

Universidade Federal de Minas Gerais

Instituto de Ciências Exatas

Departamento de Química

Aline Rodrigues Soares

**Desenvolvimento de Métodos para Determinação de Chumbo e
Níquel em Produtos Cosméticos e Cabelo por GF AAS**

Belo Horizonte

2012

UFMG/ICEx/DQ. 921^a

T. 407^a

ALINE RODRIGUES SOARES

**Desenvolvimento de Métodos para Determinação de Chumbo e
Níquel em Produtos Cosméticos e Cabelo por GF AAS**

Tese apresentada ao Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Ciências – Química.

Belo Horizonte

2012

Soares, Aline Rodrigues
S676d Desenvolvimento de métodos para determinação de
2012 chumbo e níquel em produtos cosméticos e cabelo por GF
T AAS / Aline Rodrigues Soares. 2012.
xx, 149 f. : il.

Orientadora: Clésia Cristina Nascentes.

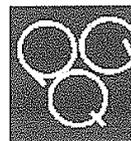
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Minas
Gerais. Departamento de Química.
Inclui bibliografia.

1. Química analítica - Teses 2. Cosméticos - Teses
3. Espectroscopia de absorção atômica - Teses 4.
Cabelo - Teses 5. Chumbo - Teses I. Nascentes, Clésia
Cristina, Orientadora II. Título.

CDU 043



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA - ICEx
31270-901 - BELO HORIZONTE - MG
TEL.: 031 - 3499-5732
FAX: 031 - 3499-5700
E-MAIL: pgquimic@zeus.qui.ufmg.br



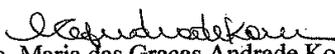
**"Desenvolvimento de Métodos para Determinação de Chumbo e Níquel em
Produtos Cosméticos e Cabelo por GF AAS"**

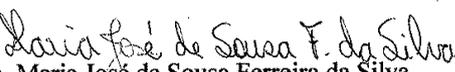
Aline Rodrigues Soares

Tese aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:


Profa. Clésia Cristina Nascentes - Orientadora
UFMG


Profa. Cassiana Seimi Nomura
USP


Profa. Maria das Graças Andrade Korn
UFBA


Profa. Maria José de Sousa Ferreira da Silva
UFMG


Profa. Letícia Malta Costa
UFMG

Belo Horizonte, 14 de setembro de 2012.

Aos meus pais José Geraldo e Elia

Meu irmão Wilson

Meu marido Jocimar

Com amor dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo seu amparo e presença em todos os momentos da minha vida;

Aos meus pais e irmão, pelo apoio e amor incondicional, por sempre me ajudarem e não me deixarem fraquejar nas horas mais difíceis. Agradeço a vocês por tudo que fizeram por mim. Amo vocês;

Ao meu marido, por todo amor, carinho, companherismo, compreensão e paciência;

A todos os meus familiares e amigos pelo amor, carinho e presença essencial em minha vida;

Em especial, à Profa. Dra. Clésia Cristina Nascentes pela oportunidade, confiança, orientação, aprendizado e amizade;

À Leila e Jaqueline pela convivência durante estes quatro anos;

Aos amigos e colegas do Departamento de Química: Deyse, Patrícia, Frank, Gisele, Helga, Leonel, Luciano, Rita, Silvéria, Izabela, Reginaldo, Lívia, Daiene, Jociane, pelo auxílio, aprendizado, amizade e momentos de descontração;

À Universidade Federal de Minas Gerais, em especial ao Departamento de Química pelo espaço para a realização do trabalho;

Ao CNPq, Capes e Fapemig pela concessão da bolsa de estudo;

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho

Meus sinceros agradecimentos

RESUMO

O mercado mundial de cosméticos e perfumes movimentava bilhões de dólares por ano e a todo momento novos produtos são colocados à disposição do consumidor. Por isso é muito importante garantir a qualidade e segurança de tais produtos. Assim, a análise de contaminantes inorgânicos em produtos cosméticos é de grande importância, devido às possíveis contaminações e adulterações que podem ocorrer durante as etapas de processamento, acondicionamento e armazenagem dos produtos.

São poucos os trabalhos presentes na literatura relacionados com a determinação de contaminantes inorgânicos em cosméticos. e as técnicas analíticas utilizadas pelos próprios fabricantes e também por instituições governamentais requerem etapas de decomposição da amostra, representando fontes de erros e contaminações.

Neste contexto, este trabalho teve como foco principal o desenvolvimento de métodos simples e rápidos para determinação de chumbo e níquel, em produtos cosméticos (perfumes, tinturas capilares e maquiagem) e em amostras de cabelo humano, por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite.

O trabalho consta de três partes. A primeira tem como intuito desenvolver e validar métodos para determinação de chumbo em amostras de cabelo e tinturas capilares empregando amostragem em suspensão e GF AAS. Para o preparo das suspensões as amostras, com granulometria adequada, foram dispersas em HNO_3 2,5% v/v e H_2O_2 1,5% v/v e as condições ideais de análise como modificadores permanentes, temperaturas de pirólise e atomização, tempos de pirólise e modificador químico em solução, foram avaliadas no sentido de alcançar uma maior eficiência analítica. Os parâmetros analíticos obtidos comprovaram a viabilidade do método tanto para a determinação de chumbo em amostras de cabelo como para determinação deste analito em tinturas capilares. Pode-se verificar pelos resultados, que maiores concentrações de chumbo foram encontradas nas amostras de cabelo de usuários de tintura capilar e em tinturas creme de cores escuras.

Na segunda parte, métodos empregando solubilização alcalina das amostras de batom e amostragem em suspensão para as amostras de sombra, com posterior quantificação de chumbo por GF AAS foram desenvolvidos. Condições ideais de preparo das amostras foram estabelecidas mediante otimização multivariada e o programa de temperatura para cada método foi otimizado através de curvas de pirólise e atomização. Os métodos foram validados e aplicados para análise de 22 amostras de batom e 15 amostras de sombra de diferentes marcas e cores adquiridas no comércio local. A presença de chumbo foi detectada em 21 das 22 amostras analisadas, variando de 0,27 a 4,45 $\mu\text{g g}^{-1}$. Já para as amostras de sombra a menor concentração de chumbo detectado foi de 0,41 $\mu\text{g g}^{-1}$ e a maior de 7,08 $\mu\text{g g}^{-1}$.

Na última parte, foi otimizado e validado um método para determinação direta de níquel em perfumes, também por GF AAS. Os resultados obtidos para os parâmetros de validação indicaram que o método proposto é eficiente e confiável, apresentando alta sensibilidade, com limites de detecção e quantificação na ordem de 0,63 e 2,11 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Uma maior concentração de níquel foi detectada em amostras de águas de perfume importadas, com teores que variaram de 7,13 a 21,7 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Os estudos realizados demonstraram a potencialidade das estratégias de preparo de amostras empregadas neste trabalho para a análise de cosméticos. Acreditando-se que estas estratégias possam ser utilizadas para outros analitos em matrizes iguais ou semelhantes às avaliadas nesta tese. Sendo que os resultados obtidos nas análises dos produtos cosméticos, demonstram a necessidade de um maior controle de qualidade e o estabelecimento de legislações específicas e eficazes que possam controlar a presença de metais tóxicos em tais produtos.

ABSTRACT

The world market of cosmetics and perfumes billions of dollars a year and every time new products are available to the consumer. It is therefore very important to ensure the quality and safety of such products. Thus the analysis of inorganic contaminants in cosmetic products is of great importance because of possible contamination and adulteration that may occur during the processing steps, packaging and storage products.

There are few studies in the literature related to the determination of inorganic contaminants in cosmetics. and the analytical techniques used by the manufacturers and governmental institutions also require decomposition steps of the sample representing sources of errors and contamination.

In this context, this work has focused primarily on the development of simple and rapid methods for determination of lead and nickel in cosmetic products (perfumes, hair dyes and makeup) and in samples of human hair BY graphite furnace atomic absorption spectrometry.

The work consists of three parts. The first objective is to develop and validate methods for the determination of lead in samples of hair and hair dyes employing slurry sampling and GF AAS. To prepare suspensions the samples were diluted in 2.5% v/v HNO₃ and 1.5 % v/v H₂O₂.and the optimal conditions of analysis as permanent modifiers, pyrolysis and atomization temperatures, times, pyrolysis and chemical modifier in solution were evaluated in order to achieve greater analytical efficiency. The analytical data supported the feasibility of the method for determining both lead as in hair samples for the determination of analyte in hair dyes. You can check the results, that higher concentrations of lead were found in hair samples of users of hair dye and dye dark cream color.

In the second part, methods employing alkaline solubilization of the samples of lipstick and slurry sampling for samples of shade, with subsequent quantification of lead by GF AAS were developed. Ideal conditions of sample preparation were established by multivariate optimization and temperature program for each method was optimized through pyrolysis and atomization curves. The methods were validated and applied to analyze 22 samples and 15

samples of lipstick shade of different brands and colors bought locally. The presence of lead was detected in 21 of 22 samples, ranging from 0.27 to 4.45 $\mu\text{g g}^{-1}$. As for the samples shadow the lowest concentration of lead detected was 0.41 $\mu\text{g g}^{-1}$ and the highest 7.08 $\mu\text{g g}^{-1}$

The last section was optimized and validated a method for direct determination of nickel in perfumes, also by GF AAS. The results obtained for the validation parameters indicated that the proposed method is efficient and reliable, with high sensitivity, with limits of detection and quantification of the order of 0.63 and 2.11 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectively. A higher concentration of nickel was detected in samples of perfume imported water, with concentrations ranging from 7.13 to 21.7 μL^{-1} .

Studies conducted demonstrated the potential strategies for sample preparation used in this study for the analysis of cosmetics. It is believed that these strategies can be used for other analytes in the same or similar arrays evaluated in this thesis. Since the results obtained in the analysis of cosmetic products, demonstrate the need for greater quality control and the establishment of effective and specific laws that may control the presence of toxic metals in range products such studies demonstrated the capability of preparing strategies samples used in this study for the analysis of cosmetics. It is believed that these strategies can be used for other analytes in the same or similar arrays evaluated in this thesis. Since the results obtained in the analysis of cosmetic products, demonstrate the need for greater quality control and the establishment of effective and specific laws that may control the presence of toxic metals in such products.

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1. Perfil do sinal analítico obtido utilizando Nb como modificador permanente na determinação de Pb em cabelo por GF AAS.....	49
Figura 2.2. Perfis dos sinais analíticos obtidos utilizando Rh como modificador permanente na determinação de Pb em tintura líquida (A), pó (B) e creme (C) por GF AAS.....	52
Figura 2.3. Gráfico de Pareto gerado a partir do planejamento fatorial fracionário para determinação de Pb em cabelo.....	54
Figura 2.4. Superfície de resposta (a) e superfície de contorno (b) obtidas na otimização final das temperaturas de pirólise (TP) e atomização (TA), para determinação de Pb em cabelo por GF AAS.....	56
Figura 2.5. Gráfico de Pareto gerado a partir do planejamento fatorial (2^{4-1}) para determinação de Pb em tintura líquida.....	59
Figura 2.6. Gráfico de Pareto gerado a partir do planejamento fatorial (2^{4-1}) para determinação de Pb em tintura em pó.	60
Figura 2.7. Gráfico de Pareto gerado a partir do planejamento fatorial (2^{4-1}) para determinação de Pb em tintura creme.....	60
Figura 2.8. Superfície de resposta (a) e superfície de contorno (b) obtidas na otimização final da temperatura de pirólise (TP) e tempo de pirólise (t), para determinação de Pb em tintura líquida por GF AAS.....	63
Figura 2.9. Superfície de resposta (a) e superfície de contorno (b) obtidas na otimização final da temperatura de pirólise (TP) e tempo de pirólise (t), para determinação de Pb em tintura em pó por GF AAS.	63
Figura 2.10. Superfície de resposta (a) e superfície de contorno (b) obtidas na otimização final das temperaturas de pirólise (TP) e atomização (TA), para determinação de Pb em tintura creme por GF AAS.	65

Figura 2.11. Curvas de calibração em meio aquoso e por ajuste de matriz, para determinação de Pb em cabelo e tinturas por GF AAS.....	67
Figura 3.1. Gráfico de Pareto gerado à partir do planejamento fatorial fracionário para o procedimento de solubilização da amostra com TMAH.....	95
Figura 3.2. Superfície de resposta (a) e superfície de contorno (b) obtidas na otimização final do volume de TMAH (V) e da temperatura de aquecimento (T), para o procedimento de solubilização da batom com TMAH.	97
Figura 3.3 Soluções resultantes da solubilização das amostras de batom com TMAH.	97
Figura 3.4. Gráfico de Pareto gerado à partir do planejamento fatorial para o procedimento de amostragem em suspensão.....	98
Figura 3.5 Superfície de resposta (a) e superfície de contorno (b) obtidas na otimização final do volume de HF (V) e do tempo de Sonicação (T), para o procedimento de amostragem em suspensão.....	99
Figura 3.6 Suspensões resultantes da solubilização das amostras de sombra rosa (a), verde (b), branca (c) e cinza (d), respectivamente.....	100
Figura 3.7. Perfis dos sinais analíticos obtidos utilizando Nb (modificador permanente) (a) e Nb (modificador permanente) + Pd (modificador químico em solução) (b), na determinação de Pb em batom por GF AAS.	102
Figura 3.8 Perfis dos sinais analíticos obtidos utilizando Zr (modificador permanente) (a) e Zr (modificador permanente) + Pd (modificador químico em solução) (b), na determinação de Pb em sombra por GF AAS.	103
Figura 3.9. Curvas de pirólise e atomização obtidas para determinação de Pb em batom por GF AAS.	103
Figura 3.10. Curvas de pirólise e atomização obtidas para determinação de Pb em sombra por GF AAS.	104

Figura 3.11. Gráficos exploratórios dos resíduos de regressão das curvas para batom e sombra, com indicação dos respectivos outliers diagnosticados pelo teste de resíduos padronizados <i>Jackknife</i>	105
Figura 3.12 Curvas de calibração em meio aquoso e por ajuste de matriz, para determinação de Pb em batom e sombra por GF AAS.	106
Figura 4.1. Perfil do sinal analítico obtido utilizando Ti como modificador permanente na determinação de Ni em perfume por GF AAS	126
Figura 4.2 Gráfico de Pareto gerado a partir do planejamento fatorial fracionário para otimização do método para determinação de Ni em perfumes por GF AAS.	128
Figura 4.3 Superfície de resposta (a) e superfície de contorno (b) obtidas na otimização final das temperaturas de pirólise (TP) e atomização (TA), para determinação de Ni em perfume por GF AAS.	130
Figura 4.4 Curva de calibração para soluções padrão de Ni em concentrações de 0,0 a 50,0 $\mu\text{g L}^{-1}$	132
Figura 4.5. Comparação dos teores de níquel em amostras de colônias infantis, águas de colônias e águas de perfume.	139

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1. Programa de temperatura do GF AAS utilizado para tratamento da plataforma de L'vov com modificadores permanentes.	40
Tabela 2.2. Programa de moagem criogênica utilizado para as amostras de cabelo.....	42
Tabela 2.3. Programa de aquecimento do forno de micro-ondas.	43
Tabela 2.4. Programa de temperatura do forno de grafite usado na otimização do método para determinação de Pb em cabelo e tinturas capilares.....	48
Tabela 2.5. Absorbâncias obtidas utilizando modificadores permanentes na determinação de Pb em cabelo por GF AAS.....	49
Tabela 2.6. Absorbâncias obtidas utilizando modificadores permanentes na determinação de Pb em tintura líquida por GF AAS.....	50
Tabela 2.7. Absorbâncias obtidas utilizando modificadores permanentes na determinação de Pb em tintura em pó por GF AAS.	51
Tabela 2.8. Absorbâncias obtidas, utilizando modificadores permanentes na determinação de Pb em tintura creme por GF AAS.	51
Tabela 2.9. Programa de temperatura do forno de grafite usado na otimização do método para determinação de Pb em amostras de cabelo e tinturas capilares.....	52
Tabela 2.10. Matriz de planejamento fatorial fracionário e absorbâncias obtidas para otimização das variáveis para análise de Pb em cabelo empregando amostragem em suspensão e GF AAS.	53
Tabela 2.11. Matriz de experimentos do CCD para otimização do método para determinação de Pb em cabelo empregando amostragem em suspensão e GF AAS.....	55

Tabela 2.12. Condições ótimas de análise para determinação de Pb em cabelo empregando amostragem em suspensão e GF AAS.	56
Tabela 2.13. Matriz de planejamento fatorial fracionário e absorbâncias obtidas para otimização das variáveis para análise de Pb em tintura capilar líquida empregando amostragem em suspensão e GF AAS.	57
Tabela 2.14. Matriz de planejamento fatorial e absorbâncias obtidas para otimização das variáveis para análise de Pb em tintura capilar em pó empregando amostragem em suspensão e GF AAS.	58
Tabela 2.15. Matriz de planejamento fatorial e absorbâncias obtidas para otimização das variáveis para análise de Pb em tintura capilar creme, empregando amostragem em suspensão e GFAAS.	58
Tabela 2.16. Matriz de experimentos e absorbâncias obtidas do planejamento composto central (CCD) para otimização das variáveis significativas na análise de Pb em tintura líquida empregando amostragem em suspensão e GFAAS.	61
Tabela 2.17. Matriz de experimentos e absorbâncias obtidas do planejamento composto central (CCD) para otimização das variáveis significativas na análise de Pb em tintura em pó empregando amostragem em suspensão e GFAAS.	62
Tabela 2.18. Matriz de experimentos e absorbâncias obtidas no planejamento composto central (CCD) para otimização das variáveis significativas na análise de Pb em tintura creme empregando amostragem em suspensão e GF AAS.	64
Tabela 2.19. Condições ótimas de análise para determinação de Pb em tinturas capilares empregando amostragem em suspensão e GF AAS.	65
Tabela 2.20. Equações das retas de regressão linear e coeficiente de determinação (R^2) das curvas de calibração empregando calibração aquosa e por ajuste de matriz para as amostras de cabelo e tinturas capilares.	66
Tabela 2.21. Valores dos parâmetros t e F para as curvas analíticas obtidas no estudo do efeito de matriz.	67

Tabela 2.22. Limites de detecção e quantificação para as amostras de cabelo e tinturas capilares obtidos pelos métodos otimizados.	68
Tabela 2.23. Massas características para as determinações de chumbo nas amostras de cabelo e tinturas capilares.	69
Tabela 2.24. Repetitividade e precisão intermediária obtidas pelos métodos propostos em três níveis de concentração para as matrizes de cabelo e tinturas capilares.	70
Tabela 2.25. Avaliação da exatidão do método, mediante emprego de material de referência certificado (BCR 397) para cabelo humano.	71
Tabela 2.26. Comparação entre o método proposto com o método de referência na determinação de Pb em amostras de tinturas.	72
Tabela 2.27. Recuperações (%) obtidas para Pb na avaliação da exatidão do método proposto para tinturas líquidas, em pó e creme.	72
Tabela 2.28. Concentração de chumbo nas amostras de cabelos.	73
Tabela 2.29. Concentração de chumbo nas amostras de tinturas.	75
Tabela 3.1. Programa de aquecimento do forno de micro-ondas.	87
Tabela 3.2. Programa de temperatura usado na para determinação de As, Cd, Cr, Ni e Pb em amostras de sombra por GF AAS.	88
Tabela 3.3. Concentração de Cd, Ni, Cr, As e Pb nas amostras de sombra, determinadas por GF AAS.	93
Tabela 3.4. Matriz de experimentos e absorbâncias obtidas do planejamento composto central (CCD) para otimização das variáveis significativas na otimização das condições de preparo das amostras de batom.	96
Tabela 3.5. Matriz de experimentos e absorbâncias obtidas do planejamento composto central (CCD) para otimização das variáveis significativas na otimização das condições de preparo das amostras de sombra.	99

