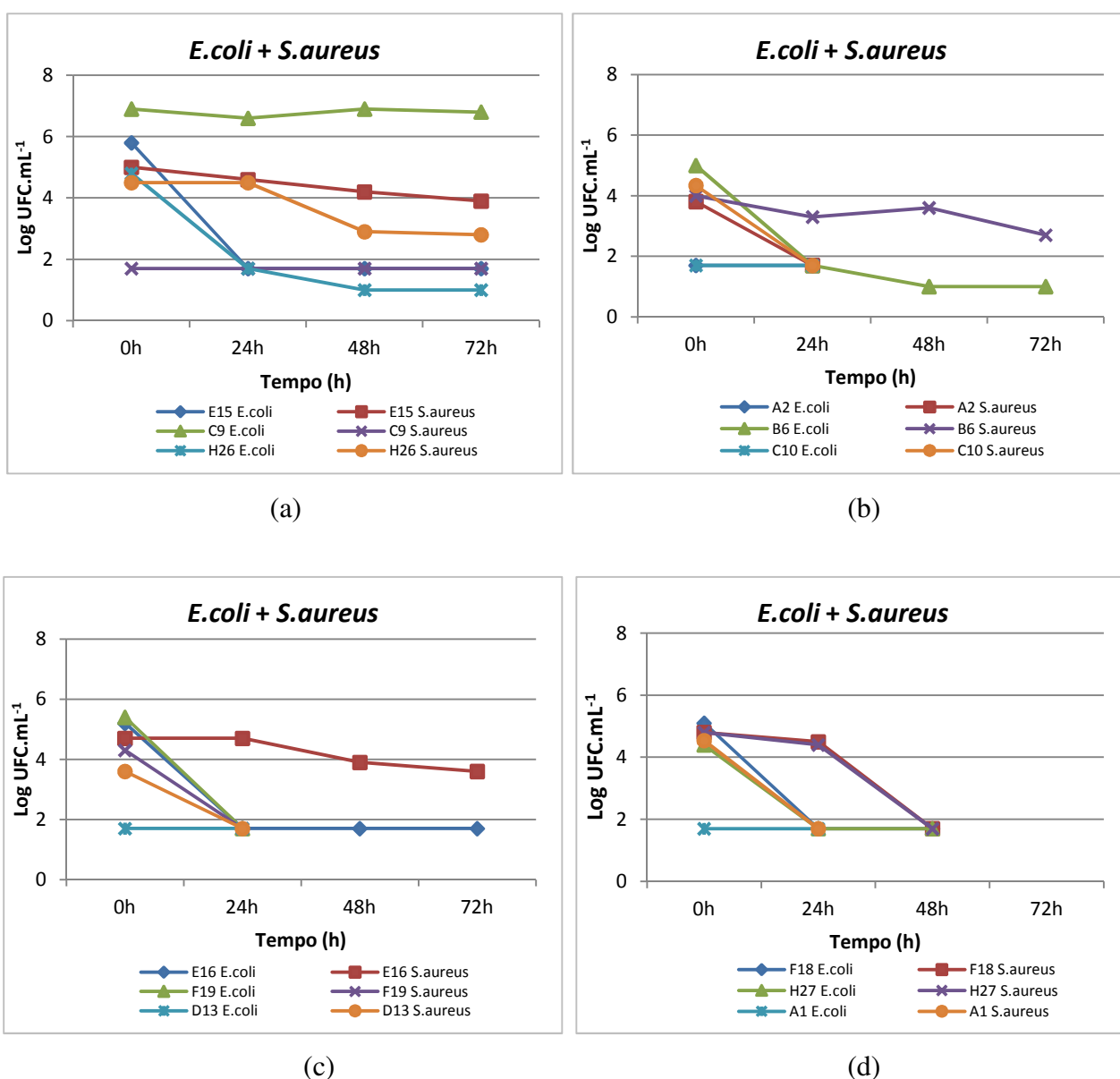
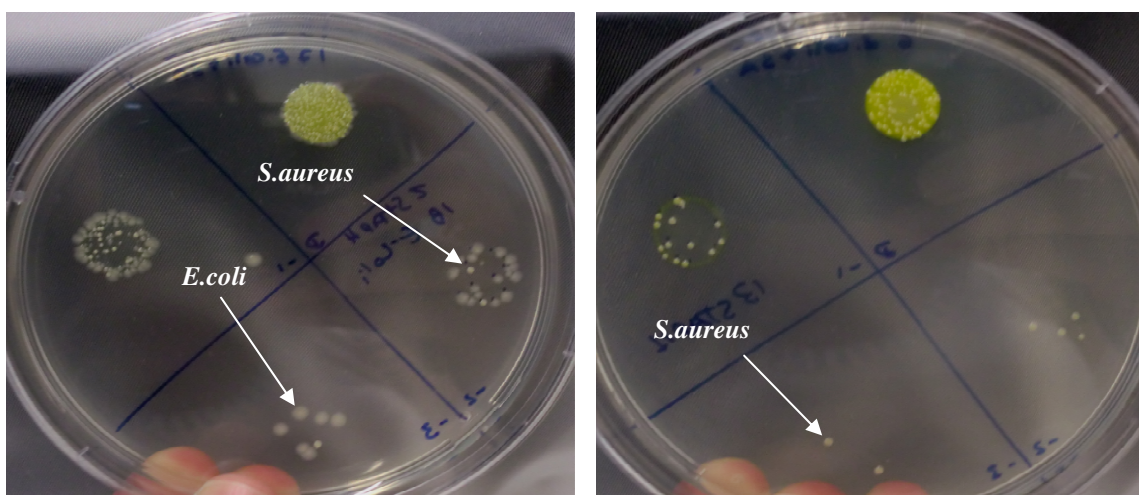


Figura XIII Distribuição da concentração de *E.coli* + *S.aureus* ao longo do tempo em tintas da tipologia guache de cor vermelha (a), de cor amarela (b) de cor laranja (c) e de cor azul (A₁), rosa (H₂₇) e roxa (F₁₈) (d).

Através da análise da Figura XIII.a, na qual se encontram representadas tintas guache de cor vermelha, observa-se que nas amostras E₁₅ e H₂₆ a concentração de *S.aureus* foi, na generalidade, superior à concentração detectada para a *E.coli*, no período em análise. Contrariamente a estes resultados verifica-se que a amostra C₉ apresentou um comportamento oposto, registando maiores concentrações de *E.coli* ao longo do tempo e concentrações de *S.aureus* sempre inferiores a 50 UFC.mL⁻¹. Este resultado vai de encontro ao obtido anteriormente para a *E.coli*, quando inoculada isoladamente na mesma amostra de tinta. Salienta-se que as tintas E₁₅ e H₂₆ pertencem à mesma marca, apresentando à partida uma composição química semelhante em termos de pigmentos e agentes conservantes.

