

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

**“AVALIAÇÃO DO USO DE LASER-INDUCED BREAKDOWN  
SPECTROSCOPY (LIBS) E WAVELENGTH DISPERSIVE X-  
RAY FLUORESCENCE (WDXRF) NA ANÁLISE DIRETA DE  
COUROS NATURAIS E SINTÉTICOS”**

**Ariane Maciel Neiva\***

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

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

**\* bolsista CAPES/Embrapa (01/03/2015 a 28/02/2017)**

**São Carlos - SP  
2018**





UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia  
Programa de Pós-Graduação em Química


---

Folha de Aprovação

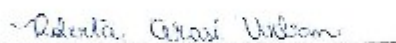
---

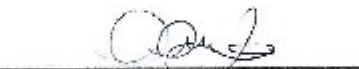
Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Tese de Doutorado da candidata Ariane Maciel Neiva, realizada em 01/10/2018:

  
Prof. Dr. Edenir Rodrigues Pereira Filho  
UFSCar

  
Prof. Dr. Altair Benedito Moreira  
UNESP

  
Prof. Dr. Geraldo Domingues Matos  
UEMS

  
Profa. Dra. Roberta Cerasi Urban  
UFSCar

  
Profa. Dra. Ana Rita de Araujo Nogueira  
EMBRAPA

*“A mente que se abre a um novo conhecimento jamais retorna ao seu tamanho original”.*

*Albert Einstein*

**Dedico este trabalho  
aos meus pais Marli e Genésio pelo apoio, incentivo e  
dedicação.**



## **AGRADECIMENTOS**

À Deus, por tudo que tem feito em minha vida.

Aos meus pais, Marli e Genésio e minha irmã Deisiane por toda a dedicação e apoio incondicional.

Aos meus amigos Evelyne Recchi, Paulo Souza, André Luis Kuhn e Dione Santos pelo apoio e amizade.

Ao professor Edenir, orientador e amigo. Obrigada pela amizade, por cada conselho, pela paciência, por compartilhar seus conhecimentos e pelo belo trabalho que vem realizando com cada um de seus orientandos.

Aos professores Joaquim e Ana Rita, pelas colaborações, ensinamentos e conselhos.

Ao pesquisador Manuel Antonio Chagas Jacinto pela contribuição no desenvolvimento deste trabalho, fornecendo amostras e contribuindo com seu conhecimento sobre couros.

Ao Carlos Eduardo Mendes Braz pela amizade e ajuda durante o trabalho, principalmente na obtenção dos dados obtidos pelos testes físico-mecânicos das amostras de couro. Além de grande ajuda na organização, seleção e corte dos couros.

A todos os colegas do Laboratório de couros da Embrapa Pecuária Sudeste pela ajuda e ensinamentos concedidos.

A todos os colegas do GAIA, pela ajuda e amizade.

À Embrapa Pecuária Sudeste, pelo espaço cedido.

À UFSCar e a todos os funcionários do DQ (Departamento de Química) e PPGQ (Programa de Pós-Graduação em Química) por toda ajuda e colaboração.

As editoras RCS, SAGE e Springer pelas autorizações de uso dos três artigos publicados referentes a essa tese.

Aos membros da banca pela disponibilidade, sugestões e contribuições.

A todos que de alguma forma contribuíram para o trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 durante os dois primeiros anos do trabalho.

**OBRIGADA!**

## LISTA DE ABREVIATURAS

- ABNT - Associação Brasileira De Normas Técnicas
- ANOVA - Do Inglês *Analysis of Variance*, Análise de Variância
- CCD - Do Inglês *Charge-Coupled Device*, Dispositivo De Carga Acoplada
- CP - Corpo de prova
- Dg - Do Inglês *Global Desirability*, Desejabilidade Global
- EL - Energia do Laser
- EU - União Europeia
- EUA - Estados Unidos da América
- FAAS - Do Inglês *Flame Atomic Absorption Spectrometry*, Espectrometria de Absorção Atômica em Chama
- FPC - Do Inglês *Flow Proportional Conter*, Contador Proporcional de Fluxo
- FTIR - Do Inglês *Fourier Transform Infrared*, Transformada de Fourier no Infravermelho
- ICP-MS - Do Inglês *Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry*, Espectrometria de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado
- ICP OES - Do Inglês *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*, Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Indutivamente Acoplado
- INAA - Do Inglês *Instrumental Neutron Activation Analysis*, Análise por Ativação com Nêutrons Instrumental
- ISO - Do Inglês *International Organization for Standardization*, Organização Internacional de Padronização
- KNN - Do Inglês *K-Nearest Neighbors*, K-Ésimo Vizinho Mais Próximo
- L - Longitudinal
- LIBS - Do Inglês *Laser-Induced Breakdown Spectroscopy*, Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Induzido por Laser
- LOD - Do Inglês *Limit of Detection*, Limite de Detecção
- LOQ - Do Inglês *Limit of Quantification*, Limite de Quantificação
- LV - Variáveis latentes
- MIP OES - Do Inglês *Microwave Induced Plasma Optical Emission Spectrometry*, Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Induzido por Micro-Ondas
- MLR - Do Inglês *Multiple Linear Regression*, Regressão Linear Múltipla
- NBR - Normas Brasileiras

NIR - Do Inglês *Near-Infrared*, Infravermelho Próximo

NIST - Do Inglês *National Institute of Standards and Technology*, Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia

PC - Do Inglês *Principal Component*, Componente Principal

PCA - Do Inglês *Principal Component Analysis*, Análise por Componentes Principais

PCR - *Principal Components Regression*, Regressão por Componentes Principais

PFA - Do inglês *Perfluoroalcoxi*

PLS - Do Inglês *Partial Least Squares*, Regressão por Mínimos Quadrados Parciais

PLS-DA - Do Inglês *Partial Least Squares for Discriminant Analysis*, Análise Discriminante pelo Método de Mínimos Quadrados Parciais

PU - Do Inglês *Polyurethane*, Poliuretano

PVC - Do Inglês *Polyvinylchloride*, Cloreto de Vinila

R<sup>2</sup> - Coeficiente de Correlação

ROC - Do Inglês *Receiver Operating Characteristics Curve*

RSD - Do Inglês *Relative Standard Deviation*, Desvio Padrão Relativo

SBR - Do Inglês *Signal to Background Ratio*, Relação Sinal/Ruído

SC - Do Inglês *Scintillation Counter*, Contador de Cintilação

SD - Do Inglês *Standard Deviation*, Desvio Padrão

SEC - Do Inglês *Standard Error of Calibration*, Erro Padrão de Calibração

SEM - Do Inglês *Scanning Electron Microscopy*, Microscopia Eletrônica de Varredura

SEV - Do Inglês *Standard Validation Error*, Erro Padrão de Validação

SIMCA - Do Inglês *Soft Independent Modelling of Class Analogy*

SSPE - Do Inglês *Sum of the Square of the Pure Error*, Soma Quadrática do Erro Puro

T - Transversal

TA - Tempo de Atraso

TMHA - Do Inglês *Tetramethylammonium Hydroxide*, Hidróxido de Tetrametilamônio

TP - Tamanho do Ponto

U.S.EPA - Do Inglês *United States Environmental Protection Agency*, Agência de Proteção Ambiental Americana

UV - Ultravioleta

VIS - Visível

WDXRF - Do Inglês *Wavelength Dispersive X-Ray Fluorescence*, Espectrometria de Fluorescência de Raios X por Comprimento de Onda Dispersivo

XRF - Do Inglês *X-Ray Fluorescence*, Fluorescência de Raios X

## LISTA DE TABELAS

TABELA 2.1.3.1 - Comparativo entre couros curtidos com taninos vegetais e couros curtidos com cromo. ....	13
TABELA 4.1.1.1 - Valores orientadores para ensaios físico-mecânicos de couro....	28
TABELA 4.2.1.1 - Descrições das amostras de couro usadas no estudo. ....	36
TABELA 4.2.3.1 - Planejamento fatorial completo empregado na otimização das condições instrumentais do LIBS. ....	39
TABELA 4.2.3.2 - Planejamento Doehlert utilizado para otimização das condições instrumentais do LIBS. ....	40
TABELA 4.2.4.1 - Número de amostras contidas nos conjuntos de calibração e validação para os modelos KNN, SIMCA e PLS-DA. ....	41
TABELA 4.3.1.1 - Desejabilidade global (Dg) calculada para cada experimento em 359,0 nm.....	43
TABELA 4.3.1.2 - Tabela ANOVA para o modelo calculado em 359 nm. ....	44
TABELA 4.3.1.3 - Resultados de desejabilidade para o novo experimento variando apenas o tamanho do ponto para 50 ou 100 $\mu\text{m}$ .....	46
TABELA 4.3.2.1 - Linhas de emissão (I atômica e II iônica) identificadas nos couros analisados. ....	51
TABELA 4.3.4.1 - Valores dos testes físico-mecânicos obtidos para os 9 testes realizados nas direções L e T.....	54
TABELA 4.3.4.2 - Exatidão, sensibilidade, taxa de falso alarme e especificidade calculados para a classe 1 do modelo KNN. ....	57
TABELA 4.3.4.3 - Exatidão, sensibilidade, taxa de falso alarme e especificidade calculados para a classe 2 do modelo KNN. ....	58
TABELA 4.3.4.4 - Exatidão, sensibilidade, taxa de falso alarme e especificidade obtidos para a classe 1 do modelo SIMCA.....	59
TABELA 4.3.4.5 - Exatidão, sensibilidade, taxa de falso alarme e especificidade obtidos para a classe 2 do modelo SIMCA.....	60
TABELA 4.3.4.6 - Exatidão, sensibilidade, taxa de falso alarme e especificidade obtidos para a classe 1 do modelo PLS-DA. ....	61
TABELA 4.3.4.7 - Exatidão, sensibilidade, taxa de falso alarme e especificidade obtidos para a classe 2 do modelo PLS-DA. ....	62

TABELA 5.1.1 - Limites máximos permitidos para Cr (VI), Al, Zr, Ti, Cr, Sb, As, Ba, Cd, Co, Cu, Pb, Hg, Ni e Se extraíveis em couros de animais e Pb e Cd total em couros de animais e couros sintéticos.....	76
TABELA 5.2.1.1 - Descrição das amostras de couro utilizadas na parte experimental. ....	78
TABELA 5.2.2.1 - Parâmetros operacionais para determinações por ICP OES.....	79
TABELA 5.3.1.1 - Concentrações de referência (média $\pm$ desvio padrão, n= 3) para Al, Ca, Cr total, Fe, Mg, Ti e Zn em mg kg <sup>-1</sup> determinados por ICP OES. Amostras de 1 a 24 são couros de bovinos e amostras de 25 a 60 são couros de ovinos. ....	82
TABELA 5.3.1.2 - Concentrações de referência (média $\pm$ desvio padrão, n= 3) para As, Cd, Cu, Ni, Pb, Sr, Sb e Ba em mg kg <sup>-1</sup> determinados por ICP OES. Amostras de 1 a 24 são couros de bovinos e amostras de 25 a 60 são couros de ovinos.....	83
TABELA 5.3.1.3 - Recuperações (%) para a determinação dos analitos via ICP OES. ....	86
TABELA 6.3.1.1 - Linhas de emissão presentes no espectro das amostras de couros analisadas por LIBS. ....	94
TABELA 6.3.3.1 - Figuras de mérito para o modelo de calibração do WDXRF calculado para o cromo. ....	100
TABELA 6.3.3.2 - Concentrações de Cr determinadas por ICP OES (referência, média $\pm$ desvio padrão, n = 3) e WDXRF (método proposto, média) para couros de bovinos (amostras do 1 ao 24) e couros ovinos (amostras do 25 ao 60).....	102
TABELA 7.3.1.1 - Concentrações determinadas dos elementos em mg kg <sup>-1</sup> (média $\pm$ SD, n=3) em couros sintéticos por ICP OES. ....	114
TABELA 7.3.1.2 - Valores de recuperações e RSD (% , n = 3) calculados para os analitos determinados por ICP OES. ....	116
TABELA 7.3.6.1 - Linhas de emissão selecionadas para determinações por ICP OES, linhas de emissão usadas para identificar elementos por LIBS e comprimentos de onda observados por WDXRF referentes aos dados obtidos para as nove amostras de couro sintético analisadas. ....	127

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 2.1.1 - Principais etapas do processo que transforma pele em couro acabado. .....	6
FIGURA 2.1.1.1 - Complexo de cromo formado com a proteína da pele no processo de curtimento.....	8
FIGURA 2.2.1 - Esquema simplificado típico de um LIBS, mostrando os principais componentes instrumentais.....	14
FIGURA 2.3.1 - Modelo esquemático demonstrando o efeito fotoelétrico e a ocorrência de raios X. ....	16
FIGURA 2.3.2 - Esquema simplificado típico de um WDXRF, composto pelos principais componentes instrumentais.....	16
FIGURA 4.1.2.1 - (a) Prensa hidráulica e lâminas para corte dos CP (b) Couro após corte dos CP (c) Região da retirada dos CP nas direções L e T paralelas ao eixo crânio-caudal do animal (d) CP climatizando (e) Espessímetro (f) Dinamômetro.....	29
FIGURA 4.1.2.2 - Medida de espessura (as 3 demarcações mostram onde as medidas de espessura são realizadas), teste de tração, teste de rasgamento e teste de rasgamento duplo.....	31
FIGURA 4.1.4.1 - Modelo KNN representativo da classificação de uma amostra $y$ , representada por um quadrado, em uma das duas classes disponíveis (1 ou 2).....	34
FIGURA 4.1.4.2 - Limites da hipercaixa dos modelos SIMCA.....	34
FIGURA 4.3.1.1 - Gráfico referente aos efeitos <i>versus</i> valores de Z para a otimização dos parâmetros instrumentais da LIBS usando planejamento fatorial completo $2^3$ . .	42
FIGURA 4.3.1.2 - Gráficos de superfície de resposta para $D_g$ obtidos a partir de respostas em 359 nm: tempo de atraso <i>versus</i> energia do laser (a), energia do laser <i>versus</i> tamanho do ponto (b) e tempo de atraso <i>versus</i> tamanho do ponto (c).....	45
FIGURA 4.3.1.3 - Sinais de emissão para as 5 linhas de emissão com maior intensidade relativa para Cr para amostras de couro (bovinos e ovinos), antes e depois de experimentos para a otimização dos parâmetros instrumentais do LIBS. ....	48
FIGURA 4.3.1.4 - Imagens do couro após pulsos de laser. ....	49
FIGURA 4.3.2.1 - Espectro de emissão típico obtido para uma amostra de couro. .	50
FIGURA 4.3.2.2 - Gráficos das 10 razões calculadas para altura do sinal das linhas de emissão: 267/357 (1), 267/359 (2), 357/359 (3), 425/427 (4), 267/425 (5), 267/427 (6), 359/425 (7), 357/427 (8), 359/427 (9), 357/425 (10). ....	52

FIGURA 4.3.3.1 - Gráfico de escores (a) e gráfico de pesos (b) para PC1 para amostras de couro em diferentes cores. ....	53
FIGURA 4.3.4.1 - Curvas ROC para amostras da classe 1 do conjunto de dados de calibração para o modelo PLS-DA. Linhas pontilhadas e sólidas representam testes realizados nas direções transversal (L) e longitudinal (T), respectivamente. ....	63
FIGURA 4.3.4.2 - Curvas ROC para amostras da classe 2 do conjunto de dados de calibração para o modelo PLS-DA. Linhas pontilhadas e sólidas representam testes realizados nas direções L e T respectivamente.....	64
FIGURA 4.3.4.3 - Curvas ROC para amostras da classe 1 do conjunto de dados de validação para o modelo PLS-DA. Linhas pontilhadas e sólidas representam testes realizados nas direções L e T respectivamente.....	65
FIGURA 4.3.4.4 - Curvas ROC para amostras da classe 2 do conjunto de dados de validação para o modelo PLS-DA. Linhas pontilhadas e sólidas representam testes realizados nas direções L e T respectivamente.....	66
FIGURA 5.3.2.1 - Gráfico de escores para tipo de couro (a), tipo de curtimento (b), cor do couro (c) e gráfico de pesos (d) para conjunto de dados obtidos para determinação por ICP OES.....	87
FIGURA 6.3.1.1 - Espectro típico obtido via LIBS para três amostras de couro (bovino e ovino curtido com cromo e ovino curtido com tanino vegetal). ....	94
FIGURA 6.3.1.2 - Gráfico de escores para tipo de couro (a), tipo de curtimento (b), cor do couro (c) e gráfico de pesos para PC1 (d) e PC2 (e) para conjunto de dados (normalizados) obtidos por análise direta via LIBS.....	96
FIGURA 6.3.1.3 - Gráfico de escores para tipo de couro (a), tipo de curtimento (b), cor do couro (c) gráfico de pesos (d) para PC1XPC2 para conjunto de dados (média) obtidos via LIBS. A PCA foi calculada usando somente as 11 linhas de emissão para Cr.....	96
FIGURA 6.3.2.1 - Espectro típico obtido via WDXRF para três amostras de couro (bovino e ovino curtido com cromo e ovino curtido com tanino vegetal). ....	97
FIGURA 6.3.2.2 - Escores para tipo de couro (a), tipo de curtimento (b), cor do couro (c) e pesos para PC1 (d) e PC2 (e) para conjunto de dados obtidos por análise direta via WDXRF.....	98
FIGURA 6.3.3.1 - Comparação entre concentrações de referência (ICP OES, média $\pm$ desvio padrão, n = 3) e concentrações preditas obtidas por WDXRF (média) para Cr em mg kg <sup>-1</sup> para as amostras do conjunto de calibração e validação. ....	101

FIGURA 7.2.1.1 - Imagens das nove amostras de couro sintético usadas na parte experimental: 1-4 são cintos, 5-7 são carteiras, 8 é uma capa de celular e 9 é uma bolsa.....	108
FIGURA 7.2.2.1 - Imagens das amostras de couros sintéticos usadas antes do preparo de amostra para posterior análise por ICP OES.....	111
FIGURA 7.2.3.1 - Imagens das amostras de couros sintéticos usadas após os experimentos no LIBS. É possível ver o efeito do laser (linha reta) na superfície das amostras.....	113
FIGURA 7.3.2.1 - Gráfico de escores (a) e gráfico de pesos (b) para PC1 <i>versus</i> PC2; e gráfico de escores (c) e gráfico de pesos (d) para PC2 <i>versus</i> PC3 referentes ao conjunto de dados obtidos por ICP OES. ....	117
FIGURA 7.3.3.1 – Espectros LIBS para couros sintéticos (amostras 1-9) com as principais linhas de emissão identificadas. ....	120
FIGURA 7.3.4.1 - Gráfico de escores para PC1 <i>versus</i> PC2 (a); e gráfico de pesos para PC1 (b) e PC2 (c) referentes ao conjunto de dados obtidos por LIBS. ....	121
FIGURA 7.3.5.1 - Espectros WDXRF para os couros sintéticos (amostras 1-9). ...	123
FIGURA 7.3.6.1 - Gráfico de escores para PC1 <i>versus</i> PC2 (a); e gráfico de pesos para PC1 (b) e PC2 (c) referentes ao conjunto de dados obtidos por WDXRF. ....	125



## RESUMO

**AVALIAÇÃO DO USO DE LASER-INDUCED BREAKDOWN SPECTROSCOPY (LIBS) e WAVELENGTH DISPERSIVE X-RAY FLUORESCENCE (WDXRF) NA ANÁLISE DIRETA DE COUROS NATURAIS E SINTÉTICOS.** O objetivo dessa tese de doutorado foi o desenvolvimento de procedimentos analíticos para análises qualitativas e quantitativas de amostras de couros utilizando as técnicas LIBS e WDXRF para análise direta das amostras sólidas. A primeira parte deste trabalho relata o desenvolvimento de modelos de classificação para a predição de parâmetros de qualidade de couros bovinos e ovinos curtidos com Cr. No total, 375 amostras de couro foram analisadas por LIBS e três modelos de classificação foram desenvolvidos utilizando valores de referência obtidos por testes físico-mecânicos (métodos oficiais para atestar a qualidade de couros): K-ésimos vizinhos mais próximos (KNN), *soft independent modeling of class analogy* (SIMCA) e análise discriminante pelo método de quadrados mínimos parciais (PLS-DA). Os modelos tiveram resultados satisfatórios com porcentagens de predição corretas variando de 75 (SIMCA) a 80% (PLS-DA) para amostras de calibração e 72 (SIMCA) a 81% (KNN) para amostras de validação. A segunda parte tratou do estabelecimento de um procedimento de preparo de amostra para couros, no qual utilizou-se digestão com HNO<sub>3</sub> e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. No procedimento experimental foram avaliadas 60 amostras e a faixa de concentração dos elementos determinados usando *inductively coupled plasma optical emission spectrometry* (ICP OES) foram as seguintes (mg kg<sup>-1</sup>): Al: 94-1.011; As: <LOD-13; Ba: <LOD-40; Ca: <LOD-3.348; Cr: 10-23.407; Cu: <LOD-15; Fe: 32-831; Mg: <LOD-1.126; Ni: <LOD-5; Pb: <LOD-25; Sb: 31-318; Sr:<LOD-9; Ti:<LOD-6; Zn: <LOD-186 e Cd estava em níveis de concentração inferiores ao limite de detecção (<LOD). A terceira parte descreve a determinação de Al, Ca, Cr, Fe, Ti e Zn utilizando WDXRF. Modelos de calibração foram desenvolvidos com concentrações de referência determinadas por ICP OES obtidas no estudo anterior. Apesar de tentativas realizadas com o objetivo de desenvolver modelos de calibração para a determinação direta de Al, Ca, Cr, Fe, Ti e Zn, somente foi possível obter modelos de calibração satisfatórios para Cr com as seguintes figuras de mérito: a) equação da curva:  $[Cr] = (43,9 \pm 1,0) x + (19.583 \pm 14.600)$ ; b) coeficiente de correlação linear de 0,9901; c) capacidade preditiva baseada no erro padrão de validação (SEV) de 628 mg kg<sup>-1</sup>; c) LOD de 30 e limite de quantificação (LOQ) de 100 mg kg<sup>-1</sup>; d) tipo do sinal usado: altura do pico; e) faixa de

concentração de Cr determinada: SEV a 21.638 mg kg<sup>-1</sup>. Na quarta parte é proposto a avaliação de couros sintéticos e nove amostras foram analisadas utilizando ICP OES, LIBS e WDXRF combinadas com análise por componentes principais (PCA). As concentrações dos elementos determinados nos couros sintéticos pelo ICP OES foram as seguintes (mg kg<sup>-1</sup>): Ca: 770-112.233; Cr: 13-24.732; Mg: 165-18.834; Ba: <LOD-4.606; Pb: 2,8-2.484; Al: 147-1.607; Fe: 130-1.015; Zn: <LOD-528; Sb: 22-262; Cu: <LOD-163; As: <LOD-121; Sr: <LOD-104; Ti: <LOD-48; Cd: 4,1-27; Mn: <LOD-27, Co: <LOD-3,9 e Ni <LOD. A PCA avaliou as amostras quanto a composição química obtida quantitativamente pelas concentrações do ICP OES e qualitativamente pelos espectros LIBS ou WDXRF. Os métodos propostos apresentam elevada frequência analítica, simplicidade e atendem os princípios da química verde.

## ABSTRACT

### **EVALUATION OF THE USE OF LASER-INDUCED BREAKDOWN SPECTROSCOPY (LIBS) AND WAVELENGTH DISPERSIVE X-RAY FLUORESCENCE (WDXRF) FOR THE DIRECT ANALYSIS OF NATURAL AND SYNTHETIC LEATHERS.**

The aim of this doctoral thesis was the development of analytical procedures for the qualitative and quantitative analysis of leather samples using LIBS and WDXRF techniques for direct analysis of solid samples. The first part of this work reports the development of classification models for the prediction of quality parameters of bovine and ovine leather tanned with Cr. In total, 375 leather samples were analyzed by LIBS and three classification models were developed using reference values obtained by physical-mechanical tests (official methods to certify the quality of leathers): K-nearest neighbors (KNN), soft independent modelling of class analogy (SIMCA) and discriminant analysis by least squares method (PLS-DA). The models had satisfactory results with correct prediction percentages ranging from 75 (SIMCA) to 80% (PLS-DA) for the calibration samples and from 72 (SIMCA) to 81% (KNN) for the validation samples. The second part deals with the establishment of a sample preparation procedure for leathers, in which digestion with HNO<sub>3</sub> and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> was used. In the experimental procedure 60 samples were evaluated and the concentration range of the elements determined using inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES) were as follows (mg kg<sup>-1</sup>): Al: 94-1,011; As: <LOD-13; Ba: <LOD-40; Ca: <LOD-3,348; Cr: 10-23,407; Cu: <LOD-15; Fe: 32-831; Mg: <LOD-1,126; Ni: <LOD-5; Pb: <LOD-25; Sb: 31-318; Sr: <LOD-9; Ti: <LOD-6; Zn: <LOD-186 and Cd was at concentration levels below the limit of detection: (<LOD). The third part describes the determination of Al, Ca, Cr, Fe, Ti and Zn using WDXRF. Calibration models were developed with reference concentrations determined by ICP OES obtained in the previous study. In spite of attempts made to develop calibration models for the direct determination of Al, Ca, Cr, Fe, Ti and Zn, it was only possible to obtain satisfactory calibration models for Cr with the following figures of merit: a) calibration curve:  $[Cr] = (43.9 \pm 1.0) x + (19,583 \pm 14,600)$ ; b) linear correlation coefficient of 0.9901; c) predictive capacity based on the standard validation error (SEV) of 628 mg kg<sup>-1</sup>; c) LOD of 30 and limit of quantification (LOQ) of 100 mg kg<sup>-1</sup>; d) type of signal used: height; e) concentration range of Cr determined: SEV at 21,638 mg kg<sup>-1</sup>. The fourth part proposed the evaluation of synthetic leather and nine samples were

analyzed using ICP OES, LIBS and WDXRF combined with principal component analysis (PCA). The concentrations of the elements determined in samples of synthetic leather by ICP OES were as follows ( $\text{mg kg}^{-1}$ ): Ca: 770-112,233; Cr: 13-24,732; Mg: 165-18,834; Ba: <LOD-4,606; Pb: 2.8-2,484; Al: 147-1,607; Fe: 130-1,015; Zn: <LOD-528; Sb: 22-262; Cu: <LOD-163; As: <LOD-121; Sr: <LOD-104; Ti: <LOD-48; Cd: 4.1-27; Mn: <LOD-27, Co: <LOD-3.9 and Ni was at concentration levels <LOD in all samples. The PCA evaluated the samples regarding the chemical composition obtained quantitatively by the concentrations of ICP OES and qualitatively by the LIBS or WDXRF spectra. The proposed methods present high analytical frequency, simplicity and are in accordance with the principles of green chemistry.

## SUMÁRIO

1 - Introdução .....	2
2 - Revisão Bibliográfica.....	6
2.1 - Couro: Processo de fabricação .....	6
2.1.1 - Curtimento de couros com sais de cromo .....	7
2.1.2 - Fontes de Cr (VI) em couro.....	9
2.1.3 - Curtimento de couros com taninos vegetais .....	11
2.2 - Fundamentos da LIBS.....	13
2.3 - Fundamentos da WDXRF.....	16
2.4 - Aplicação da LIBS e WDXRF na análise direta de couro .....	18
2.5 - Emprego da quimiometria na análise de couro .....	20
3 - Objetivos .....	24
3.1 - Objetivo geral .....	24
3.2 - Objetivos específicos.....	24
4 - Proposição de modelos de classificação para a avaliação direta da qualidade de couros de bovinos e ovinos utilizando a técnica LIBS .....	26
4.1 - Introdução.....	26
4.1.1 - Métodos oficiais para controle de qualidade de couro .....	27
4.1.2 - Testes físico-mecânicos.....	28
4.1.3 - Planejamento fatorial.....	32
4.1.4 - Modelos de classificação .....	33
4.2 - Materiais e métodos .....	35
4.2.1 - Amostras .....	35
4.2.2 - Testes físico-mecânicos.....	37
4.2.3 - LIBS: parâmetros de otimização e análise .....	37
4.2.4 - Análise dos dados e modelos de classificação .....	40
4.3 - Resultados e discussão.....	42
4.3.1 - Otimização das condições operacionais da LIBS .....	42
4.3.2 - Análise de couros.....	49
4.3.3 - Análise exploratória usando PCA.....	52
4.3.4 - Proposição de modelos de classificação.....	53
4.4 - Conclusões.....	67

5 - Estabelecimento de um procedimento de preparo de amostra para couros usando ICP OES .....	70
5.1 - Introdução.....	70
5.2 - Materiais e métodos .....	78
5.2.1 - Amostras .....	78
5.2.2 - Determinação de Al, As, Ba, Ca, Cd, Cr total, Cu, Fe, Mg, Ni, Pb, Sb, Sr, Ti e Zn em couro usando ICP OES .....	78
5.2.3 - Análise por componentes principais (PCA).....	81
5.3 - Resultados e discussão.....	81
5.3.1 - Determinação de Al, As, Ba, Ca, Cd, Cr total, Cu, Fe, Mg, Ni, Pb, Sb, Sr, Ti e Zn em couro por ICP OES.....	81
5.3.2 - Avaliação da PCA para dados do ICP OES .....	86
5.4 - Conclusões.....	88
6 - Determinação de Cr em couro usando WDXRF .....	90
6.1 - Introdução.....	90
6.2 - Material e métodos .....	91
6.2.1 - Amostras .....	91
6.2.2 - Análise e calibração usando WDXRF .....	91
6.2.3 - Análises complementares usando LIBS.....	92
6.2.4 - Análise por componentes principais (PCA).....	93
6.3 - Resultados e discussão.....	93
6.3.1 - Análises no LIBS.....	93
6.3.2 - Análises no WDXRF.....	96
6.3.3 - Determinação de cromo total em couros usando WDXRF: Modelos de calibração univariada.....	99
6.4 - Conclusões.....	103
7 - Avaliação da composição química de couros sintéticos usando técnicas espectroscópicas.....	106
7.1 - Introdução.....	106
7.2 - Material e métodos .....	107
7.2.1 - Amostras .....	107
7.2.2 - ICP OES.....	109
7.2.3 - LIBS .....	112
7.2.4 - WDXRF .....	113

7.3	- Resultados e discussão.....	113
7.3.1	- Avaliação da composição química de couros sintéticos por ICP OES ....	113
7.3.2	- PCA de couros sintéticos com dados do ICP OES .....	116
7.3.3	- Espectros LIBS de couros sintéticos.....	118
7.3.4	- PCA de couros sintéticos com dados do LIBS .....	120
7.3.5	- Espectros WDXRF de couros sintéticos.....	122
7.3.6	- PCA de couros sintéticos com dados do WDXRF .....	124
7.4	- Conclusões.....	128
8	- Conclusões finais.....	132
9	- Referências Bibliográficas.....	136
Anexos	.....	136

# **Capítulo 1**

---

## **Introdução**



## 1 - Introdução

Os curtumes foram uma das primeiras atividades industriais desenvolvidas pelo homem<sup>1</sup> e a transformação de pele em couro é uma atividade conhecida desde a pré-história. Estudos descrevem que durante aquele período se adicionava fumaça, óleos e graxas às peles para conserva-las por mais tempo. Além disso, eram utilizados resíduos de vegetais e solo com a mesma finalidade, o que caracterizou o surgimento dos curtimentos vegetais e minerais, respectivamente<sup>2</sup>.

Atualmente a indústria de couro é um importante seguimento da economia e compõe uma versátil cadeia produtiva. Além da pecuária de corte e dos frigoríficos, incluem a indústria química, fornecedores de vários tipos de couros e peles e também produção de máquinas e equipamentos<sup>3</sup>. O produto final (couro) é utilizado para produção de calçados, artefatos, móveis, roupas, bolsas, cintos e estofamentos de automóveis<sup>4</sup>.

O Brasil é um dos principais produtores de carne no mundo, conseqüentemente, a exportação de couros e peles no país é bastante expressiva. Em 2017 foram exportados US\$ 1,9 bilhão de dólares em couro, o que representa 202,3 milhões de metros quadrados dessa matéria prima, esse número foi 4,3% maior que em 2016. E para o ano de 2018 as expectativas são de um crescimento ainda maior e de janeiro a julho deste ano foram exportados cerca de 105 milhões de metros quadrados<sup>5</sup>. Estes números expressivos refletem a importância desta matéria prima para a economia do país.

Na produção de couro, são necessárias várias etapas para converter a pele crua em couro acabado, como operações de pré-curtimento, curtimento, pós-curtimento e acabamento<sup>6</sup>. O curtimento da maioria das peles é realizado com sais de cromo, mas sais de outros metais, taninos vegetais e outros curtentes também podem ser usados. Nestes processos, metais, elementos essenciais e tóxicos são adicionados, podendo ser incorporados ao couro<sup>7</sup>.

A técnica ICP OES é a que mais se destaca na determinação de elementos em couro<sup>7-12</sup>, mas outras técnicas como *microwave induced plasma optical emission spectrometry* (MIP OES)<sup>13</sup> e *flame atomic absorption spectrometry* (FAAS)<sup>14</sup> têm sido empregadas com este propósito. Embora as técnicas anteriormente mencionadas sejam eficientes, amplamente difundidas e consolidadas em laboratórios analíticos, tais métodos necessitam que a amostra seja convertida em solução antes da introdução no equipamento. A decomposição da amostra é

normalmente realizada com soluções ácidas e aquecimento em bloco digestor ou forno de micro-ondas (decomposição por via úmida). As várias etapas necessárias no preparo da amostra são responsáveis pelas maiores fontes de erros na sequência analítica e elevam o tempo e os custos da análise<sup>15</sup>. Nesse sentido, é crescente a busca por técnicas que permitam determinar a composição elementar de uma amostra com mínimo ou nenhum preparo.

A análise direta da amostra usando LIBS e WDXRF são opções atraentes, que praticamente não destroem a amostra, pequena quantidade de material é necessária na análise, são multielementares, rápidas e há a possibilidade de uso de equipamentos portáteis em campo, ampliando as possibilidades de aplicação. Além disso, os riscos de contaminação, perdas de analitos por volatilização, periculosidade ao analista e geração de resíduos são drasticamente minimizadas por evitar o uso de reagentes para a decomposição da amostra<sup>15</sup>.

Recentes aplicações tem demonstrado a versatilidade da técnica LIBS em análises de explosivos<sup>16</sup>, plantas aromáticas<sup>17</sup>, pedras preciosas e vidro<sup>18</sup>, farinha de trigo<sup>19</sup>, fita adesiva<sup>20</sup>, areia<sup>21</sup>, fertilizante<sup>22</sup>, solo<sup>23</sup>, dentre outros. WDXRF também tem sido aplicado em diferentes amostras sólidas como aditivos de corantes<sup>24</sup>, cabelo<sup>25</sup>, carvão<sup>26</sup>, solo<sup>27</sup>, rocha<sup>28</sup>, sedimento<sup>29</sup>, suplemento mineral bovino<sup>30</sup> dentre outros.

Diante da variedade de aplicações e ampla possibilidade de exploração de ambas as técnicas, nessa tese de doutorado, LIBS e WDXRF foram utilizadas para a análise direta de diversos tipos de couros: provenientes de ovinos, de bovinos, couros curtidos com cromo, couros curtidos com taninos vegetais e couros sintéticos. Os espectros gerados foram avaliados com o auxílio de ferramentas quimiométricas.

Amostras sólidas normalmente apresentam interferências matriciais devido à falta de homogeneidade e a quimiometria é aplicada no tratamento de dados minimizando os efeitos da heterogeneidade da amostra. Planejamentos fatoriais, análise exploratória de dados, métodos de calibração multivariada e modelos de classificação são as ferramentas frequentemente aplicadas ao tratamento de dados.



## **Capítulo 2**

---

# **Revisão Bibliográfica**

## 2 - Revisão Bibliográfica

### 2.1 - Couro: Processo de fabricação

O processo que permite transformar pele em couro é composto por diversas etapas, como mostradas no fluxograma da FIGURA 2.1.1. Cada uma das etapas é constituída por processos químicos e/ou físicos que objetivam conservar, hidratar, limpar, estabilizar, colorir, amaciar, fornecer elasticidade, beleza, flexibilidade, resistência e dar brilho ao couro<sup>31</sup>. Dessa forma, a pele crua vulnerável a decomposição é transformada em um material quimicamente estável, o couro<sup>32</sup>, com características que possibilitam seu uso em diversos setores da confecção como vestuário e calçados, entre outros<sup>31</sup>.



FIGURA 2.1.1 - Principais etapas do processo que transforma pele em couro acabado.

Esses processos químicos e físicos são realizados dentro de grandes reatores denominados de fulão, que geralmente são feitos em madeira ou alumínio. Nesse processo as peles são tratadas com vários reagentes químicos, como solventes, corantes, ácidos, bases, curtentes como sais de cromo e taninos e uma infinidade de outros reagentes em solução aquosa<sup>33</sup>.

Durante cada etapa do processo de curtimento é gerada uma grande quantidade de águas residuais, resíduos sólidos, compostos orgânicos voláteis e produtos químicos tóxicos<sup>6</sup>. Esses são responsáveis por causar impactos ambientais no solo, vegetação, rios e sedimentos quando o descarte é realizado de forma inadequada, além disso, contribuir fortemente para o aumento de sólidos totais dissolvidos, demanda química de oxigênio, sulfatos, cloretos, emissões gasosas e metais tóxicos no ambiente<sup>6</sup>.

A etapa de curtimento é particularmente importante, pois é nela que substâncias denominadas curtentes são adicionadas. Os curtentes são responsáveis por tornar a pele não vulnerável a microrganismos, ou seja, um produto permanente e imputrescível<sup>2</sup>. Vários curtentes podem ser utilizados e são divididos em duas classes, curtentes inorgânicos ou minerais, formados por sais de cromo, alumínio, zircônio, ferro, titânio, e curtentes orgânicos. Estes últimos são constituídos por taninos vegetais, taninos sintéticos, aldeídos, oxazolidinas, resinas, óleo de elevado índice de iodo, entre outros<sup>2</sup>. Vários curtentes podem ser empregados, entretanto os mais utilizados e que merecem maior destaque são aqueles a base de sais de cromo e taninos vegetais.

### **2.1.1 - Curtimento de couros com sais de cromo**

Os taninos vegetais tem sido utilizados no curtimento de couros a milhares de anos, no entanto a partir de 1858, com a descoberta de que sais de cromo poderiam ser utilizados como curtente, este passou a substituir o uso dos taninos, devido à sua versatilidade<sup>34</sup>.

Atualmente o curtente mais utilizado é o sulfato básico de cromo trivalente ( $\text{Cr}(\text{OH})\text{SO}_4$ ) e cerca de 90% do couro produzido no mundo é curtido com cromo<sup>32</sup>. Isso se deve ao fato de que o material curtido com cromo apresenta qualidade, tais como maciez, resistência e elasticidade, aliada ao baixo custo, quando

comparado a outros curtentes<sup>35</sup>. Os couros curtidos com Cr recebem o nome de *wet blue* devido ao aspecto úmido e azulado após o processo<sup>36</sup>.

As peles entram em contato com o banho de curtimento com pH entre 2 e 3, o que possibilita que o sulfato básico de cromo possa penetrar sem que haja deposição sobre a superfície. Posteriormente, o pH é gradualmente elevado e nesta etapa tem-se a reação do complexo de Cr com proteína (FIGURA 2.1.1.1), na qual se liga diretamente ao grupo carboxílico do colágeno<sup>35</sup>.

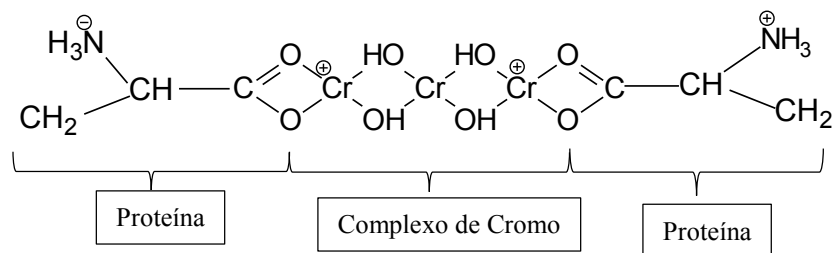


FIGURA 2.1.1.1 - Complexo de cromo formado com a proteína da pele no processo de curtimento.

O curtimento utilizando sais de cromo (III) está bem consolidado, entretanto é preciso considerar a presença de Cr (VI) no couro. Enquanto o Cr (III) é considerado essencial na dieta humana, o Cr (VI) é carcinogênico devido à facilidade de penetração de membranas e forte capacidade oxidante, provocando toxidez à pele e ao trato respiratório<sup>35</sup>.

Os três metais mais comuns responsáveis por causar alergia na população em geral são Ni, Co e Cr, e estima-se que 1-3% são alérgicos ao Cr<sup>37</sup>, fato que deriva principalmente de dois tipos de exposição, cimento e artigos de couro. Em um estudo realizado pelo Instituto Federal Alemão de Avaliação de Risco verificou-se que produtos feitos de couro que ficam em contato direto com a pele como luvas, sapatos ou pulseiras de relógio, contêm altos níveis de Cr (VI). O estudo foi realizado durante seis anos e Cr (VI) foi detectado em mais da metade das 850 amostras analisadas e em um sexto delas, os níveis encontrados foram superiores a 10 mg kg<sup>-1</sup><sup>38</sup>. Quando as concentrações de Cr (VI) eram da ordem de 5 mg kg<sup>-1</sup>, metade dos indivíduos sensibilizados avaliados apresentaram reações alérgicas na pele<sup>38</sup>. Esse valor excede o limite de 3 mg por kg de couro, de acordo com as recomendações da norma ISO (organização internacional de padronização) 17075<sup>39,40</sup>.

## 2.1.2 - Fontes de Cr (VI) em couro

No curtimento, somente o Cr trivalente (III) é utilizado como curtente, enquanto o Cr hexavalente (VI) não é utilizado e não tem efeito curtente<sup>41</sup>. Contudo, vários estudos têm apontado a presença de Cr (VI) em couros. Essa constatação não era esperada, considerando que o curtimento com sais de Cr é feito em pH ácido e a pele de animais é constituída principalmente de matéria orgânica. Assim, espera-se que todo o Cr permaneça em seu estado trivalente, termodinamicamente estável<sup>41</sup>.

Segundo LUI<sup>42</sup>, o Cr (VI) pode ser incorporado ao couro por fontes externas como o uso de corantes e pigmentos ou pode ser resultado de processos químicos que ocorrem durante a etapa de curtimento em si. Por exemplo, a interação entre os vários produtos químicos pode produzir radicais livres com efeito oxidante, e que pode ser intensificado pela flutuação dos valores de pH durante os vários processos<sup>42</sup>. Finalmente a oxidação ainda pode ocorrer após o couro ser comercializado, pois Cr (III) pode continuar a oxidar, particularmente quando exposto à luz, temperaturas elevadas, dentre outros fatores<sup>42</sup>.

A maior parte do Cr (III) forma um complexo com a proteína da pele, dessa forma, somente o excesso estará disponível para oxidação<sup>43</sup>. Além disso, a oxidação direta para a forma hexavalente nesse caso, é muito improvável porque a velocidade da reação é extremamente lenta<sup>43</sup>. O equilíbrio entre Cr (III) e Cr (VI) em condições normais está praticamente voltado para a formação do Cr (III). Somente em condições atípicas, tais como temperaturas elevadas aliada a um pH alcalino poderiam causar formação detectável de Cr (VI)<sup>43</sup>. Especificamente, somente temperaturas acima de 500 °C permitiriam a reação espontânea de oxidação do Cr (III)<sup>44</sup>.

Estudos têm sido realizados com o objetivo de descobrir porque Cr (VI) foi detectado nos couros analisados e também como esse processo de oxidação poderia ser evitado durante a produção de couro<sup>41</sup>. Ao longo dos estudos foram constatados que os processos finais são os mais críticos, e incluem neutralização, recurtimento, tingimento e engraxe<sup>41</sup>.

Após uma intensa revisão da literatura<sup>41-49</sup>, as principais causas que favorecem a oxidação de Cr (III) a Cr (VI) em couros são resumidas a seguir. O mais importante a ser considerado é que nenhuma das situações citadas é suficiente para



oxidação de forma isolada. Em todos os estudos, a oxidação somente pôde ser induzida quando duas ou mais condições foram combinadas.

1. Óleos e gorduras adicionadas no processo de engraxe: lipídios compostos por ácidos graxos insaturados, cuja oxidação pode ser favorecida pela luz, presença de metais, calor, contato com oxigênio, dentre outros. O processo de peroxidação de lipídios é fonte de radicais livres que podem desencadear a oxidação do Cr (III)<sup>45</sup>.
2. Adição de Cr (III) em excesso no curtimento: estudos indicam que o teor de sulfato de cromo de 4% é o mais apropriado para curtimento e recurtimento. Esta concentração foi suficiente para produzir couros de qualidade, no qual praticamente todo o Cr (III) está complexado com a proteína da pele<sup>46</sup>.
3. Temperatura elevada: Foi detectado Cr (VI) em couros aquecidos acima de 80 °C durante 16h na presença de lipídios<sup>47</sup>.
4. pH alcalino: Cr (VI) é mais estável em pH elevado. O bicarbonato de amônio e, particularmente, a amônia adicionados na etapa de neutralização, antes do recurtimento foram os que causaram efeito mais drástico sobre o pH (picos de pH) facilitando a formação do Cr (VI)<sup>44</sup>.
5. Radiação ultravioleta (UV): A exposição à luz UV pode induzir a formação de Cr (VI). Também é relatado que a luz natural ou luz UVA (luz UV produzida por lâmpadas de 366 nm) pode induzir a formação de Cr (VI)<sup>48</sup>.
6. Umidade: Esse parâmetro precisa ser melhor estudado e ainda não há um consenso entre os estudos se a umidade favorece ou não a oxidação do Cr (III). Segundo MATHIASON et al.<sup>50</sup> a quantidade de Cr (VI) extraída diminuiu com aumento do teor de água no couro durante o armazenamento, até que não foi mais detectado com umidade acima 35%. Segundo os autores, uma explicação para esse fato seria que a água pode proteger o Cr (III) de ser oxidado pelo oxigênio do ar<sup>48</sup>.

Sabendo das possíveis causas da oxidação de Cr (III) a (VI) em couros, pode-se evita-las, e para isso, os seguintes cuidados podem ser tomados na produção de couros<sup>43,44,49</sup>:

1. Recurtimento com taninos vegetais: Na etapa de recurtimento deve-se utilizar taninos vegetais. A maioria dos taninos são antioxidantes, pois inibem a propagação de radicais livres. Assim, a cadeia de propagação de radicais livres é interrompida e como consequência a oxidação de Cr (III) a Cr (VI) cessará<sup>49</sup>. Recomenda-se a adição de 1 a 3% de taninos vegetais ao couro para fornecer proteção contra oxidação

do Cr (III)<sup>43,44,49</sup>. Quando não for possível adicionar taninos vegetais, deve-se adicionar antioxidantes sintéticos<sup>43,44</sup>.

2. pH: Após o curtimento, o pH deve ser mantido baixo, entre 3,5 e 4, evitando picos de pH durante a etapa de neutralização<sup>43,44,49</sup>.
3. Amônia: amônia ou produtos químicos contendo amônia devem ser evitados no ajuste do pH<sup>43,49</sup>.
4. Temperatura: manter a temperatura do couro abaixo de 100 °C<sup>43</sup>.
5. Reagentes químicos: Devem ser utilizados produtos químicos livres de cromo (VI)<sup>43</sup> e os pigmentos ou corantes que contenham cromato (alguns pigmentos inorgânicos amarelos, vermelhos e laranja)<sup>43,44</sup> devem ser evitados. Os sais de cromo devem ser de qualidade e adquiridos de fontes confiáveis<sup>43</sup>.
6. Engraxantes: Na etapa do engraxe deve-se adicionar óleos e gorduras estáveis à oxidação em vez de lipídios insaturados e poli-insaturados<sup>43</sup>.
7. Agentes Redutores: agentes redutores como bissulfito de sódio e metabissulfito de sódio podem ser usados na lavagem final de couro<sup>43</sup>.
8. Agentes oxidantes: Não adicionar produtos químicos que sejam agentes oxidantes após o curtimento<sup>43</sup>.
9. Armazenamento: Após períodos prolongados de armazenamento, deve-se realizar análises periódicas de determinação de Cr (VI)<sup>43</sup>.

### **2.1.3 - Curtimento de couros com taninos vegetais**

Problemas ambientais e com a saúde associados ao cromo motivaram o uso de um curtimento livre deste metal. O desenvolvimento de curtentes livres de Cr é um processo diferenciado que tem adquirido importância comercial, principalmente para revestimento de estofamento de automóveis<sup>35</sup>. O que se busca é um curtimento eficiente e que cause o menor dano possível ao meio ambiente, por isso alternativas para processamento da pele com produtos naturais e sem o uso de sais de cromo tem chamado a atenção<sup>51</sup>. Além disso, as propriedades físico-mecânicas do couro devem ser preservadas.

Os principais curtentes alternativos ao cromo são os taninos vegetais, sais minerais alternativos, compostos orgânicos reativos, entre outros<sup>51</sup>. É comum à associação de curtentes, de forma a combinar a qualidade individual de cada substância<sup>52</sup> a fim de atingir as características ideais do couro desejado.

Os taninos vegetais têm se mostrado uma boa alternativa de curtente livre de metais (*metal free*), estes são polifenóis de alto peso molecular, extraídos de várias partes das plantas como casca, raiz, folhas, frutos e são constituídos por grupos hidroxila (OH<sup>-</sup>) ligados a anéis benzênicos. A ação curtente de um tanino, isto é, a sua afinidade para ligar-se com a proteína colagênica, depende de seu peso molecular e do número de hidroxilas fenólicas<sup>2</sup>.

Os couros curtidos com taninos vegetais são denominados atanados<sup>2</sup>. A coloração destes couros depende do tanino utilizado, normalmente, varia do bege amarelado ou rosado, ou com leve tom esverdeado<sup>2</sup>. Os taninos podem representar de 2 a 40% da massa seca da casca de várias espécies florestais.

Dentre as espécies tradicionalmente exploradas para a produção, destacam-se o quebracho (*Schinopsis sp.*) de ocorrência na Argentina e Paraguai, a acácia negra (*Acacia mollissima* e *Acacia mearnsii*) de ocorrência natural na Austrália, o *Eucalyptus astringens*, o mangue-vermelho, o mangue-branco, respectivamente, *Rhizophora candelaria* e *Rhizophora mangle*<sup>53</sup>, entre outros.

O couro curtido com taninos vegetais tem apresentado bons resultados no controle de qualidade do produto final<sup>32,53-55</sup> e são algumas vezes até comparáveis ao curtimento com Cr<sup>56</sup>. Atualmente com consumidores exigentes, preocupados com a saúde e o meio ambiente, tem aumentado a demanda por produtos de couros curtidos com taninos vegetais e polímeros naturais<sup>32</sup>.

A TABELA 2.1.3.1 apresenta um comparativo entre as características de couros curtidos com taninos vegetais e couros curtidos com cromo<sup>57</sup>:

TABELA 2.1.3.1 - Comparativo entre couros curtidos com taninos vegetais e couros curtidos com cromo.

Cromo	Taninos vegetais
Nocivo para o meio ambiente	Ambientalmente amigável
Barato	Alto custo
Excelente qualidade do produto final	Boa qualidade
Produção rápida (1 dia)	Produção demorada (até 60 dias)
Alta durabilidade (várias décadas)	Alta durabilidade (várias décadas)
Curtimento mineral: produtos químicos como ácidos, bases, sais, solventes, corantes, etc.	Curtimento vegetal: folhas, cascas, madeira, frutos ou extratos de diferentes fontes vegetais
Aproximadamente 90% do couro produzido no mundo	É ainda pouco utilizado no curtimento de peles

## 2.2 - Fundamentos da LIBS

LIBS é uma técnica baseada em medidas de emissão de espécies atômicas, iônicas e moleculares presentes em um plasma obtido pelo pulso de um laser<sup>15</sup>. Apesar da possibilidade de uso de uma variedade de tipos de laser como N<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, ArF, KrF, XeCl, Ti-safira, o laser Nd: YAG é o mais comumente empregado em LIBS, operado em seu comprimento de onda fundamental de 1.064 nm ou em um de seus harmônicos 532 nm, 355 nm ou 266 nm<sup>58</sup>.

De forma geral, um feixe de laser pulsado de alta irradiância, da ordem de GW cm<sup>-2</sup>, é focalizado na superfície da amostra, provocando a remoção de uma pequena massa, cerca de 1 a 10 µg por pulso, e a formação de um plasma com temperatura entre 8.000 a 20.000 K<sup>15</sup>. Parte da massa amostrada no processo de ablação interage com o plasma, no qual ocorrem processos de vaporização e excitação das espécies químicas presentes na amostra<sup>15</sup>.

A radiação emitida por átomos, íons e, eventualmente, fragmentos de moléculas excitados é coletada por um sistema óptico e direcionada para a fenda de entrada de um espectrômetro de emissão óptica<sup>15</sup>. O espectro de emissão gerado permite identificar os elementos presentes na amostra e a intensidade das linhas de emissão no comprimento de onda característico do analito é utilizada como resposta analítica<sup>15</sup>.

A FIGURA 2.2.1 mostra um esquema de um arranjo instrumental típico de um LIBS contendo os principais componentes da técnica: fonte de laser, espelhos, lentes, porta amostra, cabo de fibra óptica, espectrômetro, detector e computador. O princípio básico da LIBS consiste no uso de um laser para formação de um plasma na superfície da amostra, o laser é a fonte de energia responsável por vaporizar, atomizar e excitar as espécies presentes na amostra. Conforme mostrado na figura, o laser é focalizado na superfície da amostra por lentes e espelhos e após a geração do plasma, a luz emitida é coletada por um cabo de fibra óptica e direcionada até um espectrômetro responsável por difratar a radiação coletada, um detector registra os sinais de emissão. Os espectros adquiridos são processados por um computador<sup>59</sup>.

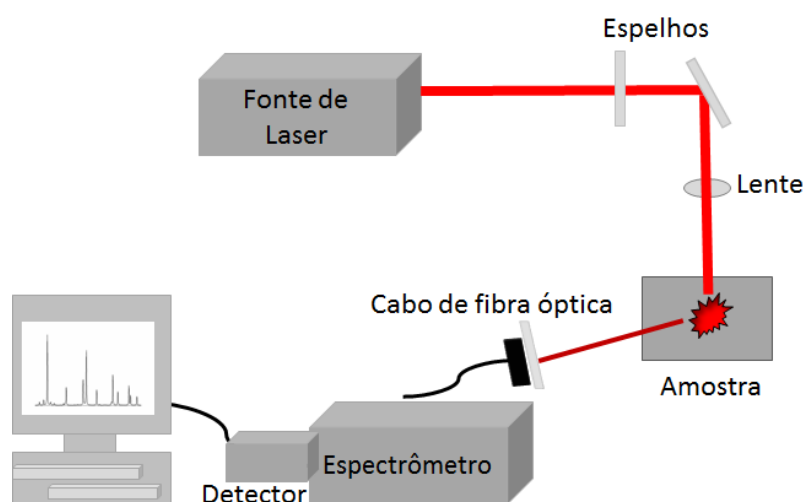


FIGURA 2.2.1 - Esquema simplificado típico de um LIBS, mostrando os principais componentes instrumentais.

As vantagens inerentes a técnica LIBS são responsáveis por torna-la atrativa tanto em laboratório quanto em análises de campo<sup>58</sup>. A seguir estão descritas suas principais vantagens e desvantagens:

1. LIBS é versátil permitindo a determinação de analitos em qualquer material, seja sólido, líquido ou gasoso<sup>58</sup>.
2. Não é necessário preparo de amostra em alguns casos, e em outros apenas um mínimo preparo é suficiente, como a confecção de pastilhas para amostras na forma de pó, por exemplo<sup>58</sup>.
3. Pequenas quantidades de amostras são necessárias para a análise<sup>58</sup>.
4. É multielementar e simultânea<sup>58</sup>.
5. É possível a determinação de elementos leves como He, Li, Be, B, C, N e O, difíceis de serem determinados por outras técnicas analíticas<sup>58</sup>.

6. Possibilidade de análise em profundidade de uma amostra ao realizar pulsos sucessivos de laser em um mesmo ponto<sup>58</sup>.
7. LIBS pode ainda ser acoplada a outras técnicas como espectroscopia Raman, entre outras<sup>58</sup>.
8. Com um poder de resolução espacial da ordem de 100  $\mu\text{m}$ , micro regiões podem ser analisadas<sup>60</sup>.
9. A determinação direta de aerossóis é possível<sup>61</sup>.
10. A análise é simples e rápida<sup>60</sup>.
11. Além de ser usado em ambiente laboratorial e industrial, LIBS pode ainda ser utilizado na sua forma portátil, possibilitando análises em campo e *in situ* de determinados tipos de amostras, como minérios, amostras geológicas, ambientais, arqueológicas, forenses, dentre outras<sup>58</sup>. Os sistemas portáteis oferecem maior flexibilidade e também aumentam a possibilidade de aplicações nos casos em que a amostra não pode ser transferida para o laboratório, como obras de arte e exploração geológica<sup>62</sup>.
12. É possível utilizar equipamentos de forma remota em aplicações para análise química a distância onde o acesso à amostra é difícil ou representa um risco para o analista, contudo nesses casos as configurações instrumentais são completamente diferentes. Em análise remota, uma fibra óptica é empregada para fornecer a energia do laser a distância. Esta abordagem tem sido geralmente restrita a aplicações industriais, análises geológicas e análises químicas em estações nucleares<sup>62</sup>.
13. A LIBS é minimamente destrutiva porque a quantidade de amostra consumida é muito pequena (nanogramas) dependendo da energia do pulso do laser. Assim, é especialmente útil quando pequenas quantidades de material estão disponíveis<sup>60</sup>.
14. Materiais extremamente duros, difíceis de obter em solução podem ser analisados de forma direta (por exemplo, cerâmica e vidro) <sup>60</sup>.
15. Contudo sua maior desvantagem é o desenvolvimento de métodos quantitativos devido às dificuldades de calibração<sup>63</sup>, pois não há no mercado materiais para calibração disponíveis para muitos tipos de amostras. Além disso, os valores certificados são garantidos para massas de amostra da ordem de 100 mg.
16. Elevados limites de detecção da técnica também dificultam a determinação quantitativa.

## 2.3 - Fundamentos da WDXRF

A espectrometria de fluorescência de raios X (XRF) se baseia em medidas de emissão de raios X característicos por átomos presentes em uma amostra<sup>15</sup>. Os átomos constituintes da amostra podem ser excitados por diferentes fontes, como 1) elétrons, prótons ou partículas alfa; 2) raios X ou raios gama emitidos na desintegração de radionuclídeos; 3) tubo de raios X ou 4) radiação sincrotron<sup>15</sup>. Fundamentada no efeito fotoelétrico, na irradiação ocorre a remoção de um elétron interno do átomo, seguida pelo preenchimento desta vacância por um elétron proveniente de uma camada eletrônica de maior energia e concomitantemente, a emissão de radiação na forma de raios X, conforme mostrado na FIGURA 2.3.1<sup>15</sup>. A energia dos raios X emitidos é característica do elemento e a intensidade está relacionada à fração de massa do elemento na amostra.

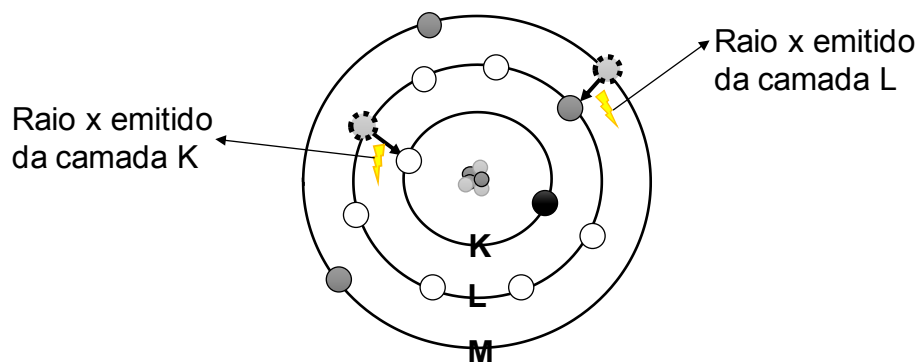


FIGURA 2.3.1 - Modelo esquemático demonstrando o efeito fotoelétrico e a ocorrência de raios X.

A FIGURA 2.3.2 apresenta um esquema ilustrativo de um arranjo instrumental típico de um equipamento WDXRF contendo os principais componentes da técnica: fonte de raios X, porta amostra, cristal, detector e computador.

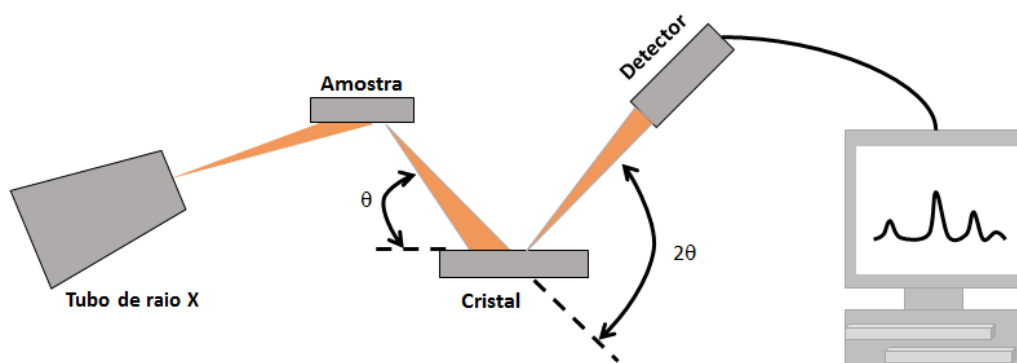


FIGURA 2.3.2 - Esquema simplificado típico de um WDXRF, composto pelos principais componentes instrumentais.

Os instrumentos WDXRF usam uma fonte de raios, neste caso um tubo de ródio, para excitar os átomos presentes em uma amostra permitindo determinar elementos com números atômicos entre o Be e o U. Os raios X incidentes provocam a excitação dos átomos constituintes da amostra que por sua vez emitem linhas espectrais com energias características do elemento. Essa emissão de energia é resultado da ejeção de um elétron das camadas eletrônicas mais internas de um átomo, geralmente K e L, e em seguida elétrons das camadas mais externas substituem o elétron perdido, liberando energia na forma de raios X em diferentes comprimentos de onda característico de cada elemento. Essa radiação emitida é direcionada para um cristal, que difrata os raios X em diferentes direções de acordo com seus comprimentos de onda (energias). O detector capta as linhas características que foram separadas pelo cristal analisador e um computador processa os espectros gerados<sup>64</sup>.

O que distingue a WDXRF de outras técnicas baseadas na espectrometria de fluorescência de raios X são os cristais, responsáveis por difratar os raios X, o que permite a separação da radiação secundária através do espalhamento em ângulos distintos. Nesse tipo de arranjo instrumental, a radiação emitida após a irradiação da amostra chega ao detector de forma monocromática, por isso necessita de um movimento sincronizado e preciso entre o cristal e o detector, elevando o custo do instrumento. A seleção correta do cristal permite separar e selecionar uma região estreita e específica do espectro de emissão de raios X, eliminando possíveis interferências espectrais<sup>64</sup>.

WDXRF é uma técnica versátil e apresenta inúmeras vantagens como:

1. Análise direta com mínimo ou mesmo nenhum preparo de amostra<sup>64</sup>.
2. Pode ser aplicada em diversas amostras, incluindo sólidos e líquidos<sup>15</sup>.
3. As análises apresentam alta frequência de amostragem<sup>64</sup>.
4. Geralmente requer baixo ou nenhum consumo de reagentes<sup>64</sup>.
5. Gera pouco ou nenhum resíduo, o que também a torna ideal para se trabalhar em análises de rotina<sup>64</sup>.
6. Em situações em que se pretende analisar uma amostra totalmente desconhecida, a técnica de XRF também se mostra vantajosa, principalmente em função de permitir uma rápida avaliação qualitativa dos constituintes da matriz<sup>64</sup>.



7. Instrumentos portáteis estão disponíveis e apresentam alguns benefícios aos sistemas de bancada, como a simplicidade de operação, a possibilidade de investigações *in situ* e análise de grandes amostras<sup>65</sup>.

As principais desvantagens do WDXRF são:

1. elevados limites de detecção e,
2. efeitos de matriz.

## 2.4 - Aplicação da LIBS e WDXRF na análise direta de couro

Dentre as matrizes sólidas, uma que vem despertando interesse, não só da área acadêmica, mas também de pesquisadores e principalmente da indústria de calçados e artefatos, é o couro<sup>66</sup>. A qualidade de um couro é constatada quanto às características de natureza química, mecânica e estética<sup>67</sup>. As técnicas LIBS e WDXRF podem fornecer resultados precisos e rápidos sobre as características químicas desta matéria prima, auxiliando, por exemplo na proposição de modelos quimiométricos que reflitam a qualidade do material que está sendo analisado ou na determinação de elementos em couro.

Ao realizar uma busca por trabalhos na literatura, encontrou-se apenas um único artigo científico utilizando LIBS em amostras de couros<sup>68</sup>, fato que mostra o ineditismo desta tese de doutorado e uma lacuna na literatura especializada.

NASR et al.<sup>68</sup> determinaram os elementos As, Ca, Cr, Mg, Pb e S em couro de carneiro curtido com cromo usando LIBS. As amostras de couro acabado, *wet blue* e de pele crua não foram submetidas a nenhum preparo, sendo analisadas de forma direta. O sistema óptico e de detecção empregados foram um detector CCD (dispositivo de carga acoplada) de 14.336 pixels e um laser de Nd:YAG operando em 1.064 nm. Este tipo de laser pode fornecer energia de pulso máximo de 1 J com duração de pulso de 8 ns e opera a uma taxa de repetição do pulso de 10 Hz. O diâmetro do feixe de laser utilizado foi de 2 mm e a energia do pulso de laser foi de 100 mJ. Para a análise quantitativa, uma curva de calibração para cada elemento foi construída por meio de um gráfico da intensidade do sinal LIBS em função de quatro concentrações conhecidas (10, 1, 0,1, e 0,01% m/m). Os elementos detectados foram preparados na matriz de couro. Os espectros foram registrados na faixa de 200 a 620 nm com uma média de 20 disparos de laser, em três locais diferentes na superfície da amostra. As concentrações dos elementos determinados foram comparadas com a

técnica ICP OES utilizando o procedimento padrão EPA 3050B<sup>69</sup> publicado pela Agência de Proteção Ambiental Americana (U.S.EPA). A precisão do método variou de 2 a 4% e os níveis de concentração foram de 8,4 a 12,4 mg kg<sup>-1</sup> para Ca, 4,6 a 198,8 mg kg<sup>-1</sup> para Cr, 27,2 a 288,4 mg kg<sup>-1</sup> para Pb, 2,7 a 29,7 mg kg<sup>-1</sup> para As, 20,7 a 38,2 mg kg<sup>-1</sup> para S e 26,4 a 39,0 mg kg<sup>-1</sup> para Mg. Concentrações menores dos elementos foram detectadas para as peles cruas em comparação aos couros acabados e *wet blue*, exceto para o Mg. Os limites de detecção para Cr, Pb, As, S e Mg foram de 2,0, 3,0, 1,5, 7,0 e 3,0 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente.

Estudos envolvendo a análise de couro usando XRF são mais frequentes, embora nenhum estudo envolvendo um WDXRF tenha sido encontrado na literatura científica. O XRF tem sido empregado principalmente na avaliação de pinturas feitas em artefatos de couro encontrados geralmente em museus e igrejas, manuscritos religiosos antigos e peças de couro antigos, em sua maioria com o objetivo de ajudar no processo de restauração dos materiais. Assim, é possível fornecer, por exemplo, indícios do tipo de pigmento ou corante utilizado nas tintas ou a origem do material avaliado. A maioria dos trabalhos são qualitativos<sup>70-73</sup> e somente dois estudos exploraram uma abordagem quantitativa<sup>74,75</sup>.

GÓMEZ-MORÓN et al.<sup>70</sup> avaliaram pinturas feitas em couro que se encontravam no teto de um museu usando um XRF portátil e os espectros obtidos de forma qualitativa mostraram a presença de Ca, S, Fe, Hg, Cr, K, Cu, Co, Au, Si, As, Ba, Pb, Sn, Zn e Ir. Segundo os autores, a maioria dos analitos detectados são provenientes das tintas usadas nas pinturas.

VORNICU et al.<sup>71</sup> usaram um XRF portátil na análise de 6 manuscritos religiosos fabricados em couro datados dos séculos XVIII - XIX. A composição química dos manuscritos formada por Ag, K, Ca, Mn, Fe, Cu, Au, Sn, S, Zn e Pb foram identificados qualitativamente nos espectros e contribuíram para auxiliar com informações relativas à origem dos manuscritos.

MANNINA et al.<sup>72</sup> analisaram pinturas feitas em couros datadas do século XVIII usando um XRF portátil com o objetivo de determinar a composição química das tintas usadas nas telas. Como resultados, os espectros dos couros detectaram Fe, K e elevada intensidade de Ca.

NAKANO et al.<sup>73</sup> usaram um micro-XRF para avaliar amostras de couro. Os autores reportaram a detecção de Cl, Fe, K, S, Si e Zn distribuídos uniformemente

nos couros de cor preta, enquanto que os couros vermelho-vinho continuam Fe, K, Ti e Zn.

LUO et al.<sup>74</sup> desenvolveram um dos dois trabalhos quantitativos usando XRF e quantificaram 12% de SiO<sub>2</sub>, 5% de Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, 3% de Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, 0,6% de K<sub>2</sub>O, 26% de CaO, 1% de MgO, 0,6% de TiO<sub>2</sub>, 0,3% de ZnO, 3% de CuO, 41% de CO<sub>2</sub>, 2% de SO<sub>3</sub>, 1% de HgO e 2% de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> em couros antigos datados do século VI a.C provenientes de uma escavação arqueológica. HAMANN et al.<sup>75</sup> determinaram a concentração de Co em 130 amostras de couros usando um equipamento XRF e as concentrações do elemento variaram de 1 a 16%.

Conforme mostrado, técnicas de análise direta raramente são utilizadas em análises de couro seja para fins qualitativos ou quantitativos, mostrando a necessidade de desenvolver novos procedimentos analíticos.

## **2.5 - Emprego da quimiometria na análise de couro**

Segundo a IUPAC<sup>76</sup> a quimiometria é definida como sendo a aplicação de estatística à análise dos dados químicos, planejamento e simulações de experimentos químicos. Os tratamentos de dados mais utilizados em quimiometria são planejamentos fatoriais, análise exploratória de dados, métodos de calibração multivariada e modelos de classificação<sup>77</sup>.

O planejamento fatorial é uma ferramenta usada para examinar e compreender a influência de variáveis em um sistema<sup>78</sup>. Quando comparado aos experimentos univariados, apresentam as seguintes vantagens<sup>78</sup>:

1. São mais eficientes e econômicos<sup>78</sup>.
2. Permite o exame da interação entre duas ou mais variáveis<sup>78</sup>.
3. Um menor número de experimentos é realizado para atingir uma condição otimizada por meio de abordagens multivariadas, porque a influência de todas as variáveis é analisada ao mesmo tempo, e seus principais efeitos e interações podem ser simultaneamente estudados<sup>78</sup>.
4. No início da parte experimental é possível saber o número mínimo de experimentos necessários para estudar um dado sistema<sup>78</sup>.

Inicialmente uma etapa de triagem dos dados é realizada aplicando um planejamento fatorial completo ou fracionário, em seguida um refinamento dos

resultados é possível aplicando planejamentos do tipo Doehlert, composto central ou Box-Behnken<sup>79</sup>.

Na análise exploratória de dados destacam-se a análise por componentes principais (PCA) e de agrupamentos por métodos hierárquicos (HCA), ambos são métodos não supervisionados de reconhecimento de padrões. Enquanto que os métodos de regressão ou calibração multivariada são métodos que propõem obter uma relação quantitativa empírica entre um conjunto de dados (matriz X) e uma propriedade de interesse (vetor y). Neste ponto pode-se destacar os métodos de regressão linear múltipla (MLR), de regressão por componentes principais (PCR) e regressão por quadrados mínimos parciais (PLS). Já os métodos supervisionados de reconhecimento de padrões como KNN, SIMCA e PLS-DA são utilizados para a construção de modelos de classificação<sup>77</sup>. No modelo KNN, a distância euclidiana entre as amostras é usada para classificar os vizinhos mais próximos<sup>77</sup>; no caso do SIMCA, uma PCA é calculada para cada classe<sup>77</sup>; e no modelo PLS-DA, após definir as variáveis dependentes, um modelo é calculado usando variáveis latentes (LV) do PLS<sup>77,80</sup>.

