

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**Diferentes estratégias espectroanalíticas para a determinação de metais em cosméticos**

Érica Ferreira Batista\*

Tese apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de DOUTOR EM CIÊNCIAS, área de concentração: QUÍMICA ANALÍTICA.

**Orientador:** Prof. Dr. Edenir Rodrigues Pereira Filho

\*bolsista FAPESP

**São Carlos – SP**

**2015**

Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da Biblioteca Comunitária UFSCar  
Processamento Técnico  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

B333d      Batista, Érica Ferreira  
            Diferentes estratégias espectroanalíticas para a  
determinação de metais em cosméticos / Érica Ferreira  
Batista. -- São Carlos : UFSCar, 2015.  
            81 p.

            Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São  
Carlos, 2015.

            1. Análise de cosméticos. 2. Metais tóxicos. 3.  
LIBS. 4. ICP OES. 5. Ferramentas quimiométricas. I.  
Título.

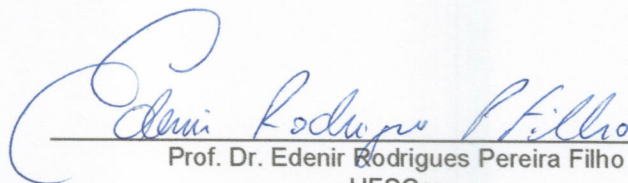


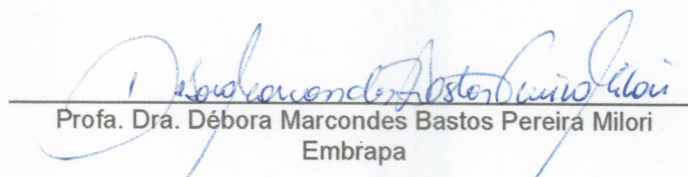
---


**Folha de Aprovação**

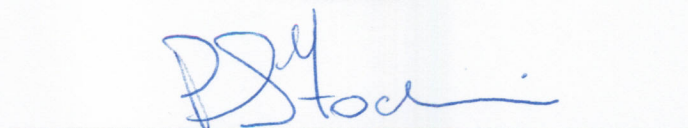
---

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Tese de Doutorado da candidata Érica Ferreira Batista, realizada em 22/10/2015:

  
Prof. Dr. Edenir Rodrigues Pereira Filho  
UFSCar

  
Profa. Dra. Débora Marcondes Bastos Pereira Milori  
Embrapa

  
Profa. Dra. Alessandra Sussulini  
UNICAMP

  
Prof. Dr. Pedro Sergio Fadini  
UFSCar

  
Profa. Dra. Ana Rita de Araujo Nogueira  
Embrapa

**"Deus é que tem  
sabedoria e poder; a Ele  
pertencem o conselho e  
o entendimento."**

**Jó 12:13**

**À minha família pelo  
amor incondicional por  
não medirem esforços  
para que eu chegasse  
até aqui.**

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus por me conceder graça, força e sabedoria para a realização desse trabalho.

Ao Prof. Dr. Edenir Rodrigues Pereira Filho pela orientação, confiança e amizade durante todos esses anos de convívio.

À Prof. Dra. Ana Rita de Araújo Nogueira e ao Prof. Dr. Joaquim de Araújo Nóbrega pelos ensinamentos e sugestões concedidos nas reuniões de grupo.

À Msc. Amanda dos Santos Augusto pelo companheirismo e participação durante a realização desse trabalho.

A todos os companheiros de trabalho, colegas do GAIA pelos anos de convivência.

A todos os professores do Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos que contribuíram para minha formação acadêmica.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de São Carlos pela oportunidade.

Aos membros da banca por aceitarem o convite para participar da avaliação desta tese de doutorado.

À Fundação de amparo à pesquisa do estado de São Paulo pela bolsa regular (FAPESP 2012/10680-6) e de doutorado sanduíche concedida (FAPESP 2014/04251-0)

A todos que de alguma maneira contribuíram para o desenvolvimento desse trabalho.

**Muito Obrigada**

## LISTA DE ABREVIATURAS

ABDI - Associação Brasileira de Desenvolvimento Industrial

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

BEC - concentração equivalente ao sinal de fundo, do inglês *background equivalent concentration*

CV AAS - espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio, do inglês *cold vapor atomic absorption spectrometry*

*D* – desejabilidade global

*di* – desejabilidade individual

ET AAS - espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica, do inglês *electrothermal atomic absorption spectrometry*

F AAS - espectrometria de absorção atômica em chama, do inglês *flame atomic absorption spectrometry*

FDA - *Food and Drug Administration*

FPS - fator de proteção solar

FS F AAS - espectrometria de absorção atômica em chama sequencial rápida, do inglês *fast sequential flame atomic absorption spectrometry*

GF AAS - espectrometria de absorção atômica com forno de grafite, do inglês *graphite furnace atomic absorption spectrometry*

HPPC - higiene pessoal, perfumes e cosméticos

ICD - distância interclasse, do inglês *interclass distance*

ICP OES - espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente, do inglês *inductively coupled plasma optical emission spectrometry*

ICP-MS - espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente, do inglês *inductively coupled plasma mass spectrometry*

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia

IUPAC - União Internacional de Química Pura e Aplicada, do inglês *International Union of Pure and Applied Chemistry*

KNN - K-ésimo vizinho mais próximo, do inglês *K-Nearest Neighbor*

LA-ICP OES - espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente após ablação a laser, do inglês *laser ablation- inductively coupled plasma optical emission spectrometry*

LIBS - espectroscopia de emissão com plasma induzido por laser, do inglês *Laser-induced breakdown spectroscopy*

LOD – limite de detecção, do inglês *limit of detection*

LOQ – limite de quantificação, do inglês *limit of quantification*

NIOSH - Instituto Nacional de Segurança e Saúde Ocupacional, do inglês *National Institute for Occupational Safety and Health*

PC - componente principal, do inglês *principal component*

PCA - análise de componentes principais, do inglês *principal component analysis*

PFA - perfluoroalcóxido

PTFE - Politetrafluoretileno

RSD - desvio padrão relativo, do inglês *Relative Standard Deviation*

SIMCA - modelagem de classes por componentes principais, do inglês *Soft-Independent Modelling of Class Analogy*

SNR - razão sinal-ruído, do inglês *signal-to-noise ratio*

UV - ultravioleta

XRF - espectrômetro de fluorescência de raio-X , do inglês *X-ray fluorescence*



## LISTA DE TABELAS

TABELA 1.3.1 - Programa de aquecimento utilizado na determinação de Pb em GF AAS .....	10
TABELA 1.3.2 - Programa de aquecimento utilizado para a digestão das amostras de sombra em forno micro-ondas empregando HF .....	12
TABELA 1.4.1 - Planejamento fatorial completo ( $2^3$ ) para a otimização do preparo das amostras de sombra .....	13
TABELA 1.4.2 - Valores de Desejabilidade Global para as amostras de sombra .....	15
TABELA 1.4.3 - Valores dos efeitos calculados a partir da desejabilidade global .....	16
TABELA 1.4.4 - Condições selecionadas para o preparo das amostras de sombra .....	16
TABELA 1.4.5 - Planejamento fatorial completo ( $2^3$ ) para as amostras de batom .....	17
TABELA 1.4.6 - Valores de Desejabilidade Global para as amostras de batom .....	18
TABELA 1.4.7 - Condições selecionadas para o preparo das amostras de batom .....	18
TABELA 1.4.8 - Variáveis e níveis estudados na otimização do ICP OES .....	19
TABELA 1.4.9 - Planejamento fatorial fracionário $2^{9-5}$ .....	19
TABELA 1.4.10 - Comprimentos de onda selecionados para a otimização dos parâmetros instrumentais do ICP OES .....	20
TABELA 1.4.11 - Valores de desejabilidade global para os modos axial e radial .....	22
TABELA 1.4.12 - Valores de desejabilidade global combinando ambos os modos (axial e radial) .....	23
TABELA 1.4.13 - Matriz de dados para as respostas normalizadas (0 – 1) em termos de recuperação .....	27
TABELA 1.4.14 - Matriz de dados para as respostas normalizadas (0 - 1) em termos de LOQ .....	28
TABELA 1.4.15 - Parâmetros analíticos obtidos para a determinação de Cd, Co, Cr, Cu, Ni e Pb para as amostras de sombra .....	31
TABELA 1.4.16 - Parâmetros analíticos obtidos para a determinação de Cd, Co, Cr, Cu, Ni e Pb para as amostras de batom .....	32
TABELA 1.4.17 – Valores de concentração e recuperação de Cd, Co, Cr, Cu, N e Pb obtidos para as amostras de sombra (n = 3) .....	35
TABELA 1.4.18 - Valores de concentração e recuperação de Cd, Co, Cr, Cu, N e Pb obtidos para as amostras de batom (n = 3) .....	36
TABELA 1.4.19 - Comparação entre métodos para as amostras de sombra .....	38
TABELA 1.4.20 - Comparações entre análises para as amostras de sombra .....	38

TABELA 2.3.1 – Resumo dos parâmetros obtidos nas determinações de Cd, Co, Cr, Cu, Ni por ICP OES e Pb por GF AAS em amostras de sombra e batom.....	47
TABELA 2.4.1 - Planejamento fatorial completo com triplicata no ponto central para a otimização dos parâmetros LIBS.....	49
TABELA 2.4.2 – Resultados obtidos para os modelos KNN e SIMCA para as amostras de sombra e batom.....	56
TABELA 3.3.1 – Características dos equipamentos utilizados na análise de protetor solar .....	61
TABELA 3.4.1 - Planejamento fatorial fracionário $2^{4-1}$ para otimização dos parâmetros instrumentais do J-200 .....	64
TABELA 3.4.2 - Planejamento fatorial fracionário $2^{4-1}$ para otimização dos parâmetros instrumentais do RT100HP .....	64
TABELA 3.4.3 - Planejamento fatorial fracionário $2^{4-1}$ para otimização dos parâmetros instrumentais do LA-ICP OES .....	65
TABELA 3.4 4 - Valores de desejabilidades global .....	66
TABELA 3.4 5 - Condições otimizadas de trabalho para o LIBS J-200, RT100HP e LA-ICP OES .....	67
TABELA 3.4.6 – Comprimentos de onda selecionados para os LIBS J-200, RT100HP e LA-ICP OES .....	68
TABELA 3.4.7 - Concentração e recuperação dos analitos determinados por ICP OES, F AAS e XRF .....	74

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.4.1 - Gráfico de contraste para as variáveis e suas interações, na otimização dos parâmetros do ICP OES. ....	24
FIGURA 1.4.2 - Planejamentos Doehlert e Composto Central utilizados para a ajuste fino dos parâmetros do ICP OES. ....	25
FIGURA 1.4.3 - Gráfico de (a) Scores e (b) Loadings da PC1 x PC2 em termos de recuperação. ....	29
FIGURA 1.4.4 - Gráfico de (a) Scores e (b) Loadings da PC1 x PC2 em termos de LOQ.....	30
FIGURA 1.4.5 - Gráfico de (a) Scores e (b) Loadings para as amostras de sombra e batom. ....	39
FIGURA 2.4.1 - Gráfico de (a) Scores e (b) Loadings dos experimentos realizados no LIBS. ....	50
FIGURA 2.4.2- Espectro de emissão típico para amostra de (a) sombra e (b) batom obtidos pelo LIBS. ....	51
FIGURA 2.4.3 - Gráfico de Loadings dos resultados obtidos das amostras de batom e sombra por LIBS. ....	53
FIGURA 2.4.4 - Gráfico de Scores dos resultados obtidos das amostras de batom e sombra por LIBS. ....	54
FIGURA 3.4.1 - Esquema utilizado para calcular a média do perfil obtido nas análises por LIBS. ....	68
FIGURA 3.4.2 – Gráfico de Scores para as análises com e sem introdução de Ar...69	
FIGURA 3.4.3 - Gráfico de Scores para o (a) LIBS J-200, (c) LIBS RT100HP, (e) LA-ICP OES e Loadings (b) LIBS J-200, (d) LIBS RT100HP, (f) LA-ICP OES para as amostras de protetor solar, utilizando a média do perfil. ....	70
Figura 3.4.4 - Esquema utilizado para calcular a altura do sinal obtido nas análises por LIBS. ....	71
FIGURA 3.4.5 - Gráfico de Scores utilizando altura do sinal para o (a) LIBS J-200, (c) LIBS RT100HP e Loadings (b) LIBS J-200, (d) LIBS RT100HP para as amostras de protetor solar. ....	72
FIGURA 3.4.6 - Gráfico de Scores para o (a) LIBS J-200 e (b) LIBS RT100HP, representando as amostras e os brancos (lâminas de vidro). ....	73
FIGURA 3.4.7 - Perfil dos sinais obtidos pelo LIBS J-200 e RT100HP. ....	75

## RESUMO

DIFERENTES ESTRATÉGIAS ESPECTROANALÍTICAS PARA A DETERMINAÇÃO DE METAIS EM COSMÉTICOS. Nesta tese foram desenvolvidos procedimentos para a determinação de metais em cosméticos, empregando as técnicas ICP OES, GF AAS, LIBS e LA-ICP OES, além de explorar as potencialidades das ferramentas quimiométricas. Para a determinação de Cd, Co, Cr, Cu e Ni por ICP OES e Pb por GF AAS em amostras de sombra e batom, foi desenvolvido um método de preparo de amostra empregando ácido nítrico diluído e um bloco digestor. Para a otimização dos parâmetros químicos do preparo de amostra e dos parâmetros operacionais do ICP OES, utilizou-se planejamentos fatoriais e para o tratamento dos dados e seleção das melhores condições de trabalho, foram empregadas as funções de desejabilidades. No total, foram analisadas 30 amostras de cosméticos (21 amostras de sombra e 9 amostras de batom), de diferentes cores, marcas e provenientes de diferentes países (Brasil, EUA e China). Essas amostras foram analisadas em triplicata e com a adição de padrão para realização dos cálculos de recuperação. As amostras analisadas apresentaram concentrações de Cd e Pb dentro dos limites estabelecidos pelas legislações, entretanto, 7 amostras de sombra apresentaram concentrações de Cr e Ni superiores a  $5 \mu\text{g g}^{-1}$ . No caso das amostras de batom, todos os valores estavam abaixo desse limite seguro. As amostras analisadas por ICP OES e GF AAS também foram analisadas, sem o tratamento prévio das amostras, por LIBS. Os valores adquiridos nas análises quantitativas foram empregados no desenvolvimento de modelos de classificação supervisionados, como o KNN e o SIMCA. Para a construção desses modelos, foram incluídos os dados de amostras de cosméticos infantis. As classes consideradas nos modelos foram: acima e abaixo da legislação, com um limite estipulado em  $5 \text{ mg kg}^{-1}$ , segundo as recomendações de trabalhos disponíveis na literatura. Além das análises das amostras de sombra e batom, foram exploradas as potencialidades das técnicas LIBS e LA-ICP OES em conjunto com as ferramentas quimiométricas, para análises exploratórias das amostras de protetor solar. Os resultados foram obtidos por três equipamentos diferentes (dois LIBS e um LA-ICP OES) e vários modelos empregando a análise de componentes principais (PCA) foram gerados. Os perfis dos sinais de Al, Ni, Ti e Zn foram analisados e os resultados obtidos para os três equipamentos foram semelhantes.

## ABSTRACT

**DIFFERENT SPECTROANALYTICAL STRATEGIES FOR THE DETERMINATION OF METALS IN COSMETICS.** In this work, it was developed a procedure for the determination of metals in cosmetics, employing the techniques ICP OES, GF AAS, LIBS and LA-ICP OES; in addition, it was explored the potential of chemometric tools. For the determination of Cd, Co, Cr, Cu and Ni by ICP OES and Pb by GF AAS in eyeshadow and lipstick samples, it was developed a sample preparation method using diluted nitric acid and a hot block. For the optimization of chemical parameters of sample preparation and operating parameters of ICP OES, it was used factorial design and for data analysis and selection of the best working conditions, the desirability functions were employed. In total, it was analyzed 30 samples of cosmetics (21 eyeshadow and 9 lipstick), of different colors, brands and from different countries (Brazil, USA and China). These samples were analyzed in triplicate and with standard addition to perform the recovery calculations. The analyzed samples showed concentration of Cd and Pb within the limits set by the laws, however, 7 eyeshadow samples had concentration of Cr and Ni above than 5 g g<sup>-1</sup>. In the case of lipstick samples, all values were below this safe limit. All samples analyzed by ICP OES and GF AAS were also analyzed without sample pretreatment by LIBS. The values obtained in the quantitative analysis were employed in the development of supervised classification models such as the KNN and SIMCA. For the obtainment of these models, data of children's cosmetics samples were included. The classes considered in the models were: below and above the legislation, with a limit set at 5 mg kg<sup>-1</sup>, according to the recommendations in the literature. In addition to analysis of eyeshadow and lipstick samples, it was explored the potential of the techniques LIBS and LA-ICP OES along with chemometric tools for exploratory analysis of sunscreen samples. The results were obtained for three different equipment (two LIBS and one LA-ICP OES), and several models employing principal component analysis (PCA) were generated. The signals profile of Al, Ni, Ti, and Zn were analyzed and the results obtained between the three equipment were similar.

## SUMÁRIO

MOTIVAÇÃO.....	1
Determinação de Cd, Co, Cr, Cu, Ni e Pb em amostras de sombra e batom empregando ICP OES e GF AAS.....	3
1.1 - Introdução .....	4
1.2 – Objetivo específico .....	9
1.3 – Materiais e Métodos .....	9
1.3.1 – Amostras .....	9
1.3.2 – Reagentes e Soluções .....	9
1.3.3 – Equipamentos e acessórios .....	10
1.3.4 – Preparo das amostras .....	11
1.3.4.1 – Preparo das amostras de sombra em bloco digestor.....	11
1.3.4.2 – Preparo das amostras de batom em bloco digestor.....	11
1.3.4.3 – Preparo das amostras de sombra em forno micro-ondas .....	12
1.4 – Resultados .....	12
1.4.1 - Otimização das condições do preparo das amostras de sombra.....	12
1.4.2 - Otimização das condições do preparo das amostras de batom.....	16
1.4.3 - Otimização dos parâmetros instrumentais do ICP OES .....	18
1.4.4 - Parâmetros Analíticos .....	30
1.4.5 - Determinação de Cd, Co, Cr, Cu, Ni e Pb nas amostras de sombra e batom .....	34
1.4.6 – Determinação de Cd, Co, Cr, Cu e Ni nas amostras de sombra digeridas por radiação micro-ondas .....	37

1.4.7 - Análise exploratória das amostras de sombra e batom .....	38
1.5 - Conclusão parcial.....	39
Uso da Espectroscopia de emissão com plasma induzido por laser (LIBS) e estratégias multivariadas para a caracterização de amostras de sombra e batom ...	41
2.1 – Introdução .....	42
2.2 – Objetivo específico .....	46
2.3 – Materiais e Métodos .....	46
2.3.1 – Amostras .....	46
2.3.2 – Equipamentos e acessórios .....	47
2.4 – Resultados .....	48
2.4.1 – Otimização dos parâmetros instrumentais do LIBS .....	48
2.5 - Conclusão parcial.....	56
Emprego da Espectroscopia de emissão com plasma induzido por laser (LIBS) e Espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente após ablação com laser (LA-ICP OES) para análise de protetor solar .....	57
3.1 – Introdução .....	58
3.2 – Objetivo específico .....	60
3.3 – Materiais e Métodos .....	60
3.3.2 – Reagentes e Soluções .....	60
3.3.3 – Equipamentos e acessórios .....	61
3.3.4 – Preparo das amostras .....	62
3.4 – Resultados .....	62
3.4.1 – Otimização dos parâmetros instrumentais do LIBS e LA-ICP OES .....	62

3.4.2 – Análise exploratória dos elementos em cosméticos.....	67
3.5 - Conclusão parcial.....	76
Considerações finais .....	77
Referências .....	78



## MOTIVAÇÃO

Com o crescente desenvolvimento científico dos últimos séculos, as necessidades básicas como alimentação, saúde e vestuário, de grande parte da população humana, têm sido melhor atendidas, resultando em um aumento significativo na qualidade de vida. Com esse desenvolvimento, com o aumento da renda e da longevidade da população, homens e mulheres estão dedicando muito mais tempo, recursos e esforços ao cultivo da higiene pessoal e da melhor aparência possível ao longo de sua vida.

Hoje, a indústria de cosméticos é extremamente importante dentro da economia de grande parte dos países mais desenvolvidos, dentre os quais inclui o Brasil, que desde 2006, segundo a Associação Brasileira de Desenvolvimento Industrial (ABDI), ocupa a terceira colocação no mercado consumidor mundial de cosméticos, sendo superado apenas pelos Estados Unidos da América e China<sup>1</sup>.

Existe um grande investimento industrial na área cosmética, para o aperfeiçoamento de formulações e melhoria do desempenho dos produtos. Além disso, nos últimos anos, tem ocorrido uma crescente preocupação com relação à contaminação dos cosméticos por elementos tóxicos, com a pureza dos componentes presentes nas formulações e com os possíveis efeitos nocivos que estas substâncias podem provocar. Desta forma, vários países apresentam legislações que estipulam os limites dos elementos contaminantes presentes em cosméticos<sup>2</sup>.

Diante deste contexto e da atual necessidade de desenvolvimento de métodos analíticos rápidos e com sensibilidade que atendam às legislações existentes, esta tese de doutorado tem como objetivo principal a determinação de Cd, Co, Cr, Cu, Ni e Pb em amostras de cosméticos. Além disso, foram empregadas ferramentas quimiométricas para análise exploratória dos dados, com o intuito de verificar o perfil das amostras com relação à concentração dos analitos.

Para melhor apresentação e compreensão dos estudos realizados, esta tese está organizada em três capítulos constituídos por: introdução, objetivos específicos, materiais e métodos, resultados e discussão e conclusão parcial. As referências estão apresentadas no final da tese.

No Capítulo 1 foi descrito o procedimento desenvolvido e os resultados obtidos para a determinação de Cd, Co, Cr, Cu e Ni por espectrometria de emissão

óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES, do *inglês inductively coupled plasma optical emission spectrometry*) e Pb por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS, do inglês *Graphite furnace atomic absorption spectrometry*), em amostras de sombra e batom.

No Capítulo 2 foi apresentado o procedimento desenvolvido e os resultados obtidos para análises realizadas por espectroscopia de emissão com plasma induzido por laser (LIBS, do inglês *Laser-induced breakdown spectroscopy*) em amostras de sombra e batom.

Por fim, no Capítulo 3 foram apresentados os estudos realizados com protetor solar e análises por LIBS e espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente após ablação a laser (LA-ICP OES, do inglês *laser ablation-inductively coupled plasma optical emission spectrometry*), durante o estágio no exterior realizado na Universidade Internacional da Flórida, no Instituto internacional de pesquisa forense, com a colaboração do professor Dr. José R. Almirall.

# **Capítulo 1**

---

**Determinação de Cd, Co, Cr, Cu, Ni e Pb em amostras de  
sombra e batom empregando ICP OES e GF AAS**

## 1.1 - Introdução

Os cosméticos são utilizados diariamente por milhões de consumidores, não apenas com o intuito de embelezamento, mas também de higiene pessoal e proteção. Esses produtos, geralmente, são aplicados diretamente à pele humana que pode estar sendo exposta a determinados elementos causadores de efeitos locais na pele, tais como irritação, sensibilização, alergia ou fotorreações.

As matérias-primas usadas em cosméticos normalmente são inócuas para a saúde, entretanto alguns produtos possuem em sua composição elementos metálicos, que são comumente empregados para o bloqueio da radiação ultravioleta e como pigmentos inorgânicos para conferir cor aos produtos<sup>3</sup>.

Geralmente, os pigmentos inorgânicos são óxidos de metais, como o óxido de ferro, dióxido de titânio, pó de cobre, óxido ou hidrato de cromo, entre outros. Além de diversas cores, existe também uma variedade grande de aparência da superfície. Assim, no caso de sombras para olhos, para uma textura da superfície opaca, é adicionado dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>), enquanto que para um brilho perolado, é adicionado oxiclreto de bismuto (BiOCl), mica ou extrato de escama de peixe<sup>4,5</sup>.