Tabela 3.6. Sinais analíticos obtidos, utilizando diferentes modificadores permanentes na determinação de Pb em amostras de batom por GF AAS...	101
Tabela 3.7. Sinais analíticos obtidos utilizando diferentes modificadores permanentes na determinação de Pb em amostras de sombra por GF AAS.	102
Tabela 3.8. Avaliação da homocedasticidade e do ajuste ao modelo linear para as curvas aquosas e por ajuste de matriz para batom e sombra.	106
Tabela 3.9. Valores dos parâmetros t e F para as curvas analíticas obtidas no estudo do efeito de matriz.	107
Tabela 3.10. Limites de detecção e quantificação para as amostras de batom e sombra obtidos pelos métodos otimizados.....	108
Tabela 3.11. Repetitividade, precisão intermediária e recuperação obtidas pelos métodos propostos em três níveis de concentração para as matrizes de batom e sombra.	109
Tabela 3.12. Comparação entre os métodos propostos com os métodos de referência na determinação de Pb em amostras de batom e sombra.	110
Tabela 3.13. Concentração de chumbo nas amostras de batom.....	111
Tabela 3.14. Concentração de chumbo nas amostras de sombra.....	113
Tabela 4.1. Sinais analíticos obtidos, utilizando modificadores permanentes na determinação de Ni em perfume por GF AAS.....	126
Tabela 4.2. Programa de temperatura do forno de grafite usado na otimização do método para determinação de Ni em perfumes.	127
Tabela 4.3. Matriz do planejamento 2^{4-1} e absorbâncias obtidas para otimização das variáveis para análise direta de Ni em perfume por GF AAS	127
Tabela 4.4. Matriz de experimentos e absorbâncias obtidas do planejamento composto central (CCD) para otimização das variáveis significativas na determinação de Ni em perfume por GF AAS.....	129

Tabela 4.5. Condições ótimas de análise para determinação direta de Ni em perfume por GF AAS.....	131
Tabela 4.6. Valores dos parâmetros t e F para as curvas analíticas obtidas no estudo do efeito de matriz.	132
Tabela 4.7. Repetitividade e precisão intermediária obtidas pelo método proposto em três níveis de concentração para determinação Ni em perfume por GF AAS.....	134
Tabela 4.8. Recuperações (%) obtidas para Ni na avaliação da veracidade do método proposto.	134
Tabela 4.9. Concentração de Ni nas amostras de essências.	135
Tabela 4.10. Concentração de Ni nas amostras de águas de colônias infantis.	135
Tabela 4.11. Concentração de Ni nas amostras de águas de colônia e deocolônias de uso adulto, nacionais e importadas.	136
Tabela 4.12. Concentração de Ni nas amostras de águas de perfume de uso adulto, nacionais e importadas.....	137

LISTA DE ABREVIATURAS

- ANVISA** Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- ASBAI** Associação Brasileira de Alergia e Imunopatologia
- CCD** Planejamento Composto Central
- CV** Coeficiente de Variação
- FAAS** Espectrometria de Absorção Atômica com Chama
- FDS** *A Food and Drug Administration (FDA)*
- GF AAS** Espectrometria de Absorção Atômica em Forno de Grafite
- H₂O₂** Peróxido de Hidrogênio
- HG AAS** Espectrometria de Absorção Atômica com Gerador de Hidretos
- HNO₃** Ácido Nítrico
- IAEA** International Atomic Energy Agency
- ICP OES** Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente
- ICP-MS** Espectrometria de Massa com Fonte de Plasma Indutivamente Acoplado
- INAA** Análise por Ativação Neutrônica
- INMETRO** Instituto Nacional de Metrologia
- LD** Limites de Detecção
- LQ** Limites de Quantificação **RSD** Desvio Padrão Relativo
- STPF** *Stabilized Temperature Platform Furnace*
- TMAH** Hidróxido de Tetrametilamônio
- UFMG** Universidade Federal de Minas Gerais
- XRF** Espectrometria de Fluorescência de Raios-X

SUMÁRIO

CAPITULO 1 – REVISÃO DE LITERATURA	1
1.1. Produtos cosméticos	2
1.1.1. Tinturas Capilares	4
1.1.2. Produtos para maquiagem: batom, sombra e blush	6
1.1.3. Perfumes	8
1.2. Efeitos nocivos dos metais tóxicos no organismo humano	10
1.3. Avaliação de metais tóxicos no organismo	12
1.4. Métodos analíticos aplicados à determinação de metais em produtos cosméticos	13
1.4.1. Preparo de amostras aplicados à produtos cosméticos	13
1.4.1.1. Amostragem em Suspensão	14
1.4.1.2. Solubilização alcalina	16
1.4.2. Técnicas analíticas para determinação de metais	17
1.5. Otimização Multivariada	21
REFERÊNCIAS	23

CAPÍTULO 2 – DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DE CHUMBO EM CABELOS E TINTURAS CAPILARES EMPREGANDO AMOSTRAGEM EM SUSPENSÃO E ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA EM FORNO DE GRAFITE	36
2.1. INTRODUÇÃO	37
2.2. OBJETIVOS	38
2.3. PARTE EXPERIMENTAL	39
2.3.1. Reagentes e Soluções	39
2.3.2. Instrumentação	39
2.3.3. Tratamento dos tubos de grafite	40
2.3.4. Amostras	41
2.3.4.1. Amostras de cabelo	41
2.3.4.2. Amostras de tinturas capilares	41
2.3.5. Preparo das amostras	41

2.3.5.1. Amostras de cabelo.....	41
2.3.5.2. Amostras de Tintura	43
2.3.6. Otimização das condições para quantificação de Pb	44
2.3.7. Validação do método analítico	45
2.3.7.1. Linearidade e Efeito de matriz.....	45
2.3.7.2. Limites de detecção e quantificação	46
2.3.7.3. Precisão	46
2.3.7.4. Veracidade	47
2.4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	48
2.4.1. Otimização das condições para quantificação do Pb	48
2.4.2. Validação dos métodos desenvolvidos	66
2.4.2.1. Linearidade e Efeito de matriz.....	66
2.4.2.2. Limites de detecção e quantificação	68
2.4.2.3. Precisão	69
2.4.2.4. Veracidade	70
2.4.3. Quantificação de chumbo nas amostras de cabelo e tinturas capilares	73
2.4.3.1. Amostras de cabelo	73
2.4.3.2. Amostras de Tinturas.....	74
2.5. CONCLUSÕES.....	76
REFERÊNCIAS	78

CAPÍTULO 3 - DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DE CHUMBO EM PRODUTOS PARA MAQUIAGEM: BATOM E SOMBRA ... 82

3.1. INTRODUÇÃO.....	83
3.2. OBJETIVOS.....	84
3.3. PARTE EXPERIMENTAL	85
3.3.1. Reagentes e Soluções	85
3.3.2. Instrumentação.....	86
3.3.3. Tratamento dos tubos de grafite.....	86
3.3.4. Amostras	86
3.3.5. Digestão ácida assistida por radiação micro-ondas	87
3.3.5.1. Amostras de batom	87

3.3.5.2. Amostras de sombra	87
3.3.6. Avaliação preliminar dos teores de As, Cd, Cr, Ni e Pb em amostras de sombra	88
3.3.7. Otimização das condições de preparo de amostra	88
3.3.7.1. Amostras de batom	89
3.3.7.2. Amostras de sombra	89
3.3.8. Otimização das condições para determinação de Pb por GF AAS .	89
3.3.9. Validação dos métodos analíticos	90
3.3.9.1. Efeito de Matriz e Linearidade.....	90
3.3.9.2. Limites de detecção e quantificação	91
3.3.9.3. Precisão	92
3.3.9.4. Veracidade	92
3.4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	93
3.4.1. Avaliação preliminar dos teores de As, Cd, Cr, Ni e Pb em amostras de sombra	93
3.4.1. Otimização das condições de preparo das amostras.....	94
3.4.1.1. Amostras de batom	94
3.4.1.2. Amostras de sombra	98
3.4.2. Otimização das condições para determinação de Pb por GF AAS	100
3.4.3. Validação do método analítico	104
3.4.3.1. Linearidade e Efeito de Matriz.....	104
3.4.3.2. Limites de detecção e quantificação	107
3.4.3.4. Precisão e Veracidade	108
3.4.4. Quantificação de chumbo nas amostras de batom e sombra	110
3.4.4.1. Amostras de Batom.....	110
3.4.4.2. Amostras de Sombra.....	112
3.5. CONCLUSÃO	114
REFERÊNCIAS	116

CAPÍTULO 4 DETERMINAÇÃO DIRETA DE NÍQUEL EM PERFUMES POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA EM FORNO DE GRAFITE	120
4.1. INTRODUÇÃO.....	121
4.2. OBJETIVOS.....	122

4.3. PARTE EXPERIMENTAL	123
4.3.1. Reagentes e Soluções	123
4.3.2. Instrumentação.....	123
4.3.3. Tratamentos dos tubos de grafite.....	124
4.3.4. Amostras	124
4.3.5. Otimização das condições analíticas	124
4.3.6. Validação do método analítico	125
4.4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	125
4.4.1. Otimização das condições para determinação direta de Ni em perfumes por GF AAS.....	125
4.4.2. Validação do método.....	131
4.4.2.1. Linearidade e Efeito de matriz.....	131
4.4.2.3. Limites de detecção e quantificação	132
4.4.2.4. Precisão	133
4.4.2.5. Veracidade	134
4.4.3. Quantificação de Ni nas amostras de perfumes.....	134
4.5. CONCLUSÃO	139
REFERÊNCIAS	141
CAPÍTULO 5 – CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	143
ANEXOS	146
QUESTIONÁRIO PREENCHIDO PELOS DOADORES DE AMOSTRAS DE CABELO	147
PUBLICAÇÕES E COMUNICAÇÕES CIENTÍFICAS	148

CAPITULO 1 – REVISÃO DE LITERATURA

1.1. Produtos cosméticos

Os desenvolvimentos científicos dos últimos séculos têm permitido o atendimento das necessidades básicas (alimentação, saúde e vestuário) de uma significativa parcela da crescente população humana. O aumento da renda, da qualidade de vida e da longevidade dessa população faz com que homens e mulheres dediquem muito mais tempo, recursos e esforços ao cultivo da higiene pessoal e da melhor aparência possível ao longo de sua vida.

O mercado mundial de cosméticos e perfumes movimentou 382 bilhões de dólares em 2010, apresentado um crescimento de 9,5%. Os Estados Unidos, maior consumidor desses produtos apresentaram uma retração, enquanto países emergentes como Brasil, China e Rússia apresentam um forte crescimento do setor. Em 2011, o setor brasileiro de higiene pessoal, perfumaria e cosméticos faturou mais de 43 bilhões de dólares, registrando o maior crescimento percentual entre os dez maiores mercados do mundo. Atualmente, o Brasil detém 10,1% do mercado global, contra 11,1% do Japão e 14,8% dos Estados Unidos. Os três primeiros colocados são seguidos pela China (6,5%), Alemanha (4,5%), França (4,1%) Reino Unido (4%), Rússia (3,3%), Itália (3%) e Espanha (2,5%). Na América Latina o Brasil é líder, com uma fatia de 58% do mercado de produtos cosméticos (ABIHPEC, 2011).

De acordo com a definição conferida pela Legislação vigente no país, cosméticos, produtos de higiene e perfumes “são preparações constituídas por substâncias naturais ou sintéticas de uso externo nas diversas partes do corpo humano tais como pele, sistema capilar, unhas, lábios, órgãos genitais externos, dentes e membranas mucosas da cavidade oral, com o objetivo exclusivo ou principal de limpá-los, perfumá-los, alterar sua aparência, corrigir odores corporais, protegê-los ou mantê-los em bom estado” (ANVISA, 2003).

Embora os produtos cosméticos sejam aplicados topicamente, um ou mais de seus componentes podem permear a barreira cutânea, sendo parcial ou totalmente absorvidos pelo organismo (Castanedo-Tardan & Zug, 2009). Na avaliação de segurança de tais produtos, os seguintes parâmetros devem ser analisados: categoria do produto, condições de uso, concentração de cada componente na formulação, quantidade de produto em cada aplicação,

freqüência de uso, local de contato direto com o produto, superfície total de pele ou de mucosa onde o produto é aplicado, duração do contato, consumidor alvo e possíveis desvios no emprego (uso inadequado ou acidental) do produto (Giovani *et al.*, 2006).

A avaliação do risco de cosméticos e de seus ingredientes deve levar em consideração um aspecto altamente restritivo a respeito de sua segurança. Em contraste com os medicamentos, que são avaliados levando em consideração seus riscos e benefícios, os cosméticos e seus ingredientes não devem ser prejudiciais à saúde humana sob circunstâncias normais ou previsíveis de uso. Assim, para que um produto cosmético seja colocado no mercado, à livre disposição do consumidor, o mesmo deve apresentar-se seguro e isento de riscos à saúde humana (Goldberg, 2009).

Nos Estados Unidos, a *Food and Drug Administration (FDA)* é o órgão responsável pelo controle de qualidade dos produtos cosméticos, (Meyers, 2007). Já a França adotou o sistema de Cosmetovigilância para garantir a qualidade e segurança dos produtos comercializados no País (France, 2004). No Brasil, a ANVISA é o órgão nacional competente que atua na vigilância sanitária do setor de cosméticos. A legislação tem sido adaptada às exigências do Mercosul, da União Européia e demais países, não só para facilitar os processos de importação e exportação de produtos cosméticos, como também, para garantir maior margem de segurança ao uso desses produtos. Assim à partir de 31 de dezembro de 2005, tornou-se obrigatória a implementação do sistema de Cosmetovigilância em todas as empresas fabricantes e/ou importadoras de Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes (ANVISA, 2005).

O sistema de Cosmetovigilância foi criado para facilitar a comunicação, sobre problemas decorrentes do uso, defeitos de qualidade ou efeitos indesejáveis dos produtos a que se refere e também para melhorar o acesso do consumidor às informações sobre esses produtos. Através do sistema de Cosmetovigilância, as empresas fabricantes e/ou importadoras de produtos cosméticos deverão manter registro de todos os relatos feitos pelos consumidores em relação a problemas causados por cosméticos, e avaliá-los. A partir dessa avaliação devem ser tomadas medidas com o intuito de garantir

a qualidade e segurança do produto em questão. No caso de situações que impliquem em risco à saúde do usuário, as empresas deverão notificar a ANVISA sobre o relato (Behrens & Chociai, 2007).

O consumo de produtos cosméticos no Brasil aumenta a cada ano e diante desse mercado em ascensão, as indústrias estão constantemente desenvolvendo novos produtos e processos e, por isso mesmo, seus componentes devem ser seguros, de modo a não oferecer riscos à saúde dos consumidores. Dessa forma, os sistemas de Cosmetovigilância e Controle de Qualidade de tais produtos são extremamente importantes para garantir a qualidade e a segurança dos produtos disponíveis ao consumidor.

Alguns cosméticos como tinturas capilares e produtos para maquiagem apresentam em sua formulação pigmentos inorgânicos que podem arrastar como impurezas metais tóxicos, capazes de produzir danos ao organismo humano (Draelos, 2001). Sais metálicos, principalmente o acetato de chumbo, são usados em tinturas capilares, devido à sua capacidade em cobrir cabelos grisalhos (Kirkland *et al.*, 2005). Relatos recentes presentes na literatura se referem à presença de chumbo em batons e outros produtos para maquiagem como sombras (Atz, 2008; Hepp *et al.*, 2009; Al-Saleh., 2009; Volpe *et al.*, 2012). Existem também diversos relatos de alergias decorrentes do uso de perfumes (Menné *et al.*, 2003; Pons-Guiraud, 2007; Elberling *et al.*, 2009) e como a sensibilização ao níquel pode ser considerada como uma das principais causas de dermatite de contato alérgica, a avaliação do metal em tais produtos é de extrema relevância. Dessa forma, o presente trabalho, teve como foco principal a avaliação de chumbo e níquel, em tinturas capilares, batons, sombras e perfumes.

1.1.1. Tinturas Capilares

O uso das tinturas capilares nos remonta há, no mínimo, 4.000 anos atrás. Os primeiros registros de uso estão no Egito, onde foram encontradas múmias egípcias com o cabelo colorido com henna. No Império Romano, pentes de chumbo mergulhados no vinagre eram utilizados para escurecer

cabelos grisalhos. A partir do século XVII, surgiram inúmeras receitas e livros sobre cosméticos. Nessa época, começaram também a surgir os profissionais da cosmética e suas prescrições incluíam, com frequência, banhos de vinho ou de leite nos cabelos (Nohynek *et al.*, 2004). Hoje, milhões de pessoas utilizam tinturas capilares. Muitos produtos e técnicas estão disponíveis, e a composição depende do tipo de coloração. As tinturas capilares são usualmente classificadas em permanentes, semipermanentes, temporárias e naturais, de acordo com o tempo que permanecem no cabelo e com a composição (Kirkland *et al.*, 2005).

As colorações permanentes são os produtos mais populares e podem ser classificadas em tinturas capilares oxidativas e tinturas capilares progressivas (FDA, 1997). As tinturas capilares oxidativas diferem-se das demais por consistirem de dois componentes que são misturados, antes do uso, e que geram a tintura por reações químicas (Nohynek *et al.*, 2004). O primeiro componente é uma solução de pigmentos, aminas primárias e amônia; o segundo componente é uma solução oxidante, geralmente peróxido de hidrogênio (Corbett, 1999). Já as colorações progressivas apresentam sais de chumbo, bismuto ou prata em sua composição. As partículas metálicas interagem com os resíduos de cisteína presentes na queratina e acumulam-se nos fios de cabelo, mudando gradualmente a cor (Bolduc & Shapiro, 2001). As tinturas capilares progressivas são utilizadas, principalmente, para cobrir cabelos grisalhos (Nohynek *et al.*, 2004).

As formulações para coloração semipermanente contêm basicamente água oxigenada, pigmentos artificiais, agentes de tratamento e uma pequena concentração de amônia. Como exemplo, os xampus tonalizantes, agem depositando uma nova cor na superfície dos fios sem alterar a estrutura capilar, retirando bem pouco dos pigmentos naturais do cabelo. A durabilidade é de aproximadamente 1 mês, considerando a lavagem dos cabelos a cada dois dias (Kirkland *et al.*, 2005). Já as tinturas temporárias não apresentam amônia em sua composição e não conseguem penetrar no cabelo, se depositando temporariamente sobre ele. Resistem à no máximo 4 lavagens dos cabelos (Bolduc & Shapiro, 2001).