Pela análise da Figura XIII.b, na qual se encontram representadas tintas guache de cor amarela, de marcas diferentes, verifica-se que todas as amostras apresentaram resultados muito semelhantes aos obtidos individualmente para cada microrganismo. A amostra B₆ (Figura XIV.a) registou um ligeiro decréscimo da concentração de *S.aureus* ao longo do tempo, ao contrário da *E.coli* que apesar de apresentar uma concentração elevada no tempo T_{0h} sofreu um declínio acentuado durante as primeiras 24 horas, um resultado que acabou por se manter nas análises seguintes.



(a)

(b)

(b) para o tempo T_{0h}.

Nas restantes amostras, A₂ (Figura XIV.b) e C₁₀, e para a espécie *S.aureus*, foi observada uma diminuição significativa da concentração inicial deste microrganismo. No que respeita

à espécie *E.coli*, a concentração deste microrganismo foi sempre inferior a 50 UFC.mL⁻¹ ao longo do tempo e em ambas as amostras.

Na Figura XIII.c encontram-se representados os resultados obtidos para as amostras E₁₆, F₁₉ e D₁₃, da tipologia guache e de coloração laranja. Os resultados são concordantes com os mostrados anteriormente, para cada tipo de microrganismo. Das amostras analisadas observa-se que a E₁₆ é a única amostra que apresenta uma diminuição gradual de *S.aureus* ao longo do tempo. As restantes amostras apresentam sobretudo um decréscimo acentuado da concentração inicial, quer de *E.coli* quer de *S.aureus*, ao fim de 24 horas, à excepção da amostra D₁₃ que registou sempre uma concentração de *E.coli* inferior a 50 UFC.mL⁻¹.

Ainda na tipologia guache, embora de cores diferentes, estão representados na Figura XIII.d os resultados obtidos para as amostras F₁₈, H₂₇, e A₁, de coloração roxa, rosa e azul, respectivamente. Analisando a figura observa-se que as amostras F₁₈ e H₂₇ apresentaram um comportamento idêntico para ambas as espécies estudadas, registando um decréscimo acentuado da concentração inicial de *E.coli* ao fim de 24 h e um decréscimo da concentração inicial de *S.aureus* ao fim de 48 h. No que respeita à amostra A₁ a única diferença observada, comparativamente às restantes amostras, relacionou-se com a concentração de *E.coli* que registou sempre um valor inferior a 50 UFCmL⁻¹. As concentrações de *E.coli* e *S.aureus* nestas amostras registaram igualmente valores semelhantes aos obtidos nos estudos anteriores.

Na Figura XV encontram-se representados os resultados obtidos para as amostras E₁₇ e D₁₁, ambas de coloração branca mas pertencendo a diferentes tipologias. Pela análise da figura observa-se que as duas amostras registaram um comportamento semelhante na distribuição da concentração de *E.coli*, verificando-se uma concentração inicial na ordem da 10⁴ UFC.mL⁻¹ e um decréscimo acentuado ao fim de 24h. Relativamente aos resultados obtidos para o *S.aureus* observou-se que na amostra E₁₇ a concentração deste microrganismo manteve-se, relativamente, estável ao longo do tempo, ao contrário da amostra D₁₁ que apresentou um decréscimo de *S.aureus* acentuado ao fim de 48 h.

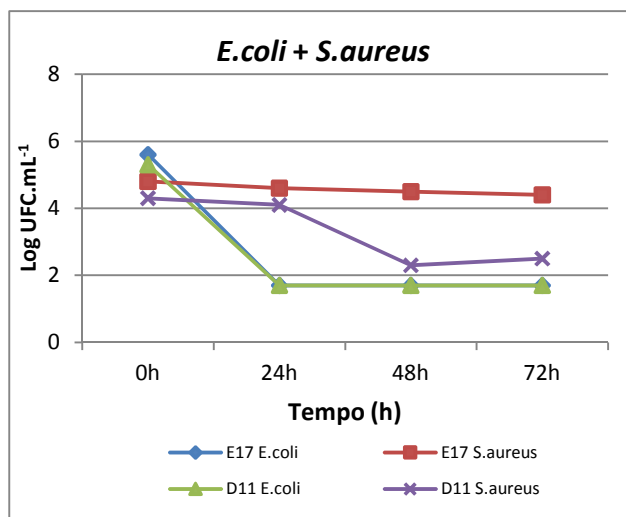


Figura XV Distribuição da concentração de *E.coli* + *S.aureus* ao longo do tempo em tintas do tipo acrílica (E₁₇) e *Transform Textil* (D₁₁), ambas de coloração branca.

As restantes amostras que não se encontram representadas graficamente apresentaram, na sua maioria, concentrações iniciais para ambos os microrganismos próximas de 10^4 UFC.mL⁻¹, registando após 24h uma diminuição significativa da mesma (<10 UFC.mL⁻¹). A amostra C₇ foi a única que apresentou um comportamento diferente de todas as outras, registando sempre uma concentração <10 UFC.mL⁻¹ para ambos os microrganismos.

Na generalidade, os resultados obtidos não indiciam a existência de efeitos sinérgicos ou antagonistas entre estas duas espécies bacterianas, apresentando ambas concentrações semelhantes às obtidas quando inoculadas isoladamente nas mesmas amostras.

4.1 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE QUÍMICA DAS TINTAS

Os resultados obtidos da análise química das amostras recolhidas nos estabelecimentos de ensino, para determinação de metais, encontram-se representados na Tabela XI.

Tabela XI Quantidade de chumbo, cádmio, cromo total, níquel, manganês, cobre e zinco nas amostras de tintas recolhidas nos estabelecimentos de ensino

	METAIS (mg.Kg ⁻¹)							
	Pb	Cd	Co	Cr	Ni	Mn	Cu	Zn
GUACHES								
A ₁	0.26	0.04	ND	0.67	0.34	35.22	400.15	4.22
A ₂	0.30	0.03	0.17	0.52	0.42	33.78	ND	2.81
A ₃	0.12	0.04	ND	0.45	ND	5.75	ND	2.46
B ₆	0.79	0.03	ND	0.39	ND	3.59	ND	3.16
C ₉	0.48	0.03	ND	1.22	0.50	46.72	ND	3.16
C ₁₀	ND	0.02	ND	0.16	ND	ND	ND	ND
D ₁₃	1.69	0.21	ND	1.07	ND	23.00	ND	3.86
E ₁₅	1.94	ND	ND	0.73	0.78	43.13	ND	9.84
E ₁₆	0.75	0.03	0.12	0.49	0.51	45.28	ND	7.38
F ₁₈	1.14	0.04	0.32	0.52	0.78	45.28	13.08	10.19
H ₂₆	0.68	0.03	0.16	0.46	0.60	43.13	ND	6.32
H ₂₇	0.90	0.03	0.17	0.46	0.71	48.88	ND	7.38
H ₂₈	0.79	ND	ND	0.44	0.14	5.75	361.39	2.81
ACRÍLICA								
D ₁₂	0.23	0.03	ND	0.73	ND	10.78	1458.16	2.81
E ₁₇	0.42	ND	ND	0.10	ND	ND	ND	ND
DIGITINTAS								
B ₄	0.26	ND	ND	0.77	1.43	31.63	126.44	2.46
TINTA DE ÁGUA								
G ₂₃	0.35	ND	ND	4.88	ND	ND	7.05	9.13
G ₂₄	ND	ND	ND	0.21	ND	ND	12.11	326.74
TINTAS PARA A CARA/CORPO								
B ₅	0.71	ND	ND	0.34	ND	ND	ND	2.11
F ₂₀	0.55	0.08	ND	3.38	0.28	9.34	ND	3.51
H ₂₉	ND	ND	ND	0.35	ND	4.31	ND	ND

Na Tabela XII encontram-se representados os resultados obtidos da análise química das tintas adquiridas em estabelecimentos comerciais e na Tabela XIII os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) para cada metal.