Esses compostos inorgânicos utilizados na formulação de alguns cosméticos podem arrastar como impurezas elementos tóxicos como Cd, Co, Cr, Ni e Pb<sup>3</sup>. Além disso, esses elementos e seus compostos podem ser solúveis em água e suor e serem parcialmente absorvidos pela pele, podendo causar alergia ou apresentar risco carcinogênico quando em concentrações elevadas e a longo prazo<sup>3,6</sup>.

Os metais são causadores bem reconhecidos de dermatite de contato alérgica, sendo que os principais envolvidos nesta patologia são, por ordem de incidência, Ni, Co e Cr, tomados isoladamente ou em sua associação<sup>7</sup>.

Segundo o Instituto Nacional de Segurança e Saúde Ocupacional (NIOSH, do inglês *National Institute for Occupational Safety and Health*), o Cd foi classificado como carcinogênico e sua exposição cutânea pode causar dermatite irritante, enquanto que o Pb danifica os sistemas renal, hematopoiético e nervoso<sup>8</sup>.

O uso industrial de substâncias químicas está sujeito a normas de órgãos reguladores. No Brasil, os cosméticos precisam ser registrados na ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) e nos Estados Unidos, o órgão controlador governamental é a FDA (do inglês *Food and Drug Administration*), cujas

normas são frequentemente adotadas em outros países. Essas normas são baseadas em estudos de cada substância com respeito à sua toxicidade para o homem, animais e meio ambiente, a curto e em longo prazo, determinando quais são as substâncias inócuas e definindo limites para sua utilização na produção de alimentos, fármacos ou cosméticos.

De acordo com a ANVISA, Resolução nº 48 de 2006 com base na Lei 6.360/76, os compostos de As, Cd, Cr e Pb não podem ser utilizados na fabricação de produtos de higiene pessoal, perfumes e cosméticos (HPPC) e de acordo com a Resolução - RDC nº 39, de 30 de agosto de 2010, as impurezas máximas de elementos químicos permitidas para corantes orgânicos artificiais são de  $3 \text{ mg kg}^{-1}$  de As (expresso em  $\text{As}_2\text{O}_3$ ),  $500 \text{ mg kg}^{-1}$  de Ba (expresso como  $\text{BaCl}_2$ ) solúvel em ácido clorídrico  $0,001 \text{ mol L}^{-1}$ ,  $20 \text{ mg kg}^{-1}$  de Pb (expresso como Pb) e  $100 \text{ mg kg}^{-1}$  de outros elementos tóxicos<sup>9,10</sup>.

As normas americanas (FDA) classificam os aditivos para a coloração em duas principais categorias: os aditivos sujeitos à certificação (cores derivadas primariamente do petróleo ou obtidas sinteticamente a partir de compostos orgânicos) e os aditivos isentos de certificação, que são provenientes de fontes minerais, vegetais ou animais. Segundo o FDA, as impurezas máximas de elementos tóxicos permitidas para alguns aditivos sujeitos à certificação são de  $3 \text{ mg kg}^{-1}$  para As,  $15 \text{ mg kg}^{-1}$  para Cd,  $1 \text{ mg kg}^{-1}$  para Hg e  $20 \text{ mg kg}^{-1}$  para Pb<sup>11</sup>.

Na União Europeia, a principal legislação relacionada aos produtos cosméticos é o Regulamento (CE) nº 1223/2009, que lista uma série de substâncias proibidas nos produtos cosméticos, entre eles Cd e seus compostos, dicloreto de cobalto, sulfato de cobalto, benzenossulfonato de cobalto, cromo e seus sais, di-hidróxido de níquel, carbonato de níquel, níquel, sulfato de níquel, óxido de níquel, dissulfureto de triníquel, tetracarbonilníquel, chumbo e seus compostos<sup>12</sup>.

O Canadá segue a legislação Europeia, porém, através de estudos com amostras de cosméticos canadenses, foram estabelecidos limites para alguns metais no produto final. O limite máximo aceitável para Pb, As, Cd e Hg é 10, 3, 3 e 5 ppm, respectivamente<sup>13</sup>. A Alemanha também estabeleceu alguns limites no produto acabado e as concentrações máximas toleráveis são: 20, 5, 5, 10 e 1 ppm para Pb, Cd, As, Sb e Hg, respectivamente<sup>14</sup>.

Devido à importância da determinação de elementos tóxicos nesse tipo de amostra, a necessidade das análises nessa área vem crescendo a cada dia, e diversas aplicações têm sido desenvolvidas e apresentadas.

YAMADA et al.<sup>15</sup> em 1997 determinaram vários elementos por ICP OES em amostras de cosméticos vermelhos coletadas principalmente por raspagem de ossos humanos encontrados em escavações de alguns cemitérios no Japão. As amostras foram secas por 16 h a 80 °C e digeridas com HNO<sub>3</sub> por 2 h em frascos abertos, com posterior adição de HClO<sub>4</sub>. Elementos como Mg, Al, Si, P, S, Ca, Fe e Hg foram determinados e suas concentrações estavam na ordem de mg g<sup>-1</sup>. Já as concentrações de elementos como Mn, Se, Cu, Zn, Cd e Ba estavam na ordem de µg g<sup>-1</sup>.

Em 1999, SALVADOR et al.<sup>16</sup> determinaram Se, Zn e Cd em shampoo anticaspa. No preparo das amostras foram empregados dois métodos: um por via seca, empregando uma mufla e o outro por via úmida, utilizando radiação microondas e HNO<sub>3</sub> concentrado. As determinações de Se foram realizadas por ICP OES, no qual o limite de quantificação e o intervalo do desvio padrão relativo (RSD, do inglês *Relative Standard Deviation*) foram 0,11 mg L<sup>-1</sup> e 0,6 - 3,6%, respectivamente. Zinco e Cd foram determinados por espectrometria de absorção atômica por chama (F AAS, do inglês *flame atomic absorption spectrometry*), sendo que os limites de quantificação e RSD foram 0,078 mg L<sup>-1</sup> e 0,8 - 8,6 % e 0,09 mg L<sup>-1</sup> e 0,7 - 2,7 %, respectivamente. Os valores determinados de Se, Zn e Cd foram semelhantes ao valor rotulado e variaram de 0,105 a 1,48 %.

SAINIO et al.<sup>6</sup>, em 2000, determinaram As, Co, Cr, Ni e Pb em amostras de sombras para os olhos utilizando espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ET AAS, do inglês *electrothermal atomic absorption spectrometry*). Os autores analisaram amostras com 88 cores de 25 marcas. Para o preparo das amostras, foi realizada uma digestão ácida mediante a adição de uma mistura de HNO<sub>3</sub>:HCl (1:1) e aquecimento em banho de areia até a parcial secagem da solução. Após o resfriamento, foi feita uma nova adição da mistura ácida, seguida de aquecimento, até cessar a liberação de fumos ácidos. Os compostos inorgânicos foram em seguida solubilizados com HNO<sub>3</sub> em banho de ultrassom. Os valores de concentração encontrados variaram de acordo com as cores, sendo que 75 % das cores analisadas continham mais do que 5 mg kg<sup>-1</sup> de pelo menos um dos

elementos estudados. Entretanto, segundo os autores, as concentrações de As e Pb nas amostras podem ser consideradas seguras.

Em 2007, BOCCA et al.<sup>7</sup> determinaram Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ir, Mn, Ni, Pb, Pd, Pt, Rh, e V em cremes hidratantes para o corpo, empregando radiação micro-ondas para o preparo de amostras e ICP OES para as determinações. Para o preparo de amostra, foi empregado 1 g do creme hidratante e adicionado 5 mL de HNO<sub>3</sub> concentrado e 1 mL de HF. O limite de detecção do método desenvolvido foi menor que 0,8 ng g<sup>-1</sup> para todos os elementos, sendo que a precisão foi menor que 7 % e o intervalo de recuperação de 88 a 110 %. As concentrações de Ni variaram entre 17,5 a 153 ng g<sup>-1</sup> e para os demais elementos ficaram abaixo de 1 µg g<sup>-1</sup>. Três produtos analisados estavam com a concentração de Ni acima do rotulado.

LAVILLA et al.<sup>17</sup>, em 2009 determinaram As, Cd, Cr, Cu, Hg, Mg, Mn, Ni, Sr e Zn em shampoo, condicionador, gel para cabelo, hidratantes e óleos corporais. Para o preparo das amostras, foi empregada emulsificação assistida por ultrassom e para as determinações: ET AAS, ICP OES, CV AAS (do inglês *cold vapor atomic absorption spectrometry*), F AAS e para a comparação do método proposto foi usada a espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS, do inglês *inductively coupled plasma mass spectrometry*). Para a formação da suspensão foi utilizado 0,5 % m v<sup>-1</sup> de dodecil sulfato de sódio e 3 % v v<sup>-1</sup> de HNO<sub>3</sub> ou HCl e foram estudados parâmetros como tempo e amplitude de sonicação. Segundo os autores, em um nível de 95 % de confiança, não houve diferença significativa entre os métodos proposto e comparativo.

Em 2011, JIA et al.<sup>18</sup>, determinaram espécies de Hg presentes em amostras de cosméticos líquidos, utilizando microextração líquido-líquido e cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à ICP-MS. Os limites de detecção obtidos foram de 1,3 ng L<sup>-1</sup> para Hg<sup>2+</sup>, 7,2 ng L<sup>-1</sup> para MeHg<sup>+</sup> e 5,4 ng L<sup>-1</sup> para EtHg<sup>+</sup>, respectivamente. Os valores das espécies de Hg encontradas em hidratante para as mãos e loção refrescante variaram de 0,010 a 0,115 ng L<sup>-1</sup>.

Em 2012, VOLPE et al.<sup>4</sup> determinaram Cd, Co, Cr, Ni e Pb em sombras para os olhos, provenientes da China, Itália e Estados Unidos da América. Neste trabalho, os autores verificaram que as amostras provenientes da China possuíam concentrações de Pb de 11 a 140 vezes maiores que aquelas encontradas nas amostras fabricadas na Itália e nos Estados Unidos da América, sendo que cinco

dessas amostras possuíam concentração de Pb superior à permitida pela FDA em alguns aditivos para a coloração.

Em 2013, SOARES et al.<sup>19</sup> determinaram Pb em amostras de batom, empregando solubilização alcalina e GF AAS. Para o preparo da amostra, foi empregado 460 µL de hidróxido de tetrametilamônio (TMAH) seguido de 60 minutos de aquecimento a 60 °C em banho termostaticado. Com o intuito de comparar os resultados obtidos com o preparo de amostra proposto, foi realizada uma digestão ácida utilizando radiação micro-ondas em frascos fechados. Assim, foram utilizados 300 mg de amostra, 5 mL de HNO<sub>3</sub> e 2 mL de HF. De acordo com os autores, não houve diferença significativa entre o método de preparo de amostra proposto e a digestão ácida. Ao todo foram analisadas 22 amostras de batons, sendo que Pb foi detectado em 21 delas, na faixa de 0,27 a 4,54 µg g<sup>-1</sup>.

No mesmo ano, SA LIU et al.<sup>20</sup> determinaram Al, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Pb, Ni, e Ti em 32 amostras de batons, utilizadas por mulheres asiáticas em Oakland, Califórnia. As análises foram feitas por ICP OES e o preparo das amostras seguiu o padrão estipulado pelo NIOSH (Método 7303: aquecimento com Bloco digestor/HCl/HNO<sub>3</sub>) com ligeiras modificações. Dessa forma, os autores utilizaram aproximadamente 0,5 g de cada amostra, adicionaram 2,0 mL de HNO<sub>3</sub> concentrado e aqueceram a 130 ° C em um bloco digestor durante 15 horas, com os tubos cobertos com funis de vidro para permitir o refluxo do HNO<sub>3</sub> durante a digestão. As amostras foram diluídas para 12,5 mL com água destilada e filtradas para remover o material que não se dissolveu completamente. Segundo os autores, a maioria dos produtos testados continham concentrações elevadas de Al e Ti. O Pb foi detectado em 75% das amostras analisadas, com uma concentração média de 0,36 ± 0,39 ppm, incluindo uma amostra com 1,32 ppm.

BOCCA et al.<sup>8</sup> determinaram Cd, Co, Cr, Ni e Pb em amostras de pó facial. Para isso eles digeriram 0,08 – 0,12 g da amostra e adicionaram 4 mL de HNO<sub>3</sub> concentrado, 0,5 mL de HF e 2 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. A digestão foi realizada utilizando radiação micro-ondas e as determinações foram feitas utilizando um ICP-MS de alta resolução. Os valores determinados na amostra de pó facial foram de 0,026 ± 0,009 mg kg<sup>-1</sup> para Cd; 1,61 ± 0,60 mg kg<sup>-1</sup> para Co, 3,00 ± 1,88 mg kg<sup>-1</sup> para Cr, 6,87 ± 2,53 mg kg<sup>-1</sup> para Ni e 0,25 ± 0,09 mg kg<sup>-1</sup> para Pb.



## 1.2 – Objetivo específico

Determinar Cd, Co, Cr, Cu e Ni por ICP OES e Pb por GF AAS em amostras de sombra e batons de diferentes cores e origens, após a mineralização empregando HNO<sub>3</sub> diluído.

Além disso, otimizar os parâmetros instrumentais e químicos para a análise exploratória dos dados obtidos.

## 1.3 – Materiais e Métodos

### 1.3.1 – Amostras

Para o desenvolvimento deste capítulo, foram utilizadas 21 amostras de sombra de 6 marcas diferentes, 4 cores (azul, laranja, preta e rosa) e 3 países de origem (EUA, Brasil e China); e 9 amostras de batom de 3 marcas diferentes, 3 cores (cobre, rosa e vermelha) e 3 países de origem (EUA, Brasil e China). Todas as amostras foram adquiridas no comércio local e a faixa de preço variou entre 5 a 40 reais.

### 1.3.2 – Reagentes e Soluções

Em todos os experimentos foram empregados reagentes de grau analítico e para o preparo das soluções, água deionizada (resistividade de 18,2 ΩM cm<sup>-1</sup>) foi produzida utilizando um equipamento Milli-Q<sup>®</sup> Plus Total Water System (Millipore Corp., Bedford, MA, EUA). Os materiais empregados nesse trabalho foram descontaminados em banho de HNO<sub>3</sub> 10 % (v v<sup>-1</sup>) por um período de 24 h e posteriormente enxaguados com água deionizada e para a secagem, o material foi deixado em capela de fluxo laminar (Veco, Campinas, SP, Brasil).

Para a mineralização das amostras, utilizou-se H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30% m m<sup>-1</sup>) (Synth, Diadema, SP, Brasil), HNO<sub>3</sub> (Synth) previamente purificado utilizando um sistema subboiling (Distillacid™BSB-939-IR, Berghof, Eningen, Alemanha) e Triton X-100 (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, EUA). Para o método comparativo do preparo da amostra, foi utilizado HF (40% v v<sup>-1</sup>) (Casa da Química, Diadema, SP, Brasil) e H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> (4% m v<sup>-1</sup>) (Mallinckrodt, Kentucky, EUA).

As soluções de calibração foram preparadas diariamente após sucessivas diluições das soluções padrão estoque de Cd, Co, Cr, Cu, Ni e Pb, de concentração 1000 mg L<sup>-1</sup> (Qhemis). As soluções de nitrato de magnésio (Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)

0,03 % m v<sup>-1</sup> (solução aquosa de 1000 mg L<sup>-1</sup> Merck, Darmstadt, Alemanha) e fosfato básico de amônio (NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) 0,5% m v<sup>-1</sup> (Mallinckrodt) foram utilizadas como modificador químico para a determinação de Pb por GF AAS.

### 1.3.3 – Equipamentos e acessórios

Para o preparo das amostras, foi utilizado um bloco digestor (Tecnal, Brasil), composto por 30 frascos de PFA (perfluoroalcoxi, Savillex, Minnetonka, EUA) e um forno micro-ondas (Speedwave four, Berghof, Alemanha) equipado com 12 frascos (TFM<sup>TM</sup>-PTFE) com volume interno de 100 mL (DAP-100). Na pesagem das amostras foi utilizada uma balança analítica (modelo AY 220, max. 220 g, resolução 0,1 mg, Shimadzu, Kyoto, Japão).

Um ICP OES (iCAP 6000, Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA) foi utilizado para a determinação de Cd, Co, Cr, Cu e Ni. Este instrumento permite a aquisição sequencial dos sinais analíticos nos modos axial e radial. Argônio 99,99% (White Martins-Praxair, Sertãozinho, SP, Brasil) foi utilizado em todas as medidas. Os parâmetros instrumentais foram estudados empregando um planejamento fatorial fracionário 2<sup>9-5</sup>.

Para as determinações de Pb, foi utilizado um GF AAS (iCE 3000 Series, Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA). O programa de aquecimento empregado seguiu as recomendações do fabricante e pode ser visualizado na Tabela 1.3.1.

TABELA 1.3.1 - Programa de aquecimento utilizado na determinação de Pb em GF AAS

	Temperatura (°C)	Tempo (s)	Rampa (°C s <sup>-1</sup> )	Fluxo do Gás* (L min <sup>-1</sup> )
Secagem	100	30	10	0,2
Pirólise	800	20	150	0,2
Atomização	1200	3	0	-
Limpeza	2500	3	0	0,2

\*Argônio

Para construção da curva analítica de calibração foram utilizados volumes variáveis do diluente e do padrão intermediário de Pb e 5 µL de modificador químico (solução de nitrato de magnésio e hidrogenofosfato de amônio), de forma que o volume final foi de 20 µL. No caso das amostras, utilizou-se 15 µL de amostra

e 5  $\mu\text{L}$  de modificador químico, totalizando também 20  $\mu\text{L}$ . Todas as medidas de absorvância integrada foram realizadas em triplicata.

Para a análise exploratória dos dados e a proposição de modelos de classificação, foi utilizado o programa computacional *Pirouette Multivariate Data Analysis Software*, versão 4.5 (Infometrix, Bothell, WA, EUA).

### **1.3.4 – Preparo das amostras**

#### **1.3.4.1 – Preparo das amostras de sombra em bloco digestor**

Para a mineralização das amostras de sombra, pesou-se 100 mg da amostra diretamente nos frascos de PFA e adicionou-se: 5 mL de  $\text{HNO}_3$  ( $2 \text{ mol L}^{-1}$ ), 2 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  ( $30\% \text{ m m}^{-1}$ ) e 1 mL de Triton X-100 ( $5\% \text{ m v}^{-1}$ ). Para o teste de adição e recuperação, foram adicionados volumes dos padrões dos elementos de interesse, de forma que as concentrações finais dos analitos, após as devidas diluições, foram: 40, 40, 700, 700, 200 e 80  $\mu\text{g L}^{-1}$ , para Cd, Co, Cr, Cu, Ni e Pb, respectivamente. As mineralizações foram feitas em triplicata sem e com a adição de padrão. Os frascos de PFA foram levados para aquecimento em bloco digestor com temperatura de  $100^\circ\text{C}$  durante 3 horas. Após resfriamento, a amostra mineralizada foi transferida para tubos tipo Falcon de 50 mL e o volume foi completado para 15 mL com água deionizada, apresentando assim, uma acidez final de  $0,67 \text{ mol L}^{-1}$ .

#### **1.3.4.2 – Preparo das amostras de batom em bloco digestor**

Para a mineralização das amostras de batom, pesou-se 250 mg da amostra diretamente nos frascos de PFA e adicionou-se: 5 mL de  $\text{HNO}_3$  ( $7 \text{ mol L}^{-1}$ ), 2 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  ( $30\% \text{ m m}^{-1}$ ) e 1 mL de Triton X-100 ( $25\% \text{ m v}^{-1}$ ). As mineralizações foram feitas em triplicata sem e com a adição de padrão. As adições de padrão foram feitas de modo que as concentrações finais dos analitos, após as devidas diluições, foram: 24, 24, 420, 420, 120 e 48  $\mu\text{g L}^{-1}$ , para Cd, Co, Cr, Cu, Ni e Pb, respectivamente.

Os frascos de PFA foram levados para aquecimento em bloco digestor com temperatura de  $100^\circ\text{C}$  durante 3 horas. Após resfriamento, a amostra mineralizada foi transferida para tubos falcon de 50 mL e o volume foi completado para 25 mL com água deionizada, apresentando assim, uma acidez final de  $1,4 \text{ mol L}^{-1}$ .

### 1.3.4.3 – Preparo das amostras de sombra em forno micro-ondas

Para o preparo da amostra de sombra empregando radiação micro-ondas, pesou-se 200 mg de uma sombra de coloração preta e adicionou-se 6 mL de  $\text{HNO}_3$  ( $14 \text{ mol L}^{-1}$ ), 2 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (30 %  $\text{m m}^{-1}$ ) e 2 mL de HF concentrado. Esse preparo de amostra foi proposto por CONTADO e PAGNONI<sup>21</sup>. O programa de aquecimento utilizado pode ser visualizado na Tabela 1.3.2.

TABELA 1.3.2 - Programa de aquecimento utilizado para a digestão das amostras de sombra em forno micro-ondas empregando HF

	Potência (W)	Temperatura (°C)	Rampa (min)	Tempo (min)
1	800	180	5	5
2	1400	210	5	30

Após o resfriamento dos frascos, o digerido foi transferido para tubos tipo Falcon de 50 mL, adicionou-se 24 mL de  $\text{H}_3\text{BO}_3$  (4%  $\text{m v}^{-1}$ ) e o volume foi completado para 50 mL com água deionizada. Para atingir a acidez final de 10% diluiu-se uma alíquota da amostra (1 mL de amostra para 10 mL de água).

## 1.4 – Resultados

### 1.4.1 - Otimização das condições do preparo das amostras de sombra

Antes do início das análises, é necessário converter a amostra em uma forma compatível com o sistema de introdução do instrumento selecionado para permitir uma calibração simples e efetiva. Geralmente, essa etapa é a mais laboriosa, que demanda muito tempo e esforço, além de ser a principal responsável pela introdução de erros<sup>22</sup>.

A abordagem analítica mais empregada para o preparo da amostra para a quantificação dos metais em cosméticos, na ausência de métodos oficiais, é uma digestão total, com  $\text{HNO}_3$  e HF concentrados<sup>7,8,23</sup>. No entanto, o uso de ácidos fortes e concentrados está em desacordo com a química verde, devido ao alto consumo de reagentes e a consequente geração de resíduos no laboratório<sup>24</sup>. Além disso, o uso de ácidos concentrados pode acarretar em sinais elevados de brancos e a necessidade de elevadas diluições das amostras antes das medidas, devido às restrições dos equipamentos com relação à concentração ácida.

Uma alternativa interessante e ambientalmente amigável é o uso de  $\text{HNO}_3$  diluído. A eficiência do uso de ácidos diluídos é o resultado do gradiente de temperatura dentro do frasco reacional durante as etapas iniciais da decomposição da amostra e devido à presença de uma atmosfera rica em oxigênio dentro do frasco fechado. O  $\text{HNO}_3$  é regenerado pela combinação das espécies de óxido nitroso e oxigênio presentes dentro do frasco. Entre as diversas vantagens estão: a redução dos resíduos gerados, menores sinais do branco e a menor diluição das amostras antes da introdução nos equipamentos<sup>24,25</sup>. Sendo assim, a utilização de ácidos diluídos para a mineralização de amostras cosméticas é de grande interesse e foi proposta nesta tese.

Os parâmetros estudados para o processo de otimização do preparo de amostra foram: concentração de  $\text{HNO}_3$ , massa da amostra e tempo de aquecimento. Para isso, empregou-se um planejamento fatorial completo  $2^3$ , totalizando 8 experimentos. Na Tabela 1.4.1 é possível verificar os experimentos realizados e a faixa de estudo com os valores reais e normalizados entre -1 e +1.

TABELA 1.4.1 - Planejamento fatorial completo ( $2^3$ ) para a otimização do preparo das amostras de sombra

Experimento	Massa (mg)		Concentração $\text{HNO}_3$ ( $\text{mol L}^{-1}$ )		Tempo (horas)	
	Norm.	Real	Norm.	Real	Norm.	Real
<b>1</b>	-1	100	-1	2	-1	1
<b>2</b>	+1	250	-1	2	-1	1
<b>3</b>	-1	100	+1	7	-1	1
<b>4</b>	+1	250	+1	7	-1	1
<b>5</b>	-1	100	-1	2	+1	3
<b>6</b>	+1	250	-1	2	+1	3
<b>7</b>	-1	100	+1	7	+1	3
<b>8</b>	+1	250	+1	7	+1	3

A temperatura do bloco digestor foi fixada em 100 °C e em todos os experimentos foram adicionados 2 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , como reagente oxidante auxiliar e 1 mL de Triton X-100 (5 %  $\text{m v}^{-1}$ ). A solução de Triton X-100 foi empregada como agente estabilizante, uma vez que as amostras de sombra (em pó) não se misturavam com a solução, permanecendo na superfície, devido ao pequeno tamanho das partículas e ao elevado valor de tensão superficial da água<sup>26</sup>. A amostra empregada para esse estudo foi uma amostra de sombra preta fabricada no Brasil.