As tinturas naturais utilizam a “henna”, que é produzida pela extração das folhas de *Lawsonia inermis*, ou o lawsone (2-hidroxi-1,4-naftoquinona) (Nohynek *et al.*, 2004). Apesar de conferir uma durabilidade semelhante à das tinturas semipermanentes, a coloração natural oferece uma faixa de cores limitada e por isso a maioria dos consumidores prefere utilizar produtos sintéticos, que permitem uma grande variedade de cores e proporcionam melhores resultados (Bolduc & Shapiro, 2001).

Como descrito, certos metais fazem parte da composição de algumas tinturas, sendo utilizados na produção de pigmentos. Sais metálicos, principalmente o acetato de chumbo, são usados em tinturas capilares, devido à sua capacidade de cobrir cabelos grisalhos. A *FDA* permite o uso de acetato de chumbo para produtos destinados a coloração dos cabelos na concentração máxima de 0,6% m/m (Kirkland *et al.*, 2005). Além disso, os corantes podem conter metais tóxicos como contaminantes. No Brasil e nos Estados Unidos o limite estabelecido pelas legislações vigentes para o teor de chumbo em corantes usados na composição de tinturas é de 20,0 mg kg⁻¹ (ANVISA, 2000; US FDA, 2002a). A ANVISA estabelece uma classificação conforme o grau de risco dos produtos cosméticos baseada na finalidade de uso do produto, áreas do corpo abrangidas, modo de usar e cuidados a serem observados, sendo que produtos classificados como Grau 1 possuem risco mínimo e os classificados como Grau 2 possuem risco potencial, como é o caso das tinturas capilares. Também, estabelece as informações específicas que devem estar presentes nas embalagens de produtos cosméticos. Além de outras advertências, as tinturas capilares devem, obrigatoriamente, informar que podem causar reação alérgica e descrever a prova de toque e, ainda, as tinturas com acetato de chumbo devem informar que o uso inadequado pode provocar intoxicação por absorção de chumbo (ANVISA, 2005).

1.1.2. Produtos para maquiagem: batom, sombra e blush

O hábito de pintar o rosto vem da pré-história. Consta em registros históricos que o homem de Neandertal pintava sua face de vermelho, marrom e

amarelo, com substâncias à base de argila, lama e arsênios (Kumar, 2005). Os egípcios pintavam os olhos com o Kohl, um pigmento preto, composto por sais de antimônio, para evitar a contemplação direta do deus Sol e recorriam à gordura animal, cera de abelha, mel e leite no preparo de cremes para proteger a pele das altas temperaturas (Hardy *et al.*, 2006). O blush surgiu na Grécia e possuía grande quantidade de Pb em sua composição, devido à presença de um pigmento branco à base de carbonato de chumbo. O século XX inaugurou a era da indústria dos cosméticos e em 1921, pela primeira vez, o batom foi embalado num tubo e vendido sob a forma de cartucho (Kumar, 2005).

Atualmente, os produtos para maquiagem são responsáveis por cerca de 20% do mercado mundial de produtos de beleza. A França é o país que mais exporta estes produtos e os Estados Unidos possuem o maior mercado consumidor. O Brasil é hoje o terceiro maior mercado consumidor de produtos cosméticos e a previsão, é de que ainda em 2012, o país ultrapasse o Japão e ocupe o segundo lugar (ABIHPEC, 2011).

O batom é o produto para maquiagem mais consumido pelas mulheres no mundo. Sua formulação é composta por uma mistura de óleos e ceras (geralmente cera de carnaúba), conservantes, perfumes e pigmentos. Os pigmentos inorgânicos mais frequentemente usados são correspondentes aos óxidos metálicos como óxidos de ferro, cromo, zinco, titânio entre outros (Draelos, 2001). Também são usados corantes orgânicos, como os bromoácidos (eosina ácida), que mudam da cor laranja (a pH 4) para a cor vermelho-púrpura, após neutralização pelo tecido dos lábios. A combinação e a quantidade dos componentes usados na formulação dos batons é dependente da aparência, cobertura e fixação desejada (Bono *et al.*, 2006).

Como componentes básicos da sombra em pó temos talco, aglutinantes e pigmentos. Os aglutinantes mais comumente usados são os estearatos de magnésio e zinco. Os mesmos pigmentos inorgânicos usados nos batons são também empregados nas formulações das sombras. Óxido de ferro preto e negro de carbono são empregados para formulação de sombra preta, óxido de cromo para sombra verde, azul da Prússia (ferrocianeto de potássio) para sombra azul, dióxido de titânio ou óxido de zinco para tons pastéis, óxido de ferro marrom para sombra marrom e amarelo para sombra amarela. Sendo que

uma grande variedade de cores podem ser obtidas mediante mistura dos componentes citados acima (Draelos, 2001).

De acordo com as normas da ANVISA, os componentes usados nas formulações de cosméticos para a área dos olhos e lábios devem seguir especificações de identidade e pureza. São permitidos somente corantes inorgânicos insolúveis em água. Para os corantes orgânicos, os limites máximos para impurezas de metais são correspondentes a 5 mg kg^{-1} para o bário, 3 mg kg^{-1} pm para o arsênio e 20 mg kg^{-1} para o chumbo. Os conservantes usados na fabricação de tais produtos, como o timerosol e fenilmercuriais, devem apresentar uma concentração de mercúrio inferior a 70 mg kg^{-1} (ANVISA, 2000). É importante salientar que tanto no Brasil, como no exterior, ainda não existe legislação específica quanto à resíduos de metais tóxicos como Pb, As, Hg, Ni, Co, Cd e Cr em produtos para maquiagem.

1.1.3. Perfumes

Os primeiros perfumes surgiram provavelmente associados a atos religiosos, há mais ou menos 800 mil anos, quando o homem descobriu o fogo. Os deuses eram homenageados com a oferenda de fumaça proveniente da queima de madeira e de folhas secas. Essa prática foi posteriormente incorporada pelos sacerdotes dos mais diversos cultos, que utilizavam folhas, madeira e materiais de origem animal como incenso, na crença de que a fumaça com cheiro adocicado levaria suas preces para os deuses. Daí o termo 'perfume' originar-se das palavras latinas *per* (que significa origem de) e *fumare* (fumaça). O passo seguinte na evolução do emprego dos aromas foi sua apropriação pelas pessoas, para o uso particular, algo que provavelmente aconteceu entre os egípcios. Um avanço posterior foi a descoberta de que certas flores e outros materiais vegetais e animais, quando imersos em gordura ou óleo, deixavam nestes uma parte de seu princípio odorífero. Assim eram fabricados os unguentos e os perfumes mencionados na Bíblia (Dias & Silva, 1996).

A arte de extração de perfumes foi bastante aprimorada pelos árabes há cerca de mil anos. Eles faziam essas extrações a partir de flores maceradas, geralmente em água, obtendo 'água de rosas' e 'água de violetas', dentre outras. Com o advento do cristianismo, o uso dos perfumes como aditivo ao corpo foi banido, uma vez que estava associado a rituais pagãos. Os árabes, cuja religião não impunha as mesmas restrições, foram os responsáveis pela perpetuação de seu uso (Scheinman, 1996).

O ressurgimento da perfumaria no Ocidente deveu-se aos mercadores que viajavam às Índias em busca de especiarias. Já no final do século XIII, Paris tornou-se a capital mundial do perfume. Até hoje, muitos dos melhores perfumes provêm da França. Já as águas de colônia clássicas têm menos de 200 anos, sendo originárias da cidade de Colônia, na Alemanha (Azevedo, 2006). Atualmente são lançados cerca de 200 perfumes por ano e no mercado há mais de 20.000 aromas disponíveis.

Os perfumes são constituídos por 3 componentes principais: um solvente, um fixador e a essência ou fragância. O solvente é um composto muito volátil que serve de veículo para aumentar a dispersão do cheiro, normalmente álcool etílico. É a maior parte do que está dentro do frasco, cerca de 99%. A essência que é o que realmente dá o cheiro ao perfume e é adicionada em quantidades muito pequenas. Costuma ser um óleo essencial extraído de plantas ou obtido por síntese no laboratório. Por último temos os fixadores que podem ou não ter cheiro. São compostos de baixa volatilidade cujo papel é retardar a libertação do aroma, ou seja permitir que o cheiro do perfume persista por um longo período (López-Nogueroles *et al.*, 2010).

Existem em torno de 5000 diferentes substâncias químicas presentes nas fragrâncias usadas na produção de perfumes, sendo que em uma única fragrância pode-se encontrar mais de 300 substâncias químicas. Algumas destas substâncias podem causar reações alérgicas aos usuários, dentre as quais pode-se citar: o aldeído cinâmico, o álcool cinâmico, o álcool alfa-amil cinâmico, o geraniol, o eugenol, oak moss absoluto e a hidroxicitronelal. No entanto, os fabricantes guardam as fórmulas como segredos (são protegidas por lei) e nos rótulos nunca estão discriminadas as especificações necessárias, sendo impossível portanto, desvendar qual constituinte do perfume pode ser a

causa da alergia, o que dificulta a vida do alérgico (Teixeira *et al.*, 2009). A associação brasileira de alergia e imunopatologia (ASBAI) está tentando junto à ANVISA obrigar os fabricantes dos vários produtos cosméticos brasileiros a rotularem os ingredientes por completo, garantindo a informação necessária à pessoas alérgicas.

Além das substâncias que são usadas como ingredientes nas formulações dos perfumes, reações alérgicas podem ocorrer também devido à presença de contaminantes, como é o caso da sensibilização ao níquel, considerada como uma das principais causas de dermatite de contato alérgica (Biebl & Warshaw, 2006). A presença de pequenas concentrações de níquel pode causar pré-disposição alérgica em pessoas com sensibilidade ao metal. Assim é recomendado que impurezas de níquel em produtos cosméticos e perfumaria sejam inferiores a 5,0 ppm (Torres *et al.*, 2009).

1.2. Efeitos nocivos dos metais tóxicos no organismo humano

Os pigmentos inorgânicos e orgânicos usados na formulação de produtos cosméticos podem apresentar, como impurezas, alguns metais como alumínio, chumbo, mercúrio, cádmio, cromo, antimônio, arsênio e níquel. Esses metais e seus compostos quando solúveis em água podem ser parcialmente absorvidos pela pele, principalmente se o cosmético é formulado sob a forma pastosa ou líquida (Sainio *et al.*, 2000). De maneira geral, as intoxicações por metais, atingem a população alterando estruturas celulares, inibindo enzimas vitais, substituindo metais co-fatores de atividades enzimáticas, concorrendo para imunodepressão ou gerando radicais livres (Goldhaber, 2003).

O chumbo é reconhecido pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como um dos elementos químicos mais perigosos à saúde humana e seus efeitos nocivos são conhecidos desde os tempos antigos, já que este metal afeta praticamente todos os órgãos e sistemas do corpo humano (Vanz *et al.*, 2003). Apesar de as maiores concentrações de chumbo serem encontradas nos ossos, os principais efeitos adversos são vistos no sistema nervoso central, na medula óssea e nos rins, considerados sítios críticos de exposição ao metal

(Moreira & Moreira, 2004). A presença do chumbo no organismo pode desencadear quadros de anemia, encefalopatia, cefaleia, alucinações, perda de memória, convulsões, paralisia, deficiência renal, hepatotoxicidade e neoplasias (Shrivastava & Patel, 2010). O chumbo também tem sido associado com a redução da fertilidade feminina e masculina e com a ocorrência de abortos espontâneos. Em mulheres grávidas, tal elemento pode atravessar a placenta, prejudicando o perfeito desenvolvimento do feto (Basheer *et al.*, 2008). Durante o desenvolvimento de uma criança concentrações de chumbo inferiores a $10 \mu\text{g dL}^{-1}$ podem provocar danos permanentes, como menor quociente de inteligência e deficiência cognitiva (Lanphear *et al.*, 2000). Em adultos, alguns estudos indicam que concentrações de chumbo em torno de 400 a $600 \mu\text{g.L}^{-1}$ no sangue, podem desencadear diversos prejuízos ao organismo, como encefalopatia, queixas gastrointestinais, anemias, entre outros (Schifer *et al.*, 2005; De Gennaro, 2002).

A sensibilização ao níquel representa uma das principais causas de dermatite de contacto alérgica com taxas de prevalência que variam de 7 a 10%. A vasta utilização deste metal na composição de numerosos objetos e produtos de uso cotidiano, tais como utensílios de cozinha, botões, fechos metálicos, óculos, pulseiras de relógio entre outros e sua presença como impureza em produtos cosméticos, contribui para uma sensibilização significativa (Duarte *et al.*, 2005). Além das dermatites de contato, doses elevadas do metal podem causar irritação gastro intestinal como náuseas, vômitos e diminuição do apetite; alterações neurológicas: dor de cabeça, vertigem; alterações musculares: fraqueza muscular; alterações cardíacas: palpitações; alergia: rinite crônica, asma e outros estados alérgicos (Menné, 2003). O níquel inibe a ação da enzima superóxido dismutase que participa no processo de metabolização dos radicais livres. O excesso do metal pode chegar a ter conseqüências graves como necrose e carcinoma do fígado e câncer de pulmão (Erdogrul & Erlibir, 2006).

1.3. Avaliação de metais tóxicos no organismo

A análise de matrizes biológicas como sangue, cabelo e urina, permite avaliar a presença e a concentração de elementos potencialmente tóxicos no organismo. Alterações nas concentrações destes elementos em fluidos e tecidos biológicos podem resultar em uma variedade de condições patológicas, e a determinação destes metais pode auxiliar nos diagnósticos e tratamentos de várias desordens metabólicas hereditárias ou adquiridas (Bizaio & Krug, 2004).

A análise de cabelo para a determinação de metais traço apresenta vantagens quando comparada às análises de outros tecidos ou fluidos biológicos como sangue, suor e urina. O cabelo é um material biológico atrativo por causa da simplicidade de amostragem (facilidade de coleta, sem traumas e sem dor), estocagem, transporte e manuseio. Além disso, é um material bastante estável que não precisa ser mantido sob refrigeração, tampouco necessita de preservantes (Gellein *et al.*, 2008).

Procedimentos envolvendo digestão ácida assistida por micro-ondas ou com aquecimento convencional (Kazi *et al.*, 2008; Zhang *et al.*, 2009), amostragem em suspensão (Fernandes *et al.*, 2007) e determinação direta (Baysal & Akman, 2010) são comumente empregados para determinação de contaminantes inorgânicos em amostras de cabelo. A hidrólise alcalina é raramente utilizada para a determinação de compostos inorgânicos no cabelo, sendo mais frequentemente empregada para a determinação de compostos orgânicos (Pozebon *et al.*, 1999).

Dentre as técnicas analíticas utilizadas para determinação de elementos traço em amostras de cabelo estão a espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS) (Ferreira *et al.*, 2007) e com forno de grafite (GF AAS) (Baysal & Akman, 2010), espectrometria de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) (Chojnacka *et al.*, 2006), espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) (Becker *et al.*, 2008), fluorescência de raios-X (XRF) (Borgese *et al.*, 2010) e análise por ativação neutrônica (INAA) (Zhang *et al.*, 2007).

A escolha de uma determinada técnica depende principalmente da exatidão e sensibilidade necessárias, da matriz da amostra, da quantidade de amostra disponível, do elemento de interesse e dos custos das análises (Moreira & Moreira, 2004). A espectrometria de absorção atômica em forno de grafite vem sendo empregada com sucesso na análise de cabelo e outras matrizes biológicas, por apresentar alta sensibilidade (da ordem de ng L^{-1} e $\mu\text{g L}^{-1}$), necessitar de um pequeno volume de amostra (5 -100 μL) e permitir a realização de análises direta de sólidos e de suspensões, envolvendo um preparo mínimo das amostras (Gil *et al.*, 2011).

1.4. Métodos analíticos aplicados à determinação de metais em produtos cosméticos

1.4.1. Preparo de amostras aplicados à produtos cosméticos

Apesar da crescente produção e consumo de produtos cosméticos, pouco existe sobre o controle de qualidade do produto acabado no que se refere à presença de metais tóxicos e poucos trabalhos são encontrados na literatura. A maioria dos trabalhos disponíveis, referentes à determinação de metais tóxicos em produtos cosméticos, envolve métodos convencionais de análise, nos quais as amostras são preparadas por meio de procedimentos de decomposição, tais como, fusão ou dissolução ácida (Volpe *et al.*, 2012; Nnoram *et al.*, 2005; Bocca *et al.*, 2007; Al-Saleh *et al.*, 2009). Tais procedimentos envolvem a uma diluição da concentração do analito na amostra ocasionando perda em detectabilidade e necessitam de uma massa de amostra maior do que aquela necessária para análise direta. Além disso, normalmente, os métodos convencionais de preparo da amostra demandam muito tempo, são mais suscetíveis à perdas e contaminação, requerem reagentes com alto grau de pureza, e conseqüentemente de alto custo, além de exigir prática e experiência do analista (Dittert *et al.*, 2009).

Por estas razões, há um crescente interesse em implementar processos analíticos que tenham como objetivo a simplificação das análises,

principalmente no que diz respeito a diminuição de tempo e custos, redução da participação humana e minimização das etapas de preparo das amostras. Com este intuito, outros procedimentos como a introdução da amostra na forma de suspensão (Sardans *et al.*, 2010) e a solubilização alcalina (Ghisi *et al.*, 2007) são alternativas que vem sendo utilizadas para determinar diversos elementos em diferentes matrizes. Esses procedimentos são detalhados a seguir.

1.4.1.1. Amostragem em Suspensão

Na amostragem em suspensão uma pequena porção da amostra sólida finamente moída é dispersa em um solvente adequado, formando uma suspensão sólido-líquida. Ao se introduzir a amostra na forma de suspensão, evita-se muitos dos problemas associados à amostragem direta de sólidos, tais como geração de absorção de fundo devido à absorção molecular e espalhamento de radiação por partículas da matriz, o estabelecimento de uma calibração com padrões sólidos, a disponibilidade destes padrões e a dificuldade de se obter uma porção representativa da amostra (Santos *et al.*, 2010).

A objeção mais comumente encontrada nas potencialidades da técnica de amostragem em suspensão é a necessidade de se trabalhar com um tamanho de partículas diminuto. O tamanho de partícula do material sólido utilizado para preparar uma suspensão pode influenciar a estabilização, sedimentação e eficiência de atomização, o que por sua vez influencia a precisão e a exatidão das medidas (Vieira, 2003). Geralmente, partículas menores facilitam o preparo da suspensão da amostra e melhoram a recuperação do analito. Erros associados a partículas maiores (diâmetro $\geq 100 \mu\text{m}$) surgem da dificuldade de manter uma distribuição homogênea dessas partículas em suspensão e da diminuição da eficiência de pipetagem. Por isso, a moagem da amostra original é usualmente requerida para se minimizar os erros, sendo que o intervalo de tamanho de partícula ótimo depende da composição da amostra e da técnica analítica empregada (Cal-Prieto *et al.*, 2002).