Tabela XII Quantidade de chumbo, cádmio, cobalto, crómio total, níquel, manganês, cobre e zinco nas tintas adquiridas em estabelecimentos comerciais

METAIS (mg.Kg ⁻¹)								
	Pb	Cd	Co	Cr	Ni	Mn	Cu	Zn
GUACHES								
I ₃₂	0.41	0.30	ND	2.39	0.27	10.78	ND	4.22
ACRÍLICA								
I ₃₃	ND	ND	0.24	0.36	0.18	ND	ND	3478.18
I ₃₄	ND	ND	ND	2.12	1.69	ND	ND	34.43
I ₄₀	0.39	ND	1.47	0.79	0.77	ND	ND	29687.46
TINTA DE ÁGUA								
I ₃₅	1.67	0.07	0.91	8.71	3.10	2.88	ND	646.45
I ₃₆	1.16	0.09	0.31	7.67	1.66	2.88	ND	537.54
I ₃₇	0.81	ND	0.22	7.40	1.39	ND	8.24	16.51
I ₃₈	1.71	0.12	0.53	8.01	1.34	2.88	830.81	203.77
I ₃₉	1.98	0.07	0.20	9.40	2.32	3.59	951.92	51.29
TINTAS PARA A CARA/CORPO								
I ₃₀	0.14	ND	0.12	1.50	ND	20.13	ND	149.32
I ₃₁	0.32	ND	ND	0.76	ND	15.09	ND	18.27

ND – Concentração abaixo do limite de detecção

Tabela XIII Limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) para cada metal.

METAIS								
	Pb	Cd	Co	Cr	Ni	Mn	Cu	Zn
			µg.L ⁻¹			mg.L ⁻¹		
LOD	1.67	0.13	0.88	0.19	1.58	0.041	0.055	0.02
LOQ	5.56	0.42	2.94	0.64	5.26	0.135	0.182	0.066

Da análise das Tabelas XI e XII constata-se que 84% das amostras analisadas apresentavam chumbo na sua composição. Segundo a legislação dos brinquedos (Decreto-Lei n.º43/2011) embora não seja exigida a ausência deste metal nesta categoria de produtos, a sua presença está limitada a uma concentração de 3.4 mg.Kg^{-1} , um valor não ultrapassado em nenhuma das amostras pertencentes às tipologias guache, acrílica, digitinta e tinta de água. Contudo, no que respeita às tintas para a cara/corpo a situação é diferente, uma vez que, sendo consideradas produtos cosméticos, encontram-se abrangidas pela legislação aplicável a estes produtos. Assim, verifica-se que das 5 amostras de tintas para a cara/corpo analisadas, 4 apresentavam chumbo na sua composição, um metal listado no anexo II do Decreto-Lei n.º189/2008 como uma substância que não pode estar presente na composição dos produtos cosméticos. De salientar que das quatro amostras que apresentaram chumbo, duas (F₂₀ e H₂₉) foram recolhidas em dois dos estabelecimentos de ensino estudados, sendo as restantes (I₃₀ e I₃₁) adquiridas em estabelecimentos comerciais. Os valores obtidos para este metal foram semelhantes aos obtidos por um estudo similar realizado pela *Campaign for Safe Cosmetics* (2009), o qual concluiu que todas as tintas para a cara, destinadas a crianças, analisadas apresentavam na sua composição chumbo em concentrações que variavam entre os 0.054 e 0.65 ppm (mg.Kg^{-1}).

Para além do chumbo, também o cádmio, o crómio e o níquel são considerados, pela lei portuguesa, substâncias proibidas na composição dos produtos cosméticos. Todas as tintas para a cara/corpo analisadas apresentaram crómio na sua composição em concentrações que variaram entre 0.34 e 3.38 mg.Kg^{-1} . Um estudo realizado por Corazza *et al.* (2009) observou também a presença de crómio em brinquedos de maquilhagem registando, contudo, concentrações bem mais elevadas deste metal (acima de 1000 ppm). No que respeita às tintas de uso artístico estudadas observou-se igualmente a presença crómio em todas elas. Apesar disso, não é possível constatar se a concentração deste metal nestes produtos foi excedida, uma vez que, a legislação dos brinquedos define diferentes limites para o Cr^{III} e para o Cr^{VI}, tendo apenas sido determinado o crómio total neste estudo. Relativamente ao cádmio, a sua presença foi detectada em 56% da totalidade das amostras analisadas. Em nenhuma das amostras da categoria das tintas artísticas a concentração de cádmio excedeu o limite imposto legalmente (0.5 mg.Kg^{-1}), o mesmo não se aplica às tintas para a cara/corpo tendo sido determinada uma concentração de 0.08 mg.Kg^{-1} na amostra F₂₀. Esta mesma tinta apresentou ainda uma concentração de níquel de 0.28

mg.Kg⁻¹, não cumprindo assim com os requisitos legais. Por outro lado, por serem consideradas brinquedos, nenhuma das amostras das tintas artísticas excedeu o limite de 18.8 mg.Kg⁻¹ para o níquel, apresentando valores entre 0.14 e 2.32 mg.Kg⁻¹.

Para além dos limites impostos legalmente para as tintas, enquanto brinquedos, alguns estudos têm proposto outros valores limites para o crómio, cobalto e níquel, para qualquer produto de consumo ou para a casa. Uma concentração 5 ppm tem sido referida como o limite máximo até ao qual a maioria dos indivíduos alérgicos a estes metais não desenvolve reacções alérgicas. Os mesmos estudos referem ainda como situação ideal uma concentração não superior a 1 ppm de forma a garantir um nível de protecção ainda maior (Basketter *et al.*, 2001; Basketter *et al.*, 2003). Considerando estes limites, encontram-se representados na Tabela XIV o número de amostras da categoria das tintas artísticas que apresentam concentrações de crómio, cobalto e níquel superiores a 5 mg.Kg⁻¹, entre 1 e 5 mg.Kg⁻¹ e inferiores a 1 mg.Kg⁻¹. Na última gama de valores, foram também tidas em consideração as amostras que apresentaram concentrações abaixo dos limites de detecção para cada elemento.

Tabela XIV Distribuição do número de amostras de tintas artísticas que apresentaram concentrações de crómio, cobalto e níquel, superiores a 5 mgKg⁻¹, entre 1 e 5 mgKg⁻¹ e inferiores a 1 mgKg⁻¹.