Para obter uma condição de compromisso para todos os analitos, a resposta foi avaliada com relação às concentrações dos elementos. As análises foram realizadas em ICP OES, no modo axial e radial e um total de 12 respostas foram obtidas para cada experimento.

Como foram analisadas várias respostas simultaneamente, utilizou-se as funções de desejabilidade (função de DERRINGER-SUICH)<sup>27</sup> com o intuito de identificar uma condição única de preparo para todos os analitos. Para cada resposta foi calculada a desejabilidade individual ( $d_i$ ) para maximizar, pois o interesse era obter uma condição onde os valores de concentração eram os mais altos possíveis. Sendo assim, os resultados foram normalizados entre 0 (valor mais baixo) e 1 (valor mais alto) e o peso atribuído para cada analito foi igual a 1 (atribuindo a mesma importância a todos os analitos). Essa normalização foi realizada conforme a Equação 1:

$$d_i = \begin{cases} 0 & \text{se } y < L \\ \left(\frac{y-L}{T-L}\right)^s & \text{se } L \leq y \leq T \\ 1 & \text{se } y > T \end{cases} \quad \text{Equação 1}$$

No qual:

$y$  = resposta

$L$  = Menor valor aceitável

$T$  = Valor alvo

$s$  = peso

Se  $s = 1$ : a função é linear

Se  $s > 1$ : maior importância é dada aos valores próximos do alvo ( $T$ )

Posteriormente calculou-se, conforme a Equação 2, a desejabilidade global ( $D$ ), ou seja, a média geométrica de todas as desejabilidades individuais calculadas para os valores de concentração dos analitos, indicando a melhor condição de preparo de amostra na faixa estudada. Os valores da desejabilidade global podem ser visualizados na Tabela 1.4.2.

$$D = \sqrt[n]{d_1 \times d_2 \times \dots \times d_n} \quad \text{Equação 2}$$

TABELA 1.4.2 - Valores de Desejabilidade Global para as amostras de sombra

Experimentos	Valores de D		
	Axial (D1)	Radial (D2)	Axial e Radial (D)
1	0,62	0,64	0,63
2	0,44	0,47	0,46
3	0,88	0,83	0,85
4	0,71	0,77	0,74
5	0,95	0,89	0,92
6	0,85	0,88	0,86
7	0,93	0,93	0,93
8	0,90	0,96	0,93

Ao analisar os dados, observa-se que os experimentos 5, 7 e 8 possuem os maiores valores de desejabilidades global, entretanto, como esses valores foram muito próximos, selecionou-se as condições do experimento 5 para ser utilizado nos posteriores preparos. Tanto o experimento 7 quanto o experimento 8 apresentaram uma maior concentração ácida comparado ao experimento 5, o que influenciou na escolha desse experimento como o mais adequado, uma vez que, ao apresentar um valor mais baixo de concentração ácida, exigiria um fator de diluição consequentemente menor.

Além disso, com o intuito de confirmar a condição escolhida, utilizou-se os valores de desejabilidade global da Tabela 1.4.2 para calcular os efeitos e verificar quais as variáveis que mais influenciam sobre as respostas e o nível que devem ser selecionadas. Os efeitos foram calculados de acordo com a Equação 3:

$$Y = \overline{X_+} - \overline{X_-} \quad \text{Equação 3}$$

No qual:

$\overline{X_+}$  = Média das respostas no nível alto

$\overline{X_-}$  = Média das respostas no nível baixo

A Tabela 1.4.3 mostra os valores dos efeitos.

TABELA 1.4.3 - Valores dos efeitos calculados a partir da desejabilidade global

Variáveis e interações	Efeitos
23	-0,11
1	-0,09
123	0,00
12	0,03
13	0,06
2	0,15
3	0,24

Ao analisar os dados da Tabela 1.4.3, observa-se que variável 1 (massa) possui efeito negativo, devendo ser considerada no nível mais baixo, enquanto que as variáveis 2 (concentração) e 3 (tempo) possuem efeitos positivos, devendo ser consideradas nos níveis mais altos. Entretanto, a interação 23 possui efeito negativo, dessa forma, uma delas deveria estar no nível mais baixo. Relacionando com os resultados em termos de desejabilidade, a variável 2 no experimento 5 está no nível mais baixo, entretanto, como relatado anteriormente, a influência em relação à resposta foi baixa. Dessa forma, observa-se que os dados, tanto analisados em termos de desejabilidade como de efeitos, estão em concordância.

A Tabela 1.4.4 resume as condições selecionadas para o preparo das amostras de sombra.

TABELA 1.4.4 - Condições selecionadas para o preparo das amostras de sombra

Parâmetros	Condições
Massa da amostra (mg)	100
Concentração HNO <sub>3</sub> (mol L <sup>-1</sup> )	2
Volume de HNO <sub>3</sub> (mL)	5
Tempo de aquecimento (horas)	3
Volume de Triton X-100 (5% m V <sup>-1</sup> ) (mL)	1
Volume de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (mL)	2

### 1.4.2 - Otimização das condições do preparo das amostras de batom

Para a otimização do preparo das amostras de batom, realizou-se um planejamento fatorial completo 2<sup>3</sup> (8 experimentos), no qual as variáveis estudadas



foram: a concentração de  $\text{HNO}_3$ , a concentração de Triton X-100 e o tempo de aquecimento no bloco digestor. Na Tabela 1.4.5 é possível visualizar os experimentos realizados e a faixa de estudo com os valores reais e normalizados.

TABELA 1.4.5 - Planejamento fatorial completo ( $2^3$ ) para as amostras de batom

Experimento	Concentração de $\text{HNO}_3$ ( $\text{mol L}^{-1}$ )		Concentração de Triton X-100 ( $\% \text{ m v}^{-1}$ )		Tempo (horas)	
	Norm.	Real	Norm.	Real	Norm.	Real
1	-1	2	-1	25	-1	1
2	+1	7	-1	25	-1	1
3	-1	2	+1	50	-1	1
4	+1	7	+1	50	-1	1
5	-1	2	-1	25	+1	3
6	+1	7	-1	25	+1	3
7	-1	2	+1	50	+1	3
8	+1	7	+1	50	+1	3

A faixa de concentração de Triton X-100 estudada para as amostras de batom foi superior à faixa das amostras de sombra, pois as amostras de batom aderiam à superfície dos frascos, devido à maior carga orgânica. Dessa forma, o Triton X-100 foi utilizado para emulsionar as gorduras.

A temperatura do bloco digestor foi fixada em 100 C e em todos os experimentos foram utilizados 2 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e uma massa da amostra (batom vermelho proveniente da China) de 250 mg.

Para obter uma condição de compromisso, assim como no estudo anterior, analisou-se as respostas a partir das concentrações dos analitos, determinadas por ICP OES nos modos axial e radial. Ao todo foram obtidas 12 respostas para cada experimento e utilizou-se a função de desejabilidade individual para maximizar (Equação 1). Com os valores de  $d_i$  obtidos para cada analito, nos dois modos de visão (axial e radial), foram calculados os valores de desejabilidade global axial (D1) e radial (D2) (Equação 2). Posteriormente, fez-se a média geométrica desses dois valores (D) com o intuito de selecionar a melhor condição dentro da faixa de estudo. A Tabela 1.4.6 mostra os valores de desejabilidade global para cada experimento e em ambos os modos.

TABELA 1.4.6 - Valores de Desejabilidade Global para as amostras de batom

Experimentos	Valores de D		
	Axial (D1)	Radial (D2)	Axial e Radial (D)
1	0,00	0,44	0,00
2	0,93	0,75	0,83
3	0,00	0,29	0,00
4	0,19	0,35	0,25
5	0,18	0,48	0,29
6	0,97	0,81	0,89
7	0,17	0,43	0,27
8	0,15	0,00	0,00

Ao analisar os dados, observa-se que os experimentos 2 e 6 apresentaram os maiores valores de desejabilidade global. Esses experimentos possuem em comum as condições das variáveis: concentração de Triton X-100 (25% m v<sup>-1</sup>) e HNO<sub>3</sub> (7 mol L<sup>-1</sup>). Com relação ao tempo de aquecimento, optou-se por fixá-lo em 3 horas, uma vez que, visualmente, com relação à perda de pigmentação, o processo de mineralização foi mais eficiente. Para confirmar os resultados em termos de desejabilidade, calculou-se os efeitos empregando a Equação 3, e os dados obtidos estão em concordância.

A Tabela 1.4.7 resume as condições selecionadas para o preparo das amostras de batom.

TABELA 1.4.7 - Condições selecionadas para o preparo das amostras de batom

Parâmetros	Condições
Massa da amostra (mg)	250
Concentração de HNO <sub>3</sub> (mol L <sup>-1</sup> )	7
Volume de HNO <sub>3</sub> (mL)	5
Tempo de aquecimento (horas)	3
Volume de Triton X-100 (25% m V <sup>-1</sup> )	1
Volume de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (mL)	2

### 1.4.3 - Otimização dos parâmetros instrumentais do ICP OES

Com o intuito de analisar a influência dos parâmetros instrumentais do ICP OES na obtenção do sinal analítico, nove variáveis operacionais foram estudadas. Essas variáveis foram escolhidas de acordo com os parâmetros disponíveis no software de controle do equipamento e empregou-se um planejamento fatorial fracionário 2<sup>9-5</sup>. Na Tabela 1.4.8, pode-se visualizar as variáveis e os níveis estudados.



TABELA 1.4.10 - Comprimentos de onda selecionados para a otimização dos parâmetros instrumentais do ICP OES

<b>Analitos</b>	<b>Comprimentos de onda (nm)</b>		
Cd	214,438 (II)	226,502 (II)	228,802 (I)
Co	228,616 (II)	230,786 (II)	237,862 (II)
Cr	283,563 (II)	357,869 (I)	
Cu	221,810 (II)	224,700 (II)	324,754 (I)
Ni	221,556 (II)	231,604 (II)	341,476 (I)
Pb	182,205 (II)	216,999 (I)	220,353 (II)

I – Linha atômica

II – Linha iônica

Para determinar as melhores condições de trabalho, avaliou-se como respostas: os sinais de emissão dos analitos em cada experimento e o desvio padrão relativo (RSD), pois o intuito foi obter uma condição de altos sinais analíticos e com boa precisão (baixos valores de RSD). Para isso, foram registrados um total de 68 respostas: 34 sinais de emissão (axial e radial) e 34 valores de RSD.

Como foram analisadas várias respostas simultaneamente, utilizou-se as funções de desejabilidade com o intuito de identificar uma condição única de trabalho para todos os analitos e em ambos os modos de leitura (axial e radial).

Para os valores de sinais de emissão, calculou-se as desejabilidades individuais para maximizar, pois o interesse era obter uma condição onde esses valores eram os mais altos possíveis. Sendo assim, os resultados de emissão foram normalizados entre 0 (valor mais baixo) e 1 (valor mais alto), de forma que, independente da magnitude do sinal de emissão dos analitos, a importância de cada um, na seleção da condição experimental, era a mesma, uma vez que o peso atribuído para cada analito foi igual a 1. Essa normalização foi realizada conforme a Equação 1.

Para os valores de RSD, calculou-se as desejabilidades individuais para minimizar, no qual os valores também foram normalizados entre 0 (altos valores de RSD) e 1 (baixos valores de RSD) e o peso atribuído igual a 1, conforme a Equação 4:

$$d_i = \begin{cases} 1 & \text{se } y < T \\ \left( \frac{U - y}{U - T} \right)^t & \text{se } T \leq y \leq U \\ 0 & \text{se } y > U \end{cases} \quad \text{Equação 4}$$

No qual:

$y$  = resposta

$U$  = Maior valor aceitável

$T$  = Valor alvo

$t$  = peso

Se  $t = 1$ : a função é linear

Se  $t > 1$ : maior importância é dada aos valores próximos do alvo ( $T$ )

Posteriormente calculou-se, conforme a Equação 2, a desejabilidade global ( $D$ ), indicando a melhor condição de trabalho. Os valores de desejabilidade global podem ser visualizados na Tabela 1.4.11.

TABELA 1.4.11 - Valores de desejabilidade global para os modos axial e radial

Experimento	V1	V2	V3	V4	V5=1234	V6=123	V7=124	V8=134	V9=234	*D1	**D2
1	-1	-1	-1	-1	1	-1	-1	-1	-1	0,07	0,01
2	1	-1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	0,58	0,51
3	-1	1	-1	-1	-1	1	1	-1	1	0,14	0,03
4	1	1	-1	-1	1	-1	-1	1	1	0,42	0,42
5	-1	-1	1	-1	-1	1	-1	1	1	0,88	0,73
6	1	-1	1	-1	1	-1	1	-1	1	0,06	0,00
7	-1	1	1	-1	1	-1	1	1	-1	0,26	0,26
8	1	1	1	-1	-1	1	-1	-1	-1	0,63	0,30
9	-1	-1	-1	1	-1	-1	1	1	1	0,26	0,26
10	1	-1	-1	1	1	1	-1	-1	1	0,02	0,06
11	-1	1	-1	1	1	1	-1	1	-1	0,49	0,96
12	1	1	-1	1	-1	-1	1	-1	-1	0,16	0,05
13	-1	-1	1	1	1	1	1	-1	-1	0,15	0,03
14	1	-1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	0,00	0,04
15	-1	1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	0,14	0,01
16	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0,11	0,10

\*D1 – modo axial

\*\*D2 – modo radial

Ao visualizar os valores de desejabilidade global para cada modo, observa-se que a melhor condição de trabalho para o modo axial é o experimento 5. Para o modo radial, a melhor condição de trabalho foi obtida com o experimento 11. Entretanto, desejava-se encontrar uma única condição de trabalho para ambos os modos, dessa forma, foi realizado um novo cálculo de média geométrica (Equação 2) considerando os valores de desejabilidades globais de cada modo. A Tabela 1.4.12 mostra os valores de desejabilidade combinando ambos os modos.

TABELA 1.4.12 - Valores de desejabilidade global combinando ambos os modos (axial e radial)

<b>Experimento</b>	<b>D</b>	<b>Experimento</b>	<b>D</b>
1	0,02	9	0,26
2	0,54	10	0,03
3	0,07	11	0,68
4	0,42	12	0,09
5	0,81	13	0,07
6	0,01	14	0,01
7	0,26	15	0,03
8	0,43	16	0,11

Realizado esse novo cálculo de desejabilidade global, observa-se que a melhor condição de trabalho para ambos os modos é o experimento 5. Utilizando-se os valores de desejabilidade global da Tabela 1.4.6, calculou-se o contraste de cada variável, bem como suas interações, com o intuito de verificar quais as variáveis que possuíam maior efeito sobre as respostas. Os contrastes foram calculados de acordo com a Equação 3.

Existem diversas maneiras de visualizar quais são os contrastes que possuem maior influência sobre a resposta analítica, e uma das alternativas é através do gráfico de probabilidade, no qual cada efeito é relacionado com áreas iguais de uma curva gaussiana. Cada média das áreas calculadas é então relacionada a um valor de  $z$  (de uma tabela de probabilidades)<sup>28</sup>.

A Figura 1.4.1 mostra o gráfico dos contrastes versus o valor de  $z$ .

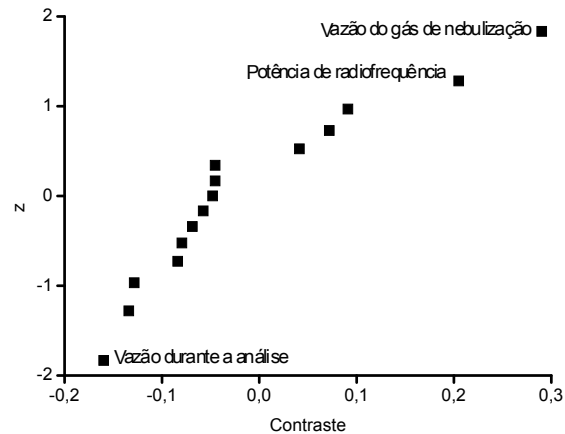


FIGURA 1.4.1 - Gráfico de contraste para as variáveis e suas interações, na otimização dos parâmetros do ICP OES.

Conforme pode ser visualizado na Figura 1.4.1, os contrastes, que estão aglomerados ao redor do zero, são aqueles que possuem valor pequeno e pouca influência para o sinal analítico. Já as variáveis que possuem maior efeito estão mais afastadas do zero, e são: potência de radiofrequência (V6), vazão do gás de nebulização (V8) e vazão durante a análise (V4), sendo que as duas primeiras variáveis possuem um contraste positivo, devendo ser utilizada no nível alto e a vazão durante a análise possui contraste negativo, devendo ser utilizada no nível mais baixo. As demais variáveis (V1, V2, V3, V5, V7 e V9) apresentaram contrastes desprezíveis (perto do zero no eixo x) e podem ser usadas no nível mais conveniente (nesse caso o nível baixo). Seis contrastes secundários foram calculados e os valores obtidos também foram baixos (próximo a zero).

Ao analisar, na Tabela 1.4.11, os dois experimentos, que apresentaram maiores valores de D (Experimentos 5 e 11), possuem em comum, entre as variáveis mais importantes: potência de radiofrequência (nível alto) e a vazão do gás de nebulização (nível alto). Os experimentos 1, 6 e 14 foram os que possuíam os piores valores de desejabilidade global, sendo que a variável comum é a potência de radiofrequência no nível baixo.

A partir dessa análise foi possível selecionar as variáveis que possuem a maior influência sob o sinal analítico (na faixa de estudada), e realizar um novo planejamento experimental (ajuste fino) utilizando apenas essas variáveis, com uma nova faixa de estudo e considerando a matriz da amostra.



Para esse novo estudo dos parâmetros instrumentais do ICP OES, foram realizados dois planejamentos experimentais, um planejamento Doehlert e um Composto Central para avaliar as variáveis consideradas as mais importantes no estudo anterior: potência de radiofrequência, vazão do gás de nebulização e vazão durante a análise. Entretanto, ao analisar o contraste da variável vazão durante a análise, observa-se que é pequeno comparado às outras duas variáveis, não sendo necessário avaliá-la novamente. Além disso, realizando-se os planejamentos apenas com duas variáveis seria necessário realizar 20 experimentos, enquanto que ao considerar as três variáveis seria preciso realizar 32 experimentos.

A Figura 1.4.2 mostra os planejamentos Doehlert e Composto Central, e as faixas experimentais estudadas.

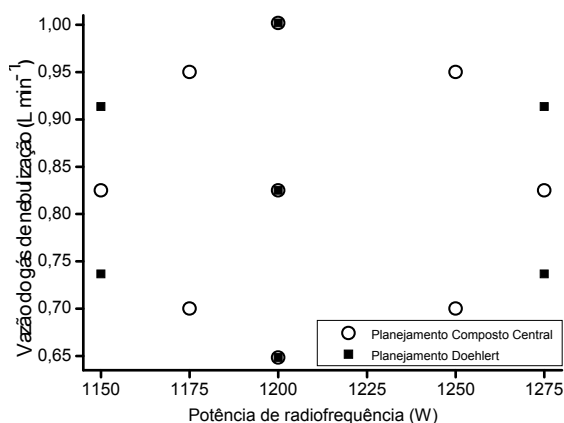


FIGURA 1.4.2 - Planejamentos Doehlert e Composto Central utilizados para o ajuste fino dos parâmetros do ICP OES.

Ao adicionar os valores reais de potência de radiofrequência selecionados nos planejamentos experimentais, o equipamento fazia um ajuste automático desse valor. Dessa forma, ao tratar os dados e considerar os valores normalizados, foi necessário fazer uma correção. Devido a isso, houve uma distorção da faixa estudada pelos planejamentos, conforme pode ser observado na Figura 1.4.2.

Para esse estudo foram utilizadas amostras de sombra preta (fabricada na China). Antes da mineralização da amostra (realizada com as condições otimizadas), adicionou-se os analitos no frasco de decomposição em uma faixa de 43 a 171  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Desta forma, as concentrações finais adicionadas dos analitos foram: 20, 40, 40, 60, 80 e 80  $\mu\text{g L}^{-1}$  para Cd, Co, Cr, Cu, Ni e Pb, respectivamente.

Para avaliar o efeito das variáveis, as respostas analisadas foram: a recuperação dos analitos e os valores dos limites de quantificação (LOQ, do inglês *limit of quantification*). Para as respostas em termos de recuperação, calculou-se as desejabilidades individuais de acordo com as Equações 1 e 3.

Para os valores de recuperação abaixo de 50 % e acima de 150 % foi considerado  $di = 0$  (valor não desejável) e para os valores de recuperação entre a faixa de 80 a 120 % foi considerado  $di = 1$ . Para os valores de recuperação entre 50 e 80 %, utilizou-se a Equação 1 e para os valores de recuperação entre 120 a 150 %, utilizou-se a Equação 4, e para os valores dos LOQ, utilizou-se a Equação 4 para calcular as  $di$ .

Com o intuito de identificar qual o melhor experimento para um conjunto de analitos, foi aplicada uma análise de componentes principais (PCA, do inglês *principal component analysis*) à matriz de dados 20 x 12, a qual continha nas linhas os experimentos realizados e nas colunas os analitos. Os dados foram previamente autoescalados, visando que todos os experimentos/analitos contribuíssem igualmente para o modelo. As Tabelas 1.4.13 e 1.4.14 mostram os dados da matriz em termos de recuperação e LOQ, respectivamente.

TABELA 1.4.13 - Matriz de dados para as respostas normalizadas (0 – 1) em termos de recuperação

Experimento	Cd	*Cd	Co	*Co	Cr	*Cr	Cu	*Cu	Ni	*Ni	Pb	*Pb
1	1	1	1	1	1	1	0,614	0,464	0	0	0,823	1
2	1	1	1	1	1	1	1	1	0,951	1	0,031	0,120
3	1	1	1	1	1	1	0,869	0,765	0	0	0,379	1
4	1	1	0,932	1	0,927	1	1	1	0,749	0,749	0	0,084
5	1	1	0,952	1	1	1	1	1	0,789	1	0,181	0,961
6	1	1	1	1	1	1	0,820	0,576	0	0,275	0,275	1
7	1	1	0,973	1	1	1	1	1	0,713	1	0,126	0
8	1	1	0,833	1	1	0,966	1	1	0,830	1	0	0,602
9	1	1	1	1	1	1	0,846	0,745	0	0,026	0,391	0,368
10	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
11	1	0,530	1	1	1	1	1	0,974	0,343	0	0	0,421
12	1	1	0,952	1	1	1	1	1	0,789	1	0,181	0,961
13	1	1	1	1	1	1	1	1	0,669	1	1	1
14	1	1	0,973	1	1	1	1	1	0,713	1	0,126	0
15	1	0,848	0,559	1	0,935	1	0,049	0	0,613	0	0	0
16	0,756	0,423	0,493	0,597	1	0,604	0,781	0,305	0	0,800	0	0,821
17	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0,675	1
18	1	1	0,979	1	1	1	1	1	0,816	0,803	0,276	1
19	1	1	0,754	1	1	0,854	1	1	0,600	1	0	0
20	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0

\*Modo Radial

\*\*Experimentos 1 ao 11: Planejamento Composto Central; 12 ao 20: Planejamento Doehlert

TABELA 1.4.14 - Matriz de dados para as respostas normalizadas (0 - 1) em termos de LOQ

<b>**Experimento</b>	<b>Cd</b>	<b>*Cd</b>	<b>Co</b>	<b>*Co</b>	<b>Cr</b>	<b>*Cr</b>	<b>Cu</b>	<b>*Cu</b>	<b>Ni</b>	<b>*Ni</b>	<b>Pb</b>	<b>*Pb</b>
1	1	0,791	0,940	0,872	0,269	0,316	0,764	0,211	0,102	0,672	0,726	1
2	0,751	1	1	1	0,917	0,384	0,740	0,381	0,104	0,145	1	0,944
3	0,420	0,559	0,656	0,079	1	0,651	0,994	1	1	0,654	0	0,506
4	0,387	0	0,346	0,238	0,566	0,751	0,677	0,332	0,389	0,679	0,408	0
5	0,973	0,566	0,866	0,982	0,675	0,648	0,836	0,289	0,055	0,856	0,388	0,665
6	0,561	0,667	0,508	0,255	0,663	0,514	1	0,934	0,901	0,127	0,543	0,961
7	0,691	0,607	0,784	0,732	0,474	0,513	0,483	0,154	0,243	1	0,301	0,740
8	0,749	0,325	0,739	0,738	0,951	1	0	0	0,268	0,732	0,019	0,608
9	0,831	0,551	0,803	0,810	0	0,397	0,784	0,290	0,041	0,643	0,531	0,304
10	0,795	0,760	0,999	0,974	0,348	0	0,790	0,084	0,334	0,270	0,724	0,879
11	0	0,321	0,000	0	0,463	0,829	0,573	0,122	0	0	0,259	0,019
12	0,941	0,726	0,831	0,891	0,697	0,765	0,897	0,353	0,156	0,823	0,728	0,328
13	0,446	1	0,977	1	0	0,723	1	1	1	0,783	1	0,861
14	0,723	0,755	0,705	0,727	0,482	0,654	0,673	0,204	0,338	1	0,664	0,537
15	0,000	0	0	0	0,658	0,858	0	0	0	0,398	0,106	0
16	0,746	0,685	0,593	0,706	0,568	0,862	0,901	0,412	0,409	0,690	0,654	0,395
17	1	0,775	1	0,965	0,342	0,265	0,877	0,353	0,145	0	0,910	1
18	0,763	0,877	0,908	0,728	0,579	0,571	0,676	0,314	0,172	0,800	0,945	0,770
19	0,369	0,459	0,134	0,433	1	1	0,622	0,495	0,368	0,150	0	0,531
20	0,945	0,685	0,904	0,728	0,125	0	0,700	0,064	0,115	0,545	0,919	0,933

\*Modo Radial

\*\*Experimentos 1 ao 11: Planejamento Composto Central; 12 ao 20: Planejamento Doehlert

Um modelo com duas componentes principais (PC, do inglês *principal component*) foi selecionado para avaliar as respostas em termos de *di* das recuperações, explicando 69 % da variância total dos dados. O outro modelo, avaliando as respostas em relação às *di* dos LOQs, explica 67 % da variância total dos dados, com duas PCs. Os resultados são apresentados na forma de gráficos de scores e loadings e através da análise conjunta desses gráficos é possível verificar quais variáveis são responsáveis pelas diferenças observadas entre os experimentos. Os scores representam os experimentos, enquanto que através dos loadings é possível avaliar as respostas dos analitos.