Atualmente existem diferentes dispositivos para moagem, tais como moinho criogênico, moinho orbital, moinho rotatório, que possibilitam a obtenção de tamanhos de partículas adequados para a amostragem em suspensão. A escolha do sistema de moagem a ser empregado pode variar dependendo das propriedades da amostra, tais como a dureza e o conteúdo de fibras e gorduras (Nomura *et al.*, 2008). Dentre as técnicas de moagem disponíveis, a moagem criogênica tem sido intensamente empregada para o preparo de diferentes tipos de amostras (Nomura *et al.*, 2005; Baysal & Akman, 2010; Rêgo *et al.* 2012). O princípio da técnica consiste em promover o congelamento da amostra para aumentar a dureza dos materiais provocando falhas na estrutura. Dessa forma, o material se torna quebradiço, sendo necessária uma menor energia para sua cominuição (Santos *et al.*, 2003).

Outro aspecto crítico associado à amostragem em suspensão está relacionado à necessidade de manter a homogeneidade e a estabilidade da suspensão. Tal problema pode ser solucionado com o uso de agitadores magnéticos, por borbulhamento de gás ou com o uso de agitadores ultrassônicos. Outra maneira de aumentar a estabilidade da suspensão é com o uso de agentes estabilizantes como Triton X-100, viscalex, glicerol, isopropanol, entre outros (Magalhães & Arruda, 1998).

A amostragem em suspensão tem sido empregada para análise de metais em diferentes matrizes. Fernandes e colaboradores (2007) desenvolveram um método baseado na amostragem em suspensão para determinação de vanádio em cabelo por GF AAS. Após lavagem as amostras foram moídas em moinho criogênio, obtendo-se partículas inferiores à 95 µm e as suspensões preparadas em frascos de 10 mL, por solubilização de 10 a 50 mg de amostra em HNO₃ 0,14 mol L⁻¹. As suspensões foram mantidas estáveis e homogêneas mediante adição de Triton X-100 0,1% m v⁻¹ e sonicação por 15 minutos com auxílio de uma sonda ultrassônica.

Em um outro trabalho, Amorim e colaboradores (2011) determinaram molibdênio em amostras de leite em pó, por GF AAS com a amostra suspensa em água a 10% m v⁻¹. Para garantir a estabilidade e homogeneidade as amostras foram sonicadas por intervalos de tempo de 10 a 30 minutos.

Pereira e colaboradores (2006) determinaram cádmio, chumbo e cromo em sedimentos marinhos através da dissolução de 10 mg de amostra em HNO₃ 3,0% v/v e H₂O₂ 10% v/v. Eles utilizaram uma bomba de aquário para gerar um fluxo de ar e promover a homogeneização das suspensões, que foram analisadas por GF AAS.

1.4.1.2. Solubilização alcalina

Reagentes alcalinos tem sido empregados no desenvolvimento de procedimentos de preparo de amostras, envolvendo digestões, extrações ou formação de suspensões, antes de análises usando técnicas espectroanalíticas (Nóbrega *et al.*, 2006). Os reagentes mais utilizados são o hidróxido de tetrametilamônio (TMAH), uma mistura de aminas terciárias solúveis em água (CFA-C) e bases fortes como NaOH ou KOH.

O TMAH é uma base orgânica forte, solúvel em água ou álcoois resultando em soluções incolores com odor de amina, sendo capaz de complexar e estabilizar elementos voláteis. As amostras tratadas com TMAH fornecem uma solução com características de uma suspensão, apresentando um baixo fator de diluição e permanecendo estável durante meses, mesmo quando estocada em temperatura ambiente (Nóbrega *et al.*, 2006). Como inconvenientes, podemos citar o odor forte e a alta viscosidade da solução resultante do preparo da amostra, assim os procedimentos de análise precisam ser bem otimizados para evitar possíveis interferências não-espectrais (Ghisi *et al.*, 2007).

A solubilização com TMAH é um tipo de tratamento simples, rápido, que necessita de pequenas quantidades do reagente e que tem se mostrado especialmente adequado para determinação por GF AAS, ou por emissão óptica (ICP), uma vez que estas técnicas não requerem a mineralização completa da amostra (Ribeiro *et al.*, 2000). Solubilizações com TMAH foram empregadas com sucesso no preparo de diferentes tipos de amostras, como biodiesel (Ghisi *et al.*, 2011), leite (Ribeiro *et al.*, 2003), tecidos de peixe e mexilhão (Pereira *et al.*, 2006; Torres *et al.*, 2009), sangue (Rodrigues *et al.*,

2009), amostras de unha (Batista et al., 2008) entre outras. Porém, até o presente momento, não há na literatura trabalhos que utilizaram essa estratégia de preparo para a análise de produtos cosméticos.

Na maior parte dos procedimentos, adiciona-se à amostra uma solução 25% m v⁻¹ de TMAH e a mistura resultante é aquecida em recipientes fechados, em banho-maria ou em bloco digestor, por tempo suficiente até uma adequada solubilização da amostra. Para o preparo das amostras de biodiesel, por exemplo, Ghisi e colaboradores (2011) adicionaram 500 µL de solução de TMAH 25% m/v à 500 mg de amostra, com posterior aquecimento em bloco digestor a 90 °C por 5 minutos. Após completa solubilização da amostra o volume foi completado para 5 mL com água Milli-Q. Já em um estudo empregando solubilização alcalina de amostras de peixe, Pereira e colaboradores (2006) utilizaram 500 µL de solução de TMAH 25% m/v para solubilização de 200 mg de amostra. A mistura foi mantida a 60 °C em banho-maria por 30 min e o volume completado com água Milli-Q para 10 mL. Ambos procedimento descritos se mostraram adequados para a determinação dos metais de interesse por GF AAS.

1.4.2. Técnicas analíticas para determinação de metais

Dentre as várias técnicas disponíveis para a determinação de elementos traço, a espectrometria de absorção atômica seja em chama (FAAS), em forno de grafite (GF AAS) ou com gerador de hidretos (HG AAS) é amplamente utilizada em análises de rotina em função de vários fatores como alta especificidade, sensibilidade, robustez e baixos limites de detecção para vários elementos (Freschi *et al.*, 2000).

Se comparada com FAAS, a espectrometria de absorção atômica em forno de grafite é substancialmente mais sensível apresentando limites de detecção, para a maioria dos elementos, em concentrações da ordem de ng L⁻¹ e µg L⁻¹. Outra vantagem desta técnica é o pequeno volume de amostra necessário (5 -100 µL), algo bastante interessante, sobretudo quando se trata

de amostras escassas e/ou de difícil obtenção (Ribeiro *et al.*, 2002). Por outro lado, os longos programas de aquecimento do tubo de grafite (1 a 3 minutos) e a característica monoelementar da AAS podem se tornar uma desvantagem quando a frequência analítica é um parâmetro a ser considerado (Hall, 1995). O alto custo dos materiais de consumo, como os tubos de grafite e os reagentes de alta pureza também podem, em alguns casos, inviabilizar o uso dessa técnica (Correia *et al.*, 2003).

Particularmente, a GF AAS tem se mostrado muito atrativa para análise direta de sólidos e de suspensões, devido a sua alta sensibilidade, simplicidade de instrumentação, custo relativamente baixo, e principalmente, pela ausência de sistemas de nebulização ou vaporização, o que facilita e simplifica a introdução da amostra com 100% de eficiência. Adicionalmente, o programa de aquecimento do forno permite eliminar parte da matriz durante a secagem e pirólise, e o longo tempo de residência do analito no atomizador melhora a eficiência de atomização (Welz & Sperling, 1999). Devido a todas essas características a GF AAS vem se destacando como uma das técnicas mais recomendadas para determinação de baixas concentrações de elementos em uma grande variedade de amostras seja na forma de soluções, suspensões ou amostragem direta de sólidos.

Modificadores químicos são comumente utilizados em análises por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite, com o objetivo de aumentar a estabilidade térmica do analito e/ou a eficiência da etapa de pirólise por aumento da volatilização da matriz, eliminando, assim, interferências provocadas pela matriz ou concomitantes presentes na amostra (Welz & Sperling, 1999). Existem dois tipos de modificação química: a modificação química convencional, onde o modificador está presente em solução e é adicionado antes, depois ou conjuntamente com a amostra e a modificação química permanente, na qual o modificador é impregnado previamente na superfície da plataforma ou na parede do forno de grafite (Froes *et al.*, 2006).

Em 1986, Schlemmer e Welz propuseram uma mistura de nitrato de paládio e nitrato de magnésio como um modificador químico adequado para mais de 20 elementos, resultando em temperaturas de pirólise entre 900 e 1400°C e temperaturas de atomização em torno de 2000°C, para os elementos

investigados (Schlemmer & Welz, 1986). Um ano depois, eles relataram os principais critérios para a seleção de um modificador ideal (Welz *et al.*, 1987):

- Estabilizar o analito a pelo menos 1000°C para garantir a total eliminação da matriz na etapa de pirólise;
- Não diminuir a vida útil do tubo de grafite;
- Ser disponível em alto grau de pureza para evitar contaminações;
- Ser raramente determinado por GF AAS
- Não afetar negativamente a sensibilidade da técnica;
- Não contribuir para a absorção de fundo;
- Ser o mais universal possível.

Atualmente, são encontradas na literatura sugestões de diversos modificadores químicos convencionais, sendo que o Pd é um dos modificadores mais difundido, chegando a ser conhecido como “modificador universal” (Tsalev *et al.*, 2000).

Os modificadores químicos permanentes, são depositados na superfície dos tubos de grafite como um revestimento artificial, ou seja, uma camada metálica que pode ser formada pela pulverização catódica ou pela introdução da solução modificadora dentro do tubo ou plataforma de L'vov, ou ainda, pela impregnação do tubo ou plataforma com a solução modificadora, seguida de um tratamento térmico do tubo (Welz & Sperling, 1999). Os modificadores permanentes em potencial que podem ser usados são os metais nobres de alto ponto de fusão como os do grupo da platina (Ir, Pd, Pt, Rh, Ru) e os elementos que formam carbetos (Mo, Nb, Re, Ta, Ti, V, W, Zr, Hf, B, Si), podendo ser empregados individualmente ou combinados (Tsalev *et al.*, 2000). Em relação à modificação química convencional, a modificação química permanente apresenta as seguintes vantagens (Welz & Sperling, 1999):

- Fácil e rápida obtenção da camada de modificador sobre a plataforma ou paredes do forno de grafite;
- Aumenta a velocidade da análise, pois elimina o tempo de secagem do modificador e a etapa de pipetagem do mesmo;

- Não necessita ser um sal de elevada pureza, pois ocorre limpeza *in situ* durante a obtenção da camada, acarretando em um menor custo da análise;
- Atua como catalisador (para halogenetos, ácidos, álcoois e outros sais) em matrizes complexas permitindo a análise de algumas matrizes diretamente sem nenhuma ou com mínima digestão prévia;
- Geralmente, aumenta consideravelmente a vida útil do forno;
- Permite que o GF AAS se transforme em um Digestor Analisador Seqüencial.

A espectrometria de absorção atômica com forno de grafite foi usada para determinar a concentração de chumbo em amostras de 26 marcas de batons e 8 marcas de sombras disponíveis no comércio da Arábia Saudita (Al-Saleh *et al.*, 2009). As amostras em estudo foram submetidas à um processo de digestão ácida e as análises realizadas empregando-se dihidrogeno fosfato de amônio como modificar químico em solução. As temperaturas de pirólise e atomização foram de 700 e 1800 °C, respectivamente. Os resultados indicaram que as concentrações de chumbo em batons e sombras estavam abaixo do limite permitido como impureza pelo FDA (< 20,0 mg kg⁻¹) na maioria das amostras analisadas (US FDA, 2002a).

Em um outro trabalho, Lavilla e colaboradores (2009) realizaram a otimização de métodos empregando emulsificação assistida por ultrassom para determinação de elementos traço (As, Cd, Cr, Cu, Hg, Mg, Ni e Zn) em amostras de shampoos, condicionadores, géis de cabelo, cremes e óleos para o corpo, empregando diferentes técnicas de espectrometria atômica. A técnica de GF AAS foi empregada para avaliação de Cd, Cr e Ni nas amostras em estudo, utilizando nitrato de paládio como modificador químico em solução e temperaturas recomendadas pelo fabricante para as etapas de pirólise atomização e limpeza. Os resultados obtidos indicaram que todas as amostras analisadas apresentavam uma concentração de Cd inferior ao limite de detecção (< 0,009 µg g⁻¹). Podendo-se verificar a presença de um maior teor de Ni nas amostras de creme corporal e altas concentrações de Cr nos shampoos anti-caspa analisados. A técnica de GF AAS apresentou uma sensibilidade adequada, permitindo a determinação de metais a níveis de traço nas amostras de cosméticos em estudo.

1.5. Otimização Multivariada

O procedimento de otimização mais comumente usado no desenvolvimento de métodos analíticos é a otimização univariada. Neste procedimento, fixam-se todos os fatores que estão sendo pesquisados em certo nível, menos um deles. Este último é então variado até que se encontre a melhor resposta, passando então esta condição a ser fixada e um novo fator é estudado, sendo cada fator otimizado separadamente. O processo se repete até que todos os fatores tenham sido avaliados para fornecer a melhor resposta. Este tipo de otimização oferece como principal vantagem a fácil interpretação de dados obtidos, principalmente por se tratar de gráficos bidimensionais, relacionando a resposta analítica com a variável que está sendo otimizada. Entretanto, as interações entre as variáveis não são consideradas durante os experimentos desenvolvidos e o número de experimentos aumenta consideravelmente com o aumento do número de fatores (Maltez, 2007).

Outro procedimento que vem sendo muito aplicado nos últimos anos é o de otimização multivariada. Este tipo de otimização permite a avaliação simultânea do efeito de todas as variáveis selecionadas em um sistema, bem como de suas interações. Ele apresenta como vantagens o menor tempo de execução, menor consumo de reagentes e um menor número de experimentos requeridos quando comparado com a otimização univariada. Uma das principais desvantagens deste método é a difícil interpretação dos resultados (Ferreira *et al.*, 2002).

A otimização multivariada pode ser realizada através do uso de ferramentas quimiométricas. A quimiometria pode ser definida como a área da química que usa métodos matemáticos e estatísticos para planejar ou selecionar condições ótimas para realização de medidas e experimentos, bem como extrair o máximo da informação química relevante com a análise dos dados. É uma ciência que relaciona medidas, feitas num sistema ou processo químico, ao estado do sistema, utilizando métodos matemáticos e/ou estatísticos (Dutra, 2005)

Em geral, a otimização multivariada de métodos analíticos implica em dois passos: primeiro, uma investigação preliminar, usando planejamento fatorial, é realizada para saber quais os fatores têm influência significativa na resposta analítica e, depois, uma função matemática entre a resposta analítica e os fatores significantes do processo deve ser obtida, e então os valores ótimos são calculados. Para obtenção da função resposta, planejamentos tais como a metodologia de superfície de resposta podem ser aplicados (Ferreira *et al.*, 2004).

Vários trabalhos, empregando otimização multivariada dos procedimentos de preparo de amostras e das variáveis do GF AAS, estão presentes na literatura. Amorim e colaboradores (2006) compararam procedimentos de otimização multivariada e univariada no estabelecimento das condições de análise por GF AAS, para determinação de alumínio em refrigerantes. Os resultados obtidos indicaram que as condições ótimas estabelecidas por otimização multivariada proporcionaram uma melhor sensibilidade e um maior tempo de vida útil do tubo de grafite, reduzindo os custos das análises. Procedimentos empregando otimização multivariada também foram aplicados na otimização dos programas de aquecimento visando a determinação de manganês em amostras de diesel e gasolina (Brandão *et al.*, 2008) e para determinação de chumbo e cádmio em urina por GF AAS (Maranhão *et al.*, 2007)

REFERÊNCIAS

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Guia para avaliação de segurança de produtos cosméticos. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em 02 de maio de 2012.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 332 de 01 de dezembro de 2005. Disponível em: <[http:// www.anvisa.gov.br/e-legis](http://www.anvisa.gov.br/e-legis)>. Acesso em 02 de maio de 2012.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 211, de 14 de julho de 2005. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/cosmeticos/informa/parecer_acetato_chumbo.htm>. Acesso em 02 de maio de 2012.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 79, de 28 de agosto de 2000. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/cosmeticos/>>. Acesso em 02 de maio de 2012.

Al-Saleh, I.; Al-Enazi, S.; Shinwari, N. Assessment of lead in cosmetic products. **Regulatory Toxicology and Pharmacology** 54 (2009) 105–113.

Amorim, F. R.; Bof, C.; Franco, M. B.; Silva, J. B. B.; Nascentes, C. C. Comparative study of conventional and multivariate methods for aluminum determination in soft drinks by graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Microchemical Journal** 82 (2006) 168–173.

Amorim, F. R.; Franco, M. B.; Nascentes, C. C.; Silva, J. B. B.; Direct determination of molybdenum in milk and Infant food samples using slurry sampling and graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Food Analytical Methods** 4 (2011) 41–48.

Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos (ABIHPEC). Disponível em: <[http:// www.abihpec.org.br](http://www.abihpec.org.br) >. Acesso em 10/05/2012.

Atz, V. L. **Desenvolvimento de métodos para determinação de elementos traço em sombra para área dos olhos e batom**. Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Química, 2008.

Basheer, C.; Tan, S. H.; Lee, H. K. Extraction of lead ions by electromembrane isolation. **Journal of Chromatography A** 1213 (2008) 14–18.

Batista, B. L.; Rodrigues, J. L.; Nunes, J. A.; Tormen, L.; Curtius, A. J.; Barbosa, F. Simultaneous determination of Cd, Cu, Mn, Ni, Pb and Zn in nail samples by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) after tetramethylammonium hydroxide solubilization at room temperature: Comparison with ETAAS. **Talanta** 76 (2008) 575–579.

Baysal, A.; Akman, S. Determination of lead in hair and its segmental analysis by solid sampling electrothermal atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B** 65 (2010) 340–344.

Baysal, A.; Akman, S. A rapid solid sampling method for determination of nickel and copper along human hair by ETAAS. **Microchemical Journal** 98 (2011) 291-296.

Becker, J. S.; Sela, H.; Dobrowolska, J.; Zoriy, M.; Becker, J. S. Recent applications on isotope ratio measurements by ICP-MS and LA-ICP-MS on biological samples and single particles. **International Journal of Mass Spectrometry** 270 (2008) 1–7.

Behrens, I.; Chociai, J. G. A. Cosmetovigilância Como Instrumento Para a Garantia da Qualidade na Indústria de Produtos Cosméticos. **Visão Acadêmica** 8 (2007) 1518-5192

Biebl, K. A.; Warshaw, E. M. Allergic Contact Dermatitis to Cosmetics. **Dermatologic Clinics** 24 (2006) 215 – 232.

Bizaio, L. R.; Krug, F. J. Efeitos matriciais na determinação de elementos-traço em fluidos biológicos por espectrometria de emissão atômica com plasma induzido com visão axial. **Revista Analytica** 11 (2004) 34-39.