TIPOLOGIA	METAIS								
	>5 mg.Kg ⁻¹			1 < mg.Kg ⁻¹ <5			<1 mg.Kg ⁻¹		
	Cr	Co	Nq	Cr	Co	Nq	Cr	Co	Nq
Guache	0/14	0/14	0/14	3/14	0/14	0/14	11/14	14/14	14/14
Acrilica	0/5	0/5	0/5	1/5	1/5	1/5	4/5	4/5	4/5
Digitinta	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	1/1	1/1	1/1	0/1
Tinta água	5/7	0/7	0/7	1/7	0/7	5/7	1/7	7/7	2/7

Observa-se pela análise da Tabela XIV que, na generalidade, as amostras não ultrapassam o limite de 5 mg.Kg⁻¹ para qualquer um dos metais, à excepção das amostras I₃₅, I₃₆, I₃₇, I₃₈ e I₃₉, todas elas tintas de água adquiridas em estabelecimentos comerciais, que apresentaram concentrações de crómio entre 7.40 e 9.40 mg.Kg⁻¹. De igual forma, as mesmas amostras apresentaram concentrações de níquel entre 1 e 5 mg.Kg⁻¹. Nesta gama

de valores e para o mesmo metal registaram-se ainda duas amostras, uma da tipologia acrílica (I₃₄) e outra do tipo digitinta (B₄). Concentrações de cobalto e de crómio entre 1 e 5mg.Kg⁻¹ foram igualmente observadas em uma (I₄₀) e cinco (C₉, D₁₃, G₂₃, I₃₂ e I₃₄) amostras, respectivamente. Para finalizar, observa-se que a maioria das amostras analisadas apresentou concentrações de crómio, cobalto e níquel abaixo de 1 mg.Kg⁻¹. Das tintas estudadas verifica-se que as adquiridas nos estabelecimentos comerciais apresentaram, segundo estes valores de referência, piores resultados no que respeita a estes metais, em particular para o crómio, quando comparadas com as tintas recolhidas nos estabelecimentos de ensino. Os resultados obtidos para estes metais nas tintas em estudo apresentaram na generalidade concentrações mais baixas às obtidas por Corazza *et al.* (2009), embora estes autores tenham apenas focalizado o seu estudo em brinquedos de maquilhagem.

No que respeita à determinação de outros metais nas tintas, constatou-se que nenhuma das amostras pertencentes à categoria das tintas artísticas ultrapassou o limite de 300 mg.Kg⁻¹ para o manganês, definido pela legislação dos brinquedos. Por sua vez a concentração de cobre e zinco foi excedida por cinco (A₁, H₂₈, D₁₂, I₃₈ e I₃₉) e duas amostras (I₃₃ e I₄₀), respectivamente, excedendo o limite de 165 mg.Kg⁻¹ no caso do cobre e o limite de 938 mg.Kg⁻¹ em relação ao zinco. As amostras que apresentaram concentrações acima do limite para o cobre registaram valores entre 361.39 e 1458.1 mg.Kg⁻¹. Relativamente ao zinco ambas as amostras I₃₃ e I₄₀, adquiridas em estabelecimentos comerciais, apresentaram valores muito acima do limite, registando concentrações de 3478.18 e 29687.46 mg.Kg⁻¹, cada uma delas. No caso das tintas para cara/corpo a legislação aplicável permite a utilização de compostos de zinco desde que cumpram com as restrições e condições previstas pela mesma (anexo III do D.L n.º 189/2008).

Como já foi referido anteriormente a presença de zinco nas tintas encontra-se particularmente associada aos pigmentos utilizados na sua formulação. O óxido de zinco (ZnO) está entre as principais matérias-primas utilizadas no processo de fabrico das tintas, sendo adicionado à sua composição com o propósito de garantir uma melhor pigmentação e qualidade a estes produtos (Gondal & Hussain, 2007). Este óxido de metal tem sido sobretudo associado a efeitos de citotoxicidade em células bacterianas, nomeadamente da *E.coli*. Observando novamente os resultados obtidos para o zinco nas amostras recolhidas

nos estabelecimentos de ensino, verifica-se que este metal foi praticamente detectado em todas as amostras, embora não ultrapassando o valor limite. A presença deste elemento pode estar associada ao declínio da concentração de *E.coli* ao longo do tempo, contudo, através dos resultados obtidos não é possível estabelecer uma tendência entre uma menor concentração de zinco e uma diminuição menos acentuada da concentração de *E.coli* nas tintas, assim como o inverso. Tal como o zinco, também o cobre parece desenvolver efeitos de citotoxicidade em células bacterianas como a *E.coli*. Contudo, a sua presença em algumas tintas escolares, mesmo em concentrações superiores à limite, também não permite estabelecer uma relação directa entre a sua concentração e a diminuição da concentração *E.coli* ao longo do tempo.

Tanto o zinco como o cobre são considerados elementos essenciais às células, no entanto, em concentrações excessivas ambos representam elementos tóxicos. Neste contexto, a utilização destes metais em produtos utilizados sobretudo por crianças pode representar um risco para a saúde das mesmas, nomeadamente quando as concentrações limites são excedidas.

CONCLUSÃO

A escola preconiza-se como um espaço de excelência no desenvolvimento acadêmico e emocional das crianças, influenciando de forma decisiva os seus comportamentos e assumindo um papel determinante na promoção para a saúde.

No ensino pré-escolar, as actividades artísticas como o desenho e a pintura instituem processos complexos que influenciam grandemente a criatividade e educação das crianças. As tintas são por isso consideradas um material didáctico bastante atractivo, quer para as crianças quer para os educadores, sendo regularmente utilizadas nas actividades escolares diárias. A maioria destes produtos destinados a serem utilizados por crianças ostentam no rótulo a informação de não conterem produtos tóxicos na sua composição, contudo, dada a variabilidade de ingredientes químicos utilizados na formulação dos mesmos, esta informação nem sempre corresponde à realidade, um pressuposto que, em parte, acabou por ser observado ao longo deste estudo.

A caracterização das tintas utilizadas nos estabelecimentos de ensino pré-escolar estudados permitiu observar que alguns produtos não cumprem com os pressupostos legislativos aplicáveis em matéria de rotulagem. Apesar disso, a maioria das tintas artísticas observadas (guaches, acrílicas, digitintas e tintas de água) ostentava marcação CE e apresentava no rótulo informação sobre o fabricante ou responsável pela colocação do produto no mercado. A principal advertência identificada no rótulo destes produtos aplicava-se a potenciais perigos físicos, nomeadamente à possibilidade de ingestão de peças pequenas. Uma das principais não conformidades observadas nesta categoria de tintas, em particular nas digitintas, foi a inexistência de informação sobre os conservantes e agentes amargurantes utilizados na sua formulação. Na categoria das tintas para a cara/corpo a maioria apresentou informação sobre o fabricante ou responsável pela colocação do produto no mercado, bem como, informação sobre o prazo de validade e ingredientes presentes na sua composição. Embora tenham sido identificadas algumas lacunas, associadas, nomeadamente, há carência de informação sobre avisos/advertências relacionados com perigos químicos e sobre os ingredientes utilizados nestes produtos, a

maioria das tintas observadas ostentava no rótulo avisos que indicavam que estas podiam ser utilizadas pelas crianças da faixa etária em questão.