As Figuras 1.4.3 e 1.4.4 mostram os gráficos de scores e loadings para as *di* em termos de recuperação e LOQ, respectivamente.

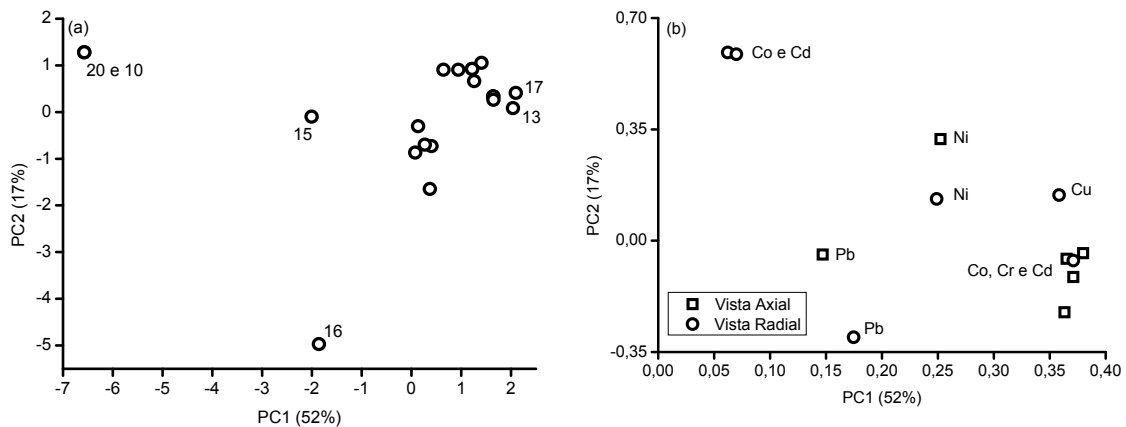


FIGURA 1.4.3 - Gráfico de (a) Scores e (b) Loadings da PC1 x PC2 em termos de recuperação.

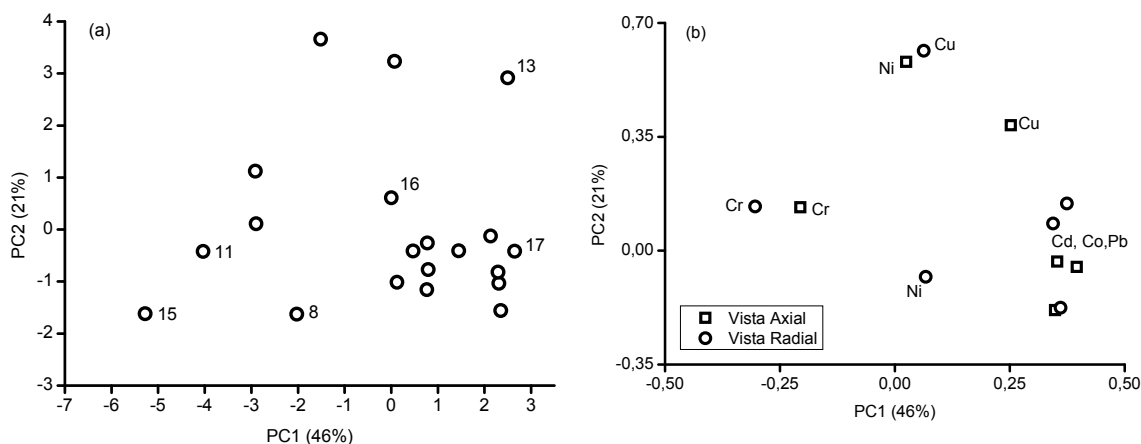


FIGURA 1.4.4 - Gráfico de (a) Scores e (b) Loadings da PC1 x PC2 em termos de LOQ.

Através do gráfico de loadings (Figura 1.4.3), observa-se um agrupamento para os elementos Co, Cr, Cd e Cu, sendo que o gráfico de scores destacou os experimentos 13 e 17 para obter as melhores respostas para esses elementos.

O gráfico de scores da Figura 1.4.4 não evidenciou a formação de agrupamentos distintos, entretanto para os elementos Cd, Co, Pb e Cu, os experimentos que resultam em menores LOQs são os 13 e 17.

Como não houve um único experimento que oferecesse a melhor resposta para todos os elementos, selecionou-se o experimento 13 (1200 W de potência de radiofrequência e  $0,825 \text{ mL min}^{-1}$  de vazão do gás de nebulização) que proporciona condições de compromisso para um grupo maior de elementos.

#### 1.4.4 - Parâmetros Analíticos

Após otimizar as condições do preparo das amostras e dos parâmetros instrumentais do ICP OES, alguns parâmetros de desempenho analítico como: sensibilidade, repetibilidade, faixa linear, LOQ e limite de detecção (LOD, do inglês *limit of detection*), foram determinados e estão apresentados na Tabela 1.4.15 para as amostras de sombra e na Tabela 1.4.16 para as amostras de batom.

TABELA 1.4.15 - Parâmetros analíticos obtidos para a determinação de Cd, Co, Cr, Cu, Ni e Pb para as amostras de sombra

Parâmetros	Cd 228,8 nm	Co 228,6 nm	Cr 357,8 nm	Cu 224,7 nm	Ni 341,4 nm	Pb* 283,3 nm
Equação da reta	$Y = 7,3 x + 10,4$ $y = 1,03 x + 1,28^{**}$	$y = 5,03 x + 6,25$ $y = 0,7 x + 0,6^{**}$	$y = 14,6 x + 5,9$ $y = 0,9 x + 0,6^{**}$	$y = 2,7 x + 16,8$ $y = 0,3 x + 1,8^{**}$	$y = 3,7 x + 2,6$ $y = 0,3 x + 0,1^{**}$	$y = 0,004$ $x + 0,008$
Coefficiente de regressão (r)	0,99	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Faixa linear ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	2,5-80	5-1500	5-1500	5-1500	5-1500	5-120
Limite de Detecção ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	0,03 0,20 <sup>**</sup>	0,06 0,22 <sup>**</sup>	0,06 0,75 <sup>**</sup>	0,08 0,81 <sup>**</sup>	0,25 0,90 <sup>**</sup>	0,02
Limite de Quantificação ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	0,10 0,65 <sup>**</sup>	0,21 0,73 <sup>**</sup>	0,20 2,5 <sup>**</sup>	0,28 2,7 <sup>**</sup>	0,85 3,0 <sup>**</sup>	0,06
Repetibilidade (%) n=10	0,2 0,9 <sup>**</sup>	0,2 0,7 <sup>**</sup>	0,3 0,7 <sup>**</sup>	0,2 0,4 <sup>**</sup>	0,1 0,8 <sup>**</sup>	0,9

\*GF AAS

\*\*Modo Radial

TABELA 1.4.16 - Parâmetros analíticos obtidos para a determinação de Cd, Co, Cr, Cu, Ni e Pb para as amostras de batom

Parâmetros	Cd 228,8 nm	Co 228,6 nm	Cr 283,5 nm	Cu 324,7 nm	Ni 231,6 nm	Pb* 283,3 nm*
Equação da reta	y= 7,4 x+15,6 y= 0,9 x +1,8**	y= 5,0 x+22,3 y= 0,5 x+2,2**	y= 10,0 x+101,0 y= 1,3 x+13,0**	y= 27,6 x+376,4 y= 3,0 x+47,2**	y= 2,8 x+14,3 y= 0,3 x+1,3**	y= 0,004 x - 0,001
Coefficiente de regressão (r)	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0,99
Faixa linear ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	2.5-80	5-1500	5-1500	5-1500	5-1500	5-100
Limite de Detecção ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	0,02 0,13**	0,04 0,15**	0,02 0,18**	0,02 0,09**	0,07 0,36**	0,01
Limite de Quantificação ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	0,07 0,43**	0,14 0,49**	0,07 0,60**	0,08 0,32**	0,25 1,2**	0,04

\*GF AAS

\*\*Modo Radial



Para o cálculo dos limites de detecção e quantificação do ICP OES, empregou-se o conceito da concentração equivalente ao sinal de fundo (BEC, do inglês *background equivalent concentration*), definido como a concentração do analito que produz sinal equivalente à intensidade de emissão ao fundo da linha medida<sup>29</sup>.

O cálculo dos valores de BEC, LOQ e LOD estão apresentados nas equações 5, 6 e 7, respectivamente:

$$BEC = \frac{I_{\text{branco}}}{m} \quad \text{Equação 5}$$

$$LOD = \frac{3 \times BEC \times RSD}{100} \quad \text{Equação 6}$$

$$LOQ = \frac{10 \times BEC \times RSD}{100} \quad \text{Equação 7}$$

No qual:

$I_{\text{branco}}$  = valor de intensidade do branco analítico

$m$  = coeficiente angular da curva analítica

RSD = desvio padrão relativo de 10 medidas do branco analítico

Os LOD e LOQ para as determinações de Pb em GF AAS foram calculados de acordo com as recomendações da União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC, do inglês *International Union of Pure and Applied Chemistry*)<sup>30</sup>. As Tabelas 1.4.15 e 1.4.16 mostram os valores de LOD e LOQ do método, ou seja, os valores considerando a massa da amostra e as devidas diluições empregadas após a mineralização.

A repetibilidade foi calculada através do desvio padrão relativo (RSD) de 10 medidas de uma solução multielementar contendo: 40  $\mu\text{g L}^{-1}$  para Cd, 50  $\mu\text{g L}^{-1}$  para Pb e 250  $\mu\text{g L}^{-1}$  para Co, Cr, Cu e Ni. De acordo com as normas de aceitabilidade descrita pelo INMETRO (Instituto Nacional de Metrologia), os valores de repetibilidade obtidos para os elementos estudados estão adequados, uma vez que o desvio padrão relativo aceitável é de até 10 % para as concentrações acima de 100  $\text{ng g}^{-1}$ <sup>31</sup>. A linearidade estava conforme a faixa de trabalho de cada analito e os coeficientes de correlação encontrados foram iguais ou superiores a 0,99. Sendo

assim, os métodos propostos apresentaram condições adequadas para a determinação das concentrações exigidas pelas legislações apresentadas anteriormente.

#### **1.4.5 - Determinação de Cd, Co, Cr, Cu, Ni e Pb nas amostras de sombra e batom**

Após as otimizações do método proposto, 21 amostras de sombra e 9 amostras de batom foram mineralizadas. As amostras foram preparadas em triplicata sem e com adição de padrão, de tal forma que a concentração final de Cd, Co, Cr, Cu, Ni e Pb (após as diluições) foi de 40, 40, 700, 700, 200 e 80  $\mu\text{g L}^{-1}$ , para as amostras de sombra e 24, 24, 420, 420, 120 e 48  $\mu\text{g L}^{-1}$  para as amostras de batom, respectivamente. Com os resultados obtidos foram realizados os cálculos de recuperação para cada amostra, com o intuito de averiguar possíveis perdas dos analitos no processo de mineralização.

Inicialmente, todos os analitos seriam determinados por ICP OES, entretanto, no caso do Pb, não foi possível selecionar uma linha de emissão livre de interferência, principalmente em amostras com altas concentrações de Fe. Dessa forma, optou-se por determinar Pb por GF AAS, tanto para as amostras de sombra, como para as amostras de batom. Para os demais analitos, o problema de interferências foi solucionado através da compatibilização da matriz, ou seja, selecionou-se uma amostra de sombra e foi determinada a concentração dos principais interferentes: Fe e Mn. Desta forma, a curva de calibração foi construída incluindo esses elementos. O uso do método de adição de padrão não foi viável, devido à grande quantidade de amostras.

Para a seleção dos melhores comprimentos de onda de cada analito, dentre os estudados na fase de otimização, foram considerados os perfis dos sinais obtidos e os valores de recuperação. Para a determinação de Cd, Cr, Co, Cu e Ni por ICP OES utilizou-se as duas vistas para verificar a concordância dos resultados. Dessa forma, os valores finais são obtidos através das médias das triplicatas de ambos os modos (axial e radial).

As Tabelas 1.4.17 e 1.4.18 mostram os comprimentos de onda selecionados, os valores de concentração e recuperação para as amostras de sombra e batom, respectivamente.

TABELA 1.4.17 – Valores de concentração e recuperação de Cd, Co, Cr, Cu, Ni e Pb obtidos para as amostras de sombra (n = 3)

Amostras	Cor	Origem	Concentração (mg Kg <sup>-1</sup> )						Recuperação (%)					
			Cd 228,8 nm	Co 228,6 nm	Cr 357,8 nm	Cu 224,7 nm	Ni 341,4 nm	Pb <sup>*</sup> 283,3 nm	Cd	Co	Cr	Cu	Ni	Pb <sup>*</sup>
1	Preto	China	<LOQ	4,9±0,2	62,7±0,9	21,1±0,7	10,4±0,3	1,05±0,09	100	90	97	102	98	86
2	Preto	China	<LOQ	1,8±0,2	2,4±0,2	<LOQ	2,8±0,9	2,0±0,3	107	91	91	116	101	93
3	Preto	Brasil	<LOQ	3,8±0,5	28±4	36±1	19,5±0,5	0,09±0,01	96	89	91	94	92	91
4	Preto	Brasil	<LOQ	3,5±0,7	29±1	37±2	19,6±0,8	0,58±0,05	93	93	96	96	100	117
5	Preto	EUA	<LOQ	3,45±0,09	12,8±0,4	39,1±0,7	4,9±0,2	<LOQ	-	80	89	81	95	84
6	Preto	EUA	<LOQ	3,4±0,1	91±1	26,5±0,6	16,0±0,4	0,78±0,06	98	92	90	94	93	86
7	Azul	China	0,39±0,01	1,02±0,05	1,0±0,1	61±8	<LOQ	1,74±0,07	103	103	101	101	92	96
8	Azul	China	0,41±0,01	0,80±0,07	0,5±0,2	<LOQ	<LOQ	1,22±0,04	106	110	96	120	93	82
9	Azul	Brasil	0,9±0,1	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1,8±0,2	93	87	118	95	85	85
10	Azul	Brasil	<LOQ	1,85 ± 0,07	31±1	10,0±0,4	3,2±0,3	1,09±0,09	102	91	93	104	92	94
11	Azul	EUA	<LOQ	2,2 ±0,09	21,8±0,9	9,7±0,4	10,0±0,4	1,51±0,08	-	87	88	82	87	84
12	Laranja	China	<LOQ	0,8±0,1	17,2±0,7	9,2±0,5	3,3±0,3	1,84±0,07	91	100	95	98	96	90
13	Laranja	China	0,36±0,02	0,58±0,03	1,73±0,09	0,90±0,08	0,73±0,06	3,3±0,2	83	103	98	108	99	93
14	Laranja	Brasil	0,41±0,02	0,37±0,04	3,0±0,2	7,5±0,5	2,9±0,2	0,59±0,06	80	80	85	98	80	86
15	Laranja	Brasil	<LOQ	0,75±0,01	2,4±0,1	<LOQ	1,23±0,07	0,10±0,02	84	84	87	103	88	89
16	Laranja	EUA	<LOQ	0,88±0,04	7,4±0,1	<LOQ	16,9±0,3	1,3±0,2	-	91	89	110	89	108
17	Rosa	China	<LOQ	0,36±0,02	1,7±0,1	1,14±0,06	1,8±0,5	3,21±0,09	85	83	94	99	98	104
18	Rosa	China	<LOQ	0,10±0,02	0,81±0,07	<LOQ	<LOQ	3,40±0,09	86	87	89	98	94	90
19	Rosa	Brasil	<LOQ	0,15±0,03	3,0±0,6	21±3	<LOQ	0,33±0,09	97	97	82	107	97	95
20	Rosa	Brasil	<LOQ	<LOQ	2,1±0,2	<LOQ	<LOQ	2,1±0,2	88	88	94	100	99	86
21	Rosa	EUA	<LOQ	0,44±0,02	1,00±0,07	<LOQ	<LOQ	1,4±0,1	-	86	89	107	93	107

\*GF AAS

TABELA 1.4.18 - Valores de concentração e recuperação de Cd, Co, Cr, Cu, Ni e Pb obtidos para as amostras de batom (n = 3)

Amostras	Cor	Origem	Concentração (mg Kg <sup>-1</sup> )						Recuperação (%)					
			Cd 228,8 nm	Co 228,6 nm	Cr 283,5 nm	Cu 324,7 nm	Ni 231,6 nm	Pb* 283,3 nm*	Cd	Co	Cr	Cu	Ni	Pb*
1	Vermelho	China	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1,2±0,1	<LOQ	87	87	88	91	85	96
2	Vermelho	Brasil	<LOQ	1,8±0,3	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,11±0,01	96	94	90	100	95	86
3	Vermelho	EUA	<LOQ	0,16±0,03	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	92	83	95	101	84	109
4	Rosa	China	<LOQ	<LOQ	0,3±0,1	<LOQ	<LOQ	0,55±0,05	89	80	91	92	86	96
5	Rosa	Brasil	<LOQ	2,7±0,3	1,2±0,2	0,6±0,1	1,4±0,3	0,43±0,03	94	85	90	92	83	84
6	Rosa	EUA	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,6±0,2	<LOQ	<LOQ	94	85	93	93	83	101
7	Laranja	China	<LOQ	<LOQ	0,20±0,03	<LOQ	<LOQ	0,3±0,1	86	85	87	84	86	103
8	Laranja	Brasil	<LOQ	<LOQ	0,7±0,2	0,95±0,03	0,9±0,1	0,50±0,07	91	84	88	88	81	89
9	Laranja	USA	<LOQ	0,13±0,03	3,8±0,2	0,6±0,1	<LOQ	0,22±0,02	91	83	88	89	84	110

\*GF AAS

Para a realização dos estudos de exatidão, utilizou-se os ensaios de recuperação da matriz, uma vez que não havia a disponibilidade de material de referência certificado semelhante às amostras analisadas. Ao analisar as Tabelas 1.4.17 e 1.4.18, observa-se que os valores de recuperação variam de 80 a 120 %. Esses valores estão de acordo com a FDA, que requer recuperações entre esse intervalo para concentrações acima d LOQ<sup>32</sup>.

As amostras analisadas apresentaram concentrações de Cd e Pb dentro dos limites estabelecidos pelas legislações apresentadas anteriormente. Entretanto, as amostras de sombra 1, 3, 4, 5, 6, 11, e 16 apresentaram concentrações de Cr e Ni superiores a 5 µg g<sup>-1</sup>. Esses metais não possuem limites estabelecidos pelas legislações referenciadas, no entanto, são considerados grandes causadores de alergias e sensibilização e o valor seguro recomendado é abaixo de 5 µg g<sup>-1</sup><sup>33</sup>. No caso das amostras de batom, todos os valores estavam abaixo desse limite seguro.

#### **1.4.6 – Determinação de Cd, Co, Cr, Cu e Ni nas amostras de sombra digeridas por radiação micro-ondas**

Na ausência de um material de referência certificado próximo à matriz das amostras, para estudar a exatidão do método de preparo de amostra proposto (utilizando ácido diluído) foi empregado um preparo existente na literatura como referência.

Esse estudo foi realizado apenas para uma amostra de sombra selecionada. No caso das amostras de batom, não foi possível a realização desse estudo devido às baixas concentrações dos analitos, uma vez que após a digestão empregando HF, era necessário realizar a adição de ácido bórico para reagir com o HF e permitir a introdução da solução no ICP OES. Com essa adição de ácido bórico, as amostras eram diluídas ao ponto de não ser possível a detecção por ICP OES.

Na Tabela 1.4.19 é possível visualizar os dados obtidos pelo método comparativo, empregando radiação micro-ondas e HF e do método proposto, empregando ácido nítrico diluído e bloco digestor.

TABELA 1.4.19 - Comparação entre métodos para as amostras de sombra

	<b>Cd</b>	<b>Co</b>	<b>Cr</b>	<b>Cu</b>	<b>Ni</b>	<b>Pb</b>
<b>Concentração do método proposto (mg kg<sup>-1</sup>) (n=3)</b>	<LOQ	3,8±0,1	30,4±0,3	39±1	19,5±0,6	10±1
<b>Concentração do método comparativo (mg kg<sup>-1</sup>) (n=3)</b>	<LOQ	3,7±0,2	38±3	42±1	16,8±0,9	8,3±0,7

Observa-se que os valores obtidos utilizando o preparo de amostra proposto são similares, em um nível de 95 % de confiança, aos valores utilizando o método de referência. Sendo assim, o procedimento proposto mostrou-se eficiente e vantajoso, uma vez que utilizou-se menos reagentes e não fez-se uso de HF.

O estudo com o método comparativo foi realizado antes das análises das amostras. Dessa forma, a detecção, inclusive do Pb, foi realizada por ICP OES. Posteriormente foi detectado o problema das determinações de Pb por ICP OES nas amostras, uma vez que as recuperações obtidas não estavam dentro do intervalo aceitável. Dessa forma, observa-se uma diferença significativa na concentração de Pb, na mesma amostra, realizada por ICP OES e GF AAS, empregando o preparo da amostra com ácido nítrico diluído e bloco digestor. Para os demais elementos, os valores foram concordantes. Essa comparação pode ser visualizada na Tabela 1.4.20.

TABELA 1.4.20 - Comparações entre análises para as amostras de sombra

	<b>Cd</b>	<b>Co</b>	<b>Cr</b>	<b>Cu</b>	<b>Ni</b>	<b>Pb</b>
<b>Primeira análise realizada por ICP OES (mg kg<sup>-1</sup>) (n=3)</b>	<LOQ	3,8±0,1	30,4±0,3	39±1	19,5±0,6	10±1
<b>Segunda análise realizada por ICP OES e GFAAS para Pb (mg kg<sup>-1</sup>) (n=3)</b>	<LOQ	3,5±0,7	29±1	37±2	19,6±0,8	0,58±0,05

Com a detecção desse problema, todas as determinações de Pb foram realizadas por GF AAS, como mostrado anteriormente nas Tabelas 1.4.17 e 1.4.18.