Podemos destacar três trabalhos que exploraram o uso de técnicas de análise direta aliado ao uso de ferramentas quimiométricas na análise de couros<sup>81,82</sup>. Como no caso em que utilizou-se o infravermelho próximo (NIR)<sup>81</sup> para estimar a data de produção de 130 amostras de artefatos de couros antigos. No tratamento de dados foi utilizado PCA e PLS e foi possível identificar o ano de origem desses artefatos que variaram de 1.550 a 1.850.

CANTERO et al.<sup>82</sup> utilizaram as técnicas de espectroscopia por *Fourier Transform Infrared* (FTIR) e NIR para caracterização de 63 amostras de couros. Os espectros foram registrados entre 4.000 e 6.500  $\text{cm}^{-1}$  e entre 1.100 e 2.500 nm, respectivamente. As amostras foram classificadas de acordo com o tratamento de acabamento dado ao couro (resina, cera, óleo) utilizando as ferramentas quimiométricas PCA e KNN.

CANTERO et al.<sup>83</sup> analisaram amostras de pele de ovelha usando espectroscopia NIR (NIRS) para a determinação direta de gordura em couro, e um Soxhlet foi usado para obter valores de referência. Os modelos de calibração que empregaram PLS foram desenvolvidos usando os espectros obtidos e as amostras foram avaliadas antes e após o desengorduramento.



## **Capítulo 3**

---

### **Objetivos**

### **3 - Objetivos**

#### **3.1 - Objetivo geral**

Avaliação da composição química de couros usando *laser-induced breakdown spectroscopy* (LIBS) e *wavelength dispersive X-ray fluorescence* (WDXRF).

#### **3.2 - Objetivos específicos**

- Emprego de ferramentas quimiométricas para otimizar as condições instrumentais do LIBS;
- Emprego de espectros LIBS aliados a modelos de classificação, KNN, SIMCA e PLS-DA como alternativa aos tradicionais testes físico-mecânicos para avaliar a qualidade de couros;
- Desenvolvimento de um método para a determinação direta de Al, Ca, Cr, Fe, Ti e Zn em couros usando a técnica WDXRF;
- Estabelecimento de um procedimento de preparo de amostra para couros e posterior determinação por ICP OES;
- Avaliação da composição química de couros sintéticos usando ICP OES, LIBS e WDXRF;
- Uso da PCA como ferramenta para identificar similaridades e diferenças de couros sintéticos.

## **Capítulo 4**

---

**Proposição de modelos de  
classificação para a avaliação  
direta da qualidade de couros  
de bovinos e ovinos utilizando  
a técnica LIBS**



## **4 - Proposição de modelos de classificação para a avaliação direta da qualidade de couros de bovinos e ovinos utilizando a técnica LIBS**

### **4.1 - Introdução**

Espectros LIBS contêm uma grande quantidade de informação, pois esta é uma técnica multielementar e é possível direcionar vários pulsos de laser em cada amostra, com isso gera-se muitos espectros de emissão por amostra. A região espectral monitorada pode ir do UV até o infravermelho. As informações contidas nos espectros são adequadas para uso em conjunto com ferramentas quimiométricas, seja para exploração dos dados, classificação ou calibração<sup>84</sup>. A análise multivariada é, portanto, necessária para extrair o máximo de informações destes espectros e correlacioná-los com o observado nas medidas químicas e nas propriedades físicas do material<sup>81</sup>.

A combinação de LIBS e ferramentas quimiométricas tem sido amplamente utilizada para a classificação ou discriminação de diferentes tipos de amostras, como brinquedos (PCA, KNN, SIMCA e PLS-DA)<sup>85</sup>, solos (SIMCA e análise discriminante linear)<sup>86</sup>, remédios (SIMCA e PCA)<sup>87</sup>, trigo (PLS-DA)<sup>88</sup>, tintas e pigmentos (PCA, SIMCA e PLS-DA)<sup>89</sup>, biomateriais e simuladores de guerra química (PCA e SIMCA)<sup>90</sup>, plantas (PCA e SIMCA)<sup>91</sup>, solos e rochas (SIMCA e PCA)<sup>92</sup>, frações poliméricas de sucata de telefones celulares (KNN, SIMCA e PLS-DA)<sup>93,94</sup>, concentrado de urânio em pó (PCA e SIMCA)<sup>95</sup>. Entretanto, não existe na literatura a associação de LIBS e quimiometria na análise de amostras de couro.

A avaliação da qualidade de couros é fundamental para garantir suas propriedades. Vários testes físico-mecânicos são realizados de acordo com os métodos oficiais<sup>96,97</sup>. No entanto, esses testes são trabalhosos, demorados, laboriosos e destrutivos<sup>81</sup>, cerca de ¼ de um couro bovino e metade de um couro ovino são perdidos após os testes, impactando diretamente no valor econômico de venda da peça de couro.

A aplicação dos testes físico-mecânicos requer muito tempo de análise, onde os corpos de prova (CP) precisam climatizar durante 24 horas sob temperatura e umidade controlada antes das análises. Além disso, é necessária uma grande quantidade de amostra, tais como 3 CP de prova na direção longitudinal (L) e mais 3

na direção transversal (T), ou seja 6 amostras distintas para cada teste físico-mecânico. Portanto, métodos alternativos exatos, precisos e com alta frequência analítica para esses testes são necessários.

O uso de ferramentas quimiométricas em análises de couro ainda foi pouco explorado e a combinação de espectros de emissão LIBS com modelos de classificação podem ser uma alternativa aos testes físico-mecânicos para avaliação da qualidade do couro de forma mais rápida e menos trabalhosa. Os testes físico-mecânicos de couro podem ser utilizados como valores de referência para calcular os modelos de classificação. Assim, um dos objetivos dessa tese é avaliar o uso de espectros LIBS combinados com modelos de classificação, KNN, SIMCA e PLS-DA como alternativa aos testes físico-mecânicos para avaliação da qualidade do couro.

#### **4.1.1 - Métodos oficiais para controle de qualidade de couro**

Após a produção do couro é importante a realização de testes físico-mecânicos para controle de qualidade, tais como resistência, força, rasgamento, espessura entre outros, para que se possa verificar se o curtimento adotado foi bem-sucedido<sup>98</sup> e também para definir o direcionamento da matéria prima para confecção de produtos específicos<sup>56</sup>.

Devido à particularidade de cada tipo de curtimento, o couro produzido apresentará características intrínsecas ao tipo de curtimento adotado, gerando um tipo específico de matéria prima que será destinado a certas aplicações. Por exemplo, os couros finos e elásticos são destinados para a confecção de roupas enquanto os couros macios, espessos e com menor elasticidade são destinados para a confecção de calçados e acessórios, já os couros que não atendem às exigências para calçados ou vestuário são utilizados na produção de artefatos em geral<sup>56</sup>.

No Brasil, dispõe-se da norma ABNT (associação brasileira de normas técnicas) NBR (normas brasileiras) 13525:2016<sup>99</sup> que visa padronizar ensaios físicos realizados em couros, apresentando valores orientadores para aceitação do controle de qualidade de couros. Esta norma estabelece valores mínimos aceitáveis para o couro quanto a análise física. A TABELA 4.1.1.1 mostra a referida norma e apresenta tais valores para os ensaios físicos, além das normas padrões para cada teste. Dessa forma, um couro de qualidade deverá atingir os valores dos testes indicados pela norma.

TABELA 4.1.1.1 - Valores orientadores para ensaios físico-mecânicos de couro.

Teste físico-mecânico	Norma			Valor orientador
Determinação da espessura	ABNT	NBR	ISO	(1,2 ± 0,2) mm
	2589			
Resistência ao rasgamento – Rasgo simples	ABNT	NBR	ISO	≥ 25 N (Newton)
	3377-1			
Resistência a tração e alongamento	ABNT	NBR	ISO	≥ 150 N ≥ 40 %
	3376			
Resistência ao rasgamento – Rasgo duplo	ABNT	NBR	ISO	≥ 50 N
	3377-2			

#### 4.1.2 - Testes físico-mecânicos

Para realizar os testes/ensaios físico-mecânicos que objetivam atestar a qualidade do couro, inicialmente é necessário retirar amostras de couros, denominadas corpo de prova (CP), com a ajuda de uma prensa hidráulica e navalhas de corte (FIGURA 4.1.2.1 a) com dimensões em conformidade com a norma ABNT NBR 11035:2005, sendo retirados seis CP de cada peça de couro (FIGURA 4.1.2.1 b), três na direção longitudinal paralela ao eixo crânio-caudal do animal e três na direção transversal ao mesmo eixo, na região estabelecida pela norma ABNT NBR 11032:2013 (FIGURA 4.1.2.1 c).



FIGURA 4.1.2.1 - (a) Prensa hidráulica e lâminas para corte dos CP (b) Couro após corte dos CP (c) Região da retirada dos CP nas direções L e T paralelas ao eixo crânio-caudal do animal (d) CP climatizando (e) Espessímetro (f) Dinamômetro.

Os CP devem ser climatizados durante 24 horas sob temperatura de  $23 \pm 2$  °C e umidade relativa do ar de  $50 \pm 5\%$  (FIGURA 4.1.2.1 d), conforme estabelecido pela norma ABNT NBR 10455:2014. Posteriormente, medidas da espessura dos CP são realizadas em um espessímetro (FIGURA 4.1.2.1 e) conforme norma ABNT NBR ISO 2589:2014 para posterior realização dos cálculos de resistência a tração e resistência ao rasgamento. A FIGURA 4.1.2.2 mostra com um “x” as posições onde as medidas de espessura são realizadas nos CP, a espessura é medida em três posições diferentes em cada CP.

Finalmente, os testes de resistência à tração e resistência ao rasgamento são realizados em um dinamômetro, mostrado na FIGURA 4.1.2.1 f. Os testes de resistência a tração são realizados em conformidade com a ABNT NBR ISO 3376:2014 e os testes de resistência ao rasgamento são realizados em conformidade com as legislações ABNT NBR ISO 3377-1:2014 e ABNT NBR ISO 3377-2:2014. Para os cálculos de resistência a tração, o pico da força em Newtons é dividido pela largura da amostra em milímetros quadrados, já para resistência ao rasgamento, o pico da força em Newtons é dividido pela espessura da amostra em milímetros. A realização dos testes é apresentada na FIGURA 4.1.2.2.


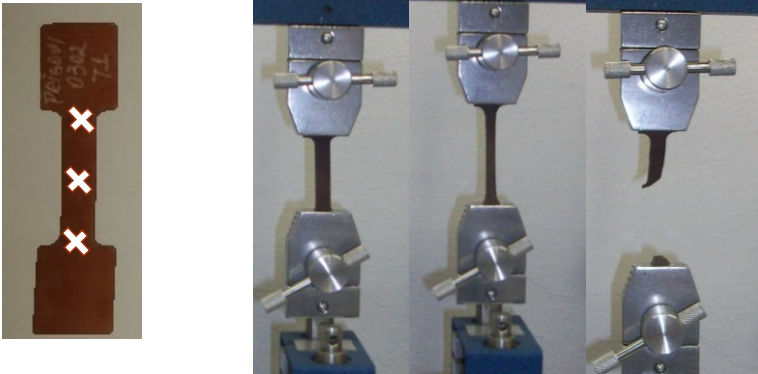
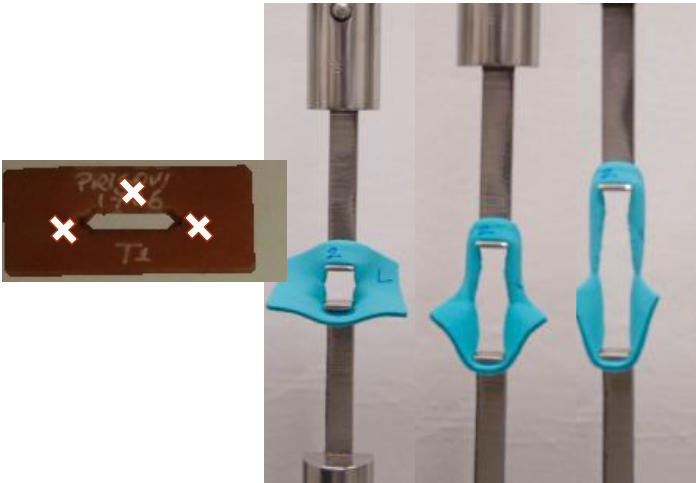
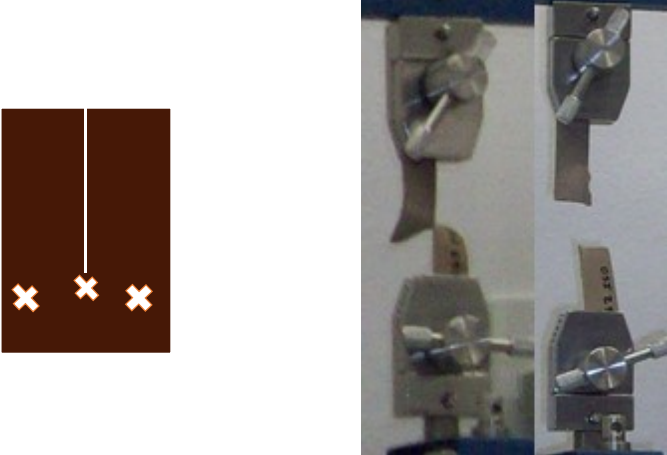
<p>Medida de espessura</p>	
<p>Teste de tração</p>	
<p>Teste de rasgamento</p>	
<p>Teste de rasgamento duplo</p>	

FIGURA 4.1.2.2 - Medida de espessura (as 3 demarcações mostram onde as medidas de espessura são realizadas), teste de tração, teste de rasgamento e teste de rasgamento duplo.

### 4.1.3 - Planejamento fatorial

O planejamento fatorial é uma ferramenta estatística que permite observar os efeitos e as interações entre variáveis, por isso é de grande utilidade na otimização de condições instrumentais. Na otimização univariada não é possível avaliar os efeitos de interações entre as variáveis, pois fixa-se uma variável enquanto a outra é variada, em busca da melhor resposta instrumental. Além disso, o número de experimentos executados é geralmente maior se comparado com aqueles obtidos em um planejamento fatorial, resultando em maior consumo de reagentes e tempo<sup>100</sup>.

Vários tipos de planejamentos fatoriais estão disponíveis e podem ser utilizados em diferentes casos, por exemplo, os planejamentos de primeira ordem, planejamento fatorial completo e planejamento fatorial fracionário, são os mais simples pois são empregados em dois níveis<sup>101</sup>. São especialmente utilizados para estudos preliminares ou nas etapas iniciais de uma otimização, onde é necessário efetuar uma triagem das variáveis. O planejamento fatorial completo é comumente empregado quando se tem entre 2 a 4 variáveis, enquanto que o planejamento fatorial fracionário é utilizado quando se tem mais do que 5 variáveis<sup>79</sup>.

No entanto, como apenas dois níveis são usados, os planejamentos de primeira ordem são restritos, dessa forma nos casos em que é necessário avaliar maior número de níveis deve-se recorrer a planejamentos de segunda ordem (metodologias de superfície de resposta)<sup>101</sup>. Como exemplos podemos citar o planejamento composto central, Box-Behnken e Doehlert.

O planejamento composto central combina um planejamento fatorial completo ou fracionário de dois níveis acrescidos de pelo menos um experimento no ponto central e quatro experimentos ou pontos em estrela (pontos axiais)<sup>101</sup>. O planejamento Box-Behnken é composto por três níveis, no qual uma das variáveis é fixada em zero e um planejamento fatorial completo  $2^2$  é aplicado às outras duas variáveis<sup>101</sup>. Um terceiro tipo de planejamento é o Doehlert. Este permite estudar as variáveis em diferentes números de níveis. Em um estudo com 3 variáveis, por exemplo, normalmente a mais importante (aquela que apresentou maior efeito durante a triagem) é avaliada em 7 níveis, a segunda em 5 níveis e a menos importante em 3 níveis.

A avaliação dos resultados dos planejamentos pode ser feita a partir da análise de variância (ANOVA) que estima a significância dos efeitos principais bem como as interações entre as variáveis.

#### 4.1.4 - Modelos de classificação

Os modelos de classificação são métodos supervisionados de reconhecimentos de padrões e cada uma das amostras é descrita por um conjunto de medidas experimentais de referência (que neste trabalho são os testes físico-mecânicos) que são classificadas de acordo com uma propriedade de interesse (conforme/não conforme, bom/ruim, por exemplo)<sup>77</sup>.

Inicialmente, uma série de amostras representativas de cada classe são selecionadas para constituir o conjunto de calibração<sup>77</sup>. Antes de sua aplicação, o modelo empírico obtido deve ser testado para verificar sua capacidade de prever com sucesso a classe de novas amostras e para isso, é necessário a utilização de um conjunto de validação. Se o resultado de validação for satisfatório, ele pode, então, ser utilizado para identificar a propriedade de interesse (a classe) de novas amostras<sup>77</sup>.

Os métodos de classificação mais empregados em química são o método KNN, SIMCA e o PLS-DA.

No KNN, cada amostra do conjunto de calibração é excluída uma única vez e então classificada usando as amostras restantes<sup>77</sup>. Neste caso, são calculadas as distâncias entre a amostra excluída e todas as outras usando a distância Euclidiana ou a distância de Mahalanobis<sup>77</sup>. A amostra que havia sido excluída, é então classificada de acordo com a maioria dos “votos” de seus vizinhos mais próximos (cada vizinho dará um voto para a sua própria classe)<sup>77</sup>. A amostra é atribuída à classe mais votada e, em caso de empate, é atribuída à classe com a menor distância acumulada<sup>77</sup>. O modelo deve ser testado, quanto à sua capacidade preditiva, utilizando um conjunto de validação, constituído por amostras de classes conhecidas e que não participaram da construção do modelo<sup>77</sup>.

A FIGURA 4.1.4.1 exemplifica a aplicação do KNN na construção de um modelo de classificação. A amostra representada por um quadrado pertence a classe 2, pois a amostra mais próxima pertence a classe 2, que recebe um voto e, portanto, ela será corretamente classificada como pertencente a essa classe.



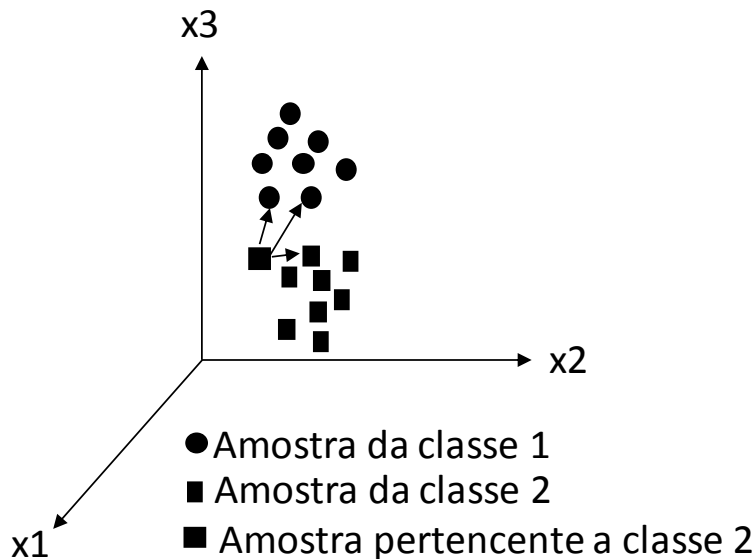


FIGURA 4.1.4.1 - Modelo KNN representativo da classificação de uma amostra  $y$ , representada por um quadrado, em uma das duas classes disponíveis (1 ou 2).

No método SIMCA os valores medidos para um conjunto de amostras similares tenderão para uma distribuição uniforme e modelável<sup>77</sup>. Neste caso, um modelo de componentes principais (PC) é ajustado para cada classe do conjunto de calibração, dando origem a um classificador para cada uma delas<sup>77</sup>. Os limites de cada classe são definidos por componentes principais delimitadas por uma hipercaixa<sup>77</sup>, conforme mostrado na FIGURA 4.1.4.2.

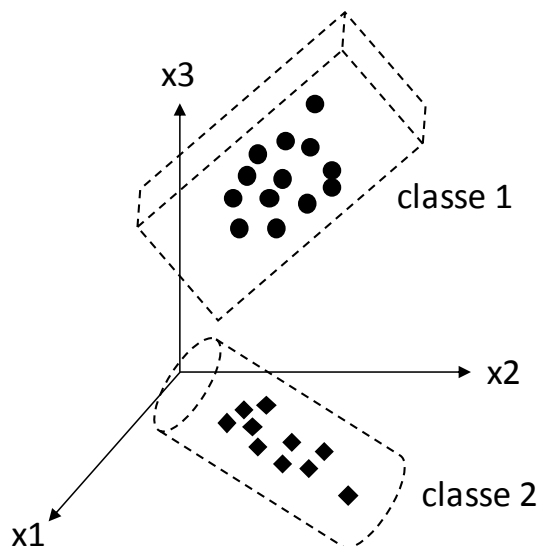


FIGURA 4.1.4.2 - Limites da hipercaixa dos modelos SIMCA.

A classificação de uma amostra no SIMCA é feita comparando a variação nos dados que não foi explicada pelo subespaço das PC (variância residual) com a variância residual média da classe em questão<sup>77</sup>. Essa comparação é avaliada

por meio de um teste F e fornece uma medida direta da similaridade entre as amostras dessa classe e pode ser tomada como uma medida do seu ajuste à classe<sup>77</sup>.

Uma vez obtidas as fronteiras de cada classe, a atribuição de uma amostra-teste a uma determinada classe é feita com base na projeção dessa amostra no espaço gerado pelas PC e na sua distância às fronteiras da classe em questão<sup>77</sup>. O processo é repetido projetando a amostra em todas as outras classes para decidir com base em critérios estatísticos a que classe(s) ela(s) pertence(m)<sup>77</sup>. No SIMCA as amostras podem pertencer a nenhuma das classes, a apenas uma classe ou a duas (ou mais) classes simultaneamente<sup>77</sup>.

No PLS-DA, inicialmente um bloco de variáveis dependentes para o conjunto de calibração é definido, consiste de um conjunto de vetores  $y$  contendo números inteiros que codificam a classe da amostra, sendo um vetor para cada classe. Para a primeira classe, o número 1 é atribuído às amostras dessa classe, e o zero é atribuído a todas as outras amostras, não pertencentes a essa classe. Já na próxima coluna da matriz, são as amostras dessa classe que são designadas por 1, e todas as outras por zero, e assim, por diante, até que cada uma das classes tenha sido representada pelo número 1. Quando se trata de apenas duas classes, pode-se utilizar uma única variável dependente representada pelos números 1 para as amostras de uma classe e -1 para as amostras da outra classe<sup>77</sup>.

Uma vez que as variáveis dependentes foram definidas, a etapa seguinte é a construção do modelo de regressão utilizando o método PLS. Como o método PLS maximiza a relação entre a variável dependente e os escores, pode-se afirmar que as variáveis latentes representam as direções que melhor discriminam as classes, e que definem a máxima separação entre elas. Os valores da variável dependente estimadas pelo modelo final não são os números inteiros atribuídos originalmente, mas valores reais que devem estar próximos dos números originais<sup>77</sup>.

## **4.2 - Materiais e métodos**

### **4.2.1 - Amostras**

Nos experimentos, 375 amostras de couro foram usadas, 60 de ovinos e 315 de bovinos. Essas amostras foram curtidas com cromo (couro semi-acabado e acabado) e obtidas de animais criados na Embrapa Pecuária Sudeste (São Carlos – SP). Esses animais apresentavam características diferentes, como grupo genético,

sexo, peso e idade. O experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Embrapa Pecuária Sudeste (CEUA/PPSE, Protocolo nº 04/2011). Esse comitê segue a lei número 11794 (08 de outubro de 2008) que regulamenta o inciso VII do primeiro parágrafo do artigo 225 da constituição federal brasileira. Essa lei estabelece procedimentos para experimentos com sujeitos vivos. Outras características, incluindo o local e ano de abate, também foram observadas na avaliação dos dados. Uma descrição completa, tais como aplicação pretendida, cor, etapa do processo, etc. das amostras analisadas pode ser vista na TABELA 4.2.1.1.

TABELA 4.2.1.1 - Descrições das amostras de couro usadas no estudo.

Observações	Couro ovino	Couro bovino
Aplicação pretendida	Sapatos	Sapatos e acentos de carro
Cor	Marrom (60 amostras)	Castanho (17), castanho escuro (57), castanho claro (112), verde (112) e preto (17 amostras)
Estágio de fabricação	Couro acabado	Couro acabado e couro semi-acabado
Ano do abate	2006	2010 e 2011
Grupos genéticos*	DOR, SIN e SUF	CANE, CASN, CATA, HNE, HSN, e HTA
Idade dos animais (dias)	104 - 201	342 - 725
Peso dos animais (kg)	28,7 – 41,7	292 - 579

\*DOR: Dorper; SIN: Santa Inês; SUF: Suffolk; CANE: pai Canchin e mãe Nelore; CASN: pai Canchin e mãe ½ Senepol + ½ Nelore; CATA: pai Canchin e mãe ½ Angus + ½ Nelore; HNE: pai Hereford e mãe Nelore; HSN: pai Hereford e mãe ½ Senepol + ½ Nelore; HTA: pai Hereford e mãe ½ Angus + ½ Nelore

Para realizar as análises no LIBS, cada amostra de couro de animal foi cortada em um retângulo (3,00 cm x 4,00 cm) usando uma prensa hidráulica (Metalúrgica Aço real, P-23) com facas de corte.

## 4.2.2 - Testes físico-mecânicos

Para obter valores de referência para os modelos de classificação, todas as 375 amostras foram submetidas a 18 testes físico-mecânicos. Esses testes foram divididos em duas direções: 9 na longitudinal (L) e 9 na transversal (T). Amostras nas direções L e T foram cortadas paralelamente ao eixo cranial-caudal do animal, conforme a ABNT NBR ISO 2418: 2015<sup>97</sup>.

Após o abate, as peles foram submetidas ao processo de curtimento com sulfato de cromo (III). Após o curtimento, seis corpos de prova (CP) de cada couro foram cortados em prensa hidráulica, sendo 3 na direção L e 3 na direção T (ABNT NBR ISO 2418:2015)<sup>97</sup>. Antes da realização dos testes, os CP foram climatizados durante 48 horas a  $23 \pm 2$  ° C e umidade relativa de  $50 \pm 5\%$  (ABNT NBR 10455: 2014)<sup>102</sup>. Depois, foram medidas as espessuras dos CP (ABNT NBR ISO 2589: 2014)<sup>103</sup>. Finalmente, os testes físico-mecânicos foram realizados em um dinamômetro (Maqtest) e quatro ensaios diferentes foram realizados: determinação da resistência à tração (ABNT NBR ISO 3376: 2014)<sup>104</sup>, alongamento do couro (ABNT NBR ISO 3376: 2014)<sup>104</sup>; determinação da resistência ao rasgamento (ABNT NBR ISO 3377-1: 2014)<sup>105</sup>; e resistência ao rasgamento duplo (ABNT NBR ISO 3377-2: 2014)<sup>106</sup>. O equipamento mede a força (N) exigida para quebrar ou rasgar o couro, e usando este valor juntamente com a espessura ou a área do CP de couro, a resistência é calculada em  $N\text{ mm}^{-1}$  ou  $N\text{ mm}^{-2}$  de acordo com os padrões mencionados anteriormente. Os valores de resistência foram calculados dividindo a força (N) pela espessura (mm) do CP para o cálculo da resistência ao rasgamento, enquanto a resistência à tração foi calculada dividindo a força (N) pela área/largura da amostra ( $\text{mm}^2$ ).

## 4.2.3 - LIBS: parâmetros de otimização e análise

Nesse estudo, foi utilizado um instrumento LIBS J200 (Applied Spectra, Fremont, CA, EUA) com o software Axiom 2.5. Este instrumento é equipado com um laser Nd:YAG em um comprimento de onda fundamental de 1.064 nm, fornecendo um máximo de 100 mJ de energia em um único pulso de laser com uma duração de 8 ns a uma frequência de 10 Hz. Utilizou-se um espectrômetro CCD de 6 canais para registrar a informação espectral de 186 a 1042 nm: canal 1: 186 a 309 nm; canal 2:

309 a 460 nm; canal 3: 460 a 588 nm; canal 4: 588 a 692 nm; canal 5: 692 a 884 nm; canal 6: 884 a 1042 nm; resolução espectral <0,1 nm do UV ao Vis e <0,12 nm do Vis ao NIR e os espectros são compostos por 12.288 variáveis.

A configuração adequada dos parâmetros operacionais da LIBS é fundamental para o desenvolvimento de procedimentos analíticos para maior sensibilidade e reprodutibilidade, e esses parâmetros mudam consideravelmente dependendo da matriz analisada<sup>107</sup>. Na configuração experimental, três parâmetros instrumentais podem ser variados: energia do pulso laser de 0 a 100 mJ, tempo de atraso de 0 a 2  $\mu$ s e tamanho do ponto (spot size) de 50 a 250  $\mu$ m. Esses três parâmetros foram avaliados inicialmente utilizando um planejamento fatorial completo e, posteriormente, com um planejamento Doehlert para estabelecer uma condição de compromisso para todas as linhas de emissão avaliadas<sup>101</sup>.

O planejamento fatorial completo é utilizado no primeiro estágio da otimização para identificar a influência ou o efeito de cada variável na resposta desejada. Após a identificação das variáveis mais importantes, um refinamento dos dados pode ser feito adicionando-se mais níveis ao planejamento, usando outro planejamento como o Doehlert. Usando este tipo de planejamento, as variáveis podem ser testadas em diferentes níveis e a variável mais importante pode ser estudada com mais detalhes<sup>108</sup>.

Inicialmente, os 3 parâmetros experimentais citados anteriormente foram avaliados em dois níveis, utilizando um planejamento fatorial completo ( $2^3 = 8$  experimentos): energia do pulso do laser (50 e 90 mJ), tempo de atraso (0,5 e 1,0  $\mu$ s) e tamanho do ponto (50 e 100  $\mu$ m), conforme mostrado na TABELA 4.2.3.1. Estas análises foram realizadas na frente e no verso de 15 amostras representativas previamente selecionadas (couros de ovinos e bovinos). As respostas avaliadas foram a relação sinal/ruído (SBR) para as 5 linhas de emissão com maior intensidade relativa para Cr (283,5, 357,8, 359,3, 425,4 e 427,4 nm). Sete efeitos (3 efeitos principais, 3 efeitos secundários e 1 efeito terciário) foram calculados para cada linha de emissão, e a média foi usada para classificar a influência das variáveis na condição espectral.

TABELA 4.2.3.1 - Planejamento fatorial completo empregado na otimização das condições instrumentais do LIBS.

Experimento	Tempo de atraso (µs)		Energia do laser (mJ)		Tamanho do ponto (µm)	
	Codificado	Real	Codificado	Real	Codificado	Real
1	-1	0,5	-1	50	-1	50
2	-1	0,5	1	90	-1	50
3	1	1,0	-1	50	-1	50
4	1	1,0	1	90	-1	50
5	-1	0,5	-1	50	1	100
6	-1	0,5	1	90	1	100
7	1	1,0	-1	50	1	100
8	1	1,0	1	90	1	100

Após a identificação da ordem das variáveis mais importantes, um planejamento Doehlert foi empregado. Neste planejamento, as variáveis foram estudadas em diferentes níveis. A TABELA 4.2.3.2 mostra os 15 experimentos realizados para as duas amostras escolhidas para otimização, isto é, uma amostra de couro de bovino e uma amostra de couro ovino. Neste novo planejamento, as intensidades de sinal analítico e SBR foram consideradas para as 5 linhas de emissão com maior intensidade relativa para Cr. Estes dados foram convertidos em desejabilidade e os valores mais baixos e mais altos foram codificados como 0 e 1, respectivamente. Os 3 primeiros experimentos descritos na TABELA 4.2.3.2 representam o ponto central e foram realizados para calcular a soma quadrática do erro puro (SSPE). Nesses 3 experimentos, as variáveis são codificadas como 0 e a energia do laser, tempo de atraso e tamanho do ponto são 50 mJ, 1,0 µs e 75 µm, respectivamente. Todos os experimentos foram realizados em ordem aleatória.

TABELA 4.2.3.2 - Planejamento Doehlert utilizado para otimização das condições instrumentais do LIBS.

Experimento	Energia do laser (mJ)		Tempo de atraso ( $\mu$ s)		Tamanho do ponto ( $\mu$ m)	
	Codificado	Real	Codificado	Real	Codificado	Real
1	0	50	0	1,0	0	75
2	0	50	0	1,0	0	75
3	0	50	0	1,0	0	75
4	1	90	0	1,0	0	75
5	0,5	70	0,866	1,9	0	75
6	0,5	70	0,289	1,3	0,817	100
7	-1	10	0	1,0	0	75
8	-0,5	30	-0,866	0,1	0	75
9	-0,5	30	-0,289	0,7	-0,817	50
10	0,5	70	-0,866	0,1	0	75
11	0,5	70	-0,289	0,7	-0,817	50
12	-0,5	30	0,866	1,9	0	75
13	0	50	0,577	1,6	-0,817	50
14	-0,5	30	0,289	1,3	0,817	100
15	0	50	-0,577	0,4	0,817	100

Na otimização, foram calculados 15 modelos (5 para couros bovinos, 5 para ovinos e 5 para ambos) utilizando as 5 linhas de emissão com maior intensidade relativa para Cr para cada modelo. Os parâmetros dos modelos foram avaliados usando uma tabela ANOVA. Gráficos de superfície de resposta foram obtidos para os modelos calculados, permitindo a identificação das condições mais adequadas para todas as variáveis simultaneamente.

#### 4.2.4 - Análise dos dados e modelos de classificação

Após obter os dados brutos eles foram normalizados e 12 tipos de normalização foram testados<sup>109</sup>, em seguida foi calculada a média de 100 espectros e os dados foram centrados na média. O conjunto de dados foi organizado usando o Microsoft Excel e as normalizações foram calculadas usando o Matlab 2017 (The Math

Works, Natick, EUA). O software Aurora (Applied Spectra) foi empregado na identificação das linhas de emissão e o Pirouette 4.5 (Infometrix, Bothell, EUA) foi utilizado para o cálculo dos modelos de classificação.

O conjunto de dados consistiu em uma matriz com 375 linhas x 12.288 colunas, em que as linhas representavam as amostras de couro e as colunas representavam as linhas de emissão (de 186 a 1.042 nm). Uma análise exploratória inicial usando PCA foi realizada para avaliar se a LIBS poderia diferenciar várias características das amostras: cores, tipo de couro, couro acabado ou semi-acabado, entre outros. Posteriormente, três modelos de classificação foram propostos para prever a qualidade dos couros: KNN,<sup>77</sup> SIMCA<sup>110</sup> e PLS-DA.<sup>111</sup> Os conjuntos de dados de calibração e validação foram separados usando o algoritmo de Kennard-Stone.<sup>112</sup> O conjunto de calibração foi composto por 80% das amostras e o conjunto de validação foi composto por 20% conforme mostrado em detalhes na TABELA 4.2.4.1.

TABELA 4.2.4.1 - Número de amostras contidas nos conjuntos de calibração e validação para os modelos KNN, SIMCA e PLS-DA.

Teste	Direção	Classe 1	Classe 2	Todas as amostras	Calibração		Todas as amostras
					Classe 1	Classe 2	
		Calibração			Validação		
1	L	158	142	300	33	42	75
2	L	149	151	300	39	36	75
3	L	163	137	300	27	48	75
4	L	154	146	300	34	41	75
5	L	155	144	299	33	42	75
6	L	152	147	299	36	39	75
7	L	153	146	299	35	40	75
8	L	154	118	252	25	38	63
9	L	127	125	252	31	32	63
1	T	156	144	300	34	41	75
2	T	160	140	300	29	46	75
3	T	149	151	300	39	36	75
4	T	151	148	299	37	38	75
5	T	156	143	299	32	43	75
6	T	154	146	300	33	41	74
7	T	155	144	299	33	42	75
8	T	131	121	252	25	38	63
9	T	125	127	252	33	30	63



## 4.3 - Resultados e discussão

### 4.3.1 - Otimização das condições operacionais da LIBS

Inicialmente, três parâmetros experimentais para a técnica LIBS foram avaliados com planejamento fatorial completo. A FIGURA 4.3.1.1 mostra um gráfico de probabilidade dos sete efeitos calculados. Usando esse gráfico, os efeitos mais importantes foram classificados: energia do laser (1), tempo de atraso (2), interações entre a energia do laser e o tempo de atraso (12) e a energia do laser e tamanho do ponto (13). Uma energia do laser alta e um tempo de atraso baixo produzem efeitos positivos. O tamanho do ponto (3) não teve influência significativa, mas há interações entre essa variável e as demais.

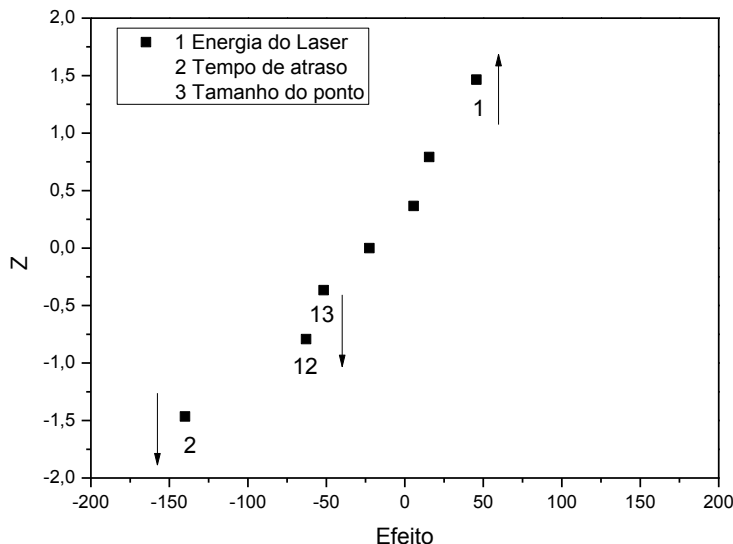


FIGURA 4.3.1.1 - Gráfico referente aos efeitos *versus* valores de Z para a otimização dos parâmetros instrumentais da LIBS usando planejamento fatorial completo 2<sup>3</sup>.

Diante desses resultados, um refinamento dos dados foi realizado alterando as variáveis mais importantes em mais níveis usando um planejamento Doehlert (ver TABELA 4.2.3.2). O tempo de atraso (a variável mais importante) foi avaliado em 7 níveis (0, 0,25, 0,5, 0,75, 1,0, 1,5 e 2,0  $\mu$ s), a energia do laser foi variada em 5 (10, 50, 65, 80 e 90 mJ), e o tamanho do ponto (o menos importante) em 3 (50, 75 e 100  $\mu$ m); as respostas monitoradas foram convertidas em desejabilidade. Neste caso, o menor e o maior SBR e a intensidade foram convertidos para 0 e 1, respectivamente (ver TABELA 4.3.1.1). No início, tentou-se calcular um modelo global combinando as 5 linhas de emissão monitoradas nos dois tipos de couros (bovinos e ovinos), mas não foi possível obter um modelo válido. Em seguida, modelos

individuais foram calculados para cada linha de emissão em cada tipo de couro, e apenas a linha de emissão em 359,0 para couro bovino apresentou um modelo de regressão sem falta de ajuste. A TABELA 4.3.1.1 mostra a Dg calculada em 359,0 nm para cada experimento.

TABELA 4.3.1.1 - Desejabilidade global (Dg) calculada para cada experimento em 359,0 nm.

Experimento	Desejabilidade global (Dg) em 359 nm
1	0,26
2	0,33
3	0,17
4	0,74
5	1,00
6	0,71
7	0,00
8	0,19
9	0,81
10	0,56
11	0,74
12	0,42
13	0,77
14	0,10
15	0,33

O modelo gerado (apenas os coeficientes válidos) é representado pela equação 1:

$$Dg(359 \text{ nm}, \text{bovino}) = \frac{0,31}{\pm 0,11} \pm \frac{0,37EL}{\pm 0,13} + \frac{0,16TA}{\pm 0,13} - \frac{0,24TP}{\pm 0,22} + \frac{0,29TA^2}{\pm 0,22} + \frac{0,32TP^2}{\pm 0,21} + \frac{0,41EL \times TP}{\pm 0,31}$$

Equação 1

onde EL, TA e TP são a energia do laser, o tempo de atraso e o tamanho do ponto, respectivamente.

A significância deste modelo foi avaliada usando uma tabela ANOVA e os parâmetros estatísticos são apresentados na TABELA 4.3.1.2. No modelo apresentado na equação 1, é possível verificar que há um forte sinergismo entre a

energia do laser (EL) e o tamanho do ponto (TP). O modelo calculado não mostrou falta de ajuste porque a média quadrática da falta de ajuste e do erro puro são estatisticamente iguais, o valor de F calculado (2,26) é menor que o tabelado (19,3) com 95% de nível de confiança (ver TABELA 4.3.1.2). O coeficiente de determinação ( $R^2$ ) foi de 0,927.

TABELA 4.3.1.2 - Tabela ANOVA para o modelo calculado em 359 nm.

Parâmetro	Soma Quadrática	Graus de liberdade	Média Quadrática	Teste F	F tabelado (95%)
Regressão	1,21	6	0,201	16,9	3,58
Resíduo	0,0953	8	0,0119		
Total	1,30	14	0,0931		
Erro puro	0,0123	2	0,00610	2,26	19,3
Falta de ajuste	0,0831	6	0,0138		
Variação explicada ( $R^2$ )	0,927	R			
(Máxima variação explicável ( $R^2$ máximo))	0,995	R máximo			

As superfícies de resposta obtidas para esse modelo são apresentadas na FIGURA 4.3.1.2. A energia do laser (eixo x), o tempo de atraso (eixo y) e o Dg (eixo z) são mostrados na FIGURA 4.3.1.2 a. As melhores condições de trabalho foram obtidas com uma energia do laser de 90 mJ e um tempo de atraso de 1,9  $\mu$ s (a Dg prevista é aproximadamente 1). As FIGURAS 4.3.1.2 b e 4.3.1.2 c mostram as outras combinações das variáveis (energia do laser *versus* tamanho do ponto e tempo de atraso *versus* tamanho do ponto). Analisando estes números, é possível ver que uma Dg alta (próximo de 1) é observada quando o tamanho do ponto é de 100 ou 50  $\mu$ m.

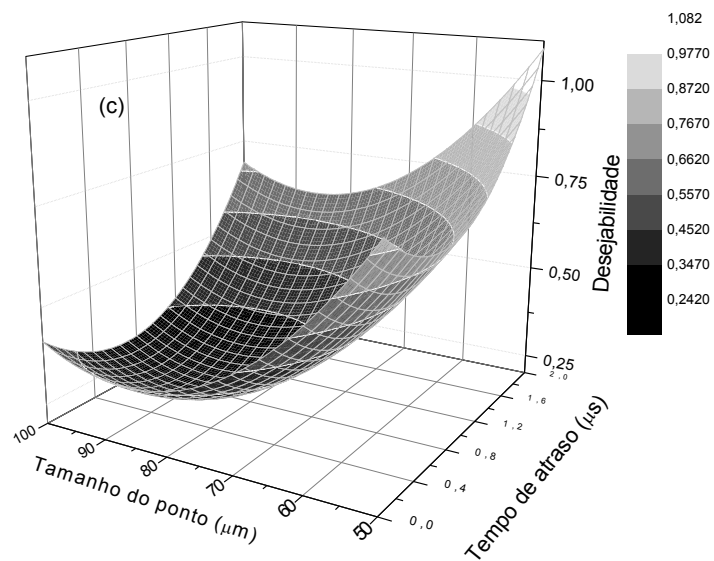
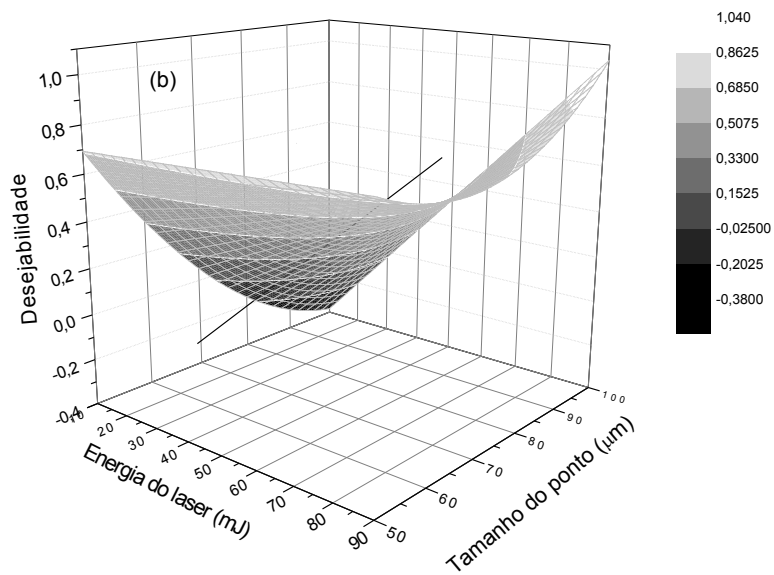
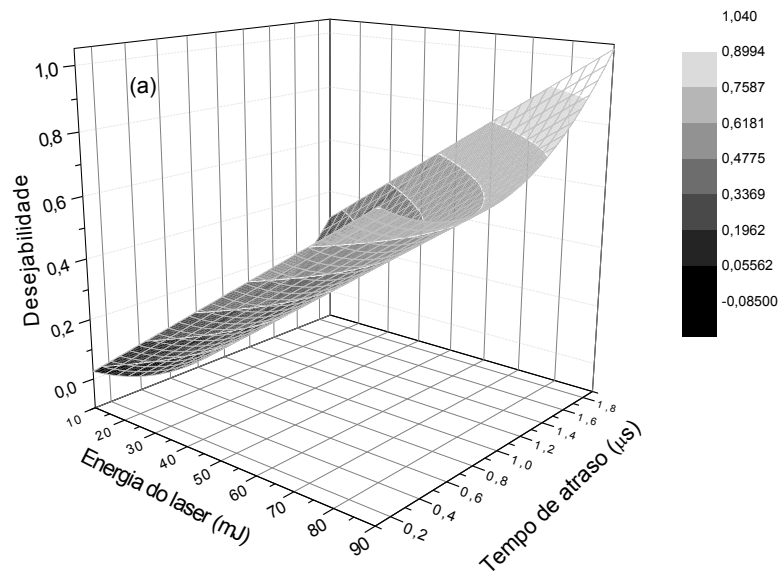


FIGURA 4.3.1.2 - Gráficos de superfície de resposta para  $D_g$  obtidos a partir de respostas em 359 nm: tempo de atraso *versus* energia do laser (a), energia do laser *versus* tamanho do ponto (b) e tempo de atraso *versus* tamanho do ponto (c).

Assim, um novo experimento foi realizado mantendo as variáveis já otimizadas em 90 mJ e 1,9  $\mu$ s e variando apenas o tamanho do ponto para 50 ou 100  $\mu$ m. O tamanho do ponto de 50  $\mu$ m apresentou os melhores resultados de desejabilidade, conforme mostrado na TABELA 4.3.1.3.

TABELA 4.3.1.3 - Resultados de desejabilidade para o novo experimento variando apenas o tamanho do ponto para 50 ou 100  $\mu$ m.

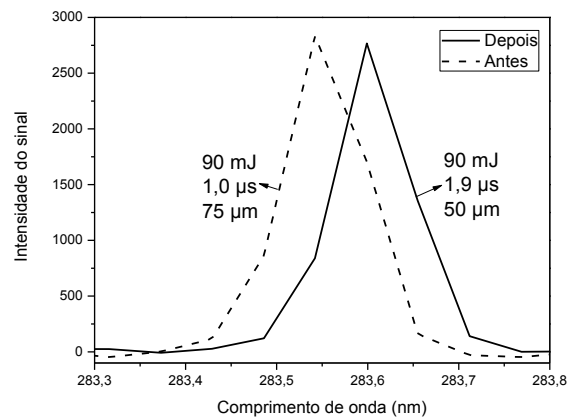
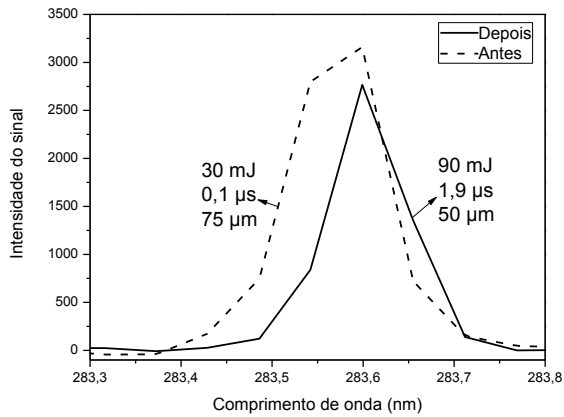
Dg	S/N 357 nm		S/N 283nm		S/N 359nm		S/N 425nm		S/N 427nm	
	Bovino	Ovino	Bovino	Ovino	Bovino	Ovino	Bovino	Ovino	Bovino	Ovino
<b>50 <math>\mu</math>m</b>	0,68	1,29	0,03	0,11	24,11	1,85	0,54	1,42	0,03	0,02
<b>100 <math>\mu</math>m</b>	0,53	1,23	0,03	0,07	33,70	0,34	0,12	0,51	0,08	0,01

Dessa forma, para validar o modelo, as condições otimizadas também foram testadas para as demais 4 linhas de emissão para o Cr em ambos os tipos de couro. Essa condição foi comparada com o sinal mais intenso obtido anteriormente no planejamento Doehlert antes da otimização. Na maioria dos casos, a intensidade do sinal melhorou significativamente após a otimização conforme mostrado na FIGURA 4.3.1.3.

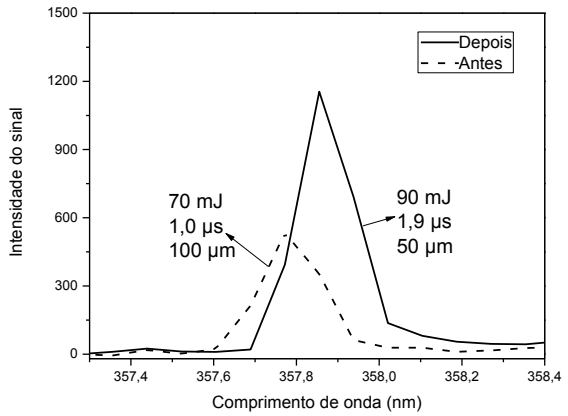
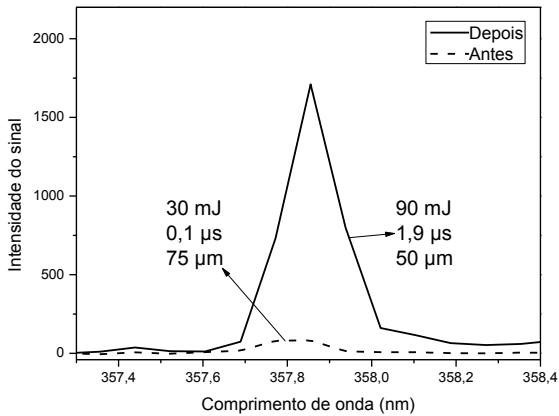
### Couro Bovino

### Couro Ovino

283,5 nm



357,8 nm



359,3 nm

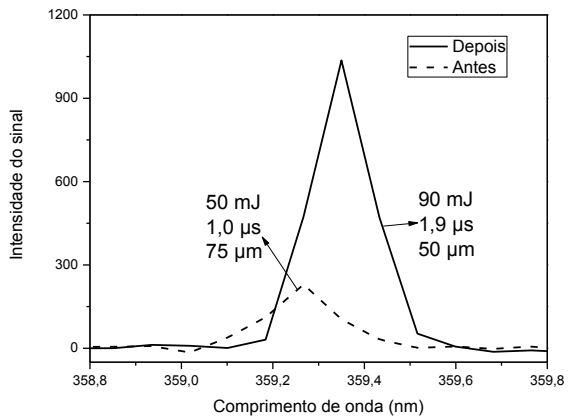
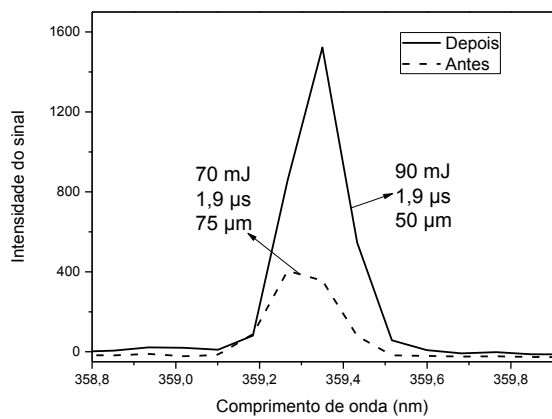
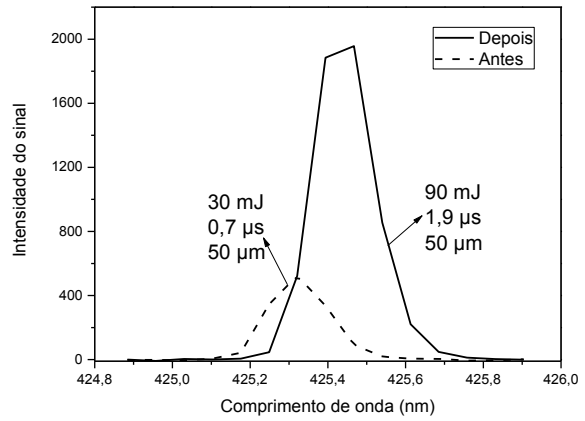
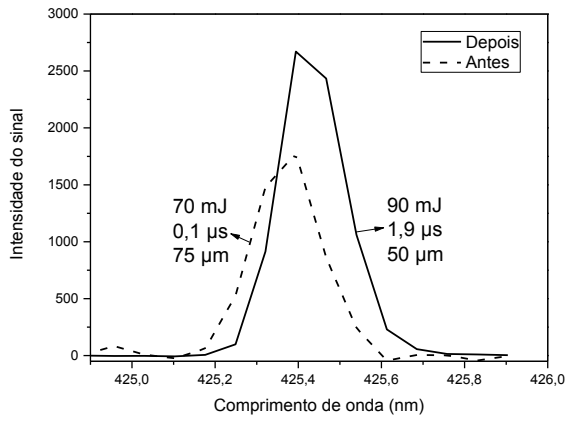


FIGURA 4.3.1.3 (parte 1) - Sinais de emissão para as 5 linhas de emissão com maior intensidade relativa para Cr para amostras de couro (bovinos e ovinos), antes e depois de experimentos para a otimização dos parâmetros instrumentais do LIBS.

425,4 nm



427,4 nm

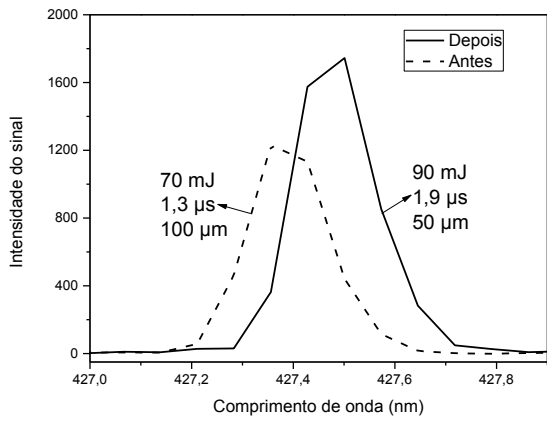
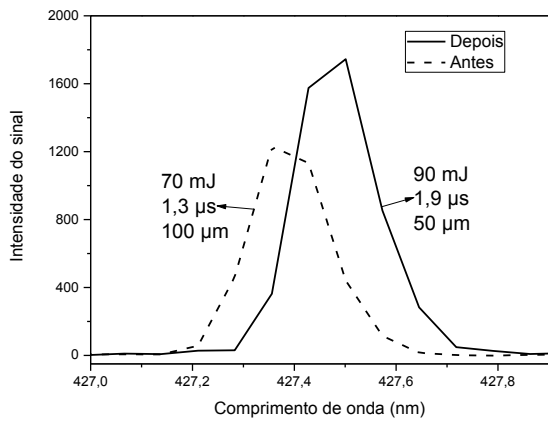


FIGURA 4.3.1.4 (parte 2) - Sinais de emissão para as 5 linhas de emissão com maior intensidade relativa para Cr para amostras de couro (bovinos e ovinos), antes e depois de experimentos para a otimização dos parâmetros instrumentais do LIBS.

Além disso, após o pulso de laser e inspeção visual, nenhum dano incomum foi observado nas amostras (veja a FIGURA 4.3.1.4).



FIGURA 4.3.1.5 - Imagens do couro após pulsos de laser.

Também é importante mencionar que é difícil fazer uma comparação justa entre artigos publicados porque diferentes configurações instrumentais são descritas. Em um artigo publicado em 2011<sup>87</sup>, por exemplo, a energia do laser foi de 25 mJ, mas o comprimento de onda do laser foi de 532 nm. Ainda em 2011, NASR et al.<sup>68</sup> publicaram um artigo dedicado à análise do couro e a energia e o comprimento de onda do laser foram de 100 mJ e 1.064 nm, respectivamente. A principal vantagem do presente estudo é o fato de que agora exatamente as mesmas condições experimentais podem ser reproduzidas em todo o mundo, porque um sistema comercial é usado.

#### **4.3.2 - Análise de couros**

As amostras foram analisadas diretamente na câmara de ablação sem qualquer tratamento preliminar. Antes dos experimentos, foi realizado um processo de limpeza da amostra com vários pulsos de laser. Depois disso, um total de 100 espectros foram coletados para cada amostra no modo de varredura (raster). Para limpar a superfície da amostra, foram realizados 100 pulsos com 10 mJ de energia de pulso de laser e 250  $\mu\text{m}$  de tamanho de ponto, resultando em uma fluência de 20 J  $\text{cm}^{-2}$ . Depois disso, 100 espectros foram registrados para cada amostra em modo



raster na mesma área, e a energia de pulso do laser, tamanho do ponto e tempo de atraso foram 90 mJ, 50  $\mu\text{m}$  e 1,9  $\mu\text{s}$ , respectivamente, conforme condições otimizadas. A fluência calculada e a irradiância com esta condição é de cerca de 4.600  $\text{J cm}^{-2}$  e 765  $\text{GW cm}^{-2}$ , respectivamente. O software Aurora (Applied Spectra) e as informações do Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (NIST)<sup>113</sup> foram utilizados para a identificação das linhas de emissão no espectro LIBS.

A FIGURA 4.3.2.1 apresenta uma descrição geral de um espectro representativo do LIBS obtido para uma amostra de couro de ovino. Este espectro é uma média de 100 espectros. Os sinais identificados e mais intensos são destacados e numerados de 1 a 29, e suas linhas de emissão correspondentes estão listadas na TABELA 4.3.2.1. A maioria das linhas de emissão identificadas é de Cr, como esperado devido ao processo de curtimento de couro ter sido realizado com sulfato de cromo (III). As linhas de emissão mais intensas foram observadas para Cr e Na em 520,8 (sinal 17) nm e 588,9 (sinal 21), respectivamente. Essas duas espécies químicas, assim como outras encontradas nas amostras de couro, são provenientes de vários reagentes químicos adicionados no processo de curtimento.<sup>8-10,114</sup>

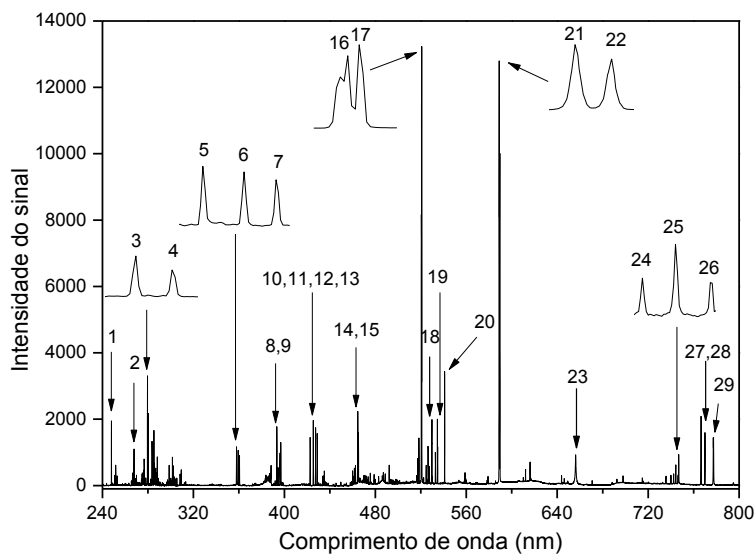


FIGURA 4.3.2.1 - Espectro de emissão típico obtido para uma amostra de couro.

TABELA 4.3.2.1 - Linhas de emissão (I atômica e II iônica) identificadas nos couros analisados.

Identificação	Elementos	Comprimento de onda (nm)	Identificação	Elementos	Comprimento de onda (nm)
1	C I	247,8	16	Cr I	520,6
2	Cr II	267,7	17	Cr I	520,8
3	Mg I	279,8	18	Cr I	529,8
4	Mg I	280,1	19	Cr I	534,5
5	Cr I	357,8	20	Cr I	540,9
6	Cr I	359,3	21	Na I	588,9
7	Cr I	360,5	22	Na I	589,5
8	Ca II	393,3	23	H I	656,2
9	Ca II	396,8	24	N I	742,3
10	Ca I	422,6	25	N I	744,2
11	Cr I	425,4	26	N I	746,8
12	Cr I	427,4	27	K I	766,4
13	Cr I	428,9	28	K I	769,8
14	Cr I	464,6	29	O I	777,4
15	Cr I	465,2			

Para avaliar se os 100 espectros obtidos no modo raster são reprodutíveis, vários cálculos usando os 100 espectros em uma amostra foram realizados. Em seguida, calculou-se a altura do sinal para as seguintes linhas de emissão (5 linhas de emissão com maior intensidade relativa para o Cr): 267,7, 357,8, 359,3, 425,4 e 427,4 nm. Posteriormente, avaliaram-se 10 razões (267/357, 267/359, 357/359, 425/427, 267/425, 267/427, 359/425, 357/427, 359/427 e 357/425). A FIGURA 4.3.2.2 mostra gráficos do tipo *box plot* para as 10 razões calculadas. Círculo, limites de caixa, linha horizontal, barras de erro e quadrados representam a média, o desvio padrão, a mediana, 95% do nível de confiança e os valores mínimo e máximo, respectivamente. Como pode-se observar, os valores são constantes e seguem uma distribuição normal, comprovando que os 100 espectros obtidos na superfície da amostra apresentam boa reprodutibilidade.

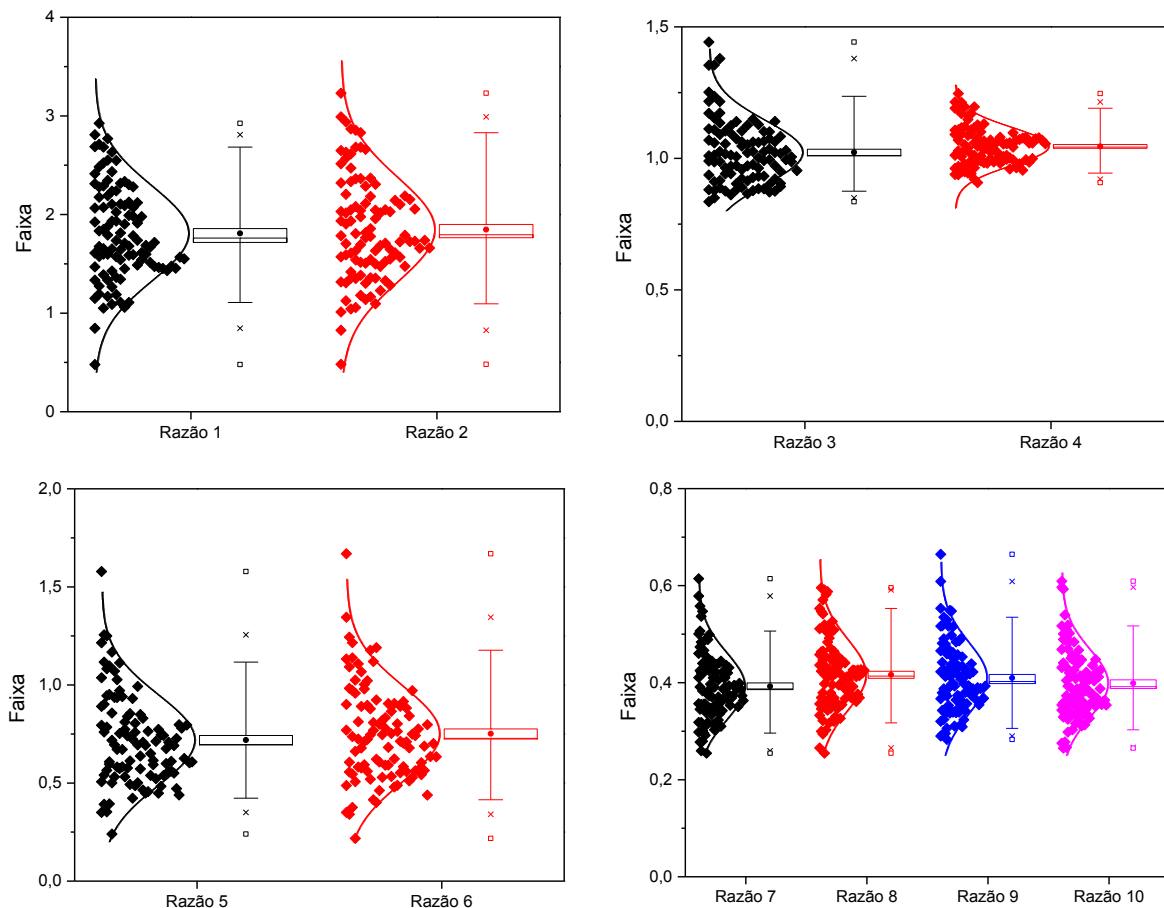


FIGURA 4.3.2.2 - Gráficos das 10 razões calculadas para altura do sinal das linhas de emissão: 267/357 (1), 267/359 (2), 357/359 (3), 425/427 (4), 267/425 (5), 267/427 (6), 359/425 (7), 357/427 (8), 359/427 (9), 357/425 (10).

### 4.3.3 - Análise exploratória usando PCA

PCA é uma ferramenta que permite projetar dados de alta dimensão em um pequeno número de variáveis (denominado componente principal, PC), permitindo observar diferenças e verificar relações entre variáveis.<sup>77</sup> Duas novas matrizes são geradas em uma PCA, uma matriz de pesos ou *loadings* que representa a influência das variáveis originais na distribuição das amostras e uma matriz de escores com as projeções das amostras.<sup>80</sup>

Uma PCA foi calculada usando a matriz de dados obtida (375 amostras e 12.288 variáveis) com o conjunto de dados normalizado pela área e centrado na média. Várias categorias foram analisadas, mas diferenças foram observadas apenas quando a cor do couro foi considerada. Os escores e pesos das primeiras três componentes principais foram avaliados, e a FIGURA 4.3.3.1 a apresenta o gráfico dos valores de escores para PC1 para diferentes amostras, com 74% da variância explicada, enquanto a FIGURA 4.3.3.1 b apresenta o gráfico de pesos para PC1 em

diferentes comprimentos de onda, apresentando linhas de emissão que podem ser associadas a pigmentos utilizados nas amostras.<sup>93</sup> A principal distinção das amostras quanto a cor é devido ao C, Cr e Na com valores positivos para PC1 e Ca com valores negativos.

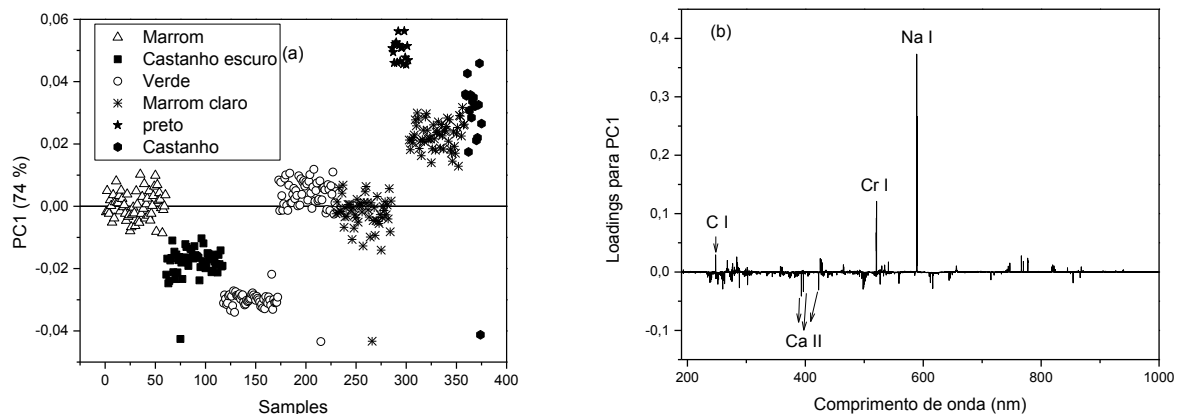


FIGURA 4.3.3.1 - Gráfico de escores (a) e gráfico de pesos (b) para PC1 para amostras de couro em diferentes cores.

#### 4.3.4 - Proposição de modelos de classificação

Antes de calcular os modelos de classificação realizou-se um pré-processamento dos dados após a obtenção dos espectros, no qual, os dados foram normalizados com o objetivo de compensar a heterogeneidade das amostras. Foram testados 12 tipos de normalizações<sup>109</sup>:

1. Média dos espectros;
2. Norma seguida pela média dos espectros;
3. Área seguida pela média dos espectros;
4. Máximo seguida pela média dos espectros;
5. Intensidade do carbono 193,091 nm seguida pela média dos espectros;
6. Intensidade do carbono 247,856 nm seguida pela média dos espectros;
7. Soma dos espectros;
8. Norma seguida pela soma dos espectros;
9. Área seguida pela soma dos espectros;
10. Máximo seguida pela soma dos espectros;
11. Intensidade do carbono 193,091 nm seguida pela soma dos espectros;
12. Intensidade do carbono 247,856 nm seguida pela soma dos espectros.

Uma PCA foi calculada para cada normalização, dessa forma foram geradas 12 PCAs e a normalização 3 (área seguida pela média) foi a que gerou uma

PCA com os melhores agrupamentos entre os diferentes tipos de amostras e por isso ela foi escolhida para a normalização dos resultados. Pode-se resumir o tratamento dos dados da seguinte forma: 1) obtenção dos espectros, 2) normalização dos dados pela área, 3) cálculo da média dos 100 espectros, 4) os dados foram centrados na média e, 5) cálculo dos modelos de classificação.

Nesta parte do estudo, as amostras foram divididas em duas classes. A TABELA 4.3.4.1 apresenta as especificações eleitas para cada teste. Essas especificações foram organizadas de acordo com a ABNT NBR 13525:2016<sup>99</sup> que foi publicada em 2016 e apresenta valores de orientação para a qualidade de couros em ensaios físicos e químicos. Estes valores foram utilizados como parâmetros de orientação para estabelecer as classes, e foram feitas tentativas para manter 50% das amostras em cada classe.

TABELA 4.3.4.1 - Valores dos testes físico-mecânicos obtidos para os 9 testes realizados nas direções L e T.