A recolha de informação sobre as tintas utilizadas nos estabelecimentos de ensino permitiu constatar que, na sua maioria, sendo produtos destinados a serem utilizados pelas crianças, são considerados, pelas instituições de ensino, factores prioritários no processo de aquisição dos mesmos. Da informação sobre as práticas de utilização e conservação das tintas, verificou-se por parte dos educadores ou responsáveis dos estabelecimentos de ensino a adopção de comportamentos que primam pela manutenção da qualidade dos produtos e, acima de tudo, pela garantia da segurança das crianças. Apesar disso, observou-se algum desconhecimento relativamente ao prazo de validade dos produtos e à necessidade de se controlar o tempo de abertura dos mesmos, em particular, no caso das tintas para a cara/corpo que apresentam um tempo limite de utilização após a sua abertura. Outro aspecto observado em praticamente todos os estabelecimentos de ensino, foi o facto das tintas serem vulgarmente aplicadas directamente com as mãos das crianças, incluindo tintas não destinadas para esse efeito, nomeadamente, guaches e acrílicas.

Os resultados obtidos da análise microbiológica das tintas revelam que estas apresentam, normalmente, uma contaminação estática, comum neste tipo de produtos. Contudo, cerca de 10% das amostras analisadas, em particular pertencentes à categoria das tintas artísticas, apresentaram um elevado crescimento microbiano, nomeadamente por fungos. Os fungos associados a esta contaminação pertenciam aos géneros *Aspergillus*, um fungo vulgarmente encontrado no meio ambiente, e *Trichophyton*, um fungo dermatófito. Esta contaminação pode estar associada aos processos de fabricação dos produtos ou a contaminações posteriores durante a utilização dos mesmos pelos utilizadores. O isolamento de microrganismos a partir de pontos críticos no processo de fabrico destas tintas pode constituir uma acção preventiva na contaminação das mesmas, garantindo por um lado, uma melhor qualidade destes produtos, e por outro, a segurança dos utilizadores, um aspecto particularmente importante quando os utilizadores são crianças.

Relativamente ao estudo da estabilidade microbiana após contaminação com *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* nas tintas observou-se que o perfil de sobrevivência é variável em função do tipo de tinta e do tipo de microrganismo. Apesar disso, a espécie

S.aureus revelou-se mais resistente que a espécie *E.coli*. Associada a estes resultados pode estar a acção de potenciais agentes conservantes presentes nos produtos, nomeadamente, agentes antimicrobianos. Também a toxicidade de alguns óxidos de metais associados aos pigmentos utilizados nestas tintas têm sido associados a efeitos biocidas, nomeadamente de microrganismos como a *E.coli*.

A presença de crómio em todas as amostras de tintas estudadas (21 amostras provenientes dos estabelecimentos de ensino e 11 dos estabelecimentos comerciais) foi constatada. Na maioria das tintas artísticas as concentrações deste metal foram inferiores a 1mg.Kg^{-1} , o que, segundo a literatura, não constitui um perigo para a saúde dos utilizadores. Contudo, concentrações entre 7.40 e 9.4 mg.Kg^{-1} foram igualmente registadas, em particular num conjunto de tintas de água, adquiridas nos estabelecimentos comerciais. A presença de concentrações de crómio acima de 5 mg.Kg^{-1} é considerada já um perigo para a saúde dos utilizadores, neste caso em particular, das crianças, principalmente se estas forem susceptíveis a desenvolverem reacções alérgicas a este metal. Nesta categoria de tintas, verificou-se igualmente a presença de chumbo, cádmio, cobalto, níquel e manganês, embora os valores limites impostos legalmente para estes metais não tenham sido excedidos. O mesmo não se verificou para os metais cobre e zinco, cuja concentração limite foi excedida em cinco e duas amostras, respectivamente. No caso das tintas para a cara/corpo a situação é diferente, pois encontram-se enquadradas na categoria dos produtos cosméticos, não podendo conter na sua composição metais como o chumbo, cádmio, crómio e níquel. Dos resultados obtidos para estas tintas verificou-se a presença destes metais, nomeadamente de crómio, em algumas das amostras, tanto dos estabelecimentos de ensino como dos estabelecimentos comerciais. A presença destes metais nos produtos cosméticos ocorre sobretudo sob a forma de impurezas, as quais não se encontram contempladas pela legislação aplicável aos mesmos, não existindo por isso valores limites para estes elementos, o que dificulta o estabelecimento de uma relação de risco entre a presença destes metais e a utilização dos produtos que os contêm.

Do conjunto das tintas analisadas quimicamente verificou-se que, comparativamente aos resultados obtidos para as amostras recolhidas no estabelecimentos de ensino, as tintas adquiridas em lojas apresentaram, na generalidade, piores resultados para a maioria dos metais, nomeadamente para o crómio e zinco.

O conhecimento das características químicas e microbiológicas das tintas utilizadas por crianças do ensino pré-escolar constitui um ponto de partida para a determinação dos riscos a que este grupo de indivíduos pode estar exposto no seu dia-a-dia. A realização deste estudo permitiu alguns avanços a este nível, em particular no conhecimento das tintas artísticas utilizadas pelas crianças, uma tema ainda pouco abordado por outros estudos na área. Os riscos associados à utilização destas tintas, devem ser alvo de especial atenção por parte dos órgãos reguladores, pois embora existam directrizes aplicáveis a estes produtos denota-se uma carência de informação no que respeita aos ingredientes que compõe estes produtos, nomeadamente das tintas artísticas. Adicionalmente, foi dado também a conhecer os princípios e procedimentos utilizados pelos educadores na aquisição, manuseamento e armazenamento destes produtos. Considera-se importante o reconhecimento de factores que possam influenciar negativamente estes produtos e que facilmente poderão ser minimizados durante o período de permanência no estabelecimento de ensino.

A principal limitação associada à realizado deste estudo foi o tempo de análise das amostras inoculadas com os microrganismos-alvo, em particular, nas que apresentaram até ao fim do período de análise presença de *E.coli* e *S.aureus*.