Bocca, B.; Forte, G.; Petrucci, F.; Cristaudo, A. Levels of nickel and other potentially allergenic metals in Ni-tested commercial body creams. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis** 44 (2007) 1197–1202.

Bolduc, C.; Shapiro, J. Hair care products: waving, straightening, conditioning and coloring. **Clinics in Dermatology** 19 (2001) 431-436.

Bono, A.; Mun, H. C.; Rajin, M. Effect of various formulation on viscosity and melting point of natural ingredient based lipstick. **Studies in Surface Science and Catalysis** 159 (2006) 693-696.

Borgese, L.; Zacco, A.; Bontempi, E.; Pellegatta, M.; Vigna, L.; Patrini, L.; Riboldi, L.; Rubino, F. M.; Depero, L. E. Use of total reflection X-ray fluorescence (TXRF) for the evaluation of heavy metal poisoning due to the improper use of a traditional ayurvedic drug. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis** 52 (2010) 787–790.

Brandao, G.C.; Jesus, R. M.; Silva, E. G. P.; Ferreira, S. L. C. Use of slurry sampling for the direct determination of zinc in yogurt by high resolution-continuum source flame atomic absorption spectrometry. **Talanta** 81 (2010) 1357 – 1359.

Cal-Prieto, M.J.; Felipe-Sotelo, M.; Carlosena, A.; Andrade, J.M.; López-Mahía, P.; Muniategui, S.; Prada, D. Slurry sampling for direct analysis of solid materials by electrothermal atomic absorption spectrometry (ET AAS). A literature review from 1990 to 2000. **Talanta** 56 (2002) 1-51.

Castanedo-Tardan, M. P.; Zug, K. A. Patterns of Cosmetic Contact Allergy. **Dermatologic Clinics** 27 (2009) 265-280.

Chojnacka, K.; Górecka, H.; Górecki, H. The effect of age, sex, smoking habit and hair color on the composition of hair. **Environmental Toxicology and Pharmacology** 22 (2006) 52–57.

Corbett, J.F. An historical review of the use of dye precursors in the formulation of commercial oxidation hair dyes. **Dyes Pigments** 41 (1999) 127-136.

Correia, P. R. M.; Nomura, C. S.; Oliveira, P.V. Espectrometria de absorção atômica multielementar: desafios e perspectivas. **Revista Analytica** 5 (2003) 52-59.

De Gennaro LD. Lead and the developing nervous system. **Growth, Development and Aging** 66 (2002) 43–50.

Dias, S. M.; Silva, R. R. Perfumes uma química inesquecível. **Química Nova na Escola** (1996) 1–6.

Dittert, I. M.; Silva, J. A. S.; Araujo, R. G. O.; Curtius, A. J.; Welz, B.; Becker-Ross, H. Direct and simultaneous determination of Cr and Fe in crude oil using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B** 64 (2009) 537–543.

Draelos Z.D. Special considerations in eye cosmetics. **Clinics in Dermatology** 19 (2001) 424-430.

Duarte, I.; Amorim, J. R.; Perázio, E. F.; Schmitz, R. Dermatite de contato por metais: prevalência de sensibilização ao níquel, cobalto e cromo. **Anais Brasileiros de Dermatologia** 80 (2005) 137-142.

Elberling, J.; Lerbaek, A.; Kyvik, K. O.; Hjelmberg, J. A twin study of perfume-related respiratory symptoms J. **International Journal of Hygiene Environmental Health** 212 (2009) 670–678.

Erdogul, O.; Erlibir, F. Distribution of cobalt, lead and nickel in various vegetables from Kahramanmaraş. **Environmental Contamination and Toxicology** 77 (2006) 282-288.

Fernandes, K. G.; Nogueira, A. R. A.; Gomes Neto, J. A.; Nóbrega, J. A. Determination of vanadium in human hair slurries by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Talanta** 71 (2007) 1118–1123.

Ferreira, H.S.; Santos, W. N. L.; Fiuza, R. P.; Nóbrega, J. A.; Ferreira, S. L.C. Determination of zinc and copper in human hair by slurry sampling employing sequential multi-element flame atomic absorption spectrometry. **Microchemical Journal** 87 (2007) 128–131.

Ferreira, S. L. C.; Santos, W. N. L.; Quintella, C. M.; Neto, B. B.; Bósques-Sendra, J. M. Doehlert matrix: a chemometric tool for analytical chemistry review. **Talanta** 63 (2004) 1061-1067.

Fernandes, K. G.; Nogueira, A. R. A.; Gomes Neto, J. A.; Nóbrega, J. A. Determination of vanadium in human hair slurries by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Talanta** 71 (2007) 1118–1123.

France. Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé. Code de La Santé Publique. Article L5131-9 Loi n° 2004-806 du 9 août 2004. Disponível em: <<http://www.legifrance.gouv.fr>>. Acesso em 02 de maio de 2012.

Freschi, G. P. G.; Dakuzaku, C. S.; Gomes Neto, J. A.; Moraes, M. Espectrometria de absorção atômica multielementar simultânea com

atomização eletrotérmica em forno de grafite - uma revisão da técnica e aplicações. **Eclética Química** 25 (2000) 213-226.

Froes, R. E. F.; Windmüller, C. C.; Silva, J. B. B. Emprego da modificação química permanente para a determinação de metais em matrizes diversas por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite. **Revista Analytica** 23 (2006) 32-43.

Gellein, K.; Lierhagen, S.; Brevik, P.S.; Teigen, M.; Kaur, P.; Singh, T.; Flaten, T.P.; Syvrsen, T. Trace Element Profiles in Single Strands of Human Hair Determined by HR-ICP-MS. **Biological Trace Element Research** 123 (2008) 250–260.

Ghisi, M.; Chaves, E. S.; Quadros, D. P. C.; Marques, E. P.; Curtius, A. J.; Marques, A. L. B.; Simple method for the determination of Cu and Fe by electrothermal atomic absorption spectrometry in biodiesel treated with tetramethylammonium hydroxide. **Microchemical Journal** 98 (2011) 62–65.

Ghisi, M.; Ribeiro, A. S.; Vieira, M. A.; Curtius, A. J. Avaliação de diferentes formas de introdução de amostra biológica tratada com hidróxido de tetrametilamônio em espectrometria de absorção atômica com chama. **Revista Analytica** 28 (2007) 58-65.

Gil, F.; Hernández, A. F.; Márquez, C.; Femia, P.; Olmedo, P.; López-Guarnido, O.; Pla, A. Biomonitorization of cadmium, chromium, manganese, nickel and lead in whole blood, urine, axillary hair and saliva in an occupationally exposed population. **Science of the Total Environment** 409 (2011) 1172–1180.

Giovanni, C. D.; Vincenzo, A.; Gambardella, L.; Sautebin, L. Cosmetovigilance survey: Are cosmetics considered safe by consumers? **Pharmacological Research** 53 (2006) 16–21.

Goldberg, D. J. Cosmetic Dermatology: Legal Issues. **Dermatologic Clinics** 27 (2009) 501-50.

Goldhaber, S.B. Trace element risk assessment: essentiality vs toxicity. **Regulatory Toxicology and Pharmacology** 38 (2003) 232-242.

Hall, D.J. Analytical minimalism applied to the determination of trace elements by atomic spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry** 10 (1995) 169-175.

Hardy, A. D.; Walton, R. I.; Vaishnay, R.; Myers, K. A.; Power, M. R.; Pirrie, D. Chapter 5 Egyptian eye cosmetics ("Kohls"): Past and present Original Research Article. **Physical Techniques in the Study of Art, Archaeology and Cultural Heritage** 1 (2006) Pages 173-203.

Kazi, T. G.; Memon, A. R.; Afridi, H. I.; Jamali, M.K.; Arain, M.B.; Jalbani, N.; Sarfraz, R. A. Determination of cadmium in whole blood and scalp hair samples of Pakistani male lung cancer patients by electrothermal atomic absorption spectrometer. **Science of the total environment** 389 (2008) 270 – 276.

Kirkland, D. J.; Henderson, L.; Marzin, D.; Muller, L.; Parry, J. M. Testing strategies in mutagenicity and genetic toxicology: An appraisal of the guidelines of the European Scientific Committee for Cosmetics and Non-Food Products for the evaluation of hair dyes. **Mutation Research** 588 (2005) 88–105.

Kumar, S. Exploratory analysis of global cosmetic industry: major players, technology and market trends. **Technovation** 25 (2005) 1263–1272.

Lanphear, B.P.; Dietrich, K.; Auinger, P.; Cox, C. Cognitive deficits associated with blood lead concentrations <10 microg/dL in US children and adolescents. **Public Health Reports** 115 (2000) 521–529.

López-Nogueroles, M.; Chisvert, A.; Salvado, A. A chromatometric approach for evaluating and selecting the perfume maceration time. **Journal of Chromatography A**, 1217 (2010) 3150–3160.

Magalhães, C. E. C.; Arruda, M. A. Z. Amostragem de suspensões: emprego da técnica na análise direta de amostras. **Química Nova** 21 (1998) 459 - 466.

Maltez, H. F. **Desenvolvimento de metodologias analíticas baseadas em sistemas de pré-concentração empregando extração em fase sólida e microextração com gota única para determinação de metais-traço em amostras aquosas ambientais**. Tese de doutorado, Universidade Federal de Santa Catarina, Instituto de Química, 2007.

Maranhão, T. A.; Martendal, E.; Borges, D. L. G.; Carasek, E.; Welz, B.; Curtius, A. J. C. Cloud point extraction for the determination of lead and cadmium in urine by graphite furnace atomic absorption spectrometry with multivariate optimization using Box–Behnken design. **Spectrochimica Acta Part B** 62 (2007) 1019–1027.

Menné, T. Allergie aux cosmétiques et aux parfums : est-ce que la législation européenne améliore la sécurité des consommateurs? **Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique** 43 (2003) 227–228.

Moreira, F.R.; Moreira, J.C. A cinética do chumbo no organismo e sua importância para a saúde. **Ciência & Saúde Coletiva** 9 (2004) 167-181.

Meyers, B. FDA Authority Over Cosmetics. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Cosmetics>>. Acesso em 02/05/2012.

Nnorom, I. C.; Igwe, J. C.; Oji-Nnorom C. G. Trace metal contents of facial (make-up) cosmetics commonly used in Nigeria. **African Journal of Biotechnology** 4 (2005) 1133-1138.

Nóbrega, J.A.; Santos, M.C.; de Sousa, R.A.; Cadore, S.; Barnes, R.M.; Tatro, M. Sample preparation in alkaline media. **Spectrochimica Acta Part B**, 2006, *61*, 465-495.

Nohynek, G. J.; Fautz, R.; Benech-Kieffer, F.; Toutain, H. Toxicity and human health risk of hair dyes. **Food and Chemical Toxicology** 42 (2004) 517–543.

Nomura, C. S.; Silva, C. S.; Oliveira, P. V. Análise direta de sólidos por espectrometria de absorção atômica com atomização em forno de grafite: uma revisão. **Química Nova**. 31 (2008) 104-113.

Nomura, C. S, Silva, C. S, Oliveira, P.V, Nogueira, A. R. A. Bovine liver sample preparation and micro-homogeneity study for Cu and Zn determination by solid sampling electrothermal atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B** 60 (2005) 673-680.

Pereira, L. A.; Amorim, I.; Silva, J. B.B. Determination of cadmium, chromium and lead in marine sediment slurry samples by electrothermal atomic absorption spectrometry using permanent modifiers. **Talanta** 68 (2006) 771–775.

Pereira, L. A.; Windmöller, C. C.; Silva, J. B. B. Solubilização alcalina de peixes e otimização multivariada para determinação de chumbo e manganês usando espectrometria de absorção atômica com forno de grafite. **Química Nova** 34 (2011) 1167-1172.

Pons-Guiraud, A. Les allergies aux parfums en 2007. Allergy to perfumes in 2007. **Revue Française D'allergologie et D'immunologie Clinique** 47 (2007) 232–236.

Pozebon, D.; Dressler, V. L.; Curtius, A. J. Análise de cabelo: uma revisão dos procedimentos para a determinação de elementos traço e aplicações. **Química Nova** 22 (1999) 838 -846.

Rêgo, J. F.; Virgilio, A.; Nóbrega, J. A.; Gomes Neto, J. A. Determination of lead in medicinal plants by high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry using direct solid sampling. **Talanta** 100 (2012) 21–26.

Ribeiro, A. S.; Arruda, M. A. Z.; Cadore, S. Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em filamento de tungstênio. Uma revisão crítica. **Química Nova** 25 (2002) 396-405.

Ribeiro, A.S.; Moretto A.L.; Arruda M.A.Z.; Cadore S. Analysis of Powdered Coffee and Milk by ICP OES after Sample Treatment with Tetramethylammonium Hydroxide, **Microchimica Acta** 141 (2003) 149-155.

Ribeiro, A. S.; Curtius, A. J.; Pozebon, D. “Determination of As, Cd, Ni and Pb in Human Hair by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry after Sample Treatment with Tetramethylammonium Hydroxide”. **Microchemical Journal** 64 (2000) 105- 110.

Rodrigues, J. L.; Torres, D. P.; Souza, V. C. O.; Batista, B. L.; Souza, S. S.; Curtius, A. J.; Barbosa Jr, F.; Determination of total and inorganic mercury in whole blood by cold vapor inductively coupled plasma mass spectrometry (CV ICP-MS) with alkaline sample preparation. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry** 24 (2009) 1414-1420.

Sainio, E. L.; Jolanki, R.; Hakala, E.; Kanerva L. Metals and arsenic in eye shadows. **Contact Dermatitis** 42 (2000) 5-10.

Santos, E. J. S.; Herrmann, A.B.; Vieira, F.; Sato, C. S.; Corrêa, Q. B.; Maranhão, T. A.; Tormen, L.; Curtius, A. J. Determination of Hg and Pb in compact fluorescent lamp by slurry sampling inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Microchemical Journal** 96 (2010) 27-31.

Santos Júnior, D. S.; Tomazelli, A. C.; Krug, F. J. Moagem criogênica para o preparo de amostras em técnicas analíticas. **Revista Analytica** 3 (2003) 40-44.

Sardans, J.; Montes, F.; Peñuelas, J. Determination of As, Cd, Cu, Hg and Pb in biological samples by modern electrothermal atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B** 65 (2010) 97–112.

Scheinman. Allergic contact dermatitis to fragrance: a Review. **American journal of contact dermatitis** 7 (1996) 65-76.

Schlemmer, G.; Welz, B. Palladium and magnesium nitrates, a more universal modifier for graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B** 41 (1986) 1157-1165.

Shrivastava, K.; Patel, D. k. Separation and preconcentration of trace level of lead in one drop of blood sample by using graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Journal of Hazardous Materials** 176 (2010) 414–417.

Silva, F. S. V.C. B.; Valdinete Silva, L.; Lavorante, A. F.; Paim, A. P. S. Utilização de planejamento fatorial no preparo de amostras de detergente em pó para a determinação de fósforo por análise em fluxo. **Química Nova** 33 (2010) 1199-1203.

Teixeira, M. A.; Rodríguez, O.; Mata, V. G.; Rodrigues, A.E. The diffusion of perfume mixtures and the odor performance. **Chemical Engineering Science** 64 (2009) 2570 – 2589.

Torres, D. P.; Frescura, V. L. A.; Curtius, A. J. Simple mercury fractionation in biological samples by CV AAS following microwave-assisted acid digestion or TMAH pre-treatment. **Microchemical Journal** 93 (2009) 206–210.

Torres, F.; Melo, M. G.M.; Tosti, A. Management of contact dermatitis due to nickel allergy: an update. **Cosmetic and Investigational Dermatology** 2 (2009) 39–48.

Tsalev, D. L.; Slaveykova, V. I.; Lampugnani, L.; D'Ulivo, A.; Georgieva, R. Permanent modification in electrothermal atomic absorption spectrometry – advances, anticipations and reality **Spectrochimica Acta Part B** 55 (2000) 473-490.

US FDA, United States Food and Drug Authorities, 2002a. Title 21- Food and Drugs. Chapter I - Food and Drug Administration, Department of Health and Human Services. Part 74 - Listing of Color Additives Subject to Certification/Office of Cosmetics and Colors. Sec. 74.1306 D&C Red No. 6. Disponível em :<http://www.cfsan.fda.gov/lrd/cf741306.html>. Acesso em 02 de maio de 2012.

Vieira, M. A. **Amostragem em suspensão de sedimentos, carvões e cinzas para a determinação de as e sn por HG-GF AAS com retenção no tubo de grafite recoberto com modificador permanente**, 2003, 135p. Dissertação de Mestrado em Química. Universidade Federal de Santa Catarina.

Volpe, M. G.; Nazzaro, M.; Coppola, R.; Rapuano, F.; Aquino, R. P. Determination and assessments of selected heavy metals in eye shadow cosmetics from China, Italy, and USA. **Microchemical Journal** 101 (2012) 65–69.

Welz, B.; Schlemmer, G.; Mudakavi, J. R. Palladium nitrate-magnesium nitrate modifier for graphite furnace atomic absorption spectrometry. Determination of arsenic, antimony, selenium and thallium in airborne particulate matter. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry** 2 (1987) 45-50.

Welz, B; Sperling, M. **Atomic Absorption Spectrometry** 3^a ed. Germany; Willey-VCH, 1999.

Draeos, Z. D. Special considerations in eye cosmetics. **Clinics in Dermatology** 19 (2001) 424–430.

Vanz, A.; Mirlean, N.; Baisch, P. Avaliação de poluição do ar por chumbo particulado: Uma abordagem geoquímica. **Química Nova** 26 (2003) 25-29.

Zhang, H.; Chai, Z.; Sun, H. Human hair as a potential biomonitor for assessing persistent organic pollutants. **Environment International** 33 (2007) 685–693.

**CAPÍTULO 2 – DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS PARA
DETERMINAÇÃO DE CHUMBO EM CABELOS E TINTURAS
CAPILARES EMPREGANDO AMOSTRAGEM EM SUSPENSÃO E
ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA EM FORNO DE
GRAFITE**

2.1. INTRODUÇÃO

O interesse sobre acumulação e toxicidade de metais tem crescido nos últimos anos como consequência das exposições ocupacionais e ambientais, ou dos distúrbios causados por estes elementos (Shi *et al.*, 2010).

O chumbo é um dos contaminantes mais comuns do ambiente, sendo considerado como um elemento que possui efeitos tóxicos sobre os homens e animais, e sem nenhuma função fisiológica no organismo (Moreira & Moreira, 2004). Em crianças, à medida que aumenta o grau de contaminação, agravam-se os sintomas de apatia, dores de cabeça, convulsões, perda de audição, dificuldade de aprendizagem, comportamento agressivo, retardamento mental, dores abdominais e nas articulações, nefropatia e eventualmente morte (He *et al.*, 2009). Em adultos os sintomas relatados na literatura médica são hipertensão, desordens no sistema nervoso, perda de memória, irritabilidade, dores de cabeça, encefalopatia, esterilidade, impotência, anemia e diminuição da longevidade (Ahamed *et al.*, 2007).