Direções	Testes realizados e valores de referência (ABNT NBR 13525:2016) <sup>99</sup>	Resultados obtidos para ovinos (L)	Resultados obtidos para bovinos (L)	Resultados obtidos para ovinos (T)	Resultados obtidos para bovinos (T)	Especificação Classe 1 (L)	Especificação Classe 2 (L)	Especificação Classe 1 (T)	Especificação Classe 2 (T)	
Longitudinal (L) e Transversal (T)	Tetes de tração (1 – 4)	1 Espessura (mm), 1,2 ± 0,2 mm	0,87-1,25	1,63-2,25	0,89-1,21	1,61-2,17	0,87-1,91	1,92-2,25	0,89-1,89	1,90-2,17
		2 Força (N), ≥150 N	69,6-250	232-938	86,9-269	160-810	69,6-507	509-938	86,9-374	375-810
		3 Resistência N/mm <sup>2</sup>	6,06-23,7	11,2-47,8	7,60-24,4	8,76-41,1	6,06-26,4	26,5-47,8	7,60-19,7	19,8-41,1
		4 Elongação (%), 40%	40,5-91,9	35,4-121	37,3-87,8	52,7-129	35,4-74,1	74,2-121	37,3-76,2	76,7-129
	Tetes de rasgamento (5 – 7)	5 Espessura (mm), 1,2 ± 0,2 mm	0,86-1,21	1,64-2,47	0,89-1,22	1,66-2,39	0,86-1,92	1,93-2,47	0,89-1,92	1,93-2,39
		6 Força (N), ≥25 N	21,9-51,9	107-535	23,2-58,2	121,6-582	21,9-171	172-535	23,2-181	182-582
		7 Resistência (N/mm)	25,1-46,7	58,7-250	25,9-54,2	61,6-273	25,1-90,5	91,0-250	25,9-95,6	95,9-273
	Tetes de rasgamento duplo (8 e 9)	8 Espessura (mm), 1,2 ± 0,2 mm	-	1,69-2,43	-	1,61-2,42	1,69-1,98	1,99-2,43	1,61-1,98	1,99-2,42
		9 Força (N), ≥60 N	-	57,0-270	-	63,3-287	57,0-94,3	94,7-270	63,3-104	105-287

Por exemplo, os testes 1, 5 e 8 são referentes a espessura das amostras e o valor de referência é de  $1,2 \pm 0,2$  mm. Ovinos e bovinos apresentaram valores variando de 0,870 a 2,25 mm e 0,890 a 2,17 mm nas direções L e T, respectivamente. Neste caso, amostras com espessura inferior a 1,91 para L e 1,89 para T mm foram agrupadas na classe 1.

Essas classes foram então usadas para calcular modelos de classificação usando as informações espectrais obtidas pela LIBS. A TABELA 4.3.4.2 apresenta os valores obtidos quando o KNN foi utilizado para prever as amostras da classe 1. O conjunto de dados foi dividido em calibração e validação e foram calculadas 4 figuras de mérito: exatidão, sensibilidade, especificidade e taxa de falso alarme. A exatidão média obtida para a classe 1 na direção L foi 78,8% para calibração e 76,1% para validação. A exatidão representa a porcentagem de previsões corretas do modelo. No caso do SIMCA (TABELA 4.3.4.4 e TABELA 4.3.4.5) e do PLS-DA (TABELA 4.3.4.6 e TABELA 4.3.4.7), a exatidão apresentou resultados semelhantes e variou de 71,6 a 80,5% para calibração e validação nas duas classes. A sensibilidade para a classe 1 é a capacidade do modelo de prever corretamente as amostras de classe 2, e os resultados variaram de 61,6 a 84,6% para todos os modelos calculados. A taxa de falso alarme é o número de previsões incorretas dividido pelo número total de amostras para uma classe específica. A taxa de falso alarme para os 3 modelos de classificação calculados variou de 14,4 a 36,9%. A última figura de mérito foi a especificidade, que é referente ao número de previsões corretas para uma classe específica dividido pelo número total de amostras da mesma classe. Em geral, a especificidade variou de 61,6 a 84,6%. A situação ideal é exatidão, sensibilidade e especificidade iguais a 100% e taxa de alarme falso igual a 0%.

As TABELAS 4.3.4.2 e 4.3.4.3 mostram os resultados para KNN para as classes 1 e 2, respectivamente. Modelos individuais foram calculados para cada teste nas duas direções avaliadas. O número de vizinhos selecionados variou de 3 a 6. As TABELAS 4.3.4.4 a 4.3.4.7 mostram os resultados para SIMCA e PLS-DA.

Os resultados mostrados nas tabelas comprovam que de forma geral foram obtidas boas capacidades de predição para as quatro figuras de mérito, tanto para os conjuntos de calibração quanto de validação, para as classes 1 e 2 e para as direções L e T para os três modelos desenvolvidos. Os três modelos tiveram capacidades de predição semelhantes, contudo o modelo KNN e o PLS-DA foram

ligeiramente melhores do que o SIMCA, com resultados de predição correta em torno de 80%.



TABELA 4.3.4.2 - Exatidão, sensibilidade, taxa de falso alarme e especificidade calculados para a classe 1 do modelo KNN.

Teste	Direção	Calibração para classe 1						Validação para classe 1				
		Número de amostras	Número de vizinhos	Exatidão (%)	Sensibilidade (%)	Taxa de falso alarme (%)	Especificidade (%)	Número de amostras	Exatidão (%)	Sensibilidade (%)	Taxa de falso alarme (%)	Especificidade (%)
1	L	158	3	78,0	74,6	19,0	81,0	33	81,3	73,8	9,1	90,9
2	L	149	4	65,3	72,2	41,6	58,4	39	61,3	61,1	38,5	61,5
3	L	163	5	68,7	69,3	31,9	68,1	27	62,7	66,7	44,4	55,6
4	L	154	5	77,3	76,7	22,1	77,9	34	73,3	85,4	41,2	58,8
5	L	155	5	79,9	77,8	18,1	81,9	33	73,3	76,2	30,3	69,7
6	L	152	5	83,6	78,9	11,8	88,2	36	81,3	76,9	13,9	86,1
7	L	153	3	84,6	83,6	14,4	85,6	35	80,0	82,5	22,9	77,1
8	L	134	5	79,0	71,2	14,2	85,8	25	81,0	76,3	12,0	88,0
9	L	127	3	92,9	88,8	3,1	96,9	31	90,5	87,5	6,5	93,5
	<b>Média</b>			<b>78,8</b>	<b>77,0</b>	<b>19,6</b>	<b>80,4</b>		<b>76,1</b>	<b>76,3</b>	<b>24,3</b>	<b>75,7</b>
	Mediana			78,9	76,9	18,5	81,5		78,0	76,3	23,6	76,4
	SD			8,24	6,20	11,36	11,36		9,45	8,49	14,74	14,74
1	T	156	5	77,0	70,1	16,7	83,3	34	77,3	75,6	20,6	79,4
2	T	160	3	69,3	71,4	32,5	67,5	29	76,0	78,3	27,6	72,4
3	T	149	5	70,3	69,5	28,9	71,1	39	69,3	66,7	28,2	71,8
4	T	151	6	91,3	92,6	9,9	90,1	37	85,3	86,8	16,2	83,8
5	T	156	5	80,6	76,2	15,4	84,6	32	84,0	81,4	12,5	87,5
6	T	154	3	77,7	74,7	19,5	80,5	33	83,8	78,0	9,1	90,9
7	T	155	3	82,3	80,6	16,1	83,9	33	81,3	73,8	9,1	90,9
8	T	131	5	76,2	72,7	20,6	79,4	25	79,4	73,7	12,0	88,0
9	T	125	5	93,7	89,8	2,4	97,6	33	92,1	86,7	3,0	97,0
	<b>Média</b>			<b>79,8</b>	<b>77,5</b>	<b>18,0</b>	<b>82,0</b>		<b>80,9</b>	<b>77,9</b>	<b>15,4</b>	<b>84,6</b>
	Mediana			78,7	75,4	17,3	82,7		81,1	78,0	13,9	86,1
	SD			8,33	8,47	9,07	9,07		6,47	6,47	8,61	8,61

TABELA 4.3.4.3 - Exatidão, sensibilidade, taxa de falso alarme e especificidade calculados para a classe 2 do modelo KNN.

Teste	Direção	Calibração para classe 2						Validação para classe 2					
		Número de amostras	Número de vizinhos	Exatidão (%)	Sensibilidade (%)	Taxa de falso alarme (%)	Especificidade (%)	Número de amostras	Exatidão (%)	Sensibilidade (%)	Taxa de falso alarme (%)	Especificidade (%)	
1	L	142	3	78,0	81,0	25,4	74,6	42	81,3	90,9	26,2	73,8	
2	L	151	4	65,3	58,4	27,8	72,2	36	61,3	61,5	38,9	61,1	
3	L	137	5	68,7	68,1	30,7	69,3	48	62,7	55,6	33,3	66,7	
4	L	146	5	77,3	77,9	23,3	76,7	41	73,3	58,8	14,6	85,4	
5	L	144	5	79,9	81,9	22,2	77,8	42	73,3	69,7	23,8	76,2	
6	L	147	5	83,6	88,2	21,1	78,9	39	81,3	86,1	23,1	76,9	
7	L	146	3	84,6	85,6	16,4	83,6	40	80,0	77,1	17,5	82,5	
8	L	118	5	79,0	85,8	28,8	71,2	38	81,0	88,0	23,7	76,3	
9	L	125	3	92,9	96,9	11,2	88,8	32	90,5	93,5	12,5	87,5	
	<b>Média</b>			<b>78,8</b>	<b>80,4</b>	<b>23,0</b>	<b>77,0</b>		<b>76,1</b>	<b>75,7</b>	<b>23,7</b>	<b>76,3</b>	
	Mediana			78,9	81,5	23,1	76,9		78,0	76,4	23,7	76,3	
	SD			8,24	11,36	6,20	6,20		9,45	14,74	8,49	8,49	
1	T	144	5	77,0	83,3	29,9	70,1	41	77,3	79,4	24,4	75,6	
2	T	140	3	69,3	67,5	28,6	71,4	46	76,0	72,4	21,7	78,3	
3	T	151	5	70,3	71,1	30,5	69,5	36	69,3	71,8	33,3	66,7	
4	T	148	6	91,3	90,1	7,4	92,6	38	85,3	83,8	13,2	86,8	
5	T	143	5	80,6	84,6	23,8	76,2	43	84,0	87,5	18,6	81,4	
6	T	146	3	77,7	80,5	25,3	74,7	41	83,8	90,9	22,0	78,0	
7	T	144	3	82,3	83,9	19,4	80,6	42	81,3	90,9	26,2	73,8	
8	T	121	5	76,2	79,4	27,3	72,7	38	79,4	88,0	26,3	73,7	
9	T	127	5	93,7	97,6	10,2	89,8	30	92,1	97,0	13,3	86,7	
	<b>Média</b>			<b>79,8</b>	<b>82,0</b>	<b>22,5</b>	<b>77,5</b>		<b>80,9</b>	<b>84,6</b>	<b>22,1</b>	<b>77,9</b>	
	Mediana			78,7	82,7	24,6	75,4		81,1	86,1	22,0	78,0	
	SD			8,33	9,07	8,47	8,47		6,47	8,61	6,47	6,47	

TABELA 4.3.4.4 - Exatidão, sensibilidade, taxa de falso alarme e especificidade obtidos para a classe 1 do modelo SIMCA.

Teste	Direção	Calibração para classe 1						Validação para classe 1					
		Número de amostras	Número de fatores	Exatidão (%)	Sensibilidade (%)	Taxa de falso alarme (%)	Especificidade (%)	Número de amostras	Exatidão (%)	Sensibilidade (%)	Taxa de falso alarme (%)	Especificidade (%)	
1	L	158	2	70,0	61,3	19,6	77,8	33	61,3	59,5	36,4	63,6	
2	L	149	2	63,7	67,5	38,3	59,7	39	62,7	75,0	46,2	51,3	
3	L	163	2	69,7	83,2	41,1	58,3	27	68,0	85,4	63,0	37,0	
4	L	154	3	77,0	70,5	14,3	83,1	34	74,7	75,6	26,5	73,5	
5	L	155	2	71,2	79,9	35,5	63,2	33	68,0	81,0	42,4	51,5	
6	L	152	2	82,9	89,1	21,7	77,0	36	80,0	87,2	25,0	72,2	
7	L	153	2	83,3	89,0	20,9	77,8	35	82,7	92,5	25,7	71,4	
8	L	134	2	70,6	67,8	24,6	73,1	25	65,1	71,1	44,0	56,0	
9	L	127	2	88,5	91,2	11,0	85,8	31	82,5	87,5	22,6	77,4	
	<b>Média</b>			<b>75,2</b>	<b>77,7</b>	<b>25,2</b>	<b>72,9</b>		<b>71,7</b>	<b>79,4</b>	<b>36,9</b>	<b>61,6</b>	
	Mediana			73,2	78,8	23,2	75,1		69,8	80,2	36,6	62,6	
	SD			8,16	11,17	10,67	10,11		8,48	10,22	13,35	13,46	
1	T	156	2	71,0	66,7	23,7	75,0	34	56,0	56,1	38,2	55,9	
2	T	160	2	74,3	69,3	20,0	78,8	29	76,0	67,4	6,9	89,7	
3	T	149	2	72,7	69,5	23,5	75,8	39	74,7	75,0	23,1	74,4	
4	T	151	2	93,8	95,3	6,4	92,2	37	81,3	86,8	24,3	75,7	
5	T	156	2	73,2	83,2	34,0	64,1	32	65,3	74,4	43,8	53,1	
6	T	154	2	79,7	73,3	13,0	85,7	33	73,0	68,3	21,2	78,8	
7	T	155	2	81,6	75,0	11,0	87,7	33	72,0	69,0	24,2	75,8	
8	T	131	2	72,2	63,6	18,3	80,2	25	69,8	63,2	16,0	80,0	
9	T	125	2	89,3	90,6	10,4	88,0	33	76,2	86,7	30,3	66,7	
	<b>Média</b>			<b>78,6</b>	<b>76,3</b>	<b>17,8</b>	<b>80,8</b>		<b>71,6</b>	<b>71,9</b>	<b>25,3</b>	<b>72,2</b>	
	Mediana			76,5	74,1	18,1	80,5		72,5	70,5	24,3	75,0	
	SD			8,18	11,01	8,58	8,63		7,35	10,15	11,08	11,72	

TABELA 4.3.4.5 - Exatidão, sensibilidade, taxa de falso alarme e especificidade obtidos para a classe 2 do modelo SIMCA.

Teste	Direção	Calibração para classe 2						Validação para classe 2					
		Número de amostras	Número de fatores	Exatidão (%)	Sensibilidade (%)	Taxa de falso alarme (%)	Especificidade (%)	Número de amostras	Exatidão (%)	Sensibilidade (%)	Taxa de falso alarme (%)	Especificidade (%)	
1	L	142	2	70,0	77,8	38,0	61,3	42	61,3	63,6	40,5	59,5	
2	L	151	2	63,7	59,7	31,8	67,5	36	62,7	51,3	25,0	75,0	
3	L	137	2	69,7	58,3	14,6	83,2	48	68,0	37,0	12,5	85,4	
4	L	146	3	77,0	83,1	28,8	70,5	41	74,7	73,5	24,4	75,6	
5	L	144	2	71,2	63,2	19,4	79,9	42	68,0	51,5	19,0	81,0	
6	L	147	2	82,9	77,0	10,9	89,1	39	80,0	72,2	7,7	87,2	
7	L	146	2	83,3	77,8	10,3	89,0	40	82,7	71,4	5,0	92,5	
8	L	118	2	70,6	73,1	31,4	67,8	38	65,1	56,0	26,3	71,1	
9	L	125	2	88,5	85,8	8,0	91,2	32	82,5	77,4	12,5	87,5	
	<b>Média</b>			<b>75,2</b>	<b>72,9</b>	<b>21,5</b>	<b>77,7</b>		<b>71,7</b>	<b>61,6</b>	<b>19,2</b>	<b>79,4</b>	
	Mediana			73,2	75,1	20,5	78,8		69,8	62,6	19,1	80,2	
	SD			8,16	10,11	11,19	11,17		8,48	13,46	11,11	10,22	
1	T	144	2	71,0	75,0	32,6	66,7	41	56,0	55,9	43,9	56,1	
2	T	140	2	74,3	78,8	29,3	69,3	46	76,0	89,7	32,6	67,4	
3	T	151	2	72,7	75,8	28,5	69,5	36	74,7	74,4	25,0	75,0	
4	T	148	2	93,8	92,2	3,4	95,3	38	81,3	75,7	10,5	86,8	
5	T	143	2	73,2	64,1	16,8	83,2	43	65,3	53,1	23,3	74,4	
6	T	146	2	79,7	85,7	25,3	73,3	41	73,0	78,8	29,3	68,3	
7	T	144	2	81,6	87,7	24,3	75,0	42	72,0	75,8	26,2	69,0	
8	T	121	2	72,2	80,2	36,4	63,6	38	69,8	80,0	31,6	63,2	
9	T	127	2	89,3	88,0	7,9	90,6	30	76,2	66,7	13,3	86,7	
	<b>Média</b>			<b>78,6</b>	<b>80,8</b>	<b>22,7</b>	<b>76,3</b>		<b>71,6</b>	<b>72,2</b>	<b>26,2</b>	<b>71,9</b>	
	Mediana			76,5	80,5	24,8	74,1		72,5	75,0	26,2	70,5	
	SD			8,18	8,63	11,18	11,01		7,35	11,72	10,09	10,15	

TABELA 4.3.4.6 - Exatidão, sensibilidade, taxa de falso alarme e especificidade obtidos para a classe 1 do modelo PLS-DA.

Teste	Direção	Calibração para classe 1						Validação para classe 1				
		Número de amostras	Número de fatores	Exatidão (%)	Sensibilidade (%)	Taxa de falso alarme (%)	Especificidade (%)	Número de amostras	Exatidão (%)	Sensibilidade (%)	Taxa de falso alarme (%)	Especificidade (%)
1	L	158	3	74,7	69,7	18,4	79,1	33	72,0	71,4	24,2	72,7
2	L	149	3	95,0	93,4	0,7	96,6	39	53,3	66,7	53,8	41,0
3	L	163	3	71,3	76,6	32,5	66,9	27	61,3	66,7	48,1	51,9
4	L	154	3	74,3	74,7	23,4	74,0	34	81,3	90,2	29,4	70,6
5	L	155	3	77,3	74,3	18,1	80,0	33	70,7	78,6	33,3	60,6
6	L	152	3	82,6	87,1	20,4	78,3	36	84,0	87,2	16,7	80,6
7	L	153	3	84,6	88,4	17,6	81,0	35	86,7	92,5	17,1	80,0
8	L	134	3	75,4	72,9	20,1	77,6	25	71,4	73,7	32,0	68,0
9	L	127	2	89,7	88,0	5,5	91,3	31	90,5	87,5	6,5	93,5
	<b>Média</b>			<b>80,5</b>	<b>80,6</b>	<b>17,4</b>	<b>80,5</b>		<b>74,6</b>	<b>79,4</b>	<b>29,0</b>	<b>68,8</b>
	Mediana			78,9	78,6	18,2	79,6		73,3	79,0	29,2	69,7
	SD			7,97	8,58	9,38	8,81		12,21	10,23	15,15	15,89
1	T	156	3	74,3	71,5	21,8	76,9	34	72,0	73,2	23,5	70,6
2	T	160	3	71,3	68,6	25,0	73,8	29	80,0	71,7	3,4	93,1
3	T	149	3	71,7	63,6	19,5	79,9	39	76,0	72,2	17,9	79,5
4	T	151	3	89,6	90,5	9,9	88,7	37	82,7	86,8	21,6	78,4
5	T	156	3	84,4	78,3	12,4	86,8	32	73,3	79,1	28,1	65,6
6	T	154	3	82,7	71,9	5,8	92,9	33	78,4	75,6	15,2	81,8
7	T	155	3	83,9	72,9	4,5	94,2	33	74,7	71,4	18,2	78,8
8	T	131	3	72,2	70,2	24,4	74,0	25	68,3	65,8	24,0	72,0
9	T	125	2	89,7	87,4	6,4	92,0	33	85,7	86,7	6,1	84,8
	<b>Média</b>			<b>80,0</b>	<b>75,0</b>	<b>14,4</b>	<b>84,4</b>		<b>76,8</b>	<b>75,8</b>	<b>17,6</b>	<b>78,3</b>
	Mediana			81,3	72,4	13,4	85,6		76,4	74,4	18,1	78,6
	SD			7,63	8,85	8,31	8,27		5,48	7,13	8,24	8,18

TABELA 4.3.4.7 - Exatidão, sensibilidade, taxa de falso alarme e especificidade obtidos para a classe 2 do modelo PLS-DA.

Teste	Direção	Calibração para classe 2						Validação para classe 2				
		Número de amostras	Número de fatores	Exatidão (%)	Sensibilidade (%)	Taxa de falso alarme (%)	Especificidade (%)	Número de amostras	Exatidão (%)	Sensibilidade (%)	Taxa de falso alarme (%)	Especificidade (%)
1	L	142	3	74,7	79,1	29,6	69,7	42	72,0	72,7	28,6	71,4
2	L	151	3	95,0	96,6	6,0	93,4	36	53,3	41,0	33,3	66,7
3	L	137	3	71,3	66,9	20,4	76,6	48	61,3	51,9	31,3	66,7
4	L	146	3	74,3	74,0	24,7	74,7	41	81,3	70,6	9,8	90,2
5	L	144	3	77,3	80,0	25,0	74,3	42	70,7	60,6	21,4	78,6
6	L	147	3	82,6	78,3	12,9	87,1	39	84,0	80,6	7,7	87,2
7	L	146	3	84,6	81,0	11,0	88,4	40	86,7	80,0	5,0	92,5
8	L	118	3	75,4	77,6	26,3	72,9	38	71,4	68,0	23,7	73,7
9	L	125	2	89,7	91,3	10,4	88,0	32	90,5	93,5	12,5	87,5
	<b>Média</b>			<b>80,5</b>	<b>80,5</b>	<b>18,5</b>	<b>80,6</b>		<b>74,6</b>	<b>68,8</b>	<b>19,2</b>	<b>79,4</b>
	Mediana			78,9	79,6	19,5	78,6		73,3	69,7	20,3	79,0
	SD			7,97	8,81	8,50	8,58		12,21	15,89	10,76	10,23
1	T	144	3	74,3	76,9	27,8	71,5	41	72,0	70,6	26,8	73,2
2	T	140	3	71,3	73,8	30,0	68,6	46	80,0	93,1	28,3	71,7
3	T	151	3	71,7	79,9	34,4	63,6	36	76,0	79,5	27,8	72,2
4	T	148	3	89,6	88,7	8,1	90,5	38	82,7	78,4	10,5	86,8
5	T	143	3	84,4	86,8	21,7	78,3	43	73,3	65,6	18,6	79,1
6	T	146	3	82,7	92,9	26,7	71,9	41	78,4	81,8	19,5	75,6
7	T	144	3	83,9	94,2	25,7	72,9	42	74,7	78,8	23,8	71,4
8	T	121	3	72,2	74,0	29,8	70,2	38	68,3	72,0	28,9	65,8
9	T	127	2	89,7	92,0	11,0	87,4	30	85,7	84,8	13,3	86,7
	<b>Média</b>			<b>80,0</b>	<b>84,4</b>	<b>23,9</b>	<b>75,0</b>		<b>76,8</b>	<b>78,3</b>	<b>22,0</b>	<b>75,8</b>
	Mediana			81,3	85,6	26,2	72,4		76,4	78,6	22,9	74,4
	SD			7,63	8,27	8,87	8,85		5,48	8,18	6,82	7,13

Uma outra forma de apresentar os resultados da capacidade de previsão dos modelos de classificação é usando curvas ROC (*receiver operator characteristic curve*)<sup>115</sup>. Curvas ROC para os testes (de 1 a 9 para o modelo PLS-DA) são mostradas nas FIGURAS 4.3.4.1 a 4.3.4.4. Em geral, a área sob a curva variou de 0,6 (ruim) a 0,9 (boa capacidade de predição). Para o teste 1, por exemplo, referente a medida da espessura nos ensaios de tração (ver TABELA 4.3.4.1) para as amostras da classe 1 (0,87-1,91 para L e 0,89-1,89 para T) para conjuntos de dados de calibração e validação para o PLS-DA a área calculada sob as curvas variou de 0,74 a 0,76 e os modelos podem ser considerados ajustados.

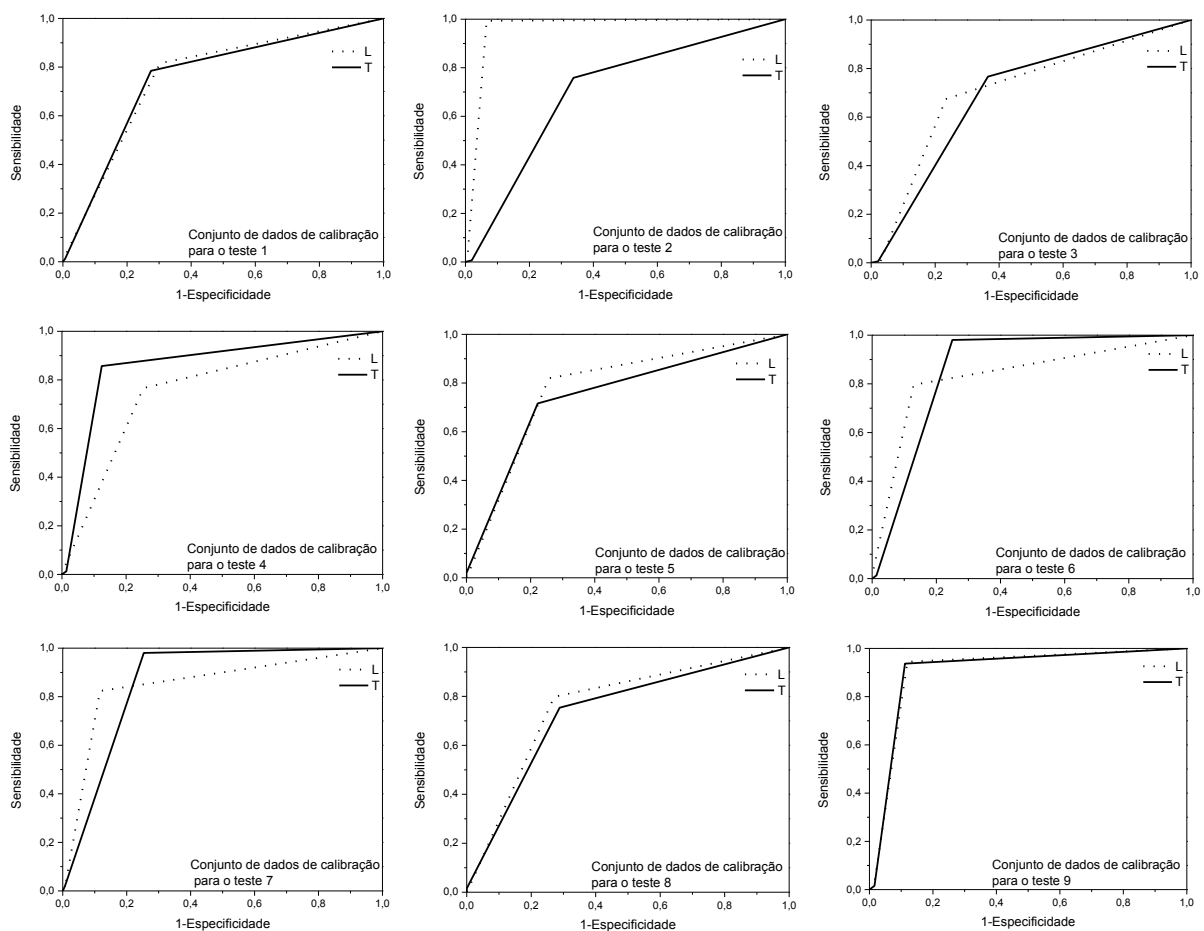


FIGURA 4.3.4.1 - Curvas ROC para amostras da classe 1 do conjunto de dados de calibração para o modelo PLS-DA. Linhas pontilhadas e sólidas representam testes realizados nas direções transversal (L) e longitudinal (T), respectivamente.

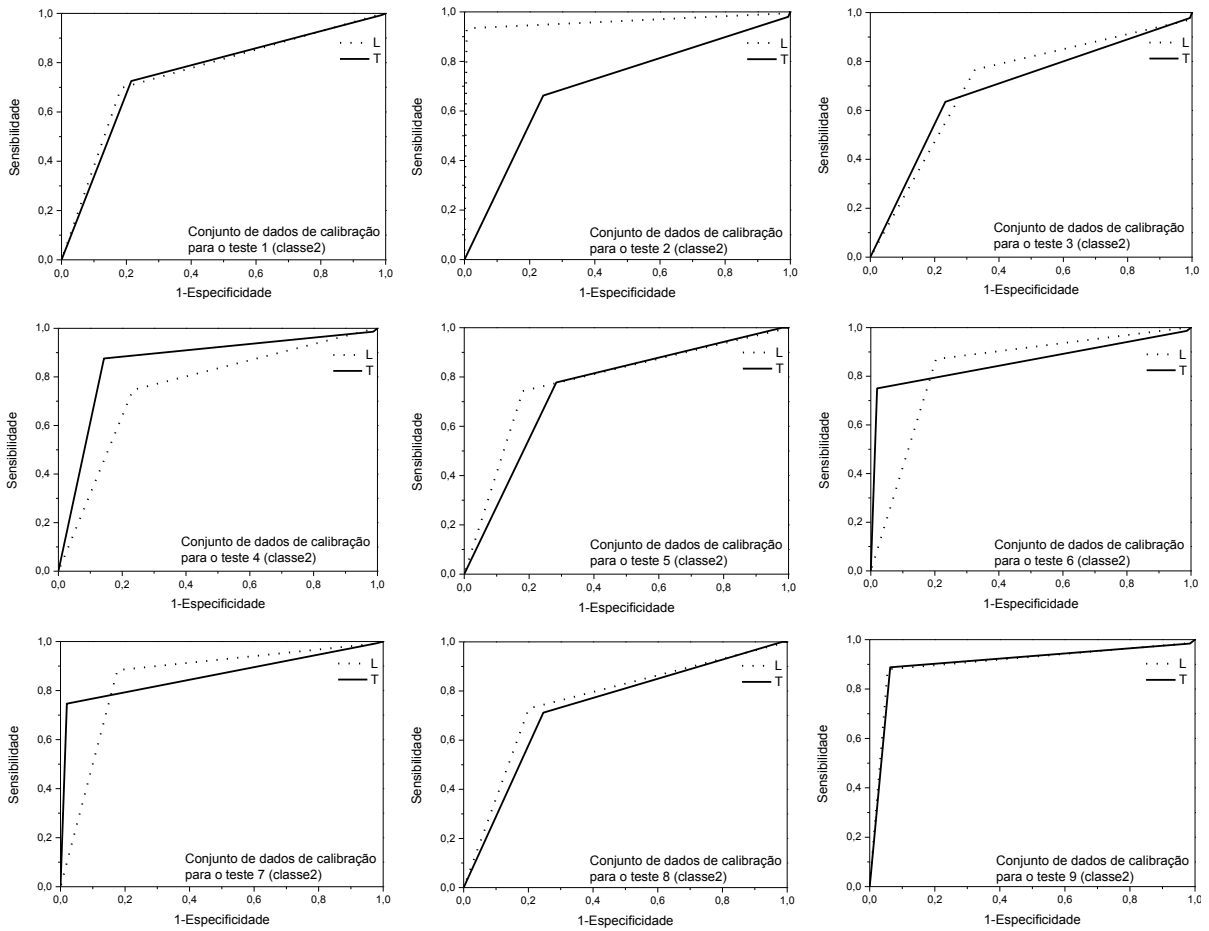


FIGURA 4.3.4.2 - Curvas ROC para amostras da classe 2 do conjunto de dados de calibração para o modelo PLS-DA. Linhas pontilhadas e sólidas representam testes realizados nas direções L e T respectivamente.



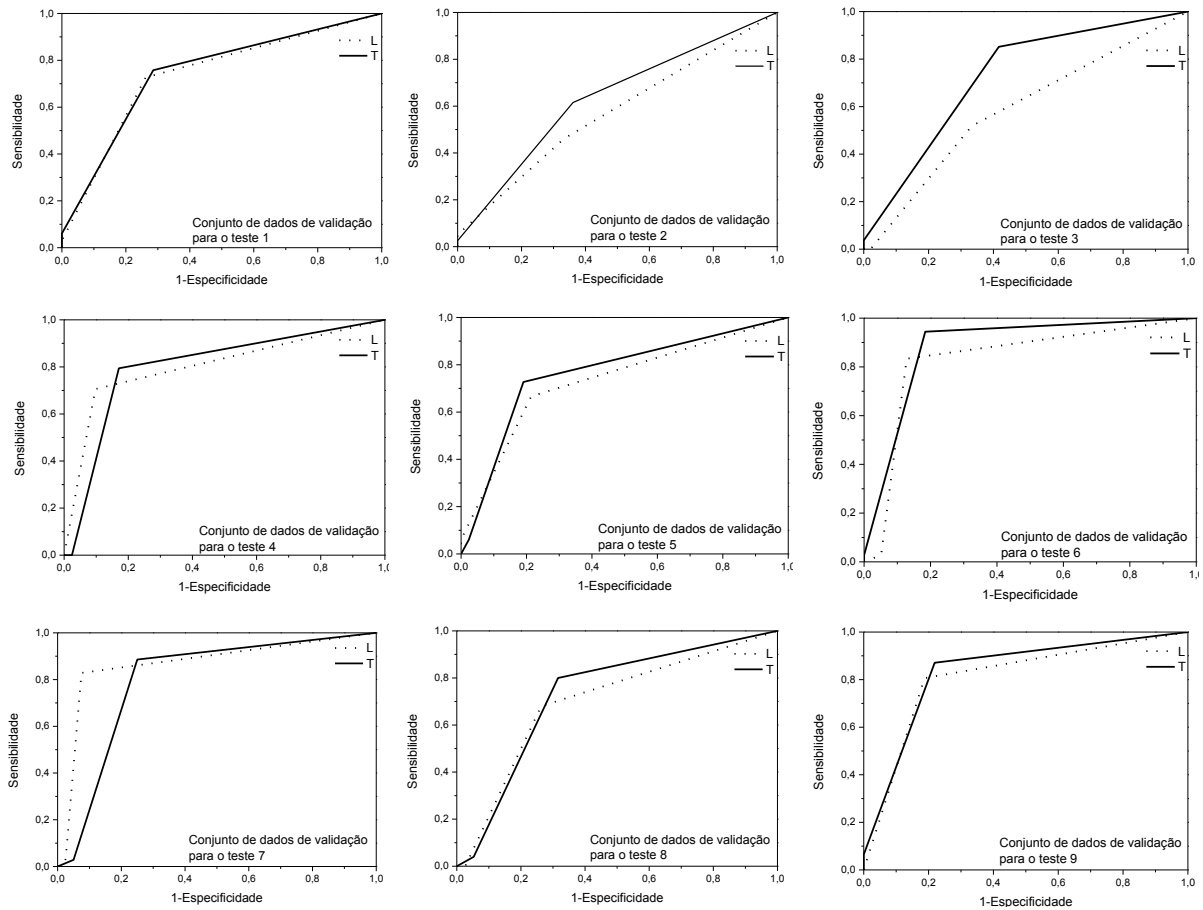


FIGURA 4.3.4.3 - Curvas ROC para amostras da classe 1 do conjunto de dados de validação para o modelo PLS-DA. Linhas pontilhadas e sólidas representam testes realizados nas direções L e T respectivamente.

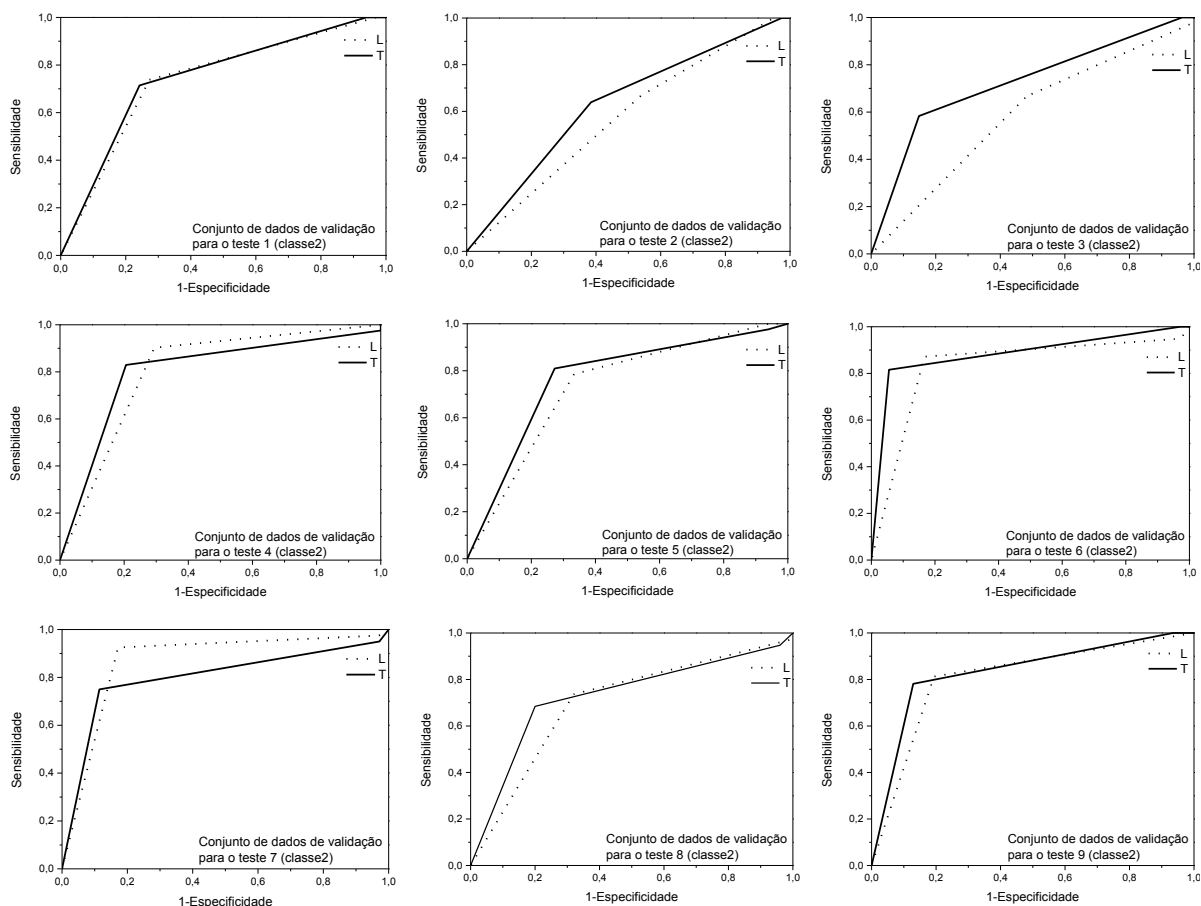


FIGURA 4.3.4.4 - Curvas ROC para amostras da classe 2 do conjunto de dados de validação para o modelo PLS-DA. Linhas pontilhadas e sólidas representam testes realizados nas direções L e T respectivamente.

A capacidade do LIBS de prever as características físico-mecânicas dos couros é proveniente das ligações químicas como C=O, N-H, C-O, C=N e também da presença de elementos leves, tais como H, C, N e O neste tipo de material.

Embora os modelos de classificação tenham alcançado cerca de 80% de classificação correta, acreditamos que os modelos desenvolvidos serão úteis para aplicações práticas, pois são de fácil implementação no campo industrial e podem oferecer resultados preliminares. Além disso, valores suspeitos podem ser confirmados com métodos padrões. Considerando que os testes tradicionais para garantir a qualidade do couro são muito trabalhosos, demorados e requerem grande quantidade de couro, além disso, o couro usado nos testes é destruído e descartado, reduzindo assim seu valor econômico. Além disso, testes físico-mecânicos em geral são normalmente realizados em laboratórios privados, elevando os custos de produção, evitando assim um controle de qualidade mais rigoroso, pois apenas uma pequena parte dos couros será submetida aos testes. Neste caso, cerca de 80% da

classificação correta deve ser suficiente. Usando alternativamente LIBS acoplado a um modelo de classificação, a análise poderia ser feita no próprio curtume com um LIBS portátil, por exemplo. Esta abordagem pode apresentar uma alta frequência analítica sem danificar o couro, que pode ser ainda comercializado (sem que seja necessário cortar as peças). Finalmente, o método proposto pode aumentar o lucro no momento da venda, além de levar apenas alguns segundos para análise. Assim todos os couros podem ser inspecionados e determinar a qualidade de 100% do couro produzido e não apenas de uma fração como geralmente é feito.

#### **4.4 - Conclusões**

Modelos de classificação (KNN, SIMCA e PLS-DA) foram desenvolvidos utilizando espectros de emissão do LIBS associados a testes físico-mecânicos de couro como valores de referência. As habilidades preditivas dos modelos foram semelhantes, mostrando que os três modelos podem ser usados para prever a qualidade de couros de ovinos e bovinos satisfatoriamente de forma simultânea, contudo os modelos KNN e PLS-DA foram ligeiramente melhores que o modelo SIMCA. Os modelos geraram resultados preditos concordantes com os valores de referência para os ensaios físico-mecânicos em ambas as direções avaliadas (L e T), demonstrando o potencial de utilização desta ferramenta em combinação com a LIBS para prever a qualidade de couros de ovinos e bovinos utilizando um único modelo. O método proposto é rápido, possibilitando a coleta de 100 espectros a cada 15 segundos e nenhum resíduo é gerado.

Esse trabalho é o primeiro na literatura que utiliza o LIBS para o controle de qualidade de couros e o segundo artigo a analisar couros por LIBS o que comprova o ineditismo dos resultados obtidos.

Para finalizar, pode-se fazer um paralelo entre os testes físico-mecânicos utilizados hoje para atestar a qualidade de couros e o procedimento proposto que são as análises por LIBS associadas a modelos de classificação:

## Testes físico-mecânicos

## LIBS e modelos de classificação

**Destrutivos:**  $\frac{1}{4}$  de um couro bovino e  $\frac{1}{2}$  de um couro ovino se perde ao retirar os corpos de prova (CP), afetando diretamente na perda de valor econômico no momento da venda do couro.

**Não há necessidade de cortar o couro** antes das análises se um LIBS portátil for utilizado, ou se um LIBS de bancada como o que foi utilizado nesse trabalho for empregado. Um pequeno pedaço de couro já é suficiente para a obtenção dos espectros.

Necessita de **grande quantidade de amostra**; além disso há a necessidade de retirar CP em **duas direções L e T**.

Uma **pequena quantidade de amostra** é utilizada e **não há necessidade de retirar amostras em duas direções**, pois os modelos de classificação foram eficientes nas predições independentemente da direção de retirada da amostra, utilizando um único modelo.

**Demorados:** necessitam de pelo menos 3 dias para a realização dos testes. Considerando que são necessários 2 dias apenas para a climatização dos CP e mais um dia para realização e obtenção dos resultados dos testes.

**Análises rápidas:** espectros obtidos em segundos, o que possibilita uma elevada frequência analítica. Considerando a coleta de 100 espectros por amostra, foi possível analisar 15 amostras por hora.

É necessário empregar **várias etapas em sequência**: 1) retirada dos CP; 2) climatização; 3) medidas de espessura; 4) testes de tração; 5) testes de rasgamento; sendo ainda necessário o **uso de vários equipamentos** como prensa hidráulica, espessímetro e dinamômetro

**Uma única etapa é realizada:** obtenção dos espectros seguido do cálculo do modelo de classificação. Além disso, **um único equipamento é utilizado**, o LIBS.

Grande **geração de resíduos** de CP, porque após a realização dos testes, os CP são rasgados, esticados, rompidos, impossibilitando que sejam reutilizados posteriormente. Dessa forma, todas as amostras utilizadas nos testes viram resíduos. É relevante salientar a importância do descarte correto desses couros, principalmente aqueles curtidos com Cr.

**Não há geração de resíduo** de couro.

Geralmente são realizados em **laboratórios privados**, pois normalmente o curtume não dispõe de um laboratório equipado, aumentando o custo de produção.

Há a possibilidade de utilizar um **LIBS portátil no próprio curtume** para obtenção dos espectros.

## **Capítulo 5**

---

# **Estabelecimento de um procedimento de preparo de amostra para couros usando ICP OES**

## **5 - Estabelecimento de um procedimento de preparo de amostra para couros usando ICP OES**

### **5.1 - Introdução**

O acabamento é a última etapa do processo de curtimento, entretanto para garantir a qualidade do couro é necessário realizar testes físicos (mencionados anteriormente) e químicos. Os procedimentos de preparo de amostra de couros (testes químicos) podem ser realizados segundo os métodos oficiais de referência ABNT NBR ISO 17072-2:2015<sup>116</sup> e ISO 5398-4:2017<sup>117</sup>.

O primeiro método, ISO 17072-2:2015 pode ser aplicado para a determinação do teor total dos seguintes elementos em couro: Al, Sb, As, Ba, Cd, Ca, Co, Cu, Cr, Fe, Pb, Mg, Mn, Hg, Mo, Ni, K, Se, Si, Na, Sn, Ti, Zn, Zr exceto para a determinação de Cr em couros curtidos com cromo, neste caso deve-se usar o segundo método citado (ISO 5398-4:2017).

Segundo a ISO 17072-2:2015, a amostra deve ser moída e seca durante 12h a uma temperatura não superior a 50 °C. Posteriormente, pesar 1 g de couro e adicionar de 10 a 20 mL da mistura de ácidos nítrico, sulfúrico e perclórico (concentrados) na proporção 3:1:1 e aquecer até ebulição em chapa de aquecimento sob aquecimento moderado até completa digestão. Em caso de digestão incompleta, deixar o frasco esfriar, acrescentar mais 10 a 20 mL de mistura ácida e repetir o procedimento. Filtrar e avolumar para 100 mL com água destilada.

O método ISO 5398-4:2017 pode ser aplicado para a determinação de Cr especificamente em couros curtidos com cromo. Segundo este método a amostra deve ser moída e seca durante 12h a uma temperatura não superior a 50 °C. Posteriormente, pesar 2 g de couro e adicionar 10 mL de ácido nítrico e deixar em repouso por 2 min. Adicionar 15 mL da mistura de ácidos sulfúrico/perclórico (concentrados) na proporção 1:3 e aquecer até ebulição em chapa de aquecimento sob aquecimento moderado até completa digestão. Em caso de digestão incompleta, deixar o frasco esfriar, acrescentar mais mistura de ácidos sulfúrico/perclórico e repetir o procedimento. Finalmente avolumar para 200 mL com água destilada.

Os dois procedimentos utilizam elevados volumes de ácidos concentrados o que proporciona elevada acidez residual dos digeridos, impondo a necessidade de excessivas diluições antes da leitura em equipamentos como ICP

OES e FAAS, elevada geração de resíduos, além de fornecer adicional perigo ao analista devido ao uso de ácido perclórico, o qual é potencialmente explosivo e que deve ser evitado quando possível. Por utilizarem frascos abertos apresentam altos riscos de contaminação e/ou perdas de analitos por volatilização. Adicionalmente, é laboriosa a necessidade de utilizar dois procedimentos de análise, um somente para determinar Cr em couro curtido com Cr e outro para os demais analitos.

O uso de  $H_2SO_4$  também deve ser evitado, pois dificulta a análise por ICP OES devido às interferências de transporte da solução de amostra para o equipamento durante a nebulização e modificações na taxa de aspiração devido à maior viscosidade do  $H_2SO_4$ . Essas interferências são maiores do que quando a mistura  $H_2O_2 / HNO_3$  é usada<sup>7</sup>. Além disso, o  $H_2SO_4$  aumenta substancialmente a emissão de fundo devido à presença de espécies moleculares como SO,  $SO_2$ ,  $S_2$  ou outras impurezas presentes no ácido concentrado, dificultando a determinação de elementos com comprimentos de onda abaixo de 200 nm<sup>7</sup>.

A análise de amostras de couro tem sido realizada utilizando principalmente ICP OES, mas técnicas como MIP OES, FAAS e *instrumental neutron activation analysis* (INAA) também tem sido empregadas.

KARAVANA et al.<sup>8</sup> determinaram o teor de As, Ba, Cd, Cr, Hg, Pb, Sb, e Se em 12 amostras de couro de botas infantis. Para o preparo das amostras, os couros foram cortados, e à 2,0 g de amostra foram adicionados 100 mL de HCl 0,07 mol L<sup>-1</sup>, o pH foi ajustado entre 1 - 1,5 com HCl 2 mol L<sup>-1</sup>, a solução foi agitada à 50 rpm durante 1 h seguida de filtração. O sobrenadante contendo os analitos foi analisado utilizando ICP OES. Neste estudo as peles foram curtidas de duas formas: usando sulfato de Cr e sulfato de Zr. Os autores concluíram que as concentrações dos analitos nos couros acabados dependem sobretudo dos produtos químicos utilizados na produção. Elevados teores de Cr foram determinados (entre 0,2 a 30.000 mg kg<sup>-1</sup>), entretanto concentrações menores de As, Ba, Cd, Hg, Pb, Sb e Se foram detectadas (0,48 - 1,88 mg kg<sup>-1</sup>).

ASLAN et al.<sup>9</sup> determinaram Al, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb e Zn em 10 amostras de couro natural e em 10 amostras de couro sintético de estofamento. As determinações foram realizadas de duas formas: na primeira foram determinados teores totais dos metais nos couros de acordo com as ISO 17072<sup>116</sup>; na segunda realizou-se uma extração em água e outra extração em solução artificial de suor. As determinações foram realizadas por ICP OES. As concentrações de todos os metais

na forma total foram determinadas por decomposição por via úmida e conforme esperado foram maiores que aqueles extraídos em água ou suor. A concentração de Cr por exemplo foi respectivamente de 16.000, 72 e 168 mg kg<sup>-1</sup> nos couros naturais e 97, 2,0 e 11 mg kg<sup>-1</sup> nos couros sintéticos. Por outro lado, as concentrações de Al, Co, Cu, Ni e Zn foram detectadas na faixa de 0,89 - 602,33 mg kg<sup>-1</sup> em couros naturais e 0,001 - 4,73 mg kg<sup>-1</sup> em couros sintéticos. Segundo os autores estes elementos são provenientes dos processos de acabamento e reações durante o tingimento ou de produtos químicos. Os elementos Cd, Hg e Pb não foram detectados acima do LOD em nenhum dos dois tipos de materiais. As concentrações dos analitos em couros sintéticos foram muito menores que aquelas em couros, segundo os autores isso se deve ao fato de que curtentes minerais não foram utilizados na produção dos materiais sintéticos.

ASLAN<sup>10</sup> determinou Al, As, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, Sb, Zn e Zr em 50 amostras de couro usando ICP OES. Cinco tipos diferentes de curtimento foram avaliados, com Cr apenas, mistura de Cr e taninos vegetais, Al apenas, mistura de Al e taninos vegetais e taninos vegetais apenas. As amostras foram digeridas seguindo o procedimento padrão EPA 3050B<sup>69</sup> com modificações, onde 10 mL de HNO<sub>3</sub> e 5 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foram adicionados à 0,5 g de amostra. Inicialmente as amostras foram moídas e 0,5 g juntamente com 10 mL de HNO<sub>3</sub> concentrado foram aquecidos em chapa de aquecimento e deixado evaporar (até o volume de 5 mL) a 95° C. Em seguida foram adicionados 2 mL de água e 5 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e aqueceu-se novamente a 95°C até reduzir o volume a 5 mL. Os digeridos foram avolumados até 100 mL com água destilada. Segundo os autores, os elementos Sb, As, Cd, Cu, Pb, Hg, Ni e Zn mesmo não sendo intencionalmente adicionados durante o tratamento dos couros, foram determinados na faixa de <LOD – 70 mg kg<sup>-1</sup>. Segundo os autores esses elementos são possivelmente provenientes de corantes, pigmentos, pesticidas ou contaminantes dos equipamentos utilizados na indústria de curtume. As concentrações destes elementos, entretanto, são insignificantes se comparados à Al (<LOD – 21.000 mg kg<sup>-1</sup>), Cr (37 – 36.000 mg kg<sup>-1</sup>) e Zr (<LOD – 27.000 mg kg<sup>-1</sup>). Cr e Al constituíram cerca de 98% da concentração total de metais em couros curtidos com sais de Cr e Al, enquanto que nos couros curtidos com taninos vegetais, o Zr foi o único metal detectado acima do LOD. No curtimento vegetal, os couros foram recurtidos com sulfato de zircônio a fim de tornar o material mais firme, clareá-lo e facilitar o curtimento e a cor do couro estudado foi unicamente característico do tanino



vegetal usado no curtimento e como não foram submetidos a qualquer processo de coloração, o único metal identificado foi o Zr.

SCHEFFLER et al.<sup>7</sup> desenvolveram um método para determinar As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Pb, Sb, Sr, Ti, V, Zn e Zr em 7 amostras de couro (couro curtido com taninos vegetais, *floater*, sapato, couro de mobilha, roupa, couro de automóvel e nappa) utilizando um *ultrasonic nebulization axial view inductively coupled plasma optical emission spectrometry* (ICP OES USN). As amostras foram secas a 60 °C por 2 horas em estufa, moídas em liquidificador e 0,3 g foram digeridas com 3 mL HNO<sub>3</sub> concentrado e 3 mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sob aquecimento em forno de micro-ondas. Os digeridos foram avolumados para 15 mL com água destilada. Quinze elementos foram quantificados em 5 amostras de couro e indicaram a presença de elementos tóxicos, como Pb, Cd, Zn, V, Ni e Cr. As concentrações dos elementos diferem entre os tipos de couro, mas a concentração de Cr e Sr foram elevadas em todas as amostras. A concentração de Cr variou de 100 mg kg<sup>-1</sup> (couro curtido com tanino vegetal) a 22.000-30.000 mg kg<sup>-1</sup> (demais amostras curtidas com Cr) e Sr variou de 1.000-3.000 mg kg<sup>-1</sup> (amostras curtidas com Cr) a 7.000 mg kg<sup>-1</sup> (couro curtido com taninos vegetais). Segundo os autores, as elevadas concentrações de Sr são um indicativo da presença deste elemento em pigmentos usados no processo. Embora o teor de Cr seja menor no couro curtido com tanino vegetal, altas concentrações de Co, Cu, Mn, Ni, Pb e Zn foram determinadas (34-1.070 mg kg<sup>-1</sup>) nesse tipo de amostra. Dois materiais de referência certificados também foram analisados: fígado de peixe e fígado bovino.

ZEINER et al.<sup>11</sup> determinaram a concentração de Cr total em dez amostras de couro curtidos com cromo utilizados na indústria automobilística (acentos e revestimentos de carros). No preparo de amostra, inicialmente elas foram secas a 65°C durante a noite e depois cortadas em pequenos pedaços utilizando uma faca de cerâmica, posteriormente 0,3 g de amostra foram pesados e digeridas com 5 mL de ácido nítrico concentrado e 1 mL de ácido clorídrico em forno micro-ondas durante 40 min. O volume final dos digeridos foi ajustado para 10 mL e analisados por ICP OES. A faixa de concentração de Cr determinada foi de 19.000 mg kg<sup>-1</sup> a 32.000 mg kg<sup>-1</sup>. Dois materiais de referência certificados de água também foram analisados e as concentrações de Cr obtidas estavam de acordo com os valores certificados (recuperações 97-102%).

OKOH et al.<sup>14</sup> realizaram a determinação de As, Br, Co, Fe, Rb, Sb e Zn em 12 amostras de couro utilizando a técnica de INAA. As amostras foram cortadas em fragmentos menores, pesadas entre 0,3 e 0,5 g e armazenadas em embalagens de polietileno. Posteriormente foram secas a 60°C por 2 horas e irradiadas utilizando um reator durante 6 horas a um fluxo de nêutrons de  $5 \times 10^{11} \text{ ncm}^{-2}\text{s}^{-1}$ . O elemento As foi determinado em 2 amostras nas concentrações de 3,5 e 4,6  $\text{mg kg}^{-1}$ , enquanto Rb e Sb foram encontrados em apenas uma das amostras nas concentrações de 26,8 e 0,6  $\text{mg kg}^{-1}$ , respectivamente. Os demais elementos, Br, Co, Zn e Fe foram determinados nas faixas de 1,7-7,5; 0,4-1,9; 12,3-119 e 609-14.000  $\text{mg kg}^{-1}$ , respectivamente. Os autores não determinaram Cr nos couros.

ZHAO et al.<sup>13</sup> desenvolveram um método para a determinação de Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ni e Pb em 23 couros usando MIP OES. Inicialmente as amostras foram cortadas em pedaços de até 0,5 x 0,5 cm e 0,2 g das amostras foram pesadas e digeridas utilizando forno micro-ondas com uma mistura ácida de 4 mL de  $\text{HNO}_3$  concentrado e 1 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , o tempo total de aquecimento foi de 20 min. Os digeridos foram filtrados, avolumados para 25 mL e analisados por MIP OES. Os resultados foram comparados com os obtidos por ICP OES. Um material de referência certificado de couro (CRM, GSB 16-3087-2013) foi usado para validar o método proposto. Em condições ideais, foram obtidas recuperações de 98 a 103% e desvio padrão relativo (RSD) de 0,7 a 3,0%, com LOD variando de 0,9  $\text{mg kg}^{-1}$  (Cr ou Ni) a 2,0  $\text{mg kg}^{-1}$  (Hg). A concentração de cromo nas amostras variou de 36,1 a 34.246  $\text{mg kg}^{-1}$ , o cobre foi encontrado na maioria das amostras com uma concentração máxima de 65  $\text{mg kg}^{-1}$ . Outros elementos (Cd, Co, Hg, Ni e Pb) foram encontrados em pelo menos uma das amostras.

BEIK et al.<sup>14</sup> propuseram uma solubilização alcalina com hidróxido de tetrametilamônio (TMAH) como procedimento de preparo de amostra. O método foi avaliado para a extração e posterior determinação de Cr e Pb em amostras de couro por FAAS. Na solubilização alcalina com TMAH, 0,10 g da amostra previamente moída foi aquecida a  $95 \pm 5^\circ\text{C}$  durante 30 minutos na presença de 500  $\mu\text{L}$  de TMAH 2,75  $\text{mol L}^{-1}$  em meio de metanol. Posteriormente, 500  $\mu\text{L}$   $\text{HNO}_3$  concentrado foi adicionado à solução, e centrifugado a 5.000 rpm durante 5 minutos, depois foi devidamente diluído. O procedimento proporcionou solubilização completa da amostra, resultando em LOD de 4  $\mu\text{g g}^{-1}$  para Cr e 9  $\mu\text{g g}^{-1}$  para Pb; valores de recuperação na faixa de 92 a 116% e valores de RSD inferiores a 9,7%. A concentração de Cr nas 6 amostras de couro

analisadas variou de <LOD a 21.000 mg kg<sup>-1</sup> enquanto Pb variou de <LOD a 2.490 mg kg<sup>-1</sup>.

Conforme confirmado pelos estudos citados anteriormente, diversos elementos químicos foram determinados em amostras de couros. Esses elementos são Al, As, Ba, Br, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Mo, Ni, Pb, Rb, Sb, Se, Sr, Ti, V, Zn e Zr, demonstrando que aqueles potencialmente tóxicos a saúde e ao meio ambiente, como As, Cd, Cr, Hg, Ni e Pb<sup>13</sup> podem ser adicionados ao couro durante o processo de fabricação. A presença desses elementos pode ser decorrente do uso de reagentes químicos, corantes, pigmentos, solventes, aditivos e agentes curtentes<sup>7,13,14</sup>.

Diante disso, o monitoramento de elementos químicos em couro é extremamente importante<sup>13</sup>. Nesse sentido, a concentração de substâncias restritas em couros e produtos feitos de couro é regulamentado em vários países. Nos Estados Unidos da América (EUA) por exemplo, a concentração de Pb em produtos fabricados para crianças menores de 12 anos não pode ser maior que 100 mg kg<sup>-1</sup><sup>14</sup>. Além disso, membros da União Europeia (UE) estabeleceram que o valor máximo permitido para Cr (VI) é de 3 mg kg<sup>-1</sup><sup>118</sup>. No Brasil, no entanto, não há legislação que regulamente a concentração máxima de elementos químicos presente em couros e produtos feitos de couros (exceto para Cr(VI))<sup>14</sup>.

Embora o Brasil não tenha ainda uma legislação própria com concentrações máximas de elementos em couros, em outros países são apresentadas alternativas para definir limites de alguns analitos, de forma a impor regras e resguardar o consumidor. A TABELA 5.1.1 estabelece, por meio de duas normas<sup>119,120</sup> (ECCO<sup>119</sup> e EKO-TEX<sup>120</sup>), a restrição de substâncias bem como os limites máximos de elementos que podem ser encontrados em couros, tais como Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, Sb, Se, Ti e Zr. O valor máximo admitido depende da idade do consumidor. No caso de crianças menores de 3 anos, os limites para alguns elementos são mais rígidos.

TABELA 5.1.1 - Limites máximos permitidos para Cr (VI), Al, Zr, Ti, Cr, Sb, As, Ba, Cd, Co, Cu, Pb, Hg, Ni e Se extraíveis em couros de animais e Pb e Cd total em couros de animais e couros sintéticos.

Legislação	ECCO <sup>119</sup>		EKO-TEX <sup>120</sup>	
	Crianças menores de 3 anos	Pessoas acima de 3 anos	Crianças menores de 3 anos	Pessoas acima de 3 anos
<b>Limite de concentração para elementos extraíveis (mg kg<sup>-1</sup>) em couros</b>				
Al, Zr, Ti ou Cr quando empregados como agentes curtentes	50	< 200	_____	_____
As	< 0,2	< 0,2	0,2	1,0
Ba	< 1000	< 1000	_____	_____
Cd	< 0,1	< 0,1	0,1	0,1
Co	4,0	4,0	1,0	4,0
Cr	50	< 200	2,0	200
Cr (VI)	< 3	< 3	< 3	< 3
Cu	50	50	25	50
Hg	0,02	0,02	0,02	0,02
Ni	4,0	4,0	1,0	4,0
Pb	0,2	0,2	0,2	1,0
Sb	< 30	< 30	30	30
Se	500	500	_____	_____
<b>Limite de concentração para teor total (mg kg<sup>-1</sup>) em couros e material sintético</b>				
Pb	90	90	90	90
Cd	40	40	40	40

A TABELA 5.1.1 está dividida em duas sessões, onde a primeira apresenta os limites de concentração para Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, Sb, Se, Ti e Zr extraíveis (mg kg<sup>-1</sup>) em couros e a segunda parte apresenta os limites de concentração para teor total de Pb e Cd (mg kg<sup>-1</sup>) em couros naturais e sintético.

Embora as normas contemplem apenas dois elementos quanto ao teor total, elas foram recentemente atualizadas, janeiro de 2018<sup>119</sup> (ECCO) e janeiro de 2017<sup>120</sup> (EKO-TEX) e são as normas mais completas sobre esse tipo de material. É esperado que no futuro, limites também sejam impostos para os teores totais de outros elementos como Al, As, Ba, Ca, Cr, Fe, Mg e Sb que normalmente estão presentes em elevadas concentrações em couros. Embora Mg, Fe e Ca não sejam elementos tóxicos, as concentrações altíssimas encontradas podem tornar-se preocupantes.

Algo interessante é que pela primeira vez pensou-se nos couros sintéticos em uma legislação, na qual estabeleceu-se que os limites dos teores totais de Pb e Cd podem ser considerados os mesmos tanto para os naturais como para os sintéticos. Além disso, a TABELA 5.1.1 está dividida por idade, a coluna à esquerda diz respeito aos teores dos elementos permitidos para crianças menores de 3 anos e a coluna da direita para os demais indivíduos. Na primeira linha da TABELA 5.1.1 consta o limite para Al, Zr, Ti ou Cr quando empregados como agentes curtentes, ou seja se o couro foi curtido com sal de Cr, a concentração máxima desse elemento deve ser de 200 mg kg<sup>-1</sup> de Cr extraível, o mesmo deve ser adotado quando o couro for curtido com sais de Al, Zr ou Ti.

Uma terceira norma estabelecida pela EU<sup>118</sup>, é ainda seguida para restringir a concentração de As, Ba, Cd, Cr, Hg, Pb, Sb e Se extraíveis em couro, contudo, apesar de ser utilizada e indicada para couros é uma norma padrão para extração de elementos em brinquedos<sup>118</sup> que definiu os seguintes limites máximos para elementos extraíveis: As: 25 mg kg<sup>-1</sup>, Cd: 75 mg kg<sup>-1</sup>, Cr Total: 60 mg kg<sup>-1</sup>, Hg: 60 mg kg<sup>-1</sup>, Pb: 90 mg kg<sup>-1</sup>, Sb: 60 mg kg<sup>-1</sup>, Ba: 1000 mg kg<sup>-1</sup>, Se: 500 mg kg<sup>-1</sup>.

Diante disso, o objetivo desse estudo foi determinar a concentração de Al, As, Ba, Ca, Cd, Cr total, Cu, Fe, Mg, Ni, Pb, Sb, Sr, Ti e Zn em amostras de couro curtidas com sais de Cr e taninos vegetais utilizando ICP OES. Uma PCA também foi aplicada na avaliação dos conjuntos de dados de concentrações.

Os resultados das concentrações dos elementos determinados nos couros foram utilizados 1) para verificar se as amostras de couro avaliadas estão com as concentrações dos elementos dentro dos limites estabelecidos pelas normas e, 2) como valores de referência para o estudo descrito posteriormente no item 6.3.3.

## 5.2 - Materiais e métodos

### 5.2.1 - Amostras

Sessenta amostras de couro foram analisadas nos experimentos (24 de ovinos e 36 de bovinos). Os couros foram curtidos com sais de Cr (50 amostras) e taninos vegetais (10 amostras), incluindo couros de 9 cores diferentes. Uma descrição detalhada das amostras é mostrada na TABELA 5.2.1.1.

TABELA 5.2.1.1 - Descrição das amostras de couro utilizadas na parte experimental.

Número de identificação da amostra	Tipo de couro	Tipo de curtimento	cor
1-4	bovino	romo	castanho escuro
5-14	bovino	romo	verde
15-18	bovino	romo	preto
19-24	bovino	romo	castanho claro
25, 26, 32, 42, 44, 45, 47, 48, 58	ovino	romo	azul claro
27-31, 40, 41, 43, 46, 49	ovino	romo	azul escuro
33, 35, 37, 57, 60	ovino	tanino vegetal	amarelo
34, 36, 38, 39, 59	ovino	tanino vegetal	bege
50-56	ovino	romo	marrom

### 5.2.2 - Determinação de Al, As, Ba, Ca, Cd, Cr total, Cu, Fe, Mg, Ni, Pb, Sb, Sr, Ti e Zn em couro usando ICP OES

Experimentos foram realizados utilizando um espectrômetro ICP OES iCAP 6000 (Thermo Fisher, Madison, WI, EUA) com visões axiais e radiais e argônio (99,996%, White Martins-Praxair, Sertãozinho, SP, Brasil) para análise elementar. A TABELA 5.2.2.1 apresenta as condições instrumentais e as linhas de emissão usadas nas determinações por ICP OES.

TABELA 5.2.2.1 - Parâmetros operacionais para determinações por ICP OES.

Parâmetro do instrumento	Condições operacionais
Potência de radiofrequência aplicada (kw)	1,15
Tempo de integração para baixos comprimentos de onda (s)	15
Tempo de integração para altos comprimentos de onda (s)	5
Vazão de introdução da amostra (mL min <sup>-1</sup> )	2,1
Vazão do gás do auxiliar (L min <sup>-1</sup> )	0,5
Vazão do gás do plasma (L min <sup>-1</sup> )	12
Vazão do gás de nebulização (L min <sup>-1</sup> )	0,7
Nebulizador	Concêntrico
Câmara de nebulização	Ciclônica
Número de replicatas	3
Elementos e comprimentos de onda (nm); modos de visualização: axial e radial <sup>a</sup> , somente axial <sup>b</sup> , somente radial <sup>c</sup>	Al 308,215 <sup>a</sup> (I), As 193,759 <sup>b</sup> (I), Ba 233,527 <sup>c</sup> (II), C 193,091 <sup>a</sup> (I), Ca 317,933 <sup>a</sup> (II), Cd 226,502 <sup>a</sup> (II), Cr 267,716 <sup>a</sup> (II), Cu 327,396 <sup>b</sup> (I), Fe 238,204 <sup>a</sup> (II), Mg 279,559 <sup>a</sup> (II), Ni 231,604 <sup>b</sup> (II), Pb 220,353 <sup>a</sup> (II), Sb 206,833 <sup>b</sup> (I), Sr 228,200 <sup>c</sup> (II), Ti 336,121 <sup>c</sup> (II), Zn 202,548 <sup>a</sup> (II).

I linhas atômicas; II linhas iônicas

As amostras de couro foram cortadas em pequenos pedaços (cerca de 5 por 5 mm) com uma faca de cerâmica antes da análise e não foram moídas para evitar a contaminação por metais das lâminas do moinho. Um bloco digestor com frascos fechados de PFA (perfluoroalcoxi, Savillex, MN, EUA) de 50 mL e equipado com 24 frascos foi utilizado para a mineralização das amostras. As amostras foram digeridas em triplicata de acordo com o seguinte procedimento adaptado de SCHEFFLER e POZEBON<sup>7</sup>: 0,200 g de couro foram pesados e transferidos para o frasco de PFA; 3,0 mL de HNO<sub>3</sub> a 65% m/m (Synth, Diadema, SP, Brasil) foram

adicionados e mantidos durante a noite (*overnight*) por aproximadamente 16 h; no dia seguinte, foram adicionados 3,0 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 30% m/m (Synth, Diadema, SP, Brasil) e a solução foi aquecida a 100°C durante 180 minutos.

Após a digestão, os extratos resultantes foram filtrados com papel de filtro quantitativo (Unifil, Alemanha), e avolumados para 30 mL com água deionizada (resistividade > 18,2 MΩ.cm). O ácido nítrico foi previamente purificado utilizando um sistema de destilação sub-boiling, Distillacid™ BSB-939-IR (Berghof, Eningen, Alemanha).

Soluções padrão multielementares foram preparadas a partir de soluções estoque de 1.000 mg L<sup>-1</sup> (Fluka Analytical, Buchs SG, Qhemis, Suíça) e usadas para construir as curvas de calibração. Todos os frascos de vidro e polipropileno foram lavados e mantidos em HNO<sub>3</sub> 10% v/v por 24 h.

Este procedimento foi utilizado para a determinação de Al, As, Ba, Ca, Cd, Cr total, Cu, Fe, Mg, Ni, Pb, Sb, Sr, Ti e Zn nas amostras de couro. Outras misturas de digestão, como água régia e HNO<sub>3</sub> 50%, também foram testadas; no entanto, resíduos insolúveis permaneceram no digerido resultante, indicando mineralização incompleta.

Devido à elevada concentração de Cr nas amostras curtidas com sais desse elemento, foi necessário realizar uma diluição adicional de quatro vezes; no entanto, as amostras de couro curtidas com tanino vegetal apresentaram concentrações significativamente menores de Cr, e nenhuma diluição adicional foi necessária. Para acomodar todas as amostras, foi preparada uma curva de calibração Cr de 0,005 a 60 mg kg<sup>-1</sup>.

Soluções padrão foram adicionadas a 30 amostras antes da digestão para avaliar a recuperação do procedimento analítico adotado. Dessa forma, foram adicionados 1,0 mg kg<sup>-1</sup> de Al, Fe, Mg, Sb; 0,5 mg kg<sup>-1</sup> de Ba, Pb, Zn, As, Cd, Ni, Sr, Ti, Cu; 5,0 mg kg<sup>-1</sup> de Ca nas amostras. No caso do Cr, 70 mg kg<sup>-1</sup> foram adicionados às amostras curtidas com este elemento e 0,5 mg kg<sup>-1</sup> de Cr às amostras curtidas com tanino vegetal. Este procedimento foi eleito devido ao fato de que nenhum material certificado de couro estava disponível. Para evitar a diluição do ácido empregado na mineralização, os analitos adicionados foram divididos em várias amostras.

Os LODs foram calculados usando três vezes o desvio padrão de dez medidas do branco dividido pela inclinação da curva, e os LOQs do método foram



calculados usando dez vezes o desvio padrão das medidas em branco dividido pela inclinação da curva de calibração

### **5.2.3 - Análise por componentes principais (PCA)**

Análise exploratória utilizando PCA foi calculada para avaliar os resultados das concentrações obtidas pelo ICP OES considerando suas habilidades de diferenciar as amostras de acordo com o tipo de couro (ovino e bovino), tipo de curtimento (cromo ou tanino vegetal) e cor do couro.

A PCA foi calculada utilizando uma matriz de dados de 60 amostras (linhas) e a concentração média de cada analito, exceto Cd porque estava abaixo do LOD, (14 colunas) conforme determinado por ICP OES. O conjunto de dados foi autoescalado, neste caso, a média e o SD de cada analito foram calculados. Os valores originais foram subtraídos e divididos pela média e SD, respectivamente. As variáveis na matriz autoescalada têm média e SD de 0 e 1, respectivamente.