### 1.4.7 - Análise exploratória das amostras de sombra e batom

Com o intuito de analisar o comportamento das amostras com relação aos níveis dos elementos, foi realizada uma análise exploratória dos dados, utilizando as concentrações dos analitos. Uma matriz com 30 linhas e 6 colunas foi gerada, sendo utilizada para a construção da PCA. Os dados foram autoescalados e

obteve-se um modelo com 3 componentes principais e uma variância explicada de 80%. As classes que foram consideradas na análise exploratória incluem: país de fabricação, preço, cor, tipo da amostra (batom ou sombra) e legislação. O valor estipulado como limite para a legislação foi de  $5 \mu\text{g g}^{-1}$ , considerado como um limite seguro para a maioria dos elementos estudados<sup>33</sup>.

A Figura 1.4.5 representa o gráfico de scores para PC1 x PC2 em relação às amostras e loadings para a PC1 x PC2 em relação aos elementos.

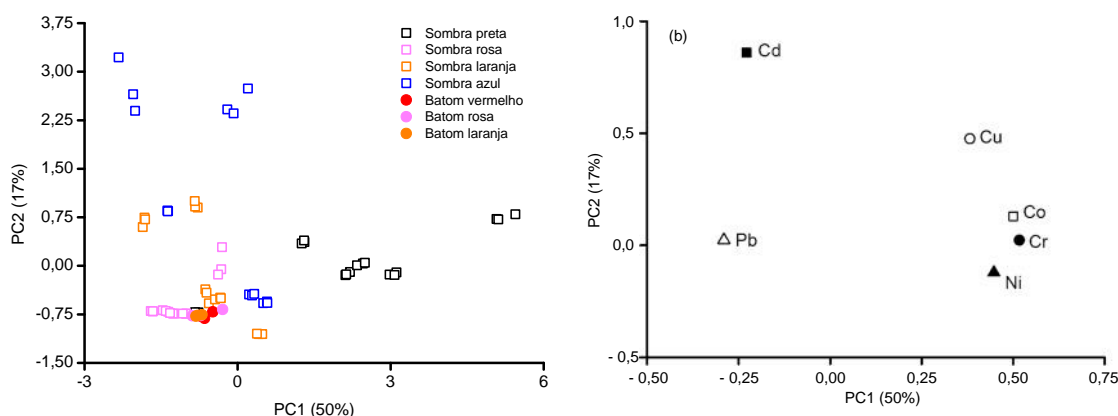


FIGURA 1.4.5 - Gráfico de (a) Scores e (b) Loadings para as amostras de sombra e batom.

Ao analisar o gráfico de scores, observa-se um agrupamento das amostras de batom. Além disso, é possível visualizar uma separação entre as amostras de sombra preta, representadas pelos quadrados pretos no gráfico de score, uma vez que as cores do gráfico são referentes às cores dos cosméticos. Essas amostras estão relacionadas com altas concentrações de Co, Cr, Cu e Ni. Com relação às demais classes, não se observou diferença significativa.

## 1.5 - Conclusão parcial

De acordo com os dados apresentados neste capítulo, é possível concluir que os procedimentos desenvolvidos apresentam condições adequadas para a determinação das concentrações de Cd, Co, Cr, Cu, Ni e Pb exigidas pelas legislações apresentadas anteriormente.

O preparo de amostra empregando ácido diluído e bloco digestor apresentou-se vantajoso e eficiente, comparado aos trabalhos existentes na literatura, que utilizam ácidos concentrados. Além do procedimento proposto não

---

empregar o HF, utilizou-se menos reagente e o uso do bloco digestor proporcionou uma frequência analítica maior do que empregando forno micro-ondas.

As análises exploratórias realizadas não mostraram diferenças entre os países fabricantes, mas as amostras se diferenciaram pelo tipo (batim e sombra) e pela coloração. Sendo assim, os estudos realizados mostraram-se eficientes e vantajosos.



## **Capítulo 2**

---

**Uso da Espectroscopia de emissão com plasma induzido por laser (LIBS) e estratégias multivariadas para a caracterização de amostras de sombra e batom**

## 2.1 – Introdução

Um dos grandes desafios da química analítica moderna é a melhoria da eficiência analítica, com intuito de oferecer resposta rápida para a sociedade, considerando os conceitos de sustentabilidade e química limpa.

Dentro desse contexto, a análise direta tem despertado grande interesse na comunidade científica, pois além de eliminar ou minimizar as etapas de digestão da amostra, também reduz a geração de resíduos.

Uma técnica que merece destaque, por oferecer essas vantagens é a LIBS, que se baseia na análise de emissões atômicas, iônicas e moleculares de espécies presentes em um plasma que é obtido pelo pulso de um laser focalizado na superfície da amostra. A radiação emitida é monitorada através de um seletor de comprimento de onda e um sistema de detecção<sup>34</sup>.

A LIBS baseia-se na análise das emissões atômicas, iônicas e moleculares das espécies presentes no plasma que é obtido através de um pulso de laser focado na superfície da amostra. Esse pulso de laser, que possui energia apropriada é focalizado na superfície da amostra, provocando a formação de um plasma de alta temperatura (8000 a 20000 K), sendo capaz de promover a vaporização e excitação das espécies químicas presentes. Um sistema óptico captura parte da luz que foi emitida pelo plasma que é transferida para um espectrômetro que dispersa as radiações emitidas pelas espécies excitadas. Um detector registra os sinais de emissão e os equipamentos eletrônicos computam os resultados. Geralmente esse espectro gerado é analisado nas regiões UV-VIS<sup>34,35</sup>.

Em qualquer sistema LIBS obtém-se uma grande diversidade de linhas de emissão que trazem informações químicas. Muitas vezes, interpretar e extrair as informações necessárias pode tornar-se difícil e laborioso. Além disso, dependendo da matriz e a falta de material de referência certificado similar à amostra, pode ser difícil o processo de calibração univariada. Uma alternativa e grande aliada às análises LIBS são as ferramentas quimiométricas, que permitem analisar e extrair o máximo de informações do conjunto de dados.

Uma das ferramentas quimiométricas mais utilizadas é a análise de componentes principais (PCA), que na quimiometria é a base para diversos métodos de reconhecimento de padrões, classificação e calibração multivariada<sup>36</sup>.

A PCA é muito empregada para visualizar a estrutura dos dados, identificar as similaridades entre as amostras, detectar amostras anômalas e reduzir

a dimensionalidade original dos dados. Essa redução da dimensionalidade ocorre devido à uma representação do conjunto de dados em um novo sistema de eixos, denominados de componentes principais (PCs). No espaço original, as amostras são pontos localizados em um espaço  $n$  dimensional, sendo  $n$  igual ao número de variáveis, mas com a PCA, as amostras passam a serem pontos localizados em espaços de dimensões reduzidas e definidos pelas PCs. A primeira componente principal (PC1) é calculada no sentido da maior variação no conjunto de dados, e a segunda (PC2) é calculada ortogonalmente à primeira, com o intuito de descrever a maior porcentagem da variação não explicada pela PC1 e assim por diante. O número de componentes principais a ser utilizado no modelo é determinado pela porcentagem de variância explicada<sup>36,37</sup>.

Matematicamente, a matriz  $\mathbf{X}$  é decomposta em um produto de duas matrizes denominadas de scores ( $\mathbf{T}$ ) e loadings ( $\mathbf{P}$ ), mais uma matriz de erro ( $\mathbf{E}$ ), como mostrado na Equação 8:

$$X = TP^T + E$$

Equação 8

Os scores representam as coordenadas das amostras no sistema de eixos formados pelas componentes principais, enquanto que os loadings permitem avaliar o quanto cada variável contribui para os agrupamentos observados nos scores. Dessa forma, a análise conjunta do gráfico de scores e loadings permite verificar quais variáveis são responsáveis pelas diferenças observadas nas amostras<sup>37,38</sup>.

Os métodos na análise exploratória podem ser classificados em não supervisionados ou supervisionados. Os métodos não supervisionados não necessitam de informações prévias a respeito da natureza das amostras, e o objetivo é identificar a tendência dos dados, ou seja, os agrupamentos naturais entre as amostras. Um dos exemplos de métodos não supervisionados é a PCA. No caso de métodos supervisionados, é necessário conter algumas informações iniciais sobre a identidade das amostras para a formação das classes, e o objetivo é o desenvolvimento de modelos de classificação baseados nessas informações iniciais. Dentre os métodos supervisionados bastante empregados estão o  $K$ -ésimo vizinho mais próximo (KNN do inglês *K-Nearest Neighbor*) e modelagem de classes por

componentes principais (SIMCA do inglês *Soft-Independent Modelling of Class Analogy*)<sup>37,38</sup>.

O KNN é um método no qual calcula-se a distância entre uma amostra desconhecida e todas as amostras do conjunto de treinamento e a atribuição a uma classe é realizada através dos votos, utilizando como critério a classe de amostras mais próxima. Neste caso, esse método é discriminante, ou seja, as amostras podem pertencer somente a uma única classe e não paramétrico, pois não considera a informação da distribuição da população, sendo que os dados definem sua própria estrutura. Entretanto, esse método é determinístico, pois não estima o grau de significância de uma classificação<sup>37,38</sup>.

O SIMCA é um método em que a localização e a distribuição das classes são modeladas através do uso de PCs. Neste caso, cada classe do conjunto de treinamento é submetida a uma análise de componentes principais e um número ótimo de componentes principais é determinado independentemente para cada classe. Constrói-se então uma hipercaixa envolvendo as amostras de cada classe, onde os limites das mesmas são definidos com um dado nível de confiança e uma vez definida a hipercaixa, verifica-se se existem classes com sobreposição. O poder de discriminação dos modelos SIMCA se baseia na não existência de sobreposição entre duas classes diferentes, bem como na maior distância interclasses possível. A classificação de uma amostra teste é baseada nas diferentes projeções possíveis no espaço dos scores avaliando-se se a mesma encontra-se dentro das fronteiras definidas para a respectiva classe em todas as projeções obtidas. Neste caso, o SIMCA é modelativo, uma vez que as amostras podem pertencer a nenhuma classe, uma classe ou várias classes ao mesmo tempo e paramétrico, pois considera-se que as variáveis tenham uma distribuição normal<sup>37,38</sup>.

Apesar das ferramentas quimiométricas serem grandes aliadas nas interpretações dos dados obtidos por LIBS, entre os poucos trabalhos na literatura que fazem análise de cosméticos por LIBS, não foram encontradas aplicações de ferramentas quimiométricas para o tratamento dos dados obtidos.

GONDAL et al.<sup>39</sup> determinaram Cd, Cr, Pb e Zn em amostras de batom comercializados na Arábia Saudita empregando LIBS. Para a validação do método foi realizada a determinação desses elementos por ICP OES, após digestão ácida. Para as análises empregando LIBS foi realizado um pré-tratamento nas amostras de batons, pois segundo os autores o batom é considerado um fluido, ou seja, nem

líquido e nem sólido. Sendo assim, as amostras foram aquecidas até 105 °C para a retirada da água, resfriadas em um freezer e cortadas em 1 cm de diâmetro. A concentração máxima detectada nas quatro marcas de batons analisadas era superior aos limites admissíveis, segundo a FDA, para o uso seguro em humanos. De acordo com os autores, os valores obtidos empregando a técnica LIBS estão de acordo com os resultados determinados por ICP OES.

Em 2012, GONDAL et al.<sup>40</sup> determinaram Cr e Pb em quatro amostras de talco adquiridas no comércio local da Arábia Saudita, com diferentes faixas de preço. As análises foram realizadas empregando LIBS. Para isso, os autores prepararam pastilhas de 1 cm de diâmetro, utilizando uma prensa hidráulica, tanto para as amostras convencionais como para as amostras de calibração. Para a calibração, a amostra foi misturada com quantidades conhecidas de sulfato de chumbo e sulfato de cromo. O limite de detecção determinado foi de 1,96 e 1,72 ppm de Pb e Cr, respectivamente. As concentrações determinadas estavam na faixa de 14 – 17 ppm para Pb e 21 - 29 ppm para Cr.

SUN et al.<sup>41</sup> desenvolveram um método para avaliar o efeito dos cremes para proteção da pele sobre a pele humana. Eles estudaram a eficácia dos cremes contra a absorção de íons de Zn, a partir da solução aquosa de cloreto de zinco e da pasta oleosa de óxido de zinco, que representam o modelo hidrofílico e lipofílico dos compostos de Zn, respectivamente. Ao todo, foram realizadas 4 biópsias da superfície da pele, obtidas a partir do bíceps do antebraço de 6 voluntários, após a aplicação do creme, em períodos de tempo de 0,5 a 3 horas. Os resultados foram comparados com a pele que não foi exposta ao creme. Segundo os autores, a técnica LIBS mostrou-se fácil e rápida para a determinação de Zn na camada da pele humana.

GONDAL et al.<sup>42</sup> em 2014 determinaram níveis de fluoretos em pasta de dentes empregando LIBS. Para isso, foi utilizado um laser Nd:YAG (266 nm) associado a um espectrômetro de alta resolução. Foram analisadas três amostras de marcas e preços diferentes, que foram colocadas em um recipiente cúbico e deixadas em repouso por um tempo a fim de se acomodarem adequadamente e eliminar os espaços existentes no interior da massa. Esses recipientes contendo as amostras foram então submetidos a aquecimento (60 °C), de forma que as amostras endureceram. Para a construção da curva de calibração, foi selecionada uma amostra e adicionou-se diferentes proporções de fluoreto de sódio. A linha de

emissão monitorada foi de 731,102 nm e o limite de detecção do método desenvolvido de 156 ppm. A faixa de concentração de fluoretos variou de 1300 a 1750 ppm.

## **2.2 – Objetivo específico**

Demonstrar a aplicabilidade da técnica LIBS na análise de cosméticos em combinação com as ferramentas quimiométricas para a análise exploratória dos dados e a proposição de modelos de classificação.

## **2.3 – Materiais e Métodos**

### **2.3.1 – Amostras**

As amostras utilizadas nesse estudo foram as mesmas amostras analisadas anteriormente por ICP OES. Além disso, foram analisadas 16 amostras de cosméticos infantis (sombra e batom) em um trabalho colaborativo de mestrado da MSc Amanda dos Santos Augusto<sup>43,44,45</sup>. Todas as amostras infantis são de origem chinesa e foram analisadas anteriormente em ICP OES utilizando as mesmas condições reportadas no capítulo 1. A Tabela 2.3.1 resume os parâmetros estatísticos de todas as amostras analisadas (adultos e infantis).

TABELA 2.3.1 – Resumo dos parâmetros obtidos nas determinações de Cd, Co, Cr, Cu, Ni por ICP OES e Pb por GF AAS em amostras de sombra e batom

<b>Parâmetros estatísticos de todas as amostras (sombra e batom)</b>						
<b>Parâmetros</b>	<b>Cd</b>	<b>Co</b>	<b>Cr</b>	<b>Cu</b>	<b>Ni</b>	<b>Pb</b>
Média	0,31	1,22	13,11	8,51	3,03	4,19
Desvio Padrão	1,15	2,28	28,94	14,76	5,49	9,89
Mediana	LOQ	0,36	1,95	0,91	0,29	0,84
Concentração mais baixa	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
Concentração mais alta	6,05	15,44	130,98	59,84	20,53	44,00
<b>Parâmetros estatísticos para as amostras de sombra (n = 30)</b>						
Média	0,45	1,62	18,20	12,11	4,32	4,50
Desvio Padrão	1,39	2,91	34,16	16,88	6,30	9,87
Mediana	LOQ	0,61	2,28	1,27	0,99	1,37
Concentração mais baixa	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
Concentração mais alta	6,05	15,44	130,98	59,84	20,53	44,00
<b>Parâmetros estatísticos para as amostras de batom (n = 16)</b>						
Média	0,01	0,39	2,61	1,06	0,36	3,94
Desvio Padrão	0,03	0,80	4,11	1,29	0,73	10,01
Mediana	LOQ	LOQ	0,51	0,59	LOQ	0,39
Concentração mais baixa	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
Concentração mais alta	0,11	2,74	12,32	3,83	2,53	41,24

As análises por LIBS foram realizadas sem o tratamento prévio das amostras, uma vez que todas as amostras foram colocadas diretamente na câmara de ablação, removendo apenas a tampa da embalagem.

### 2.3.2 – Equipamentos e acessórios

Um espectrômetro de emissão com plasma induzido por laser (LIBS) modelo J200 (modelo comercial) composto pelo software Axiom 2.5 (Applied Spectra, Fremont, Califórnia, EUA) foi utilizado para as análises em cosméticos. Este instrumento é equipado com um laser de Nd:YAG com comprimento de onda de 1064 nm que fornece um máximo de energia de 100 mJ, em um único pulso de laser com duração de 8 ns a uma frequência de 10 Hz, e um espectrômetro de 6 canais

CCD, que abrange uma janela espectral de 186 a 1042 nm, com uma resolução menor de 0,1 nm.

Para a identificação das linhas de emissão, foi utilizado o software Aurora (Applied Spectra) e para a análise exploratória dos dados e a proposição de modelos de classificação, o programa computacional *Pirouette Multivariate Data Analysis Software*, versão 4.5 (Infometrix, Bothell, WA, EUA).

## **2.4 – Resultados**

### **2.4.1 – Otimização dos parâmetros instrumentais do LIBS**

Para o estudo de otimização dos parâmetros instrumentais do LIBS, três variáveis foram avaliadas: porcentagem de energia do laser, tamanho do spot e o tempo de atraso. Para isso, utilizou-se um planejamento fatorial  $2^3$  com triplicata no ponto central, resultando em 11 experimentos. Para todos os experimentos, utilizou-se uma amostra de sombra preta, de origem chinesa, a mesma empregada no ajuste fino do ICP OES (Capítulo 1). A amostra não passou por nenhum tipo de pré-tratamento e foi inserida diretamente na câmara de ablação do sistema LIBS. Para cada experimento foram obtidos sinais de 5 pontos e em cada um desses pontos foram registrados espectros de emissão de 5 pulsos.

A Tabela 2.4.1 mostra os 11 experimentos realizados com suas respectivas condições.



TABELA 2.4.1 - Planejamento fatorial completo com triplicata no ponto central para a otimização dos parâmetros LIBS

Experimento	Porcentagem de Energia (%)		Tamanho do Spot ( $\mu\text{m}$ )		Tempo de atraso ( $\mu\text{s}$ )	
	Normalizado	Real	Normalizado	Real	Normalizado	Real
<b>1</b>	0	75	0	150	0	1
<b>2</b>	0	75	0	150	0	1
<b>3</b>	0	75	0	150	0	1
<b>4</b>	-1	50	-1	50	-1	0,5
<b>5</b>	1	100	-1	50	-1	0,5
<b>6</b>	-1	50	1	250	-1	0,5
<b>7</b>	1	100	1	250	-1	0,5
<b>8</b>	-1	50	-1	150	1	1,5
<b>9</b>	1	100	-1	50	1	1,5
<b>10</b>	-1	50	1	250	1	1,5
<b>11</b>	1	100	1	250	1	1,5

Para selecionar a melhor condição de trabalho, utilizou-se como respostas os sinais de emissão da faixa de 205,787 – 536,901 nm, pois essa região compreende os principais sinais de emissão dos analitos em estudo (Cd, Co, Cr, Cu, Ni e Pb). Para analisar os dados, realizou-se uma PCA. Para isso, os dados foram centrados na média e obteve-se um modelo com duas componentes principais e com uma variância explicada de 97 %. No gráfico de scores estão representados os 275 espectros referentes aos 11 experimentos testados e no gráfico de loadings a faixa de comprimento de onda selecionado. Os gráficos podem ser visualizados na Figura 2.4.1.

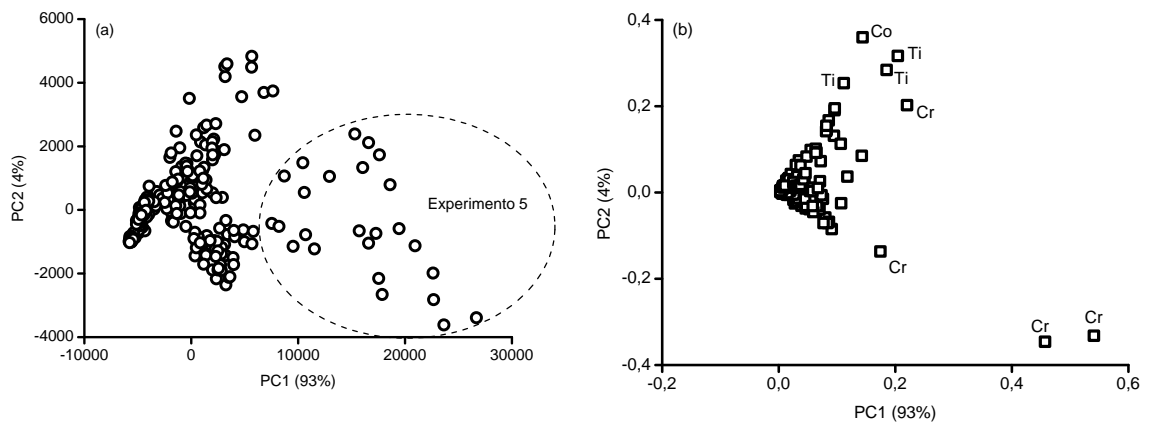


FIGURA 2.4.1 - Gráfico de (a) Scores e (b) Loadings dos experimentos realizados no LIBS.

Ao realizar a análise conjunta dos gráficos de scores e loadings, observa-se uma nítida separação dos espectros referentes ao experimento 5, que se destacaram dos demais positivamente, ou seja, esses espectros foram os que apresentaram maiores valores de intensidade em relação aos demais. Além disso, os valores de intensidade dos espectros desse experimento estão correlacionados às linhas de emissão de elementos como Co, Cr e Ti. Como a resposta de interesse seria aquela com maiores valores de intensidade, o experimento 5 foi considerado o experimento com condições ótimas de trabalho, sendo essas: porcentagem de energia do laser de 100%, tamanho do spot de 50  $\mu\text{m}$  e tempo de atraso de 0,5  $\mu\text{s}$ . Essa condição apresentou também as melhores relações sinal-ruído. Utilizando a condição selecionada, foi possível calcular a fluência, através da Equação 8, ou seja, a taxa de energia que está sendo aplicada na amostra:

$$I(\text{fluência}) = \frac{P}{A} \quad \text{Equação 8}$$

No qual:

P=potência

A=Área do spot

Nesse caso, a fluência calculada foi da ordem de  $5000 \text{ J cm}^{-2}$ . Observa-se que quanto menor o tamanho do spot, maior a energia aplicada e maior a temperatura.

Outra análise realizada foi com relação aos pontos e pulsos, que foram considerados como classes e ao observar as mesmas não houve tendências de agrupamentos, indicando uma boa homogeneização da amostra.

A Figura 2.4.2 mostra um espectro de emissão típico para amostra de (a) sombra e (b) batom.

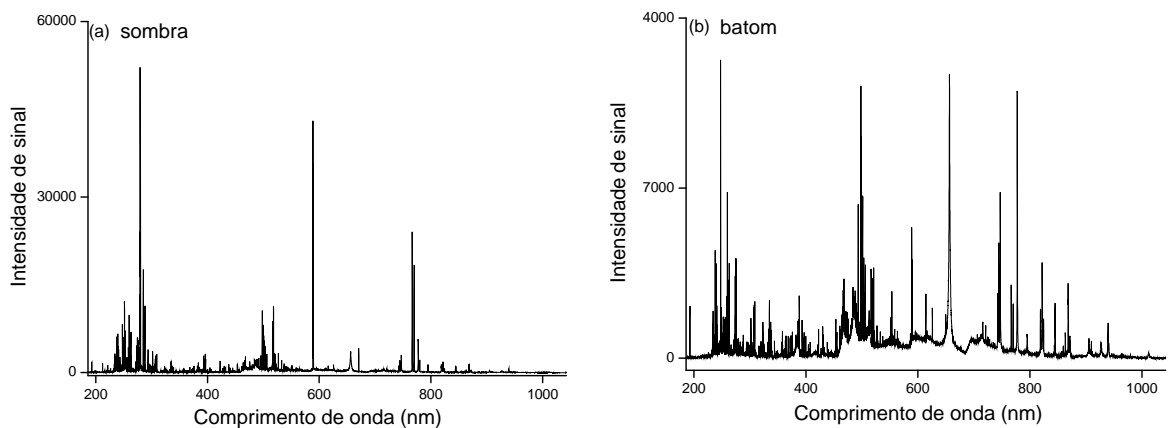


FIGURA 2.4 2- Espectro de emissão típico para amostra de (a) sombra e (b) batom obtidos pelo LIBS.