TRABALHOS FUTUROS

Considerando não só a principal limitação aliada a este trabalho, propõe-se como trabalhos futuros:

- i. Alargar o tempo de estudo da estabilidade microbiana dos microrganismos *E.coli* e *S.aureus* nas amostras de tintas, em particular nas que evidenciaram sempre a presença destes microrganismos durante o período de estudo, de forma a identificar o tempo necessário para a eliminação destes microrganismos, ou o seu inverso;
- ii. Realizar o mesmo estudo, mas testando o potencial biocida de diferentes concentrações de agentes antimicrobianos, utilizados normalmente na formulação destes produtos;
- iii. Efectuar o mesmo estudo mas utilizando outros microrganismos igualmente pertinentes, nomeadamente, *Pseudomonas aeruginosas* e *Bacillus spp.*

BIBLIOGRAFIA

- Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (2004a). *ToxFAQS for Cobalt*. Recuperado em 27 de Setembro, 2011, em: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxfaqs/TF.asp?id=372&tid=64>;
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (2004b). *Toxicological Profile for Copper*. Atlanta: Author. Recuperado em 17 de Setembro, 2011, em <http://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/tp.asp?id=206&tid=37>;
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (2005a). *Draft Toxicological Profile for Nickel*. Atlanta: Author. Recuperado em 17 de Setembro, 2011, em <http://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/tp.asp?id=245&tid=44>;
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (2005b). *Public Health Statement for Zinc*. Recuperado em 27 de Setembro, 2011, em: <http://www.atsdr.cdc.gov/phs/phs.asp?id=300&tid=54>;
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (2005c). *ToxFAQS for Nickel*. Recuperado em 27 de Setembro, 2011, em: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxfaqs/tf.asp?id=244&tid=44>;
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (2007). *Toxicological Profile for Lead*. Recuperado em 17 de Setembro, 2011, em <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp.asp?id=96&tid=22>;
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (2008a). *Draft Toxicological Profile for Cadmium*. Recuperado em 17 de Setembro, 2011, em <http://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/TP.asp?id=48&tid=15>;
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (2008b). *Public Health Statement for Manganese*. Recuperado em 28 de Setembro, 2011, em: <http://www.atsdr.cdc.gov/PHS/PHS.asp?id=100&tid=23>;
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (2008c). *ToxFAQS for Chromium*. Recuperado em 27 de Setembro, 2011, em: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxfaqs/TF.asp?id=61&tid=17>;
- Al-Saleh, I., Al-Enazi, S. & Shinwari, N. (2009). Assessment of lead in cosmetic products. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 54, 105-113;
- Apostoli, P., Cornelis, R., Duffus, J., Lison, D. & Templeton, D. (2006). *Elemental Speciation in Human Health Risk Assessment*. Recuperado em 14 Setembro, 2011, do World Health Organization Web site: http://search.who.int/search?q=ELEMENTAL+SPECIATION+IN+HUMAN+HEALTH+RISK+ASSESSMENT&ie=utf8&site=default_collection&client=_en&proxystylesheet=_en&output=xml_no_dtd&oe=utf8;
- Arda, Z. (2009). Art instruction in pré-school education. *Procedia Social and Behavioral Sciences*, 1, 150-153;
- Associação Portuguesa de Tintas (2011). *Composição das tintas*. Recuperado em 15 de Julho, 2011, em: <http://www.ap tintas.pt/composicao.aspx>;
- Barata, E. (2002). *Cosméticos – Arte e Ciência*. Lidel, edições técnicas, lda. Lisboa;
- Barnett, J., Miller, S. & Pearce, E. (2006). Colour and art: A brief history of pigments. *Optics & Laser Technology*, 38, 445-453;

- Basketter, D., Angelini, G., Ingber, A., Kern, P. & Menne, T. (2003). Nickel, chromium and cobalt in consumer products: revisiting safe levels in the new millennium. *Contact Dermatitis*, 49, 1-7;
- Basketter, D., Horev, L., Slodovnik, D., Merimes, S., Trattner, A. & Ingber, A. (2001). Investigation of the threshold for allergic reactivity to chromium. *Contact Dermatitis*, 44, 70-74;
- Baumler, W., Lundsgaard, J. & Talberg, H. (2003). Chemicals used in tattooing and permanent make up products. Em: *Technical / scientific and regulatory issues on the safety of tattoos, body piercing and of related practices*. Ispra, 6-7 de Maio de 2003, European Commission, Itália. pp 21-48;
- Bentlin, F., Pozebon, D. & Depoi, F. (2009). Estudo comparativo de métodos de preparo de amostras de tinta para a determinação de metais e metalóides por técnicas de espectrometria atômica. *Quim. Nova*, 32 (4), 884-890;
- Borrós, S., Barberá, G., Biada, J. & Agulló, N. (1999). The use of capillary electrophoresis to study the formation of carcinogenic aryl amines in azo dyes. *Dyes and Pigments*, 43, 189-196;
- Caballero, L., Whitehead, K., Allen, S. & Verran, J. (2010). Photoinactivation of *Escherichia coli* on acrylic paint formulations using fluorescent light. *Dyes and Pigments*, 86, 56-62;
- Campaing for Safe Cosmetics (2009). *Pretty Scary . Could Halloween Face Paint Cause Lifelong Health Problems?* Recuperado em 20 Julho, 2011, em <http://www.safecosmetics.org/article.php?id=584>;
- Centers for Disease and Control Prevention (2009). Dermatophytes (Ringworm) – General information. Recuperado a 1 de Outubro, 2011, em: <http://www.cdc.gov/nczved/divisions/dfbmd/diseases/dermatophytes/>;
- Corazza, M., Baldo, F., Pagnoni, A., Miscioscia, R., Virgili, A. (2009). Measurement of Nickel, Cobalt and Chromium in Toy Make-up by Atomic Absorption Spectroscopy. *Acta Derm Venereol*, 89 (2), 130-133;
- Cuevas, D. (1997). *Como pintar a guache*. Editorial Presença. Lisboa;
- Danish EPA (2007). A Survey and health assessment of cosmetic products for children. Recuperado em 18 Setembro, 2011, do Danish Ministry of the Environment Web site em : http://www.mst.dk/English/Chemicals/Consumer_Products/Surveys-on-chemicals-in-consumer-products.htm;
- Dashen, M., Chollom, P., Okechalu, J. & Ma'aji, J. (2011). Microbiological quality assessment of some brands of cosmetics powders sold within Jos Metropolis, Plateau State. *Journal of Microbiology and Biotechnology Research*, 1 (2), 101-106;
- Decreto-Lei n.º 189/2008 de 24 de Setembro. *Diário da República n.º 185 – I Série*. Ministério da Saúde. Lisboa;
- Decreto-Lei n.º 43/2011 de 24 de Março. *Diário da República n.º 59 – I Série*. Ministério da Economia, da Inovação e do Desenvolvimento. Lisboa;
- Denyer, S & Stewart, G. (1998). Mechanisms of action of disinfectants. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 41, 261-268;