## **5.3 - Resultados e discussão**

### **5.3.1 - Determinação de Al, As, Ba, Ca, Cd, Cr total, Cu, Fe, Mg, Ni, Pb, Sb, Sr, Ti e Zn em couro por ICP OES**

A concentração (média  $\pm$  desvio padrão,  $n = 3$ ) dos elementos determinados nas amostras após a digestão são mostradas nas TABELAS 5.3.1.1 e 5.3.1.2 e suas faixas de concentrações foram em  $\text{mg kg}^{-1}$ : 94-1.011 para o Al; <LOD-13 para o As; <LOD-40 para o Ba; <LOD-3.348 para o Ca; <LOD para o Cd; 10-23.407 para o Cr total; <LOD-15 para o Cu, 32-831 para o Fe; <LOD-1.126 para o Mg, <LOD-5 para o Ni, <LOD-25 para o Pb, 31-318 para o Sb; <LOD-9 para o Sr, <LOD-6 para o Ti e <LOD-186 para o Zn.

TABELA 5.3.1.1 - Concentrações de referência (média ± desvio padrão, n= 3) para Al, Ca, Cr total, Fe, Mg, Ti e Zn em mg kg<sup>-1</sup> determinados por ICP OES. Amostras de 1 a 24 são couros de bovinos e amostras de 25 a 60 são couros de ovinos.

Amostra	Cr	Al	Fe	Mg	Ca	Ti	Zn
1	15670±237	100±4	831±20	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
2	15638±364	96±3	768±18	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
3	15757±269	98±3	730±13	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
4	15325±409	102±2	727±37	<LOQ	<LOQ	0,23±0,01	<LOQ
5	16419±435	94±4	207±15	<LOQ	310±5	<LOQ	44±1
6	16009±361	100±4	214±7	<LOQ	<LOQ	<LOQ	36±1
7	16354±241	95±5	190±7	<LOQ	<LOQ	<LOQ	72,0±0,2
8	16556±199	107±7	188±9	<LOQ	<LOQ	<LOQ	33±1
9	16232±312	108±5	188±8	<LOQ	<LOQ	<LOQ	31±1
10	16203±427	139±3	195±4	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
11	16193±471	112±5	166±4	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
12	16917±261	114±11	170±3	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
13	17104±272	94±1	191±4	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
14	16218±255	132±4	181±4	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
15	15972±362	747±33	41±2	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
16	15091±1001	923±38	32±0,5	<LOQ	<LOQ	<LOQ	5,6±0,5
17	16269±543	<LOQ	126±3	<LOQ	<LOQ	<LOQ	5,9±0,01
18	16081±401	<LOQ	114±2	<LOQ	<LOQ	<LOQ	7,3±0,5
19	20445±688	250±19	93±5	<LOQ	<LOQ	<LOQ	28±1
20	19642±439	214±11	96±1	<LOQ	<LOQ	<LOQ	28±1
21	17397±382	177±6	84±2	<LOQ	<LOQ	<LOQ	28±1
22	18433±189	209±7	128±10	<LOQ	<LOQ	<LOQ	29±0,5
23	17768±404	197±15	98±4	<LOQ	<LOQ	<LOQ	30±1
24	19994±260	206±14	107±8	<LOQ	<LOQ	<LOQ	28±1
25	17213±276	353±14	144±16	340±36	1710±78	0,33±0,01	19±0,5
26	16523±167	488±16	350±26	374±33	1910±52	<LOQ	10±0,7
27	10066±159	260±16	318±34	333±33	2098±26	0,80±0,05	22±0,8
28	10312±402	366±12	297±16	313±2	2022±65	1,2±0,07	11,0±0,3
29	14785±401	288±9	205±14	315±33	1638±759	0,5±0,1	11±1
30	9749±15	154±4	211±14	<LOQ	717±27	<LOQ	186±17
31	10050±237	210±5	226±2	107±0,5	1133±42	<LOQ	5,5±0,3
32	15063±295	689±8	211±22	169±13	1069±18	1,30±0,05	9±1
33*	285±23	430±26	370±14	499±54	1969±59	3,2±0,2	6,8±0,8
34*	19±2	515±13	182±11	588±72	2749±83	1,8±0,2	6±1
35*	241±2	478±3	312±21	340±7	1341±43	2,5±0,2	6,1±0,5
36*	10±3	685±16	138±12	539±27	1905±73	<LOQ	5±0,3
37*	199±5	1011±2	528±27	635±34	1595±41	6,0±0,6	4±0,3
38*	25±2	708±15	274±4	634±9	3348±78	2,9±0,2	12±1
39*	11±1	521±34	193±7	780±66	2823±50	2,30±0,05	20±2
40	9594±51	319±32	273±5	123±2	1088±16	0,5±0,1	5,6±0,2
41	8775±203	266±6	262±12	159±15	842±17	<LOQ	4,6±0,8
42	13160±275	331±8	194±17	138±10	912±30	<LOQ	6,3±0,3
43	10087±356	204±21	239±6	<LOQ	1007±17	<LOQ	11±1
44	14852±241	615±46	284±7	431±19	2018±31	0,6±0,1	10±2
45	16822±92	243±8	169±12	390±25	1720±87	<LOQ	4,3±0,2
46	9347±111	164±8	192±7	330±7	1526±69	<LOQ	4,7±0,2
47	16412±134	292±9	267±27	366±30	1909±99	<LOQ	5±2
48	15116±256	491±13	201±1	405±20	1927±61	0,75±0,07	3,8±0,3
49	9570±116	310±9	239±20	338±32	1881±25	<LOQ	6,2±0,3
50	20397±266	604±43	191±8	614±30	1213±62	1,700±0,002	<LOQ
51	19447±748	465±46	120±0,2	542±54	1287±37	0,49±0,01	<LOQ
52	17922±2011	516±21	126±2	531±69	1304±71	<LOQ	<LOQ
53	19635±484	561±21	177±6	578±55	1370±9	1±1	<LOQ
54	19651±155	488±40	168±4	500±50	1299±57	0,65±0,02	<LOQ
55	23407±503	488±40	123±6	564±30	1245±42	0,70±0,07	<LOQ
56	21353±474	446±43	137±1	1126±50	2331±88	1,10±0,04	<LOQ
57*	255±3	601±57	306±17	608±58	2486±87	2,8±0,2	6,4±0,7
58	9613±103	180±19	235±8	363±36	1887±75	<LOQ	4,1±0,5
59*	10±2	431±47	146±7	715±56	2900±47	1,4±0,1	5,70±0,02
60*	208±7	733±21	456±13	662±65	2550±66	3,8±0,1	<LOQ
LOD	0,009	0,1	0,2	0,1	35	0,0006	0,007
LOQ	0,03	0,4	0,6	0,4	116	0,002	0,02

\*couro curtido com taninos vegetais. <LOQ: abaixo do limite de quantificação. LOD: limite de detecção; LOQ: limite de quantificação.

TABELA 5.3.1.2 - Concentrações de referência (média ± desvio padrão, n= 3) para As, Cd, Cu, Ni, Pb, Sr, Sb e Ba em mg kg<sup>-1</sup> determinados por ICP OES. Amostras de 1 a 24 são couros de bovinos e amostras de 25 a 60 são couros de ovinos.

Amostra	As	Cd	Cu	Ni	Pb	Sr	Sb	Ba
1	7,6±0,2	<LOQ	1,00±0,02	<LOQ	<LOQ	<LOQ	138±3	6,3±0,6
2	7,2±0,1	<LOQ	0,90±0,05	<LOQ	<LOQ	<LOQ	133,0±0,4	4±1
3	7,4±0,3	<LOQ	0,78±0,02	<LOQ	<LOQ	<LOQ	134±3	<LOQ
4	7,1±0,2	<LOQ	0,91±0,05	<LOQ	<LOQ	<LOQ	129±2	<LOQ
5	7,8±0,1	<LOQ	0,48±0,02	<LOQ	<LOQ	<LOQ	137±1	<LOQ
6	7,5±0,1	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	137±2	<LOQ
7	7,6±0,1	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	139±2	<LOQ
8	7,4±0,1	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	140±1	18,0±0,4
9	7,2±0,2	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	138±2	15,0±0,2
10	6,9±0,1	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	135±1	<LOQ
11	7,2±0,3	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	137±1	<LOQ
12	7,3±0,2	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	138±1	12,0±0,3
13	7,2±0,2	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	136±1	18,0±0,7
14	7,1±0,1	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	135±1	<LOQ
15	7,1±0,1	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	131±1	4,1±0,2
16	6,9±0,2	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	132±1	<LOQ
17	7,2±0,1	<LOQ	0,54±0,05	1,5±0,1	<LOQ	<LOQ	134±4	39±2
18	7,0±0,1	<LOQ	0,54±0,05	1,4±0,1	<LOQ	<LOQ	134±1	29±2
19	8,6±0,2	<LOQ	0,7±0,1	<LOQ	<LOQ	<LOQ	158±3	<LOQ
20	8,7±0,3	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	155±3	<LOQ
21	8,50±0,03	<LOQ	2,3±0,4	<LOQ	<LOQ	<LOQ	151±1	<LOQ
22	8,2±0,2	<LOQ	0,63±0,05	<LOQ	21±1	<LOQ	148±3	<LOQ
23	7,7±0,4	<LOQ	<LOQ	<LOQ	25±1	<LOQ	140±3	<LOQ
24	8,7±0,2	<LOQ	<LOQ	<LOQ	21±1	<LOQ	157±2	<LOQ
25	7,4±0,4	<LOQ	4,6±0,1	<LOQ	<LOQ	<LOQ	139±1	7,0±0,7
26	7,3±0,1	<LOQ	4,7±0,2	<LOQ	<LOQ	<LOQ	140±1	5,8±0,7
27	4,5±0,1	<LOQ	4,1±0,1	<LOQ	<LOQ	4,1±0,3	100±1	3,4±0,2
28	4,9±0,2	<LOQ	9,4±0,2	<LOQ	<LOQ	4,5±0,5	103±1	<LOQ
29	6,8±0,3	<LOQ	3,4±0,1	<LOQ	<LOQ	<LOQ	129±3	13±1
30	8,5±0,6	<LOQ	1,6±0,1	<LOQ	<LOQ	<LOQ	156±5	<LOQ
31	4,60±0,03	<LOQ	2,4±0,2	<LOQ	<LOQ	<LOQ	98±2	<LOQ
32	6,8±0,2	<LOQ	2,6±0,1	<LOQ	<LOQ	<LOQ	130±1	7,2±0,2
33*	<LOQ	<LOQ	4,0±0,3	4,80±0,04	<LOQ	<LOQ	36±6	22±1
34*	<LOQ	<LOQ	4,6±0,1	<LOQ	<LOQ	5,40±0,07	32±1	10,0±0,4
35*	<LOQ	<LOQ	2,7±0,3	<LOQ	<LOQ	<LOQ	33,0±0,3	6,7±0,3
36*	<LOQ	<LOQ	4,6±0,1	<LOQ	<LOQ	<LOQ	31,0±0,3	7,5±0,4
37*	<LOQ	<LOQ	2,7±0,4	<LOQ	<LOQ	<LOQ	32,0±0,2	19±0,1
38*	<LOQ	<LOQ	15±1	<LOQ	<LOQ	9±1	31,0±0,2	17±1
39*	<LOQ	<LOQ	4,8±0,1	<LOQ	<LOQ	5,4±0,2	36±7	21±1
40	9,2±0,7	<LOQ	1,9±0,1	<LOQ	<LOQ	<LOQ	217±6	<LOQ
41	4,0±0,3	<LOQ	1,4±0,1	<LOQ	<LOQ	<LOQ	96±1	<LOQ
42	6,0±0,1	<LOQ	6,5±0,1	<LOQ	<LOQ	<LOQ	142±23	3,6±0,6
43	4,2±0,1	<LOQ	1,8±0,2	<LOQ	<LOQ	<LOQ	318±2	<LOQ
44	6,4±0,1	<LOQ	4,2±0,1	<LOQ	<LOQ	<LOQ	133±1	10±0,3
45	7,3±0,1	<LOQ	4,7±0,4	<LOQ	<LOQ	<LOQ	146±1	6,8±0,2
46	4,0±0,1	<LOQ	3,5±0,5	<LOQ	<LOQ	<LOQ	99±1	<LOQ
47	6,7±0,2	<LOQ	4,5±0,5	<LOQ	<LOQ	<LOQ	142±2	<LOQ
48	6,3±0,2	<LOQ	11,0±0,2	<LOQ	<LOQ	<LOQ	136±1	3,2±0,2
49	4,1±0,1	<LOQ	3,6±0,5	<LOQ	<LOQ	<LOQ	100,0±0,3	<LOQ
50	13±1	<LOQ	6,0±0,2	<LOQ	<LOQ	<LOQ	238±14	21±1
51	8,4±0,2	<LOQ	3,7±0,2	<LOQ	<LOQ	<LOQ	165±4	23±1
52	8,6±0,1	<LOQ	3,9±0,4	<LOQ	<LOQ	<LOQ	167±4	15±1
53	8,6±0,2	<LOQ	3,9±0,3	<LOQ	<LOQ	<LOQ	184±28	27±1
54	8,4±0,6	<LOQ	4,8±0,2	<LOQ	<LOQ	<LOQ	168±2	25±3
55	10±0,3	<LOQ	3,6±0,3	<LOQ	<LOQ	<LOQ	188±1	<LOQ
56	9,5±0,1	<LOQ	3,0±0,2	<LOQ	<LOQ	<LOQ	179±1	<LOQ
57*	<LOQ	<LOQ	4,9±0,1	<LOQ	<LOQ	5,6±0,4	33±1	12±1
58	4,4±0,2	<LOQ	3,9±0,1	<LOQ	<LOQ	<LOQ	114±17	<LOQ
59*	<LOQ	<LOQ	6,3±0,2	<LOQ	<LOQ	6,7±0,5	31±1	14±1
60*	<LOQ	<LOQ	5,2±0,3	<LOQ	<LOQ	6,4±0,4	32,0±0,4	14±3
LOD	0,003	0,0003	0,001	0,0003	0,008	0,009	0,003	0,005
LOQ	0,009	0,001	0,003	0,001	0,03	0,3	0,01	0,02

\*couro curtido com taninos vegetais. <LOQ: abaixo do limite de quantificação. LOD: limite de detecção;

LOQ: limite de quantificação.

Essas concentrações são comparáveis aos resultados obtidos por outros estudos dedicados à análise de couro que também utilizaram o ICP OES<sup>8-10</sup>, com exceção de As e Cd porque os valores estavam abaixo dos encontrados na literatura (<LOD-0,74 para As e <LOD-1,76 mg kg<sup>-1</sup> para Cd). As concentrações de Pb e Cd determinadas estão dentro dos limites estabelecidos pelas legislações<sup>119,120</sup>.

Os elementos determinados em maiores concentrações foram Al, Ca, Cr e Mg com concentrações máximas de 23.407 mg kg<sup>-1</sup> para Cr (amostra 55), 3.348 mg kg<sup>-1</sup> para Ca (amostra 38), 1.126 mg kg<sup>-1</sup> para Mg (amostra 56) e 1.011 mg kg<sup>-1</sup> para Al (amostra 37). O único elemento determinado abaixo do LOD para todas as amostras foi o Cd, enquanto os elementos Fe e Sb foram determinados em todas as amostras. O Fe foi determinado em uma concentração mínima de 32 (amostra 16) e o Sb de 31 mg kg<sup>-1</sup> (amostra 38).

Como esperado, as concentrações de Cr foram extremamente altas nas amostras de couro curtidas com sulfato de Cr (III), variando de 8.775 (amostra 41) a 23.407 mg kg<sup>-1</sup> (amostra 55); assim, cuidados especiais devem ser tomados com a disposição deste tipo de material no ambiente. Estratégias para um ambiente mais verde em direção ao desenvolvimento sustentável na indústria do couro têm sido aplicadas<sup>121</sup>, como a imobilização do íon Cr presente nas cinzas da incineração de aparas de couro curtidas com cromo por meio de materiais cerâmicos vitrificados<sup>122</sup>. Produção de sulfato básico de Cr usando o Cr recuperado das cinzas<sup>123</sup> ou a incorporação de resíduos de couro curtido com cromo na camada superficial do asfalto<sup>124</sup>.

A faixa de concentração de Cr no couro curtido com tanino vegetal (amostras marcadas com um asterisco nas TABELAS 5.3.1.1 e 5.3.1.2) foi de 10 a 285 mg kg<sup>-1</sup>, no entanto, essa concentração de Cr foi maior que a esperada para esse tipo de curtimento e pode estar relacionada à contaminação por máquinas e ferramentas empregadas no processo de curtimento.

Os resultados de Cr são comparáveis com aqueles obtidos por (Scheffler e Pozebon 2015)<sup>7</sup>, cuja concentração obtida foi na faixa de 100 mg kg<sup>-1</sup> (curtimento vegetal) a 30.000 mg kg<sup>-1</sup> (curtimento com Cr) usando ICP OES. Em outro estudo (ZHAO et al. 2015)<sup>13</sup>, a concentração de Cr variou de 36 a 34.246 mg kg<sup>-1</sup> para amostras de couro usando MIP OES como técnica analítica.

As TABELAS 5.3.1.1 e 5.3.1.2 também mostram que nos couros curtidos com tanino vegetal, as concentrações de Ti foram elevadas, enquanto que as

concentrações de As foram menores quando comparada às amostras curtidas com Cr.

As concentrações dos elementos diferiram entre couro bovino e ovino em alguns casos, por exemplo, as concentrações de Al, Mg, Ca, Ti e Cu foram maiores nos couros ovinos (amostras de 25-60) do que nos bovinos (amostras de 1-24), mas o Pb foi determinado apenas em amostras de couro bovino. A comparação de cada elemento no couro de diferentes estudos não é fácil, porque as concentrações variam significativamente devido aos diversos produtos utilizados no processo de curtimento, acabamento e tingimento. Além disso, várias fontes desses elementos podem ser encontradas em amostras de couro, como sais adicionados para o curtimento, como sulfatos de metais, corantes, pigmentos, água, pesticidas, fungicidas, alimentação dos animais em vida (bioacumulação), impurezas de produtos químicos industriais, entre outros<sup>8-10,114</sup>.

Além disso, as TABELAS 5.3.1.1 e 5.3.1.2 mostram que altas concentrações de elementos potencialmente perigosos, como As, Cr e Pb foram encontradas nos couros. Esses elementos são contaminantes tóxicos para a saúde humana e para o meio ambiente, portanto o manuseio, uso e descarte de couros devem ser feitos de maneira consciente. Arsênio foi determinado em uma concentração máxima de  $13 \text{ mg kg}^{-1}$  (amostra 50) enquanto para Pb foi de  $25 \text{ mg kg}^{-1}$  (amostra 23), pode-se destacar ainda que As foi determinado em todas as amostras de couro bovino com uma concentração mínima de  $6,8 \text{ mg kg}^{-1}$  (amostra 32).

Infelizmente, a ausência de uma legislação vigente específica para couros que imponha valores máximos para os teores totais de outros elementos além do Pb e Cd, limita o controle de qualidade desse tipo de matéria prima. Para melhorar a qualidade do couro produzido, normas ainda precisam ser estabelecidas. A determinação da concentração de elementos tóxicos em couros é necessária para o controle de qualidade do produto acabado, principalmente porque cada modalidade de curtimento proporciona maior concentração de metais tóxicos, dependendo do tipo de produto químico utilizado.

Testes de adição e recuperação do procedimento para determinação de Al, Ba, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, Mg, Ni, Pb, Sb, Sr, Ti e Zn em couros foram realizados, e os resultados estão apresentados na TABELA 5.3.1.3. As recuperações ficaram no intervalo de 74 a 100% para todos os elementos nas amostras. Estes resultados mostram que o método de referência desenvolvido utilizando ICP OES e

decomposição em HNO<sub>3</sub> e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em um bloco digestor com frascos fechados de PFA apresentou boa exatidão, como confirmado pelos valores de recuperação.

TABELA 5.3.1.3 - Recuperações (%) para a determinação dos analitos via ICP OES.

Elemento	Recuperação (%), n=3, Faixa (média, RSD (%))
Al	68-79 (74, 50)
Ba	95-95 (95,0,64)
Ca	92-97 (95, 1,0)
Cd	94-96 (95, 0,74)
Cr	89-99 (93, 7,4)
Cu	99-101 (100, 1,0)
Fe	87-95 (90, 5,4)
Mg	83-101 (91, 3,5)
Ni	93-98 (96, 2,3)
Pb	85-89 (87, 1,0)
Sb	85-87 (86, 1,1)
Sr	87-89 (88, 1,2)
Ti	93-100 (97, 1,1)
Zn	89-91 (90, 0,50)

### 5.3.2 - Avaliação da PCA para dados do ICP OES

Uma PCA foi calculada para o conjunto de dados de concentrações dos elementos por ICP OES e os dados foram autoescalados. A FIGURA 5.3.2.1 mostra os gráficos de escores (a, b e c) e pesos (d) para os dados do ICP OES para PC1 *versus* PC2, e ambos explicam uma variância total de 53%.

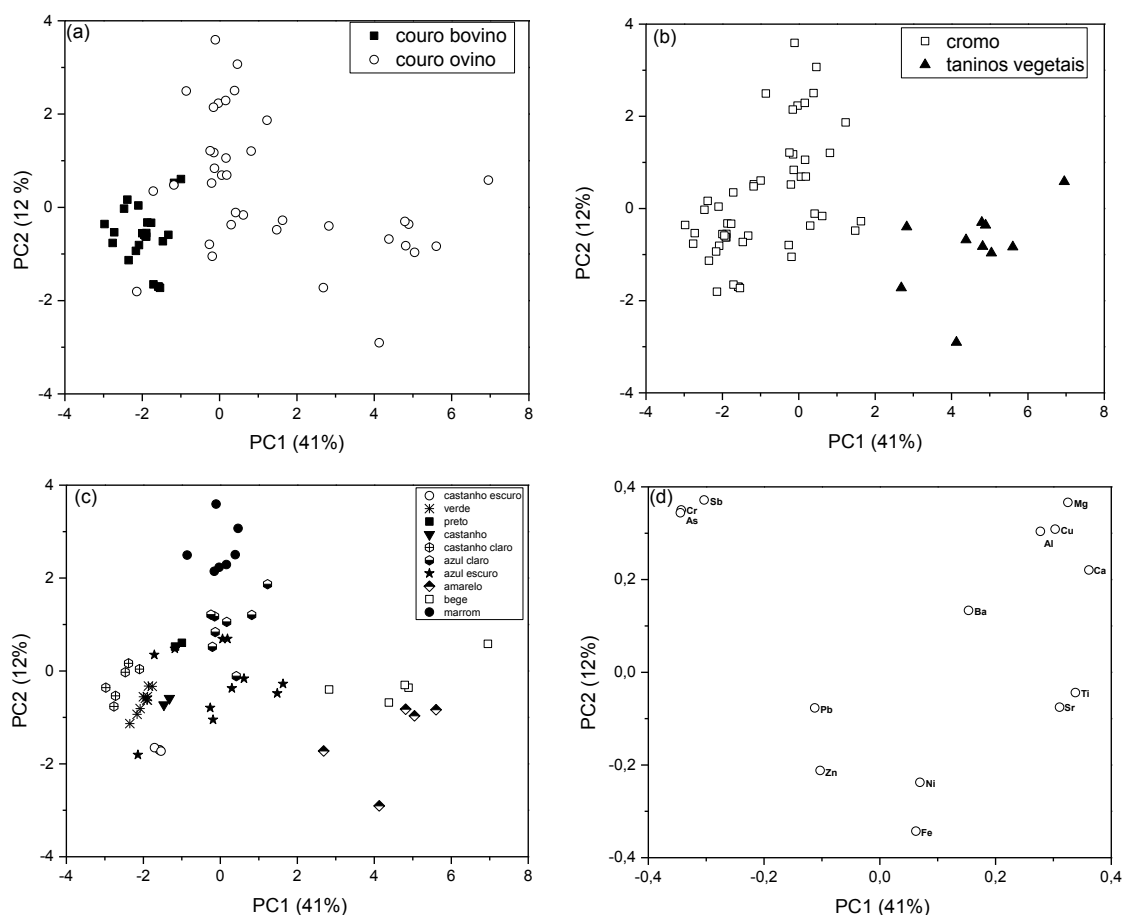


FIGURA 5.3.2.1 - Gráfico de escores para tipo de couro (a), tipo de curtimento (b), cor do couro (c) e gráfico de pesos (d) para conjunto de dados obtidos para determinação por ICP OES.

As FIGURAS 5.3.2.1 a, b e c mostram os escores com diferentes classes destacadas. Na FIGURA 5.3.2.1 a foi observada uma diferenciação entre os dois grupos de couro (bovino, quadrados e ovino, círculos), a PC1 discrimina couros de ovinos e bovinos com escores positivo e negativo, respectivamente. A FIGURA 5.3.2.1 b mostra que PC1 discrimina couro curtido com tanino vegetal (triângulos) com escores positivos e couro curtido com Cr (quadrados) com escores negativos.

A FIGURA 5.3.2.1 c mostra os mesmos resultados, mas com cada cor de couro em evidência. Uma diferença notável entre as cores não foi claramente perceptível, mas foi possível associar amostras de cor amarela (meio diamante) e bege (quadrados abertos) com Ti, Sr, Ni e Fe (ver os pesos na FIGURA 5.3.2.1 d). Couros marrons (círculos pretos) foram relacionados com os elementos As, Cr e Sb. As outras cores estão misturadas ou poucas amostras foram obtidas para cada uma delas. Infelizmente, informações sobre a composição dos corantes utilizados na fabricação do couro não estavam disponíveis, comprometendo uma avaliação

adequada entre a cor do corante adicionado ao couro e os elementos contidos nos mesmos.

A FIGURA 5.3.2.1 d mostra o gráfico de pesos das duas primeiras PCs para os analitos. A diferença entre o tipo de couro é devido ao couro de ovino (FIGURA 5.3.2.1 a) ter correlação com Fe, Ni, Sr, Ti, Ba, Al, Ca, Cu e Mg, enquanto o couro bovino tem correlação com Cr, Sb, As, Pb e Zn. Couros curtidos com Cr (FIGURA 5.3.2.1 b) foram associados ao Cr (conforme esperado), Sb, As, Pb e Zn e couros curtidos com tanino vegetal foram relacionados com Fe, Ni, Sr, Ti, Ba, Al, Ca, Cu e Mg.

## 5.4 - Conclusões

O método de referência desenvolvido usando ICP OES e decomposição com  $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$  em um bloco digestor com frascos fechados de PFA mostrou resultados exatos, como confirmado pelos testes de recuperação.

As concentrações dos elementos no couro variaram de acordo com o tipo de couro (ovino ou bovino), tipo de curtimento utilizado (Cr ou tanino vegetal) e o corante adicionado para colorir o couro, estas diferenças nas concentrações foram visualizadas claramente usando a PCA.

Os resultados das determinações foram de forma geral, os seguintes: 1) Elementos potencialmente tóxicos como As, Cr e Pb foram encontrados em elevadas concentrações nas amostras; 2) As concentrações de Pb e Cd estavam dentro dos limites de 90 e 40  $\text{mg kg}^{-1}$  estabelecidos pelas legislações; 3) Os quatro analitos encontrados em maior concentração nas amostras foram Al, Cr, Ca e Mg. Os elementos Fe e Sb foram encontrados em todas as amostras. 4) O único elemento que ficou abaixo do LOD em todas as amostras foi o Cd.

Os valores de concentrações obtidos foram usados como valores de referência para os modelos de calibração calculados para o WDXRF.



## **Capítulo 6**

---

# **Determinação de Cr em couro usando WDXRF**

## 6 - Determinação de Cr em couro usando WDXRF

### 6.1 - Introdução

A indústria de curtumes é um dos maiores poluidores ambientais devido a elevada geração de resíduos em todos os processos de produção, mas o curtimento é particularmente preocupante devido ao uso de quantidades significativas de cromo. O Cr é um elemento potencialmente tóxico tanto para a saúde como para o ambiente, dependendo da concentração e do estado de oxidação. O Cr (VI) pode entrar em contato com a pele humana ao utilizar artigos de couro, que podem causar alergias e dermatites, além de serem carcinogênicos. Considerando que aproximadamente 90% da produção mundial de couro é realizada com sais de Cr, a determinação desse elemento é necessária para evitar a exposição aos riscos que o mesmo pode proporcionar.

A indústria do couro é uma das principais fontes de liberação de Cr para o meio ambiente<sup>125</sup>. Estudos dedicados à determinação de Cr total em águas residuais de curtume<sup>126</sup>, solo poluído<sup>127</sup>, solos próximos à curtume<sup>128</sup>, solo e planta de área de curtimento de couro<sup>125</sup>, sangue e urina de trabalhadores de indústrias de couro<sup>129</sup> e couro<sup>13,39</sup> foram realizados e comprovaram concentrações alarmantes de Cr total de até 34.246 mg kg<sup>-1</sup> (couro curtido com Cr)<sup>13</sup>, portanto, procedimentos analíticos que são capazes de determinar elementos tóxicos com ênfase no Cr em couro são necessários, principalmente considerando os efeitos ambientais e toxicológicos do elemento.

XRF é uma técnica atraente e métodos de análise quantitativa requerem uma técnica de referência ou método consolidado, como ICP OES<sup>130-133</sup>, *inductively coupled plasma-mass spectrometry* (ICP-MS)<sup>131</sup> ou FAAS<sup>134</sup>, para desenvolver o método de calibração mais apropriado que pode ser univariado (único sinal) ou multivariado (vários sinais).

Alguns estudos na literatura demonstraram a viabilidade do uso da XRF como técnica para análise direta, sugerindo ser uma alternativa viável às técnicas que requerem digestão por via úmida para o preparo da amostra. Análise de diferentes amostras, como farinha de trigo<sup>135</sup> e vidro automotivo<sup>136</sup>, foram realizadas utilizando uma técnica referência para validação dos métodos.

O principal objetivo deste estudo foi avaliar e validar o uso do WDXRF como técnica candidata para análise direta, principalmente para a determinação de Cr

em couro, os modelos de calibração foram propostos levando em consideração o Erro Padrão de Validação (SEV). Outros analitos também foram investigados como Al, Ca, Fe, Ti e Zn. O couro também foi discriminado e classificado com base em sua composição química com uma abordagem quimiométrica baseada em espectros obtidos por WDXRF. Experimentos complementares também foram realizados por LIBS em uma análise exploratória qualitativa.

## **6.2 - Material e métodos**

### **6.2.1 - Amostras**

As mesmas 60 amostras avaliadas no estudo anterior e descritas no item 5.2.1 foram analisadas aqui. As amostras de couro foram cortadas em uma prensa hidráulica (Metalúrgica Aço real, P-23) com facas de corte (3,0 cm x 4,0 cm) antes da análise por LIBS e WDXRF.

### **6.2.2 - Análise e calibração usando WDXRF**

Todas as amostras foram diretamente analisadas utilizando um WDXRF Perform-X ARL (Thermo Fischer, Madison, WI, USA). As amostras foram irradiadas com raios X provenientes de um tubo Rh com um máximo de 4.200 W. Além disso, os raios X emitidos a partir das transições eletrônicas dos elementos presentes nas amostras são registrados pela seção óptica do equipamento, passando primeiro através de colimadores, e então eles são refletidos por cristais específicos. Finalmente, os detectores registram as contagens por segundo das linhas de emissão de raios X que correspondem a cada cristal utilizado. Existem 5 cristais que podem ser usados na dispersão do comprimento de onda, e a escolha é baseada em qual deles pode dispersar o comprimento de onda característico do elemento estudado. O instrumento também é equipado com 4 colimadores diferentes (0,15 mm, 0,40 mm, 1,00 mm e 2,60 mm) e 2 detectores: um contador proporcional de fluxo (FPC) e um contador de cintilação (SC). Para todos os elementos avaliados neste estudo, apenas a transição eletrônica,  $K\alpha$ , foi considerada.

Para construir modelos de calibração univariados, utilizou-se o Microsoft Excel para organização dos dados e o MATLAB versão 2017b (The Mathworks,

Natick, MA, EUA) foi utilizado para calcular a Relação Sinal/Ruído (SBR), sinais de área e altura para os espectros obtidos para Al, Ca, Cr, Fe, Ti e Zn. Estes elementos foram escolhidos com base nos resultados das concentrações obtidas anteriormente pelo ICP OES e considerando a sensibilidade do WDXRF.

As capacidades preditivas do WDXRF foram baseadas no SEV para todos os elementos testados e os valores mais baixos foram usados para selecionar os melhores modelos de regressão<sup>132</sup>. O conjunto de dados composto por 60 amostras foi dividido em 40 amostras para o cálculo de modelos de calibração e 20 amostras para validação. Estas amostras foram escolhidas aleatoriamente.

Os valores de SEV foram calculados de acordo com a Equação 2:

$$SEV = \sqrt{\frac{\sum(y_i - \hat{y}_i)^2}{n-1}} \quad (\text{Equação 2})$$

onde  $y_i$  é a concentração de referência determinada pelo ICP OES,  $\hat{y}_i$  é a concentração prevista do analito para a validação do conjunto de dados, e  $n$  é o número de amostras usadas no conjunto de dados de validação (20 neste caso)<sup>132</sup>.

O LOD e o LOQ para WDXRF foram calculados de acordo com as equações 3 e 4, respectivamente.

$$LOD = \frac{3 \times SD}{b} \quad (\text{Equação 3})$$

$$LOQ = \frac{10 \times SD}{b} \quad (\text{Equação 4})$$

onde SD é o desvio padrão global do sinal de fundo das imediações do sinal analítico e  $b$  é a inclinação da curva de calibração.

As concentrações determinadas após a digestão da amostra e determinações por ICP OES descritas nas TABELAS 5.3.1.1 e 5.3.1.2 foram usadas como valores de referência para calcular os modelos de calibração.

### 6.2.3 - Análises complementares usando LIBS

Uma análise complementar foi realizada utilizando a técnica LIBS para avaliar o perfil espectral dos couros estudados com uma abordagem qualitativa.

Experimentos usando LIBS foram conduzidos exatamente da mesma forma descrita no item 4.3.2.

#### **6.2.4 - Análise por componentes principais (PCA)**

A análise exploratória utilizando PCA foi calculada para avaliar as duas técnicas utilizadas neste estudo (LIBS e WDXRF) considerando sua capacidade de diferenciar as amostras de acordo com o tipo de couro (ovino e bovino), tipo de curtimento (Cr ou tanino vegetal) e cor do couro.

A primeira PCA foi calculada utilizando uma matriz de dados composta por 60 amostras (linhas) e 12.288 variáveis (colunas) obtidas a partir dos espectros do LIBS (linhas de emissão de 186 a 1.042 nm). O conjunto de dados foi normalizado pela área e centrados na média.

A segunda PCA foi calculada usando uma matriz de dados de 60 amostras (linhas) e 450 variáveis (colunas) obtidas por espectros do WDXRF, e o conjunto de dados foi apenas centrado na média. Pirouette versão 4.5 (Infometrix, Bothell, WA, EUA) foi usado para os cálculos de PCA.

### **6.3 - Resultados e discussão**

#### **6.3.1 - Análises no LIBS**

A FIGURA 6.3.1.1 mostra os espectros LIBS representativos obtidos para três couros: bovino e ovino curtido com Cr e ovino curtido com tanino vegetal. Os sinais mais intensos e suas correspondentes linhas de emissão estão listados na TABELA 6.3.1.1. Os três couros apresentaram Cr, C, Si, Mg, Al, Ca, Ti, Na, N, K, O e os espectros dessas amostras mostrados na FIGURA 6.3.1.1 foram semelhantes e, basicamente o único elemento que diferiu foi o Cr. No entanto, para a amostra curtida com Cr, foram detectadas 11 linhas de emissão muito intensas para Cr (267,71 (II), 357,86 (I), 359,34 (I), 360,53 (I), 425,43 (I), 427,48 (I), 428,97. (I), 464,61 (I), 465,21 (I), 520,60 (I), 520,84 (I)). No caso da amostra curtida com tanino vegetal, apenas um pequeno sinal para a linha de emissão do Cr em 302.15 (I) nm foi observado. Além disso, com a ajuda da TABELA 6.3.1.1, é possível ver a capacidade da LIBS de

apresentar dezenas de linhas de emissão em poucos minutos de análise, mesmo para elementos leves como Al e C.

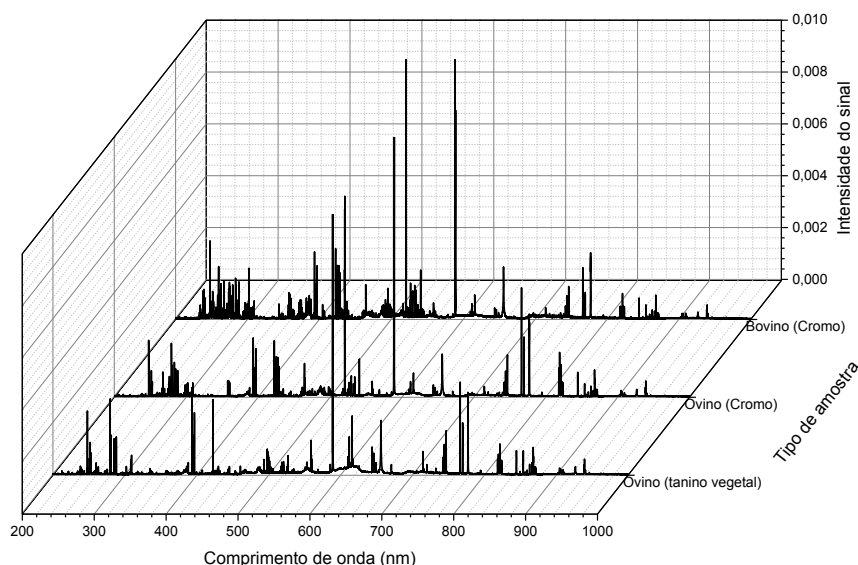


FIGURA 6.3.1.1 - Espectro típico obtido via LIPS para três amostras de couro (bovino e ovino curtido com cromo e ovino curtido com tanino vegetal).

TABELA 6.3.1.1 - Linhas de emissão presentes no espectro das amostras de couros analisadas por LIPS.

Elementos	Linhas de emissão (nm)
Cr	267,716 (II), 357,869 (I), 359,349 (I), 360,533 (I), 425,435 (I), 427,480 (I), 428,972 (I), 464,617 (I), 465,216 (I), 520,604 (I), 520,844 (I)
C	193,091 (I), 247,856 (I)
Si	250,690 (I), 251,920(I), 252,851 (I)
Mg	279,553 (II), 280,270(II), 285,213 (I)
Al	308,215 (I), 309,271 (I)
Ca	393,366 (II), 396,847 (II), 422,673 (I), 558,197 (I), 558,876 (I), 559,447 (I), 559,850 (I), 610,272 (I), 612,216 (I), 616,216 (I), 643,907 (I), 854,209 (II)
Ti	498,173 (I), 499,107 (I), 499,952 (I)
Na	588,995 (I), 589,593 (I), 819,483 (I)
N	742,368 (I), 744,230 (I), 746,831 (I), 818,483 (I), 818,802 (I), 821,630 (I), 822,312 (I), 824,235 (I)
K	766,490 (I), 769,896 (I)
O	777,421 (I), 844,639 (I)

I linhas atômicas; II linhas iônicas

A PCA calculada usando todas as linhas de emissão obtidas pela LIBS (FIGURA 6.3.1.2), não mostrou separações significativas entre tipo de couro, tipo de curtimento ou entre as cores. Nesse caso, uma nova PCA foi calculada usando apenas as 11 linhas de emissão para o Cr presentes nos espectros das amostras descritas anteriormente, mas a informação observada foi uma diferença esperada entre as amostras curtidas com Cr e tanino vegetal (ver FIGURA 6.3.1.3). Como conclusão preliminar, o uso da LIBS permitiu realizar uma inspeção química inicial das amostras sólidas com detecção de vários elementos químicos.

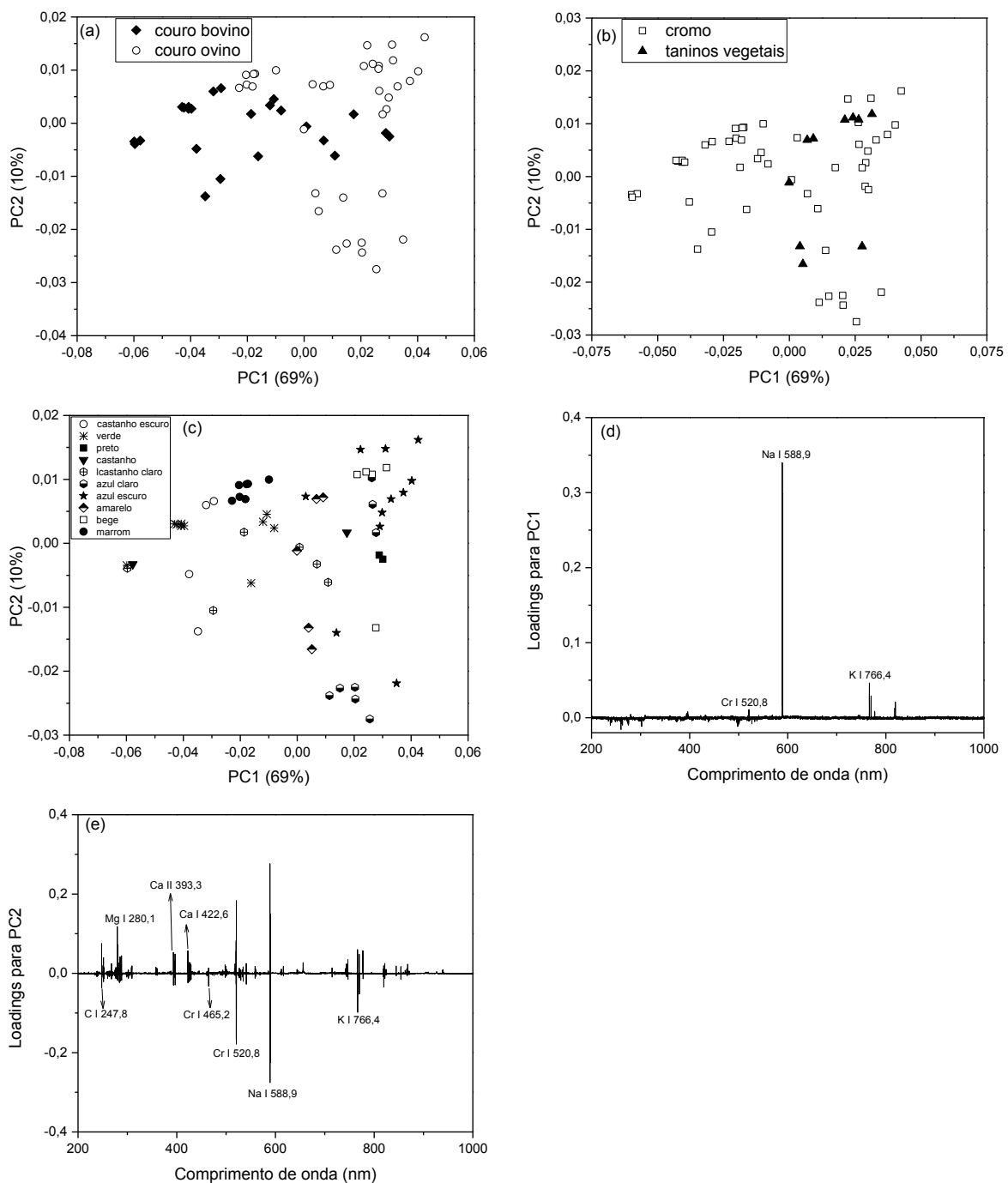


FIGURA 6.3.1.2 - Gráfico de escores para tipo de couro (a), tipo de curtimento (b), cor do couro (c) e gráfico de pesos para PC1 (d) e PC2 (e) para conjunto de dados (normalizados) obtidos por análise direta via LIBS.

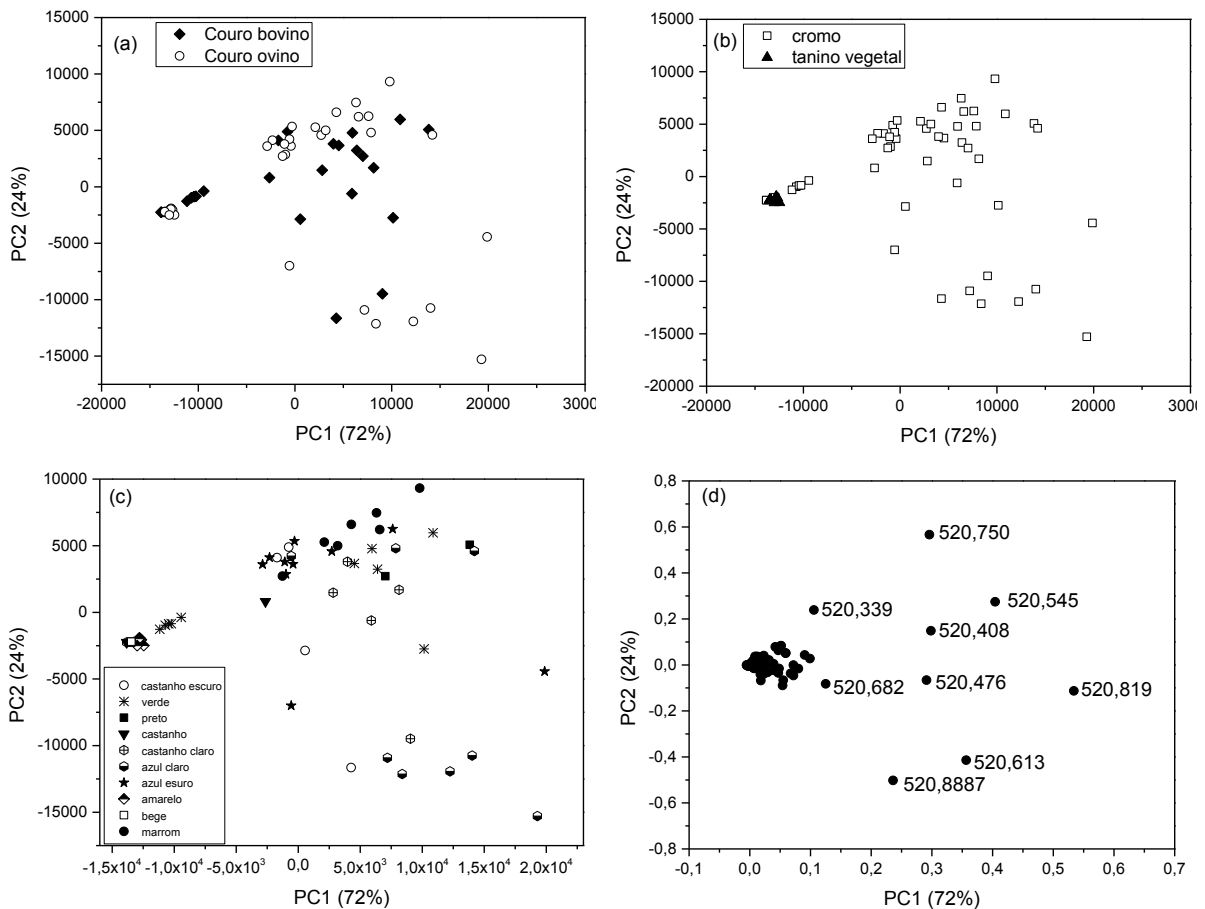


FIGURA 6.3.1.3 - Gráfico de escores para tipo de couro (a), tipo de curtimento (b), cor do couro (c) gráfico de pesos (d) para PC1XPC2 para conjunto de dados (média) obtidos via LIBS. A PCA foi calculada usando somente as 11 linhas de emissão para Cr.

### 6.3.2 - Análises no WDXRF

As amostras foram posicionadas em suportes específicos com uma abertura de 29 mm de diâmetro. Para todos os elementos avaliados, a transição eletrônica  $K\alpha_1$  e  $K\alpha_2$  foram consideradas das linhas mais sensíveis. Um colimador de 0,4 mm e um tempo de contagem de 1 s foram usados nos experimentos. Os analitos necessitaram de duas condições operacionais diferentes: 30 kV de tensão e 80 mA de corrente para Al, Ca, Mg, Na, S e Si e 50 kV e 55 mA para Cr, Fe, Ni, Zn e Ti.

A FIGURA 6.3.2.1 mostra comprimentos de onda de emissão de raios X para dez elementos presentes nos três espectros de couros avaliados: Zn, Fe, Cr, Ti,



Ca, S, Si, Al, Mg e Na. Como esperado, o espectro do WDXRF apresenta menos sinais que o do LIBS. Como há dois processos de curtimento, um com Cr e outro com tanino vegetal, as intensidades de sinal para esse elemento são diferentes em cada caso (terceiro sinal da esquerda para a direita na FIGURA 6.3.2.1). Além disso, o processo de curtimento com tanino vegetal é isento de Cr, assim, uma pequena intensidade de sinal para Cr foi observada para este processo. A emissão dos outros elementos avaliados variou de amostra para amostra devido à sua composição.

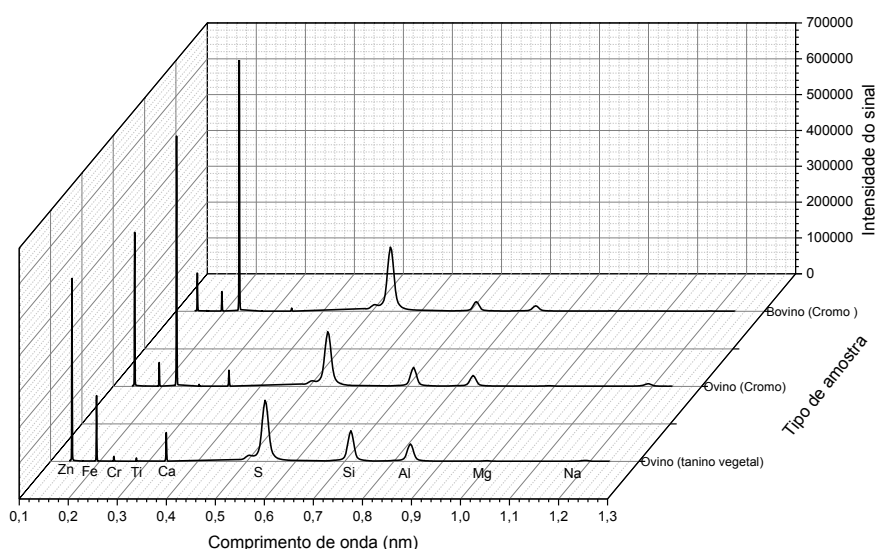


FIGURA 6.3.2.1 - Espectro típico obtido via WDXRF para três amostras de couro (bovino e ovino curtido com cromo e ovino curtido com tanino vegetal).

Calculou-se uma PCA para os dados do WDXRF e a FIGURA 6.3.2.2 mostra os gráficos de escores para PC1 *versus* PC2, separados por couro bovino e ovino (a), processo de curtimento com Cr e vegetal (b) e diferentes cores dos couros estudados (c), e gráfico de pesos para PC1 e PC2 (d e e). Como mostrado na FIGURA 6.3.2.2 a, couros bovinos e ovinos têm diferentes composições elementares e são agrupados principalmente pela presença de S e Si nas amostras (ver FIGURA 6.3.2.2 e), PC2 discrimina o couro bovino com escores negativos. Na FIGURA 6.3.2.2 b, o agrupamento é devido ao processo de curtimento, e o Cr com valores positivos em PC1 é o elemento responsável pelo agrupamento (ver FIGURA 6.3.2.2 d). Finalmente, na FIGURA 6.3.2.2 c, as amostras foram separadas por sua cor. Couros bege (quadrados abertos) e amarelos (meio diamante) foram associados a Zn, Fe, Ca, Si, Al e Na na FIGURA 6.3.2.2 d (valores negativos em PC1). Couros marrons (círculos

pretos) foram relacionados ao Cr (valores positivos na PC1). As outras cores são misturadas e não é possível observar um padrão claro.

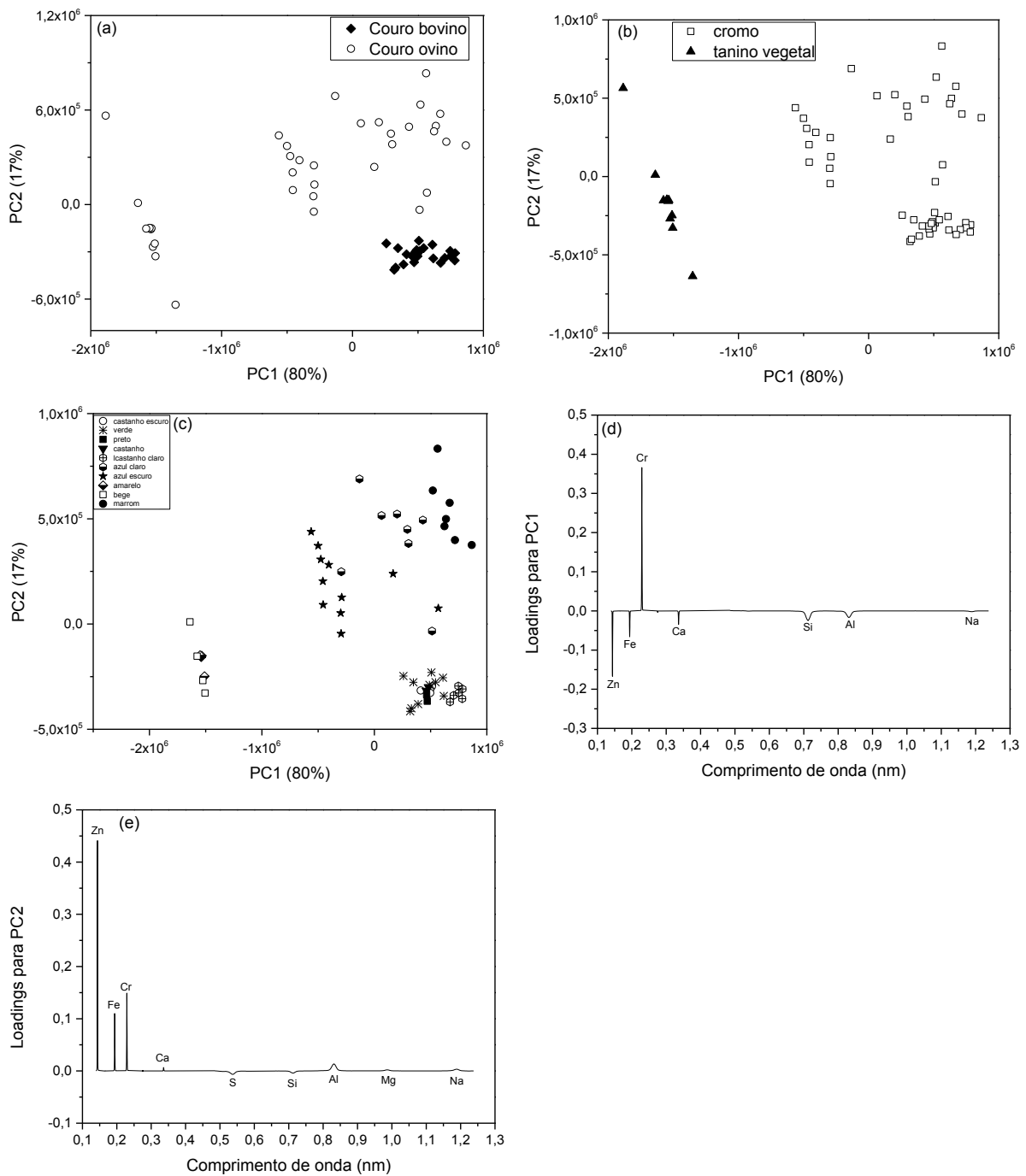


FIGURA 6.3.2.2 - Escores para tipo de couro (a), tipo de curtimento (b), cor do couro (c) e pesos para PC1 (d) e PC2 (e) para conjunto de dados obtidos por análise direta via WDXRF.

### **6.3.3 - Determinação de cromo total em couros usando WDXRF: Modelos de calibração univariada**

Curvas de calibração para Al, Ca, Cr, Fe, Ti e Zn usando espectros do WDXRF foram obtidas para 60 amostras (40 para calibração e 20 para validação). Para o cálculo dos modelos de calibração, SBR, sinais de áreas e alturas para cada analito foram gerados e associados aos valores de referência obtidos com o ICP OES.

Para avaliar a qualidade dos modelos propostos, os valores de SEV, R, LOQ e LOD foram calculados para os modelos de calibração univariada para cada analito mencionado. No entanto, a calibração que resultou em capacidades preditivas confiáveis, como coeficientes de correlação acima de 0,9 e valores baixos de SEV, foram apenas os modelos de calibração para Cr.

Assim, foram testadas algumas tentativas de melhorar os modelos de calibração para os demais analitos (Al, Ca, Fe, Ti e Zn), tais como:

a) separar as amostras em 4 grupos por tipo de couro (bovino e ovino) e por tipo de curtimento (Cr e taninos vegetais) e calcular um modelo de calibração para cada grupo;

b) cálculo do PLS pelo software Pirouette usando os sinais de área de todos os analitos juntos como uma matriz de dados e as concentrações de referência dos analitos obtidos pelo ICP OES como uma variável dependente (y); o mesmo foi realizado usando os sinais de alturas; e

c) normalizar os sinais de área e altura de cada analito pelos sinais de área e altura de Cr, Si, Zn, Fe e S (analitos com maior intensidade de sinal) para tentar minimizar a interferência.

No entanto, nenhuma dessas tentativas resultou em resultados positivos para construir um modelo de calibração satisfatório para os analitos descritos anteriormente. Assim, o método proposto mostrou-se bem-sucedido apenas para determinação de Cr nas amostras de couro utilizando WDXRF por análise direta.

As figuras de mérito para os melhores resultados (menor valor de SEV) para o modelo de calibração obtido para Cr são mostradas na TABELA 6.3.3.1 que incluem na primeira linha a equação para a curva de calibração (modelo linear univariado) quando as concentrações de Cr de referência obtidas por ICP OES e altura do sinal obtidos pelo WDXRF foram comparados, seguido pelo coeficiente de

correlação do modelo de calibração linear, que foi de 0,9991, erro padrão de calibração (SEC) de 1.279 mg kg<sup>-1</sup> e SEV de 628 mg kg<sup>-1</sup>.

TABELA 6.3.3.1 - Figuras de mérito para o modelo de calibração do WDXRF calculado para o cromo.

Curva de calibração (coeficientes ± desvio padrão)	[Cr]= (43,9 ± 1,0) x + (19.583 ± 14.600)
R	0,9901
Erro padrão de calibração - SEC (mg kg <sup>-1</sup> )	1.279
Erro padrão de validação (SEV) (mg kg <sup>-1</sup> )	628
Faixa de concentração de Cr (mg kg <sup>-1</sup> )	Não detectado (ND) – 21.638
Comprimento de onda (nm)	0,229
LOD (mg kg <sup>-1</sup> )	30
LOQ (mg kg <sup>-1</sup> )	100
Tipo de sinal	altura

A TABELA 6.3.3.1 também mostra que o intervalo de concentração de Cr para as 60 amostras de couro (quinta linha) variou de não detectado (ND) a 21.638 mg kg<sup>-1</sup>. Neste caso, ND significa valores abaixo do SEV. As concentrações de Cr nas amostras de couro curtidos com taninos vegetais estavam abaixo do valor de SEV de 628 mg kg<sup>-1</sup> (10-285 mg kg<sup>-1</sup> medido por ICP OES), dessa forma, não foi possível prever as concentrações de Cr dessas amostras, portanto, o método proposto pode ser utilizado somente para determinar a concentração de Cr em couros curtidos com Cr, que normalmente contém concentrações acima do SEV. Embora o valor do SEV seja alto, as concentrações de Cr nas amostras de couro são muitas vezes maiores, na ordem de porcentagem e não comprometem o procedimento desenvolvido.

Além disso, a altura foi o tipo de sinal que apresentou melhores resultados para os modelos de calibração quando comparado com a área do sinal. A TABELA 6.3.3.1 apresenta também valores de LOD (30 mg kg<sup>-1</sup>) e LOQ (100 mg kg<sup>-1</sup>) para as determinações por WDXRF. Em geral, o método desenvolvido apresentou

figuras de mérito apropriadas para os modelos de calibração univariada calculados para Cr.

A capacidade preditiva do modelo de calibração baseado no SEV foi apropriada para a determinação de Cr via WDXRF e pode ser avaliada pela FIGURA 6.3.3.1, que mostra uma correlação satisfatória para amostras usadas para calibração (círculo aberto) e validação (círculo preto). Esta figura mostra boa concordância entre as concentrações de Cr de referência obtidas por ICP OES *versus* a concentração de Cr predita via WDXRF.

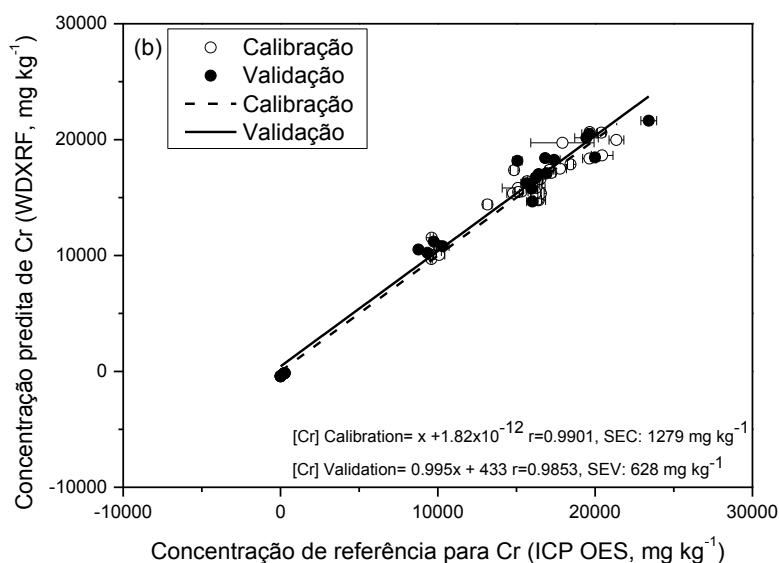


FIGURA 6.3.3.1 - Comparação entre concentrações de referência (ICP OES, média  $\pm$  desvio padrão,  $n = 3$ ) e concentrações preditas obtidas por WDXRF (média) para Cr em  $\text{mg kg}^{-1}$  para as amostras do conjunto de calibração e validação.

Além disso, a TABELA 6.3.3.2 mostra as concentrações de Cr determinadas usando ICP OES (referência) e WDXRF (método proposto) para couros de ovinos e bovinos. Os resultados comparativos com ICP mostram que foram obtidas boas previsões usando o método proposto para determinação de Cr nos 50 couros curtidos com Cr analisados que variaram de 9.690 (amostra 40) a 21.638 (amostra 55)  $\text{mg kg}^{-1}$ . Para a amostra 1, por exemplo, foi determinada uma concentração real de Cr de 15.670  $\text{mg kg}^{-1}$  e a concentração predita foi de 16.398  $\text{mg kg}^{-1}$  comprovando a boa predição do modelo de calibração.

Na primeira e quarta colunas da tabela são mostradas as amostras numeradas de 1 a 60 e do lado esquerdo são apresentados os resultados para as 40 amostras do conjunto de calibração e do lado direito os resultados para as 20 amostras do conjunto de validação. Na segunda e quinta colunas estão as

concentrações de Cr referência obtidos pelo ICP OES e na terceira e sexta colunas estão as concentrações de Cr previstas pelo modelo usando o WDXRF. As amostras marcadas com um asterisco (33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 57, 59 e 60) são as 10 amostras de couro curtidas com tanino vegetal que o modelo não foi capaz de prever as concentrações de Cr por estarem abaixo do SEV, sendo 7 amostras no conjunto de calibração (33, 36, 37, 38, 39 e 57) e 3 amostras no conjunto de validação (34, 35 e 59), nas quais as concentrações foram designadas com ND (não detectável).

TABELA 6.3.3.2 - Concentrações de Cr determinadas por ICP OES (referência, média  $\pm$  desvio padrão, n = 3) e WDXRF (método proposto, média) para couros de bovinos (amostras do 1 ao 24) e couros ovinos (amostras do 25 ao 60).

Amostras do conjunto de calibração	ICP OES (mg kg <sup>-1</sup> )	WDXRF (mg kg <sup>-1</sup> )	Amostras do conjunto de validação	ICP OES (mg kg <sup>-1</sup> )	WDXRF (mg kg <sup>-1</sup> )
1	15670 $\pm$ 237	16398	2	15638 $\pm$ 364	16221
3	15757 $\pm$ 269	16173	6	16009 $\pm$ 361	14663
4	15325 $\pm$ 409	15528	12	16917 $\pm$ 261	17086
5	16419 $\pm$ 435	14758	14	16218 $\pm$ 255	16712
7	16354 $\pm$ 241	14820	15	15972 $\pm$ 362	15769
8	16556 $\pm$ 199	15362	21	17397 $\pm$ 382	18256
9	16232 $\pm$ 312	15385	24	19994 $\pm$ 260	18458
10	16203 $\pm$ 427	16232	28	10312 $\pm$ 402	10794
11	16193 $\pm$ 471	16526	30	9749 $\pm$ 15	11195
13	17104 $\pm$ 272	17368	32	15063 $\pm$ 295	18168
16	15091 $\pm$ 1001	15826	34*	19 $\pm$ 2	ND
17	16269 $\pm$ 543	15846	35*	241 $\pm$ 2	ND
18	16081 $\pm$ 401	16079	41	8775 $\pm$ 203	10517
19	20445 $\pm$ 688	18632	45	16822 $\pm$ 92	18406
20	19642 $\pm$ 439	18368	46	9347 $\pm$ 111	10233
22	18433 $\pm$ 189	17867	47	16412 $\pm$ 134	17018
23	17768 $\pm$ 404	17485	51	19447 $\pm$ 748	20164
25	17213 $\pm$ 276	17129	53	19635 $\pm$ 484	20502
26	16523 $\pm$ 167	16592	55	23407 $\pm$ 503	21638
27	10066 $\pm$ 159	10368	59*	10 $\pm$ 2	ND
29	14785 $\pm$ 401	15362			
31	10050 $\pm$ 237	10836			
33*	285 $\pm$ 23	ND			
36*	10 $\pm$ 3	ND			
37*	199 $\pm$ 6	ND			
38*	25 $\pm$ 2	ND			
39*	11 $\pm$ 1	ND			
40	4594 $\pm$ 51	9690			
42	13160 $\pm$ 275	14395			
43	10087 $\pm$ 356	10044			
44	14852 $\pm$ 241	17360			
48	15116 $\pm$ 256	15475			
49	9570 $\pm$ 116	10059			
50	20397 $\pm$ 266	20598			
52	17922 $\pm$ 2011	19729			
54	19651 $\pm$ 155	20652			
56	21353 $\pm$ 474	19965			
57*	255 $\pm$ 3	ND			
58	9613 $\pm$ 103	11532			
60*	208 $\pm$ 7	ND			

ND: não detectado. \* couro curtido com tanino vegetal.

A maioria dos métodos de determinação utilizam equipamentos que necessitam de um tratamento de amostra rigoroso para transformá-la em um líquido homogêneo e representativo<sup>137</sup>.

Amostras sólidas necessitam de etapas complexas e demoradas durante o preparo. De forma geral é preciso homogeneizá-las através da diminuição do tamanho de partícula, com o uso de moinhos seguidos de homogeneizadores<sup>138</sup>. A quantificação do analito de interesse, em geral, requer mineralização ácida da amostra, um processo laborioso e que demanda cerca de 70 a 95 % do tempo necessário para o desenvolvimento do procedimento analítico, além disso, estão sujeitas a perdas do analito por volatilização e/ou contaminações e são de elevado custo, principalmente se ácidos ultra-puros forem usados<sup>137</sup>.

A etapa de preparo de amostra apresenta desafios, assim a possibilidade de realizar análises diretas de couros que dispensem ou minimizem esse processo é vantajoso e desejável. A técnica WDXRF apresenta estas características e se mostrou promissora para a determinação de Cr em couros curtidos com esse elemento.

## **6.4 - Conclusões**

Existem poucos estudos sobre a determinação quantitativa de Cr em couros por técnicas de análise direta. Este estudo propõe o uso do WDXRF para determinar Cr em couros. O método proposto mostrou-se rápido e eficaz para a determinação de Cr em couros curtidos com sulfato de cromo (III). No entanto, mais estudos precisam ser realizados para determinar outros analitos, como Al, Ca, Fe, Ti e Zn via WDXRF. Adicionalmente, é importante desenvolver mecanismos para reduzir o SEV para que seja possível a determinação de Cr em couros curtidos com taninos vegetais com menor concentração deste elemento.

A PCA calculada usando os dados espectrais obtidos pela LIBS não mostrou separações significativas entre os diferentes tipos de amostras, demonstrando que a técnica não foi capaz de correlacionar as amostras de forma clara como o ICP OES e o WDXRF.

A concentração total de Cr obtida pelo WDXRF foi comparada com um método de referência utilizando ICP OES e os resultados mostraram que o método proposto apresenta parâmetros satisfatórios e que a concentração máxima de Cr total foi um valor alto de 21.353 mg kg<sup>-1</sup>. O WDXRF é uma técnica atrativa, pois é não destrutiva, apresenta alta frequência analítica e realiza análises sem consumo de reagentes e geração de resíduos químicos.





## **Capítulo 7**

---

**Avaliação da composição  
química de couros sintéticos  
usando técnicas  
espectroscópicas**

## **7 - Avaliação da composição química de couros sintéticos usando técnicas espectroscópicas**

### **7.1 - Introdução**

O couro natural é obtido de peles de animais após passarem por processos físicos e químicos, é um material natural de alto custo que tem uma demanda limitada dependente da indústria de carne. O tamanho e o formato da peça de couro também são limitados e dependem da origem do animal. Além disso, a preocupação dos consumidores com os animais e o aumento da consciência ambiental levaram ao desenvolvimento de um material alternativo, denominado “couro sintético” ou artificial<sup>9,139–141</sup>.

O material sintético geralmente consiste em uma base têxtil (composta de um tecido), e um polímero é aplicado ao tecido sob a forma de pasta ou emulsão<sup>139</sup>. O polímero mais comumente usado é o poliuretano (PU)<sup>139,140</sup> mas o cloreto de vinila (PVC)<sup>142</sup> e o polipropileno também podem ser utilizados. O couro sintético possui aplicações na fabricação de calçados, roupas, bolsas, móveis, estofados, eletrodomésticos, acessórios eletrônicos, etc<sup>141,143</sup>.

Atualmente, o couro sintético foi melhorado e apresenta aparência e características físicas semelhantes às do couro animal<sup>143</sup>. Estudos demonstraram que as propriedades físicas dos couros sintéticos, como a porcentagem de alongamento e a resistência ao rasgamento, em alguns casos são ainda melhores do que o couro natural<sup>139</sup>. As vantagens dos couros sintéticos residem no fato de não apresentarem defeitos, como cicatrizes, arranhões de arame, marcas de fogo para identificação do animal, manchas, queimaduras, marcas causadas por insetos, entre outros, comuns nos couros naturais. O couro sintético tem tamanho padronizado e está disponível em forma de rolo, o que reduz o desperdício ao fazer cortes nas peças de couro e permite um maior planejamento da produção na indústria. Além disso, este material tem uma espessura padronizada e cor uniforme, e geralmente apresenta custo inferior ao do couro animal<sup>144</sup>; no entanto, tem a desvantagem da baixa permeabilidade ao vapor de água<sup>139,144</sup>.

Conforme foi visto nas sessões anteriores vários estudos já foram realizados para a determinação de elementos em couros animais. Estes estudos mostraram que a análise de couro natural está sendo realizada por vários grupos de pesquisa e envolve diferentes métodos e técnicas analíticas. No entanto, ao pesquisar

na literatura sobre análise de couro/material sintético ou artificial, poucos estudos foram encontrados.

Os estudos que podem ser destacados são: CHEN et al.<sup>140</sup> avaliaram qualitativamente couros sintéticos de microfibras e PU usando FTIR, *scanning electron microscopy* (SEM) e difração de raios X. ASLAN et al.<sup>9</sup> usaram ICP OES para determinar Al, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb e Zn em couro sintético e também em couros naturais. SANO et al.<sup>142</sup> avaliaram qualitativamente amostras de couro sintético usando SEM com um *energy dispersive X-ray spectrometry* (EDX), micro-FTIR e microespectrofotometria, e as concentrações de elementos inorgânicos foram avaliadas por micro-XRF. WU et al.<sup>145</sup> utilizaram lasers para criar micro-furos em couro sintético de PU com o objetivo de melhorar a permeabilidade ao vapor de água.

É evidente a falta de estudos sobre couro sintético, fato que mostra a necessidade de avaliar esse tipo de material. Assim, um dos objetivos dessa tese foi determinar a concentração de elementos em couros sintéticos utilizando ICP OES e avaliar o uso das técnicas de análise direta LIBS e WDXRF na avaliação qualitativa desse material. A PCA foi uma ferramenta usada em conjunto com as três técnicas para auxiliar na interpretação de dados.