### 2.4.2 – Análise exploratória dos elementos em cosméticos

Após avaliar e identificar as melhores condições de trabalho do LIBS, as 46 amostras foram analisadas e 4600 espectros foram obtidos (10 pontos e 10 pulsos por ponto). No tratamento dos dados calculou-se a média dos pontos e pulsos e uma matriz com 46 linhas (amostras) e 12288 colunas foi calculada, uma vez que utilizou-se toda a faixa espectral obtida com as análises (186,872 - 1042,026).

Para o cálculo da PCA, os dados foram centrados na média e oito classes diferentes foram consideradas: cor (13 cores diferentes), origem (Brasil, EUA e China), marca (10 marcas diferentes), preço (2 faixas de preço), características (opaco e cintilante), público (adulto e infantil), tipo (sombra e batom) e legislação (acima e abaixo do limite estipulado –  $5 \text{ mg kg}^{-1}$ ). Um modelo com 4 componentes principais e uma variância explicada com 84 % dos dados foi gerada. Os gráficos de loadings e scores foram analisados conjuntamente e podem ser observados na Figura 2.4.2 e Figura 2.4.3, respectivamente.

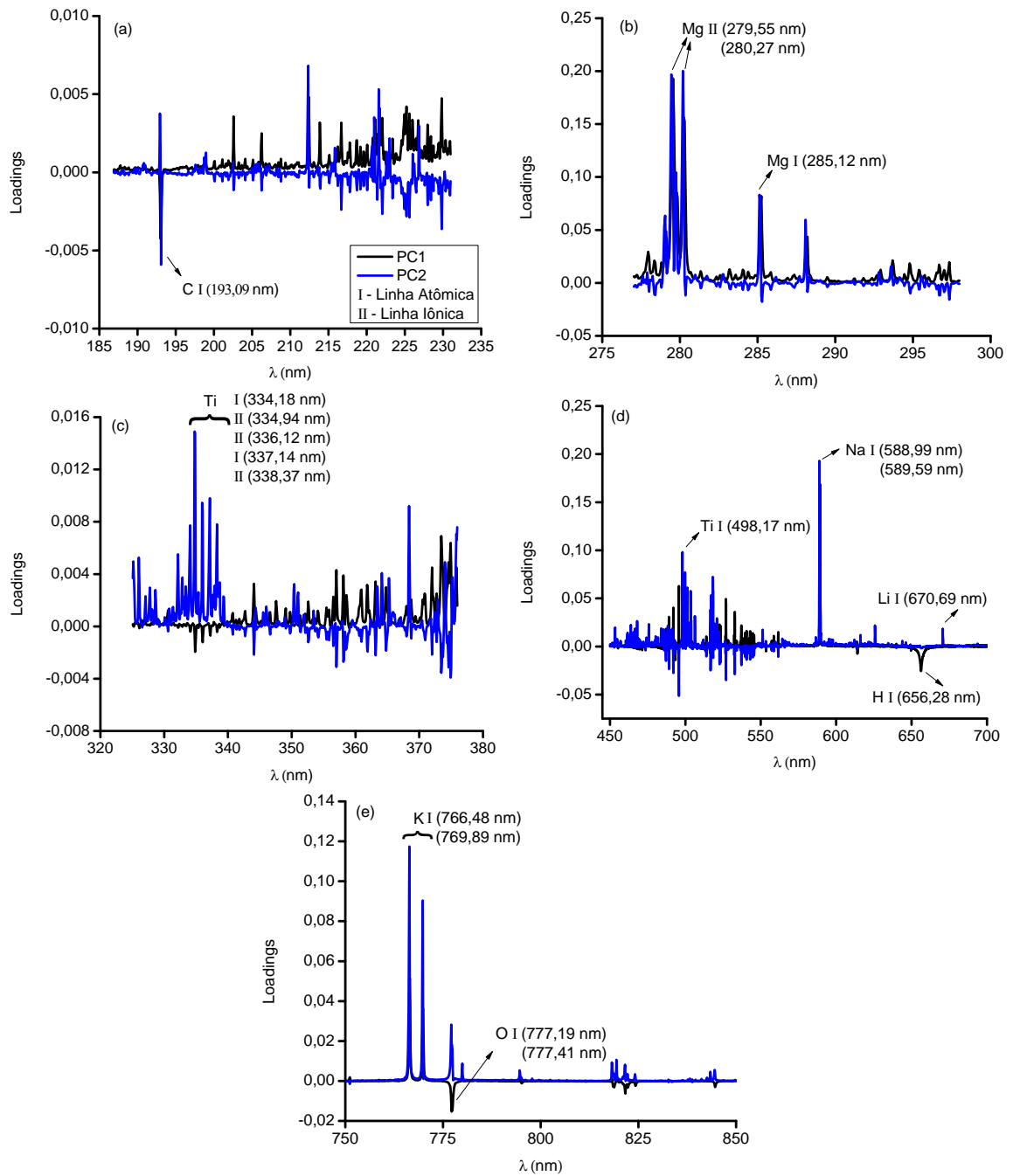


FIGURA 2.4.3 - Gráfico de Loadings dos resultados obtidos das amostras de batom e sombra por LIBS.

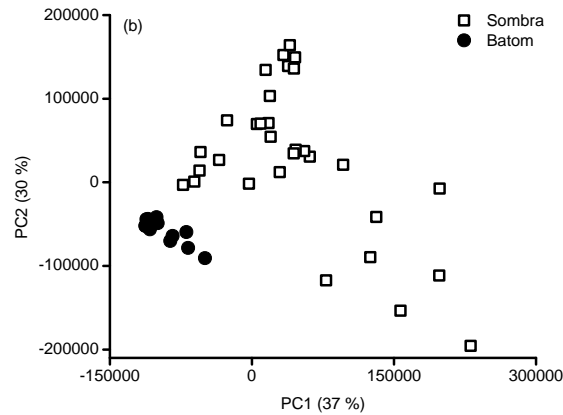


FIGURA 2.4.4 - Gráfico de Scores dos resultados obtidos das amostras de batom e sombra por LIBS.

Ao analisarmos todas as classes consideradas, visualizou-se uma nítida separação apenas na classe tipo (sombra e batom). As amostras de batom estão localizadas na parte negativa da PC1 e PC2 (Figura 2.4.3). Ao relacionarmos os gráficos de loadings (Figura 2.4.2) com os scores, observa-se que as amostras de batom possuem sinais intensos para os elementos C, H e O, enquanto que as amostras de sombra, localizadas na parte positiva na PC1 e PC2, podem ser correlacionadas com sinais dos elementos Li, Mg, Na, K e Ti. Isso indica uma diferença na composição das amostras analisadas, uma vez que as amostras de batom possuem uma base orgânica e oleosa maior que as amostras de sombra. Por outro lado, as amostras de sombra possuem uma maior concentração de elementos como o Ti, responsável por alterar a textura da amostra e fornecer uma característica mais opaca.

Através da análise exploratória dos dados, foi possível observar que não há uma diferença significativa entre as amostras de diferentes países e diferentes públicos ao ponto de criar agrupamentos naturais perceptíveis pela PCA. Isso indica que as amostras fabricadas em diferentes países e públicos não possuem formulações muito distintas perceptíveis nos espectros de emissão. No caso dos cosméticos destinados às crianças serem tão semelhantes aos cosméticos para adultos, pode-se apresentar como um problema, uma vez que a pele infantil é mais sensível e suscetível às irritações.

### 2.4.3 – Proposição de modelos de classificação – SIMCA e KNN

Todas as amostras de cosméticos analisadas por LIBS possuem valores de concentração obtidos por ICP OES. Primeiramente realizou-se uma seleção da faixa espectral dos dados obtidos por LIBS, baseado no gráfico de loadings (análise exploratória), sendo que a região selecionada foi a que apresentava os maiores sinais e que compreendia as emissões dos elementos de interesse (182,872 - 314,201 nm; 403,655 – 579,892 nm).

O primeiro modelo proposto utilizou como ferramenta o SIMCA. Nesse caso, a classe considerada foi apenas a legislação, pois o principal interesse era classificar as amostras acima e abaixo do valor seguro para a utilização (5 mg kg<sup>-1</sup>). Os dados foram centrados na média e foi calculada uma PCA para cada classe. O número de componentes principais foi selecionado, baseado no valor da variância explicada. Tanto para a classe abaixo da legislação (classe 1), quanto para a classe acima da legislação (classe 2), foram selecionadas 4 componentes principais e a variância explicada foi de 88 e 89 %, respectivamente.

O modelo SIMCA proposto foi avaliado de acordo com a projeção de classes, poder de discriminação e a distância interclasse (ICD, do inglês *interclass distance*). Desta forma, calculou-se a distância entre as classes 1 e 2 e o valor obtido foi de 2,94, indicando que não há sobreposição das classes. Para ser considerado um modelo ideal, esse valor da distância interclasse deveria ser superior a 3, entretanto o valor obtido foi próximo ao valor ideal, podendo ser consideradas classes distintas<sup>46</sup>.

De acordo com o modelo, a classe 1 possui 100 % de exatidão, ou seja, das 30 amostras abaixo da legislação, todas foram preditas corretamente. Para a classe 2, das 16 amostras acima da legislação, 15 foram preditas corretamente (94 % de exatidão). Apenas uma única amostra foi considerada não pertencente a nenhuma das classes, sendo assim, o modelo proposto apresentou resultados satisfatórios.

O mesmo estudo foi realizado, entretanto, foi utilizada como ferramenta o KNN. O número de vizinhos (k) selecionados foi baseado no número de erros ocorridos na classificação das amostras, sendo assim, selecionou-se 2 vizinhos. De acordo com esse modelo, na classe abaixo da legislação foram preditas 31 amostras, sendo 1 amostra predita incorretamente, e das 16 amostras acima da legislação, 14 amostras foram preditas corretamente, ou seja, 87 % de exatidão. A Tabela 2.4.2 resume os resultados obtidos em cada modelo.

TABELA 2.4.2 – Resultados obtidos para os modelos KNN e SIMCA para as amostras de sombra e batom.

<b>Resultados para KNN (3 vizinhos)</b>		
	<b>Predito como classe 1 (abaixo)</b>	<b>Predito como classe 2 (acima)</b>
<b>Classe 1 (abaixo)</b>	30	1
<b>Classe 2 (acima)</b>	0	15
<b>Resultados para SIMCA (4 PCs para cada classe)</b>		
	<b>Predito como classe 1 (abaixo)</b>	<b>Predito como classe 2 (acima)</b>
<b>Classe 1 (abaixo)</b>	29	0 (2 amostras sem classe)
<b>Classe 2 (acima)</b>	0	15

Ambos os modelos foram satisfatórios, tanto para as classes acima como abaixo da legislação, entretanto o modelo empregando o SIMCA apresentou uma melhor precisão para ambas as classes.

## 2.5 - Conclusão parcial

Através dos resultados apresentados neste capítulo, é possível observar a utilidade da técnica LIBS nas análises de amostras de sombra e batom. Após a otimização dos parâmetros instrumentais da técnica foi possível realizar análises rápidas, sem o tratamento prévio das amostras.

Além disso, o uso das ferramentas quimiométricas mostrou-se de grande valia, tanto na otimização dos parâmetros instrumentais como no tratamento obtido nas análises.

Foi possível propor dois modelos de classificação empregando as informações prévias de concentração obtidas pelas análises por ICP OES e GF AAS (capítulo 1) e os resultados obtidos pela análise direta das amostras em LIBS. Os dois modelos, SIMCA e KNN previram corretamente as 30 amostras com valores abaixo da legislação e das 16 amostras abaixo da legislação foram previstas corretamente 15 e 14, respectivamente.

Sendo assim, o uso conjunto da técnica LIBS com as ferramentas quimiométricas mostrou-se vantajoso e satisfatório.



## **Capítulo 3**

---

**Emprego da Espectroscopia de emissão com plasma induzido por laser (LIBS) e Espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente após ablação com laser (LA-ICP OES) para análise de protetor solar**

### 3.1 – Introdução

Os protetores solares são largamente utilizados para a proteção da pele dos danos solares, prevenir queimaduras, reduzir o envelhecimento prematuro e o risco de câncer de pele e é definido como qualquer produto cosmético contendo filtros UV em sua formulação<sup>47,48</sup>.

Os agentes ativos dos protetores solares são classificados em duas categorias: (i) filtros ultravioletas (UV) inorgânicos compostos basicamente de óxidos de metais e (ii) filtros UV orgânicos, os quais são classificados em filtros UVA ou UVB<sup>48,49</sup>.

O fator de proteção solar (FPS), estipulado no rótulo de cada protetor solar, é dependente da quantidade de produto aplicado e da composição de ingredientes ativos. Apesar desses ingredientes utilizados na manufatura serem inócuos à saúde, um controle analítico da composição final é uma questão de grande interesse, uma vez que a matéria prima empregada pode conter alguns contaminantes, como por exemplo, o Ni, que é um dos maiores responsáveis por causar reações alérgicas na pele<sup>47</sup>.

Existem algumas legislações a respeito de protetores solares, entretanto, poucas substâncias presentes nesses produtos são regulamentadas. Segundo as legislações dos EUA e do Brasil, os óxidos de Ti e Zn ( $\text{TiO}_2$  e  $\text{ZnO}$ ), por exemplo, possuem uma concentração máxima permitida de 25 % ( $\text{m m}^{-1}$ ) para o Ti e 24 (EUA) e 25 (Brasil) % para o Zn<sup>50,51</sup>.

Na literatura, não existe um método oficial para a determinação de contaminantes inorgânicos em protetores solares e poucos trabalhos com métodos desenvolvidos têm sido reportados na literatura.

ZACHARIADIS et al.<sup>47</sup>, por exemplo, desenvolveram um método para a determinação multielementar de Ti, Al, B, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Pb e Zn em cremes e protetores solares, utilizando ICP OES. No procedimento experimental foram propostos dois tratamentos das amostras: (i) digestão ácida total em frascos fechados (ii) introdução da amostra em forma de emulsão. Segundo os autores, o uso de emulsões mostrou-se ineficiente para algumas amostras devido à alta viscosidade das soluções e insolubilidade.

SALVADOR et al.<sup>48</sup> propuseram um método para a determinação de  $\text{TiO}_2$  em protetor solar por ICP OES, empregando digestão ácida e radiação micro-ondas para o preparo da amostra. Além disso, os autores propuseram uma

metodologia para a determinação de ZnO e Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, utilizando a emulsificação da amostra em água com surfactante não iônico e IBMK (metil isobutil cetona), seguido pela determinação por F AAS. Os resultados obtidos pelo método proposto foram comparados com um método de referência na literatura.

Um dos desafios na análise de protetores solares é com relação à matriz, pois os protetores solares correspondem a uma emulsão semissólida de misturas de água e óleo. A matriz complexa desses materiais dificulta a análise empregando técnicas analíticas clássicas, pois exige um tratamento laborioso e o emprego de muitos reagentes<sup>52</sup>.

Técnicas como a LIBS e o acoplamento de um sistema de ablação com laser com o ICP OES, demonstram um grande potencial para esse tipo de análise, pois entre as principais vantagens estão: a análise direta da amostra sólida, líquida ou gasosa, sem a necessidade prévia de digestão ou com o mínimo de pré-tratamento, a utilização de uma pequena quantidade de amostra, sendo consideradas técnicas pouco destrutivas, além da possibilidade de portabilidade, no caso da LIBS.

No caso do LA-ICP OES, o laser é utilizado para a vaporização inicial da amostra e a introdução direta, de partículas de ablação, no plasma do ICP OES, utilizando um fluxo de um gás de arraste. De maneira geral, a configuração do LA-ICP OES consiste em um laser, uma câmara de ablação e um ICP OES utilizado como fonte de ionização e detector<sup>53</sup>.

A análise direta empregando LIBS e LA-ICP OES, apesar do considerável aumento de interesse, ainda é um desafio na química analítica. Na literatura, associando análise de protetores solares com LIBS ou ablação com laser, foi encontrado apenas o trabalho de MENNEVEUX et al.<sup>52</sup>, que determinaram Ti em amostras de protetor solar por LIBS. Os autores depositaram uma fina película da amostra em um suporte de alumínio, e o pulso de laser foi incidido no mesmo, formando um plasma de alumínio e ocorrendo uma ablação indireta da amostra. Realizou-se um estudo para selecionar a melhor linha de emissão para determinação de Ti e quatro amostras foram analisadas, uma vez que foram construídas curvas de calibração utilizando padrões preparados com um creme (que não continha Ti) e misturado com diferentes proporções de um sólido contendo nanopartículas de TiO<sub>2</sub>. A linha de emissão selecionada para o estudo foi a 390,054 nm e as concentrações de Ti variaram de 24,1 a 37,2 mg g<sup>-1</sup>. Os resultados obtidos

foram comparados com os resultados adquiridos com outras dez linhas de Ti e, segundo os autores, apresentaram uma boa concordância.

### **3.2 – Objetivo específico**

Demonstrar a aplicabilidade da técnica LIBS e da LA-ICP OES na análise de protetor solar em combinação com as ferramentas quimiométricas para a análise exploratória e comparar os resultados obtidos de três equipamentos, dois sistemas LIBS e um LA-ICP OES.

### **3.3 – Materiais e Métodos**

#### **3.3.1 – Amostras**

Vinte amostras de protetor solar foram selecionadas para a realização desse estudo, sendo que essas amostras são provenientes de três diferentes países (Brasil, França e EUA), de diferentes fatores de proteção solar (FPS 15-60), e duas cores diferentes (1 amostra de coloração bege e 19 amostras de coloração branca). Parte das amostras foi adquirida no comércio de São Carlos e outras no comércio de Miami-EUA.

#### **3.3.2 – Reagentes e Soluções**

Em todos os experimentos foram empregados reagentes de grau analítico e para o preparo das soluções, água deionizada (resistividade de  $18,2 \Omega\text{M cm}^{-1}$ ) foi produzida utilizando um equipamento Milli-Q<sup>®</sup> Plus Total Water System (Millipore Corp., Bedford, MA, EUA). Para o preparo das amostras, utilizou-se  $\text{H}_2\text{O}_2$  (30% m m<sup>-1</sup>) (Synth, Diadema, SP, Brasil),  $\text{HNO}_3$  (Synth) previamente purificado utilizando um sistema subboiling (Distillacid<sup>™</sup>BSB-939-IR, Berghof, Eningen, Alemanha) e Triton X-100 (5 % m v<sup>-1</sup>) (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, EUA).

Soluções multielementares foram preparadas diariamente após sucessivas diluições das soluções estoques de  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  de Al, Ni, Ti e Zn (Qhemis, Jundiaí, SP, Brazil). As diluições foram realizadas em  $\text{HNO}_3$   $0,67 \text{ mol L}^{-1}$ .

Os materiais empregados nesse trabalho foram descontaminados em banho de  $\text{HNO}_3$  10 % (v v<sup>-1</sup>) por um período de 24 h e posteriormente enxaguados com água deionizada e para a secagem, o material foi deixado em capela de fluxo laminar (Veco, Campinas, SP, Brasil).

### 3.3.3 – Equipamentos e acessórios

Um LIBS modelo J200 (Applied Spectra, Fremont, Califórnia, EUA) composto por um laser de ns-Nd:YAG com comprimento de onda de 266 nm e energia máxima de 20 mJ, e um espectrômetro de 6 canais CCD que abrange uma janela espectral de 190 a 1040 nm, com resolução espectral menor de 0,1 nm e um LIBS RT100HP (Applied Spectra) composto por um laser de ns-Nd:YAG de comprimento de onda de 1064 nm e com energia máxia de 50 mJ, equipado com espectrômetro Czerny Turner com uma janela espectral de 187 a 855 nm, com resolução menor de 0,1 nm e um detector ICCD, foram empregados para as análises. Foi utilizado dois sistemas LIBS, pois observa-se que são dois equipamentos com características instrumentais diferentes. A Tabela 3.3.1 resume as principais características dos equipamentos LIBS utilizados.

TABELA 3.3.1 – Características dos equipamentos utilizados na análise de protetor solar

Características	LIBS J-200	LIBS RT100HP
Laser	Nd:YAG	Nd:YAG
Comprimento de onda do laser (nm)	266	1064
Energia máxima do laser (mJ)	20	50
Detector	CCD	ICCD
Resolução espectral (nm)	<0,1	<0,1
Janela espectral (nm)	190-1040	187-855

Além disso, foi utilizado um ICP OES (PerkinElmer, modelo Optima 7300 DV, Waltham, MA, EUA) equipado com um policromador Echelle e acoplado a um laser de ns-Nd:YAG com comprimento de onda de 213 nm (New Wave Research, Fremont, CA, USA).

Para as análises quantitativas, foi utilizado um ICP OES, um espectrômetro de absorção atômica com chama sequencial rápido (FS F AAS, do inglês *fast sequential flame atomic absorption spectrometry*) e um espectrômetro de fluorescência de raio-X (XRF, do inglês *X-ray fluorescence*). O ICP OES (modelo iCAP 6000, Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA) empregado para as determinações de Al, Ni e Ti, permite realizar determinação sequencial nos modos de visão axial e radial. As determinações de Zn foram realizadas pelo FS F AAS (AA240FS; Varian, Mulgrave, Austrália), que possui uma lâmpada de deutério para correção da radiação de fundo e lâmpada de catodo oco (Zn) como fonte de

radiação primária. Os parâmetros resolução espectral e corrente da lâmpada de catodo oco foram utilizados de acordo com as recomendações do fabricante e em todas as análises empregou-se uma chama ar-acetileno ( $13,5 \text{ L min}^{-1}/2,0 \text{ L min}^{-1}$ ). As determinações de Ti foram realizadas por XRF (EDX-720, Shimadzu) com uma faixa de detecção de Na-U e operado com 50 kV no tubo de raio X, alvo de Rh e colimador de 10 mm.

Para o preparo da amostra, foi utilizado um forno micro-ondas (Speedwave four, Berghof, Alemanha) equipado com 12 frascos (TFM™-PTFE) com volume interno de 100 mL (DAP-100) e para a análise exploratória dos dados, foi empregado o programa computacional *Pirouette Multivariate Data Analysis Software*, versão 4.5 (Infometrix, Bothell, WA, EUA).

### 3.3.4 – Preparo das amostras

Para as análises empregando LIBS e LA-ICP OES, poucos microlitros da amostra foram aplicados diretamente em uma lâmina de vidro de microscópio e secas durante a noite em uma estufa a 80 °C. Nas análises por LIBS, foram selecionados aleatoriamente 25 pontos nas amostras e foram realizados 5 pulsos por ponto. No caso do LA-ICP OES, uma linha de 1,5 cm foi selecionada e a análise foi realizada durante 38 segundos com 5 réplicas.

Para o preparo das amostras para as análises quantitativas, empregou-se radiação micro-ondas. A massa de amostra utilizada foi de 150 mg e adicionou-se 5 mL de  $\text{HNO}_3$  ( $2 \text{ mol L}^{-1}$ ), 2 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e 1 mL de Triton X-100 (5 % m v<sup>-1</sup>). O programa de aquecimento consistia em duas etapas: (1) 5 minutos de rampa (800 W), 5 minutos de patamar (800 W), (2) 5 minutos de rampa (1800 W) e 30 minutos de patamar (1800 W). A temperatura e pressão máximas para as etapas 1 e 2 foram 180 °C e 70 bar e 210 °C e 70 bar, respectivamente. A digestão das amostras foi realizada em triplicata com e sem adição de solução padrão, com o intuito de verificar possíveis perdas do analito durante o preparo e calcular a recuperação. A concentração final adicionada foi de  $25 \text{ mg L}^{-1}$  de Al, Ni, Ti e Zn.

## 3.4 – Resultados

### 3.4.1 – Otimização dos parâmetros instrumentais do LIBS e LA-ICP OES

Para a seleção dos parâmetros instrumentais dos dois sistemas LIBS e do LA-ICP OES, realizou-se um estudo empregando um planejamento fatorial fracionário  $2^{4-1}$  com um experimento adicional no ponto central, resultando em 9 experimentos. As quatro variáveis estudadas para o sistema LIBS J-200 foram: porcentagem de energia do laser, tamanho do spot, tempo de atraso e frequência. Para o LIBS RT100HP, as quatro variáveis foram porcentagem de energia do laser, tempo de atraso, frequência e velocidade e os parâmetros estudados para o sistema LA-ICP OES foram vazão do gás de arraste, porcentagem de energia do laser, frequência e tamanho do spot. Os parâmetros instrumentais do ICP OES foram utilizados de acordo com a recomendação do fabricante. As Tabelas 3.4.1, 3.4.2 e 3.4.3 mostram os 9 experimentos realizados com suas respectivas condições para o LIBS J-200, RT100HP e LA-ICP OES, respectivamente.