- Dey, B., Hashim, M., Hasan, S. & Sen Gupta, B. (2004). Microfiltration of water-based paint effluents. *Advances in Environmental Research*, 8, 455-466;
- Dionísio, M. e Pereira, I. (2006). A educação pré-escolar em Portugal Concepções oficiais, investigação e práticas. *Casa de Leitura Gulbenkian*, 24, 597-622;
- Directiva 2009/48/CE de 18 de Junho de 2009. Official Journal of the European Union – L 170/1;
- European Council of the Paint, Printing Ink and Artists' Colours Industry (CEPE) (2005). *Overview of the Artists' Colours Industry*. Recuperado em 18 Julho, 2011, em: http://www.cepe.org/epub/easnet.dll/GetDoc?APPL=1&DAT_IM=020625&TYPE=PDF;
- European Medicines Agency (2010). Excipients: Safe or not safe? View point from de EMA. Em: *Paediatric workshop*. London, 31 de Maio de 2010, European Medicines Agency, UK. Recuperado em 6 Setembro, 2011, em: <http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=search.jsp&q=Colorants&mid=>;
- EN 71-7 (2002). *Safety of Toys, Part 7: Finger paints – Requirements and test methods*. British Standards Institution;
- Fisher, F. & Cook, N. (1998). *Fundamentals of Diagnostic Mycology*. Saunders (1th ed.) -an imprint of Elsevier. USA;
- Fitzhugh, E. (1997). *Artists' pigments – A handbook of their history and characteristics, Volume 3*. Oxford University Press. New York. Recuperado em 3 Setembro, 2011, de http://www.amazon.com/Artists-Pigments-Handbook-History-Characteristics/dp/0894682563#reader_0894682563;
- Flores, M., Morillo, M. & Crespo, M. (1997). Deterioration of Raw Materials and Cosmetic Products by Preservative Resistant Microorganisms. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 40, 157-160;
- Gnecco, S., Mariano, M. & Fernandes, F. (2003). *Tratamento de superfície e pintura*. Instituto Brasileiro de Siderurgia/Centro Brasileiro da Construção em Aço. Recuperado em 8 de Setembro, 2011, em: http://www.skylightestruturas.com.br/downloads/CBCA_Pintura.pdf;
- Gondal, M. & Hussain, T. (2007). Determination of poisonous metals in wastewater collected from paint manufacturing plant using laser-induced breakdown spectroscopy. *Talanta*, 71, 73-80;
- Graeter, L. & Mortemen, M. (1996). Kids are different: developmental variability in toxicology. *Toxicology*, 111, 15-20;
- Guaratini, C. & Zanoni, M. (2000). Corantes Têxteis – Revisão. *Química Nova*, 23 (1), 71-78;
- Hodgson, E. (2004). *A Textbook of Modern Toxicology* (3th ed.). John Wiley & Sons, INC. New Jersey: North Caroline State University;
- Hradil, D., Grygar, T., Hradilová, J. & Bezdička, P. (2003). Clay and iron oxide pigments in the history of painting. *Applied Clay Science*, 22, 223-236;
- Hugbo, P., Oneykweli, A. & Igwe, I. (2003). Microbial contamination and preservative capacity of some brands of cosmetics creams. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 2 (2), 229-234;

- Ibrahim, D., Froberg, B., Wolf, A. & Rusyniak, D. (2006). Heavy Metal Poisoning: Clinical Presentations and Pathophysiology. *Clin Lab Med*, 26, 67-97;
- Infarmed (2009). *Limite de bactérias em produtos de cosmética e de higiene corporal*. Retirado em 1 de Outubro, 2011, em: http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/PESQUISA/RESULTADOS_DA_PESQUISA;
- International Agency for Research on Cancer (2011). *Agents Classified by the IARC Monographs, Volumes 1-102*. Recuperado em 17 de Setembro, 2011, em: <http://www.iarc.fr/search.php?cx=009987501641899931167%3Aajwf5bx4tx78&cof=FORID%3A9&ie=UTF-8&ie=ISO-8859-1&oe=ISO-8859-1&q=classification+of+cadmium#1057>;
- Katušin- Ražem, B., Mihaljević, B. & Ražem, D. (2003). Microbial decontamination of cosmetic raw materials and personal care products by irradiation. *Radiation Physics and Chemistry*, 66, 309-316;
- Kumar, A., Pandey, A., Singh, S., Shanker, R. & Dhawan, A. (2011). Engineered ZnO and TiO₂ nanoparticles induce oxidative stress and DNA damage leading to reduced viability of *Escherichia coli*. *Free Radical Biology and Medicine*, 51, 1872-1881;
- La Rosa, F., Giese, E., Dekker, R., Pelayo, J. & Barbosa, A. (2008). Contaminação microbiológica de tintas à base d'água de uma indústria do estado do Paraná, Brasil. *Ciências Exatas e da Terra, Londrina*, 29 (1), 85-92;
- Lefranc & Bourgeois (2011). *Colours fabrication: Research and development - Products quality*. Recuperado em 4 de Setembro de 2011, em: <http://www.lefranc-bourgeois.com/beaux-arts/produits-EXPEqualite.html>;
- Lidsky, T. & Schneider, J. (2003). Lead neurotoxicity in children: basic mechanisms and clinical correlates. *Brain*, 126, 5-19;
- McCann, D., Barret, A., Cooper, A., Crumpler, D., Dalen, L., Grimshaw, K., Kitchin, E., Lok, K., Porteous, L., Prince, E., Sonuga-Barke, E., Warner, J., Stevenson, J. (2008). Food additives and hyperactive behaviour in 3-year-old and 8/9-year-old children in the community: a randomised, double-blinded, placebo-controlled trial. *Lancet*, 370, 1560-1567;
- Meyer, P., Brown, M. & Falk, H. (2008). Global approach to reducing lead exposure and poisoning. *Mutation Research*, 659, 166-175;
- Miles, A. & Misra, S. (1938). The estimation of the bacterial power of the blood. *Journal of Hygiene*, 38, 732-735;
- Ministério da Saúde (2006). *Programa nacional de saúde escolar*. Recuperado em 6 de Julho, 2011, em: <http://www.min-saude.pt/NR/rdonlyres/4612A602-74B9-435E-B720-0DF22F70D36C/0/ProgramaNacionaldeSa%C3%BAdeEscolar.pdf>;
- Møller, P. & Wallin, H. (2000). Genotoxic hazards of azo pigments and other colorants related to 1-phenylazo-2-hydroxynaphthalene. *Mutation Research*, 462, 13-30;
- Montgomery, M. & Mathee, A. (2005). A preliminary study of residential paint lead concentrations in Johannesburg. *Environmental Research*, 98, 279-283;