## **7.2 - Material e métodos**

### **7.2.1 - Amostras**

Um conjunto de 9 amostras diferentes de couro sintético foram adquiridas em mercados locais no Brasil e no Paraguai, e o custo unitário variou de R\$ 5,00 a R\$ 20,00. Imagens das amostras usadas nos experimentos são mostradas na FIGURA 7.2.1.1. As amostras compreendem quatro cintos (amostra 1: preto, amostra 2: marrom, amostra 3: bege e amostra 4: branco), três carteiras (amostra 5: preta, amostra 6: marrom e amostra 7: bege), uma capa de telefone celular (amostra 8: preto) e uma bolsa (amostra 9: preto).



Amostra 1



Amostra 2



Amostra 3



Amostra 4



Amostra 5



Amostra 6



Amostra 7



Amostra 8



Amostra 9

FIGURA 7.2.1.1 - Imagens das nove amostras de couro sintético usadas na parte experimental: 1-4 são cintos, 5-7 são carteiras, 8 é uma capa de celular e 9 é uma bolsa.

As superfícies das amostras foram limpas, cortadas em pedaços menores e materiais como papelão, papel, adesivos, bordados e espuma foram removidos antes de todas as análises. As amostras foram cortadas com dimensões de aproximadamente 2,0 cm x 3,0 cm para as determinações no LIBS e WDXRF. Para determinações no ICP OES, as amostras foram cortadas com uma faca de cerâmica em dimensões aproximadas de 0,5 cm x 0,5 cm antes do preparo da amostra.

## 7.2.2 - ICP OES

As mesmas condições instrumentais do ICP OES e de preparo de amostra empregados no item 5.2.2 foram empregados nas análises dos couros sintéticos. As soluções padrão dos elementos foram preparadas por diluições de padrões de 1000 mg L<sup>-1</sup> de Al, As, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Pb, Sb, Sr, Ti e Zn (Suíça, Buchs SG, Fluka Analytical, Qhemis).

Para o preparo de amostra, os couros sintéticos foram cortados em pequenos pedaços (0,5 cm x 0,5 cm) e aproximadamente 0,200 g da amostra foi pesado e utilizado para análise química. Imagens de amostras antes da digestão e análise no ICP OES podem ser vistas na FIGURA 7.2.2.1.

A figura mostra inicialmente as imagens dos 4 cintos, e é possível visualizar após cortar o cinto, que existe o couro sintético nas extremidades, ou seja, na frente e no verso, contudo, no meio do cinto há um material de sustentação composto por uma mistura de diversos compostos e por isso, tentou-se retirar e separar o couro sintético do material de sustentação. Nos casos, que foi possível separar o couro sintético do material de sustentação como para as amostras 1, 5, 6, 7, 8 e 9 somente o couro sintético foi digerido durante o preparo de amostra. Contudo, para as amostras 2, 3 e 4 não foi possível fazer essa separação do couro sintético dos demais materiais que compunham a amostra, e nesses casos, a amostra foi totalmente digerida.

1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			





FIGURA 7.2.2.1 - Imagens das amostras de couros sintéticos usadas antes do preparo de amostra para posterior análise por ICP OES.

As curvas de calibração para todos os 17 elementos avaliados variaram da seguinte forma: 0,005 a 2 mg kg<sup>-1</sup> para As, Cd, Co, Cu, Mn, Ni, Sr e Ti; 0,005 a 5 mg kg<sup>-1</sup> para Pb, Sb e Zn; 1 a 10 mg kg<sup>-1</sup> para Al e Fe e 0,1 a 50 mg kg<sup>-1</sup> para Ba, Ca, Cr e Mg.

Devido à elevada concentração de Ca, Cr e Mg em algumas amostras, foi necessário realizar uma diluição adicional de quatro vezes para Cr (amostras 2-7) e Mg (amostras 1, 8 e 9) e uma diluição de quinze vezes para Ca (amostras 1-4, 8 e 9).

As nove amostras foram digeridas com e sem adição de padrões para avaliar a exatidão do procedimento analítico. As seguintes concentrações dos padrões

foram adicionadas, 1,5 mg kg<sup>-1</sup> de Al, Ba, Fe, Pb, Sb e Zn; 0,5 mg kg<sup>-1</sup> de As, Cd, Co, Cu, Mn, Ni, Sr e Ti; 10 mg kg<sup>-1</sup> de Mg e 70 mg kg<sup>-1</sup> de Cr e Ca. A análise de cada uma das 9 amostras foi realizada em seis réplicas autênticas, uma triplicata com e uma triplicata sem a adição de padrão.

### 7.2.3 - LIBS

As amostras investigadas foram diretamente fixadas na câmara de ablação utilizando fita adesiva dupla face, e os pulsos de laser foram coletados em ambos os lados de cada amostra, conforme descrito no item 4.3.2. Imagens das amostras na câmara de ablação do LIBS são mostradas na FIGURA 7.2.3.1.






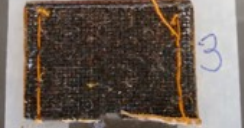












Amostra	Frente da amostra	Verso da amostra
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		



FIGURA 7.2.3.1 - Imagens das amostras de couros sintéticos usadas após os experimentos no LIBS. É possível ver o efeito do laser (linha reta) na superfície das amostras.

#### **7.2.4 - WDXRF**

As análises por WDXRF foram realizadas exatamente como descrito no item 6.2.2. Os espectros foram obtidos utilizando-se 50 kV de tensão, 50 mA de corrente, 2 s de tempo de aquisição de sinal e um colimador de 0,4 mm para obtenção de sinais de Al, As, Ba, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, Mg, Na, Ni, Pb, S, Sb, Si Ti e Zn.

### **7.3 - Resultados e discussão**

#### **7.3.1 - Avaliação da composição química de couros sintéticos por ICP OES**

Nove couros sintéticos foram analisados por ICP OES, e as concentrações de 17 elementos são relatadas na TABELA 7.3.1.1. O Ca foi o elemento determinado com as maiores concentrações, que variaram de  $770 \pm 24$  (amostra 7) a  $112.233 \pm 4.151 \text{ mg kg}^{-1}$  (amostra 8). Cr e Mg também apresentaram concentrações elevadas em todas as amostras, variando de  $13 \pm 1$  (amostra 9) a  $24.732 \pm 433 \text{ mg kg}^{-1}$  (amostra 5) e  $165 \pm 2$  (amostra 7) a  $18.834 \pm 777 \text{ mg kg}^{-1}$  (amostra 1), respectivamente.

TABELA 7.3.1.1 - Concentrações determinadas dos elementos em mg kg<sup>-1</sup> (média ± SD, n=3) em couros sintéticos por ICP OES.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	LOD	LOQ
Al	211±7	1019±106	813±178	1607±197	242±15	238±50	147±8	884±105	471±17	0,03	0,1
As	<LOD	22,0±0,4	32±1	27,0±0,2	35,0±0,4	21,0±0,1	17,0±0,1	121±6	<LOD	0,03	0,1
Ba	163±6	28±2	14,0±0,3	4606±210	<LOD	57±1	13,0±0,5	566±48	2423±52	0,003	0,009
Ca	49420±1986	37023±1292	20982±3695	26245±775	884±31	1574±40	770±24	112233±4151	55619±738	0,09	0,3
Cd	4,5±0,2	4,4±0,1	4,1±0,2	4,9±0,1	4,3±0,1	4,1±1	4,1±0,1	27±1	5,4±0,1	0,003	0,01
Co	2,7±0,1	2,7±0,1	2,4±0,2	<LOD	3,6±0,2	3,9±0,1	1,6±0,1	<LOD	<LOD	0,003	0,01
Cr	54±1	15082±393	20288±793	19465±110	24732±433	14092±139	11606±228	25±3	13±1	0,009	0,03
Cu	24±1	39±2	22±4	18,0±0,4	<LOD	3,2±0,3	163±2	38±8	17±0,7	0,005	0,02
Fe	426±20	1015±81	824±6	891±182	145±7	311±15	130±9	486±63	563±78	0,01	0,04
Mg	18834±777	1378±27	1002±8	538±15	231±6	648±26	165±2	8936±182	12798±291	0,008	0,03
Mn	27±1	9,4±0,8	4,6±0,4	20±2	<LOD	<LOD	<LOD	19±0,7	2,0±0,3	0,002	0,007
Ni	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,008	0,03
Pb	273±13	153±20	365±4	233±17	2,8±0,2	4,6±0,2	39±1	2484±160	78±2	0,002	0,006
Sb	22±1	77±2	94±4	98,0±0,1	111±2	64,0±0,4	53±1	262±27	22±1	0,003	0,01
Sr	87±3	22±1	15±7	104±4	<LOD	<LOD	<LOD	84±3	61±1	0,01	0,04
Ti	<LOD	23±5	<LOD	48±16	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	7±2	0,007	0,02
Zn	528±18	16±1	41±1	126±2	2,1±0,7	<LOD	3±1	253±10	491±7	0,002	0,007

LOD: limite de detecção; LOQ: limite de quantificação; <LOQ: abaixo do limite de quantificação

Alguns analitos estavam presentes em concentrações intermediárias nas amostras como segue: Ba: <LOD -  $4.606 \pm 210$ ; Pb:  $2,8 \pm 0,2$  -  $2.484 \pm 160$ ; Al:  $147 \pm 8$  -  $1.607 \pm 197$ ; Fe:  $130 \pm 9$  -  $1.015 \pm 81$ ; Zn: <LOD -  $528 \pm 18$ ; e Sb:  $22 \pm 1$  -  $262 \pm 27$  mg kg<sup>-1</sup>. No entanto, os seguintes analitos apresentaram as menores concentrações nas amostras de couro sintético: Cu: <LOD -  $163 \pm 2$ ; As: <LOD -  $121 \pm 6$ ; Sr: <LOD -  $104 \pm 4$ ; Ti: <LOD -  $48 \pm 16$ ; Cd:  $4,1 \pm 0,2$  -  $27 \pm 1$ ; Mn: <LOD -  $27 \pm 1$ , Co: <LOD -  $3,9 \pm 0,1$  mg kg<sup>-1</sup> e Ni estava em níveis de concentração inferiores ao LOD em todas as amostras. Estes valores de concentração foram significativamente diferentes de uma amostra para outra, o que revelou a enorme diferença na composição química entre os couros sintéticos.

Os elementos Al, Cd, Fe, Pb e Sb foram determinados em todas as amostras com concentrações mínimas de 147 mg kg<sup>-1</sup>, 4,1 mg kg<sup>-1</sup>, 130 mg kg<sup>-1</sup>, 2,8 mg kg<sup>-1</sup> e 22 mg kg<sup>-1</sup> respectivamente. As concentrações de Cd encontradas estão dentro dos limites estabelecidos pelas legislações<sup>119,120</sup>, contudo as concentrações de Pb ficaram acima do limite estabelecido (90 mg kg<sup>-1</sup>) nas amostras 1, 2, 3, 4 e 8. A amostra 8 foi a que apresentou maior concentração de Pb (2.484 mg kg<sup>-1</sup>) e está mais de 27 vezes acima da concentração de Pb limite para couro sintético.

Os resultados para Co, Cr, Cu, Ni e Zn são comparáveis a outro estudo anteriormente realizado por Aslan e Uzum,<sup>9</sup> que analisaram dez couros artificiais de estofados de diferentes cores de fabricantes de móveis de couro usando ICP OES; entretanto, as concentrações relatadas pelos autores para Al ( $4,73 \pm 4,25$ ), Cd (<LOD) e Pb (<LOD) foram diferentes, ficando abaixo das observadas neste estudo. Essas diferenças entre os dados são esperadas porque a composição das amostras depende das características dos processos industriais. Esses processos estão relacionados aos materiais utilizados na produção como tecido, tipo de polímero (PU, PVC, entre outros) e corantes, alterando a composição química das amostras avaliadas em cada estudo.

A TABELA 7.3.1.1 também apresenta diferenças na composição das amostras considerando as cores, por exemplo, a amostra 4, um couro branco apresentou maior concentração de Al, Ba e Ti do que as outras amostras. Além disso, três amostras pretas (1, 8 e 9) contêm alto teor de Ca e Zn.

A TABELA 7.3.1.1 mostra que elementos tóxicos foram encontrados nos couros sintéticos em concentrações máximas (em mg kg<sup>-1</sup>) de  $121 \pm 6$  para As (amostra 8),  $2.484 \pm 160$  para Pb (amostra 8) e  $24.732 \pm 433$  para Cr (amostra 5). As,

Cr e Pb são elementos prejudiciais à saúde humana e ao meio ambiente. Essas concentrações são elevadas e causam preocupação com a manipulação e uso de objetos fabricados com couro sintético, principalmente os presentes neste estudo devido ao baixo custo e facilidade de acesso. Estes elementos tóxicos podem ser adicionados aos couros sintéticos nas etapas de produção e vários podem ser encontrados em produtos químicos, corantes, equipamentos, entre outros.

Padrões foram adicionados a todos os couros antes do preparo de amostra para avaliar a exatidão do procedimento. A recuperação variou de 75 a 109% para todos os 17 elementos, como observado na TABELA 7.3.1.2. Além disso, os valores de RSD variaram de 0,38% (Ni) a 9,3% (Fe), demonstrando a boa precisão dos resultados obtidos. Este procedimento foi realizado porque um material certificado para couro comercial não estava disponível.

TABELA 7.3.1.2 - Valores de recuperações e RSD (% , n = 3) calculados para os analitos determinados por ICP OES.

Elemento	Recuperação (%)	RSD (%)
Al	75	2,4
As	84	2,7
Ba	101	0,76
Ca	109	7,3
Cd	99	0,45
Co	100	1,3
Cr	95	1,8
Cu	101	4,2
Fe	102	9,3
Mg	98	1,3
Mn	101	0,68
Ni	98	0,38
Pb	85	2,6
Sb	97	2,7
Sr	101	1,7
Ti	101	1,3
Zn	99	0,93

### 7.3.2 - PCA de couros sintéticos com dados do ICP OES

A PCA foi realizada para as três técnicas avaliadas neste estudo (ICP OES, LIBS e WDXRF) para verificar as habilidades de cada uma em distinguir ou agrupar as amostras de acordo com seu perfil químico. O software usado para calcular os dados da PCA foi o Pirouette versão 4.5 (Infometrix).

A PCA foi utilizada para análise exploratória e reduziu a dimensionalidade dos dados, o que permitiu que amostras semelhantes fossem encontradas em aglomerados próximos e amostras diferentes fossem separadas umas das outras.<sup>146</sup> O gráfico de pesos é uma ferramenta importante usada em associação com o gráfico de escores que mostra os elementos ou variáveis responsáveis pelo agrupamento ou separação no gráfico de scores.<sup>146</sup> No caso do ICP OES, a PCA foi aplicada ao conjunto de dados das concentrações de 16 elementos (exceto o Ni porque estava abaixo do LOD) em nove couros sintéticos. As linhas da matriz são representadas por nove amostras e as colunas correspondem às concentrações dos elementos químicos (matriz 9:16). Os dados foram autoescalados.

Os resultados da PCA são apresentados na FIGURA 7.3.2.1. As três primeiras componentes explicaram 83% da variância total. A primeira componente principal (PC1) representou 40%, a PC2 representou 23% e a PC3, 20%.

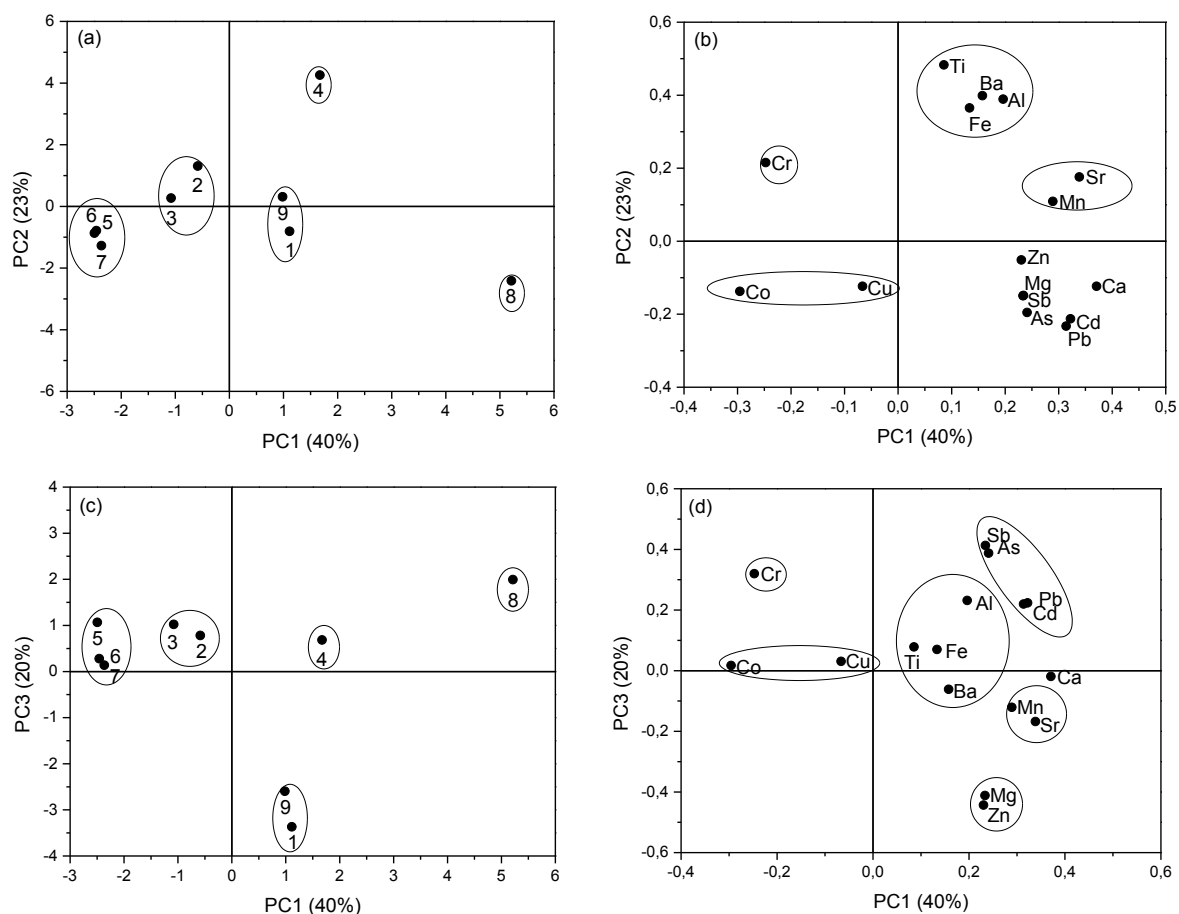


FIGURA 7.3.2.1 - Gráfico de escores (a) e gráfico de pesos (b) para PC1 versus PC2; e gráfico de escores (c) e gráfico de pesos (d) para PC2 versus PC3 referentes ao conjunto de dados obtidos por ICP OES.

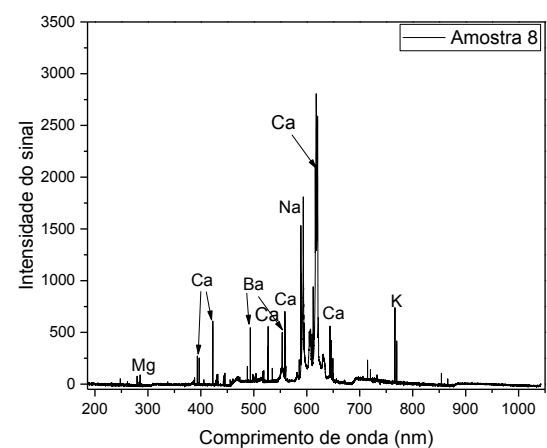
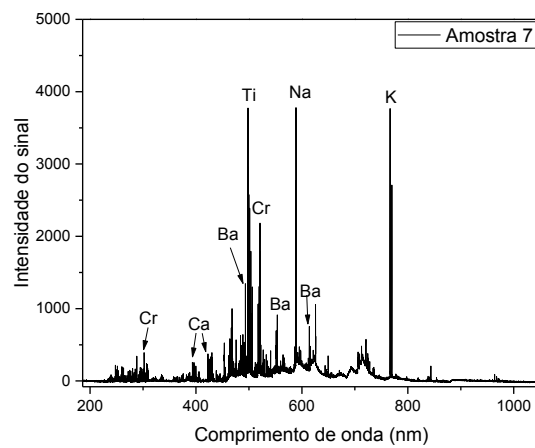
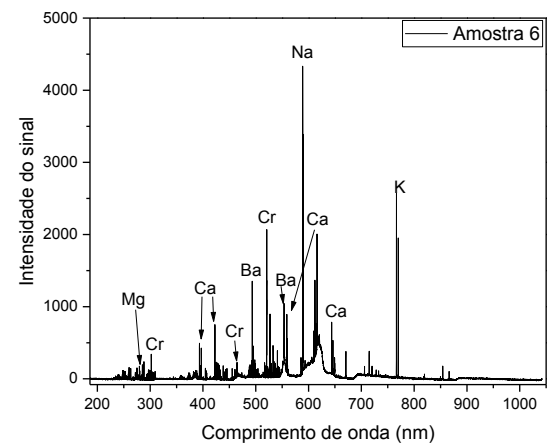
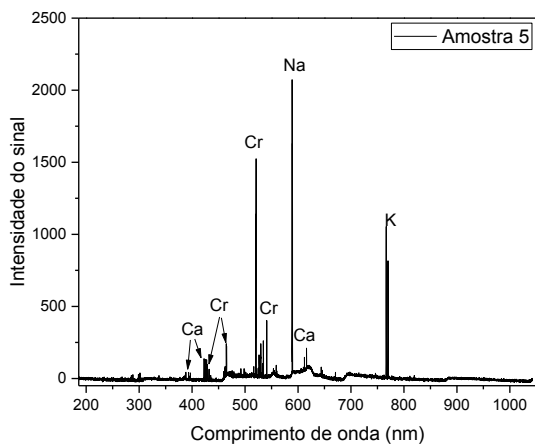
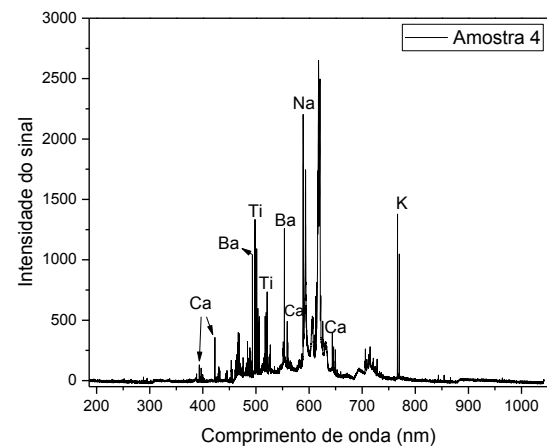
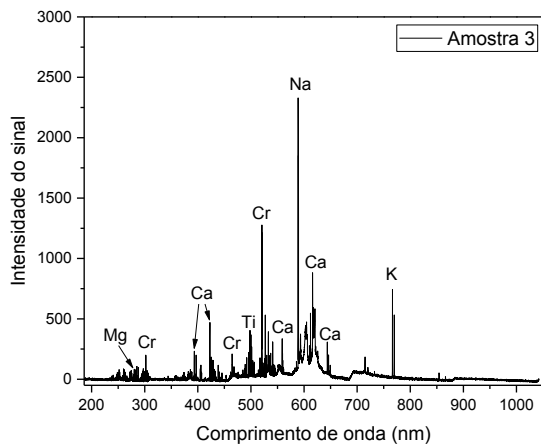
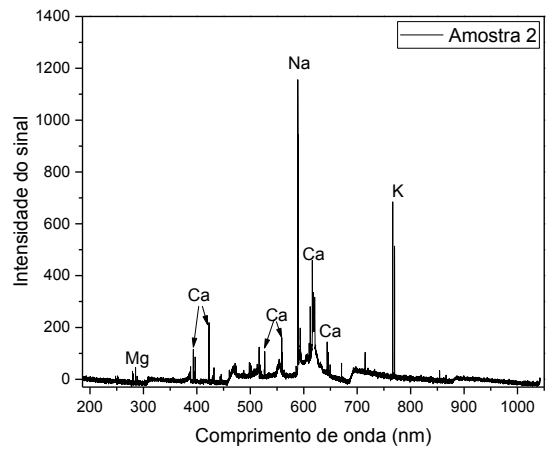
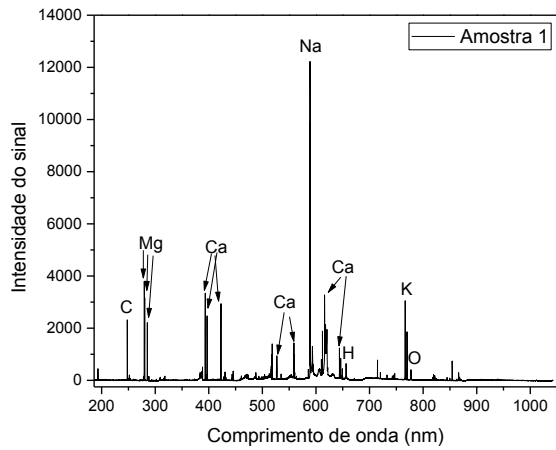
Os gráficos de escores e pesos para PC1 *versus* PC2 são mostrados na FIGURA 7.3.2.1 a-b e para PC1 *versus* PC3 na FIGURA 7.3.2.1 c-d. Neste caso, a PCA foi aplicada para uma análise exploratória para avaliar as amostras, visualizar semelhanças no gráfico de escores e identificar os analitos responsáveis por possíveis discriminações no gráfico de pesos.

O gráfico de escores na FIGURA 7.3.2.1 a e c mostra a similaridade entre os perfis químicos das amostras 1 e 9, 2 e 3 e entre as amostras 5, 6 e 7. Em comparação com as outras amostras, as amostras 4 e 8 exibiram diferentes perfis químicos. Embora as amostras de couro sintético sejam muito diferentes umas das outras, especialmente no interior da amostra (ver FIGURA 7.2.2.1), é observada uma correlação entre as amostras pretas (amostra 1: cinto e amostra 9: bolsa), entre dois cintos marrons (amostras 2 e 3) e entre as três carteiras (amostras 5, 6 e 7).

Os gráficos de pesos nas FIGURA 7.3.2.1 b e d indicam os elementos responsáveis pelos agrupamentos das amostras de couro sintético no gráfico de escores. A amostra 1 está associada às concentrações de Mg e Zn. A amostra 9 está associada a Mn e Sr. As amostras 2 e 3 são separadas essencialmente pelas concentrações de Cr, que são surpreendentemente altas e não encontramos uma explicação adequada para esta observação. A amostra 4 (cinto branco) é separada por Ti, Ba, Al e Fe. As amostras 5, 6 e 7 (carteiras) estão fortemente associadas às concentrações de Co e Cu, e a amostra 8 (capa de celular) está associada a Sb, As, Pb, Cd e Ca, confirmando as altas concentrações dos analitos citados nas amostras.

### **7.3.3 - Espectros LIBS de couros sintéticos**

Espectros representativos das 9 amostras de couro sintético obtidos no LIBS são apresentados na FIGURA 7.3.3.1, e elementos como Ba, O, C, Cr, Ti, Mg, Ca e Na estão presentes em diferentes intensidades de emissão. Ambos os lados das amostras apresentaram perfil de sinal semelhante e nas análises posteriores foram utilizados apenas os espectros obtidos no lado frontal.



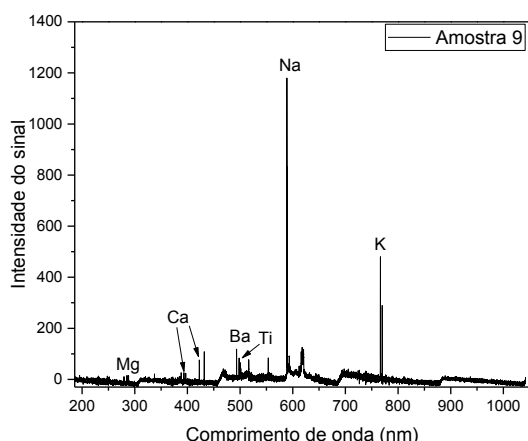


FIGURA 7.3.3.1 – Espectros LIBS para couros sintéticos (amostras 1-9) com as principais linhas de emissão identificadas.

Os espectros das amostras 1 a 9 demonstram a variabilidade nos perfis químicos dos couros sintéticos estudados, e cada amostra possui uma composição elementar particular com diferenças de intensidades de emissão. Os elementos Ca, Na e K estão presentes em todas as amostras avaliadas, enquanto Mg, Cr, Ti e Ba estão presentes na maioria das amostras. Os elementos C, H e O aparecem apenas na amostra 1.

#### 7.3.4 - PCA de couros sintéticos com dados do LIBS

Na análise exploratória do conjunto de dados do LIBS, a PCA foi calculada utilizando o perfil espectral total (12.288 linhas de emissão, de 186 a 1.042 nm) e os picos responsáveis pela separação das classes do couro sintético foram identificados e associados aos compostos presentes nas amostras. O pré-processamento do conjunto de dados foi normalizado pela norma e centrado na média. A matriz de dados calculada (9 x 12.288) corresponde às nove amostras de couro sintético nas linhas e as linhas de emissão nas colunas.

A PCA dos conjuntos de dados do LIBS foi aplicada ao espectro médio de 100 pulsos de laser de cada um dos nove couros sintéticos. Os espectros das amostras foram avaliados com o objetivo de obter uma impressão digital global, e os resultados dos escores e pesos da PCA para PC1 *versus* PC2 são mostrados na FIGURA 7.3.4.1. PC1 e PC2 ambos têm uma variância total de 72%, sendo 52 % para PC1 e 20% para PC2.

As amostras foram caracterizadas essencialmente por PC1 e PC2 no gráfico de escores (FIGURA 7.3.4.1 a) e classificadas em três grupos distintos: um da



amostra 7, um das amostras 4 e 8 e um terceiro agrupamento com as demais amostras. Todas as outras amostras (1, 2, 3, 5, 6 e 9) formaram um único grupo misturado caracterizado principalmente por valores negativos em PC1 e PC2.

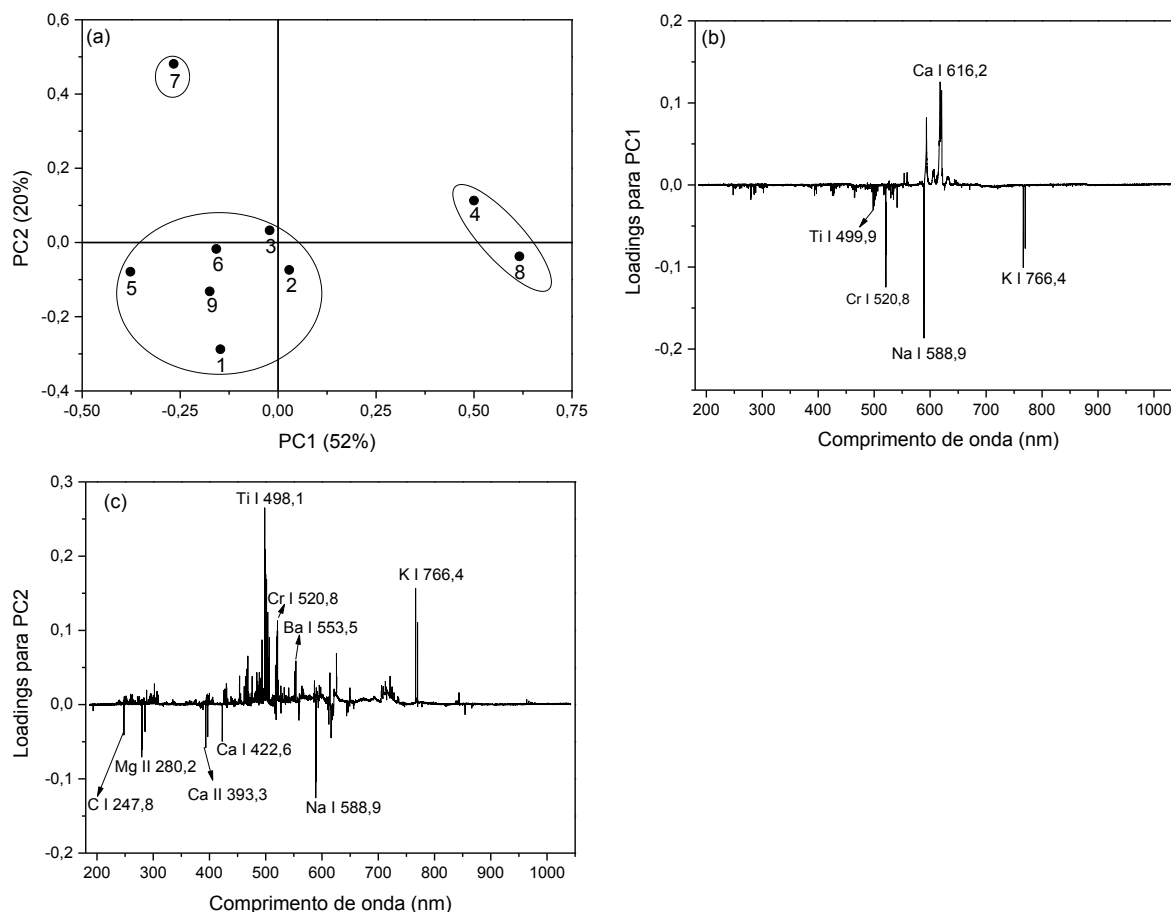


FIGURA 7.3.4.1 - Gráfico de escores para PC1 *versus* PC2 (a); e gráfico de pesos para PC1 (b) e PC2 (c) referentes ao conjunto de dados obtidos por LIBS.

Na FIGURA 7.3.4.1 a, a PC1 discrimina os espectros do LIBS das amostras 4 e 8 com escores positivos, enquanto PC2 discrimina os espectros da amostra 7 com escores positivos e amostras 1, 2, 3, 5, 6 e 9 com escores negativos.

Os gráficos de pesos são mostrados na FIGURA 7.3.4.1 b (pesos para PC1) e 7.3.4.1 c (pesos para PC2). Os pesos para PC1 mostram que as linhas de emissão de Ca I e Na I estão positivamente correlacionadas, enquanto as linhas de emissão de Ti I, Cr I, Na I e K I estão negativamente correlacionadas. As amostras 4 e 8 provavelmente têm perfis químicos similares que correspondem aos valores positivos para Ca e Na no gráfico de pesos (FIGURA 7.3.4.1 b).

A FIGURA 7.3.4.1 c mostra que as linhas de emissão de Ti I, Cr I, Ba I e K I estão positivamente correlacionadas e as linhas para C I, Mg II, Ca II, Ca I e Na I

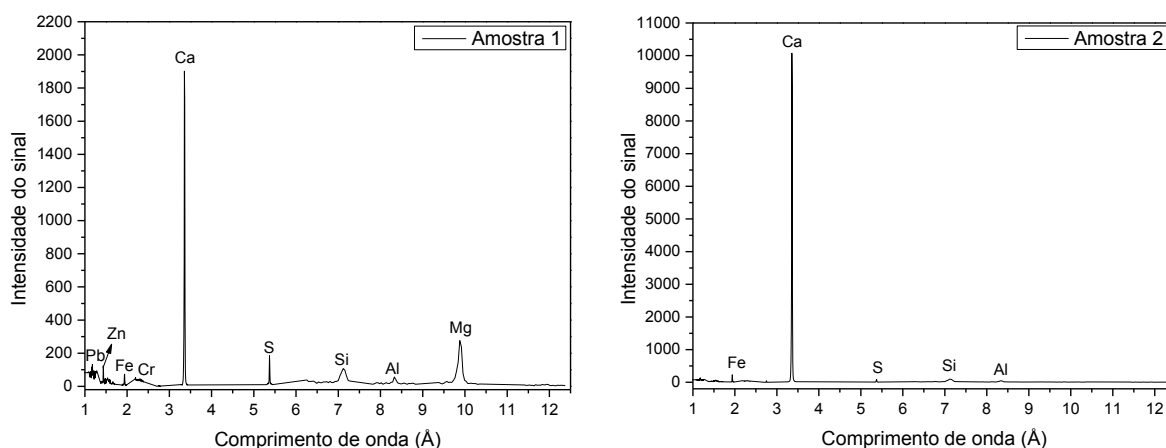
estão negativamente correlacionadas nos pesos da PC2. A amostra 7 tem possivelmente um perfil químico diferente das outras amostras e juntamente com a amostra 4 foi caracterizada pelos valores positivos em PC2 que correspondem a Ti I, Cr I, Ba I e K I. As amostras 1, 2, 3, 5, 6 e 9 foram caracterizadas pelos valores negativos em PC2 que correspondem a Cl, Mg II, Ca II, Ca I e Na I.

Ao comparar a PCA obtida pelo LIBS (FIGURA 7.3.4.1) e a PCA obtida pelo ICP OES (FIGURA 7.3.2.1), ambos apresentam comportamentos semelhantes no gráfico dos escores. Por exemplo, na FIGURA 7.3.4.1 a, as amostras 1 e 9; 2 e 3; 5 e 6 estão próximas umas das outras, como mostrado na FIGURA 7.3.2.1; no entanto, essas amostras estão mais próximas no gráfico. Além disso, a amostra 7 foi a única que apresentou diferença devido ao fato de não estar próxima das amostras 5 e 6, como mostra a FIGURA 7.3.2.1.

Apesar de haver uma tendência de comportamento semelhante nos agrupamentos e nas distinções das amostras quando comparamos a PCA para os dados do LIBS e do ICP OES, a FIGURA 7.3.4.1 mostra que os agrupamentos estão muito misturados, com isso percebe-se que os espectros do LIBS não conseguiram correlacionar, identificar ou agrupar as amostras de forma tão clara quanto o ICP OES. Isso é um indicativo de que por exemplo, seria difícil realizar futuras análises quantitativas com o LIBS da forma como os espectros foram obtidos.

### 7.3.5 - Espectros WDXRF de couros sintéticos

A FIGURA 7.3.5.1 mostra os espectros WDXRF das amostras de couro sintético. Os picos correspondentes a Pb, Zn, Fe, Cr, Ca, S, Si, Al, Ti, Cu, Na e Mg estão presentes nos espectros dessas amostras.



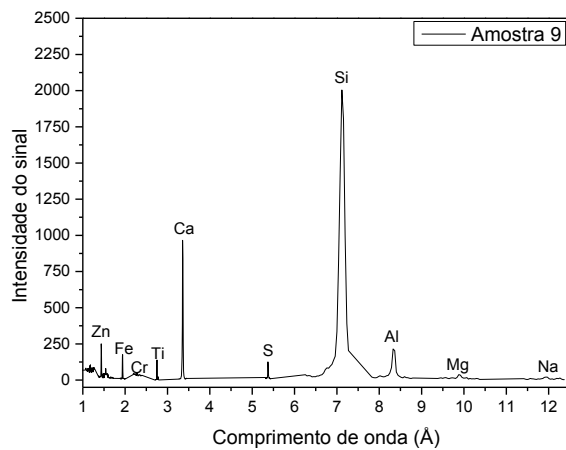
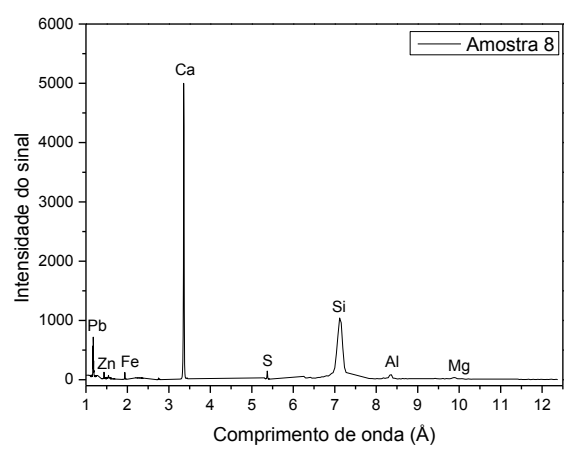
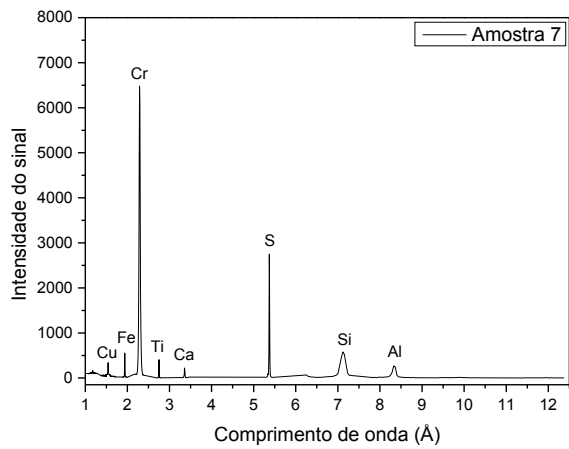
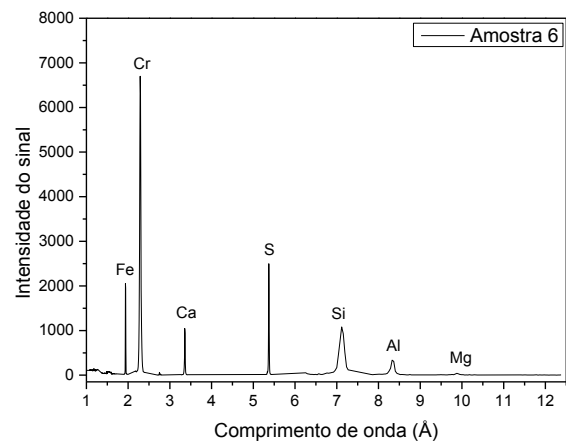
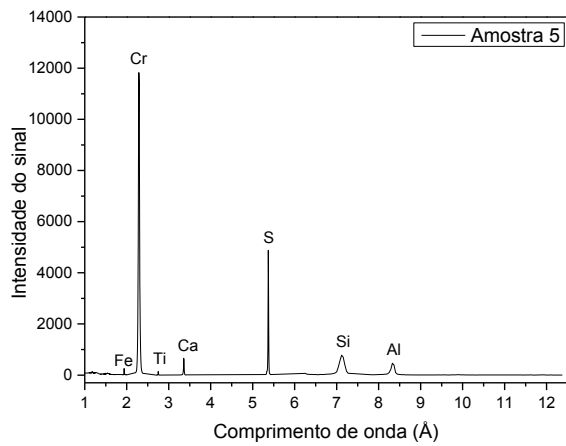
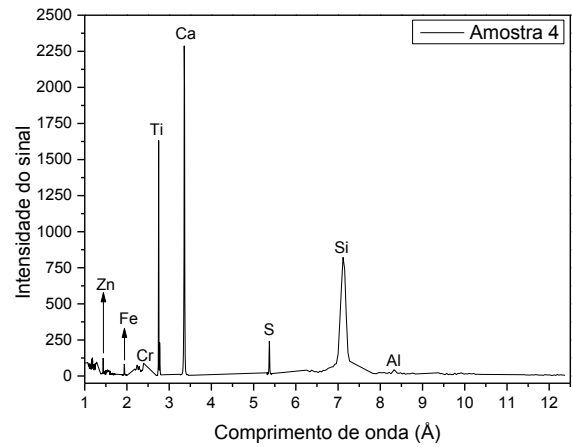
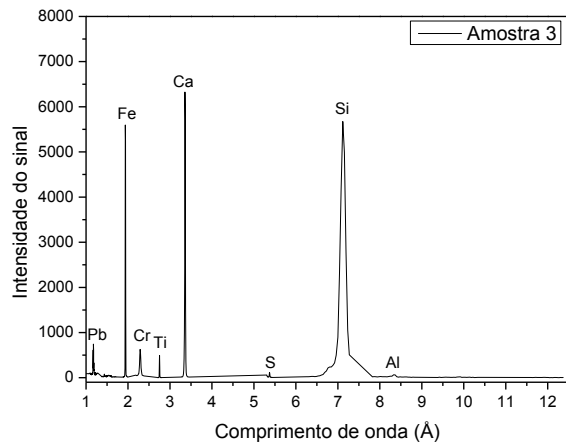


FIGURA 7.3.5.1 - Espectros WDXRF para os couros sintéticos (amostras 1-9).

A composição elementar das amostras varia de uma para a outra, e os espectros mostram que apenas a amostra 7 apresenta Cu, e apenas a amostra 9 apresenta Na. Além disso, algumas amostras apresentam Mg, Cr, Zn e Pb, mas todas apresentam Al, S, Si, Ca e Fe.

### **7.3.6 - PCA de couros sintéticos com dados do WDXRF**

Os espectros das amostras de couro sintético obtidas pelo WDXRF também foram investigados, e a PCA do conjunto de dados foi calculada. A matriz de dados (9 x 459) corresponde a 9 amostras de couro sintético (linhas) e 459 comprimentos de onda (colunas). O conjunto de dados foi centrado na média antes do cálculo. A composição elementar das amostras relacionadas com os espectros de fluorescência do XRF foi utilizada para obter uma impressão digital dos couros sintéticos.

A FIGURA 7.3.6.1 a mostra os gráficos de escores para PC1 *versus* PC2 obtidos para os espectros e ambas explicam a variância total de 88%. As amostras foram separadas em três grupos e as correlações entre as amostras 2 e 3, entre 5, 6 e 7 e entre as amostras 1, 4, 8 e 9 foram observadas.

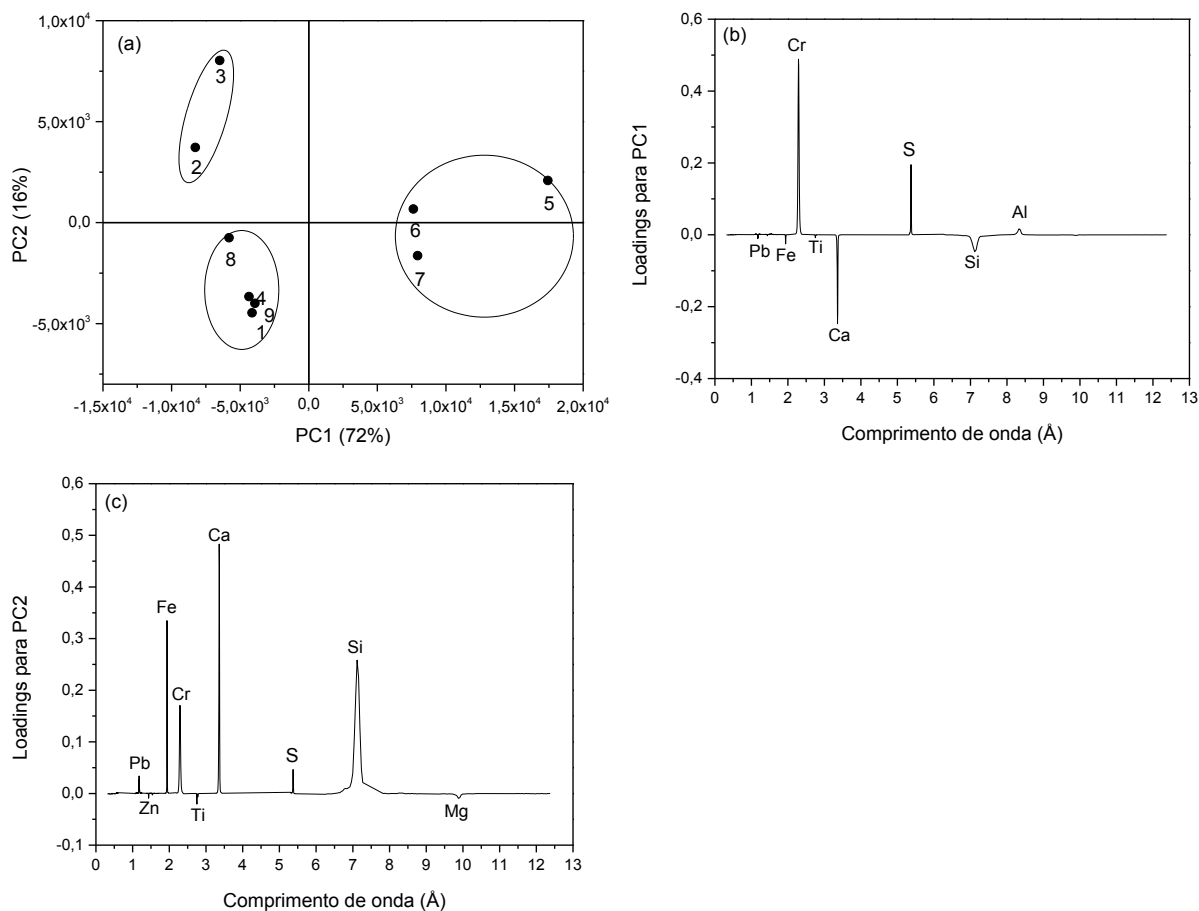


FIGURA 7.3.6.1 - Gráfico de escores para PC1 *versus* PC2 (a); e gráfico de pesos para PC1 (b) e PC2 (c) referentes ao conjunto de dados obtidos por WDXRF.

A PC1 discrimina o espectro WDXRF das amostras 5-7 com escores positivos e das amostras 1-4, 8 e 9 com escores negativos. Este resultado indica que as amostras 5, 6 e 7 são semelhantes e diferem da composição química das demais amostras.

As FIGURAS 7.3.6.1 b e c, mostram o gráfico de pesos para as duas primeiras PCs. O gráfico de pesos para PC1 (FIGURA 7.3.6.1 b) mostra que Al, Cr e S estão positivamente correlacionados e Ca, Fe, Pb, Ti e Si estão negativamente correlacionados, sugerindo que as concentrações de Al, Cr e S são maiores nas amostras 5, 6 e 7.

O gráfico de pesos para PC2 na FIGURA 7.3.6.1 c mostra que Ca, Cr, Fe, Pb, S e Si estão positivamente correlacionados e Mg, Ti e Zn estão negativamente correlacionados, o que indica que as amostras 2 e 3 têm maiores concentrações de Ca, Cr, Fe, Pb, S e Si.

As amostras 1, 4, 8 e 9 estão negativamente correlacionadas no gráfico de escores da PC1 e PC2 e estão associadas com Mg, Ti e Zn (valores negativos nos

pesos da PC2) e associados com Ca, Cr, Fe, Pb, S e Si com valores negativos nos pesos da PC1 (FIGURA 7.3.6.1 b e c)

Ao comparar a PCA obtida pelo WDXRF (FIGURA 7.3.6.1) e a PCA obtida pelo ICP OES (FIGURA 7.3.2.1), ambos apresentam comportamento semelhante no gráfico de escores. Por exemplo, na FIGURA 7.3.6.1 a, as amostras 2 e 3, as amostras 5, 6 e 7 e as amostras 1 e 9 estão próximas umas das outras, como mostrado na FIGURA 7.3.2.1; no entanto, as diferenças são que as amostras 4 e 8 são semelhantes às amostras 1 e 9 na PCA obtida pelo WDXRF. Este comportamento é diferente daquele da PCA obtida pelo ICP OES, no qual as amostras 4 e 8 diferem de todas as outras.

Na PCA obtida para o WDXRF o perfil dos agrupamentos das amostras é muito mais parecido com a PCA do ICP do que a PCA do LIBS com a PCA do ICP. Isso pode ter ocorrido porque no caso do LIBS, os espectros foram obtidos somente na superfície da amostra, enquanto no caso do WDXRF, os raios X tem a capacidade de penetrar na amostra. Já no caso do ICP as amostras foram totalmente digeridas.

A fim de comparar quais elementos foram detectados para cada uma das três técnicas avaliadas neste estudo, a TABELA 7.3.6.1 foi construída com as linhas de emissão selecionadas para cada analito para as determinações no ICP OES, além das linhas de emissão usadas para identificar os elementos nos espectros do LIBS e do WDXRF. A TABELA 7.3.6.1 mostra que os elementos em menores concentrações nas amostras como As, Cd, Co, Mn, Ni e Sr foram detectados apenas pelo ICP OES devido à elevada sensibilidade da técnica (a única exceção foi o Ni). Espécies moleculares como H e O foram detectadas apenas por LIBS, enquanto S e Si foram detectadas apenas por WDXRF. Outros elementos foram determinados por pelo menos duas técnicas como Al, Ba, Cu, Fe, Na, Pb e Zn. Os três elementos com maiores concentrações nas amostras (Ca, Cr, Mg) e Ti foram detectados pelas três técnicas.

TABELA 7.3.6.1 - Linhas de emissão selecionadas para determinações por ICP OES, linhas de emissão usadas para identificar elementos por LIBS e comprimentos de onda observados por WDXRF referentes aos dados obtidos para as nove amostras de couro sintético analisadas.

Elementos	Linhas de emissão (nm) ICP OES	Linhas de emissão (nm) LIBS	Comprimentos de onda WDXRF (Å)
Al	(I) 308,215 <sup>a</sup>	Não detectado	8,27
As	(I) 193,759 <sup>c</sup>	Não detectado	Não detectado
Ba	(II) 233,527 <sup>c</sup>	(II) 493,41, (I) 553,55	Não detectado
C	Não determinado	(I) 247,86	Não detectado
Ca	(II) 317,933 <sup>b</sup>	(I) 422,7, (I) 616,22	3,37
Cd	(II) 226,502 <sup>a</sup>	Não detectado	Não detectado
Co	(II) 228,615 <sup>c</sup>	Não detectado	Não detectado
Cr	(II) 267,716 <sup>c</sup>	(I) 464,62, (I) 520,84	2,29
Cu	(I) 327,396 <sup>a</sup>	Não detectado	1,54
Fe	(II) 238,204 <sup>b</sup>	Não detectado	1,91
H	Não determinado	(I) 656,28	Não detectado
K	Não determinado	(I) 766,4, (I) 769,89	Não detectado
Mg	(II) 279,559 <sup>c</sup>	(II) 279,55, (I) 285,21	9,43
Mn	(II) 260,569 <sup>c</sup>	Não detectado	Não detectado
Na	Não determinado	(I) 588,99, (I) 589,59	11,8
Ni	(II) 231,604 <sup>a</sup> (all results were <LOD, see Table II)	Não detectado	Não detectado
O	Não determinado	(I) 777,42	Não detectado
Pb	(II) 220,353 <sup>a</sup>	Não detectado	1,17
S	Não determinado	Não detectado	5,27
Sb	(I) 206,833 <sup>a</sup>	Não detectado	Não detectado
Si	Não determinado	Não detectado	7,09
Sr	(II) 228,200 <sup>c</sup>	Não detectado	Não detectado
Ti	(II) 336,121 <sup>c</sup>	(I) 499,95	2,74
Zn	(II) 202,548 <sup>a</sup>	Não detectado	1,39

I linha atômica, II linha iônica, visões axial e radial<sup>a</sup>, somente visão axial<sup>b</sup>, somente visão radial<sup>c</sup>

Os resultados desse estudo mostram que o ICP OES fornece mais informações, principalmente quantitativas e para elementos em baixa concentração, em relação aos resultados obtidos com LIBS e WDXRF, no entanto, este é o primeiro estudo que avalia o uso das técnicas LIBS e WDXRF em amostras de couro sintético. O uso destas técnicas é particularmente importante porque dispensa o laborioso preparo da amostra. Ao comparar com o ICP OES, ambas as técnicas permitiram

reduzir os riscos para o analista, pois solventes tóxicos e ácidos concentrados não foram empregados. O único material utilizado na análise por LIBS foram as fitas dupla face utilizadas para fixar os couros sintéticos na câmara de ablação, não houve perdas de analitos por volatilização, foram necessárias pequenas quantidades de amostras nas análises que foram muito rápidas e não foi necessário usar gases nos dois instrumentos, além de não gerar resíduos. Essas vantagens atraentes chamaram a atenção para uma avaliação química inicial de couros sintéticos tanto por LIBS quanto por WDXRF, embora de forma qualitativa, mas sempre tendo a ICP OES como referência, se os resultados quantitativos forem o objetivo.

## 7.4 - Conclusões

Nove objetos produzidos com diferentes materiais de couro sintético, incluindo cintos, carteiras, capa de celular e uma bolsa, foram analisados quantitativamente por ICP OES e qualitativamente por LIBS e WDXRF. As amostras foram avaliadas e classificadas de acordo com sua composição elementar analisada pelas três técnicas combinadas com PCA.

As determinações por ICP OES foram realizadas após a mineralização das amostras com uma mistura de  $\text{HNO}_3$  e  $\text{H}_2\text{O}_2$ , e as concentrações de 17 elementos foram diferentes em cada amostra, mas a aplicação da PCA revelou quais elementos estão correlacionados com cada amostra. Um destaque deve ser dado as concentrações de Pb determinadas que ficaram acima do limite máximo estabelecido pelas legislações ( $90 \text{ mg kg}^{-1}$ ) nas amostras 1, 2, 3, 4 e 8.

Os elementos Ca, Cr, Mg, Ba, Pb, Al, Fe e Zn foram encontrados em elevadas concentrações nas 9 amostras de couros sintéticos, contudo as concentrações Ca, Cr e Mg foram extremamente altas. Além disso, elementos potencialmente tóxicos como As, Cr e Pb foram determinados em elevadas concentrações nos couros sintéticos, e isso é um alerta considerando que são elementos que podem causar problemas para a saúde e meio ambiente e essas amostras utilizadas no trabalho são de baixo custo e, portanto, de fácil acesso. Os elementos Al, Cd, Fe, Pb e Sb foram determinados em todas as amostras e somente o Ni ficou abaixo do LOD em todas amostras.

Uma análise direta também foi realizada usando LIBS e WDXRF e os espectros LIBS identificaram C, Mg, Ca, Na, H, K, O, Cr, Ba e Ti, enquanto os espectros WDXRF identificaram Pb, Zn, Fe, Cr, Ca, S, Si, Al, Mg, Cu e Na. Os



espectros dos couros sintéticos obtidos por ambas as técnicas foram processados e avaliados com PCA. Os resultados mostraram semelhanças e diferenças entre as amostras de couro sintético com base nos elementos contidos nos espectros avaliados. Quando comparamos a PCA obtida pelo ICP OES e a PCA obtida pelo LIBS e WDXRF, essas PCAs mostraram que o WDXRF apresenta potencial para futuras análises quantitativas.

A principal vantagem do LIBS e do WDXRF sobre o ICP OES é a ausência de preparo de amostra, não há consumo de solventes tóxicos ou ácidos, não há geração de resíduos, os riscos de contaminação e perdas de analito são menores, reduzindo o tempo e os custos de análise. A associação de LIBS / WDXRF com PCA mostrou-se útil, rápida e simples para avaliar o perfil químico de amostras de couro sintético. Usando LIBS, um elemento tóxico como o Cr foi detectado e WDXRF foi capaz de detectar Cr e Pb.

Além disso, cada uma das nove amostras avaliadas neste estudo apresentou composição química diferente, como tipo e concentração do analito. Essas percepções foram visualizadas pela análise quantitativa e qualitativa dos couros.



## **Capítulo 8**

---

### **Conclusões finais**

## 8 - Conclusões finais

Nessa tese de doutorado foram propostos o desenvolvimento de métodos analíticos para a análise direta de couros usando as técnicas LIBS e WDXRF. No primeiro estudo a proposição de modelos de classificação para avaliação direta da qualidade de couros utilizando LIBS, mostrou a viabilidade de combinar espectros de emissão obtidos pelo LIBS com modelos de classificação. As principais vantagens a serem destacadas são: 1) Não há necessidade de cortar o couro antes das análises se um LIBS portátil for utilizado, ou se um LIBS de bancada como o que utilizamos for empregado, um pequeno pedaço de couro já é suficiente para a obtenção dos espectros; 2) Uma pequena quantidade de amostra é utilizada na análise e não há necessidade de retirar amostras em duas direções (longitudinal ou transversal), pois os modelos de classificação foram eficientes nas predições independentemente da direção de retirada da amostra, utilizando um único modelo; 3) As análises são rápidas e os espectros foram obtidos em segundos, o que possibilita uma elevada frequência analítica (15 amostras por hora); 4) A determinação da qualidade do couro é realizada em uma única etapa, basta obter os espectros seguido do cálculo do modelo de classificação; 5) Um único equipamento é utilizado, o LIBS; 6) Não há geração de resíduos de couro; 7) Há a possibilidade de utilizar um LIBS portátil no próprio curtume para obtenção dos espectros. 8) Os três modelos, KNN, SIMCA e PLS-DA foram eficientes na predição dos parâmetros físicos de qualidade de couros. Um manuscrito referente a este trabalho foi publicado na revista RSC Advances intitulado “Proposition of classification models for the direct evaluation of the quality of cattle and sheep leathers using laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) analysis” e está no anexo I.

O segundo estudo realizado foi o estabelecimento de um procedimento de preparo de amostra para couros e foram determinados vários analitos por ICP OES e pode-se destacar que 1) o procedimento de preparo de amostra desenvolvido apresentou bons resultados de recuperação; 2) os quatro analitos encontrados em maior concentração nas amostras foram Al, Cr, Ca e Mg; 3) Os elementos Fe e Sb foram encontrados em todas as amostras; 4) Elementos potencialmente tóxicos como As, Cr e Pb foram encontrados em elevadas concentrações nas amostras; 5) O único elemento que ficou abaixo do LOD em todas as amostras foi o Cd; 6) As concentrações dos elementos variaram de acordo com o tipo de couro (bovino ou

ovino) e tipo de curtimento (Cr ou tanino vegetal); 7) As concentrações de Cr e Pb estavam dentro dos limites estabelecidos pelas legislações.

Um terceiro estudo tratou da avaliação do uso do WDXRF para a análise quantitativa de amostras sólidas de couro com o objetivo de desenvolver modelos de calibração para a determinação de Cr de forma direta nas amostras de couro e foram utilizados como valores de referência aqueles obtidos pelo ICP OES. Podemos destacar que o modelo foi capaz de prever as concentrações de Cr com boas capacidades de predição para todas as 50 amostras de couro curtidas com Cr avaliadas, dispensando a etapa de preparo de amostra, de forma rápida, sem utilizar reagentes e sem geração de resíduos. Um manuscrito referente aos resultados deste trabalho foi publicado na revista *Environmental Monitoring and Assessment*, intitulado “Determination of toxic metals in leather by wavelength dispersive X-ray fluorescence (WDXRF) and inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES) with emphasis on chromium” e está no anexo II.

Um quarto estudo foi a avaliação da composição química de couros sintéticos por ICP OES (quantitativo), LIBS e WDXRF (qualitativos). Cabe destacar que concentrações extremamente altas de Ca, Cr e Mg foram encontradas, além de elementos potencialmente tóxicos como As, Cr e Pb, fato preocupante considerando que as amostras utilizadas no trabalho são de baixo custo e, portanto, de fácil acesso para a população. Um manuscrito referente aos resultados deste trabalho foi publicado na revista *Applied Spectroscopy* intitulado “Evaluation of the chemical composition of synthetic leather using spectroscopy techniques” e está no anexo III.

A simplicidade dos procedimentos propostos dispensando a etapa de preparo das amostras, eliminando o uso de reagentes químicos e geração de resíduos e minimizando os riscos de contaminação torna esses procedimentos excelentes alternativas para a análise de amostras de couro. Além disso, o uso do planejamento fatorial para a otimização das condições instrumentais do LIBS foi fundamental para o bom desempenho dos experimentos.



## **Capítulo 9**

---

### **Referências Bibliográficas**

## 9 - Referências Bibliográficas

1. GEORGE, N.; CHAUHAN, P.S.; KUMAR, V.; PURI, N. & GUPTA, N. "Approach to ecofriendly leather: characterization and application of an alkaline protease for chemical free dehairing of skins and hides at pilot scale". *J. Clean Prod.*, **79**: 249, 2014. doi:10.1016/j.jclepro.2014.05.046
2. MOREIRA, M. V. & TEIXEIRA, R. C. "Estado da arte tecnológico em processamento do couro: revisão bibliográfica no âmbito internacional". Projeto desenvolvimento sustentável da indústria do couro em MG e no RS. Porto Alegre. 2003. 242 p.
3. CUNHA, A. M. Relatório de acompanhamento setorial - indústria de Couro. Disponível em: [http://www.sistemamodabrasil.com.br/documents/couro\\_relatorio\\_acompanhamento\\_setorial.pdf](http://www.sistemamodabrasil.com.br/documents/couro_relatorio_acompanhamento_setorial.pdf). Acesso: 10 jan. 2018.
4. FERREIRA, M. J.; ALMEIDA, M. F.; PINHO, S. C. & SANTOS, I. C. "Finished leather waste chromium acid extraction and anaerobic biodegradation of the products". *Waste Manag.*, 30 (6): 1091, 2010. doi:10.1016/j.wasman.2009.12.006
5. Centro das indústrias de curtumes do Brasil (CICB). Disponível em : <http://www.cicb.org.br/cicb>. Acesso: 10 jul. 2018.
6. DIXIT, S.; YADAV, A. & DWIVEDI, P. D. M. "Toxic hazards of leather industry and technologies to combat threat : a review". *J. Clean Prod.*, 87 (1): 39, 2015. doi:10.1016/j.jclepro.2014.10.017
7. SCHEFFLER, G. L. & POZEBON, D. "Trace element determination in leather samples using on-line internal standardization, ultrasonic nebulization and axial view-ICP OES". *Anal. Methods*, 7 (12): 5180, 2015. doi:10.1039/c5ay01011j
8. KARAVANA, H. A.; BAŞARAN, B.; ASLAN, A.; BITLISLI, B. O. & GÜLÜMSER, G. "Heavy metal contents of bootee leathers tanned with different process recipes". *Tekst ve Konfeksiyon*, 3 (4): 305, 2011.
9. ASLAN, A. & ÜZÜM, N. O. "Determining the heavy metal contents of natural and artificial upholstery leathers". *Tekst ve Konfeksiyon*, 25 (3): 33, 2015.
10. ASLAN, A. "Determination of heavy metal toxicity of finished leather solid waste". *Bull Env. Contam. Toxicol.*, 82 (5): 633, 2009. doi:10.1007/s00128-009-9656-1
11. ZEINER, M.; REZIĆ, I.; UJEVIĆ, D. & STEFFAN, I. "Determination of total chromium in tanned leather samples used in car industry". *Coll Antropol.*, 35 (1): 89, 2011.
12. ABBOTT, A. P.; ALAYSUY, O.; ANTUNES, A. P. M.; DOUGLAS, A. C.; GUTHRIE-STRACHAN, J. & WISE, W. R. "Processing of leather using deep eutectic solvents". *ACS Sustain. Chem. Eng.*, 3 (6): 1241, 2015. doi:10.1021/acssuschemeng.5b00226
13. ZHAO, Y.; LI, Z.; ROSS, A. HUANG, Z.; CHANG, W. OU-YANG, K.; CHEN, Y. & WU, C. "Determination of heavy metals in leather and fur by microwave plasma-atomic emission spectrometry". *Spectrochim. Acta. Part B*, 112 (1): 6, 2015. doi:10.1016/j.sab.2015.06.017
14. BEIK, J. V.; KOSERA, V.S.; MARANHÃO, T. A. & CHAVES, E. S. "Alkaline solubilization and ultrasound assisted extraction for Cr and Pb determination in leather by atomic absorption spectrometry". *Anal. Methods*, 9 (22): 3284, 2017. doi:10.1039/C7AY00246G
15. KRUG, F. J. & ROCHA, F. R. P. R. Métodos de preparo de amostras para análise elementar. São Paulo, Editora EditSBQ, 2016.
16. REZAEI, A. H.; KESHAVARZ, M. H.; TEHRANI, M. K. & DARBANI, S. M. R.



- "Quantitative analysis for the determination of aluminum percentage and detonation performance of aluminized plastic bonded explosives by laser-induced breakdown spectroscopy". *Laser Phys.*, 28 (6): 1, 2018. doi:10.1088/1555-6611/aab660
17. ERCIOGLU, E.; VELIOGLU, H. M. & BOYACI, I. H. "Chemometric evaluation of discrimination of aromatic plants by using NIRS, LIBS". *Food Anal. Methods*, 11 (6): 1656, 2018. doi:10.1007/s12161-018-1145-x
18. KORAL, C.; DELL'AGLIO, M.; GAUDIUSO, R.; ALRIFAI, R.; TORELLI, M. & GIACOMO, A. "Nanoparticle-enhanced laser induced breakdown spectroscopy for the noninvasive analysis of transparent samples and gemstones". *Talanta*, 182 (1): 253, 2018. doi:10.1016/j.talanta.2018.02.001
19. YANG, P.; ZHU, Y.; TANG, S.; HAO, Z.; GUO, L.; LI, X.; LU, Y. & ZENG, X. "Analytical-performance improvement of laser-induced breakdown spectroscopy for the processing degree of wheat flour using a continuous wavelet transform". *Appl. Opt.*, 57 (14): 3730, 2018.
20. MARTINEZ-LOPEZ, C.; SAKAYANAGI, M. & ALMIRALL, J. R. "Elemental analysis of packaging tapes by LA-ICP-MS and LIBS". *Forensic Chem.*, 8 (1): 40, 2018. doi:10.1016/j.forc.2018.01.004
21. MICHEL, A. P. M. & SONNICHSEN, F. "Laser induced breakdown spectroscopy for heavy metal detection in a sand matrix". *Spectrochim. Acta. Part B*, 125 (1): 177, 2016. doi:10.1016/j.sab.2016.10.001
22. NICOLODELLI, G.; SENESI, G. S.; PERAZZOLI, I. L. O.; MARANGONI, B. S.; BENITES, V. M. & MILORI, D. M. B. P. "Double pulse laser induced breakdown spectroscopy: a potential tool for the analysis of contaminants and macro/micronutrients in organic mineral fertilizers". *Sci. Total Environ.*, 565 (1): 1116, 2016. doi:10.1016/j.scitotenv.2016.05.153
23. YU, K. Q.; ZHAO, Y. R.; LIU, F. & HE, Y. "Laser-induced breakdown spectroscopy coupled with multivariate chemometrics for variety discrimination of soil". *Sci. Rep.*, 6: 1, 2016. doi:10.1038/srep27574
24. HEPP, N. M. & JAMES, I. C. "Application of high-energy polarized energy-dispersive x-ray fluorescence spectrometry to the determination of trace levels of As, Hg, and Pb in certifiable color additives". *X-Ray Spectrom.*, 45 (6): 330, 2016. doi:10.1002/xrs.2709
25. SANTOS, M. C.; SPERANÇA, M. A. & PEREIRA, F. M. V. "Wavelength dispersive X-ray fluorescence (WDXRF) and chemometric investigation of human hair after cosmetic treatment". *X-Ray Spectrom.*, 47 (3): 252, 2018. doi:10.1002/xrs.2836
26. LI, X. L.; AN, S. Q.; LIU, Y. X.; YU, Z. S. & ZHANG, Q. "Investigation of a high-pressure pressed powder pellet technique for the analysis of coal by wavelength dispersive X-ray fluorescence spectroscopy". *Appl. Radiat. Isot.*, 132 (1): 170, 2018. doi:10.1016/j.apradiso.2017.11.003
27. KRISHNA, A. K.; KHANNA, T. C. & MOHAN, K. R. "Rapid quantitative determination of major and trace elements in silicate rocks and soils employing fused glass discs using wavelength dispersive X-ray fluorescence spectrometry". *Spectrochim. Acta. Part B*, 122 (1): 165, 2016. doi:10.1016/j.sab.2016.07.004
28. SUVOROVA, D.; KHUDONOGOVA, E. & REVENKO, A. "X-ray fluorescence determination of Cs, Ba, La, Ce, Nd, and Ta concentrations in rocks of various composition". *X-Ray Spectrom.*, 46 (3): 200, 2017. doi:10.1002/xrs.2747
29. PASHKOVA, G. V.; AISUEVA, T. S.; FINKELSHTEIN, A. L.; IVANOV, E. V. & SHCHETNIKOV, A. A. "Analytical approaches for determination of bromine in sediment core samples by X-ray fluorescence spectrometry". *Talanta*, 160 (1): 375, 2016. doi:10.1016/j.talanta.2016.07.059

30. BABOS, D. V.; COSTA, V. C.; SPERANÇA, M. A. & PEREIRA-FILHO, E. R. "Direct determination of calcium and phosphorus in mineral supplements for cattle by wavelength dispersive X-ray fluorescence (WD-XRF)". *Microchem. J.*, 37 (1): 272, 2018. doi:10.1016/j.microc.2017.11.002
31. HOCH, A. L. V.; PRADO, M.; FRANCO, M. L. R. S.; SCAPINELLO, C.; FRANCO, N. D. P. & GASPARINO, E. "Ação de diferentes agentes curtentes utilizados no curtimento de peles de coelhos: testes físico-mecânicos dos couros". *Acta. Sci. Anim. Sci.*, 31 (4): 411, 2009. doi:10.4025/actascianimsci.v31i4.5592
32. ASLAN, A. "Improving the dyeing properties of vegetable tanned leathers using chitosan formate". *Ekoloji.*, 22 (86): 26, 2013. doi:10.5053/ekoloji.2013.864
33. CASSANO, A.; ADZET, J.; MOLINARI, R.; BUONOMENNA, M. G.; ROIG, J. & DRIOLI, E. "Membrane treatment by nanofiltration of exhausted vegetable tannin liquors from the leather industry". *Water Res.*, 37 (10): 2426, 2003. doi:10.1016/S0043-1354(03)00016-2
34. KANTH, S. V.; VENBA, R.; MADHAN, B.; CHANDRABABU, N. K. & SADULLA, S. "Cleaner tanning practices for tannery pollution abatement: role of enzymes in eco-friendly vegetable tanning". *J. Clean Prod.*, 17 (5): 507, 2009. doi:10.1016/j.jclepro.2008.08.021
35. FUCK, W. F. Influência do teor de cromo e do tipo de óleo na formação de cromo hexavalente no couro. Porto Alegre, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química - UFRGS, 2008. Dissertação de mestrado, 102 p.
36. DETTMER, A. Recuperação do cromo das cinzas do tratamento térmico de resíduos da indústria calçadista visando o curtimento de peles. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química - UFRGS, 2008. Dissertação de mestrado, 111 p.
37. THYSSEN, J. P. & MENNÉ, T. "Metal allergies - a review on exposures, penetration, genetics, prevalence, and clinical implications". *Chem. Res. Toxicol.*, 23 (2): 309, 2010. doi:10.1021/tx9002726
38. Bundesinstitut für Risikobewertung. Chromium (VI) in leather clothing and shoes problematic for allergy sufferers. Disponível em: <http://www.bfr.bund.de/cd/9575>. Acesso: 10 dez. 2017.
39. HEDBERG, Y. S.; LIDÉN, C. & WALLINDER, I. O. "Correlation between bulk- and surface chemistry of Cr-tanned leather and the release of Cr (III) and Cr (VI)". *J. Hazard Mater.*, **280**: 654, 2014. doi:10.1016/j.jhazmat.2014.08.061
40. International organization for standardization - ISO 17075. Leather – chemical tests – determination of chromium (VI) content. 2007.
41. Rydin, S. "Investigation of the content of Cr (VI) and Cr (III) in leather products on the Danish Market". Survey of chemical substances in consumer products. Danish environmental protection agency. 2002.
42. LUI, R. Minimising Chromium (VI) in leather products. Disponível em: <https://www.tuv-sud.com/uploads/images/1481782193309222191378/tuv-sud-chromium-vi-whitepaper.pdf>. Acesso: 06 fev. 2018
43. TEGTMEYER, D. & KLEBAN, M. "Chromium and Leather Research. A balanced view of scientific facts and figures". International union of leather technologists and chemists societies. 2013.
44. SmitTools - Chrome VI. Disponível em: <https://www.smitzoon.com/documents/SmitTools - Chrome VI.pdf>. Acesso: 12 jan. 2018.
45. PASTORE, P.; FAVARO, G.; BALLARDIN, A. & DANIELETTO, D. "Evidence of Cr (VI) formation during analysis of leather proposal of an alternative method of analysis through the ion-chromatographic approach and post-column reaction".