A introdução de chumbo na cadeia alimentar ocorre principalmente através do ar, poeira, água, alimentos, bebidas e tinta. A fumaça de cigarro também pode aumentar o total de chumbo absorvido pelo organismo por dia. Alimentos tais como frutas, vegetais, carnes, grãos, frutos do mar e vinhos podem conter chumbo, originado de locais de cultivo contaminados ou da água empregada no processamento (Meyer *et al.*, 2008). A intoxicação pelo chumbo também pode ser provocada pelo uso de determinados produtos cosméticos, como algumas tinturas capilares que possuem acetato de chumbo em sua composição (Kirkland *et al.*, 2005). Outras fontes também podem contribuir para a introdução de Pb no organismo, tais como brinquedos, impressão colorida e água de tubulação com solda de chumbo (Santos *et al.*, 2004).

Neste contexto, a determinação de chumbo em amostras, como águas, alimentos, matrizes biológicas, cosméticos dentre outras é de grande importância e requer técnicas analíticas muito sensíveis, pois os teores de chumbo em tais amostras, geralmente, estão a níveis de traço (Olmedo *et al.*, 2010). Assim, além de instrumentação analítica confiável, o preparo adequado da amostra e uma calibração cuidadosa são necessárias para a obtenção de

resultados exatos. Procedimentos de preparo de amostra mais drásticos, tais como calcinação ou decomposição ácida podem conduzir a perda do analito ou contaminação, causando erros nas determinações (Silva & Roldan, 2009). Desta forma, sempre que possível, deve-se optar por métodos que envolvam o mínimo pré-tratamento, de forma a se obter uma análise rápida e exata.

Uma alternativa interessante é a amostragem em forma de suspensão aliada a espectrometria de absorção atômica com forno de grafite, que permite a simplificação do pré-tratamento da amostra, evita/minimiza contaminação, diminui consideravelmente a perda de analitos voláteis, além de diminuir custos e o uso de reagentes frequentemente perigosos (Brandao *et al.*, 2010).

2.2. OBJETIVOS

Objetivo Geral

Este estudo tem como objetivo principal o desenvolvimento de métodos para determinação de chumbo em amostras de cabelos e em amostras de tinturas capilares, empregando amostragem em suspensão e determinação por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite.

Objetivos Específicos

- Otimização e validação dos métodos para determinação direta de Pb em amostras de cabelo e em amostras de tinturas líquidas, em pó e em creme por GF AAS.
- Comparação do teor de Pb em amostras de cabelo de usuários e não-usuários de tintura capilar.
- Determinação da concentração de Pb em tinturas capilares líquidas, em pó e em creme de diferentes marcas e cores disponíveis no mercado.
-

2.3. PARTE EXPERIMENTAL

2.3.1. Reagentes e Soluções

Todos os reagentes utilizados neste trabalho foram de grau analítico. Para decomposição das amostras e preparo das suspensões foram utilizados ácido nítrico 65% v v⁻¹, peróxido de hidrogênio 30% m v⁻¹ (Merck, Darmstadt, Alemanha) e água deionizada (resistividade de 18,2 MΩ cm⁻¹), obtida por num sistema Direct-Q (Millipore, Billerica, MA, USA). Soluções de referência de chumbo foram preparadas em 5% v/v de ácido nítrico por diluições da solução estoque de 1000 mg L⁻¹, obtida a partir de uma ampola titrisol (Merck Darmstadt, Alemanha).

Soluções de 1000 mg L⁻¹ de irídio, nióbio, tântalo, rutênio, ródio e zircônio obtidas da Fluka ((Fluka, Buchs, Switzerland) foram utilizadas como modificadores permanentes no tratamento dos tubos de grafite. Uma solução de paládio 1000 mg L⁻¹ obtida da Ultra Scientific (North Kingstown, RI, USA), foi utilizada como modificador químico em solução.

2.3.2. Instrumentação

As análises foram realizadas em um espectrômetro de absorção atômica Perkin Elmer AAnalyst 400, equipado com forno de grafite (HGA 800), com correção de fundo por lâmpada de deutério e amostrador automático (AS-800) (Perkin Elmer, Norwalk, CT, USA). Foi utilizada uma lâmpada de catodo-oco para Pb da PerkinElmer, operando nas condições recomendadas pelo fabricante (comprimento de onda de 283,3 nm, corrente de 10 mA e fenda de 2,7/1,05 nm). Todas as medidas foram baseadas em valores de absorbância integrada. Tanto para as amostras como para os padrões, o volume injetado no tubo de grafite pelo pipetador automático foi de 20 µL. Como gás de purga foi usado argônio de alta pureza (99,996% da White Martins, Belo Horizonte, MG, Brasil). Tubos de grafite pirolítico com plataforma de L'Vov inserida (PerkinElmer, cidade, país) foram usados em todas as análises.

As amostras de cabelos foram moídas em um moinho criogênico (Spex Sample Prep 6770, MA, USA) e as massas medidas em balança analítica Shimadzu, modelo AX 200 (São Paulo, Brasil).

As digestões das amostras de tinturas foram realizadas em forno de micro-ondas com cavidade modelo ETHOS 1 (Milestone, Sorisole, Itália) e uma bomba de aquário foi utilizada para gerar um fluxo de ar e promover a homogeneização das suspensões.

2.3.3. Tratamento dos tubos de grafite

Tubos de grafite com plataformas de L'vov acopladas foram tratados, independentemente, com 500 µg de cada modificador permanente (irídio, nióbio, tântalo, rutênio, ródio e zircônio). Para tal propósito, 50 µL das soluções 1000 mg L⁻¹ dos modificadores foram introduzidos pelo pipetador automático sobre a superfície da plataforma em 10 replicatas. Após cada replicata, um programa de aquecimento específico para recobrimento com os modificadores permanentes (Tabela 2.1) foi executado, de acordo com o proposto por Silva e colaboradores (1999).

Tabela 2.1. Programa de temperatura do GF AAS utilizado para tratamento da plataforma de L'vov com modificadores permanentes.

Etapa	Temperatura (°C)	Rampa (s)	Permanência (s)	Fluxo de Ar (mL min ⁻¹)
1	90	5	15	250
2	140	5	15	250
3	1000	10	10	250
4	2000	0	5	0
5	20	1	10	250

2.3.4. Amostras

2.3.4.1. Amostras de cabelo

As amostras de cabelo foram cedidas por diferentes voluntários, usuários e não-usuários de tintura capilar. No momento da coleta foi preenchido um formulário com algumas informações sobre os doadores: idade, sexo, local de residência, profissão, se fumante ou não, se usuário ou não de tinturas capilares, tempo de uso de tinturas e qual tipo de tintura usada. O modelo do formulário preenchido é apresentado no anexo I. As amostras coletadas foram acondicionadas em sacos plásticos limpos e secos.

Para avaliação da exatidão foi utilizado um material de referência certificado de cabelo humano (MRC 397), proveniente da Community Bureau Reference - BCR.

2.3.4.2. Amostras de tinturas capilares

Amostras de tinturas capilares líquidas, em pó, e em creme de diferentes marcas e cores foram adquiridas no comércio local. Foram adquiridas 9 amostras de tintura creme, 6 amostras de tintura líquida e 6 amostras de tintura em pó das marcas mais vendidas no país.

2.3.5. Preparo das amostras

2.3.5.1. Amostras de cabelo

Para lavagem das amostras de cabelo foi empregado o método proposto pelo Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA, 1987). Este método consiste em lavar 0,5 g de cabelo sucessivamente: 1 vez com acetona, 3 vezes com água deionizada e 1 vez com acetona. Entre cada lavagem deixa-se o cabelo recoberto com o solvente, à temperatura ambiente e sob agitação,

decantando o líquido entre cada lavagem. Após tal procedimento, as amostras de cabelo foram envolvidas em papel filtro de grau cromatográfico e a secagem realizada à temperatura ambiente.

As amostras secas foram submetidas à moagem criogênica, de forma a garantir um tamanho de partículas adequado e uma homogeneidade satisfatória para o preparo das suspensões. O programa de moagem consistiu de três ciclos de três etapas à velocidade de 15 cps (ciclos por segundo), conforme indicado na Tabela 2.2. Após a moagem, as amostras foram peneiradas para que fosse obtido um tamanho de partícula menor que 45 µm. As amostras foram armazenadas em frascos de polietileno secos e limpos, posteriormente mantidos em local adequado.

Tabela 2.2. Programa de moagem criogênica utilizado para as amostras de cabelo.

Etapa	Tempo (min)
Pré-congelamento	5,0
Moagem	2,0
recongelamento	2,0

Para o preparo das suspensões, foram medidos cerca de 10,0 mg de amostra de cabelo moído no próprio vial do amostrador automático, com posterior adição de 2,0 mL de diluente (HNO₃ 2,5% v/v e H₂O₂ 1,5% v/v). Para manter a estabilidade e homogeneidade das suspensões durante os experimentos, foi utilizado um aerador de aquário, ligado a um capilar de polietileno mergulhado no vial contendo a amostra.

2.3.5.2. Amostras de Tintura

Amostragem em Suspensão

As amostras de tintura foram submetidas à análise direta, sem nenhuma etapa de secagem ou moagem. As amostras líquidas foram diluídas em HNO₃ 2,5% v v⁻¹ e H₂O₂ 1,5% v v⁻¹ na proporção de 1:1 v v⁻¹. Para o preparo das suspensões das tinturas em pó, 50 mg de amostra foram dissolvidos em 2,0 mL do diluente (HNO₃ 2,5% v v⁻¹ e H₂O₂ 1,5% v v⁻¹). Para as amostras de tintura em creme 200 mg de amostra foram suspenso em 5,0 mL de HNO₃ 2,5% v v⁻¹ e H₂O₂ 1,5% v v⁻¹. As proporções de massa e volume usadas no preparo das suspensões foram estabelecidas de forma a se obter suspensões com características satisfatórias para a realização das análises por GF AAS. O aerador de aquário, também foi usado para manter as suspensões homogêneas e estáveis.

Digestão ácida assistida por radiação micro-ondas

Cerca de 0,2 g das amostras de tintura foram medidos diretamente nos frascos de digestão, sendo posteriormente adicionados 5,0 mL de HNO₃ concentrado. Após 30 min, adicionou-se 1,0 mL de H₂O₂ e 2,0 mL de água deionizada. Os frascos foram fechados e dispostos no forno de micro-ondas. As amostras foram submetidas ao programa de aquecimento mostrado na Tabela 2.3. Após a etapa de resfriamento os digeridos foram transferidos quantitativamente para frascos de polietileno graduados e o volume final foi ajustado para 25,0 mL com água deionizada.

Tabela 2.3. Programa de aquecimento do forno de micro-ondas.

Etapa	Tempo (min)	Potência (W)	Pressão (bar)	Temperatura(°C)
1	10	750	30	180
2	20	750	30	180
3*	Overnight			

* Etapa de Resfriamento

2.3.6. Otimização das condições para quantificação de Pb

O processo de otimização para determinação de Pb em amostras de cabelo e tinturas capilares será apresentado em linhas gerais e os níveis estudados em cada caso serão apresentados posteriormente no tópico “Resultados e Discussão”.

As amostras utilizadas na otimização dos métodos foram previamente analisadas, de forma a se verificar se a concentração de Pb nestas amostras era suficiente para se obter um sinal analítico adequado à otimização. A amostra de cabelo utilizada apresentou uma concentração satisfatória do analito e portanto não foi fortificada. Já as amostras de tinturas foram fortificadas de forma que a concentração final de Pb na suspensão fosse de 20 $\mu\text{g L}^{-1}$.

A primeira etapa da otimização consistiu na escolha do modificador permanente. Tubos de grafite com plataformas de L'Vov foram tratados com diferentes modificadores conforme descrito no item 2.3.3. As suspensões foram analisadas utilizando os diferentes modificadores sob as condições recomendadas pelo fabricante para as etapas de pirólise, atomização e limpeza. A partir destes resultados, foram escolhidos os modificadores que apresentaram melhor sensibilidade, isto é, apresentaram maior intensidade para o sinal de absorvância integrada, melhor repetitividade e melhor correção de fundo, para cada matriz.

Após a seleção do melhor modificador para cada matriz, este foi fixado e um planejamento fatorial fracionário 2^{4-1} foi montado para a triagem das variáveis significativas na determinação de chumbo para as amostras de cabelo e tinturas. As variáveis avaliadas foram o uso de modificador químico convencional (paládio), tempo de pirólise e temperaturas de pirólise e atomização. Após uma avaliação dos resultados, foi feito um planejamento composto central empregando as variáveis significativas para cada matriz e através das superfícies de resposta obtidas foram determinadas as condições ótimas de análise para cada tipo de amostra. A metodologia de superfície de resposta baseia-se na construção de modelos matemáticos empíricos que geralmente empregam funções polinomiais, quadráticas ou de ordem superior,

para descreverem o sistema estudado e, conseqüentemente, dão condições de explorar (modelar e deslocar) o sistema até atingir uma região ótima (máximo ou mínimo) da superfície de resposta investigada (Santos *et al.*, 2008). Os resultados obtidos foram tratados empregando-se o software Statistica 6.0 (Statsoft, 2001).

2.3.7. Validação do método analítico

Para garantir que um novo método analítico forneça resultados confiáveis e interpretáveis sobre a amostra, ele deve ser submetido a uma avaliação denominada validação (INMETRO, 2007). Neste trabalho foram avaliados os parâmetros de desempenho correspondentes ao efeito de matriz, linearidade, limite de detecção, limite de quantificação, precisão e exatidão.

2.3.7.1. Linearidade e Efeito de matriz

Para verificação da linearidade e do efeito de matriz dos métodos propostos, preparou-se em triplicata uma curva de calibração no diluente (HNO_3 2,5% v v⁻¹ e H_2O_2 1,5% v v⁻¹) nos níveis de concentração de 2,5; 5,0; 12,5; 25,0; e 50,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ de chumbo. Curvas de calibração por ajuste de matriz foram construídas em triplicata nos mesmos níveis de chumbo, empregando-se amostras brancas das matrizes em estudo.

A linearidade foi avaliada por inspeção visual da curva e pelos coeficientes de correlação obtidos por regressão linear para a faixa de concentração estudada.

Para verificar se houve ou não efeito de matriz as inclinações e interseções obtidas para as curvas por padrões externos foram comparadas com aquelas estimadas para as curvas por ajuste de matriz, mediante aplicação do teste F e teste t de Student ao nível de 95% de confiança.

2.3.7.2. Limites de detecção e quantificação

Quando são realizadas medidas em amostras com baixas concentrações do analito, como por exemplo, determinação de contaminantes em matrizes diversas, é importante saber qual a menor concentração do analito que pode ser determinada pelo método (INMETRO, 2007). O limite de detecção corresponde à menor quantidade de um analito que pode ser detectada, porém, não necessariamente quantificada como um valor exato. Já o limite de quantificação corresponde à menor quantidade de um analito que pode ser quantificada com exatidão e precisão (Lanças, 2004).

Os limites de detecção e de quantificação foram determinados a partir da análise de 10 replicatas independentes do branco da amostra. O limite de detecção foi calculado pela equação 3.1:

$$LD = \bar{X} + 3s \quad (\text{Eq. 2.1})$$

onde, \bar{X} é a média das 10 replicatas do branco e s é o desvio padrão das 10 replicatas (INMETRO, 2011). Já o limite de quantificação foi calculado pela equação 2.2:

$$LD = \bar{X} + 10s \quad (\text{Eq. 2.2})$$

2.3.7.3. Precisão

A precisão é o grau de concordância mútua entre os resultados que foram obtidos a partir de um método numa série de medidas. A precisão determinada sob as mesmas condições de medição: mesmo procedimento, mesmo analista, mesmo instrumento usado, e em um curto intervalo de tempo é denominada precisão intra-ensaio ou repetitividade. Já a precisão intermediária indica o efeito de variações dentro do mesmo laboratório, devido a diferentes eventos como diferentes dias, equipamentos ou analistas. O objetivo da validação da precisão intermediária é verificar que na rotina do

laboratório o método fornecerá resultados estatisticamente iguais ou dentro de uma variação aceitável para a aplicação que se pretende (RIBANI *et al.*, 2004).

A precisão do método proposto foi avaliada, em termos de repetitividade e precisão intermediária, com amostras brancas de cabelo e tinturas capilares, fortificadas com o analito nas seguintes concentrações: 2, 10 e 20 $\mu\text{g L}^{-1}$ ($n = 7$). Os resultados obtidos foram expressos em termos de coeficientes de variação (CV,%).

Para a avaliação da precisão intermediária as amostras foram analisadas pelo mesmo analista, no mesmo equipamento, sob as mesmas condições de uso, em diferentes dias (1 dia, 1 semana e 1 mês).

2.3.7.4. Veracidade

A veracidade representa o grau de concordância entre os resultados individuais encontrados em um determinado ensaio e um valor de referência aceito como verdadeiro (VIM, 2003). A avaliação da veracidade de um método pode ser efetuada por meio do uso de materiais de referência, testes interlaboratoriais, comparação de métodos e ensaios de adição e recuperação.

No método proposto para determinação de chumbo em amostras de cabelo a veracidade foi determinada pela análise de material de referência certificado (MRC 397) de cabelo humano. Para tal propósito, foram medidos 10,0 mg de material, no próprio vial do amostrador automático, com posterior adição de 2,0 mL de diluente (HNO_3 2,5% v v⁻¹ e H_2O_2 1,5% v v⁻¹). As análises foram realizadas em triplicata, sob as condições analíticas previamente otimizadas.

Já para o método otimizado para determinação de chumbo em tinturas capilares empregando amostragem em suspensão e GF AAS, não foi possível utilizar materiais de referência certificados, pois estes não se encontram disponíveis comercialmente. Por isso, a veracidade foi avaliada por ensaios de adição e recuperação e por comparação do método proposto com um método de referência. Visando a comparação entre métodos, os resultados obtidos empregando amostragem em suspensão foram comparados com os resultados

obtidos empregando digestão por micro-ondas para as amostras de tinturas, conforme procedimento descrito no item 2.3.5.2.

2.4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

2.4.1. Otimização das condições para quantificação do Pb

Para escolha do melhor modificador permanente, as análises foram realizadas em triplicata empregando-se o programa de temperatura recomendado pelo fabricante (Tabela 2.4).

Tabela 2.4. Programa de temperatura do forno de grafite usado na otimização do método para determinação de Pb em cabelo e tinturas capilares.

Etapa	Temperatura (°C)	Rampa (s)	Permanência (s)	Fluxo de argônio (mL min ⁻¹)
Secagem	100	5	20	250
Secagem	140	15	15	250
Pirólise	700	10	20	250
Atomização	1800	0	5	0
Limpeza	2600	1	5	250
Resfriamento	30	1	10	250

Os resultados obtidos para os diferentes modificadores permanentes avaliados para a determinação de Pb em cabelos são apresentados na Tabela 2.5. Como pode ser observado, maior intensidade para o sinal de absorbância, melhor repetitividade e correção de fundo adequada foram obtidos com o uso de nióbio. A Figura 2.1 mostra o perfil do sinal analítico obtido com o uso desse modificador, o qual se apresentou simétrico e com rápido retorno a linha base. Apesar do sinal analítico ter sido maior em altura de pico, optou-se por trabalhar com área de pico (que minimiza o efeito das variações cinéticas no processo de atomização), trabalhando-se assim nas condições STPF

(Stabilized Temperature Platform Furnace), que asseguram uma condição analítica adequada, permitindo obter métodos mais sensíveis e com mínima interferência utilizando a GF AAS (Koirtzohann & Kaiser, 1982).