TABELA 3.4.1 - Planejamento fatorial fracionário  $2^{4-1}$  para otimização dos parâmetros instrumentais do J-200

Experimento	Porcentagem de Energia (%)		Frequência (Hz)		Tempo de atraso ( $\mu\text{s}$ )		Tamanho do Spot ( $\mu\text{m}$ )	
	Normalizado	Real	Normalizado	Real	Normalizado	Real	Normalizado	Real
1	0	55	0	2	0	1,2	0	150
2	-1	20	-1	1	-1	0,4	-1	100
3	1	90	-1	1	-1	0,4	1	200
4	-1	20	1	3	-1	0,4	1	200
5	1	90	1	3	-1	0,4	-1	100
6	-1	20	-1	1	1	2	1	200
7	1	90	-1	1	1	2	-1	100
8	-1	20	1	3	1	2	-1	100
9	1	90	1	3	1	2	1	200

TABELA 3.4.2 - Planejamento fatorial fracionário  $2^{4-1}$  para otimização dos parâmetros instrumentais do RT100HP

Experimento	Velocidade ( $\text{mm s}^{-1}$ )		Porcentagem de Energia (%)		Frequência (Hz)		Tempo de atraso ( $\mu\text{s}$ )	
	Normalizado	Real	Normalizado	Real	Normalizado	Real	Normalizado	Real
1	0	0,07	0	60	0	2	0	2
2	-1	0,04	-1	30	-1	1	-1	1
3	1	0,1	-1	30	-1	1	1	3
4	-1	0,04	1	90	-1	1	1	3
5	1	0,1	1	90	-1	1	-1	1
6	-1	0,04	-1	30	1	3	1	3
7	1	0,1	-1	30	1	3	-1	1
8	-1	0,04	1	90	1	3	-1	1
9	1	0,1	1	90	1	3	1	3



TABELA 3.4.3 - Planejamento fatorial fracionário  $2^{4-1}$  para otimização dos parâmetros instrumentais do LA-ICP OES

Experimento	Tamanho do Spot ( $\mu\text{m}$ )		Vazão do gás ( $\text{Lmin}^{-1}$ )		Porcentagem de Energia (%)		Frequência (Hz)	
	Normalizado	Real	Normalizado	Real	Normalizado	Real	Normalizado	Real
1	0	150	0	0,5	0	45	0	6
2	-1	100	-1	0,3	-1	20	-1	2
3	1	200	-1	0,3	-1	20	1	10
4	-1	100	1	0,7	-1	20	1	10
5	1	200	1	0,7	-1	20	-1	2
6	-1	100	-1	0,3	1	70	1	10
7	1	200	-1	0,3	1	70	-1	2
8	-1	100	1	0,7	1	70	-1	2
9	1	200	1	0,7	1	70	1	10

Para todos os experimentos de otimização, utilizou-se uma amostra de protetor solar FPS 30, de origem francesa, e adicionou-se 10 mg L<sup>-1</sup> de Al, Ni, Ti, Zn e 500 mg L<sup>-1</sup> de Y, utilizado como padrão interno. A amostra foi adicionada em uma lâmina de microscópio e seca a 80 °C em estufa durante a noite.

O sinal do LA-ICP OES foi obtido em modo transiente, com 30 s de leitura apenas inserindo argônio para a aquisição do sinal do branco, seguido de 37 s de ablação da amostra. Posteriormente, houve a inserção de gás argônio por mais 80 s, para a remoção de resíduos. O gás argônio foi utilizado no plasma como gás auxiliar e como gás de transporte das partículas da ablação. Como nesse caso o sinal foi obtido em modo transiente, o modo de ablação foi realizado em linha, para que houvesse um fluxo constante da amostra no plasma do ICP OES.

Para identificar as melhores condições de trabalho nas faixas estudadas, analisou-se as respostas em termos de RSD e razão sinal-ruído (SNR, do inglês *signal-to-noise ratio*), pois o intuito era obter sinais intensos e com boa precisão. Sendo assim, selecionou-se regiões no espectro que continham a região dos analitos de interesse, de forma, que para os sistemas LIBS resultaram 12 respostas e para o LA-ICP OES 16 respostas. Como várias respostas foram analisadas simultaneamente, utilizou-se a Equação 1 para os valores de SNR e a Equação 4 para os valores de RSD. Com os valores de desejabilidade individuais obtidos, calculou-se a desejabilidade global, utilizando a Equação 2. Os valores de desejabilidades global para os LIBS J-200 e RT100HP e para o LA-ICP OES podem ser visualizados na Tabela 3.4.4.

TABELA 3.4.4 - Valores de desejabilidades global

Experimentos	Desejabilidade global		
	LIBS J-200	LIBS RT100HP	LA-ICP OES
1	0,54	0,00	0,00
2	0,53	0,00	0,00
3	0,59	0,00	0,43
4	0,00	0,00	0,00
5	0,88	0,58	0,26
6	0,29	0,00	0,80
7	0,59	0,00	0,35
8	0,00	0,70	0,00
9	0,00	0,66	0,73

Como pode ser observado, as melhores condições de trabalho (valores próximo a 1) para o LIBS J-200 foi o experimento 5 (0,88), para o LIBS RT100HP foi

o experimento 8 (0,70) e para o LA-ICP OES foi o experimento 6 (0,80), considerando os intervalos estudados. Além disso, os contrastes foram calculados, utilizando os valores de desejabilidades global de acordo com a Equação 2, confirmando o nível selecionado das variáveis estudadas. A Tabela 3.4.5 resume as condições utilizadas para cada equipamento.

TABELA 3.4 5 - Condições otimizadas de trabalho para o LIBS J-200, RT100HP e LA-ICP OES

Parâmetros		LIBS J-200	LIBS RT100HP	LA-ICP OES
ICP OES	Modo de ablação	Pontos	Pontos	Linha
	Porcentagem de energia do laser (%)	90	90	70
	Frequência (Hz)	3	3	10
	Tempo de atraso ( $\mu$ s)	0,4	1	-
	Tamanho do Spot ( $\mu$ m)	100	-	100
	Velocidade ( $\text{mm s}^{-1}$ )	0,04	0,04	0,04
	Fluência ( $\text{J cm}^{-2}$ )	1146	-	892
	Vazão do gás de nebulização ( $\text{L min}^{-1}$ )	-	-	0,3
	Vazão do gás auxiliar ( $\text{L min}^{-1}$ )	-	-	0,3
	Vazão de Ar ( $\text{L min}^{-1}$ )	-	-	15
Potência de radiofrequência (W)	-	-	1500	

### 3.4.2 – Análise exploratória dos elementos em cosméticos

Com o intuito de analisar o perfil das amostras de protetor solar e comparar os resultados obtidos pelos dois sistemas LIBS e pelo LA-ICP OES, 20 amostras de diferentes países de fabricação e distintos fatores de proteção foram analisadas.

Como as análises utilizando o LIBS J-200 foram feitas com e sem a introdução de Ar, uma matriz com 11000 linhas e 61 colunas, considerando duas réplicas das amostras 12 e 17, foi gerada. No caso do LIBS RT100HP, foi gerada uma matriz com 5000 linhas e 39 colunas e para o LA-ICP OES obteve-se uma matriz com 109 linhas e 16 colunas. Nessas matrizes também foram consideradas as análises do branco (análises das lâminas de vidro).

A Tabela 3.4.6 mostra os comprimentos de onda selecionados nas matrizes para o LIBS J-200, RT100HP e LA-ICP OES.

TABELA 3.4.6 – Comprimentos de onda selecionados para os LIBS J-200, RT100HP e LA-ICP OES

Analitos	Linhas de emissão (nm) e intensidades relativas	
	LIBS	LA-ICP OES
Al	309,3 (26); 394,4 (24)	396,1 (26); 394,4 (24); 237,3 (8)
Ni	338,1 (3300); 361,0 (1300)	231,6 (1000); 232,0 (2600); 341,5 (8200)
Ti	500,9 (1200); 501,4 (11000)	334,9 (8200); 336,1 (8000); 337,3 (7600)
Zn	328,2 (500); 468,0 (300); 472,2 (400)	206,2 (500); 213,8 (800); 202,5 (500); 334,5 (800)

Primeiramente, com os dados das matrizes geradas nas análises por LIBS, realizou-se a média do perfil dos pontos e pulsos, conforme esquematizado na Figura 3.4.1:

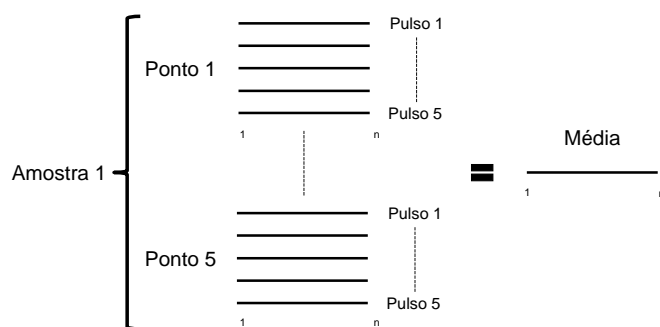


FIGURA 3.4.1 - Esquema utilizado para calcular a média do perfil obtido nas análises por LIBS.

Com esses cálculos, as matrizes foram reduzidas para 44 linhas e 61 colunas para o J-200, e 20 linhas 39 colunas para o RT100HP. Ao realizar uma análise prévia, observou-se que a introdução de Ar nas análises por LIBS J-200 não apresentou diferença significativa nos resultados, podendo ser verificado através do gráfico de Scores representado na Figura 3.4.2.

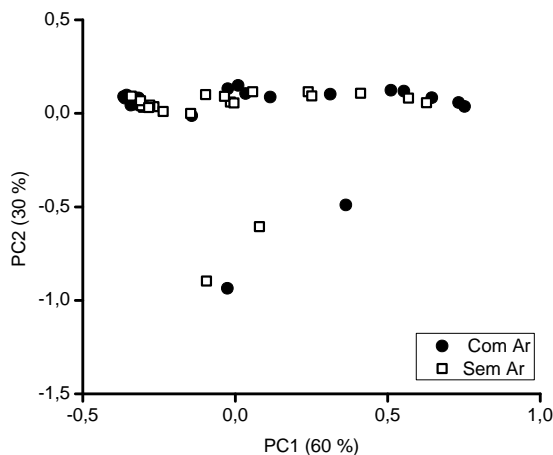


FIGURA 3.4.2 – Gráfico de Scores para as análises com e sem introdução de Ar.

Para essa análise, foi gerado um modelo, empregando como ferramenta quimiométrica a PCA. Os dados foram previamente normalizados e centrados na média e foi obtido um modelo com 3 componentes principais. Como pode ser observado na Figura 3.4.2, não houve diferença nas análises introduzindo Ar na câmara de ablação, uma vez que não existe separação no gráfico dos scores. Sendo assim, foram considerados apenas os dados sem a introdução de Ar (matriz com 22 linhas e 61 colunas) para as posteriores análises.

Os dados do LA-ICP OES foram adquiridos diferentemente. O sinal foi obtido em modo transiente e foi selecionada uma faixa (10 s), no qual o sinal obtido era constante (10 s após o início da ablação da amostra). Para cada faixa selecionada foi calculada a média e obteve-se uma matriz de 20 linhas e 16 colunas.

Essas matrizes, geradas em cada equipamento, foram empregadas para a análise de componentes principais. Os dados foram previamente normalizados (norma = 1) e centrados na média e três modelos com 3 componentes principais e 96 %, 95 % e 99 % de variância explicada foram obtidos para o LIBS J-200, RT100HP e para o LA-ICP OES, respectivamente. Para as análises exploratórias, quatro classes foram consideradas para o LIBS J-200, RT100HP e o LA-ICP OES: cor (bege ou branca), país de fabricação (Brasil, França e EUA), fator de proteção solar (45 – 60; 25 – 35 e 15 – 20) e características específicas (oleoso e livre de óleo).

A Figura 3.4.3 mostra os gráficos de scores e loadings para os três equipamentos utilizados.

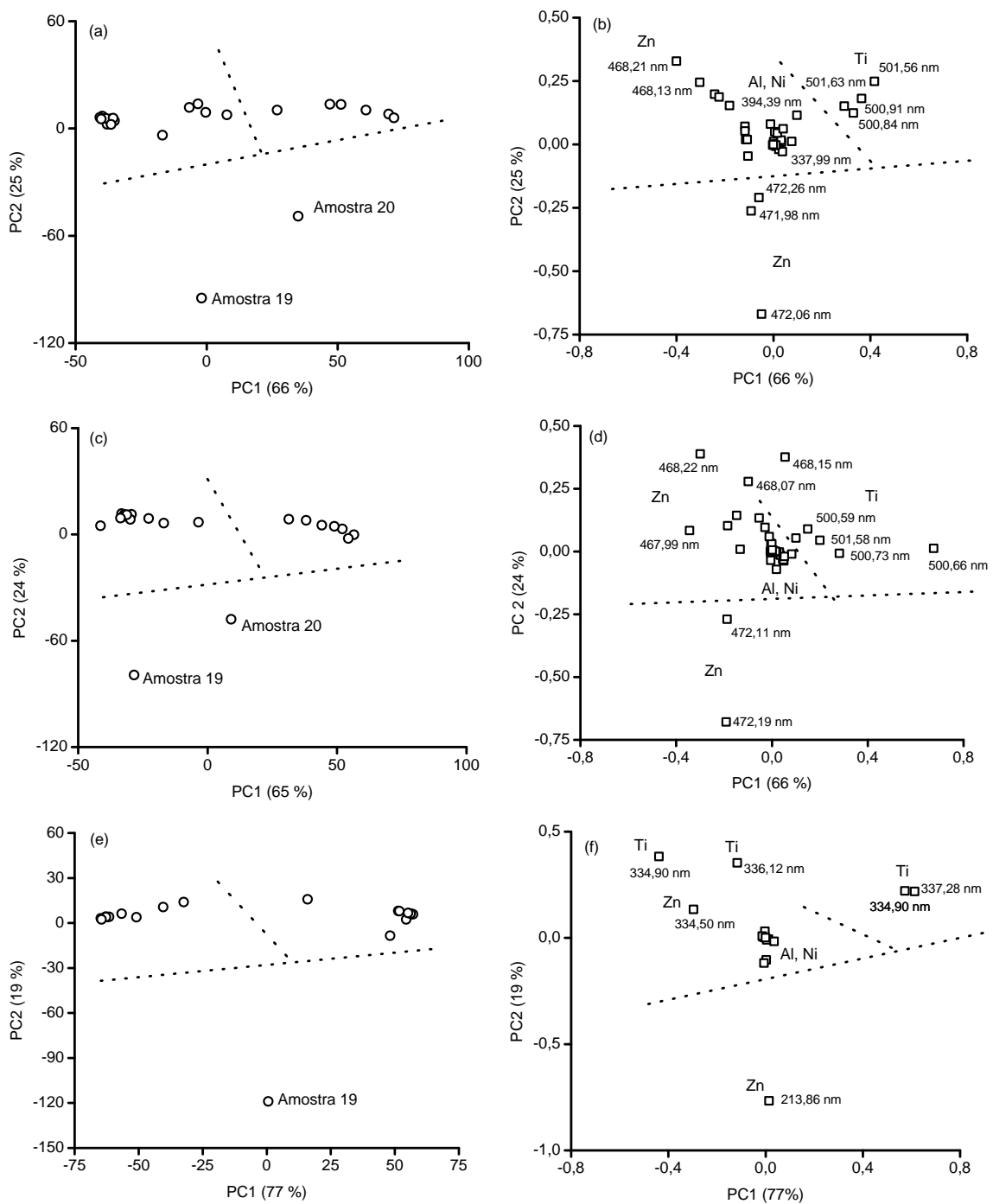


FIGURA 3.4.3 - Gráfico de Scores para o (a) LIBS J-200, (c) LIBS RT100HP, (e) LA-ICP OES e Loadings (b) LIBS J-200, (d) LIBS RT100HP, (f) LA-ICP OES para as amostras de protetor solar, utilizando a média do perfil.

Ao realizar a análise conjunta dos gráficos de scores e loadings, observa-se uma grande semelhança do perfil dos gráficos obtidos com os três equipamentos diferentes.

Não houve distinção entre as classes consideradas para os LIBS e para o LA-ICP OES. Entretanto, observa-se a formação de três agrupamentos, referentes principalmente às concentrações de Ti e Zn. Verifica-se que as amostras 19 e 20 foram discriminadas pela PC2 e estão correlacionadas às altas concentrações de Zn. No caso do LA-ICP OES, apenas a amostra 19 foi separada pela PC2 devido às concentrações de Zn. Na parte positiva da PC1 ocorre também a formação de um agrupamento das amostras devido aos altos teores de Ti, observadas pelas três técnicas.

Como não foi possível observar distinção das amostras através das matrizes geradas a partir da média do perfil e considerando uma faixa do espectro, optou-se por trabalhar com as alturas dos sinais para os dados obtidos pelos LIBS J-200 e RT100HP. Dessa forma, após realizar a média dos pontos e pulsos, subtraiu-se os sinais do background e obteve-se o sinal líquido da altura. A Figura 3.4.4 mostra um esquema de como foi realizada a aquisição dos dados que geraram as matrizes de dados dos LIBS.

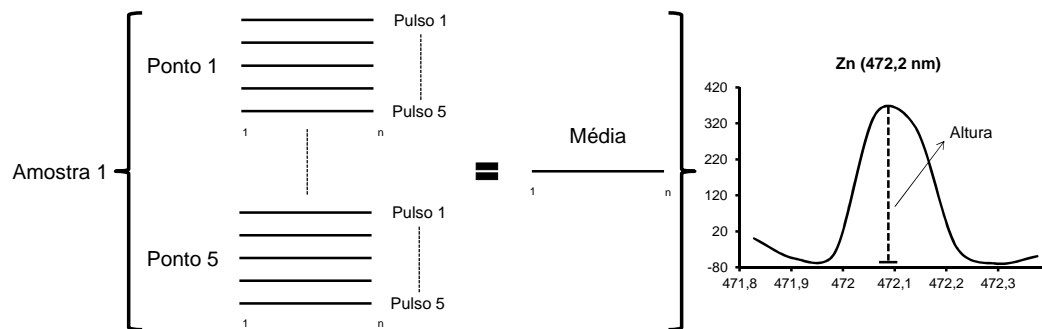


Figura 3.4.4 - Esquema utilizado para calcular a altura do sinal obtido nas análises por LIBS.

Dessa forma, duas novas matrizes foram geradas com os valores de altura do sinal, com 22 linhas e 9 colunas para o LIBS J-200 e 20 linhas e 9 colunas para o LIBS RT100HP. As mesmas classes, consideradas anteriormente (exceto as classes pontos e pulsos), foram empregadas novamente.

A Figura 3.4.5 mostra os gráficos de scores e loadings, considerando a altura do sinal, para os LIBS J-200 e RT100HP.

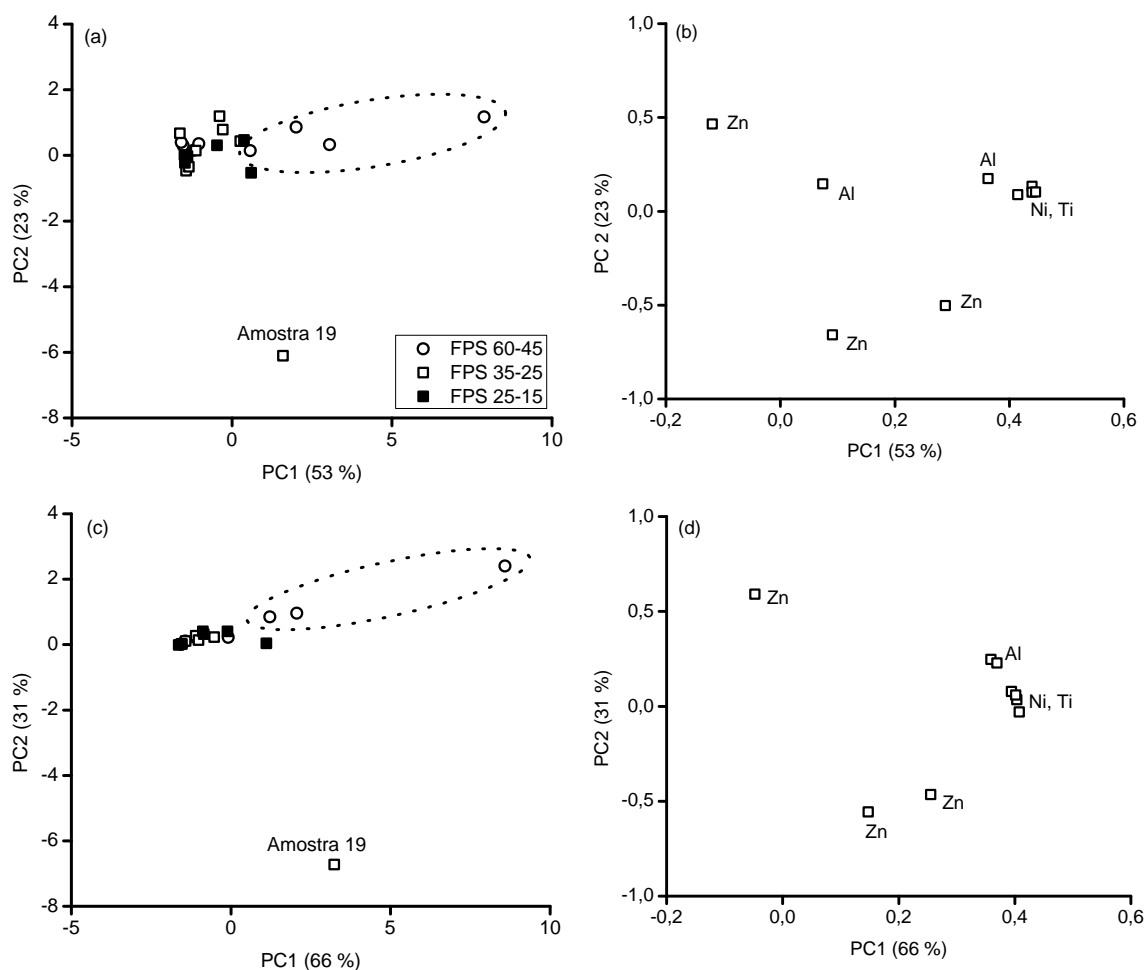


FIGURA 3.4.5 - Gráfico de Scores utilizando altura do sinal para o (a) LIBS J-200, (c) LIBS RT100HP e Loadings (b) LIBS J-200, (d) LIBS RT100HP para as amostras de protetor solar.

Os dados foram previamente autoescalados e dois modelos com 3 componentes principais para o LIBS J-200 e RT100HP foram obtidos, com 96 % e 99 % de variância explicada, respectivamente.

Ao analisar os gráficos de scores, observa-se um agrupamento das amostras com altos valores de FPS, que estão altamente relacionadas às concentrações de Al, Ni e Ti. Embora não contenha todas as amostras com altos FPS nesse agrupamento, observa-se o mesmo perfil para os dois equipamentos. A amostra 19 continua correlacionada com altos teores de Zn, confirmando o que foi observado nos dados empregando-se a média do perfil.



Além de averiguar a homogeneidade das amostras, foram realizadas análises das lâminas de vidro, onde foram depositadas as amostras. Essas medidas foram realizadas com o intuito de verificar se durante as análises das amostras, a placa de vidro não era atingida. Sendo assim, foram gerados dois modelos, utilizando a matriz com os dados de altura e incluindo os dados das lâminas. Os dados foram previamente autoescalados e um modelo com 3 componentes principais e 92 % e 98 % de variância explicada foi obtido para o LIBS J-200 e para o RT100HP, respectivamente.

A Figura 3.4.6, mostra, através dos scores, a diferença entre os sinais de emissão obtidos para as amostras e os sinais de emissão obtidos para as lâminas de vidro.