- Noguerol-Cal, R., López-Vilariño, J., González-Rodríguez, M. & Barral-Losada, L. (2011). Effect of several variables in the polymer toys additive migration to saliva. *Talanta*, 85, 2080-2088;
- Nordic Council of Ministers. (2003). *Cadmium Review*. Recuperado em 14 Setembro, 2011, do World Health Organization Web site: http://search.who.int/search?q=Cadmium+Review&ie=utf8&site=default_collection&client=_en&proxystylesheet=_en&output=xml_no_dtd&oe=utf8;
- Oğuz, V. (2010). The factors influencing childrens' drawings. *Procedia Social and Behavioral Sciences*, 2, 3003-3007;
- Omolaoye, J., Uzairu, A. & Gimba, C. (2010). Heavy metal assessment of some eye shadow products imported into Nígeria from China. *Archives of Applied Science Research*, 5, 76-84;
- Pack, L., Wickham, M., Enloe, R. & Hill, D. (2008). Microbial contamination associated with mascara use. *Optometry*, 79, 587-593;
- Pauwels, M. & Rogiers, V. (2007). EU legislations affecting safety data availability of cosmetic ingredients. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 49, 308-315;
- Perry, B. (2001). *Cosmetic microbiology*. Recuperado em 2 Outubro, 2011, do Society for general microbiology Web site, em: <http://www.sgm.ac.uk/scripts/dtSearch/dtisapi6.dll>;
- Portaria n.º 262/2011 de 31 de Agosto. *Diário da República n.º 167 – I Série*. Ministério da Solidariedade e da Segurança Social. Lisboa;
- Salgueiro, M., Zubillaga, M., Lysionek, A., Caro, R., Weill, R. & Boccio, J. (2002). The Role of Zinc in the Growth and Development of Children. *Nutrition*, 18, 510-519;
- Saron, C. & Felisberti, M. (2006). Ação de colorantes na degradação e estabilização de polímeros. *Quim. Nova*, 29 (1), 124-128;
- Schwegmann, H., Feitz, A. & Frimmel, F. (2010). Influence of the zeta potential on the sorption and toxicity of iron oxide nanoparticles on *S. cerevisiae* and *E. coli*. *Journal of Colloid and Interface Science*, 347, 43–48;
- Simões, M., Rocha, S., Coimbra, M. & Vieira, M. (2008). Enhancement of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* antibiotic susceptibility using sesquiterpenoids. *Medicinal Chemistry*, 4, 616-623;
- Smith, R. (2003). *Manual Prático do Artista – equipamento materiais procedimentos técnicas*. Dorling Kindersley - Civilização, Editores, lda. Porto;
- Solé, E., Ballabriga, A. & Domínguez, C. (1998). Lead exposure in children: Levels in blood, prevalence of intoxication and related factors. *BioMetals*, 11, 189-197;
- Sonia, M., Taylorb, S., Greenbergc, N. & Burdocka, G. (2002). Evaluation of the health aspects of methyl paraben: a review of the published literature. *Food and Chemical Toxicology*, 40, 1335-1373;
- Stuiver, A. & Barkema, G. (2010). Simulations of Color Development in Tinted Paints. *Journal of Colloid and Interface Science*, 344, 256-260;

- Tapiero, H., Townsend, D. & Tew, K. (2003). Trace elements in human physiology and pathology. *Copper. Biomedicine & Pharmacotherapy*, 57, 386-398;
- Teh, C. & Mohamed, A. (2011). Roles of titanium dioxide and ion-doped titanium dioxide on photocatalytic degradation of organic pollutants (phenolic compounds and dyes) in aqueous solutions: A review. *Journal of Alloys and Compounds*, 509, 1648-1660;
- Thailand Environment Institute (2003). *Developing Common Core Criteria for Paints*. Recuperado em 8 Setembro, 2011, em http://www.globalecolabelling.net/docs/technical_assist_prog/tech_030522_02.pdf;
- Tong, S. & Lam, K. (1998). Are nursery schools and kindergartens safe for our kids? The Hong Kong study. *The Science of the Total Environment*. **216**: 217-225.
- U.S Environmental Protection Agency (2011). Cadmium Fact Sheet. Recuperado em 14 Setembro, 2011, do Environmental Protection Agency Web site: http://nlquery.epa.gov/epasearch/epasearch?querytext=Cadmium&fld=&areaname=&typeofsearch=epa&areacontacts=http%3A%2F%2Fwww.epa.gov%2Fepahome%2Fcomments.htm&areasearchurl=&result_template=epafiles_default.xsl&filter=sample4filt.hts;
- U.S Food and Drug Administration (2009). *Guide to inspections of cosmetic product manufacturers*. Recuperado em 2 Outubro, 2011, em: <http://www.fda.gov/ICECI/Inspections/InspectionGuides/ucm074952.htm>;
- Wang, L., Li, Y., Yu, P., Xie, Z., Luo, Y. & Lin, Y. (2010). Biodegradation of phenol at high concentration by a novel fungal strain *Paecilomyces variotii* JH6. *Journal of Hazardous Materials*, 183, 366-371;
- Wasserman, G., Liu, X., Parvez, F., Factor-Litvak, P., Ahsan, H., Levy, D., Kline, J., Geen, A., Mey, J., Slavkovich, V., Siddique, A., Islam, T. & Graziano, J. (2011). Arsenic and manganese exposure and children's intellectual function. *NeuroToxicology*, 32, 450-457;
- Wright, R., Amarasiriwardena, C., Woolf, A., Jim, R. & Bellinger, D. (2006). Neuropsychological correlates of hair arsenic, manganese, and cadmium levels in school-age children residing near a hazardous waste site. *NeuroToxicology*, 27, 210-216;
- Yamanaka, H., Barbosa, F., Bettiol, N., Tamdjian, R., Fazenda, J., Bonfim, G., Furlaneti, F., Silva, L., Martins, J., Sicolin, A. & Beger, R. (2008). *Guia Técnico Ambiental Tintas e Vernizes*. Recuperado em 4 de Setembro, 2011, em: <http://www.crq4.org.br/downloads/tintas.pdf>;
- Zielecka, M., Bujnowska, E., Kępska, B., Wenda, M. & Piotrowska, M. (2011). Antimicrobial additives for architectural paints and impregnates. *Progress In Organic Coatings*, 72, 193-201.

ANEXOS

ANEXO I – NORMAS DE HARMONIZAÇÃO AO ABRIGO DA DIRECTIVA 2009/48/CE

REFERÊNCIA DA NORMA	TÍTULO DA NORMA
EN 71-1:2005	<i>Segurança de Brinquedos – Parte 1: Propriedades mecânicas e físicas</i>
EN 71-2:2006	<i>Segurança de Brinquedos – Parte 2: Inflamabilidade</i>
EN 71-3:1994	<i>Segurança de Brinquedos – Parte 3: Migração de determinados elementos</i>
EN 71-4:1990	<i>Segurança de Brinquedos – Parte 4: Estojos de experiências químicas e actividades conexas</i>
EN 71-5:1993	<i>Segurança de Brinquedos – Parte 5: Jogos químicos excluindo os estojos de experiências químicas</i>
EN 71-6:1994	<i>Segurança de Brinquedos – Parte 6: Símbolos gráficos para colocação de aviso de idade</i>
EN 71-7:2002	<i>Segurança de Brinquedos – Parte 7: Pinturas com os dedos – Requisitos e métodos de ensaio</i>
EN 71-8:2003	<i>Segurança de Brinquedos – Parte 8: Baloços, escorregas e brinquedos para actividades similares para uso doméstico no interior ou exterior</i>

ANEXO II – FICHA DE DIAGNÓSTICO

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DE TINTAS
DIDÁCTICAS DO ENSINO PRÉ-ESCOLAR**

FICHA DE DIAGNÓSTICO

ELABORADO POR: ANDREIA REBELO