Tabela 2.5. Absorbâncias obtidas utilizando modificadores permanentes na determinação de Pb em cabelo por GF AAS.

Modificador Permanente	Absorbância Integrada (n=3)	Absorbância de Fundo
Sem modificador	0,03 ± 0,01	0,052
Zircônio	0,038 ± 0,009	0,069
Ródio	0,063 ± 0,005	0,044
Rutênio	0,04 ± 0,01	0,048
Nióbio	0,069 ± 0,003	0,039
Tântalo	0,04 ± 0,01	0,036
Írídio	0,03 ± 0,01	0,038
Titânio	0,023 ± 0,008	0,059

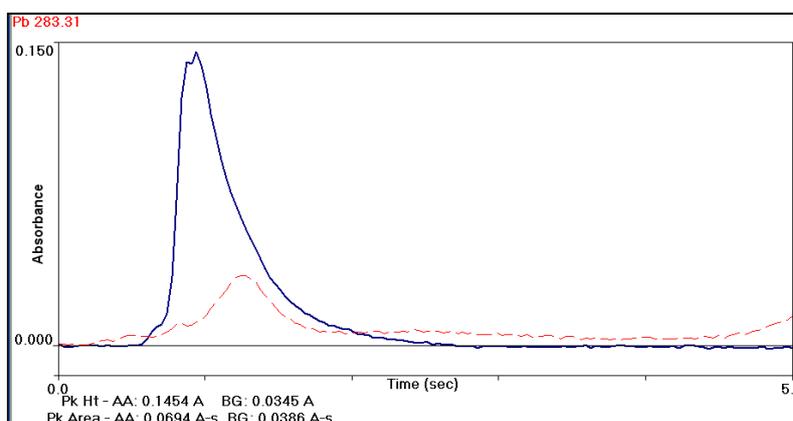


Figura 2.1. Perfil do sinal analítico obtido utilizando Nb como modificador permanente na determinação de Pb em cabelo por GF AAS.

Já para as análises das suspensões de tinturas líquidas, em pó e em creme, o ródio apresentou um melhor desempenho como modificador

permanente, seguido pelo nióbio como pode ser verificado nas Tabelas 2.6 a 2.8 e Figura 2.2. Trabalhos da literatura relatam o uso de ródio como modificador permanente na determinação de chumbo em outras matrizes, por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite. Zhou e colaboradores (2002) utilizaram o modificador na determinação de chumbo em sangue. Chumbo também foi determinado em amostras biológicas (Lima *et al.*, 1999) e em amostras de cachaça (Ajtony *et al.*, 2005) utilizando Rh como modificador permanente.

Tabela 2.6. Absorbâncias obtidas utilizando modificadores permanentes na determinação de Pb em tintura líquida por GF AAS.

Modificador Permanente	Absorbância Integrada* (n=3)	Absorbância de Fundo
Sem modificador	0,18 ± 0,01	0,105
Zircônio	0,13 ± 0,02	0,102
Ródio	0,195 ± 0,009	0,095
Rutênio	0,180 ± 0,008	0,098
Nióbio	0,19 ± 0,01	0,094
Tântalo	0,142 ± 0,003	0,128
Titânio	0,16 ± 0,01	0,111
Írídio	0,159 ± 0,005	0,098

* Suspensão fortificada com 20 µg L⁻¹ de Pb

Tabela 2.7. Absorbâncias obtidas utilizando modificadores permanentes na determinação de Pb em tintura em pó por GF AAS.

Modificador Permanente	Absorbância Integrada* (n=3)	Absorbância de Fundo
Sem modificador	0,20 ± 0,01	0,091
Zircônio	0,167 ± 0,009	0,085
Ródio	0,23 ± 0,01	0,079
Rutênio	0,18 ± 0,01	0,101
Nióbio	0,209 ± 0,005	0,082
Tântalo	0,192 ± 0,009	0,096
Titânio	0,18 ± 0,01	0,083
Irídio	0,11 ± 0,01	0,100

* Suspensão fortificada com 20 µg L⁻¹ de Pb

Tabela 2.8. Absorbâncias obtidas, utilizando modificadores permanentes na determinação de Pb em tintura creme por GF AAS.

Modificador Permanente	Absorbância Integrada* (n=3)	Absorbância de Fundo
Sem modificador	0,225 ± 0,009	0,053
Zircônio	0,21 ± 0,01	0,042
Ródio	0,246 ± 0,005	0,007
Rutênio	0,236 ± 0,006	0,067
Nióbio	0,241 ± 0,007	0,033
Tântalo	0,20 ± 0,01	0,044
Titânio	0,18 ± 0,02	0,052
Irídio	0,21 ± 0,01	0,045

* Suspensão fortificada com 20 µg L⁻¹ de Pb

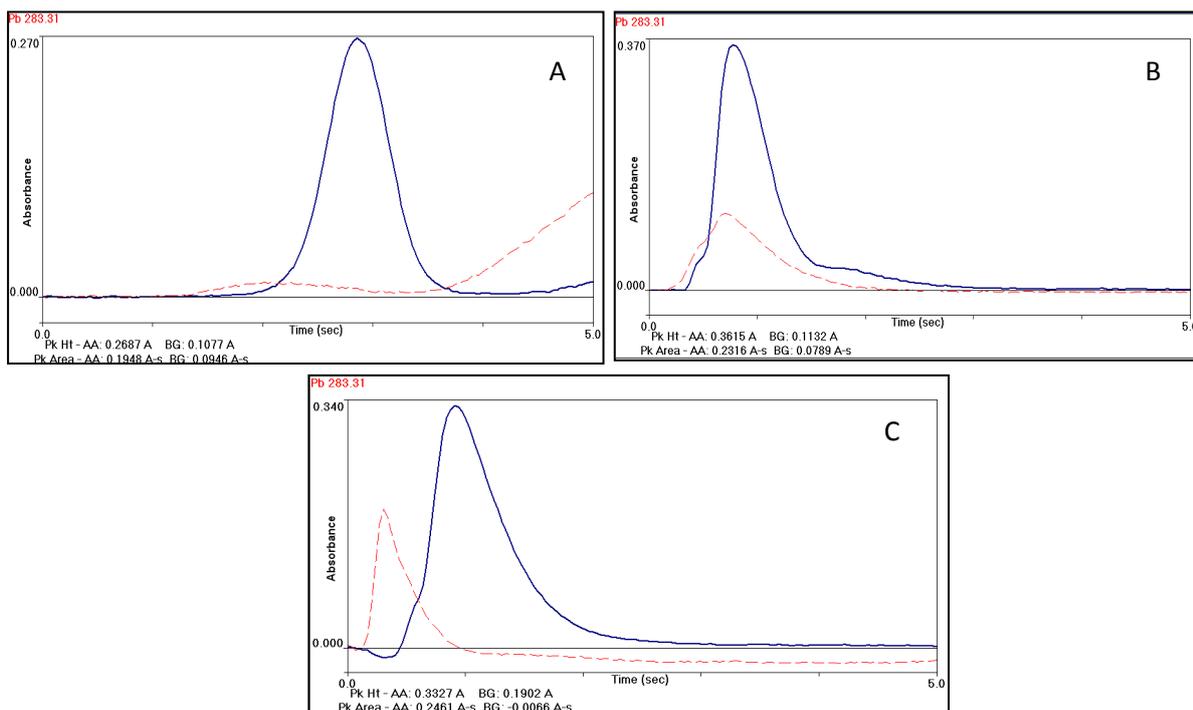


Figura 2.2. Perfis dos sinais analíticos obtidos utilizando Rh como modificador permanente na determinação de Pb em tintura líquida (A), pó (B) e creme (C) por GF AAS.

A Tabela 2.9 apresenta o programa de temperatura usado no GF AAS durante a etapa de otimização dos métodos propostos para determinação de chumbo em amostras de cabelo e tinturas capilares. As letras a, b, c, representam as variáveis avaliadas, sendo correspondentes à temperatura de pirólise, temperatura de atomização e tempo de pirólise, respectivamente.

Tabela 2.9. Programa de temperatura do forno de grafite usado na otimização do método para determinação de Pb em amostras de cabelo e tinturas capilares.

Etapas	Temperatura (°C)	Rampa (s)	Permanência (s)	Fluxo de argônio (mL min ⁻¹)
Secagem	100	5	20	250
Secagem	140	15	15	250
Pirólise	a	10	c	250
Atomização	b	0	5	0
Limpeza	2600	1	5	250
Resfriamento	20	1	10	250

^{a,b,c} Variáveis otimizadas.

Um planejamento fatorial fracionário 2^{4-1} foi empregado para avaliar os efeitos das variáveis sob a determinação de chumbo em cabelo. Foram avaliados tempos de pirólise de 10 e 20 s; temperaturas de pirólise de 750 e 1250 °C; temperaturas de atomização de 1600 e 2000 °C e o uso de 2 µL de paládio como modificador químico em solução (Tabela 2.10). Nióbio foi utilizado como modificador permanente em todo este estudo de otimização. Na tabela 2.10, os valores de absorvância integrada indicados correspondem à média das leituras feitas em triplicata.

Tabela 2.10. Matriz de planejamento fatorial fracionário e absorvâncias obtidas para otimização das variáveis para análise de Pb em cabelo empregando amostragem em suspensão e GF AAS.

Exp	Temperatura de pirólise (°C)	Temperatura de atomização (°C)	Tempo de pirólise (s)	Modificador químico (Pd)	Absorvância integrada (n=3)
1	750	2000	10	com	0,079 ± 0,001
2	750	2000	20	sem	0,074 ± 0,001
3	750	1600	10	sem	0,020 ± 0,009
4	750	1600	20	com	0,064 ± 0,002
5	1250	2000	10	sem	0,075 ± 0,001
6	1250	2000	20	com	0,021 ± 0,001
7	1250	1600	10	com	0,028 ± 0,004
8	1250	1600	20	sem	0,024 ± 0,003

No gráfico de Pareto obtido para chumbo em cabelo (Figura 2.3) pode-se observar que as variáveis correspondentes às temperaturas de pirólise e atomização e uso de modificador químico em solução, juntamente com a interação entre temperatura e tempo de pirólise, apresentaram efeito significativo na absorvância, ao nível de 95% de confiança. O valor negativo (-41,97) para o efeito da temperatura de pirólise indica que o valor de absorvância integrada aumenta em temperaturas de pirólise mais baixas. Temperaturas elevadas podem resultar na volatilização do Pb durante a etapa

de pirólise, reduzindo assim o sinal analítico. O valor positivo da temperatura de atomização (6,32) indica que quando se passa do nível mínimo para o nível máximo deste fator ocorre um aumento na resposta analítica. O efeito positivo para o uso do modificador indica que a adição do modificador químico Pd juntamente com a amostra melhora a sensibilidade do método e por isso, esse modificador será mantido nos próximos estudos. O tempo de pirólise no intervalo estudado não foi estatisticamente significativo, sendo estabelecido um tempo de 10 segundos para os estudos posteriores.

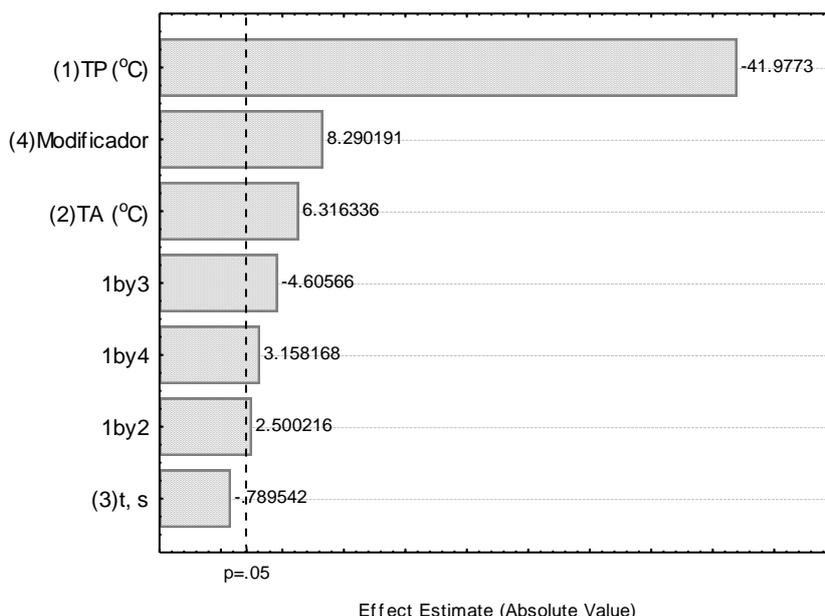


Figura 2.3. Gráfico de Pareto gerado a partir do planejamento fatorial fracionário para determinação de Pb em cabelo.

Analisando os resultados do planejamento fatorial fracionário, observa-se que as temperaturas de pirólise e atomização necessitavam de uma otimização final. Assim um planejamento composto central (CCD) foi empregado, para a se obter um melhor ajuste destas variáveis. Nesse estudo foi utilizado nióbio como modificador permanente, paládio como modificador químico em solução e um tempo de pirólise de 10 segundos. A Tabela 2.11 apresenta a matriz dos experimentos realizados.

A partir dos resultados dos experimentos da matriz do planejamento composto central foi gerada uma superfície de resposta e uma superfície de

contorno (Figura 2.4), descritas pela equação quadrática (2.3). As melhores temperaturas de pirólise e de atomização correspondem ao ponto de máximo da superfície, sendo iguais a 760 e 1760 °C, respectivamente. As temperaturas de pirólise e atomização estabelecidas por Baysal & Akman (2010), pelo método de otimização univariada, para determinação de chumbo em amostras de cabelo por GF AAS, foram de 800 °C para a etapa de pirólise e de 1800 °C para a etapa de atomização, valores considerados próximos aos valores determinados pelo método proposto.

Tabela 2.11. Matriz de experimentos do CCD para otimização do método para determinação de Pb em cabelo empregando amostragem em suspensão e GF AAS.

Exp.	Temperatura de Pirólise (°C)	Temperatura de Atomização (°C)	Absorbância Integrada (n=3)
1	600	1600	0,070 ± 0,005
2	600	2000	0,068 ± 0,003
3	1000	1600	0,053 ± 0,006
4	1000	2000	0,055 ± 0,003
5	517	1800	0,066 ± 0,002
6	1083	1800	0,076 ± 0,001
7	800	1517	0,069 ± 0,002
8	800	2083	0,061 ± 0,003
9	800	1800	0,077 ± 0,002
10	800	1800	0,078 ± 0,001
11	800	1800	0,079 ± 0,003

$$\text{Abs} = 0,60546 + 0,00015 \cdot \text{TP} - 1,28125 \cdot 10^{-7} \cdot \text{TP}^2 + 0,00070 \cdot \text{TA} + 2,03125 \cdot 10^{-7} \cdot \text{TA}^2 + 2,50000 \cdot 10^{-8} \cdot \text{TP} \cdot \text{TA} \quad \text{Eq. (2.3)}$$

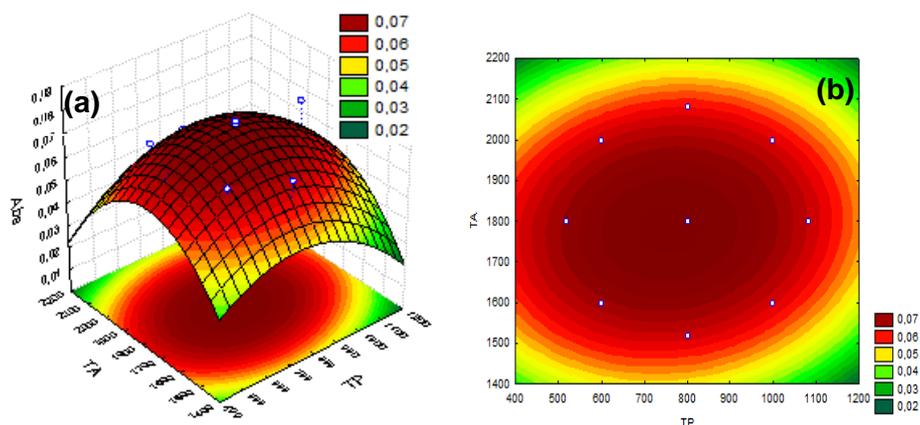


Figura 2.4. Superfície de resposta (a) e superfície de contorno (b) obtidas na otimização final das temperaturas de pirólise (TP) e atomização (TA), para determinação de Pb em cabelo por GF AAS.

As condições ótimas de análises estabelecidas para determinação de chumbo em cabelo empregando amostragem em suspensão e GF AAS são apresentadas na Tabela 2.12.

Tabela 2.12. Condições ótimas de análise para determinação de Pb em cabelo empregando amostragem em suspensão e GF AAS.

Variável Otimizada	Condição ótima
Modificador Permanente	Nb
Modificador Químico	Pd
Tempo de Pirólise	10 s
Temperatura de Pirólise	760 °C
Temperatura de Atomização	1780 °C

O uso de um planejamento fatorial fracionário 2^{4-1} foi também empregado para avaliar os efeitos das variáveis sob a determinação de chumbo em tinturas capilares líquidas, em pó e em creme (Tabelas 2.13 a 2.15). Para realização de tais estudos, as amostras de tinturas não foram fortificadas, como feito para a escolha do modificador. Esse procedimento foi adotado, por que mesmo com o uso das mesmas amostras utilizadas na etapa

anterior, foi constatado que estas apresentavam uma resposta analítica satisfatória para tal propósito. Tempos de pirólise de 10 e 20 s, temperaturas de pirólise de 750 e 1250 °C; temperaturas de atomização de 1600 e 2000 °C e o uso de paládio como modificador químico em solução foram as variáveis avaliadas. Ródio foi utilizado em todos os experimentos como modificador permanente.

Tabela 2.13. Matriz de planejamento fatorial fracionário e absorvâncias obtidas para otimização das variáveis para análise de Pb em tintura capilar líquida empregando amostragem em suspensão e GF AAS.

Exp.	Temperatura de pirólise (°C)	Temperatura de atomização (°C)	Tempo de pirólise (s)	Modificador químico (Pd)	Absorvância integrada (n=3)
1	750	2000	10	com	0,174 ± 0,004
2	750	2000	20	sem	0,125 ± 0,001
3	750	1600	10	sem	0,062 ± 0,001
4	750	1600	20	com	0,148 ± 0,003
5	1250	2000	10	sem	0,160 ± 0,002
6	1250	2000	20	com	0,063 ± 0,002
7	1250	1600	10	com	0,065 ± 0,001
8	1250	1600	20	sem	0,064 ± 0,006

Tabela 2.14. Matriz de planejamento fatorial e absorvâncias obtidas para otimização das variáveis para análise de Pb em tintura capilar em pó empregando amostragem em suspensão e GF AAS.