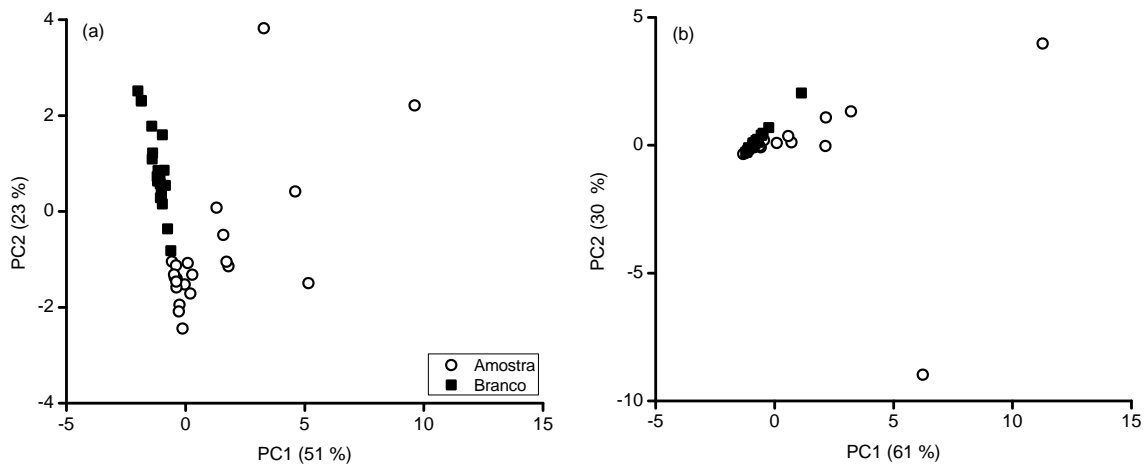


FIGURA 3.4.6 - Gráfico de Scores para o (a) LIBS J-200 e (b) LIBS RT100HP, representando as amostras e os brancos (lâminas de vidro).

Através dos gráficos de scores, é possível verificar a separação dos sinais das amostras e do branco. Embora seja possível visualizar uma mistura de algumas amostras e dos brancos no gráfico do LIBS RT100HP, esses sinais estão no ponto zero, tanto da PC1 quanto na PC2, o que indica que não se obteve sinais para os analitos, tanto para as amostras, quanto para as lâminas. Dessa forma, durante as análises do protetor solar, pode-se observar que as lâminas não foram atingidas.

Com o intuito de verificar o perfil das amostras e confirmar os valores indicados pelo fabricante no rótulo, realizou-se as análises quantitativas de duas amostras selecionadas (amostra 19, fabricada nos EUA e amostra 4, fabricada na

França), além disso, o perfil dos sinais dessas amostras (obtidos pelo LIBS J-200 e RT100HP) foram comparados e analisados.

As análises quantitativas foram realizadas empregando o ICP OES (para Al, Ni e Ti), F AAS (para o Zn) e XRF (para o Ti). Os resultados podem ser visualizados na Tabela 3.4.7.

TABELA 3.4.7 - Concentração e recuperação dos analitos determinados por ICP OES, F AAS e XRF

Amostra	Analito	Determinado (mg kg <sup>-1</sup> )	Recuperação (%)	Valor Rotulado (mg kg <sup>-1</sup> )
4	Al	0,31 ± 0,05	82	-
	Ni	<0,004	-	-
	Ti	661 ± 97	70	-
	*Zn	<0,01	-	-
19	Al	0,12 ± 0,02	89	-
	Ni	<0,004	-	-
	**Ti	17000	68	25000
	*Zn	243105 ± 1009	107	236500

\*F AAS

\*\*XRF

Através da análise dos dados, é possível verificar que os valores de concentração confirmam o perfil observado na Figura 3.4.3: a amostra 19 com altos valores de Zn e Ti e a amostra 4 (separada do agrupamento da amostra 19) com baixos valores de Zn e Ti. A concentração de Ni para as amostras selecionada estavam abaixo do limite de quantificação para as técnicas selecionadas. O resultado obtido para Zn estava em concordância com o valor rotulado em um nível de 95 % de confiança. A concentração de Ti, determinada por XRF foi de 1,7% (68 % de recuperação em relação ao valor rotulado). O valor rotulado não é um valor certificado e foi utilizado apenas como um parâmetro comparativo, uma vez que não foi encontrado material de referência certificado semelhante à matriz do protetor solar.

Para confirmar a coerência dos dados quantitativos, os sinais adquiridos pelos LIBS J-200 e RT100HP foram comparados e analisados e podem ser observados na Figura 3.4.7.

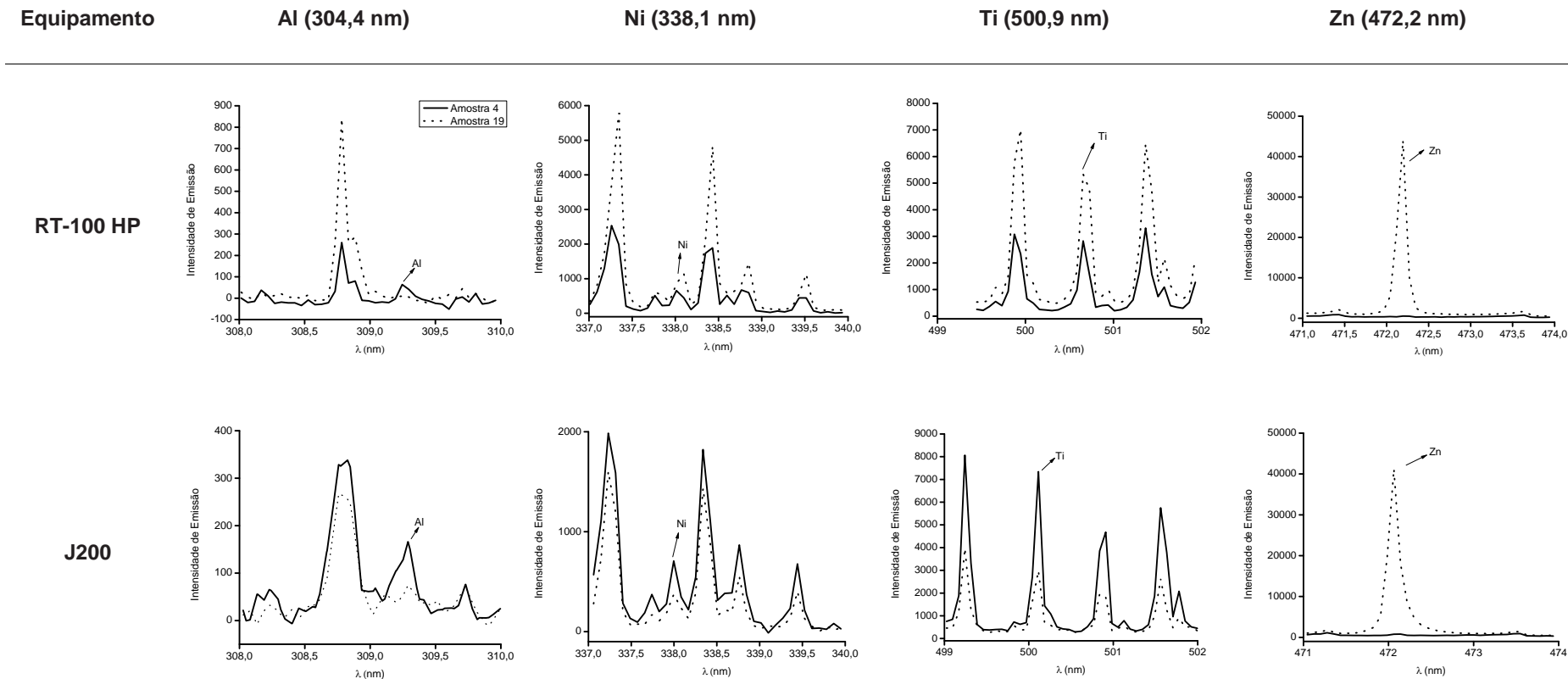


FIGURA 3.4.7 - Perfil dos sinais obtidos pelo LIBS J-200 e RT100HP.

Ao visualizar o perfil dos sinais obtidos pelos LIBS, observa-se uma boa semelhança para a maioria dos analitos, principalmente para Zn, que possui um alto sinal para a amostra 19, confirmando o resultado observado pela análise de componentes principais (Figuras 3.4.3 e 3.4.4). Além disso, os sinais dos LIBS estão coerentes com os resultados quantitativos da Tabela 3.4.7. A única exceção observada foi para o Ti, no qual a amostra 4 para o LIBS J200 apresentou um maior sinal. Esse problema pode ter sido causado problemas durante o processo de ablação da amostra e determinação desse elemento.

### **3.5 - Conclusão parcial**

Através desse trabalho foi possível combinar os resultados de três equipamentos diferentes, obtidos para as mesmas amostras e mostrar a aplicabilidade do LIBS e do LA-ICP OES em combinação com ferramentas quimiométricas.

O preparo da amostra empregado foi o mais simples, com o intuito de explorar as vantagens das análises por LIBS e LA-ICP OES. As ferramentas quimiométricas foram utilizadas para a otimização e para a análise dos dados. A partir dos resultados, é possível verificar o perfil geral das amostras de protetor em relação ao nível dos metais presentes, sendo confirmado pela análise quantitativa de duas amostras selecionadas.

## Considerações finais

Devido à necessidade do desenvolvimento de novas estratégias analíticas, que consideram os conceitos da química verde, procedimentos de preparo de amostra rápidos e eficientes e análise direta, os métodos desenvolvidos neste trabalho de doutorado mostraram-se viáveis para a determinação de metais em cosméticos.

Ao realizar uma análise geral de todas as técnicas empregadas, verificou-se que o ICP OES apesar de ser uma técnica analítica bem estabelecida, multi-elementar e com sensibilidade adequada para atender às legislações existentes na área de cosméticos, exige um laborioso pré-tratamento da amostra. As matrizes selecionadas são complexas e de difícil preparo, ao levar em consideração o uso mínimo de reagentes e sem o emprego de HF, sendo um desafio ter desenvolvido o procedimento apresentado. Além disso, o número elevado de amostras preparadas e analisadas (considerando as triplicatas com e sem adição de padrão) exigiu um de preparo com alta frequência analítica.

As técnicas que empregam a análise direta são promissoras e vantajosas, entretanto, a escassez de material de referência certificado próximo à matriz (com boa identidade de matriz) das amostras e a falta de padrões adequados para a construção de curvas de calibração dificultam as análises quantitativas, sendo um grande desafio para futuros trabalhos. Entretanto, o uso de ferramentas quimiométricas mostrou-se um grande aliado na análise dos dados fornecidos pelo LIBS e LA-ICP OES, sendo demonstrado através desse trabalho.

## Referências

- [1] [http://www.abdi.com.br/PublishingImages/HPPC/2014-NEWSLETTER%20PDS-HPPC-MAR%C3%87O\\_ABRIL.pdf](http://www.abdi.com.br/PublishingImages/HPPC/2014-NEWSLETTER%20PDS-HPPC-MAR%C3%87O_ABRIL.pdf). Acesso em: 21 de julho de 2015.
- [2] BOCCA, B.; PINO, A.; ALIMONTI, A.; FORTE, G.; "Toxic metals contained in cosmetics: A status report". *Regul. Toxicol. Pharm.*, **68**:447 - 467, 2014.
- [3] CHA, N.; LEE, J.; LEE, Y.; JEONG, H., KIM, H.; LEE, S. "Determination of iron, copper, zinc, lead, nickel and cadmium in cosmetic matrices by flame atomic absorption spectroscopy". *Anal. Lett.*, **43**:259 - 268, 2010.
- [4] VOLPE, M.G.; NAZZARO, M.; COPPOLA, R.; RAPUANO, F.; AQUINO, R.P. "Determination and assessments of selected heavy metals in eye shadow cosmetics from China, Italy, and USA". *Microchem J.*, **101**:65 - 69, 2012.
- [5] DRAELOS, Z.D. "Cosmetics and skin care products a historical perspective". *Clin. Dermatol.*, **19**:424 - 430, 2001.
- [6] SAINIO, E. L.; JOLANKI, R.; HAKALA, E.; KANERVA, L. "Metals and arsenic in eye shadows". *Contact Dermatitis*, **42**:5 - 10, 2000.
- [7] BOCCA, B; FORTE, G.; PETRUCCI, F.; CRISTAUDO, A.; "Levels of nickel and other potentially allergenic metals in Ni-tested commercial body creams". *J. Pharmaceut. Biomed.*, **44**:1197 - 1202, 2007.
- [8] BOCCA, B.; FORTE, G.; PINO, A.; ALIMONTI, A.; "Heavy metals in powder-based cosmetics quantified by ICP-MS: an approach for estimating measurement uncertainty", *Anal. Methods*, **5**:402 - 408, 2013.
- [9] AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução nº 38 de 21 de março de 2001. Diário Oficial da União, Brasília, 21 de março de 2001.
- [10] AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, Resolução nº 39, de 30 de agosto de 2010.
- [11] FDA, U. S. Food and Drug Administration, Color Additives and Cosmetics. Disponível em: <http://www.fda.gov/ForIndustry/ColorAdditives/ColorAdditivesinSpecificProducts/InCosmetics/ucm110032.htm>. Acesso em 21 de julho de 2015.
- [12] THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL. Regulation (EC) nº 1223/2009 de 30 de novembro de 2009. Official Journal of the European Union, 22 de dezembro de 2009.
- [13] HEALTH CANADA. Guidance on heavy metal impurities in cosmetics. Disponível em: < [http://www.hc-sc.gc.ca/cps-spc/pubs/indust/heavy\\_metals-metaux\\_lourds/index-eng.php](http://www.hc-sc.gc.ca/cps-spc/pubs/indust/heavy_metals-metaux_lourds/index-eng.php)>. Acesso em: 21 de julho de 2015.
- [14] BfR, BUNDESINSTITUT FÜR RISIKOBEWERTUNG. Kosmetische Mittel: BfR empfiehlt Schwermetallgehalte über Reinheitsanforderungen der Ausgangsstoffe zu regeln, Stellungnahme nº. 025/2006. Disponível em: [http://www.bfr.bund.de/cm/343/kosmetische\\_mittel\\_bfr\\_empfiehl\\_schwermetallgehalte\\_ueber.pdf](http://www.bfr.bund.de/cm/343/kosmetische_mittel_bfr_empfiehl_schwermetallgehalte_ueber.pdf). Acesso em 21 de julho de 2015.
- [15] YAMADA, M.; MINAMI, T.; YAMADA, G.; TOHNO, Y.; TOHNO, S; IKEDA, Y.; TASHIRO, T.; KOHNO, Y., K.; "Different element ratios of red cosmetics excavated from ancient burials of Japan" *Sci. Total Environ.*, **199**:293 - 298, 1997
- [16] SALVADOR, A., PASCUAL-MARTÍ, M. C., ARAGÓ, E.; CHISVERT, A.; MARCH, J. G.; "Determination of selenium, zinc and cadmium in antidandruff shampoos by atomic spectrometry after microwave assisted sample digestion" *Talanta*, **51**:1171 - 1177, 2000.
- [17] LAVILLA, I.; CABALEIRO, N.; COSTAS, M.; CALLE, I.; BENDICHO, C. "Ultrasound-assisted emulsification of cosmetic samples prior to elemental analysis by different atomic spectrometric techniques". *Talanta*, **80**:109 - 116, 2009.

- [18] JIA, X.; HAN, Y.; WEI, C.; DUAN, T.; CHEN, H.; J.; "Speciation of mercury in liquid cosmetic samples by ionic liquid based dispersive liquid-liquid microextraction combined with high-performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry". *Anal. At. Spectrom.*, **26**:1380 - 1386, 2011.
- [19] SOARES, A. R.; NASCENTES, C. C.; "Development of a simple method for the determination of lead in lipstick using alkaline solubilization and graphite furnace atomic absorption spectrometry". *Talanta*; **105**:272 - 277, 2013.
- [20] SA LIU; HAMMOND, S. K.; ROJAS-CHEATHAM, A.; "Concentrations and Potential Health Risks of Metals in Lip Products" *Environ. Health Persp.*, **121**:705 - 710; 2013.
- [21] CONTADO, C.; PAGNONI, A. "A new strategy for pressed powder eye shadow analysis: allergenic metal ion content and particle size distribution". *Sci. Total Environ.*, **432**: 173-179, 2012.
- [22] KRUG, F. J. "Métodos de preparo de amostra; fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para a análise elementar, 1 ed.; Editado por Francisco José Krug, Piracicaba, 2008, p. 1-11.
- [23] PICCININI, P.; PIECHA, M.; TORRENT, S.F. "European survey on the content of lead in lip products". *J. Pharmaceut. Biomed.*, **76**: 225-233, 2013.
- [24] American Chemical Society, Disponível em: <http://www.acs.org/content/acs/en/greenchemistry/what-is-green-chemistry/principles/12principles-of-green-chemistry.html>. Acessado em 30 de julho de 2015.
- [25] ROSSI, N. J.; UNFRIED, K. G.; "NOx control with hydrogen peroxide"; *Met. Finish.*, **95**: 16-19, 1997.
- [26] MANIASSO, N. "Ambientes micelares em química analítica". *Quim. Nova*, **24**(1): 87-93, 2001.
- [27] DERRINGER, G.; SUICH, R. "Simultaneous optimization of several response variables". *J. Qual. Technol.*, **122**(4):14-219, 1980.
- [28] PEREIRA-FILHO, E. R. Planejamento fatorial em química: maximizando a obtenção de resultados, EdUFSCar, 2015. p 21 - 26.
- [29] D. SCHIAVO, L. C. TREVIZAN, E. R. PEREIRA-FILHO AND J. A. NOBREGA, "Evaluation of the use of multiple lines for determination of metals in water by inductively coupled plasma optical emission spectrometry with axial viewing". *Spectrochim. Acta, Part B*, **64**:544 - 548, 2009.
- [30] International Union of Pure and Applied Chemistry - IUPAC. Disponível em: [http://iupac.org/publications/analytical\\_compendium/](http://iupac.org/publications/analytical_compendium/). Acessado em 16 de abril de 2015.
- [31] Instituto Nacional de Metrologia - INMETRO, Normalização de Qualidade, Orientação sobre Validação de Métodos Analíticos. Disponível em: [http://www.inmetro.gov.br/sidoq/arquivos/Cgcre/DOQ/DOQ-Cgcre-8\\_04.pdf](http://www.inmetro.gov.br/sidoq/arquivos/Cgcre/DOQ/DOQ-Cgcre-8_04.pdf). Acessado em 16 de abril de 2015.
- [32] FDA, U. S. Food and Drug Administration, Color Additives and Cosmetics. Disponível em: <http://www.fda.gov/downloads/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/UCM377005.pdf>. Acessado em 10 de abril de 2015.
- [33] CAPELLI, C.; FOPPIANO, D.; VENTURELLI, G.; CARLINI, E., MAGI, E.; IANNI, C. "Determination of arsenic, cadmium, cobalt, chromium, nickel, and lead in cosmetic face-powders: optimization of extraction and validation". *Anal. Lett.*, **47**(7): 1201-1209, 2014.
- [34] HAHN, D. W.; OMENETTO, N.; "Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS), Part II: Review of Instrumental and Methodological Approaches to Material Analysis and Applications to Different Fields". *Appl. Spectrosc.*, **66**: 347 - 419, 2012.

- [35] FANTONI, R.; CANEVE, L.; COLAO, F.; FORNARINI, L.; LAZIC, V.; SPIZZICHINO, V.; "Methodologies for laboratory Laser Induced Breakdown Spectroscopy semi-quantitative and quantitative analysis - A review". *Spectrochim. Acta Part B*, **63**: 1097 - 1108, 2008.
- [36] SOUZA, A. M.; POPPI, R. J.; "Experimento didático de quimiometria para análise exploratória de óleos vegetais comestíveis por espectroscopia no infravermelho médio e análise de componentes principais: um tutorial, parte I". *Quim. Nova*, **35**(1): 223-229, 2012.
- [37] FERREIRA M. M. C., ANTUNES A. M., MELO M. S., VOLPE P. L. O. "Quimiometria I: calibração multivariada, um tutorial". *Quím. Nova*, **22**: 724-731, 1999.
- [38] FERREIRA, M. M. C. "Quimiometria: Conceitos, Métodos e Aplicações" Editora Unicamp, 2015. p.110 - 146.
- [39] GONDAL, M.A.; SEDDIGI, Z.S.; NASR, M.M.; GONDAL, B. "Spectroscopic detection of health hazardous contaminants in lipstick using Laser Induced Breakdown Spectroscopy". *J. Hazard. Mater.*, **175**: 726-732, 2010.
- [40] GONDAL, M. A.; DASTAGEER, M. A.; NAQVI, A. A.; ISAB, A. A.; MAGANDA, Y. W.; "Detection of toxic metals (lead and chromium) in talcum powder using laser induced breakdown spectroscopy". *Appl. Optics*, **51**(30):7395 - 7401, 2012.
- [41] SUN, Q.; TRAN, M.; SMITH, B.; WINEFORDNER, J. D., "In-situ evaluation of barrier-cream performance on human skin using laser-induced breakdown Spectroscopy" *Contact Dermatitis*, **43**:259-263, 2000.
- [42] GONDAL, M.A.; MAGANDA, Y.W.; DASTAGEER, M.A.; AL ADEL, F.F.; NAQVI, A.A.; QAHTAN, T.F.; "Detection of the level of fluoride in the commercially available toothpaste using laser induced breakdown spectroscopy with the marker atomic transition line of neutral fluorine at 731.1 nm". *Opt. Laser Technol.* **57**:32-38, 2014.
- [43] AUGUSTO, A. S. Determinação de Cd, Co, Cr, Cu, Ni e Pb em cosméticos infantis empregando técnicas espectroanalíticas. São Carlos, Programa de Pós Graduação em Química – UFSCar, 2014. Dissertação de Mestrado.
- [44] BATISTA, E. F.; AUGUSTO, A. S.; PEREIRA-FILHO, E. R.; " Determination of Cd, Co, Cr, Cu Ni and Pb in cosmetics samples using a simple method for sample preparation" *Anal. Methods*, **7**: 329-335, 2015.
- [45] BATISTA, E. F.; AUGUSTO, A. S.; PEREIRA-FILHO, E. R.; "Chemometric evaluation of Cd, Co, Cr, Cu, Ni (inductively coupled plasma optical emission spectrometry) and Pb (graphite furnace atomic absorption spectrometry) concentrations in lipstick samples intended to be used by adults and children". *Talanta*, **150**: 206-2012, 2016.
- [46] DOS SANTOS, P. M.; PEREIRA-FILHO, E. R.; "Digital image analysis – an alternative tool for monitoring milk authenticity". *Anal. Methods*, **5**:3669 - 3674, 2013.
- [47] ZACHARIADIS, G.A; SAHANIDOU, E.; "Multi-element method for determination of trace elements in sunscreens by ICP-AES". *J Pharmaceut. Biomed.*, **50**: 342–348, 2009.
- [48] SALVADOR, A; CHISVERT, A.; "Sunscreen analysis: A critical survey on UV filters determination". *Anal. Chim. Acta*, **537**: 1–14, 2005.
- [49] MELQUIADES, F.L.; FERREIRA, D.D.; APPOLONI, C.R.; LONNI, A.G.; OLIVEIRA, F.M.; DUARTE, J.C.; LOPES, F.; "Titanium dioxide determination in sunscreen by energy dispersive X-ray fluorescence methodology". *Anal. Chim. Acta*, **613**: 135–143, 2008.
- [50] FDA Department of Health and Human Services. Disponível em: <http://www.fda.gov/downloads/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm259001.pdf>. Acesso em: 27 de janeiro de 2015.



- [51] Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada N 47, de 16 de março de 2006. (D.O.U. 20/03/2006). Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/14c345804aee4083b759bfa337abae9d/Resolu%C3%A7%C3%A3o+RDC+n%C2%BA+47,+de+16+de+mar%C3%A7o+de+2006.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em 27 de janeiro de 2015.
- [52] MENNEVEUX, J.; WANG, F.; LU, S.; BAI, X.; MOTTO-ROS, V.; CHEN, Y.; YU, L.; GILON, N. "Direct determination of Ti content in sunscreens with laser-induced breakdown spectroscopy: Line selection method for high TiO nanoparticle concentration" *Spectrochim. Acta Part B*, **109**:9 - 15, 2015.
- [53] RUSSO, R. E.; MAO, X.; LIU, H.; GONZALEZ, J.; MAO, S. S.; "Laser ablation in analytical chemistry - a review". *Talanta*, **57**:425 - 451, 2002.