Talanta, 63 (1): 941, 2004. doi:10.1016/j.talanta.2004.01.010

46. BASARAN, B.; BITLISLI, B. O. & ASLAN, A. "Distribution of Cr (III) and Cr (VI) in chrome tanned leather". Indian J. Chem. Technol., 15 (1): 511, 2008.

47. HEDBERG, Y. S.; LIDÉN, C. & WALLINDER, I. O. "Chromium released from leather – I: exposure conditions that govern the release of chromium (III) and chromium (VI)". Contact Dermatitis, 1 (1): 206, 2014. doi:10.1111/cod.12329

48. HEDBERG, Y. S. & LIDÉN, C. "Chromium (III) and chromium (VI) release from leather during 8 months of simulated use". Contact Dermatitis, 1 (1): 82, 2016. doi:10.1111/cod.12581

49. DEVIKAVATHI, G.; SURESH, S.; ROSE, C. & MURALIDHARAN, C. "Prevention of carcinogenic Cr (VI) formation in leather – a three pronged approach for leather products". Indian J. Chem. Technol., 21: 7, 2014.

50. MATHIASON, F.; LIDÉN, C. & HEDBERG, Y. S. "Chromium released from leather - II: the importance of environmental parameters". Contact Dermatitis, 72 (5): 275, 2015. doi:10.1111/cod.12334

51. SOUZA, M. L. R.; CASACA, J. D. M.; NAKAGHI, L. S. O.; FRANCO, N. P.; SILVA, L. O.; DOURADO, D. M. & VIEGAS, E. M. M. "Efeito da técnica de curtimento e do método utilizado para remoção da pele da tilápia-do-nylo sobre as características de resistência do couro". Rev. Bras. Zootec., 35 (4): 1273, 2006. doi:10.1590/S1516-35982006000500004

52. MELLA, B. Remoção de cromo de banhos residuais de curtimento através de precipitação química e eletrocoagulação. Remoção de cromo de banhos residuais de curtimento através de precipitação química e eletrocoagulação. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química - UFRGS, 2013. Dissertação de mestrado, 106 p.

53. PAES, J. B.; MARINHO, I. V.; LIMA, R. A.; LIMA, C. R. & AZEVEDO, T. K. B. "Viabilidade técnica dos taninos de quatro espécies florestais de ocorrência no semi-árido brasileiro no curtimento de peles". Ciência Florest., 16 (4): 453, 2006.

54. ONEM, E.; GULUMSER, G.; AKAY, S. & YESIL-CELIKKTAS, O. "Optimization of tannin isolation from acorn and application in leather processing". Ind. Crops. Prod., 53: 16, 2014. doi:10.1016/j.indcrop.2013.12.014

55. LIMA, C. R.; PAES, J. B.; LIMA, V. L. A.; DELGADO, M. F. F. & LIMA, R. A. "Potencialidade dos extratos tânicos de três espécies florestais no curtimento de peles caprinas". Rev. Bras. Eng. Agrícola e Ambient., 18 (11): 1192, 2014. doi:10.1590/1807-1929/agriambi.v18n11p1192-1197

56. MACHADO, A. C.; PRADO, M. D. O.; FRANCO, M.; LUIZA, R. S.; SILVA, S. C. C. & VESCO, A. P. D. "Couros de pés de frango com diferentes agentes curtentes: teste de resistência". Acta. Tecnológica, 7 (2): 38, 2012.

57. Chrome vs Vegetable Tanned Leather. Disponível em: <http://www.carryology.com/insights/chrome-vs-vegetable-tanned-leather/>. Acesso: 2 jan. 2017.

58. HARMON, R. S.; RUSSO, R. E. & HARK, R. R. "Applications of laser-induced breakdown spectroscopy for geochemical and environmental analysis: a comprehensive review". Spectrochim. Acta. Part B, 87: 11, 2013. doi:10.1016/j.sab.2013.05.017

59. ANABITARTE, F.; COBO, A. & LOPEZ-HIGUERA, J. M. "Laser-induced breakdown spectroscopy: fundamentals, applications, and challenges". ISRN Spectrosc., 2012: 1, 2012. doi:10.5402/2012/285240

60. SINGH, V. K. & RAI, A. K. "Prospects for laser-induced breakdown spectroscopy for biomedical applications : a review". Lasers Med. Sci., 26: 673, 2011. doi:10.1007/s10103-011-0921-2

61. DIWAKAR, P. K; JACKSON, P. B. & HAHN, D. W. "The effect of multi-component aerosol particles on quantitative laser-induced breakdown spectroscopy: consideration of localized matrix effects". *Spectrochim. Acta. Part B*, 62 (12): 1466, 2007. doi:10.1016/j.sab.2007.10.001
62. FORTES, F. J. & LASERNA, J. J. "The development of fieldable laser-induced breakdown spectrometer: no limits on the horizon". *Spectrochim. Acta. Part B*, 65 (12): 975, 2010. doi:10.1016/j.sab.2010.11.009
63. JUNIOR, D. S.; TARELHO, L. V. G.; KRUG, F. J. & MIROLI, D. M. B. P. "Espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por laser (LIBS) - fundamentos, aplicações e perspectivas". *Rev. Anal.*, **10**: 72, 2006.
64. SANTOS, E. S.; GAMA, E. M.; FRANÇA, R. S.; SOUZA, A. S. & MATOS, R. P. "Espectrometria de fluorescência de raios-x na determinação de espécies químicas". *Enciclopédia Biosf.*, 9 (17): 3413, 2013.
65. GUERRA, M. B. B.; ALMEIDA, E.; CARVALHO, G. G. A.; SOUZA, P. F.; NUNES, L. C.; JÚNIOR, D.S. & KRUG, F. J. "Comparison of analytical performance of benchtop and handheld energy dispersive X-ray fluorescence systems for the direct analysis of plant materials". *J. Anal. At Spectrom.*, 29 (9): 1667, 2014. doi:10.1039/C4JA00083H
66. SILVEIRA, C. D. S. Desenvolvimento de metodologia analítica baseada em microextração em fase sólida com e sem refrigeração para determinação de fenóis e pesticidas em couro. Programa de Pós-Graduação em Química - UFSC, 2012. Tese de doutorado, 121 p.
67. DAL MONTE, M. A. D. B. L.; COSTA, R. G.; JACINTO, M. A. C.; MEDEIROS, A. N. & FIGUEIREDO, F. D.C. "Características físico-mecânicas e químicas do couro de caprinos abatidos em idades diferenciadas". *Rev. Bras. Zootec.*, 33 (5): 1285, 2004. doi:10.1590/S1516-35982004000500021
68. NASR, M. M.; GONDAL, M. A. & SEDDIGI, Z. S. "Detection of hazardous pollutants in chrome-tanned leather using locally developed laser-induced breakdown spectrometer". *Env. Monit. Assess.* 175 (1-4): 387, 2011. doi:10.1007/s10661-010-1538-9
69. EPA method 3050B - Acid digestion of sediments, sludges, and soils. United States Environmental Protection Agency (U.S.EPA). Disponível em <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/3050b.pdf>. Acesso: 13 dez. 2017.
70. GÓMEZ-MORÓN, M. A.; ORTIZ, P.; MARTÍN-RAMÍREZ, J. M.; ORTIZ, R. & CASTAING, J. "A new insight into the vaults of the kings in the Alhambra (Granada, Spain) by combination of portable XRD and XRF". *Microchem. J.*, **125**: 260, 2016. doi:10.1016/j.microc.2015.11.023
71. VORNICU, N.; DESELCNICU, V.; BIBIRE, C.; IVANOV, D. & DOROFTEI, F. "Analytical techniques used for the characterization and authentication of six ancient religious manuscripts (XVIII – XIX Centuries)". *Microsc. Res. Tech.*, 78 (1): 70, 2015. doi:10.1002/jemt.22447
72. MANNINA, L. & LOMBARDO, A. "Diagnostic analyses for the study of materials, technique and state of preservation of a gilt and painted leather of the XVIII century". *Procedia Chem.*, **8**: 202, 2013. doi:10.1016/j.proche.2013.03.026
73. NAKANO, K.; NISHI, C.; OTSUKI, K.; NISHIWAKI, Y. & TSUJI, K. "Depth elemental imaging of forensic samples by confocal micro-XRF method". *Anal. Chem.*, **83**: 3477, 2011.
74. LUO, W.; SI, Y.; WANG, H.; QIN, Y.; HUANG, F. & WANG, C. "Leather material found on a 6<sup>th</sup> B. C. Chinese bronze sword: a technical study". *Spectrochim Acta. Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, 79 (5): 1630, 2011.

doi:10.1016/j.saa.2011.05.023

75. HAMANN, D.; HAMANN, C. R.; KISHI, P. & MENNE, T. "Leather contains cobalt and poses a risk of allergic contact dermatitis: cobalt indicator solution and X-ray fluorescence spectrometry as screening tests". *Dermatitis*, 27 (4): 202, 2016. doi:10.1097/DER.0000000000000200
76. International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC). *Compendium of Chemical Terminology- the Gold Book*. Disponível em: <http://goldbook.iupac.org/CT06948.html>. Acesso: 17 nov. 2017.
77. FERREIRA, M. M. C. *Quimiometria: conceitos, métodos e aplicações*. Campinas, Editora Unicamp, 2015.
78. PEREIRA-FILHO, E. R.; PEREIRA, V. M. F. & LEMOS, S. G. "Introducing factorial design concepts using experiments with multi-colored chocolates". *Chem. Educ.*, 14 (9): 200, 2009. doi:10.1333/s00897092238a
79. PEREIRA-FILHO, E. R. *Planejamento fatorial em química*. São Carlos, Editora EdUSCar, 2015.
80. CUSTERS, D.; VANDEMOORTELE, S.; BOTHY, J. L.; DE BEER, J. O.; COURSELLE, P.; APERS, S. & DECONINCK, E. "Physical profiling and IR spectroscopy: simple and effective methods to discriminate between genuine and counterfeit samples of Viagra® and Cialis®". *Drug Test. Anal.*, 8 (3-4): 378, 2016. doi:10.1002/dta.1813
81. DESELCU, D. C. "Applications of statistical methods in investigating heritage leather items". *Leather Footwear J.*, 10 (1): 13, 2010.
82. CANTERO, R.; RIBA, J. R.; CANALS, T.; IZQUIERDO, L. L. & ITURRIAGA, H. "Characterization of leather finishing by IR spectroscopy and canonical variate analysis". *J. Soc. Leather Technol. Chem.*, 93 (1): 12, 2008.
83. CANTERO, R.; CANALS, T. & ITURRIAGA, H. "Near infrared reflectance spectroscopy as a tool for the control of sheep leather defatting". *Talanta*, 71 (4): 1690, 2007. doi:10.1016/j.talanta.2006.08.005
84. DA-COL, J. A. "Uma breve visão sobre a determinação de metais em ligas metálicas e matrizes semelhantes: alguns métodos clássicos e espectroscópicos modernos". *Rev. Virtual Quim.*, 6 (4): 989, 2014. doi:10.5935/1984-6835.20140062
85. GODOI, Q.; LEME, F. O.; TREVIZAN, L. C.; PEREIRA-FILHO, E. R.; RUFIN, I. A.; JÚNIOR, D. S. & KRUG, F. J. "Laser-induced breakdown spectroscopy and chemometrics for classification of toys relying on toxic elements". *Spectrochim. Acta. Part B*, 66 (2): 138, 2011. doi:10.1016/j.sab.2011.01.001
86. PONTES, M. J. C.; CORTEZ, J.; GALVÃO, R. K. H.; PASQUINI, C.; ARAÚJO, M. C. U.; COELHO, R. M.; CHIBA, M. K.; ABREU, M. F. & MADARI, B. E. "Classification of Brazilian soils by using LIBS and variable selection in the wavelet domain". *Anal. Chim. Acta.*, 642 (1-2): 12, 2009. doi:10.1016/j.aca.2009.03.001
87. MYAKALWAR, A. K.; SREEDHAR, S.; BARMAN, I.; DINGARI, N. C.; RAO, S. V.; KIRAN, P. P.; TEWARI, S. P. & KUMAR, G. M. "Laser-induced breakdown spectroscopy-based investigation and classification of pharmaceutical tablets using multivariate chemometric analysis". *Talanta*, 87 (1): 53, 2011. doi:10.1016/j.talanta.2011.09.040
88. MARTELLI, M. R.; BRYGO, F.; SADOUDI, A.; DELAPORTE, P. & BARRON, C. "Laser-induced breakdown spectroscopy and chemometrics: a novel potential method to analyze wheat grains". *J. Agric. Food Chem.*, 58 (12): 7126, 2010. doi:10.1021/jf100665u
89. HOEHSE, M.; PAUL, A.; GORNUSHKIN, I. & PANNE, U. "Multivariate classification of pigments and inks using combined Raman spectroscopy and LIBS". *Anal. Bioanal. Chem.*, 402 (4): 1443, 2012. doi:10.1007/s00216-011-5287-6

90. MUNSON, C. A.; LUCIA, F. C.; PIEHLER, T.; MCNESBY, K. L. & MIZIOLEK, A. W. "Investigation of statistics strategies for improving the discriminating power of laser-induced breakdown spectroscopy for chemical and biological warfare agent simulants". *Spectrochim. Acta. Part B*, 60 (7-8): 1217, 2005. doi:10.1016/j.sab.2005.05.017
91. PEREIRA, F. M. V.; MILORI, D. M. B. P.; VENÂNCIO, A. L.; RUSSO, M. D. S. T.; MARTINS, P. K. & FREITAS-ASTÚA, J. "Evaluation of the effects of *Candidatus Liberibacter asiaticus* on inoculated citrus plants using laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) and chemometrics tools". *Talanta*, 83 (2): 351, 2010. doi:10.1016/j.talanta.2010.09.021
92. MUKHONO, P. M.; ANGEYO, K. H.; DEHAYEM-KAMADJEU, A. & KADUKI, K. A. "Laser induced breakdown spectroscopy and characterization of environmental matrices utilizing multivariate chemometrics". *Spectrochim. Acta. Part B*, **87**: 81, 2013. doi:10.1016/j.sab.2013.05.031
93. AQUINO, F. W. B. & PEREIRA-FILHO, E. R. "Analysis of the polymeric fractions of scrap from mobile phones using laser-induced breakdown spectroscopy: chemometric applications for better data interpretation". *Talanta*, **134**: 65, 2015. doi:10.1016/j.talanta.2014.10.051
94. AQUINO, F. W. B.; SANTOS, J. M.; CARVALHO, R. R. V.; COELHO, J. A. O. & PEREIRA-FILHO, E. R. "Obtaining information about valuable metals in computer and mobile phone scraps using laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS)". *RSC Adv.*, 5 (82): 67001, 2015. doi:10.1039/C5RA07609A
95. SIRVEN, J.; PAILLOUX, A.; M'BAYE, Y.; COULON, N.; ALPETTAZ, T. & GOSSÉ, S. "Towards the determination of the geographical origin of yellow cake samples by laser-induced breakdown spectroscopy and chemometrics". *J. Anal. At. Spectrom.*, **24**: 451, 2009. doi:10.1039/b821405k
96. International organization for standardization - ISO 2419. Leather – physical and mechanical tests – sample preparation and conditioning. 2006.
97. Associação brasileira de normas técnicas - ABNT NBR ISO 2418:2015. Leather - chemical, physical and mechanical and fastness test - sampling location. 2015.
98. NASHY, E. H. A.; OSMAN, O.; MAHMOUD, A. A. & IBRAHIM, M. "Molecular spectroscopic study for suggested mechanism of chrome tanned leather". *Spectrochim. Acta. Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, **88**: 171, 2012. doi:10.1016/j.saa.2011.12.024
99. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS - ABNT NBR 13525:2016. Physical and chemical testing of leather - Orientation values for acceptance of leather. 2014.
100. PEREIRA-FILHO, E. R.; POPPI, R. J. & ARRUDA, M. A. Z. "Emprego de planejamento fatorial para a otimização das temperaturas de pirólise e atomização de Al, Cd, Mo e Pb por ETAAS". *Quim. Nova*, 25 (2): 246, 2002. doi:10.1590/S0100-40422002000200013
101. FERREIRA, S. L. C.; SANTOS, W. N. L.; QUINTELLA, C. M.; NETO, B. B. & BOSQUE-SENDRA, J. M. "Doehlert matrix: a chemometric tool for analytical chemistry - review". *Talanta*, 63 (4): 1061, 2004. doi:10.1016/j.talanta.2004.01.015
102. Associação brasileira de normas técnicas - ABNT NBR 10455:2014. Climate of materials used in footwear and related articles manufacture. 2014.
103. Associação brasileira de normas técnicas - ABNT NBR ISO 2589:2014. Leather - physical and mechanical tests - determination of thickness. 2014.
104. Associação brasileira de normas técnicas - ABNT NBR ISO 3376:2014. Leather - physical and mechanical tests - determination of tensile strength and

percentage extension. 2014.

105. Associação brasileira de normas técnicas - ABNT NBR ISO 3377-1:2014. Leather - physical and mechanical tests - determination of tear load, Part 1: Single edge tear. 2014.

106. Associação brasileira de normas técnicas - ABNT NBR ISO 3377-2:2014. Leather - physical and mechanical tests - Determination of tear load part 2: tear double-edged. 2014.

107. PASQUINI, C.; CORTEZ, J.; SILVA, L. M. C. & GONZAGA, F. B. "Laser induced breakdown spectroscopy". J. Braz. Chem. Soc., 18 (3): 463, 2007.

108. BREITKREITZ, M. C.; SOUZA, A. M. & POPPI, R. J. "Experimento didático de quimiometria para planejamento de experimentos: avaliação das condições experimentais na determinação espectrofotométrica de ferro II com o-fenantrolina. Um tutorial, parte III". Quim. Nova, 37 (3): 564, 2014.

doi:<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422010000800018>

109. CASTRO, J. P. & PEREIRA-FILHO, E. R. "Twelve different types of data normalization for the preposition of classification, univariate and multivariate regression models for the direct analyses of alloys by laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS)". J. Anal. At. Spectrom., 31: 2005, 2016.

doi:10.1039/C6JA00224B

110. FERREIRA, M. M. C. "Multivariate QSAR". J. Braz. Chem. Soc., 13 (6): 742, 2002. doi:10.1590/S0103-50532002000600004

111. BALLABIO, D. & CONSONNI, V. "Classification tools in chemistry. Part 1: Linear models. PLS-DA". Ana.l Methods, 5 (16): 3790, 2013. doi:10.1039/c3ay40582f

112. DASZYKOWSKI, M.; WALCZAK, B. & MASSART, D. L. "Representative subset selection". Anal. Chim. Acta., 468 (1): 91, 2002. doi:10.1016/S0003-2670(02)00651-7

113. National Institute of Standards and Technology (NIST). NIST atomic spectra database lines form. Disponível em:

[http://physics.nist.gov/PhysRefData/ASD/lines\\_form.html](http://physics.nist.gov/PhysRefData/ASD/lines_form.html). Acesso: 27 out. 2017.

114. OKOH, S.; ADEYEMO, D. J.; ONOJA, R. A. & ARABI, S. A. "Determination of some trace elements in leather". Int. J. Appl. Sci. Technol., 3 (1): 101, 2013.

115. BROWN, C. D. & DAVIS, H. T. "Receiver operating characteristics curves and related decision measures: a tutorial". Chemom. Intell. Lab. Syst., 80 (1): 24, 2006.

doi:10.1016/j.chemolab.2005.05.004

116. International organization for standardization -ISO 17072-2. Couro - determinação química do teor de metais parte 2: Teor total do metal. 2014.

117. International organization for standardization - ISO 5398-4. Leather-chemical determination of chromic oxide content part 4: quantification by inductively coupled plasma optical emission spectrometer (ICP OES). 2007.

118. TFL ECO TEC Guidelines. Restricted Substances in Leather.

119. ECCO. Product Restricted Substances List. 2018.

120. International association for research and testing in the field of textile and leather ecology - OEKO-TEX. Leather Standard by OEKO - TEX®.; 2017.

121. KANAGARA, J. J.; SENTHILVELAN, T.; PANDA, R. C. & KAVITHA, S. "Eco-friendly waste management strategies for greener environment towards sustainable development in leather industry: a comprehensive review". J. Clean. Prod., 89: 1, 2015. doi:10.1016/j.jclepro.2014.11.013

122. BASEGIO, T.; LEÃO, A. P. B.; BERNARDES, A. M. & BERGMANN, C. P. "Vitrification: an alternative to minimize environmental impact caused by leather industry wastes". J. Hazard Mater, 165 (1-3): 604, 2009.

doi:10.1016/j.jhazmat.2008.10.045

123. DETTMER, A.; NUNES, K. G. P.; GUTTERRES, M. & MARCÍLIO, N. R. "Production of basic chromium sulfate by using recovered chromium from ashes of thermally treated leather". *J. Hazard Mater*, 176 (1-3): 710, 2010. doi:10.1016/j.jhazmat.2009.11.090
124. KRUMMENAUER, K. & ANDRADE, J. J. O. "Incorporation of chromium-tanned leather residue to asphalt micro-surface layer". *Constr. Build Mater*, 23 (1): 574, 2009. doi:10.1016/j.conbuildmat.2007.10.024
125. KUMAR, R.; ALAMELU, D.; ACHARYA, R. & RAI, A. K. "Determination of concentrations of chromium and other elements in soil and plant samples from leather tanning area by instrumental neutron activation analysis". *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, 300 (1): 213, 2014. doi:10.1007/s10967-014-3006-4
126. VENEZIA, M.; ALONZO, G. & PALMISANO, L. "EDTA excess Zn (II) back-titration in the presence of 4-(2-pyridylazo)-resorcinol indicator and naphthol green  $\beta$  as inert dye for determining Cr (III) as Cr (III)/EDTA complex: application of the method to a leather industry wastewater". *J. Hazard Mater*, 151 (2-3): 356, 2008. doi:10.1016/j.jhazmat.2007.05.081
127. GONDAL, M. A.; HUSSAIN, T.; YAMANI, Z. H. & BAIG, M. A. "On-line monitoring of remediation process of chromium polluted soil using LIBS". *J. Hazard Mater*, 163 (2-3): 1265, 2009. doi:10.1016/j.jhazmat.2008.07.127
128. GITET, H.; SUBRAMANIAN, P. A.; MINILU, D.; KIROS, T.; HILAWIE, M.; GEBREMARIAM, G. & TAYE, K. "Speciation of chromium in soils near Sheba leather industry, Wukro Ethiopia". *Talanta*, **116**: 626, 2013. doi:10.1016/j.talanta.2013.07.039
129. MIGNINI, F.; STRECCIONI, V.; BALDO, M.; VITALI, M.; INDRACCOLO, U.; BERNACCHIA, G. & COCCHIONI, M. "Individual susceptibility to hexavalent chromium of workers of shoe, hide, and leather industries. Immunological pattern of HLA-B8, DR3-positive subjects". *Prev. Med.*, 39 (4): 767, 2004. doi:10.1016/j.ypmed.2004.02.048
130. GUERRA, M. B. B.; ALMEIDA, E.; CARVALHO, G. G. A.; SOUZA, P. F.; NUNES, L. C.; JÚNIOR, D. S. & KRUG, F. J. "Comparison of analytical performance of benchtop and handheld energy dispersive X-ray fluorescence systems for the direct analysis of plant materials". *J. Anal. At. Spectrom.*, 29 (9): 1667, 2014. doi:10.1039/C4JA00083H
131. MARGUÍ, E.; TAPIAS, J. C.; CASAS, A.; HIDALGO, M. & QUERALT, I. "Analysis of inlet and outlet industrial wastewater effluents by means of benchtop total reflection X-ray fluorescence spectrometry". *Chemosphere*, 80 (3): 263, 2010. doi:10.1016/j.chemosphere.2010.04.027
132. AUGUSTO, A. S.; BARSANELLI, P. L.; PEREIRA, F. M. V. & PEREIRA-FILHO, E. R. "Calibration strategies for the direct determination of Ca, K, and Mg in commercial samples of powdered milk and solid dietary supplements using laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS)". *Food Res. Int.*, **94**: 72, 2017. doi:10.1016/j.foodres.2017.01.027
133. SILVESTE, D. M.; LEME, F. D. O.; NOMURA, C. S. & NASCIMENTO, A. N. "Direct analysis of barium, calcium, potassium, and manganese concentrations in tobacco by laser-induced breakdown spectroscopy". *Microchem. J.*, **126**: 545, 2016. doi:10.1016/j.microc.2016.01.015
134. BILGE, G.; SEZER, B.; ESELLER, K. E.; BERBEROGLU, H.; KOKSEL, H. & BOYACI, I. H. "Determination of Ca addition to the wheat flour by using laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS)". *Eur. Food Res. Technol.*, 242 (10): 1685, 2016. doi:10.1007/s00217-016-2668-2
135. PERUCHI, L. C.; NUNES, L. C.; CARVALHO, G. G. A.; GUERRA, M. B. B.; ALMEIDA, A.; RUFIN, I. A.; JÚNIOR, D. S. & KRUG, F. J. "Determination of



- inorganic nutrients in wheat flour by laser-induced breakdown spectroscopy and energy dispersive X-ray fluorescence spectrometry". *Spectrochim. Acta. Part B*, **100**: 129, 2014. doi:10.1016/j.sab.2014.08.025
136. NAES, B. E.; UMPIERREZ, S.; RYLAND, S.; BARNETT, C. & ALMIRALL, J. R. "A comparison of laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry , micro X-ray fluorescence spectroscopy, and laser induced breakdown spectroscopy for the discrimination of automotive glass". *Spectrochim. Acta. Part B*, **63** (10): 1145, 2008. doi:10.1016/j.sab.2008.07.005
137. ARRUDA, M. A. Z. & SANTELLI, R. E. "Mecanização no preparo de amostras por microondas: o estado da arte". *Quim. Nova*, **20** (6): 638, 1997.
138. PRESTES, O. D.; FRIGGI, C. A.; ADAIME, M. B. & ZANELLA, R. "QuEChERS – um método moderno de preparo de amostra para determinação multirresíduo de pesticidas em alimentos por métodos cromatográficos acoplados à espectrometria". *Quim. Nova*, **32** (6): 1620, 2009.
139. SUDHA, T. B.; THANIKAIVELAN, P.; AARON, K. P.; KRISHNARAJ, K. & CHANDRASEKARAN, B. "Comfort, chemical, mechanical, and structural properties of natural and synthetic leathers used for apparel". *J. Appl. Polym. Sci.*, **114** (3): 1761, 2009. doi:10.1002/app.30589
140. CHEN, M.; ZHOU, D-L.; CHEN, Y. & ZHU, P-X. "Analyses of structures for a synthetic leather made of polyurethane and microfiber". *J. Appl. Polym. Sci.*, **103** (2): 903, 2007. doi:10.1002/app.25233
141. LIU, R.; CHEN, Y. & FAN, H. "Design, characterization, dyeing properties, and application of acid-dyeable polyurethane in the manufacture of microfiber synthetic leather". *Fibers Polym.*, **16** (9): 1970, 2015. doi:10.1007/s12221-015-5024-4
142. SANO, T. & SUZUKI, S. "Basic forensic identification of artificial leather for hit-and-run cases". *Forensic Sci. Int.*, **19** (1-3): 27, 2009. doi:10.1016/j.forsciint.2009.08.018
143. YANG, C.; WANG, J. & LI, L. "A novel approach for developing high thermal conductive artificial leather by utilizing smart electronic materials". *Text Res. J.*, **87** (7): 816, 2016. doi:10.1177/0040517516641356
144. JEONG, W. Y.; PARK, J. W.; KAMIJO, M.; SHIMIZU, Y. & AN, S. K. "Characteristics of artificial leather for footwear - heat and moisture transport properties". *Sen'i Gakkaishi*, **63** (11): 271, 2007. doi:10.2115/fiber.63.271
145. WU, Y.; WANG, A. H.; ZHENG, R. R.; TANG, H. Q.; QI, X. Y. & YE, B. "Laser-drilled micro-hole arrays on polyurethane synthetic leather for improvement of water vapor permeability". *Appl. Surf. Sci.*, **305** (1): 1, 2014. doi:10.1016/j.apsusc.2014.02.069
146. AWASTHI, S.; KUMAR, R.; RAI, G. K. & RAI, A. K. "Study of archaeological coins of different dynasties using LIBS coupled with multivariate analysis". *Opt. Lasers Eng.*, **79** (9): 29, 2016. doi:10.1016/j.optlaseng.2015.11.005

## Anexos


 Cite this: *RSC Adv.*, 2016, 6, 104827

## Proposition of classification models for the direct evaluation of the quality of cattle and sheep leathers using laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) analysis†

 Ariane Maciel Neiva,<sup>ab</sup> Manuel Antonio Chagas Jacinto,<sup>b</sup> Maurício Mello de Alencar,<sup>b</sup> Sérgio Novita Esteves<sup>b</sup> and Edenir Rodrigues Pereira-Filho<sup>\*a</sup>

This study proposes classification models for the prediction of the quality parameters of cattle and sheep leathers. In total, 375 leather samples were directly analyzed by laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS). Exploratory analysis using principal component analysis (PCA) and classification models employing *K*-nearest neighbor (KNN), soft independent modeling of class analogy (SIMCA), and partial least squares – discriminant analysis (PLS-DA) were the chemometric tools used in the multivariate analysis. The goal was to classify the leather samples according to their quality. The calculated models have satisfactory results with correct prediction percentages ranging from 75.2 (for SIMCA) to 80.5 (for PLS-DA) for the calibration dataset and from 71.6 (for SIMCA) to 80.9 (for KNN) for the validation samples. The proposed method can be used for preliminary leather quality inspection without chemical residues generation.

 Received 6th September 2016  
Accepted 24th October 2016

DOI: 10.1039/c6ra22337k

[www.rsc.org/advances](http://www.rsc.org/advances)

### Introduction

Leather is an important commodity that generates economic gain for several countries.<sup>1</sup> The conversion of animal skins into leather by tanning processes creates value in these products, which can be used in different segments, for example, leather clothes, bags, shoes, artifacts, furniture and car seats.<sup>2</sup>

In the leather industry, several steps are necessary to convert the raw material into finished leather, such as pre-tanning, tanning, post tanning and finishing operations.<sup>3</sup> The tanning of most skins is performed with chromium sulfate, but other metal sulfates, and vegetable tannins, can be also used. In these processes, toxic elements that can be incorporated into the leather are added.<sup>4</sup>

The quality evaluation of leathers is fundamental to ensuring their properties. Several physical mechanical tests are performed according to the official methods.<sup>5,6</sup> However, these tests are laborious, time consuming and destructive; thus, its application is compromised in cases where there is less sample or when the sample cannot be destroyed.<sup>7</sup> Therefore, alternative methods to these traditional tests are needed. These methods need to present also adequate accuracy and precision and high analytical frequency.

Leather analysis has been performed using inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES),<sup>8–10</sup> instrumental neutron activation analysis (INAA),<sup>11</sup> and thermal analysis (TA) techniques.<sup>12</sup> In addition, direct analysis techniques, such as near-infrared (NIR) spectroscopy,<sup>7,13</sup> Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy,<sup>13</sup> and laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS),<sup>14</sup> have been used. However, the use of chemometric tools in leather analysis has still been little explored. An example is the use of NIR to determine the date of production of 130 samples of old leather articles. In this study, the authors employed principal component analysis (PCA) and partial least squares (PLS) for multivariate data evaluation. As a result, it was possible to identify the year of origin of these artifacts.<sup>7</sup> In a second study,<sup>13</sup> NIR and FTIR were used to characterize 63 leather samples. The aim of the mentioned study was to identify the finishing treatment (resin, wax, or oil) of the samples using PCA, *K*-nearest neighbor (KNN) and canonical variate analyses (CVA) as the classification techniques. In a third study,<sup>15</sup> 12 sheep skin samples were analyzed by NIR spectroscopy (NIRS) from direct determination of the fat in leather, and a Soxhlet was used to obtain reference values. Calibration models employing PLS were prepared using the obtained spectra and the samples were evaluated before and after degreasing.

<sup>a</sup>Grupo de Análise Instrumental Aplicada (GAIA), Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, São Paulo State, 13565-905, Brazil. E-mail: erpf@ufscar.br; Fax: +55 16 3351-8350; Tel: +55 16 3351-8092

<sup>b</sup>Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, São Paulo State, 13560-970, Brazil

† Electronic supplementary information (ESI) available. See DOI: 10.1039/c6ra22337k

The emission spectra obtained by LIBS generate large amount of data, and the association with chemometric tools is mandatory in several cases. This combination has been widely used for classification or discrimination of different types of samples, such as toys (PCA, KNN, Soft Independent Modeling of Class Analogy, SIMCA and PLS for discriminant analysis, PLS-DA),<sup>16</sup> soils (SIMCA and linear discriminant analysis, LDA),<sup>17</sup> pharmaceutical tablets (SIMCA and PCA),<sup>18</sup> wheat grains (PLS-DA),<sup>19</sup> inks and pigments (PCA, SIMCA and PLS-DA),<sup>20</sup> biomaterials and chemical warfare simulants (PCA and SIMCA),<sup>21</sup> plants (PCA and SIMCA),<sup>22</sup> soils and rocks (SIMCA and PCA),<sup>23</sup> polymeric fractions of scrap from mobile phones (KNN, SIMCA and PLS-DA),<sup>24,25</sup> powdered uranium concentrate (PCA and SIMCA).<sup>26</sup>

This study presents a combination of LIBS emission spectra with classification models. Reference values obtained *via* physical mechanical testing of leather were used to calculate the classification models. These models were established using 3 different chemometric techniques: (1) in the KNN model, the Euclidean distance among samples is used to classify nearest neighbors;<sup>27</sup> (2) in SIMCA, a PCA is calculated for each class;<sup>27</sup> and in (3) PLS-DA, the model must define the dependent variables, and a model is calculated using PLS-factors.<sup>27,28</sup>

Thus, the goal of this study is to evaluate the use of LIBS spectra combined with classification models, KNN, SIMCA and PLS-DA as an alternative to physical and mechanical tests for evaluation the quality of leather.

## Experimental

### Samples and physical mechanical tests

In the experiments, 375 leather samples were used with 60 from sheep and 315 from cattle. These samples were tanned with chromium (semi-finished and finished leather) and obtained

from animals bred at Embrapa Pecuária Sudeste. These animals presented different characteristics, such as genetic group, sex, weight, and age. The experiment was approved by the Animal Research Ethics Committee of Embrapa Pecuária Sudeste (CEUA/PPSE, Protocol No. 04/2011). This committee follows the law number 11794 (October, 08, 2008) that regulates the incise VII of first paragraph of article 225 from the Brazilian Federal Constitution. This law establishes procedures for experiments with live subjects ([http://www.mct.gov.br/upd\\_blob/0238/238343.pdf](http://www.mct.gov.br/upd_blob/0238/238343.pdf)). Other characteristics including the place and year of slaughter were also observed in the data evaluation. A complete description (the intended application purpose, color, process step, *etc.*) of the analyzed samples can be seen in Table 1.

To perform LIBS analysis, each animal leather sample was cut into a rectangle (3.00 cm × 4.00 cm) using a hydraulic press (Metalúrgica Aço real, P-23) with cutting knives.

To obtain reference values for the classification models, all samples were submitted to 18 physical and mechanical tests. These tests were divided in two directions: 9 longitudinal (L) and 9 transversal (T). Samples from L and T directions were obtained parallel to the cranial-caudal axis of the animal, according to ABNT NBR ISO 2418:2015.<sup>6</sup> The tests comprise samples intended to be used in car seats or shoes.

After slaughtering, the skins were subjected to the tanning process and tanned with chromium(III) sulfate. After tanning, six leather test specimens of each skin were collected with razors in a hydraulic press with 3 in the L and 3 in the T directions (ABNT NBR ISO 2418:2015).<sup>6</sup> Before performing the tests, the leather test specimens were conditioned for 48 hours at  $23 \pm 2$  °C and relative humidity of  $50 \pm 5\%$  (ABNT NBR 10455:2014).<sup>29</sup> Then, the thicknesses of the leather test specimens were measured (ABNT NBR ISO 2589:2014).<sup>30</sup> Finally, the physical and mechanical tests were performed using a dynamometer (Maqtest), and four different tests were performed: determination of the tensile strength (ABNT NBR ISO 3376:2014);<sup>31</sup> percentage extension or elongation of leather (ABNT NBR ISO 3376:2014);<sup>31</sup> determination of tear strength, tongue tear of leather (ABNT NBR ISO 3377-1:2014);<sup>32</sup> and tear strength of leather, double hole (ABNT NBR ISO 3377-2:2014).<sup>33</sup> The equipment measures the strength (N) required to break or tear the leather, and using this value and the thickness or area, the resistance is calculated in  $\text{N mm}^{-1}$  or  $\text{N mm}^{-2}$  according to the standards mentioned above. The resistance values were calculated by dividing the strength (N) for tear strength by the thickness (mm) and the tensile strength was calculated by dividing the strength (N) by the area ( $\text{mm}^2$ ).

### LIBS: parameters optimization and analysis

In this study, a J200 LIBS instrument was used (Applied Spectra, Fremont, CA, USA) with Axiom 2.5 software. This instrument is equipped with a Nd:YAG laser emitting at a fundamental wavelength of 1064 nm delivering a maximum of 100 mJ energy in a single laser pulse at a frequency of 10 Hz. A 6-channel CCD spectrometer is used to record the spectral information from 186 to 1042 nm: channel 1: 186 to 309 nm; channel 2: 309 to

**Table 1** Descriptions of the leather samples used in this study

Remarks	Sheep leather	Cattle leather
Intended application	Shoes	Shoes and car seats
Color	Brown (60 samples)	Hazel (17), dark hazel (57), light hazel (112), green (112) and black (17 samples)
Manufacture stage	Finished leather	Semi-finished and finished leather
Year of slaughter	2006	2010 and 2011
Genetic groups <sup>a</sup>	DOR, SIN and SUF	CANE, CASN, CATA, HNE, HSN, and HTA
Age of the animals (days)	104–201	342–725
Weight of the animals (kg)	28.7–41.7	292–579

<sup>a</sup> DOR: Dorper; SIN: Santa Inês; SUF: Suffolk; CANE: father Canchin and mother Nelore; CASN: father Canchin and mother 1/2Senepol + 1/2Nelore; CATA: father Canchin and mother 1/2Angus + 1/2Nelore; HNE: father Hereford and mother Nelore; HSN: father Hereford and mother 1/2Senepol + 1/2Nelore; HTA: father Hereford and mother 1/2Angus + 1/2Nelore.

460 nm; channel 3: 460 to 588 nm; channel 4: 588 to 692 nm; channel 5: 692 to 884 nm; channel 6: 884 to 1042 nm; spectral resolution <0.1 nm from UV to Vis and <0.12 nm from Vis to NIR and the spectra are composed of 12 288 variables. In the experimental setup, three instrumental parameters can be varied: laser energy from 0 to 100 mJ, delay time from 0 to 2  $\mu$ s and spot size from 50 to 250  $\mu$ m. These three parameters were evaluated initially using a full factorial design and later a Doehlert design to establish a commitment condition for all emission lines evaluated.<sup>34</sup>

The full factorial design is used in the first stage of optimization to identify the influence or effect of each variable on the desired response.<sup>35</sup> After the identification of the most important variables, a refinement of the data can be done by adding more levels of the factorial design, using other planning as the design Doehlert. Using this type of design, the variables can be tested in different levels and the most important one can be studied with more details.<sup>35</sup>

The samples were analyzed directly in the ablation chamber without any preliminary treatment. Before the experiments, a cleaning process using several laser pulses was performed. After that, a total of 100 spectra were collected for each sample in raster mode.

In the beginning, the 3 experimental parameters mentioned before were evaluated at two levels using a full factorial design ( $2^3 = 8$  experiments): laser energy (50 and 80 mJ), delay time (0.5 and 1.0  $\mu$ s) and spot size (50 and 100  $\mu$ m). These analyses were performed on the front and back of 15 previously selected representative samples (sheep and cattle leathers). The evaluated responses were the signal-to-background ratio (SBR) for the 5 most intense emission lines for Cr (283.5, 357.8, 359.3, 425.4 and 427.4 nm). Seven effects (3 main effects, 3 secondary effects and 1 tertiary effect) were calculated for each emission line, and their average was

used to rank the influence of the variables in the spectral condition.

After the identification of the order of the most important variables, a Doehlert design was also performed. In this experiment, the variables can be studied at different levels. Table 2 shows the 15 experiments performed for the two samples chosen for optimization, *i.e.*, one cattle leather sample and one sheep leather sample. In this new design, the SBRs and analytical signal intensities were considered for the 5 most intense emission lines for Cr. These data were converted into desirability, and the lower and higher values were coded as 0 and 1, respectively. The 3 first experiments described in Table 2 represent the central point, and they were performed to calculate the sum of the square of the pure error (SSPE). In these 3 experiments, the variables are coded as 0, and the laser energy, delay time and spot size are 50 mJ, 1.0  $\mu$ s and 75  $\mu$ m, respectively. All experiments were performed in aleatory order.

In the optimization, 15 models were calculated (5 for cattle, 5 for sheep and 5 for both) using the 5 most intense Cr emission lines. The parameters of the models were evaluated using an ANOVA (analysis of variance) table. Surface plots were obtained for the calculated models allowing identification of the most adequate conditions for all samples simultaneously.

### Data analysis and classification models

The raw data were normalized by the individual area,<sup>36</sup> averaged over 100 pulses and mean centered. The dataset was organized using Microsoft Excel, and a routine was developed for data normalization using Matlab 2009 (The Math Works, Natick, USA). Aurora software (Applied Spectra) was employed for emission lines identification, and Pirouette 4.5 (Infometrix, Bothell, USA) was used for the data classification models calculation.

The dataset consisted of a matrix with 375 rows  $\times$  12 288 columns, in which the rows represented the leather samples and the columns represented the emission lines (from 186 to 1042 nm). An initial exploratory analysis using PCA was performed to evaluate whether LIBS could differentiate several sample characteristics: colors, type of animal, finished or semi-finished leather, among others. Later, three classification models were proposed for predicting the quality of the leathers: KNN,<sup>27</sup> SIMCA<sup>37</sup> and PLS-DA.<sup>38</sup> Classification and validation datasets were separated using the Kennard–Stone algorithm.<sup>39</sup> The classification set was composed of 80% of the samples, and the validation set was composed of 20% (see details in Table S1, in the ESI†). These classification models combine emission signals that reflect the quality of leather analyzed.

## Results and discussion

### Optimization of LIBS experimental conditions

Initially, three experimental parameters for the LIBS technique were evaluated by full factorial design. Fig. S1 (in the ESI†) shows a probability plot of the seven effects calculated. Using this plot, the most important effects were ranked: delay

**Table 2** Doehlert design performed for optimization of the laser energy, delay time and spot size conditions and the global desirability calculated for each experiment at 359.0 nm

Experiment	Laser energy (mJ)		Delay time ( $\mu$ s)		Spot size ( $\mu$ m)		Global desirability ( $D_g$ ) 359 nm
	Coded	Real	Coded	Real	Coded	Real	
1	0	50	0	1.0	0	75	0.26
2	0	50	0	1.0	0	75	0.33
3	0	50	0	1.0	0	75	0.17
4	1	90	0	1.0	0	75	0.74
5	0.5	70	0.866	1.9	0	75	1.00
6	0.5	70	0.289	1.3	0.817	100	0.71
7	-1	10	0	1.0	0	75	0.00
8	-0.5	30	-0.866	0.1	0	75	0.19
9	-0.5	30	-0.289	0.7	-0.817	50	0.81
10	0.5	70	-0.866	0.1	0	75	0.56
11	0.5	70	-0.289	0.7	-0.817	50	0.74
12	-0.5	30	0.866	1.9	0	75	0.42
13	0	50	0.577	1.6	-0.817	50	0.77
14	-0.5	30	0.289	1.3	0.817	100	0.10
15	0	50	-0.577	0.4	0.817	100	0.33

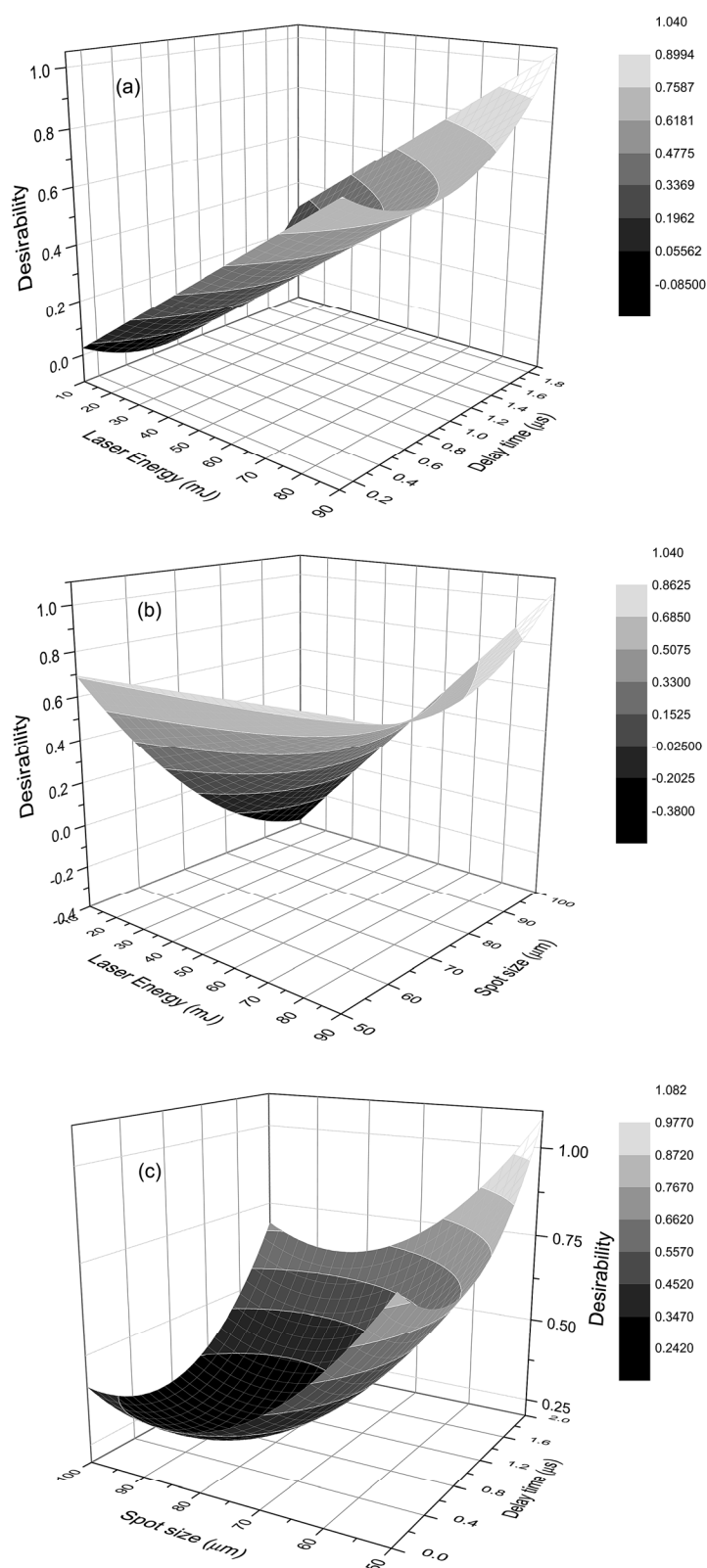


Fig. 1 Surface plots obtained for  $D_g$  from responses obtained at 359 nm: delay time versus laser energy (a), laser energy versus spot size (b) and delay time versus spot size (c).

time (2), laser energy (1), the interactions between laser energy and delay time (12) and the laser energy and spot size (13). High laser energy and low delay time produces positive

effects. The spot size (3) did not have a significant influence, but there are interactions between this variable and the others.



Given these results, a refinement of the data was performed by varying the most important variables with more levels using a Doehlert design (see Table 2). Laser energy was varied across 5 levels (10, 50, 65, 80 and 90 mJ), delay time (the most important variable) across 7 (0, 0.25, 0.5, 0.75, 1.0, 1.5 and 2.0  $\mu\text{s}$ ) and spot size (the least important) across 3 (50, 75 and 100  $\mu\text{m}$ ); the monitored responses were converted to desirability. In this case, the lowest and the highest SBR and intensity were converted to 0 and 1, respectively. In the beginning, calculating a global model was attempted by combining the 5 emission lines monitored in both types of leathers (cattle and sheep), but it was not possible to obtain a valid model. Then, individual models were calculated for each emission line in each type of leather, and only the emission line at 359.0 nm in cattle leather presented a regression model without a lack of fit.

Table 2 also shows the global desirability ( $D_g$ ) calculated at 359.0 nm for each experiment. The generated model (only the valid coefficients) is represented by eqn (1):

$$D_g(359 \text{ nm, cattle}) = 0.31 \pm 0.11 + 0.37 \pm 0.13 \text{ LE} + 0.16 \pm 0.13 \text{ DT} - 0.24 \pm 0.13 \text{ SS} + 0.29 \pm 0.22 \text{ DT}^2 + 0.32 \pm 0.21 \text{ SS}^2 + 0.41 \pm 0.31 \text{ LE} \times \text{SS} \quad (1)$$

where LE, DT and SS are the laser energy, delay time and spot size, respectively.

The significance of this model was evaluated using an ANOVA, and the statistical parameters are presented in Table S2 (in the ESI<sup>†</sup>).

In this model, it is possible to see that there is a strong synergism (this is the highest coefficient in eqn (1)) between the laser energy (LE) and the spot size (SS). The calculated model did not show lack of fit because when the mean of the squares of the lack of fit and the pure error are statistically the same, the calculated  $F$  value (2.26) is lower than the tabulated one (19.3) with a 95% confidence level (see Table S2, in the ESI<sup>†</sup>). The correlation coefficient ( $R^2$ ) was 0.927.

The surface responses obtained from this model are presented in Fig. 1. The laser energy ( $x$ -axis), delay time ( $y$ -axis), and  $D_g$  ( $z$ -axis) are shown in Fig. 1a. The best working conditions are obtained with a laser energy of 90 mJ and a delay time of 1.9  $\mu\text{s}$  (the predicted  $D_g$  is approximately 1). Fig. 1b and c shows the other combinations of the variables (laser energy and spot size and delay time and spot size). Analyzing these figures, it is possible to see that high  $D_g$  is observed when the spot size is 100 or 50  $\mu\text{m}$ .

Thus, a new experiment was performed by keeping the variables already optimized at 90 mJ and 1.9  $\mu\text{s}$  and varying only the spot size to 50 or 100  $\mu\text{m}$ . The spot size of 50  $\mu\text{m}$  showed the best desirability results. Thus, to validate the model, the optimized conditions were also tested for the other 4 Cr emission lines in both types of leather. This condition was compared with the most intense signal previously obtained in the Doehlert design before optimization. In all cases, the signal intensity significantly improved after optimization (see Fig. 2).

In addition, after laser pulse and visual inspection none unusual damage was noted in the samples (see Fig. S2 at ESI<sup>†</sup>).

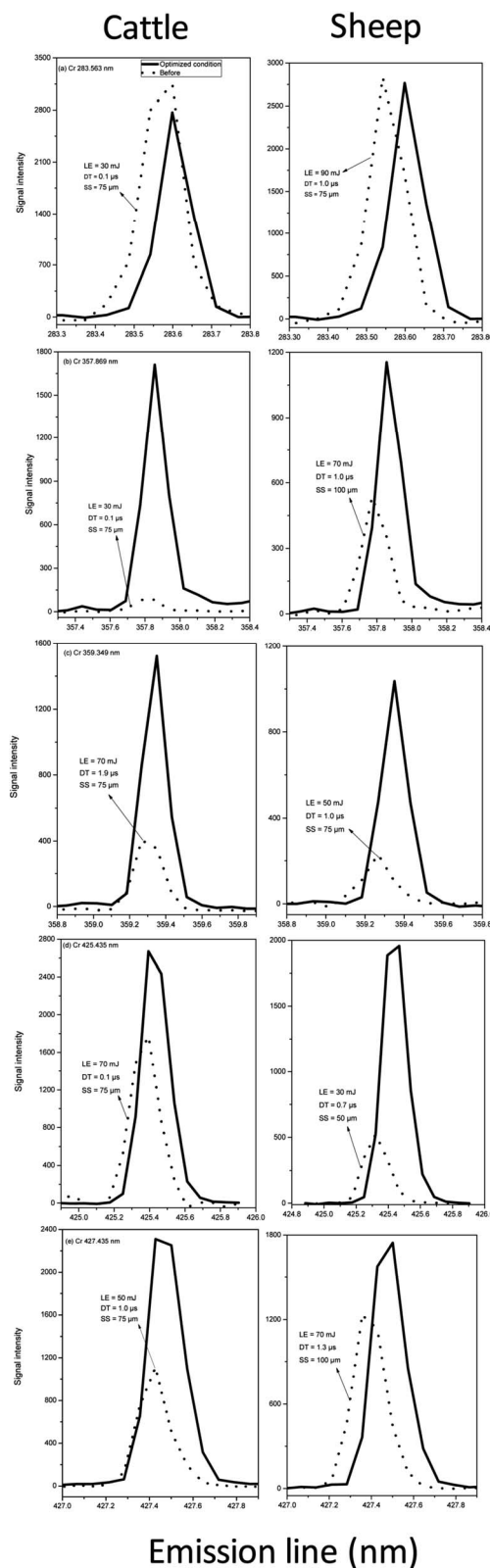


Fig. 2 Emission signals for the 5 most intense Cr lines for leather samples (cattle and sheep) after and before experiments for LIBS parameter optimization.

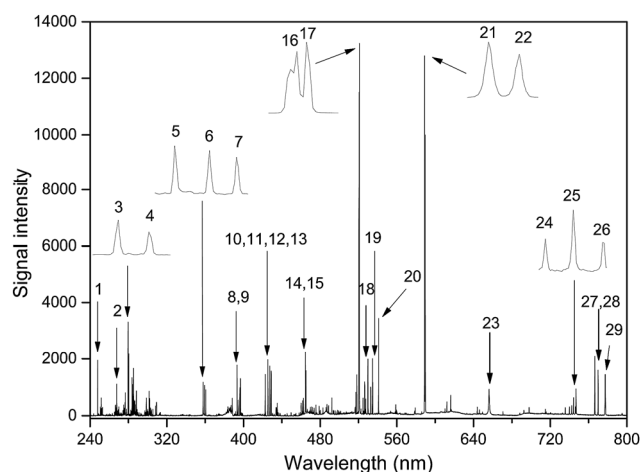


Fig. 3 Typical emission spectra obtained for a leather sample.

It is also important to mention that it is hard to perform a fair comparison among the published paper because different instrumental setups are described. In a paper published in 2011,<sup>18</sup> for example, the energy was 25 mJ, but the laser wavelength was 532 nm. Yet in 2011 Nasr *et al.*<sup>14</sup> published a paper dedicated to the analysis of leather and the laser energy and wavelength were 100 mJ and 1064 nm, respectively. The main advantage of the present study is the fact that now exactly the same experimental conditions can be reproduced worldwide, because a commercial system is used. The calculated irradiance for the operational conditions used was 765 GW cm<sup>-2</sup>.

### Analysis of the leathers

Fig. 3 presents a general description of a representative LIBS spectra obtained from a leather sample (sheep). This spectrum is an average of 100 spectra. The identified and most intense signals are highlighted and numbered from 1 to 29, and their corresponding emission lines are listed in Table 3. The majority of the emission lines identified are from Cr as expected due to

the leather tanning process with chromium(III) sulphate. The most intense emission lines were observed for Cr and Na at 520.8 (peak 17) nm and 588.9 (peak 21), respectively. These two chemical species, as well as others found in the leather samples, are from several chemical reagents added in the tanning processes.<sup>8–11</sup>

In order to evaluate the spectrum reproducibility, several calculations using 100 spectra obtained in raster mode (a line) in a sample were performed. After that, signal height for the following emission lines were calculated (5Cr emission lines): 267.7, 357.8, 359.3, 425.4 and 427.4 nm. Then, 10 ratios were evaluated (267/357, 267/359, 357/359, 425/427, 267/425, 267/427, 359/425, 357/427, 359/427 and 357/425). Fig. S3 (at ESI†) shows box plot graphics for the 10 calculated ratios. As can observe the values are constant and follow a normal distribution.

### Exploratory analysis using PCA

PCA is a tool that allows to project high dimensional data set in a small number of variables (named principal component, PC), allowing to observe differences and verify relations among variables.<sup>27</sup> Two new matrices are generated in a PCA, a loading matrix that represents the weight of the original variables and a score matrix with the projections of the samples.<sup>28</sup>

A PCA analysis was calculated using the obtained data matrix (375 samples and 12 288 variables) with the normalized and mean-centered dataset. Several categories were analyzed, but differences were only observed when the leather color was considered. The scores and loadings for first three principal components were evaluated, and Fig. 4a presents the scores values plot for PC1 for different samples, with 74% of the explained variance, while Fig. 4b presents the loadings plot for PC1 at different wavelengths. The main distinction of the samples as the color is due to the C, Cr and Na with positive values for PC1 and Ca with negative. The other PCs are presented in the ESI, and Fig. S4 and S6† show scores plots for PC2 and PC3, while Fig. S5 and S7 (all in ESI†) show their respective loadings, presenting emission lines that can be associated with the pigments used in the samples.<sup>24</sup>

Table 3 Emission lines (I atomic and II ionic) identified in the analyzed leathers

Identification	Elements	Wavelength (nm)	Identification	Elements	Wavelength (nm)
1	C I	247.8	16	Cr I	520.6
2	Cr II	267.7	17	Cr I	520.8
3	Mg I	279.8	18	Cr I	529.8
4	Mg I	280.1	19	Cr I	534.5
5	Cr I	357.8	20	Cr I	540.9
6	Cr I	359.3	21	Na I	588.9
7	Cr I	360.5	22	Na I	589.5
8	Ca II	393.3	23	H I	656.2
9	Ca II	396.8	24	N I	742.3
10	Ca I	422.6	25	N I	744.2
11	Cr I	425.4	26	N I	746.8
12	Cr I	427.4	27	K I	766.4
13	Cr I	428.9	28	K I	769.8
14	Cr I	464.6	29	O I	777.4
15	Cr I	465.2			



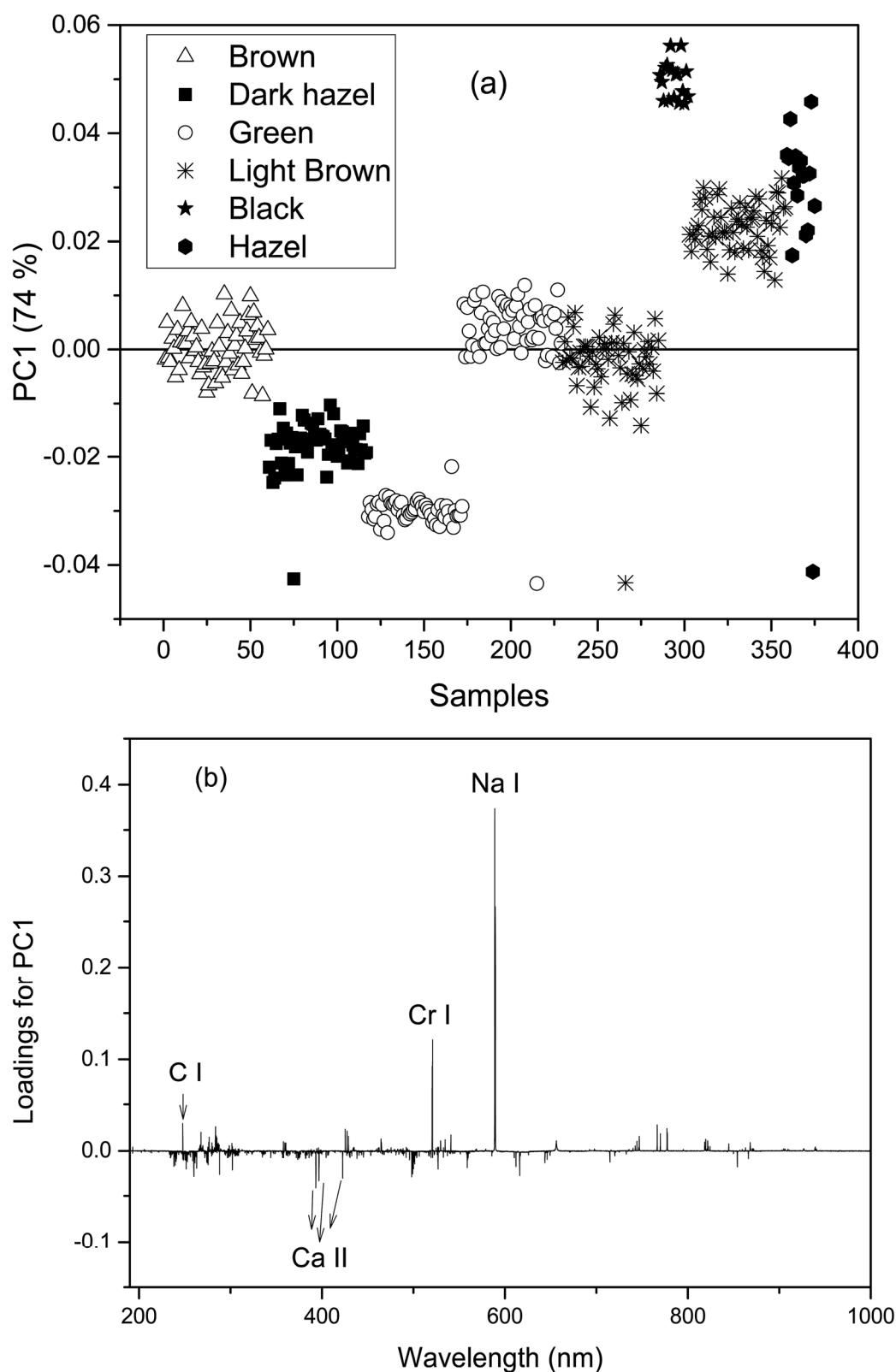


Fig. 4 PC1 scores plot (a) and PC1 loading plot (b) for the leather samples in different colors.

According to Fig. S5 (in the ESI†), Cr and Na have influences on the positive values of PC2, and C, Mg, Cr, Ca and O are responsible for the negative part of PC2. A separation among 6 leather colors can also be seen in Fig. S7 (in the ESI†), where

the elements responsible for the separation are Ca, Na and O for the positive values of PC3 and C, Cr and K for the negative values.

Table 4 Physical and mechanical values obtained from the 9 tests performed in longitudinal (L) and transversal (T) directions

Directions	Performed tests and reference values (ABNT NBR 13525:2016) <sup>40</sup>	Obtained results for sheep (L)	Obtained results for cattle (L)	Obtained results for sheep (T)	Obtained results for cattle (T)	Class 1 specification (L)	Class 2 specification (L)	Class 1 specification (T)	Class 2 specification (T)	
Longitudinal (L) and transversal (T)	Tensile tests (1-4)	Measuring thickness (mm), $1.2 \pm 0.2$ mm	0.87-1.25	1.63-2.25	0.89-1.21	1.61-2.17	0.87-1.91	1.92-2.25	0.89-1.89	1.90-2.17
	Tensile tests (5-7)	Strength (N), $\geq 150$ N	69.6-250	232-938	86.9-269	160-810	69.6-507	509-938	86.9-374	375-810
		Tensile strength ( $N\ mm^{-2}$ )	6.06-23.7	11.2-47.8	7.60-24.4	8.76-41.1	6.06-26.4	26.5-47.8	7.60-19.7	19.8-41.1
		Elongation (%), 40%	40.5-91.9	35.4-121	37.3-87.8	52.7-129	35.4-74.1	74.2-121	37.3-76.2	76.7-129
		Measuring thickness (mm), $1.2 \pm 0.2$ mm	0.86-1.21	1.64-2.47	0.89-1.22	1.66-2.39	0.86-1.92	1.93-2.47	0.89-1.92	1.93-2.39
	Tear tests double hole (8 and 9)	Strength (N), $\geq 25$ N	21.9-51.9	107-535	23.2-58.2	121.6-582	21.9-171	172-535	23.2-181	182-582
		Tear strength ( $N\ mm^{-1}$ )	25.1-46.7	58.7-250	25.9-54.2	61.6-273	25.1-90.5	91.0-250	25.9-95.6	95.9-273
		Measuring thickness (mm), $1.2 \pm 0.2$ mm	—	1.69-2.43	—	1.61-2.42	1.69-1.98	1.99-2.43	1.61-1.98	1.99-2.42
		Strength (N), $\geq 60$ N	—	57.0-270	—	63.3-287	57.0-94.3	94.7-270	63.3-104	105-287

### Classification models proposition

In this part of the study, the samples were divided into two classes. Table 4 presents the specifications elected for each test. These specifications were organized according to ABNT NBR 13525:2016<sup>40</sup> that was recently published and shows orientation values for acceptance of quality leather for physical and chemical testing. These values were used as orientation parameters to establish the classes, and attempts were made to keep 50% of the samples in each class.

For example, tests 1, 5 and 8 are related to the thicknesses of the samples, and the reference value is  $1.2 \pm 0.2$  mm. Sheep and cattle presented values varying from 0.870 to 2.25 mm and 0.890 to 2.17 mm in the longitudinal and transversal directions, respectively. In this case, samples with thickness lower than 1.91 for L and 1.89 for T mm were grouped in class 1.

These classes were then used to calculate classification models using the spectral information obtained by LIBS. Table 5 presents the values obtained when KNN was used to predict class 1 samples. The dataset was divided into calibration and validation, and 4 figures of merit were calculated: accuracy, sensitivity, specificity and false alarm rate. The average accuracy obtained for class 1 in the L direction was 78.8 for calibration and 76.1% for validation. Accuracy represents the percentage of correct predictions of the model. In the case of SIMCA and PLS-DA, the accuracy presented similar results and varied from 71.6 to 80.5% for calibration and validation in the two classes. The sensitivity for class 1 is the ability of the model to correctly predict class 2 samples, and the results ranged from 61.6 to 84.6% for all calculated models. The false alarm rate is the number of incorrect predictions divided by the total number of samples for a specific class. The false alarm rate for the 3 calculated classification models varied from 14.4 to 36.9% for all models. The last figure of merit was the specificity, and this value computes the number of correct predictions for a specific class divided by the total number of samples from the same class. In general, the specificity goes from 61.6 to 84.6%. The ideal situation is accuracy, sensitivity and specificity equal to 100% and false alarm rate equal to 0%.

Tables 5 and 6 show the results for KNN for classes 1 and 2, respectively. Individual models were calculated for each test in the two evaluated directions. The number of selected neighbors varied from 3 to 5. Tables S3-S6 (all in the ESI<sup>†</sup>) shows the results for SIMCA and PLS-DA. In general, the models proposed with PLS-DA were slightly better. Fig. 5 shows a receiver operating characteristics (ROC)<sup>41</sup> curve for test 1 (measuring thickness in tensile tests, see Table 4) in class 1 samples (0.87-1.91 for L and 0.89-1.89 for T) for PLS-DA calibration (Fig. 5a) and validation (Fig. 5b) data sets. The calculated area under the curves varied from 0.74 to 0.76, and the models can be considered fair.

ROC curves for the other tests (from 2 to 9) are shown in Fig. S8-S11 at ESI<sup>†</sup>. In general the area under the curve varied from 0.6 (poor) to 0.9 (good).

Although classification models achieved around 80% correct classification, we believe that the models developed, will be useful for practical applications, because they are easy to implement in

Table 5 Accuracy, sensitivity, false alarm rate and specificity obtained for class 1 of KNN model

Test	Direction	Calibration class 1						Validation class 1				
		Number of samples	Number of neighbors	Accuracy (%)	Sensitivity (%)	False alarm rate (%)	Specificity (%)	Number of samples	Accuracy (%)	Sensitivity (%)	False alarm rate (%)	Specificity (%)
1	L	158	3	78.0	74.6	19.0	81.0	33	81.3	73.8	9.1	90.9
2	L	149	4	65.3	72.2	41.6	58.4	39	61.3	61.1	38.5	61.5
3	L	163	5	68.7	69.3	31.9	68.1	27	62.7	66.7	44.4	55.6
4	L	154	5	77.3	76.7	22.1	77.9	34	73.3	85.4	41.2	58.8
5	L	155	5	79.9	77.8	18.1	81.9	33	73.3	76.2	30.3	69.7
6	L	152	5	83.6	78.9	11.8	88.2	36	81.3	76.9	13.9	86.1
7	L	153	3	84.6	83.6	14.4	85.6	35	80.0	82.5	22.9	77.1
8	L	134	5	79.0	71.2	14.2	85.8	25	81.0	76.3	12.0	88.0
9	L	127	3	92.9	88.8	3.1	96.9	31	90.5	87.5	6.5	93.5
	Average			78.8	77.0	19.6	80.4		76.1	76.3	24.3	75.7
	Median			78.9	76.9	18.5	81.5		78.0	76.3	23.6	76.4
	SD			8.24	6.20	11.36	11.36		9.45	8.49	14.74	14.74
1	T	156	5	77.0	70.1	16.7	83.3	34	77.3	75.6	20.6	79.4
2	T	160	3	69.3	71.4	32.5	67.5	29	76.0	78.3	27.6	72.4
3	T	149	5	70.3	69.5	28.9	71.1	39	69.3	66.7	28.2	71.8
4	T	151	6	91.3	92.6	9.9	90.1	37	85.3	86.8	16.2	83.8
5	T	156	5	80.6	76.2	15.4	84.6	32	84.0	81.4	12.5	87.5
6	T	154	3	77.7	74.7	19.5	80.5	33	83.8	78.0	9.1	90.9
7	T	155	3	82.3	80.6	16.1	83.9	33	81.3	73.8	9.1	90.9
8	T	131	5	76.2	72.7	20.6	79.4	25	79.4	73.7	12.0	88.0
9	T	125	5	93.7	89.8	2.4	97.6	33	92.1	86.7	3.0	97.0
	Average			79.8	77.5	18.0	82.0		80.9	77.9	15.4	84.6
	Median			78.7	75.4	17.3	82.7		81.1	78.0	13.9	86.1
	SD			8.33	8.47	9.07	9.07		6.47	6.47	8.61	8.61

Table 6 Accuracy, sensitivity, false alarm rate and specificity obtained for class 2 of KNN model

Test	Direction	Calibration class 2						Validation class 2				
		Number of samples	Number of neighbors	Accuracy (%)	Sensitivity (%)	False alarm rate (%)	Specificity (%)	Number of samples	Accuracy (%)	Sensitivity (%)	False alarm rate (%)	Specificity (%)
1	L	142	3	78.0	81.0	25.4	74.6	42	81.3	90.9	26.2	73.8
2	L	151	4	65.3	58.4	27.8	72.2	36	61.3	61.5	38.9	61.1
3	L	137	5	68.7	68.1	30.7	69.3	48	62.7	55.6	33.3	66.7
4	L	146	5	77.3	77.9	23.3	76.7	41	73.3	58.8	14.6	85.4
5	L	144	5	79.9	81.9	22.2	77.8	42	73.3	69.7	23.8	76.2
6	L	147	5	83.6	88.2	21.1	78.9	39	81.3	86.1	23.1	76.9
7	L	146	3	84.6	85.6	16.4	83.6	40	80.0	77.1	17.5	82.5
8	L	118	5	79.0	85.8	28.8	71.2	38	81.0	88.0	23.7	76.3
9	L	125	3	92.9	96.9	11.2	88.8	32	90.5	93.5	12.5	87.5
	Average			78.8	80.4	23.0	77.0		76.1	75.7	23.7	76.3
	Median			78.9	81.5	23.1	76.9		78.0	76.4	23.7	76.3
	SD			8.24	11.36	6.20	6.20		9.45	14.74	8.49	8.49
1	T	144	5	77.0	83.3	29.9	70.1	41	77.3	79.4	24.4	75.6
2	T	140	3	69.3	67.5	28.6	71.4	46	76.0	72.4	21.7	78.3
3	T	151	5	70.3	71.1	30.5	69.5	36	69.3	71.8	33.3	66.7
4	T	148	6	91.3	90.1	7.4	92.6	38	85.3	83.8	13.2	86.8
5	T	143	5	80.6	84.6	23.8	76.2	43	84.0	87.5	18.6	81.4
6	T	146	3	77.7	80.5	25.3	74.7	41	83.8	90.9	22.0	78.0
7	T	144	3	82.3	83.9	19.4	80.6	42	81.3	90.9	26.2	73.8
8	T	121	5	76.2	79.4	27.3	72.7	38	79.4	88.0	26.3	73.7
9	T	127	5	93.7	97.6	10.2	89.8	30	92.1	97.0	13.3	86.7
	Average			79.8	82.0	22.5	77.5		80.9	84.6	22.1	77.9
	Median			78.7	82.7	24.6	75.4		81.1	86.1	22.0	78.0
	SD			8.33	9.07	8.47	8.47		6.47	8.61	6.47	6.47

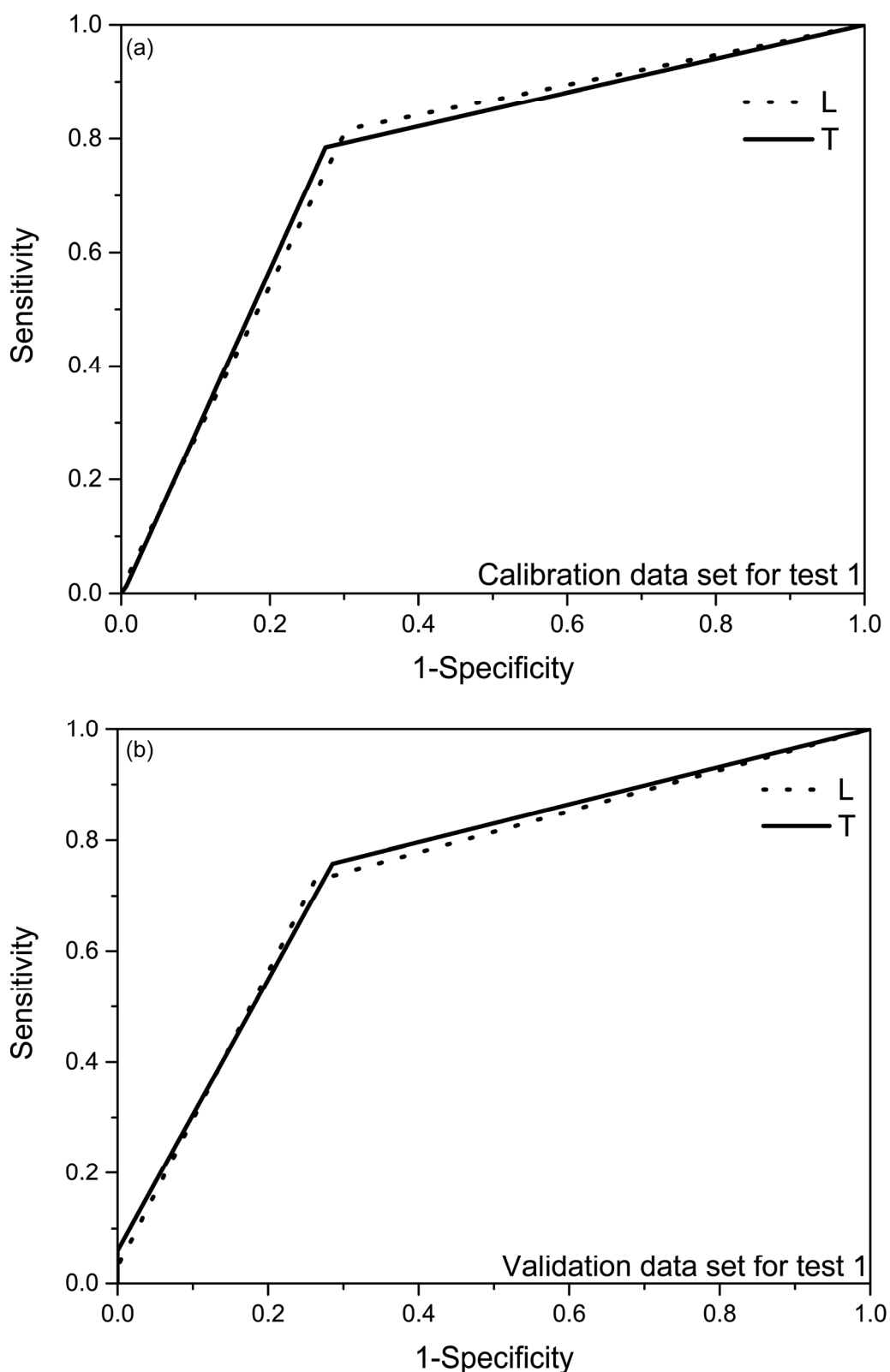


Fig. 5 ROC curves for class 1 samples in PLS-DA calibration (a) and validation (b) data sets (see test identification in Table 4). Solid and dotted lines represents tests performed in transversal (T) and longitudinal (L) directions, respectively.

industrial field and can offer preliminary results. In addition, suspicious values can be further confirmed with standard methods. Whereas traditional testing to ensure the quality of the

leather is too laborious, time-consuming and requires large amount of leather, so the leather used in the tests will be destroyed and discarded, thus reducing its economical value. In

addition, generally physical and mechanical tests are performed in private laboratories, adding higher production costs, thus prevents a quality control more strictly, because only a small part of the leathers will be submitted to the tests. In this case, around 80% of correct classification should be enough. Using LIBS alternatively coupled to a classification model, the analysis could be made in the tannery itself with a portable LIBS, for example. This approach can present a high analytical frequency without damaging the leather, which can be further commercialized (without it being necessary to cut pieces). Finally, the proposed method can increase profit at the time of sale, in addition as it takes only a few seconds for analysis, this way all leathers could be inspected, and determine the quality of 100% of leather produced and not just a fraction as is usually done.

## Conclusions

Classification models (KNN, SIMCA and PLS-DA) were developed using LIBS emission spectra and associated with physical mechanical tests on leather as reference values. The predictive abilities of the models were similar, showing that three models can be used to predict leather quality for sheep and cattle satisfactorily. The models generate concordant predicted results with the reference values for the physical mechanical tests in both evaluated directions, demonstrating the potential of using this tool in combination with LIBS to predict the quality of sheep and cattle leathers using a single model. The proposed method is fast, and no chemical residues are generated.

## Acknowledgements

This study was supported by the São Paulo Research Foundation (FAPESP, process 2015/14488-0), Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa, 02.03.1.16.00.08) and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, 506119/2008-4, 401074/2014-5 and 305637/2015-0).

## Notes and references

- 1 E. Alptekin, M. Canakci and H. Sanli, *Fuel*, 2012, **95**, 214–220.
- 2 M. J. Ferreira, M. F. Almeida, S. C. Pinho and I. C. Santos, *Waste Manage.*, 2010, **30**, 1091–1100.
- 3 S. Dixit, A. Yadav, P. D. Dwivedi and M. Das, *J. Cleaner Prod.*, 2015, **87**, 39–49.
- 4 G. L. Scheffler and D. Pozebon, *Anal. Methods*, 2015, **7**, 5180–5185.
- 5 International Organization For Standardization–ISO 2419, *Leather–Physical and mechanical tests–Sample preparation and conditioning*, Geneva, 2006, p. 3.
- 6 Associação Brasileira De Normas Técnicas–ABNT NBR ISO 2418:2015, *Leather–Chemical, physical and mechanical and fastness test–Sampling Location*, Rio de Janeiro, 2015, p. 7.
- 7 D. C. Deselnicu, *Leather and Footwear Journal*, 2010, **10**, 13–30.
- 8 A. Aslan and N. O. Üzümlü, *Tekstil ve Konfeksiyon*, 2015, **25**, 33–37.
- 9 H. A. Karavana, B. Başaran, A. Aslan, B. O. Bitlisli and G. Gülümser, *Tekstil ve Konfeksiyon*, 2011, **3**, 305–310.
- 10 A. Aslan, *Bull Environ. Contam. Toxicol.*, 2009, **82**, 633–638.
- 11 S. Okoh, D. J. Adeyemo, R. A. Onoja and S. A. Arabi, *Int. J. Appl. Sci. Technol.*, 2013, **3**, 101–105.
- 12 P. Budrugaec, A. Cucos and L. Miu, *J. Therm. Anal. Calorim.*, 2011, **104**, 439–450.
- 13 R. Cantero, J. R. Riba, T. Canals, L. L. Izquierdo and H. Iturriaga, *J. Soc. Leather Technol. Chem.*, 2008, **93**, 12–17.
- 14 M. M. Nasr, M. A. Gondal and Z. S. Seddigi, *Environ. Monit. Assess.*, 2011, **175**, 387–395.
- 15 R. Cantero, T. Canals and H. Iturriaga, *Talanta*, 2007, **71**, 1690–1695.
- 16 Q. Godoi, F. O. Leme, L. C. Trevizan, E. R. Pereira-Filho, I. A. Rufini, D. Santos Jr and F. J. Krug, *Spectrochim. Acta, Part B*, 2011, **66**, 138–143.
- 17 M. J. C. Pontes, J. Cortez, R. K. H. Galvão, C. Pasquini, M. C. U. Araújo, R. M. Coelho, M. K. Chiba, M. F. Abreu and B. E. Madari, *Anal. Chim. Acta*, 2009, **642**, 12–18.
- 18 A. K. Myakalwar, S. Sreedhar, I. Barman, N. C. Dingari, S. V. Rao, P. P. Kiran, S. P. Tewari and G. M. Kumar, *Talanta*, 2011, **87**, 53–59.
- 19 M. R. Martelli, F. Brygo, A. Sadoudi, P. Delaporte and C. Barron, *J. Agric. Food Chem.*, 2010, **58**, 7126–7134.
- 20 M. Hoehse, A. Paul, I. Gornushkin and U. Panne, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2012, **402**, 1443–1450.
- 21 C. A. Munson, F. C. Lucia Jr, T. Piehler, K. L. McNesby and A. W. Miziolek, *Spectrochim. Acta, Part B*, 2005, **60**, 1217–1224.
- 22 F. M. V. Pereira, D. M. B. P. Milori, A. L. Venancio, M. S. T. Russo, P. K. Martins and J. Freitas-Astua, *Talanta*, 2010, **83**, 351–356.
- 23 P. M. Mukhono, K. H. Angeyo, A. Dehayem-Kamadjeu and K. A. Kaduki, *Spectrochim. Acta, Part B*, 2013, **87**, 81–85.
- 24 F. W. B. Aquino and E. R. Pereira-Filho, *Talanta*, 2015, **134**, 65–73.
- 25 F. W. B. Aquino, J. M. Santos, R. R. V. Carvalho, J. A. O. Coelho and E. R. Pereira-Filho, *RSC Adv.*, 2015, **5**, 67001–67010.
- 26 J. B. Sirven, A. Pailloux, Y. M'Baye, N. Coulon, T. Alpettaz and S. Gossé, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2009, **24**, 451–459.
- 27 M. M. C. Ferreira, *Quimiometria: conceitos, métodos e aplicações*, Unicamp, Campinas, 2015.
- 28 D. Custers, S. Vandemoortele, J. L. Bothy, J. O. De Beer, P. Courselle, S. Apers and E. Deconinck, *Drug Test. Anal.*, 2016, **8**, 378–387.
- 29 Associação Brasileira De Normas Técnicas–ABNT NBR 10455:2014, *Climate of materials used in footwear and related articles manufacture*, Rio de Janeiro, 2014, p. 2.
- 30 Associação Brasileira De Normas Técnicas–ABNT NBR ISO 2589:2014, *Leather–Physical and mechanical tests–Determination of thickness*, Rio de Janeiro, 2014, p. 2.
- 31 Associação Brasileira De Normas Técnicas–ABNT NBR ISO 3376:2014, *Leather–Physical and mechanical tests–Determination of tensile strength and percentage extension*, Rio de Janeiro, 2014, p. 5.

- 32 Associação Brasileira De Normas Técnicas–ABNT NBR ISO 3377-1:2014, *Leather–Physical and mechanical tests–Determination of tear load, Part 1: Single edge tear*, Rio de Janeiro, 2014, p. 4.
- 33 Associação Brasileira De Normas Técnicas–ABNT NBR ISO 3377-2:2014, *Leather–Physical and mechanical tests–Determination of tear load Part 2: Tear double-edged*, Rio de Janeiro, 2014, p. 3.
- 34 S. L. C. Ferreira, W. N. L. Santos, C. M. Quintella, B. B. Neto and J. M. Bosque-Sendra, *Talanta*, 2004, **63**, 1061–1067.
- 35 M. C. Breitzkreitz, A. M. Souza and R. J. Poppi, *Quim. Nova*, 2014, **37**, 564–573.
- 36 J. P. Castro and E. R. Pereira-Filho, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2016, **31**, 2005–2014.
- 37 M. M. C. Ferreira, *J. Braz. Chem. Soc.*, 2002, **13**, 742–753.
- 38 D. Ballabio and V. Consonni, *Anal. Methods*, 2013, **5**, 3790–3798.
- 39 M. Daszykowski, B. Walczak and D. L. Massart, *Anal. Chim. Acta*, 2002, **468**, 91–103.
- 40 Associação Brasileira De Normas Técnicas–ABNT NBR 13525:2016, *Physical and chemical testing of leather–orientation values for acceptance of leather*, Rio de Janeiro, 2014, p. 10.
- 41 C. D. Brown and H. T. Davis, *Chemom. Intell. Lab. Syst.*, 2006, **80**, 24–38.

# Determination of toxic metals in leather by wavelength dispersive X-ray fluorescence (WDXRF) and inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES) with emphasis on chromium

Ariane Maciel Neiva · Marco Aurelio Sperança · Vinicius Câmara Costa · Manuel Antonio Chagas Jacinto · Edenir Rodrigues Pereira-Filho 

Received: 31 July 2018 / Accepted: 18 September 2018  
© Springer Nature Switzerland AG 2018

**Abstract** The tanning industry is one of the largest environmental pollutants due to high generation waste in all production processes, but the tanning is particularly worrisome due to the use of significant amounts of chromium. Cr is an element potentially toxic to both health and the environment, depending on the concentration and the oxidation state. Cr(VI) can come in contact with human skin when using leather goods, which can cause allergies and dermatitis, besides being carcinogenic. Considering that approximately 90% of the world production of leather is performed with Cr salts, the determination of this element in leather is necessary to avoid exposure to the risks that the element can provide. The main goal of this study was the development of an alternative analytical method for the determination of Cr in leathers (ovine and bovine leather tanned with Cr and vegetable tannin) using wavelength dispersive X-ray fluorescence (WDXRF) for direct solid

analysis. Besides performing analysis of the chemical composition and determination of Al, As, Ba, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, Mg, Ni, Pb, Sb, Sr, Ti, and Zn in leather by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES). Principal component analysis (PCA) was also used in the evaluation of the WDXRF and ICP OES data sets. WDXRF calibration models for Cr presented satisfactory figures of merit and the analysis of the leathers revealed an alarming concentration of total Cr in the samples reaching 21,353 mg kg<sup>-1</sup>.

**Keywords** Cr · Wavelength dispersive X-ray fluorescence (WDXRF) · Leather · Direct solid analysis · Inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP OES) · Laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS)

**Electronic supplementary material** The online version of this article (<https://doi.org/10.1007/s10661-018-6990-y>) contains supplementary material, which is available to authorized users.

A. M. Neiva · M. A. Sperança · V. C. Costa · E. R. Pereira-Filho (✉)  
Grupo de Análise Instrumental Aplicada (GAIA), Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, São Paulo State 13565-905, Brazil  
e-mail: erpf@ufscar.br

A. M. Neiva · M. A. C. Jacinto  
Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, São Paulo State 13560-970, Brazil

## Introduction

The tannery industry was one of the earliest industrial activities developed by man (George et al. 2014) and currently provides significant contributions to the world economy. The processing of skins in leathers occurs during the tanning step, where the raw material is converted to a permanent and stable product (Thanikaivelan et al. 2004). This stage is possible with the help of tanning agents, metal sulfates, such as Cr, Al, Ti, and vegetable tannins (Quebracho, Mimosa, Almond, Tara). In finishing operations, pigments, solvents, oils, colorants, and coating products are added to give shine and



softness (esthetic value) to the leather (Scheffler and Pozebon 2015; Thanikaivelan et al. 2004).

During each stage of the tanning process, a large amount of waste water, solid wastes, volatile organic compounds, and hazardous chemicals are generated (Dixit et al. 2015). These residues are responsible for causing environmental impacts on soil, vegetation, rivers, and sediments, contributing strongly to total dissolved solids, chemical oxygen demand, sulfates, chlorides, gaseous emissions, and toxic metals in the environment (Dixit et al. 2015). In addition, in each step of tanning processes, toxic elements can be incorporated into the leather (Aslan 2009; Aslan and Üzüüm 2015; Karavana et al. 2011; Okoh et al. 2013; Scheffler and Pozebon 2015).

The determination of the concentration of toxic elements in leathers is necessary for quality control of the finished product, mainly because each type of tanning provides higher concentration of toxic metals depending on the type of chemical products used. During the leather tanned with Cr,  $\text{Cr}(\text{OH})\text{SO}_4$  is the most common tanning agent. This type of tanning process is more worrisome because high concentration of Cr causes environmental and human health concerns such as dermatitis and allergies (Miksche and Lewalter 1997). In addition, Cr used in leather manufacturing can be oxidized (Fuck et al. 2011) from Cr(III), an essential element for physiological functions (Miksche and Lewalter 1997), to immunogenic, genotoxic and carcinogenic Cr(VI) (Jerschow et al. 2001).

The three most common metals to cause allergy in the general population are Ni, Co, and Cr, and it is estimated that up to 1–3% are allergic to Cr (Thyssen and Menné 2010), that derives mainly from two types of exposition, cement and leather goods. In the last years, Cr(VI) allergy is currently increasing among Danish dermatitis patients due to leather exposure (Hedberg et al. 2014). In a study performed by German Federal Institute for Risk Assessment, it was verified that leather goods like gloves, shoes, or watch straps which come into direct contact with the skin contain high levels of Cr(VI). The study were performed during 6 years and Cr(VI) was detected in more than half of the 850 samples analyzed, and in one sixth of them, the levels were found higher than  $10 \text{ mg kg}^{-1}$  (Bundesinstitut für Risikobewertung 2007). At a level of  $5 \text{ mg kg}^{-1}$  of Cr(VI), half of the sensitized individuals evaluated presented allergic skin reactions (Bundesinstitut für Risikobewertung 2007), these values exceeding the

limit of 3 mg per kg according to recommendations of the ISO 17075 standard (Hedberg et al. 2014; ISO 17075 2007).

Leather industry is one of the major sources for contribution of Cr to the environment (Kumar et al. 2014). Studies dedicated to determination of Cr in leather industry wastewater (Venezia et al. 2008), polluted soil (Gondal et al. 2009), soils near leather industry (Gitet et al. 2013), soil and plant from leather tanning area (Kumar et al. 2014), blood and urine of 44 workers of leather industries (Mignini et al. 2004), and leather (Hedberg et al. 2014; Zhao et al. 2015) have been performed and prove alarming concentrations of total Cr up to  $34,246 \text{ mg kg}^{-1}$  (Cr-tanned leather) (Zhao et al. 2015); thus, analytical procedures that are able to determine toxic metals with special emphasis on Cr in leather are necessary, mainly considering the environmental and toxicological effects of the element. Analytical methods for leather analysis normally employs mineralization with acids using inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES) (Aslan 2009; Aslan and Üzüüm 2015; Karavana et al. 2011) and microwave-induced plasma optical emission spectrometry (MIP OES) (Zhao et al. 2015). In addition, thermal analysis (Bañón et al. 2016; Budrugaec et al. 2011; Sebestyén et al. 2015) has also been employed.

Although the techniques previously mentioned are well consolidated in analytical laboratories, in all cases, sample destruction occurs before or during the analysis. Direct analysis techniques have been rarely quantitatively studied regarding their determination of analytes in leathers. Only a few studies have been published, such as the determination of As, Ca, Cr, Mg, Pb, and S by laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) in fully manufactured, wet blue, and natural leathers (Nasr et al. 2011) or the determination of  $\text{SiO}_2$ ,  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ,  $\text{K}_2\text{O}$ , CaO,  $\text{TiO}_2$ , ZnO,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{SO}_3$ , HgO, and  $\text{P}_2\text{O}_5$  by X-ray fluorescence (XRF) in ancient leathers from the sixth century B.C. (Luo et al. 2011).

Wavelength dispersive X-ray fluorescence (WDXRF) is an attractive technique that does not destroy samples, only a small amount of it is necessary, is multi-elementary, and performs fast analysis. XRF has been used in many leather analysis studies, but most had a qualitative approach (Chaplin et al. 2010; Gómez-morón et al. 2016; Mannina and Lombardo 2013; Nakano et al. 2011; Sano and Suzuki 2009; Vornicu et al. 2015); thus, quantitative methods for direct leather analysis need to be developed.



The main goal of this study was to evaluate and validate WDXRF as candidate technique for direct solid analysis for, mainly, the determination of Cr in leather, the calibration models were proposed taking into account the standard error of validation (SEV). In addition, concentration of essential and toxic hazards elements (Al, As, Ba, Ca, Cd, total Cr, Cu, Fe, Mg, Ni, Pb, Sb, Sr, Ti, and Zn) was determined in leather samples tanned with Cr salts and with vegetable tannin using ICP OES and Cr(VI) was determined using UV–Vis spectroscopy. Leather also was discriminated and classified based on their chemical composition with a chemometric approach based in concentrations obtained by ICP OES and spectra obtained with direct analysis by WDXRF. Complementary experiments also were performed by LIBS (Costa et al. 2018) in a qualitative exploratory analysis.

## Experimental

### Samples

Sixty leather samples were analyzed in the experiments (24 from ovine and 36 from bovine). The leathers were tanned with Cr salts (50 samples) and with vegetable tannin (10 samples), including leather of 9 different colors. This sample variability provides more confidence in the generated models. These leathers were obtained from animals bred at Embrapa Pecuária Sudeste, and the experiments were approved by the Animal Research Ethics Committee of Embrapa Pecuária Sudeste (CEUA/CPPSE, Protocol No. 04/2011 and PRT 02/2015). This committee follows law number 11794 (October 08, 2008) that regulates incise VII of the first paragraph of article 225 from the Brazilian Federal Constitution. This law establishes the procedures for experiments with live subjects ([http://www.mct.gov.br/upd\\_blob/0238/238343.pdf](http://www.mct.gov.br/upd_blob/0238/238343.pdf)). A detailed description of the samples is shown in Table 1. Leather samples were cut in a hydraulic press (Metalúrgica Aço real, P-23) with cutting knives (3.0 cm × 4.0 cm) before LIBS and WDXRF analyses.

Determination of Al, As, Ba, Ca, Cd, total Cr, Cu, Fe, Mg, Ni, Pb, Sb, Sr, Ti, and Zn in leather using ICP OES

Experiments were performed using an iCAP 6000 ICP OES spectrometer (Thermo Fisher, Madison, WI, USA)

using axial and radial viewings and argon (99.996%, White Martins-Praxair, Sertãozinho, SP, Brazil) for elemental analysis. Table 2 presents the instrumental conditions and the emission lines used in the determinations using ICP OES.

The leather samples were cut into small pieces (around 5 by 5 mm) with a ceramic knife before analysis and were not ground to prevent contamination by metals from the mill blades. A digester block with PFA-closed vessels (perfluoroalkoxy, Savillex, MN, USA) of 50 mL and equipped with 24 vessels was used for sample mineralization. Samples were digested in triplicate according to the following procedure adapted from Scheffler and Pozebon (2015): 0.200 g of leather was weighed and transferred to the PFA vessel; 3.0 mL of 65% w/w HNO<sub>3</sub> (Synth, Diadema, SP, Brazil) was added and kept overnight for approximately 16 h; on the next day, 3.0 mL of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30% w/w (Synth, Diadema, SP, Brazil) was added, and the solution was heated at 100 °C for 180 min.

After digestion, the resulting extracts were filtered through quantitative filter paper with slow filtration for fine precipitates (Unifil, Germany), and a final volume of 30 mL was achieved using deionized water (resistivity > 18.2 MΩ.cm). Nitric acid was previously purified using a sub-boiling distillation system, Distillacid™ BSB-939-IR (Berghof, Eningen, Germany).

Aqueous multi-element standard solutions were prepared from stock standard solutions of 1000 mg L<sup>-1</sup> (Fluka Analytical, Buchs SG, Qhemis, Switzerland) and used to construct calibration curves. All glassware and polypropylene flasks were washed and kept in 10% v/v HNO<sub>3</sub> for 24 h.

This procedure was used for the determination of Al, As, Ba, Ca, Cd, total Cr, Cu, Fe, Mg, Ni, Pb, Sb, Sr, Ti, and Zn in the leather samples. Other digestion mixtures, such as aqua regia and 50% HNO<sub>3</sub>, were also tested; however, insoluble residues remained in the resulting extract solution, indicating incomplete mineralization. The literature presents an official method (ISO 17072-2 2014) that employs a 3:1:1 acidic mixture of HNO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, and HClO<sub>4</sub>, respectively, for the decomposition of 1.00 g of leather. This method is not recommended for the determination of Cr in Cr-tanned leather. In this case, other official method can be employed using the same acidic mixture (ISO 5398-4 2007). However, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> makes it difficult to analyze using ICP OES due to of instrumental interference from the sample related to high viscosity when compared with other

**Table 1** Description of the leather samples used in the experimental part

Sample number identification	Leather type	Tanning type	Color
1–4	Bovine	Chromium	Dark hazel
5–14	Bovine	Chromium	Green
15–18	Bovine	Chromium	Black
19–24	Bovine	Chromium	Light hazel
25, 26, 32, 42, 44, 45, 47, 48, 58	Ovine	Chromium	Light blue
27–31, 40, 41, 43, 46, 49	Ovine	Chromium	Dark blue
33, 35, 37, 57, 60	Ovine	Vegetable tannin	Yellow
34, 36, 38, 39, 59	Ovine	Vegetable tannin	Beige
50–56	Ovine	Chromium	Brown

acids. In addition the remaining  $\text{SO}_4^{2-}$  in solution can increase emission background from molecular species, such as  $\text{SO}$ ,  $\text{SO}_2$ , and  $\text{S}_2$  (Scheffler and Pozebon 2015). Furthermore,  $\text{HClO}_4$  is potentially dangerous and should be avoided when possible. Therefore, the  $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$  mixture was employed for the digestion of the samples.

Due to the high concentration of Cr in the samples tanned with salts with this element, it was necessary to perform an additional 4-fold dilution; however, the leather samples tanned with vegetable tannin presented significantly lower concentrations of Cr, and no further dilution was required. To accommodate all the samples, a Cr calibration curve from 0.005 to 60  $\text{mg kg}^{-1}$  was performed.

Standard solutions were added to 30 samples before digestion to evaluate the recovery of the adopted analytical procedure; thus, were added 1.0  $\text{mg kg}^{-1}$  of Al, Fe, Mg, Sb; 0.5  $\text{mg kg}^{-1}$  of Ba, Pb, Zn, As, Cd, Ni, Sr, Ti, Cu; 5.0  $\text{mg kg}^{-1}$  of Ca to samples. In the case of Cr, 70  $\text{mg kg}^{-1}$  was added to the samples tanned with this element and 0.5  $\text{mg kg}^{-1}$  of Cr to the samples tanned with vegetable tannin. This procedure was elected due to the fact that no leather certified material is commercially available. In order to avoid acid dilution, the analytes added were divided in several samples.

In addition, determination of Cr(VI) in the leathers was performed using a spectrophotometer (Thermo Fisher, Shanghai, China), in 540 nm wavelength and a quartz cuvette with 1 cm of

**Table 2** Operational parameters for ICP OES determinations

Instrument parameter	Operational conditions
Radio frequency applied power (kW)	1.15
Integration time for low emission line (s)	15
Integration time for high emission line (s)	5
Sample introduction flow rate ( $\text{mL min}^{-1}$ )	2.1
Pump stabilization time (s)	5
Argon auxiliary flow rate ( $\text{L min}^{-1}$ )	0.5
Argon plasma flow rate ( $\text{L min}^{-1}$ )	12
Argon nebulizer flow rate ( $\text{L min}^{-1}$ )	0.7
Replicates	3
Elements and wavelengths (nm); view modes: axial and radial <sup>a</sup> , only axial <sup>b</sup> , only radial <sup>c</sup>	Al 308.215 <sup>a</sup> (I), As 193.759 <sup>b</sup> (I), Ba 233.527 <sup>c</sup> (II), C 193.091 <sup>a</sup> (I), Ca 317.933 <sup>a</sup> (II), Cd 226.502 <sup>a</sup> (II), Cr 267.716 <sup>a</sup> (II), Cu 327.396 <sup>b</sup> (I), Fe 238.204 <sup>a</sup> (II), Mg 279.559 <sup>a</sup> (II), Ni 231.604 <sup>b</sup> (II), Pb 220.353 <sup>a</sup> (II), Sb 206.833 <sup>b</sup> (I), Sr 228.200 <sup>c</sup> (II), Ti 336.121 <sup>c</sup> (II), Zn 202.548 <sup>a</sup> (II).

I, atomic lines; II, ionic lines

optical path. The adopted procedure was previously proposed by Oliveira et al. (2013).

### WDXRF analysis and calibration

All samples were directly analyzed using a Perform-X ARL wavelength dispersive X-ray fluorescence instrument (Thermo Fischer, Madison, WI, USA). The samples were irradiated with X-ray emission provided by a Rh tube with a maximum of 4200 W. Moreover, the X-rays emitted from the electronic transitions of the elements present in the samples are recorded by the optical section of the equipment, passing first through collimators, and then they are reflected by specific crystals. Finally, the detectors register the counts per second of the X-ray emission lines that correspond to each crystal used. There are five crystals that can be used in the wavelength dispersion, and the choice is based on which crystal can disperse the characteristic wavelength from the element studied. The instrument is also equipped with four different collimators (0.15, 0.40, 1.00, and 2.60 mm) and two detectors: a flow proportional counter (FPC) and a scintillation counter (SC). For all elements evaluated in this study, only the electronic transition,  $K\alpha$ , was considered.

In order to build univariate calibration models, Microsoft Excel was used for data organization and calculations. MATLAB version 2017b (The Mathworks, Natick, MA, USA) was used to calculate signal-to-background ratio (SBR), signal area, and height for WDXRF spectra obtained for Al, Ca, Cr, Fe, Ti, and Zn. These elements were chosen based in the results of concentrations obtained previously by ICP OES and considering the sensitivity of WDXRF.

Calibration models were calculated using signal area and height for each six mentioned analytes. The predictive capabilities of WDXRF were based on SEV for all tested elements and the lowest values were used to select the best regression models (Augusto et al. 2017). The dataset composed by 60 samples was split in 40 samples for calculation of calibration models and 20 samples for validation. These samples were chosen at random.

The SEV values were calculated according to Eq. 1:

$$SEV = \sqrt{\frac{\sum(y_i - \hat{y}_i)^2}{n-1}} \tag{1}$$

where  $y_i$  is the reference concentration determined by ICP OES,  $\hat{y}_i$  is the predicted analyte concentration for dataset validation, and  $n$  is the number of samples used in the validation data set (20 in this case) (Augusto et al. 2017).

Limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) for WDXRF were calculated according to IUPAC recommendations (IUPAC 2017). The three sigma IUPAC method was used to express LOD values, and LOQ was estimated as 3.3-fold the LOD values. LOD and LOQ were calculated using the standard deviation (SD) of square root of the sum of the variance of the noise signal near each analyte signal. This process was repeated for each analyte. Analytes concentrations obtained after sample digestion and ICP OES determinations were used as reference values to calculate the WDXRF calibration models.

### Principal component analysis

Exploratory analysis using PCA was calculated to evaluate the three techniques used in this study (ICP OES, LIBS, and WDXRF) considering its abilities to differentiate the samples according to the type of leather (ovine and bovine), type of tanning (Cr or vegetable tannin), and color of the leather.

The first PCA was obtained using a data matrix of 60 samples (rows) and the average concentration of each analyte, except Cd because was below LOD (14 columns), as determined using ICP OES. As discrete variables (concentrations) were employed, the data set was autoscaled. In this case, the average and standard deviation of each analyte were calculated. The original values were subtracted and divided by the average and standard deviation, respectively. The variables in the autoscaled matrix have average and standard deviation 0 and 1, respectively.

A complementary analysis was performed using the LIBS technique to evaluate the spectral profile of the studied leathers with a qualitative approach. LIBS experiments were conducted using a J200 (Applied Spectra, Fremont, CA, USA) Q-switched Nd:YAG laser at 1064 nm and 100 spectra were recorded for each sample in raster mode. The instrumental conditions used were a laser pulse energy, spot size, and delay time of 90 mJ, 50  $\mu$ m, and 1.9  $\mu$ s, respectively (Neiva et al. 2016; Neiva and Pereira-Filho 2018). The second PCA was calculated using a data matrix composed by 60 samples (rows) and 12,288 variables (columns) obtained from

the LIBS spectra (emission lines from 186 to 1042 nm). The dataset was normalized by individual area and mean-centered.

The third PCA was calculated using a data matrix of 60 samples (rows) and 450 variables (columns) obtained via WDXRF spectra, and the dataset was only mean-centered. Pirouette version 4.5 (Infometrix, Bothell, WA, USA) was used for all PCA calculations.

## Results and discussion

Determination of Al, As, Ba, Ca, Cd, total Cr, Cu, Fe, Mg, Ni, Pb, Sb, Sr, Ti, and Zn in leather by ICP OES

The concentration (mean  $\pm$  standard deviation,  $n = 3$ ) of elements determined in the samples after digestion is shown in Tables S1 and S2 in the Supplementary Material and their ranges of concentrations were in milligrams per kilogram: 94–1011 for Al; < LOD–13 for As; < LOD–40 for Ba; < LOD–3348 for Ca; < LOD for Cd; 10–23,407 for total Cr; < LOD–15 for Cu, 32–831 for Fe; < LOD–1126 for Mg, < LOD–5 for Ni, < LOD–25 for Pb, 31–318 for Sb; < LOD–9 for Sr, < LOD–6 for Ti, and < LOD–186 for Zn.

These concentrations are comparable to the results obtained by other studies dedicated to leather analysis that also used ICP OES (Aslan 2009; Aslan and Üzümlü 2015; Karavana et al. 2011) with the exception of As and Cd because values were below those found in the literature (< LOD–0.74 for As and < LOD–1.76 mg kg<sup>-1</sup> for Cd).

As expected, the Cr concentrations were extremely high in the leather samples tanned with salts that present this element, ranging from 8775 to 23,407 mg kg<sup>-1</sup>; thus, special care must be taken with the disposal of this type of material in the environment. Strategies for greener environment towards sustainable development in leather industry have been applied (Kanagaraj et al. 2015), such as the immobilization of Cr ion present in the ash from the incineration of chromium-tanned leather shavings by means of vitrified ceramic bodies (Basegio et al. 2009). Production of basic Cr sulfate by using recovered Cr from ashes (Dettmer et al. 2010) or the incorporation of chromium-tanned leather residue to asphalt micro-surface layer (Krummenauer and de Oliveira Andrade 2009).

The Cr concentration range in the leather tanned with vegetable tannin (samples marked with an asterisk in

Tables S1 and S2 in the Supplementary Material) was from 10 to 285 mg kg<sup>-1</sup>; however, this concentration of Cr was higher than expected for this type of tanning and may be related to the contamination by machines and tools employed in the tanning process.

The Cr results are comparable with those obtained by (Scheffler and Pozebon 2015) which concentration obtained was in the range of 100 mg kg<sup>-1</sup> (vegetable tanned) to 30,000 mg kg<sup>-1</sup> (Cr tanned) using ICP OES. In another study (Zhao et al. 2015), Cr concentration ranged from 36 to 34,246 mg kg<sup>-1</sup> for leather samples using MIP OES as analytical technique.

Tables S1 and S2 in the Supplementary Material also show that in leathers tanned with vegetable tannin, the Ti concentration was high, whereas the As concentration was lower when compared to samples tanned with Cr. The Sb concentration was high in all samples, indicating possible use of dyes containing this element; however, the concentrations of Cu, Ni, Pb, and Sr were low in most samples.

The concentrations of the elements differed between bovine and ovine leather in some cases; for example, the Al, Mg, Ca, Ti, and Cu concentrations were higher in ovine leathers (samples from 25–60) than in bovine (samples from 1–24), but Pb was only found in bovine leather samples. A comparison of each element in leather from different studies is not easy because concentrations vary significantly due to different products used in the process of tanning, finishing, and dyeing. In addition, several sources of these elements can be found in leather samples, as salts that were added for tanning, such as metal sulfate, dyes, pigments, water, pesticides, fungicides, animal feed (bioaccumulation), impurities of industrial chemicals, among others (Aslan 2009; Aslan and Üzümlü 2015; Karavana et al. 2011; Okoh et al. 2013).

In addition, Tables S1 and S2 in the Supplementary Material show that high concentrations of potentially hazardous elements such as As, Cr, Cu, Ni, Pb, and Zn were determined on leathers. These elements are toxic contaminants to human health and the environment, so the handling, use, and disposal of leathers must be done in a conscious manner.

The recovery of the procedure for determining Al, Ba, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, Mg, Ni, Pb, Sb, Sr, Ti, and Zn in leathers was verified, and the results are shown in Table S3 in the Supplementary Material. Recoveries were in the range of 74 to 100% for all elements in the samples. These results show that the reference method

developed using ICP OES and decomposition in  $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$  in a digester block with PFA-closed vessels showed accurate results, as confirmed by the recovery tests.

#### PCA evaluation for ICP OES data

To obtain a global picture of all chemical elements in the samples and due to the fact the data sets obtained were related to three different techniques used in this study (ICP OES, LIBS, and WDXRF), three PCAs were separately calculated. In the case of ICP OES data set, elements concentrations were obtained and the variables were autoscaled. Figure 1 shows the scores (Fig. 1a–c) and loadings (Fig. 1d) plot for the ICP OES data for PC1 versus PC2, and both explain a total variance of 53%.

Figure 1a–c shows the scores with different classes highlighted. From Fig. 1a, a differentiation between the two leather groups (bovine, squares and ovine, circles) was observed, and PC1 discriminates ovine and bovine leathers with positive and negative scores, respectively. Figure 1b shows that PC1 discriminates leather tanned with vegetable tannin (triangles) with positive scores and leather tanned with Cr (squares) with negative scores.

Figure 1c shows the same results, but with each color of leather in evidence. A remarkable difference among the colors was not clearly perceivable, but it was possible to associate yellow (half tone diamonds) and beige (open squares) colors with Ti, Sr, Ni, and Fe (see loadings at Fig. 1d). Brown leathers (black circles) were related with As, Cr, and Sb elements. The samples with other colors are mixed or few were obtained for each one. Unfortunately, information about the dyes composition used in the leather preparation was not available, compromising an adequate evaluation between the color of the dye added to the leather and the metals contained in those dyes.

Figure 1d shows the loading plot of the first two PCs for the analytes. The difference between the leather type is due to ovine leather (Fig. 1a) has a correlation with Fe, Ni, Sr, Ti, Ba, Al, Ca, Cu, and Mg, whereas bovine leather has a correlation with Cr, Sb, As, Pb, and Zn. Leathers tanned with Cr (Fig. 1b) were associated to Cr (as expected), Sb, As, Pb, and Zn and leathers tanned with vegetable tannin were related to Fe, Ni, Sr, Ti, Ba, Al, Ca, Cu, and Mg.

Scores plot for PC1 versus PC3 (total variance of 51%) and PC2 versus PC3 (total variance of 22%)

datasets are show in Fig. S1 in the Supplementary Material. Principal component 1 (PC1) versus PC3 presented a separation between bovine and ovine leather and samples tanned with Cr and vegetable tanning. On the other hand, PC2 versus PC3 did not presented any remarkable characteristic. This additional PC (PC3) did not bring further information about the color either.

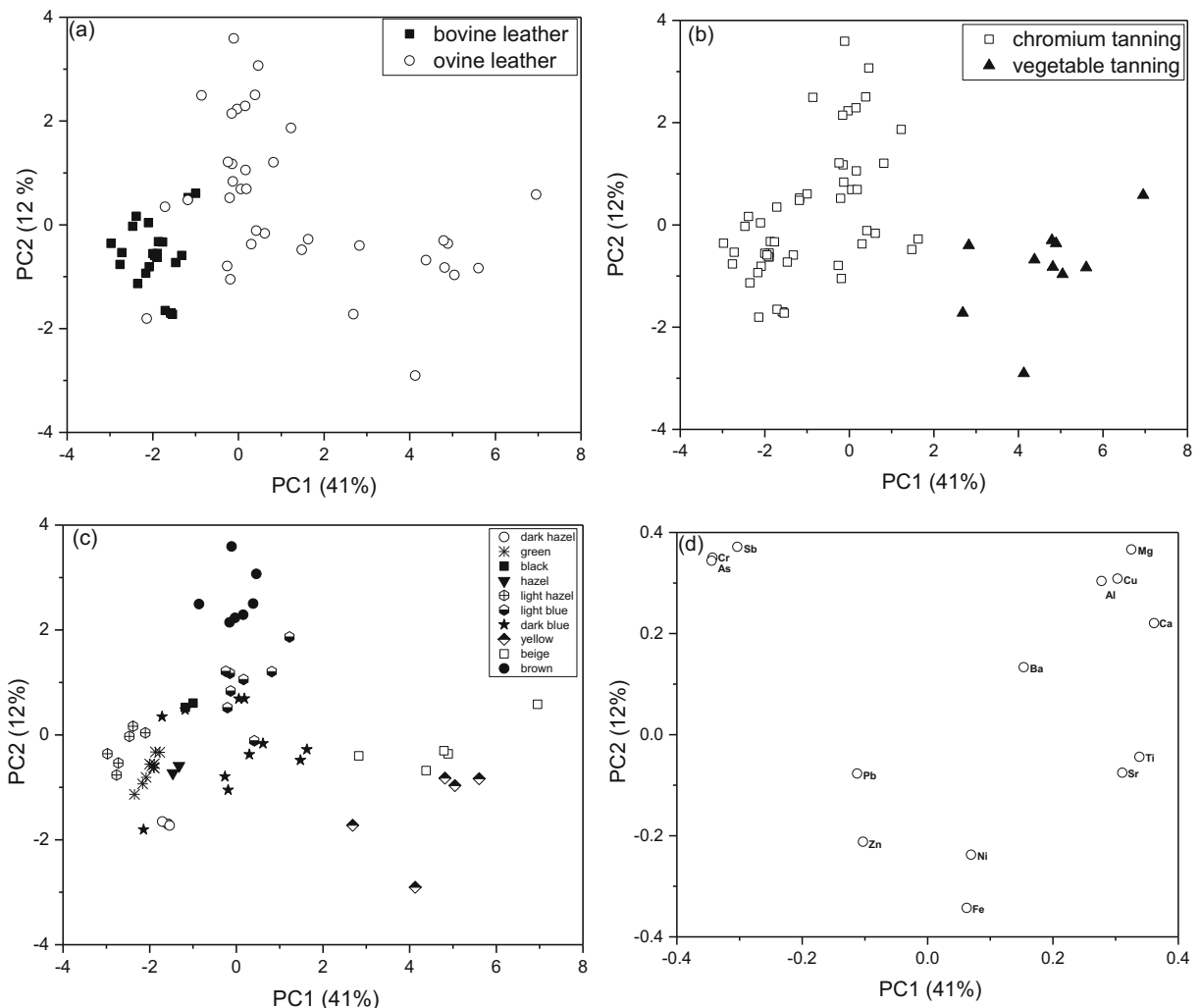
#### Direct analysis

A complementary analysis was performed and Fig. 2a shows representative LIBS spectra obtained for three leathers: bovine and ovine tanned with Cr and ovine tanned with vegetable tannin. The most intense signals and their corresponding emission lines are listed in Table 3. The three leathers presented Cr, C, Si, Mg, Al, Ca, Ti, Na, N, K, O and the spectra of these samples showed in Fig. 2a were similar, and basically, the only element that differed was Cr. However, for the samples tanned with Cr, there were 11 very intense emission lines for Cr (267.71 (II), 357.86 (I), 359.34 (I), 360.53 (I), 425.43 (I), 427.48 (I), 428.97 (I), 464.61 (I), 465.21 (I), 520.60 (I), 520.84 (I)). In the case of the sample tanned with vegetable tannin, only a small signal for Cr emission line 302.15 (I) nm was observed. In addition, with the help of Table 3, it is possible to see the capability of LIBS in order to presents dozens of emission lines in few minutes of analysis even for light elements as Al and C.

PCA calculated using the entire LIBS emission lines (Fig. S2 in the Supplementary Material) did not show significant separations between leather type, tanning type process, or among colors. In this case, a new PCA was calculated using only the 11 Cr emission lines described before, but the reliable information observed was an expected difference between the samples tanned with Cr and vegetable tanning (see Fig. S3 in the Supplementary Material). As preliminary conclusion, the use of LIBS permitted to perform an initial chemical inspection of the solid samples with detection of several chemical elements.

The 60 leather samples also were directly analyzed via WDXRF. The samples were positioned in specific sample holders with an aperture of a 29-mm diameter. For all elements evaluated, the electronic transition  $K\alpha 1$  and  $K\alpha 2$  were considered of the most sensitive lines. A collimator of 0.4 mm and a count time of 1 s were used in the experiments. The analytes required two different operational conditions: 30 kV of voltage and



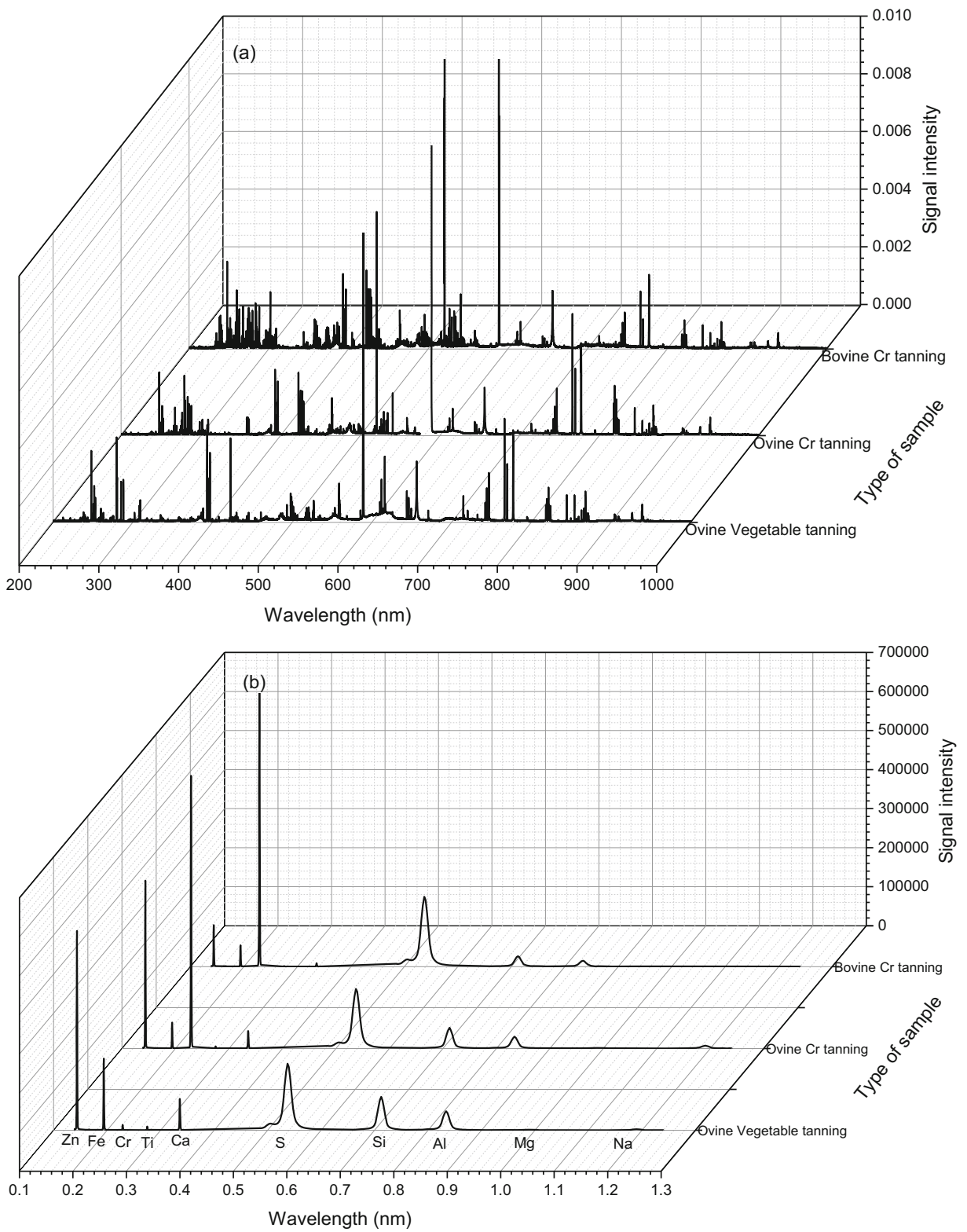


**Fig. 1** Scores for leather type (a), tanning type (b), leather color (c), and loadings plot (d) for dataset obtained by mineralization and determinations via ICP OES

80 mA of current for Al, Ca, Mg, Na, S, and Si, and 50 kV and 55 mA for Cr, Fe, Ni, Zn, and Ti.

Figure 2b shows X-ray emission wavelengths from ten elements present in the three spectra of leathers evaluated: Zn, Fe, Cr, Ti, Ca, S, Si, Al, Mg, and Na. As expected, the XRF spectra present less signals than LIBS. Since there are two tanning processes, one with Cr and another with vegetable tannin, the signal intensities for Cr are different in each case (third signal from left to right in Fig. 2b). Additionally, the tanning process with vegetable tannin is free of Cr; thus, a small signal intensity for Cr was observed for this process. The emission of the other assessed elements varied from sample to sample due to their composition.

A PCA for WDXRF data was calculated and Fig. 3 shows the score plots from PC1 versus PC2, separated by bovine and ovine leather (a), Cr and vegetable tanning process (b) and different colors of leathers studied (c), and the loads from PC1 and PC2 (d and e). As shown in the Fig. 3a, bovine and ovine leathers have different elemental compositions and are mainly grouped by the presence of S and Si in the samples (see Fig. 3e), PC2 discriminates bovine leather with negative scores. In Fig. 3b, the grouping is due to the tanning process, and Cr in positive values in PC1 is the element responsible for the grouping. Finally, in Fig. 3c, the samples were separated by their color. Beige leathers (open squares) and yellow (half tone diamonds) were associated to Zn, Fe, Ca, Si, Al, and Na (negative values



**Fig. 2** Typical spectra obtained via LIBS (a) and WDXRF (b) for three leather samples (bovine and ovine tanned with chromium and ovine tanned with vegetable tannin)

**Table 3** Emission lines present in the spectra of all leather samples analyzed

Elements	Emission lines (nm)
Cr	267.716 (II), 357.869 (I), 359.349 (I), 360.533 (I), 425.435 (I), 427.480 (I), 428.972 (I), 464.617 (I), 465.216 (I), 520.604 (I), 520.844 (I)
C	193.091 (I), 247.856 (I)
Si	250.690 (I), 251.920(I), 252.851 (I)
Mg	279.553 (II), 280.270(II), 285.213 (I)
Al	308.215 (I), 309.271 (I)
Ca	393.366 (II), 396.847 (II), 422.673 (I), 558.197 (I), 558.876 (I), 559.447 (I), 559.850 (I), 610.272 (I), 612.216 (I), 616.216 (I), 643.907 (I), 854.209 (II)
Ti	498.173 (I), 499.107 (I), 499.952 (I)
Na	588.995 (I), 589.593 (I), 819.483 (I)
N	742.368 (I), 744.230 (I), 746.831 (I), 818.483 (I), 818.802 (I), 821.630 (I), 822.312 (I), 824.235 (I)
K	766.490 (I), 769.896 (I)
O	777.421 (I), 844.639 (I)

*I*, atomic; *II*, ionic lines

in PC1). Brown leathers (black circles) were related to Cr (positive values in PC1). The other colors are mixed and it is not possible to observe a clear pattern.

#### Determination of total chromium in the leathers using WDXRF: univariate calibration models

Calibration curves for Al, Ca, Cr, Fe, Ti, and Zn using WDXRF were obtained for 60 samples (40 for calibration and 20 for validation). In order to calculate the calibration models, SBR, signals areas, and heights for each analyte were generated and associated with the reference values obtained with ICP OES. Usually quantitative methods using XRF require a reference technique or consolidated method, such as ICP OES (Augusto et al. 2017; Guerra et al. 2014; Marguí et al. 2010; Silvestre et al. 2016), inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) (Marguí et al. 2010), or flame atomic absorption spectrometry (FAAS) (Bilge et al. 2016), to develop the most appropriate calibration method that can be univariate (single signal) or multivariate (several signals).

To evaluate the quality of the proposed models, SEV, LOQ, and LOD values were calculated for univariate calibrations for each mentioned analyte. However, the calibration that resulted in reliable predictive capacities, such as correlation coefficients above 0.9 and low SEV values, was only those for Cr.

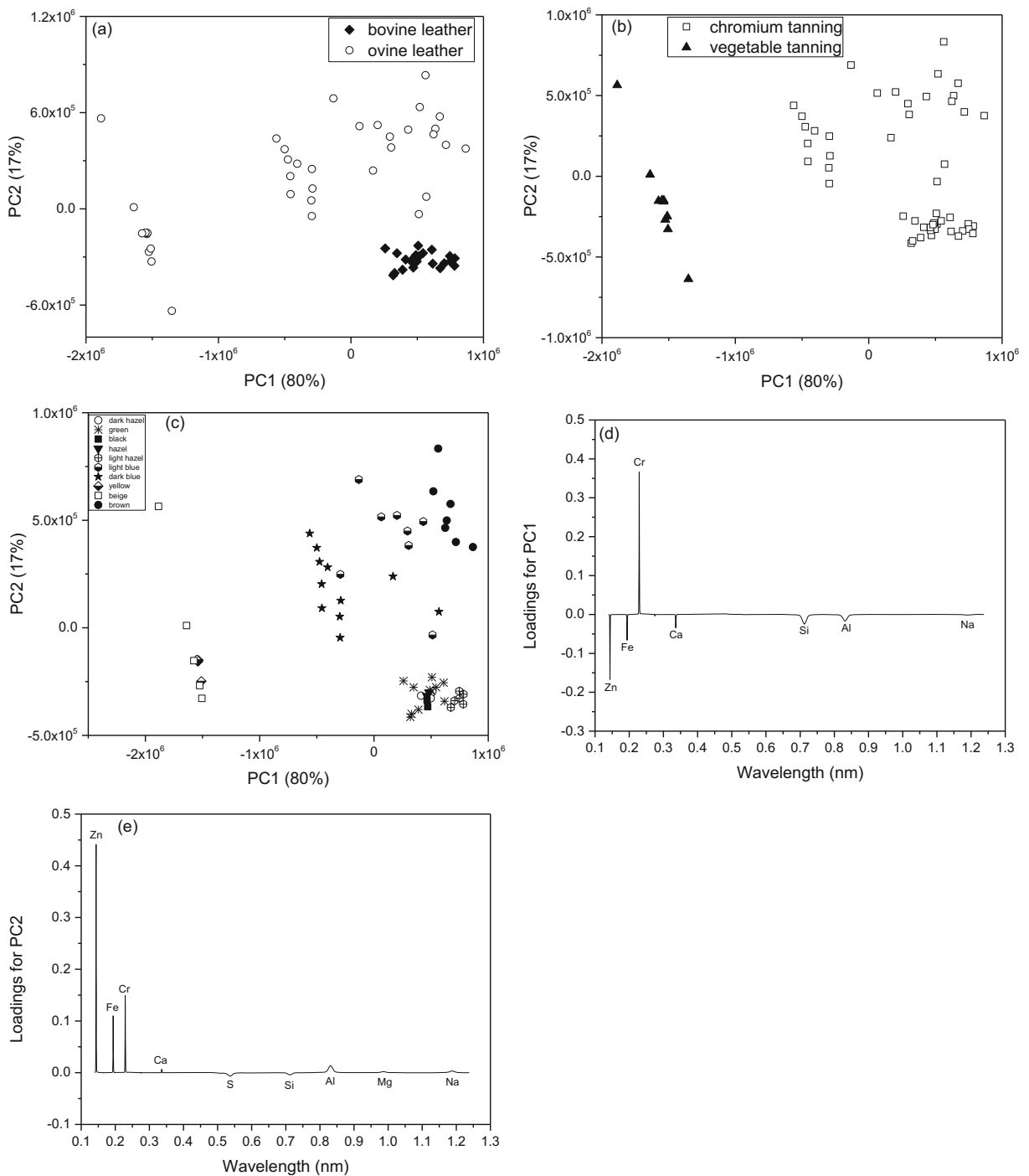
Thus, some attempts to improve the calibration models for other analytes (Al, Ca, Fe, Ti, and Zn) were performed, such as follows:

- Separating the samples into four groups by type of leather (bovine and ovine) and by type of tanning (Cr and vegetable tannins) and calculate a calibration model for each group;
- Calculating the partial least squares (PLS) by software Pirouette using the area of all analytes together as a data matrix and the reference concentrations of the analytes obtained by ICP OES as a dependent variable (*y*); the same was performed using the signal heights; and
- Normalizing the area and height signals of each analyte by the area and height signals of Cr, Si, Zn, Fe, and S (analytes found at high concentrations) to minimize interference.

However, none of these attempts resulted in positive results in order to build a calibration model for the analytes described previously. Thus, the proposed method proved to be successful only for determination of Cr in the leather samples using WDXRF by direct analysis.

The figures of merit for the best results (lower value of SEV) for the calibration model obtained for Cr are shown in Table 4 that include in the first row the equation for the calibration curve (univariate linear model) when reference Cr concentrations obtained by ICP OES and signal height obtained by WDXRF were compared,





**Fig. 3** Scores for leather type (a), tanning type (b), leather color (c), and loadings for PC1 (d) and PC2 (e) plots for datasets obtained from direct analysis via WDXRF

followed by the correlation coefficient from the linear calibration model, which was of 0.9901, standard error of calibration (SEC) of 1279 mg kg<sup>-1</sup>, and SEV of 628 mg kg<sup>-1</sup>.

Table 4 also shows that the Cr concentration range for 60 leather samples (fifth row of the Table 4) varied from not detected to 21,638 mg kg<sup>-1</sup>. In this case, not detected means values below the SEV. The Cr

**Table 4** Figures of merit for the WDXRF calibration model calculated for Cr

Calibration curve (coefficients $\pm$ standard deviation)	$[\text{Cr}] = (43.9 \pm 1.0) x + (19,583 \pm 14,600)$
<i>R</i>	0.9901
Standard error of calibration (SEC) ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	1279
Standard error of validation (SEV) ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	628
Cr concentration range ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	Not detected to 21,638
Wavelength (nm)	0.229
LOD ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	30
LOQ ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	100
Signal type	Height

concentrations in the leather samples tanned with vegetable tannins were below the SEV value of  $628 \text{ mg kg}^{-1}$  ( $10\text{--}285 \text{ mg kg}^{-1}$  measured by ICP OES). Thus, it was not possible to predict the concentrations of these samples with acceptable accuracy impairing its calibration model; therefore, the proposed method can be used to successfully determine Cr in Cr-tanned leather, which normally contains Cr concentrations above SEV. Although SEV value is high, the concentrations of Cr in the leather samples are often higher, in the order of percentage, and do not compromise the procedure developed.

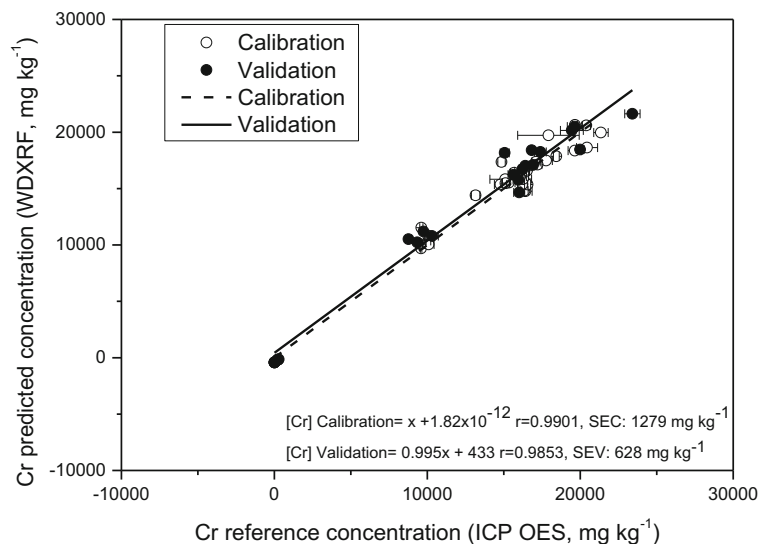
In addition, the height was the signal type that obtained best results for calibration models when compared with signal area. Table 4 present also values of LOD ( $30 \text{ mg kg}^{-1}$ ) and LOQ ( $100 \text{ mg kg}^{-1}$ ) for WDXRF measurements. In general, the method

developed presented appropriate figures of merit for the univariate calibration models calculated for Cr.

The predictive capabilities of the calibration model based on SEV were appropriate for the determination of Cr via WDXRF and can be evaluated by Fig. 4, which show satisfactory correlation for samples used in calibration (open circle) and validation (black circle). This figure shows good concordance between the Cr concentration reference obtained via ICP OES versus the Cr concentration predicted via WDXRF.

In addition, Table S4 in the Supplementary Material shows the concentrations of Cr determined using ICP OES (reference) and WDXRF (proposed method) for ovine and bovine leathers. The comparative results with ICP show that good predictions were obtained using proposed method for determination of Cr, in the 50 leathers Cr-tanned analyzed that ranged from 9690 to

**Fig. 4** Comparison between reference concentrations (ICP OES, mean  $\pm$  standard deviation,  $n = 3$ ) and predicted concentrations obtained from WDXRF (mean) for Cr in  $\text{mg kg}^{-1}$  for the calibration and validation samples



21,638 mg kg<sup>-1</sup> (see Table S4 in the Supplementary Material).

In addition, determination of Cr(VI) in leather using UV–Vis spectroscopy was performed and the concentrations of Cr(VI) determined in the bovine and ovine leather samples tanned with Cr salts presented high values, varying from 740 to 2250 mg kg<sup>-1</sup>. These values are extraordinarily high and worrying since exceeding the limits set of European Union that established maximum concentration of Cr(VI) (3 mg kg<sup>-1</sup>) (ISO 17075 2007; Van Beik et al. 2017). Leather samples tanned with vegetable tannins were also analyzed and Cr(VI) concentrations were not detected because they were below the LOQ of the proposed method.

## Conclusions

The reference method developed using ICP OES and decomposition in HNO<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in a digester block with PFA-closed vessels showed accurate results, as confirmed by the recovery tests. The concentrations of the elements in the leather vary according to the type of leather (ovine or bovine), the type of tanning product used (Cr or vegetable tannin), and the dye added to color the leather. Potentially hazardous elements such as As, Cr, Cu, Ni, Pb, and Zn were determined in high concentrations and these differences in concentrations were visualized clearly using PCA based on data obtained via ICP OES and WDXRF. Most of these elements are dangerous to humans and the environment due to high toxicity and can cause allergies, dermatitis, and cancer.

There are few studies on the quantitative determination of Cr in leathers via direct analysis techniques. The proposed method proved to be fast and effective for the determination of Cr in leathers tanned with salts containing this element. However, further studies need to be performed to determine other analytes, such as Al, Ca, Cr, Fe, Ti, and Zn via WDXRF. Additionally, it is important to develop mechanisms to reduce the SEV for the determination of Cr in leather tanned with vegetable tannins at a low concentration of this element.

Total Cr concentration obtained by WDXRF was compared with a reference method using ICP OES and the results showed that the proposed method present satisfactory figures of merit and the maximum concentration of total Cr was a high value of 21,353 mg kg<sup>-1</sup>. WDXRF is an attractive technique because it is non-destructive, presents high analytical frequency, and

performs multi-element analysis with no chemical residue generation.

**Acknowledgements** The authors are grateful to Analitica and Thermo Scientific for loan of ICP OES and WDXRF instruments.

**Funding information** This study was supported by the São Paulo Research Foundation [FAPESP, process 2016/01513-0, 2015/14488-0, and 2011/51564-6], Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária [Embrapa, 02.03.1.16.00.08], and was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-Brasil (CAPES)—Finance Code 001 and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico [CNPq, 506119/2008-4, 401074/2014-5, 160152/2015-1 and 305637/2015-0].

## References

- Aslan, A. (2009). Determination of heavy metal toxicity of finished leather solid waste. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 82(5), 633–638. <https://doi.org/10.1007/s00128-009-9656-1>.
- Aslan, A., & Üzümlü, N. O. (2015). Determining the heavy metal contents of natural and artificial upholstery leathers. *Tekstil ve Konfeksiyon*, 25(3), 33–37.
- Augusto, A. S., Barsanelli, P. L., Pereira, F. M. V., & Pereira-filho, E. R. (2017). Calibration strategies for the direct determination of Ca, K, and Mg in commercial samples of powdered milk and solid dietary supplements using laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS). *Food Research International*, 94, 72–78. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.01.027>.
- Bañón, E., Marcilla, A., García, A. N., Martínez, P., & León, M. (2016). Kinetic model of the thermal pyrolysis of chrome tanned leather treated with NaOH under different conditions using thermogravimetric analysis. *Waste Management*, 48, 285–299. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2015.10.012>.
- Basegio, T., Beck Leão, A. P., Bernardes, A. M., & Bergmann, C. P. (2009). Vitrification: an alternative to minimize environmental impact caused by leather industry wastes. *Journal of Hazardous Materials*, 165(1–3), 604–611. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.10.045>.
- Bilge, G., Sezer, B., Eseller, K. E., Berberoglu, H., Koksel, H., & Boyaci, I. H. (2016). Determination of Ca addition to the wheat flour by using laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS). *European Food Research and Technology*, 242, 1685–1692. <https://doi.org/10.1007/s00217-016-2668-2>.
- Budrugaec, P., Cucos, A., & Miu, L. (2011). The use of thermal analysis methods for authentication and conservation state determination of historical and/or cultural objects manufactured from leather. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 104, 439–450. <https://doi.org/10.1007/s10973-010-1183-0>.
- Bundesinstitut für Risikobewertung (2007). Chromium(VI) in leather clothing and shoes problematic for allergy sufferers! <http://www.bfr.bund.de/cd/9575>. Accessed 10 Dec 2017.

- Chaplin, T. D., Clark, R. J. H., & Martínón-torres, M. (2010). A combined Raman microscopy, XRF and SEM-EDX study of three valuable objects—a large painted leather screen and two illuminated title pages in 17th century books of ordinances of the Worshipful Company of Barbers, London. *Journal of Molecular Structure*, *976*, 350–359. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2010.03.042>.
- Costa, V. C., Castro, J. P., Andrade, D. F., Babos, D. V., Garcia, J. A., Sperança, M. A., Catelani, T. A., & Pereira-Filho, E. R. (2018). Laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) applications in the chemical analysis of waste electrical and electronic equipment (WEEE). *Trends in Analytical Chemistry*, *108*, 65–73.
- Dettmer, A., Nunes, K. G. P., Gutterres, M., & Marcílio, N. R. (2010). Production of basic chromium sulfate by using recovered chromium from ashes of thermally treated leather. *Journal of Hazardous Materials*, *176*(1–3), 710–714. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.11.090>.
- Dixit, S., Yadav, A., Dwivedi, P. D., & Das, M. (2015). Toxic hazards of leather industry and technologies to combat threat: a review. *Journal of Cleaner Production*, *87*, 39–49. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2014.10.017>.
- Fuck, W. F., Gutterres, M., Marcílio, N. R., & Bordignon, S. (2011). The influence of chromium supplied by tanning and wet finishing processes on the formation of Cr(VI) in leather. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, *28*(2), 221–228.
- George, N., Chauhan, P. S., Kumar, V., Puri, N., & Gupta, N. (2014). Approach to ecofriendly leather: characterization and application of an alkaline protease for chemical free dehairing of skins and hides at pilot scale. *Journal of Cleaner Production*, *79*, 249–257. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2014.05.046>.
- Gitet, H., Subramanian, P. A., Minilu, D., Kiros, T., Hilawie, M., Gebremariam, G., & Taye, K. (2013). Speciation of chromium in soils near Sheba Leather Industry, Wukro Ethiopia. *Talanta*, *116*, 626–629. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.07.039>.
- Gómez-morón, M. A., Ortiz, P., Martín-ramírez, J. M., Ortiz, R., & Castaing, J. (2016). A new insight into the vaults of the kings in the Alhambra (Granada, Spain) by combination of portable XRD and XRF. *Microchemical Journal*, *125*, 260–265. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2015.11.023>.
- Gondal, M. A., Hussain, T., Yamani, Z. H., & Baig, M. A. (2009). On-line monitoring of remediation process of chromium polluted soil using LIBS. *Journal of Hazardous Materials*, *163*(2–3), 1265–1271. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.07.127>.
- Guerra, M. B. B., De Almeida, E., Carvalho, G. G. A., Souza, P. F., Nunes, L. C., Júnior, D. S., & Krug, F. J. (2014). Comparison of analytical performance of benchtop and handheld energy dispersive X-ray fluorescence systems for the direct analysis of plant materials. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, *29*, 1667–1674. <https://doi.org/10.1039/C4JA00083H>.
- Hedberg, Y. S., Lidén, C., & Odnevall Wallinder, I. (2014). Correlation between bulk- and surface chemistry of Cr-tanned leather and the release of Cr(III) and Cr(VI). *Journal of Hazardous Materials*, *280*, 654–661. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.08.061>.
- ISO 17072-2. (2014). Couro—determinação química do teor de metais Parte 2: Teor total do metal. *International Organization for Standardization* 6 p.
- ISO 17075. (2007). *Leather—chemical tests—determination of chromium(VI) content*. Geneva: International Organization for Standardization.
- ISO 5398-4. (2007). *Leather—chemical determination of chromic oxide content part 4: quantification by inductively coupled plasma optical emission spectrometer (ICP OES)* (p. 6). Geneva: International Organization for Standardization.
- IUPAC (2017). International Union of Pure and Applied Chemistry. [http://iupac.org/publications/analytical\\_compendium](http://iupac.org/publications/analytical_compendium). Accessed 1 Aug 2017.
- Jerschow, E., Hostýnek, J. J., & Maibach, H. I. (2001). Allergic contact dermatitis elicitation thresholds of potent allergens in humans. *Food and Chemical Toxicology*, *39*(11), 1095–1108. [https://doi.org/10.1016/S0278-6915\(01\)00059-X](https://doi.org/10.1016/S0278-6915(01)00059-X).
- Kanagaraj, J., Senthilvelan, T., Panda, R. C., & Kavitha, S. (2015). Eco-friendly waste management strategies for greener environment towards sustainable development in leather industry: a comprehensive review. *Journal of Cleaner Production*, *89*, 1–17. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2014.11.013>.
- Karavana, H. A., Başaran, B., Aslan, A., Bitlisli, B. O., & Gülümser, G. (2011). Heavy metal contents of bootee leathers tanned with different process recipes. *Tekstil ve Konfeksiyon*, *3*(4), 305–310.
- Krummenauer, K., & de Oliveira Andrade, J. J. (2009). Incorporation of chromium-tanned leather residue to asphalt micro-surface layer. *Construction and Building Materials*, *23*(1), 574–581. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2007.10.024>.
- Kumar, R., Alamelu, D., Acharya, R., & Rai, A. K. (2014). Determination of concentrations of chromium and other elements in soil and plant samples from leather tanning area by instrumental neutron activation analysis. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, *300*(1), 213–218. <https://doi.org/10.1007/s10967-014-3006-4>.
- Luo, W., Si, Y., Wang, H., Qin, Y., Huang, F., & Wang, C. (2011). Leather material found on a 6th B. C. Chinese bronze sword: a technical study. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, *79*(5), 1630–1633. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2011.05.023>.
- Mannina, L., & Lombardo, A. (2013). Diagnostic analyses for the study of materials, technique and state of preservation of a gilt and painted leather of the XVIII century. *Procedia Chemistry*, *8*, 202–211. <https://doi.org/10.1016/j.proche.2013.03.026>.
- Marguí, E., Tapias, J. C., Casas, A., Hidalgo, M., & Queralt, I. (2010). Analysis of inlet and outlet industrial wastewater effluents by means of benchtop total reflection X-ray fluorescence spectrometry. *Chemosphere*, *80*(3), 263–270. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.04.027>.
- Mignini, F., Streccioni, V., Baldo, M., Vitali, M., Indraccolo, U., Bernacchia, G., & Cocchioni, M. (2004). Individual susceptibility to hexavalent chromium of workers of shoe, hide, and leather industries. Immunological pattern of HLA-B8,DR3-positive subjects. *Preventive Medicine*, *39*(4), 767–775. <https://doi.org/10.1016/j.ypmed.2004.02.048>.
- Miksche, L. W., & Lewalter, J. (1997). Health surveillance and biological effect monitoring for chromium-exposed workers. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, *26*(1 Pt 2), S94–S99. <https://doi.org/10.1006/rtp.1997.1146>.

- Nakano, K., Nishi, C., Otsuki, K., Nishiwaki, Y., & Tsuji, K. (2011). Depth elemental imaging of forensic samples by confocal micro-XRF method. *Analytical Chemistry*, 83, 3477–3483.
- Nasr, M. M., Gondal, M. A., & Seddigi, Z. S. (2011). Detection of hazardous pollutants in chrome-tanned leather using locally developed laser-induced breakdown spectrometer. *Environmental Monitoring and Assessment*, 175(1–4), 387–395. <https://doi.org/10.1007/s10661-010-1538-9>.
- Neiva, A. M., & Pereira-Filho, E. R. (2018). Evaluation of the chemical composition of synthetic leather using spectroscopy techniques. *Applied Spectroscopy*, 72(6), 921–932. <https://doi.org/10.1177/0003702818764922>.
- Neiva, A. M., Jacinto, M. A., Alencar, M. M., Esteves, S. N., & Pereira-Filho, E. R. (2016). Proposition of classification models for the direct evaluation of the quality of cattle and sheep leathers using laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) analysis. *RSC Advances*, 6(106), 104827–104838. <https://doi.org/10.1039/c6ra22337k>.
- Okoh, S., Adeyemo, D. J., Onoja, R. A., & Arabi, S. A. (2013). Determination of some trace elements in leather. *International Journal of Applied Science and Technology*, 3(1), 101–105.
- Oliveira, L. F., Canevari, N. T., Guerra, M. B. B., Pereira, F. M. V., Schaefer, C. E. G. R., & Pereira-Filho, E. R. (2013). Proposition of a simple method for chromium(VI) determination in soils from remote places applying digital images: a case study from Brazilian Antarctic station. *Microchemical Journal*, 109, 165–169. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2012.03.007>.
- Sano, T., & Suzuki, S. (2009). Basic forensic identification of artificial leather for hit-and-run cases. *Forensic Science International*, 192(1–3), e27–e32. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2009.08.018>.
- Scheffler, G. L., & Pozebon, D. (2015). Trace element determination in leather samples using on-line internal standardization, ultrasonic nebulization and axial view-ICP OES. *Analytical Methods*, 7(12), 5180–5185. <https://doi.org/10.1039/c5ay01011j>.
- Sebestyén, Z., Czégény, Z., Badea, E., Carsote, C., Sendrea, C., Barta-Rajnai, E., et al. (2015). Thermal characterization of new, artificially aged and historical leather and parchment. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 115, 419–427. <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2015.08.022>.
- Silvestre, D. M., Leme, F. D. O., Nomura, C. S., & Nascimento, A. N. (2016). Direct analysis of barium, calcium, potassium, and manganese concentrations in tobacco by laser-induced breakdown spectroscopy. *Microchemical Journal*, 126, 545–550. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2016.01.015>.
- Thanikaivelan, P., Rao, J. R., Nair, B. U., & Ramasami, T. (2004). Progress and recent trends in biotechnological methods for leather processing. *Trends in Biotechnology*, 22(4), 181–188. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2004.02.008>.
- Thyssen, J. P., & Menné, T. (2010). Metal allergy—a review on exposures, penetration, genetics, prevalence, and clinical implications. *Chemical Research in Toxicology*, 23(2), 309–318. <https://doi.org/10.1021/tx9002726>.
- Van Beik, J., Sena Koserá, V., de Andrade Maranhão, T., & Chaves, E. S. (2017). Alkaline solubilization and ultrasound assisted extraction for Cr and Pb determination in leather by atomic absorption spectrometry. *Analytical Methods*, 9(22), 3284–3289. <https://doi.org/10.1039/C7AY00246G>.
- Venezia, M., Alonzo, G., & Palmisano, L. (2008). EDTA excess Zn(II) back-titration in the presence of 4-(2-pyridylazo)-resorcinol indicator and naphthol green  $\beta$  as inert dye for determining Cr(III) as Cr(III)/EDTA complex: application of the method to a leather industry wastewater. *Journal of Hazardous Materials*, 151(2–3), 356–363. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.05.081>.
- Vornicu, N., Deselnicu, V., Bibire, C., Ivanov, D., & Doroftei, F. (2015). Analytical techniques used for the characterization and authentication of six ancient religious manuscripts (XVIII–XIX centuries). *Microscopy Research and Technique*, 78, 70–84. <https://doi.org/10.1002/jemt.22447>.
- Zhao, Y., Li, Z., Ross, A., Huang, Z., Chang, W., Ou-yang, K., Chen, Y., & Wu, C. (2015). Determination of heavy metals in leather and fur by microwave plasma-atomic emission spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B*, 112(1), 6–9. <https://doi.org/10.1016/j.sab.2015.06.017>.





# Evaluation of the Chemical Composition of Synthetic Leather Using Spectroscopy Techniques

Applied Spectroscopy  
2018, Vol. 72(6) 921–932  
© The Author(s) 2018  
Reprints and permissions:  
sagepub.co.uk/journalsPermissions.nav  
DOI: 10.1177/0003702818764922  
journals.sagepub.com/home/asp  
 SAGE

Ariane Maciel Neiva and Edenir Rodrigues Pereira-Filho

## Abstract

Synthetic leather samples from Brazil and Paraguay were evaluated in this study using three spectroscopy techniques: inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES), laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS), and wavelength dispersive X-ray fluorescence (WDXRF). The obtained information from each technique was separately inspected with principal component analysis (PCA). The concentrations of the elements determined in the synthetic leathers using ICP-OES decreased in the following order:  $\text{Ca} > \text{Cr} > \text{Mg} > \text{Ba} > \text{Pb} > \text{Al} > \text{Fe} > \text{Zn} > \text{Sb} > \text{Ni}$  with a concentration range below the limit of quantification ( $< \text{LOQ}$ , case of Ni) to  $112\,233 \text{ mg kg}^{-1}$  (case of Ca). Additionally, Cu, As, Sr, Ti, Cd, Mn, Co, and Ni were present in only few samples in a concentration range from  $< \text{LOQ}$  to  $163 \text{ mg kg}^{-1}$ . Principal component analysis was the tool used to evaluate the samples from their chemical content obtained quantitatively using ICP-OES and qualitatively using LIBS or WDXRF spectra. The results showed that the association of PCA with spectroscopic techniques was satisfactory for data inspection of synthetic leathers according to the chemical composition. Laser-induced breakdown spectroscopy and WDXRF were able to identify the presence of toxic elements like Cr (LIBS and WDXRF) and Pb (WDXRF).

## Keywords

Synthetic leather, inductively coupled plasma optical emission spectrometry, ICPOES, laser-induced breakdown spectroscopy, LIBS, wavelength dispersive X-ray fluorescence, WDXRF, principal component analysis, PCA

Date received: 25 October 2017; accepted: 20 February 2018

## Introduction

Natural or genuine leather is obtained using animal skins after several steps that involve physical and chemical treatments in the tanning process. In this process, tanning agents are added to convert the raw skin into leather. The most commonly used tanning agent is chromium sulfate, but alternatively, other sulfate salts can be applied, such as Ti, Al, Fe, and Zn. In addition, vegetable or synthetic tannins are used alone or in combination.<sup>1</sup>

Leather is a high-cost natural material that has a limited demand depending on the meat industry. The size and format of the leather piece are also limited and depend on the animal origin. In addition, consumer concern with animals and increasing environmental awareness have led to the development of an alternative material, namely, synthetic or artificial leather.<sup>2–5</sup>

Synthetic leather usually consists of a base textile (a knitted fabric, woven or nonwoven), and a polymer is applied to the fabric in the form of a lacquer or emulsion.<sup>2</sup> The most commonly used polymer is polyurethane (PU),<sup>2,3</sup>

but polyvinyl chloride (PVC) and polypropylene can be also used.<sup>6</sup> Synthetic leather has applications in the manufacture of footwear, garments, bags, furniture, upholsteries, clothing, appliances, electronic accessories, etc.<sup>4,7</sup>

Currently, synthetic material has been improved and exhibits an appearance and physical characteristics similar to those of natural leather.<sup>7</sup> Studies have shown that, in some cases, the physical properties of synthetic leathers, such as the percentage of elongation and the stitch tear strength, are even better than natural leather.<sup>2</sup> The advantages of synthetic materials reside in the fact that they do not exhibit defects, such as scars, wire scratches, fire marks for identification of the animal, spots, burns, marks caused

Grupo de Análise Instrumental Aplicada (GAIA), Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, Brazil

### Corresponding author:

Edenir Rodrigues Pereira-Filho, Grupo de Análise Instrumental Aplicada (GAIA), Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP 13565-905, Brazil.  
Email: erpf@ufscar.br

by insects, among others, common to natural leather. Synthetic leather has standardized sizes and is available in roll form, which reduces waste when making cuts of the leather pieces and allows greater planning of the production. Additionally, this material has a standardized thickness and uniform color, and the cost is usually lower than natural leather;<sup>8</sup> however, it has the disadvantages of low water vapor permeability and poor dye fastness.<sup>2,3,8</sup>

Studies have been carried out to determine the elements in natural leathers using inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES),<sup>1,5,9,10</sup> microwave-induced plasma optical emission spectrometry,<sup>11</sup> instrumental neutron activation analysis,<sup>12</sup> ultraviolet–visible (UV-Vis) spectrophotometry,<sup>13</sup> laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS),<sup>14</sup> and X-ray fluorescence (XRF).<sup>15</sup> The use of chemometric tools has been increasing in leather analysis, especially in qualitative methods of determination involving direct analysis techniques such as LIBS combined with principal component analysis (PCA) and classification models,<sup>16</sup> near-infrared (NIR) and Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopic methods associated with classification models,<sup>17</sup> and NIR and chemometric tools.<sup>18</sup>

These studies have shown that the analysis of natural leather is being performed by several research groups and involves different analytical methods and techniques; however, when searching in the literature about synthetic leather analysis, few studies have been performed. The highlighted studies are as follows. In the first study,<sup>3</sup> a microfiber and PU synthetic leather were analyzed qualitatively using FT-IR, scanning electron microscopy (SEM), and X-ray diffraction. In the second study,<sup>5</sup> ICP-OES was used for the determination of Al, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, and Zn in artificial and natural upholstery leathers. In the third study,<sup>6</sup>

synthetic leather samples were evaluated qualitatively using SEM with an X-ray energy dispersive electron microanalyzer, micro-FT-IR, and microspectrophotometry, and the analyte concentrations were evaluated by micro-XRF. In the fourth study,<sup>19</sup> lasers were used to create microholes to improve the water vapor permeability in the PU synthetic leather.

It is evident that the lack of studies about synthetic leather shows the need to evaluate this type of material. Thus, the goal of this study was to determine the concentration of metals in synthetic materials using ICP-OES and to evaluate the use of direct analysis techniques, such as LIBS and wavelength dispersive X-ray fluorescence (WDXRF),<sup>20–23</sup> in the qualitative analysis of these materials. Principal component analysis was the tool used together with the three techniques to assist in data exploration and interpretation.

## Materials and Methods

### Samples

A set of nine different synthetic leather samples was acquired from local markets in Brazil and Paraguay, and the unitary cost varied from US\$ 2.00 to US\$ 7.00. Images of the samples used in the experiments are shown in Figure 1. The samples comprise four belts (sample 1: black, sample 2: brown, sample 3: beige, and sample 4: white), three wallets (sample 5: black, sample 6: brown, and sample 7: beige), one cell phone case (sample 8: black), and one purse (sample 9: black).

The sample surfaces were cleaned with a damp cloth, cut into smaller pieces, and materials such as cardboard, paper,



**Figure 1.** Images of nine synthetic leather samples used in the experimental part: samples 1–4 are belts, samples 5–7 are wallets, sample 8 is a cell phone case, and sample 9 is a purse.

adhesives, embroidery, and foam were removed before all analyses. Samples were cut with a ceramic knife to the approximate dimensions of 2.0 cm × 3.0 cm for LIBS and WDXRF measurements and 0.3 cm × 0.3 cm before sample preparation for ICP-OES measurements.

### Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry

An ICP-OES spectrometer (iCAP 6000, Thermo Fisher) with axial and radial viewings was used for the determination of elements. Nitric acid 65% w/w (Synth) purified using a sub-boiling distillation system, Distillacid BSB-939-IR (Berghof), and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30% w/w (Synth) were employed for sample digestion. Deionized water (resistivity > 18.2 MΩ · cm) was obtained using a Milli-Q plus Millipore system (Bedford) and employed to prepare all solutions and for dilution of standards and samples. Argon (99.996%, White Martins-Praxair) was employed for all the ICP-OES measurements for plasma generation and the carrier gas. The element's standard solutions were prepared by dilutions of standards of 1000 mg L<sup>-1</sup> Al, As, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Pb, Sb, Sr, Ti, and Zn (Switzerland, Buchs SG, Fluka Analytical, Qhemis).

For sample preparation, the synthetic leather samples were cut into small pieces (0.3 cm × 0.3 cm) and 0.200 g of the sample was weighed and used for chemical analysis. Images of samples before digestion and ICP-OES analysis can be seen in Fig. S1 in the online Supplemental Material. Samples were digested in triplicate using a hot block with PFA (perfluoroalkoxy, Savillex) closed vessels equipped with 24 vessels of 50 mL. The mineralization procedure was accomplished with the use of 3.0 mL of concentrated HNO<sub>3</sub>, kept overnight for approximately 16 h, and then 3.0 mL of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> were added. The mixture was heated at 100 °C for 180 min in a digester block. Digested samples were filtered using a quantitative filter paper with slow filtration for the fine precipitates (Unifil) and diluted to a final volume of 30 mL with deionized water. The blank digest was performed in the same way.

The calibration curves for all 17 elements evaluated ranged as follows: 0.005–2 mg kg<sup>-1</sup> for As, Cd, Co, Cu, Mn, Ni, Sr, and Ti; 0.005–5 mg kg<sup>-1</sup> for Pb, Sb, and Zn; 1–10 mg kg<sup>-1</sup> for Al and Fe; and 0.1–50 mg kg<sup>-1</sup> for Ba, Ca, Cr, and Mg.

Due to the high concentration of Ca, Cr, and Mg in some samples, it was necessary to perform an additional fourfold dilution for Cr (samples 2–7) and Mg (samples 1, 8, and 9) and a 15-fold dilution for Ca (samples 1–4, 8, and 9).

The nine samples were digested with and without the addition of standards to evaluate the accuracy of the analytical procedure. The following standard concentrations were added, 1.5 mg kg<sup>-1</sup> of Al, Ba, Fe, Pb, Sb, and Zn; 0.5 mg kg<sup>-1</sup> of As, Cd, Co, Cu, Mn, Ni, Sr, and Ti; 10 mg kg<sup>-1</sup> of Mg; and 70 mg kg<sup>-1</sup> of Cr and Ca.

Non-interfered emission lines were selected for each analyte, and more details about this will be presented in the Results and discussion section. The other operational conditions of ICP-OES are shown in Table 1. The analysis of each of the nine samples was performed in six authentic replicates, a triplicate with and a triplicate without the addition of a standard.

The limits of detection (LODs) were calculated by three times the standard deviation of 10 blank measurements divided by the slope, and the limits of quantification (LOQs) of the method were calculated by 10 times the standard deviation of blank measurements divided by the slope of the calibration curve.

### Laser-Induced Breakdown Spectroscopy

The LIBS spectra were recorded using a J200 (Applied Spectra) LIBS setup, Q-switched neodymium-doped yttrium aluminum garnet (Nd:YAG) laser at 1064 nm for a duration of 8 ns and at a frequency of 10 Hz. A charge-coupled device (CCD) spectrometer with six channels registered the spectral information from 186 to 1042 nm and the spectral resolution varied from 0.05 to 0.1 nm for all channels.

The instrumental conditions were previously optimized,<sup>16</sup> and all measurements were acquired by a laser pulse energy of 90 mJ, a spot size of 50 μm, a delay time of 1.9 μs, and 100 spectra were recorded for each sample in raster mode (a straight line). Before the LIBS analysis, cleaning of the sample surface was performed also in raster mode and in the same region (a line) with 100 laser pulses with 10 mJ of laser pulse energy and 250 μm of spot size.

The investigated samples were directly fixed to the ablation chamber using double-sided adhesive tape, and the laser pulses were collected on both sides of each sample. Images of samples in the ablation chamber are shown in Fig. S2 (see Supplemental Material).

From LIBS, an average spectra corresponding to each sample was obtained (average of 100 spectra), and the

**Table 1.** Operating instrumental conditions for the ICP-OES determinations.

Instrument parameters	Operational conditions
Radio frequency applied power (kW)	1.15
Integration time for low emission line (s)	15
Integration time for high emission line (s)	5
Sample introduction flow rate (mL min <sup>-1</sup> )	2.1
Pump stabilization time (s)	5
Argon auxiliary flow rate (L min <sup>-1</sup> )	0.5
Argon plasma flow rate (L min <sup>-1</sup> )	12
Argon nebulizer flow rate (L min <sup>-1</sup> )	0.7



emission lines were identified using the atomic spectroscopic database of the National Institute of Standards and Technology (NIST).<sup>24</sup>

### Wavelength Dispersive X-ray Fluorescence

The WDXRF measurements were performed with a Perform-X ARL (Thermo Fisher) fitted with a Rh tube with a maximum of 4200 W. Two detectors, a flow proportional counter and a scintillation counter, register the counts per second of the X-ray emission lines that correspond to a crystal used, ranging from 0.124 Å (LiF220) to 162.662 Å (AX16c). In addition, four collimators (0.15 mm, 0.40 mm, 1.00 mm, and 2.60 mm) can be selected. In all the element spectra acquisition, only the  $K_{\alpha}$  electronic transitions were considered, and all samples were directly analyzed with an aperture of 10 mm diameter.

The spectra were obtained using 50 kV, 50 mA, a 2 s acquisition time, and a 0.4 mm collimator to obtain signals from Al, As, Ba, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, Mg, Na, Ni, Pb, S, Sb, Si, Ti, and Zn.

## Results and Discussion

### Chemical Composition of Synthetic Leathers Using ICP-OES

Nine synthetic leathers (see Fig. 1 and Figs. S1 and S2) were analyzed by ICP-OES, and the concentrations of 17 elements are reported in Table II. Calcium was the most abundant element and showed concentrations from  $770 \pm 24$  (sample 7) to  $112\,233 \pm 4151$  mg kg<sup>-1</sup> (sample 8); Cr and Mg also showed high concentrations in all samples ranging from  $13 \pm 1$  (sample 9) to  $24\,732 \pm 433$  mg kg<sup>-1</sup> (sample 5), and  $165 \pm 2$  (sample 7) to  $18\,834 \pm 777$  mg kg<sup>-1</sup> (sample 1), respectively.

Some analytes were present in moderate amounts in the samples as follows: Ba: < LOQ– $4606 \pm 210$ ; Pb:  $2.8 \pm 0.2$ – $2484 \pm 160$ ; Al:  $147 \pm 8$ – $1607 \pm 197$ ; Fe:  $130 \pm 9$ – $1015 \pm 81$ ; Zn: < LOQ– $528 \pm 18$ ; and Sb:  $22 \pm 1$ – $262 \pm 27$  mg kg<sup>-1</sup>. However, the following analytes had the lowest concentrations in the synthetic leather samples: Cu: < LOQ– $163 \pm 2$ ; As: < LOQ– $121 \pm 6$ ; Sr: < LOQ– $104 \pm 4$ ; Ti: < LOQ– $48 \pm 16$ ; Cd:  $4.1 \pm 0.2$ – $27 \pm 1$ ; Mn: < LOQ– $27 \pm 1$ , Co: < LOQ– $3.9 \pm 0.1$  mg kg<sup>-1</sup> and Ni was at concentration levels lower than the LOD in all the samples. These concentration values were significantly different from one sample to another, which revealed the enormous difference on chemical composition among synthetic leathers.

The results for Co, Cr, Cu, Ni, and Zn are comparable to another study previously performed by Aslan and Uzum,<sup>5</sup> which analyzed 10 artificial upholstery leathers of different colors from leather furniture manufacturers using ICP-OES; however, the concentrations reported by the

authors for Al ( $4.73 \pm 4.25$ ), Cd (<LOD), and Pb (<LOD) were different, being below those observed in this study. These differences between the data are expected because sample composition depends on industrial process characteristics. These processes are related to materials were used in the production as fabric, type of polymer (PU, PVC, among others), and dyes, changing the chemical composition of the samples evaluated in each study.

Table II also presents differences in composition of samples considering the colors. For example, the sample 4, a white leather (see Fig. 1 and Figs. S1 and S2 for details), presented a higher concentration of Al, Ba, and Ti than the other samples. In addition, three black samples (1, 8, and 9) contain a high content of Ca and Zn.

Table II shows that potentially hazardous elements were determined on synthetic leathers at maximum concentrations (in mg kg<sup>-1</sup>) of  $27 \pm 1$  for Cd (sample 8),  $121 \pm 6$  for As (sample 8),  $163 \pm 2$  for Cu (sample 7),  $528 \pm 18$  for Zn (sample 1),  $2484 \pm 160$  for Pb (sample 8) and  $24\,732 \pm 433$  for Cr (sample 5). As and the toxic metals Cd, Cr, Cu, Pb, and Zn are dangerous elements harmful to human health and the environment. These concentrations are high and cause concern about the manipulation and use of synthetic leather objects, mainly that present in this study due to the low cost and easy access. These toxic elements can be added to the synthetic leathers in production stages and several can be found in chemicals, dyes, machinery, among others.

The standards were added to all samples before sample preparation to evaluate the accuracy. The recovery ranged from 75% to 109% for all 17 elements, as observed in Table III. In addition, the relative standard deviation (RSD) values varied from 0.38% (Ni) to 9.3% (Fe), showing the good precision of the results obtained. This procedure was performed because commercial leather certified material is not available.

### Principal Component Analysis of Synthetic Leathers using ICP-OES Data

Principal component analysis was performed for the three techniques evaluated in this study (ICP-OES, LIBS, and WDXRF) to verify the abilities of each one to distinguish or to group the samples according to their chemical profile. The software used for calculating the PCA data was Pirouette version 4.5 (Infometrix).

Principal component analysis was used for exploratory analysis, which lowered the dimensionality of data to allow similar samples to be found in close clusters and different samples to be separated from each other.<sup>25</sup> The loadings graph is an important tool used in association with the graph of scores that shows the elements or variables responsible for the grouping or separation in the graph of scores.<sup>25</sup> In the case of ICP-OES, PCA was applied to the data sets of the concentrations of 16 elements

**Table II.** Elemental concentrations in mg kg<sup>-1</sup> (mean ± standard deviation for n = 3) in synthetic leather samples using ICP-OES.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	LOD	LOQ
Al	211 ± 7	1019 ± 106	813 ± 178	1607 ± 197	242 ± 15	238 ± 50	147 ± 8	884 ± 105	471 ± 17	0.03	0.1
As	<LOQ	22.0 ± 0.4	32 ± 1	27.0 ± 0.2	35.0 ± 0.4	21.0 ± 0.1	17.0 ± 0.1	121 ± 6	<LOQ	0.03	0.1
Ba	163 ± 6	28 ± 2	14.0 ± 0.3	4606 ± 210	<LOQ	57 ± 1	13.0 ± 0.5	566 ± 48	2423 ± 52	0.003	0.009
Ca	49 420 ± 1986	37 023 ± 1292	20 982 ± 3695	26 245 ± 775	884 ± 31	1574 ± 40	770 ± 24	112 233 ± 4151	55 619 ± 738	0.09	0.3
Cd	4.5 ± 0.2	4.4 ± 0.1	4.1 ± 0.2	4.9 ± 0.1	4.3 ± 0.1	4.1 ± 1	4.1 ± 0.1	27 ± 1	5.4 ± 0.1	0.003	0.01
Co	2.7 ± 0.1	2.7 ± 0.1	2.4 ± 0.2	<LOQ	3.6 ± 0.2	3.9 ± 0.1	1.6 ± 0.1	<LOQ	<LOQ	0.003	0.01
Cr	54 ± 1	15 082 ± 393	20 288 ± 793	19 465 ± 110	24 732 ± 433	14 092 ± 139	11 606 ± 228	25 ± 3	13 ± 1	0.009	0.03
Cu	24 ± 1	39 ± 2	22 ± 4	18.0 ± 0.4	<LOQ	3.2 ± 0.3	163 ± 2	38 ± 8	17 ± 0.7	0.005	0.02
Fe	426 ± 20	1015 ± 81	824 ± 6	891 ± 182	145 ± 7	311 ± 15	130 ± 9	486 ± 63	563 ± 78	0.01	0.04
Mg	18 834 ± 777	1378 ± 27	1002 ± 8	538 ± 15	231 ± 6	648 ± 26	165 ± 2	8936 ± 182	12 798 ± 291	0.008	0.03
Mn	27 ± 1	9.4 ± 0.8	4.6 ± 0.4	20 ± 2	<LOQ	<LOQ	<LOQ	19 ± 0.7	2.0 ± 0.3	0.002	0.007
Ni	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0.008	0.03
Pb	273 ± 13	153 ± 20	365 ± 4	233 ± 17	2.8 ± 0.2	4.6 ± 0.2	39 ± 1	2484 ± 160	78 ± 2	0.002	0.006
Sb	22 ± 1	77 ± 2	94 ± 4	98.0 ± 0.1	111 ± 2	64.0 ± 0.4	53 ± 1	262 ± 27	22 ± 1	0.003	0.01
Sr	87 ± 3	22 ± 1	15 ± 7	104 ± 4	<LOQ	<LOQ	<LOQ	84 ± 3	61 ± 1	0.01	0.04
Ti	<LOQ	23 ± 5	<LOQ	48 ± 16	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	7 ± 2	0.007	0.02
Zn	528 ± 18	16 ± 1	41 ± 1	126 ± 2	2.1 ± 0.7	<LOQ	3 ± 1	253 ± 10	491 ± 7	0.002	0.007

LOD: limit of detection; LOQ: limit of quantification; < LOQ: below limit of quantification.

**Table III.** Recoveries and RSD values (%;  $n=3$ ) for analytes determination using ICP-OES.

Element	Recovery (%)	RSD (%)
Al	75	2.4
As	84	2.7
Ba	101	0.76
Ca	109	7.3
Cd	99	0.45
Co	100	1.3
Cr	95	1.8
Cu	101	4.2
Fe	102	9.3
Mg	98	1.3
Mn	101	0.68
Ni	98	0.38
Pb	85	2.6
Sb	97	2.7
Sr	101	1.7
Ti	101	1.3
Zn	99	0.93

(except Ni because it was below the LOD) in nine synthetic leathers. The matrix rows are represented by nine samples and the columns correspond to the concentrations of the chemical elements (matrix 9:16). The data were autoscaled.

The PCA results are given in Fig. 2. The first three components explained 83% of the total variance. The first principal component (PC1) represented 40%, PC2 represented 23%, and PC3 accounted 20%.

The scores and loadings plot for PC1 versus PC2 are shown in Fig. 2a and b and for PC1 versus PC3 in Fig. 2c and d. In this case, the PCA was applied for an exploratory analysis to evaluate the samples, to visualize similarities in the scores plot and to identify the analytes that reflects possible discriminations in the loadings plot.

The score plots in Fig. 2a and c show the similarity between the chemical profiles of samples 1 and 9, 2 and 3, and among samples 5, 6, and 7 (see details in Fig. 1 and Supplementary Figs. S1 and S2). Compared to the other samples, the samples 4 and 8 exhibited different chemical profiles. Although synthetic leather samples are very different from each other, especially inside the sample (see Fig. S1), a correlation is observed between the black samples (sample 1, belt and sample 9, the purse), between two belts (samples 2 and 3), and among the three wallets (samples 5, 6, and 7).

The loading plots in Fig. 2b and d indicate the elements responsible for the grouping of the synthetic leather samples in the scores plot. Sample 1 is associated with Mg and Zn concentrations. Sample 9 is associated with Mn and Sr. Samples 2 and 3 are separated essentially by the Cr

concentrations, that are surprisingly high and we did not find a suitable explanation for this observation. Sample 4 (white belt) is separated by Ti, Ba, Al, and Fe. Samples 5, 6, and 7 (wallets) are strongly associated with Co and Cu concentrations, and sample 8 (cell phone case) is associated with Sb, As, Pb, Cd, and Ca, confirming the high concentrations of the cited analytes in the samples. The scores and loadings plot on PC2 versus PC3 shown similar results (see Fig. S3).

### Laser-Induced Breakdown Spectra of Synthetic Leathers

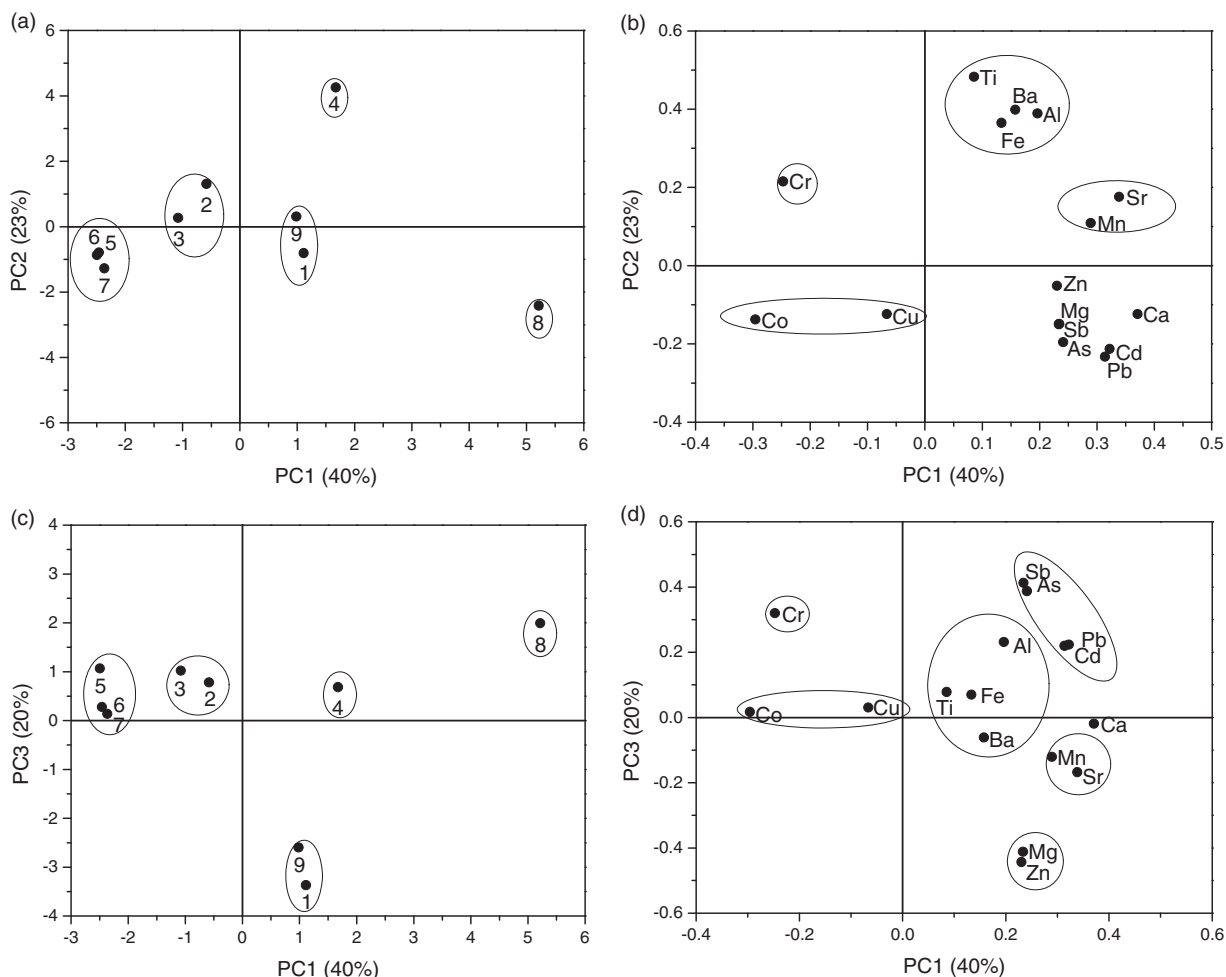
Representative LIBS spectra of belts made of synthetic leather (samples 1, 2, and 3) are presented in Fig. 3a to c, and elements such as C, Cr, Ti, Mg, Ca, Na, H, K, and O are present. Laser-induced breakdown spectra of the other synthetic leather samples (4–9) are shown in Fig. S4. The different spectral line intensities of C, Mg, Cr, Ca, Ba, Ti, Na, H, K, and O are present in the spectra of these samples. Both samples sides presented similar signal profile and in the further analysis, only the spectra obtained in the front side were used.

All spectra of samples 1–9 demonstrate the variability in the chemical profiles of the synthetic leathers studied, and each sample has a particular elemental composition with concentration differences. The Ca, Na, and K elements are present in all samples evaluated, while Mg, Cr, Ti, and Ba are present in most samples. The elements C, H, and O appear only in sample 1.

### Principal Component Analysis of Synthetic Leathers with the LIBS Data Set

In the exploratory analysis of the LIBS dataset, PCA was calculated using the total spectral profile (12 288 emission lines, from 186 to 1042 nm) and the peaks responsible for separating the synthetic leather classes were identified and associated with the compounds present in the samples. The preprocessing of the dataset was normalized by the individual norm and mean-centered. The calculated data matrix ( $9 \times 12\,288$ ) corresponds to the nine synthetic leather samples in the rows and the emission lines in the columns. The PCA of the LIBS data sets was applied to the average spectra of 100 laser pulses of each of the nine synthetic leathers. The spectra of the samples were evaluated with the goal of obtaining a global fingerprint, and the results of the PCA scores and loadings for PC1 versus PC2 are given in Fig. 4. PC1 and PC2 both have a total variance of 72%, of which 52% is for PC1 and 20% is for PC2.

The samples were characterized essentially by PC1 and PC2 in the scores plot (Fig. 4a) and were classified into three distinct groups: one of sample 7, one of samples 4 and 8 and a third cluster with the other samples. All other



**Figure 2.** (a) PCA scores plot and (b) loadings plot for PC1 versus PC2; (c) the scores plot and (d) loadings plot for PC2 versus PC3 datasets obtained by mineralization and analysis using ICP-OES.

samples (1, 2, 3, 5, 6, and 9) formed a single mixed cluster mainly characterized by negative values in PC1 and PC2.

In Fig. 4a, PC1 discriminates the LIBS spectra of samples 4 and 8 with the positive scores, whereas PC2 discriminates the LIBS spectra of sample 7 with the positive scores and samples 1, 2, 3, 5, 6, and 9 with the negative scores.

The loadings plots are shown in Fig. 4b (loadings for PC1) and 4c (loadings for PC2). The loadings for PC1 show that the emission lines of Ca(I) and Na(I) are correlated and presents positive loading values, while the emission lines of Ti(I), Cr(I), Na(I), and K(I) are also correlated, with negative loading values. Na(I) presents positive and negative loadings. Samples 4 and 8 likely have similar chemical profiles that correspond to the positive values for Ca and Na in the loadings plot (Fig. 4b).

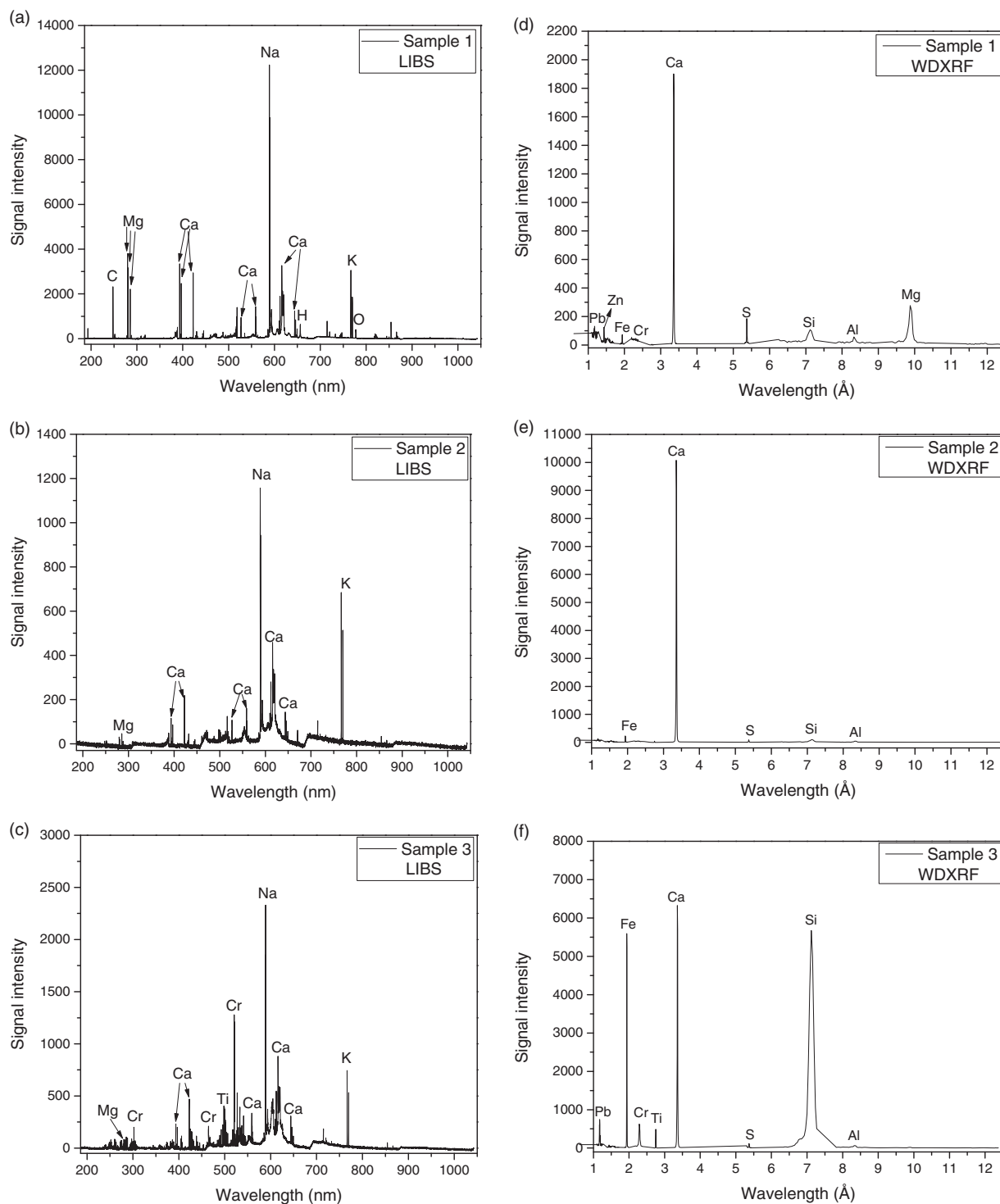
Figure 4c shows that emission lines of Ti(I), Cr(I), Ba(I), and K(I) exhibit positive loading values and are correlated, and the lines for C(I), Mg(II), Ca(II), Ca(I), and Na(I) are also correlated in the loadings for PC2. Sample 7 possibly has a

different chemical profile than the others and together with sample 4 was characterized by the positive values in PC2 that correspond to Ti(I), Cr(I), Ba(I), and K(I). Samples 1, 2, 3, 5, 6, and 9 were characterized by the negative values in PC2 that correspond to C(I), Mg(II), Ca(II), Ca(I), and Na(I).

When comparing the PCA obtained using LIBS (Fig. 4) and the PCA obtained using ICP-OES (Fig. 2), both present similar behaviors in the scores plot. For example, in Fig. 4a, samples 1 and 9, samples 2 and 3, and samples 5 and 6 are near each other, as shown in Fig. 2. However, these samples are closer in the graph. Additionally, sample 7 was the only one that presented a difference due to the fact that is not next to samples 5 and 6, as shown in Fig. 2.

### Wavelength Dispersive X-ray Fluorescence Spectra of Synthetic Leathers

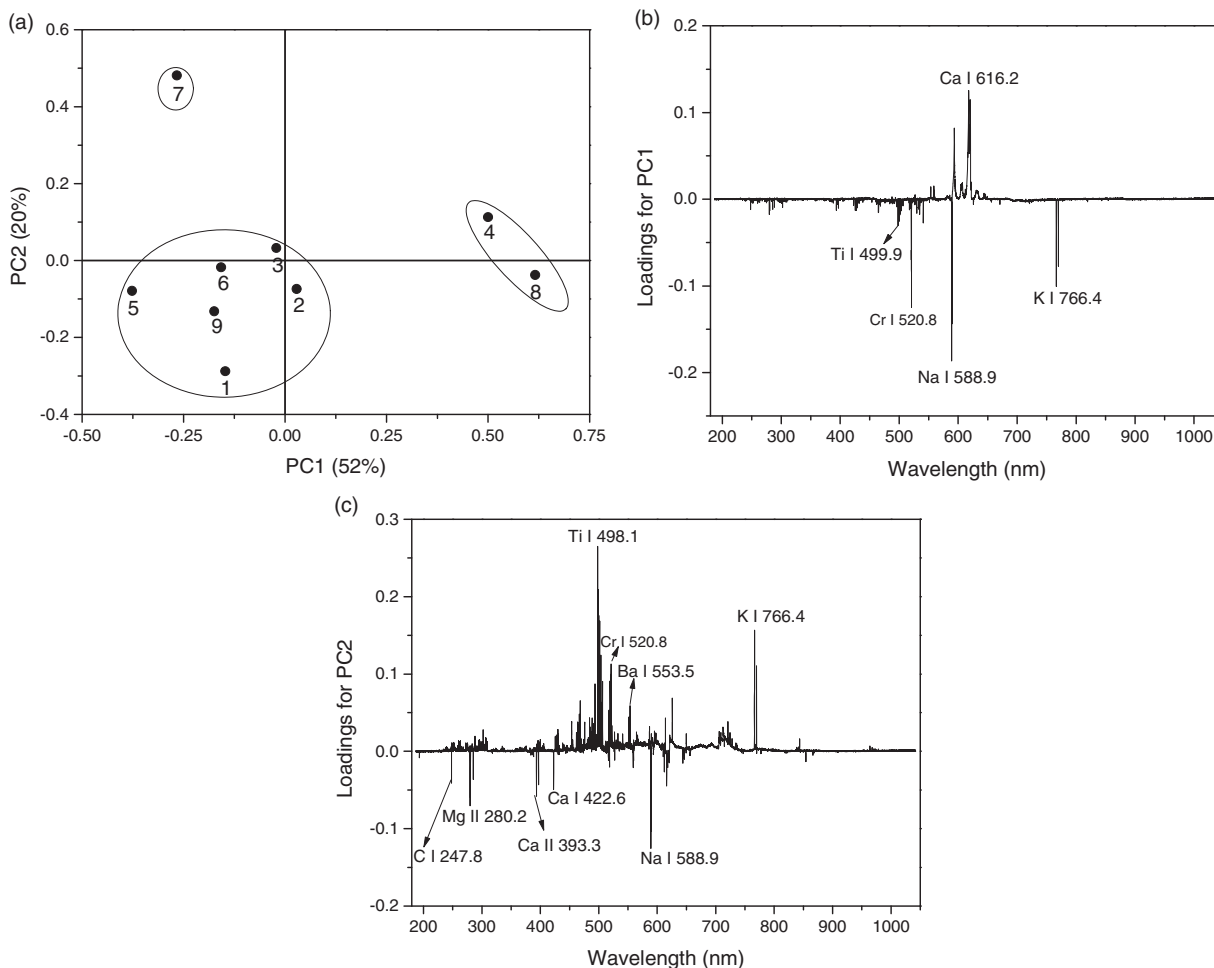
Figure 3d to f show the WDXRF spectra of samples 1, 2, and 3, belts made of synthetic leather. The peaks that



**Figure 3.** (a–c) LIBS spectra and (d–f) WDXRF spectra of samples 1, 2, and 3.

correspond to Pb, Zn, Fe, Cr, Ca, S, Si, Al, Ti, and Mg are presented. The spectra of the other synthetic leather samples (4–9) are shown in Fig. S5 and the other elements with Cu and Na are present in the spectra of these samples.

The elemental composition of the samples varies from one to the other, and the spectra show that only sample 7 presents Cu, and only sample 9 presents Na. Moreover, some samples present Mg, Cr, Zn and Pb, but all present Al, S, Si, Ca and Fe.



**Figure 4.** (a) PCA scores plot for PC1 versus PC2; loadings plot for (b) PC1 and (c) PC2 for datasets obtained from the direct analysis using LIBS.

### Principal Component Analysis of Synthetic Leathers Using the WDXRF Data Set

The WDXRF spectra of samples obtained from the synthetic leather were also investigated, and the PCA of the dataset was employed. The data matrix ( $9 \times 459$ ) corresponds to nine synthetic leather samples (rows) and 459 wavelengths (columns). The dataset was mean-centered before calculation. The elemental composition of the samples related to the XRF fluorescence spectra was used to obtain a fingerprint of the synthetic leathers.

Figure 5a shows the scores plots for PC1 versus PC2 obtained for the WDXRF spectra and both explain the total variance of 88%. The samples were separated into three groups and correlations between samples 2 and 3, among 5, 6, and 7 and among samples 1, 4, 8, and 9 were observed.

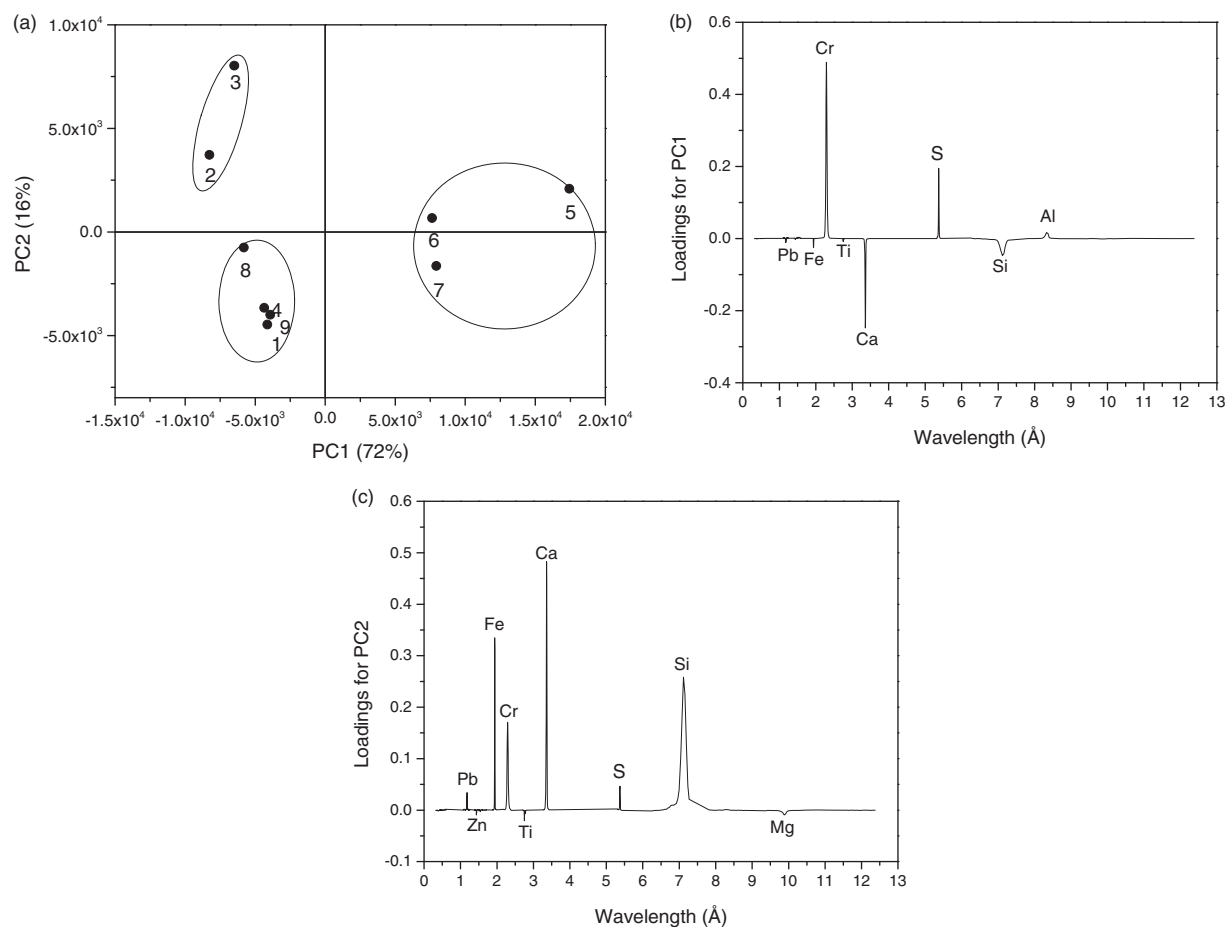
PC1 discriminates the WDXRF spectra of samples 5–7 with positive scores and samples 1–4, 8, and 9 with negative

scores. This result indicates that samples 5, 6, and 7 are similar and differ from the chemical composition of the other samples.

Figure 5b and c show the loadings plot for the first two PCs. The loading plot for PC1 (Fig. 5b) shows that Al, Cr, and S are correlated with positive loading values and Ca, Fe, Pb, Ti, and Si are also correlated with negative loading values. This finding suggests that the concentrations of Al, Cr and S are higher in samples 5, 6, and 7.

The loadings plot for PC2 in Fig. 5c shows that Ca, Cr, Fe, Pb, S, and Si are correlated with positive loading values and Mg, Ti, and Zn present negative loading values, being correlated among them, which indicate that samples 2 and 3 (high PC2 scores values) have higher concentrations of Ca, Cr, Fe, Pb, S, and Si.

Samples 1, 4, 8, and 9 present similar behavior (clustered in negative PC1 and PC2 scores) and are associated with Mg, Ti, and Zn (negative values in PC2 loadings) and associated with Ca, Cr, Fe, Pb, S, and Si with negative values in PC1 loadings (see Figs. 5b and c).



**Figure 5.** (a) PCA scores plot for PC1 versus PC2; loadings plot for (b) PC1 and (c) PC2 datasets obtained from the direct analysis using WDXRF.

When comparing the PCA obtained using WDXRF (Fig. 5) and the PCA obtained with ICP-OES (Fig. 2), both present a similar behavior in the scores plot. For example, in Fig. 5a, samples 2 and 3, samples 5, 6, and 7, and samples 1 and 9 are near each other, as shown in Fig. 2. However, the differences are that samples 4 and 8 are similar to samples 1 and 9 in the PCA obtained by WDXRF. This behavior is different from that of the PCA obtained by ICP-OES, in which samples 4 and 8 differ from all others.

In order to compare which elements were detected for each of the three techniques evaluated in this study, Table IV was constructed with the emission lines selected for each analyte for measurements in ICP-OES, in addition to the emission lines used to identify the elements in both LIBS and in WDXRF spectra. Table IV shows that the elements at lower concentrations in the samples as As, Cd, Co, Mn, Ni, and Sr were only detected using ICP-OES due to high sensitivity of the technique (the only exception was Ni). Molecular species such as H and O were only detected using LIBS, whereas S and Si were only detected using WDXRF. Ca, Cr, Mg (the three elements with the highest

concentrations in the samples), and Ti were detected by the three techniques.

The results of this study show that ICP-OES gives more information, mainly quantitative and for elements in low concentration, about the samples compared with LIBS and WDXRF. However, this is the first study that evaluates the use of LIBS and WDXRF techniques in synthetic leather samples. The use of these techniques is particularly important because they dispense with laborious sample preparation. When comparing with ICP-OES, both techniques allowed reduction of the risks to the analyst because toxic solvents and concentrated acids were not employed. The only material used in LIBS was the double-sided tapes used to fix the synthetic leathers in the ablation chamber, there were no losses of analytes by volatilization, small amounts of samples were necessary in the analyzes that were very fast, and it was not necessary to use gases in the both instruments. These attractive advantages aroused attention to an initial chemical evaluation of synthetic leathers by both LIBS and WDXRF even though in a qualitative way, but always having ICP-OES as a reference, if quantitative results are the goal.



**Table IV.** Emission lines selected for ICP-OES determinations, emission lines used for identifying elements in LIBS and wavelengths observed in WDXRF data of the nine analyzed synthetic leather samples.

Elements	ICP-OES emission lines (nm)	LIBS emission lines (nm)	WDXRF wavelengths (Å)
Al	(I) 308.215 <sup>a</sup>	Not detected	8.27
As	(I) 193.759 <sup>c</sup>	Not detected	Not detected
Ba	(II) 233.527 <sup>c</sup>	(II) 493.41, (I) 553.55	Not detected
C	Not determined	(I) 247.86	Not detected
Ca	(II) 317.933 <sup>b</sup>	(I) 422.7, (I) 616.22	3.37
Cd	(II) 226.502 <sup>a</sup>	Not detected	Not detected
Co	(II) 228.615 <sup>c</sup>	Not detected	Not detected
Cr	(II) 267.716 <sup>c</sup>	(I) 464.62, (I) 520.84	2.29
Cu	(I) 327.396 <sup>a</sup>	Not detected	1.54
Fe	(II) 238.204 <sup>b</sup>	Not detected	1.91
H	Not determined	(I) 656.28	Not detected
K	Not determined	(I) 766.4, (I) 769.89	Not detected
Mg	(II) 279.559 <sup>c</sup>	(II) 279.55, (I) 285.21	9.43
Mn	(II) 260.569 <sup>c</sup>	Not detected	Not detected
Na	Not determined	(I) 588.99, (I) 589.59	11.8
Ni	(II) 231.604 <sup>a</sup> (all results were < LOQ, see Table II)	Not detected	Not detected
O	Not determined	(I) 777.42	Not detected
Pb	(II) 220.353 <sup>a</sup>	Not detected	1.17
S	Not determined	Not detected	5.27
Sb	(I) 206.833 <sup>a</sup>	Not detected	Not detected
Si	Not determined	Not detected	7.09
Sr	(II) 228.200 <sup>c</sup>	Not detected	Not detected
Ti	(II) 336.121 <sup>c</sup>	(I) 499.95	2.74
Zn	(II) 202.548 <sup>a</sup>	Not detected	1.39

(I) atomic, (II) ionic.

<sup>a</sup>Axial and radial.

<sup>b</sup>Only axial.

<sup>c</sup>Only radial.

## Conclusion

Nine objects made of different synthetic leather materials, including belts, wallets, a cell phone case, and a purse, were analyzed quantitatively using ICP-OES and qualitatively using LIBS and WDXRF. The samples were evaluated and classified according to their elemental composition analyzed by the three techniques combined with PCA.

The ICP-OES measurements were performed after mineralization of samples with a mixture of HNO<sub>3</sub> and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, and the concentrations of the 17 elements were different in each sample, but the application of PCA revealed which elements have more influence in each sample.

A direct analysis was also performed using LIBS and WDXRF. The spectra of the synthetic leathers obtained by both techniques were processed and evaluated with PCA. The results show similarities and differences among the synthetic leather samples based on the elements contained in the evaluated spectra.

The major advantage of LIBS and WDXRF over ICP-OES means there is no need for sample preparation, no

consumption of toxic solvents or acids, no residue generation, and lower risks of contamination and analyte loss, reducing analysis time and cost. The association of LIBS–WDXRF with PCA proved to be useful, quick, and simple tools to evaluate the chemical profile of samples of synthetic leather. Using LIBS toxic element like Cr was detected and WDXRF was able to detect Cr and Pb.

In addition, each of the nine samples evaluated in this study had different chemical composition, such as analyte type and concentration. These perceptions can be seen by the quantitative and qualitative analysis of the leathers.

## Conflict of Interest

The authors report that there are no conflicts of interest.

## Funding

This work was supported by the São Paulo Research Foundation (FAPESP, grant numbers 2016/01513-0, 2015/14488-0, and 2011/51564-6), The Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária



(Embrapa, grant number 02.03.1.16.00.08), The Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, grant numbers 506119/2008-4, 401074/2014-5, and 305637/2015-0).

### Supplemental Material

All supplemental material mentioned in the text, including five figures (Figs. S1–S5), is available in the online version of the journal.

### References

- G.L. Scheffler, D. Pozebon. "Trace Element Determination in Leather Samples Using On-Line Internal Standardization, Ultrasonic Nebulization and Axial View-ICP OES". *Anal. Methods*. 2015. 7(12): 5180–5185.
- T.B. Sudha, P. Thanikaivelan, K.P. Aaron, K. Krishnaraj, et al. "Comfort Chemical, Mechanical, and Structural Properties of Natural and Synthetic Leathers Used for Apparel". *J. Appl. Polym. Sci.* 2009. 114(3): 1761–1767.
- M. Chen, D.-L. Zhou, Y. Chen, P.-X. Zhu. "Analyses of Structures for a Synthetic Leather Made of Polyurethane and Microfiber". *J. Appl. Polym. Sci.* 2007. 103(2): 903–908.
- R. Liu, Y. Chen, H. Fan. "Design, Characterization Dyeing Properties, and Application of Acid-Dyeable Polyurethane in the Manufacture of Microfiber Synthetic Leather". *Fibers Polym.* 2015. 16(9): 1970–1980.
- A. Aslan, N.O. Üzümlü. "Determining the Heavy Metal Contents of Natural and Artificial Upholstery Leathers". *J. Text. Apparel*. 2015. 25(3): 33–37.
- T. Sano, S. Suzuki. "Basic Forensic Identification of Artificial Leather for Hit-and-Run Cases". *Forensic Sci. Int.* 2009. 192(1–3): E27–E32.
- C. Yang, J. Wang, L. Li. "A Novel Approach for Developing High Thermal Conductive Artificial Leather by Utilizing Smart Electronic Materials". *Text. Res. J.* 2016. 87(7): 816–828.
- W.Y. Jeong, J.W. Park, M. Kamijo, Y. Shimizu, et al. "Characteristics of Artificial Leather for Footwear—Heat and Moisture Transport Properties". *Sen'i Gakkaishi*. 2007. 63(11): 271–275.
- H.A. Karavana, B. Başaran, A. Aslan, B.O. Bitlisli, et al. "Heavy Metal Contents of Bootle Leathers Tanned with Different Process Recipes". *J. Text. Apparel*. 2011. 3(4): 305–310.
- A. Aslan. "Determination of Heavy Metal Toxicity of Finished Leather Solid Waste". *Bull. Env. Contam. Toxicol.* 2009. 82(5): 633–638.
- Y. Zhao, Z. Li, A. Ross, Z. Huang, et al. "Determination of Heavy Metals in Leather and Fur by Microwave Plasma-Atomic Emission Spectrometry". *Spectrochim. Acta, Part B*. 2015. 112(1): 6–9.
- S. Okoh, D.J. Adeyemo, R.A. Onoja, S.A. Arabi. "Determination of Some Trace Elements in Leather". *Int. J. Appl. Sci. Technol.* 2013. 3(1): 101–105.
- W.F. Fuck, M. Gutterres, N.R. Marcili, S. Bordingnon. "The Influence of Chromium Supplied by Tanning and Wet Finishing Processes on the Formation of Cr (VI) in Leather". *Braz. J. Chem. Eng.* 2011. 28(2): 221–228.
- M.M. Nasr, M.A. Gondal, Z.S. Seddigi. "Detection of Hazardous Pollutants in Chrome-Tanned Leather Using Locally Developed Laser-Induced Breakdown Spectrometer". *Env. Monit. Assess.* 2011. 175(1–4): 387–395.
- W. Luo, Y. Si, H. Wang, Y. Qin, et al. "Leather Material Found on a 6th B. C. Chinese Bronze Sword: A Technical Study". *Spectrochim. Acta, Part A*. 2011. 79(5): 1630–1633.
- A.M. Neiva, M.A. Jacinto, M.M. Alencar, S.N. Esteves, et al. "Proposition of Classification Models for the Direct Evaluation of the Quality of Cattle and Sheep Leathers Using Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS) Analysis". *RSC Adv.* 2016. 6(106): 104827–104838.
- R. Cantero, J.R. Riba, T. Canals, L.L. Izquierdo, et al. "Characterization of Leather Finishing by IR Spectroscopy and Canonical Variate Analysis". *J. Soc. Leather Technol. Chem.* 2008. 93(1): 12–17.
- D.C. Deselnicu. "Applications of Statistical Methods in Investigating Heritage Leather Items". *Leather Footwear J.* 2010. 10(1): 13–30.
- Y. Wu, A.H. Wang, R.R. Zheng, H.Q. Tang, et al. "Laser-Drilled Micro-Hole Arrays on Polyurethane Synthetic Leather for Improvement of Water Vapor Permeability". *Appl. Surf. Sci.* 2014. 305(1): 1–8.
- D.W. Hahn, N. Omenetto. "Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS), Part II: Review of Instrumental and Methodological Approaches to Material Analysis and Applications to Different Fields". *Appl. Spectrosc.* 2012. 66(4): 347–419.
- F.R. Doucet, T.F. Belliveau, J.-L. Fortier, J. Hubert. "Use of Chemometrics and Laser-Induced Breakdown Spectroscopy for Quantitative Analysis of Major and Minor Elements in Aluminum Alloys". *Appl. Spectrosc.* 2007. 61(3): 327–332.
- B.A. Alfarraj, H.K. Sanghavi, C.R. Bhatt, F.Y. Yueh, et al. "Qualitative Analysis of Dairy and Powder Milk Using Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS)". *Appl. Spectrosc.* 2018. 72(1): 89–101.
- J.J. Melendez-Perez, D.N. Correa, V.V. Hernandez, D.R. De Moraes, et al. "Forensic Application of X-ray Fluorescence Spectroscopy for the Discrimination of Authentic and Counterfeit Revenue Stamps". *Appl. Spectrosc.* 2016. 70(11): 1910–1915.
- National Institute of Standards and Technology (NIST). "Atomic Spectra Database". <https://www.nist.gov/pml/atomic-spectra-database> (accessed 22 February 2017).
- S. Awasthi, R. Kumar, G.K. Rai, A.K. Rai. "Study of Archaeological Coins of Different Dynasties Using Libs Coupled with Multivariate Analysis". *Opt. Lasers Eng.* 2016. 79(9): 29–38.

[Log in / register](#)

Issue 106, 2016, Issue in Progress

[Previous](#)[Next](#)

From the journal:

**RSC Advances**

## Proposition of classification models for the direct evaluation of the quality of cattle and sheep leathers using laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) analysis

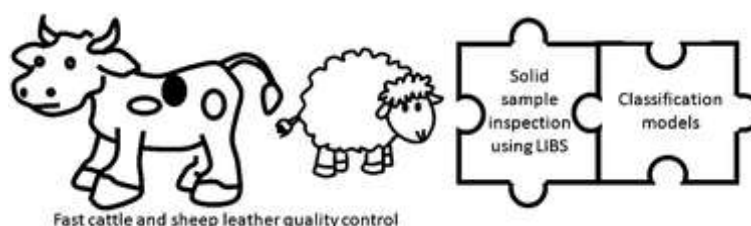


[Ariane Maciel Neiva](#),<sup>ab</sup> [Manuel Antonio Chagas Jacinto](#),<sup>b</sup> [Maurício Mello de Alencar](#),<sup>b</sup> [Sérgio Novita Esteves](#),<sup>b</sup> and [Edenir Rodrigues Pereira-Filho](#)<sup>\*a</sup>

[Author affiliations](#)

### Abstract

This study proposes classification models for the prediction of the quality parameters of cattle and sheep leathers. In total, 375 leather samples were directly analyzed by laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS). Exploratory analysis using principal component analysis (PCA) and classification models employing  $K$ -nearest neighbor (KNN), soft independent modeling of class analogy (SIMCA), and partial least squares – discriminant analysis (PLS-DA) were the chemometric tools used in the multivariate analysis. The goal was to classify the leather samples according to their quality. The calculated models have satisfactory results with correct prediction percentages ranging from 75.2 (for SIMCA) to 80.5 (for PLS-DA) for the calibration dataset and from 71.6 (for SIMCA) to 80.9 (for KNN) for the validation samples. The proposed method can be used for preliminary leather quality inspection without chemical residues generation.



[About](#)[Cited by](#)[Related](#)

## Proposition of classification models for the direct evaluation of the quality of cattle and sheep leathers using laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) analysis

A. M. Neiva, M. A. Chagas Jacinto, M. Mello de Alencar, S. N. Esteves and E. R. Pereira-Filho, *RSC Adv.*, 2016, **6**, 104827

DOI: 10.1039/C6RA22337K

If you are not the author of this article and you wish to reproduce material from it in a third party non-RSC publication you must [formally request permission](#) using RightsLink. Go to our [Instructions for using RightsLink page](#) for details.

Authors contributing to RSC publications (journal articles, books or book chapters) do not need to formally request permission to reproduce material contained in this article provided that the correct acknowledgement is given with the reproduced material.

Reproduced material should be attributed as follows:

- For reproduction of material from NJC:  
Reproduced from Ref. XX with permission from the Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS) and The Royal Society of Chemistry.
- For reproduction of material from PCCP:  
Reproduced from Ref. XX with permission from the PCCP Owner Societies.
- For reproduction of material from PPS:  
Reproduced from Ref. XX with permission from the European Society for Photobiology, the European Photochemistry Association, and The Royal Society of Chemistry.
- For reproduction of material from all other RSC journals and books:  
Reproduced from Ref. XX with permission from The Royal Society of Chemistry.

If the material has been adapted instead of reproduced from the original RSC publication "Reproduced from" can be substituted with "Adapted from".

In all cases the Ref. XX is the XXth reference in the list of references.

If you are the author of this article you do not need to formally request permission to reproduce figures, diagrams etc. contained in this article in third party publications or in a thesis or dissertation provided that the correct acknowledgement is given with the reproduced material.

Reproduced material should be attributed as follows:

- For reproduction of material from NJC:  
[Original citation] - Reproduced by permission of The Royal Society of Chemistry (RSC) on behalf of the Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS) and the RSC
- For reproduction of material from PCCP:  
[Original citation] - Reproduced by permission of the PCCP Owner Societies

Manuel Antonio Chagas Jacinto

Maurício Mello de Alencar

Sérgio Novita Esteves

Edenir Rodrigues Pereira-Filho

[Go](#)

Spotlight

Advertisements

---

Journals, books & databases

---



[Home](#)

[About us](#)

[Membership & professional community](#)

[Campaigning & outreach](#)

[Journals, books & databases](#)

[Resources & tools](#)

[News & events](#)

[Locations & contacts](#)

[Careers](#)

[Awards & funding](#)

[Advertise](#)

[Help & legal](#)

[Privacy policy](#)

[Terms & conditions](#)



© Royal Society of Chemistry 2018

Registered charity number: 207890



## SPRINGER NATURE

**Title:** Determination of toxic metals in leather by wavelength dispersive X-ray fluorescence (WDXRF) and inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES) with emphasis on chromium

**Author:** Ariane Maciel Neiva, Marco Aurelio Sperança, Vinicius Câmara Costa et al

**Publication:** Environmental Monitoring and Assessment

**Publisher:** Springer Nature

**Date:** Jan 1, 2018

Copyright © 2018, Springer Nature Switzerland AG

**LOGIN**

If you're a **copyright.com user**, you can login to RightsLink using your copyright.com credentials. Already a **RightsLink user** or want to [learn more?](#)

### Quick Price Estimate

**This reuse request is free of charge although you are required to obtain a license through RightsLink and comply with the license terms and conditions. You will not be charged for this order. Please select the Continue button and place an order for this reuse.**

**I would like to...** ?

reuse in a dissertation/thesis ▼

**I am a/an...** ?

academic/university or research institute ▼

**My format is...** ?

print and electronic ▼

**I would like to use...** ?

full article/chapter ▼

**Circulation/distribution** ?

<501 ▼

**Are you the author of this Springer Nature content?** ?

yes ▼

**I will be translating...** ?

no ▼

**My currency is...**

USD - \$ ▼

**Quick Price**

0.00 USD

**QUICK PRICE**

**CONTINUE**

This service provides permission for reuse only. If you do not have a copy of the article you are using, you may copy and paste the content and reuse according to the terms of your agreement. Please be advised that obtaining the content you license is a separate transaction not involving RightsLink.



# RightsLink®

[Home](#)
[Create Account](#)
[Help](#)


**Title:** Evaluation of the Chemical Composition of Synthetic Leather Using Spectroscopy Techniques

**Author:** Ariane Maciel Neiva, Edenir Rodrigues Pereira-Filho

**Publication:** Applied Spectroscopy

**Publisher:** SAGE Publications

**Date:** 06/01/2018

Copyright © 2018, © SAGE Publications

#### LOGIN

If you're a **copyright.com user**, you can login to RightsLink using your copyright.com credentials. Already a **RightsLink user** or want to [learn more?](#)

### Gratis Reuse

If you are a SAGE journal author requesting permission to reuse material from your journal article, please note you may be able to reuse your content without requiring permission from SAGE. Please review SAGE's author reuse and archiving policies at <https://us.sagepub.com/en-us/nam/journal-author-archiving-policies-and-re-use> for more information.

If your request does not fall within SAGE's reuse guidelines, please proceed with submitting your request by selecting one of the other reuse categories that describes your use. Please note, a fee may be charged for reuse of content requiring permission. Please contact [permissions@sagepub.co.uk](mailto:permissions@sagepub.co.uk) if you have questions.

[BACK](#)
[CLOSE WINDOW](#)

Copyright © 2018 [Copyright Clearance Center, Inc.](#) All Rights Reserved. [Privacy statement.](#) [Terms and Conditions.](#) Comments? We would like to hear from you. E-mail us at [customercare@copyright.com](mailto:customercare@copyright.com)