Exp.	Temperatura de pirólise (°C)	Temperatura de atomização (°C)	Tempo de pirólise (s)	Modificador químico (Pd)	Absorvância integrada (n=3)
1	750	2000	10	com	0,135 ± 0,002
2	750	2000	20	sem	0,065 ± 0,003
3	750	1600	10	sem	0,085 ± 0,003
4	750	1600	20	com	0,103 ± 0,006
5	1250	2000	10	sem	0,013 ± 0,001
6	1250	2000	20	com	0,015 ± 0,001
7	1250	1600	10	com	0,010 ± 0,001
8	1250	1600	20	sem	0,003 ± 0,001

Tabela 2.15. Matriz de planejamento fatorial e absorvâncias obtidas para otimização das variáveis para análise de Pb em tintura capilar creme, empregando amostragem em suspensão e GFAAS.

Exp.	Temperatura de pirólise (°C)	Temperatura de atomização (°C)	Tempo de pirólise (s)	Modificador químico (Pd)	Absorvância integrada (n=3)
1	750	2000	10	com	0,118 ± 0,004
2	750	2000	20	sem	0,113 ± 0,005
3	1250	1600	20	sem	0,012 ± 0,001
4	750	1600	10	sem	0,093 ± 0,002
5	750	1600	20	com	0,115 ± 0,003
6	1250	2000	10	sem	0,020 ± 0,007
7	1250	2000	20	com	0,026 ± 0,001
8	1250	1600	10	com	0,022 ± 0,003

Por meio dos gráficos de Pareto obtidos para as tinturas líquida e em pó (Figuras 2.5 e 2.6), observa-se que os efeitos do uso de modificador químico, temperatura e tempo de pirólise e suas interações, juntamente com a interação

entre temperatura de pirólise e atomização, foram significativos ao nível de 95% de confiança. Os gráficos de Pareto indicam também que a redução da temperatura de pirólise produz um aumento no valor da resposta analítica, tanto para as amostras líquidas quanto para as amostras em pó. Quanto ao tempo de pirólise, seu aumento produz uma diminuição da resposta analítica para tinturas líquidas e em pó. A temperatura de atomização não apresentou um efeito significativo, ao contrário do uso de Pd como modificador, que possibilitou um aumento da resposta analítica, para ambas as amostras. Portanto, uma temperatura de atomização de 1800 °C e Pd como modificador químico, foram empregados ao longo dos estudos posteriores.

Com relação ao planejamento fatorial empregado para tintura creme, observa-se através do gráfico (Figura 2.7), que foram significativos os efeitos das variáveis correspondentes ao uso de modificador químico, temperaturas de pirólise e atomização e a interação entre temperatura e tempo de pirólise. Pode-se verificar que o aumento da temperatura de atomização, a diminuição da temperatura de pirólise e o uso de Pd como modificador, proporcionam um aumento da absorvância integrada.

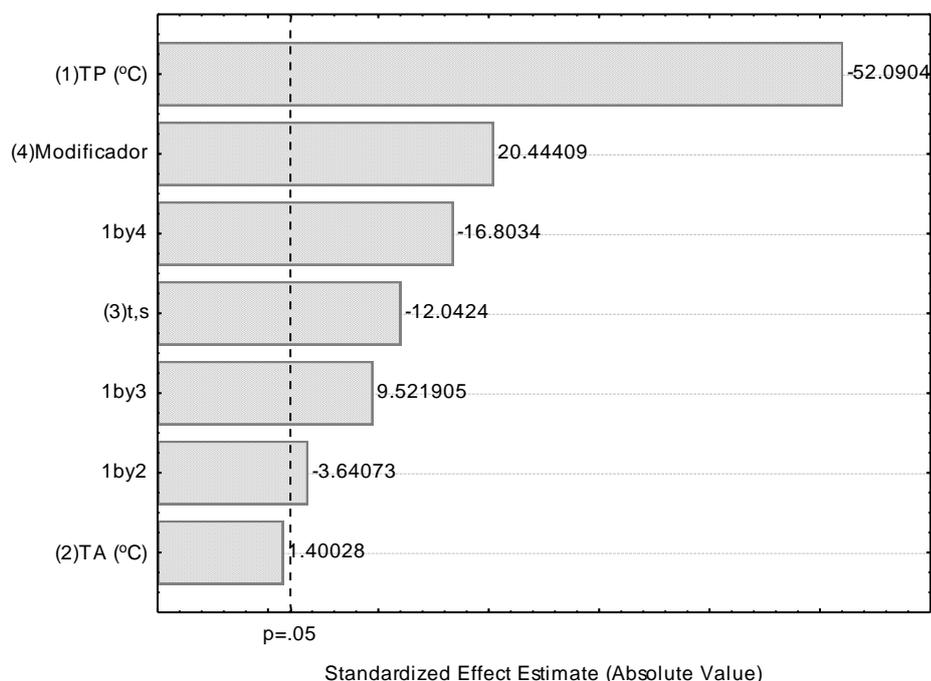


Figura 2.5. Gráfico de Pareto gerado a partir do planejamento fatorial (2^{4-1}) para determinação de Pb em tintura líquida.

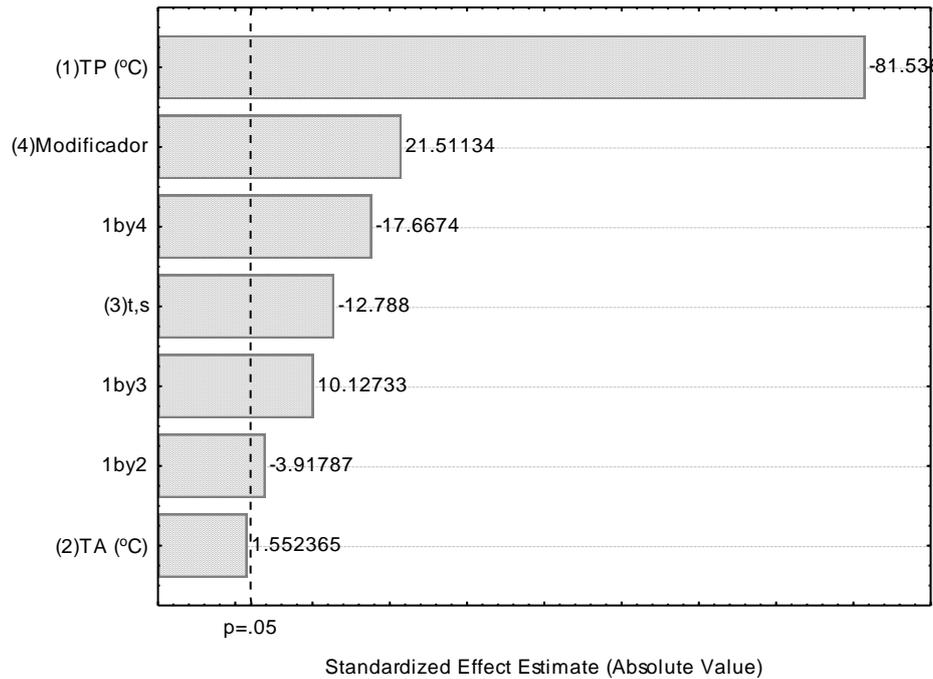


Figura 2.6. Gráfico de Pareto gerado a partir do planejamento fatorial (2^{4-1}) para determinação de Pb em tintura em pó.

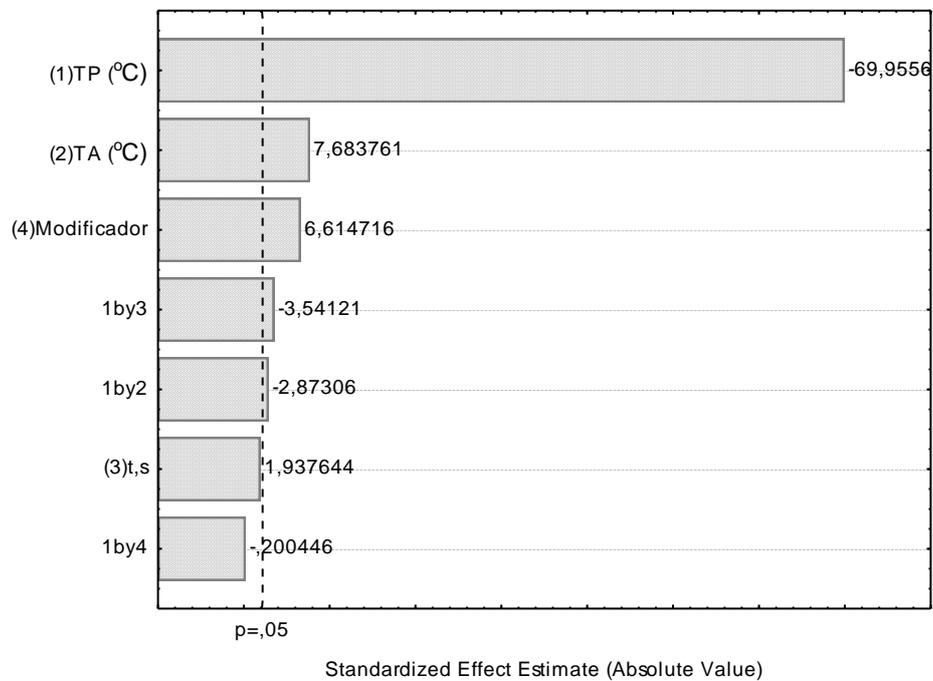


Figura 2.7. Gráfico de Pareto gerado a partir do planejamento fatorial (2^{4-1}) para determinação de Pb em tintura creme.

Com o objetivo de alcançar as condições ótimas para determinação de chumbo em tinturas capilares pelo método proposto foi empregado o planejamento composto central para as matrizes de tinturas líquidas, em pó e em creme. Sendo utilizado 2,0 µL de paládio como modificador químico em solução e ródio como modificador permanente, nas análises de ambas as matrizes.

Para as tinturas em pó e líquida a temperatura de atomização foi fixada em 1800 °C e um planejamento composto central (CCD) foi utilizado, de forma a se obter um melhor ajuste das variáveis correspondentes à temperatura e tempo de pirólise (Tabelas 2.16 e 12.17).

Tabela 2.16. Matriz de experimentos e absorvâncias obtidas do planejamento composto central (CCD) para otimização das variáveis significativas na análise de Pb em tintura líquida empregando amostragem em suspensão e GFAAS.

Exp.	Temperatura de Pirólise (°C)	Tempo de Pirólise (s)	Absorvância Integrada (n=3)
1	600	10	0,167 ± 0,004
2	600	30	0,163 ± 0,005
3	1000	10	0,175 ± 0,002
4	1000	30	0,166 ± 0,005
5	517	20	0,165 ± 0,001
6	1083	20	0,148 ± 0,006
7	800	6	0,169 ± 0,002
8	800	34	0,182 ± 0,003
9	800	20	0,189 ± 0,002
10	800	20	0,188 ± 0,003
11	800	20	0,187 ± 0,002

Tabela 2.17. Matriz de experimentos e absorvâncias obtidas do planejamento composto central (CCD) para otimização das variáveis significativas na análise de Pb em tintura em pó empregando amostragem em suspensão e GFAAS.

Exp.	Temperatura de Pirólise (°C)	Tempo de Pirólise (s)	Absorvância Integrada (n=3)
1	600	10	0,095 ± 0,003
2	600	30	0,093 ± 0,003
3	1000	10	0,075 ± 0,002
4	1000	30	0,060 ± 0,003
5	517	20	0,108 ± 0,005
6	1083	20	0,041 ± 0,006
7	800	6	0,121 ± 0,002
8	800	34	0,129 ± 0,001
9	800	20	0,139 ± 0,002
10	800	20	0,139 ± 0,001
11	800	20	0,141 ± 0,003

Através das superfícies de resposta e de contorno obtidas para as tinturas líquidas e em pó (Figuras 2.8 e 2.9, respectivamente) um tempo de pirólise ideal foi estabelecido em 20 segundos para ambas as matrizes e as temperaturas de pirólise fixadas em 790 °C para tintura líquida e 750 °C para tintura em pó. As superfícies geradas são descritas pelas equações quadráticas 2.4 e 2.5.

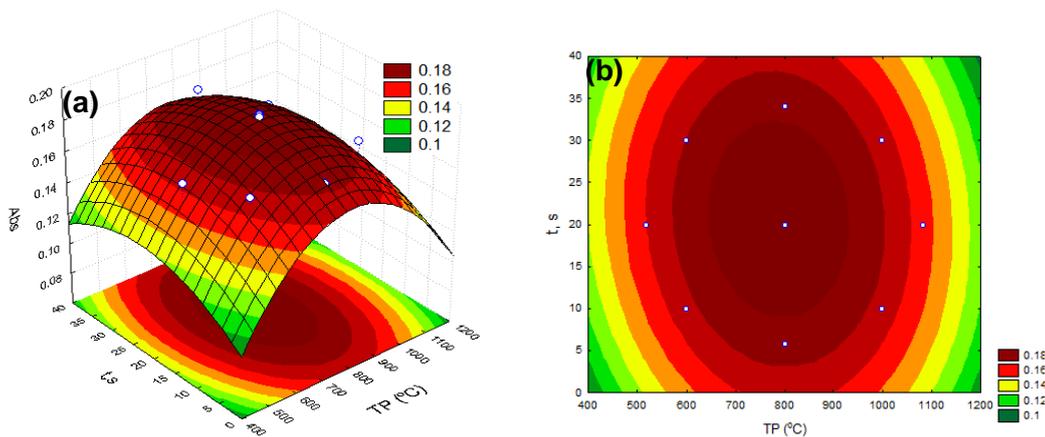


Figura 2.8. Superfície de resposta (a) e superfície de contorno (b) obtidas na otimização final da temperatura de pirólise (TP) e tempo de pirólise (t), para determinação de Pb em tintura líquida por GF AAS.

$$\text{Abs} = -0,0851 + 0,00061 \cdot \text{TP} - 3,8281 \cdot 10^{-7} \cdot \text{TP}^2 + 0,0029 \cdot t - 5,8125 \cdot 10^{-5} \cdot t^2 - 6,2500 \cdot 10^{-7} \cdot \text{TP} \cdot t \quad (\text{Eq. 2.4})$$

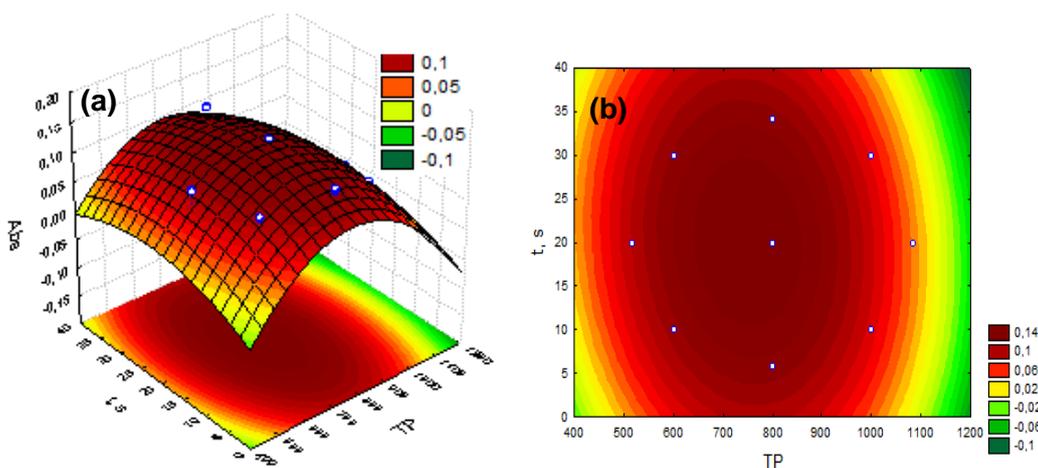


Figura 2.9. Superfície de resposta (a) e superfície de contorno (b) obtidas na otimização final da temperatura de pirólise (TP) e tempo de pirólise (t), para determinação de Pb em tintura em pó por GF AAS.

$$\text{Abs} = 0,4503 + 0,0014 \cdot \text{TP} - 9,2396 \cdot 10^{-7} \cdot \text{TP}^2 + 0,0059 \cdot t - 0,0002 \cdot t^2 - 1,6667 \cdot 10^{-7} \cdot \text{TP} \cdot t \quad \text{Eq. (2.5)}$$

Para tintura creme, o tempo de pirólise foi fixado em 10 segundos e um planejamento composto central foi empregado para determinação das temperaturas ótimas de pirólise e atomização (Tabela 2.18).

Tabela 2.18. Matriz de experimentos e absorvâncias obtidas no planejamento composto central (CCD) para otimização das variáveis significativas na análise de Pb em tintura creme empregando amostragem em suspensão e GF AAS.

Exp.	Temperatura de Pirólise (°C)	Temperatura de Atomização (°C)	Absorvância Integrada (n=3)
1	600	1600	0,105 ± 0,005
2	600	2000	0,103 ± 0,003
3	1000	1600	0,090 ± 0,006
4	1000	2000	0,070 ± 0,003
5	517	1800	0,120 ± 0,002
6	1083	1800	0,050 ± 0,001
7	800	1517	0,130 ± 0,002
8	800	2083	0,140 ± 0,003
9	800	1800	0,150 ± 0,002
10	800	1800	0,151 ± 0,001
11	800	1800	0,153 ± 0,003

Uma superfície de resposta e uma superfície de contorno (Figura 2.10), foram geradas a partir dos resultados dos experimentos da matriz do planejamento composto central, sendo descritas pela equação quadrática (2.6). A análise das superfícies indicou que as temperaturas ideais foram de 745 °C para a etapa de pirólise e 1800 °C para a etapa de atomização.

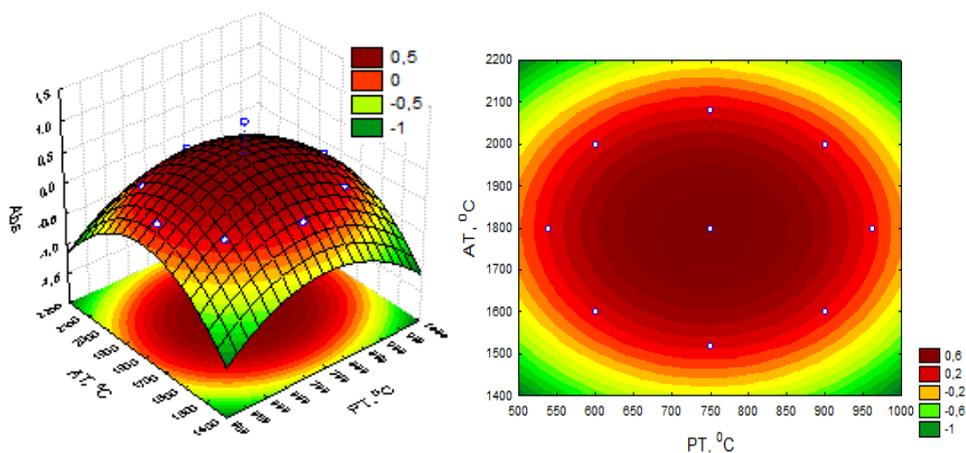


Figura 2.10. Superfície de resposta (a) e superfície de contorno (b) obtidas na otimização final das temperaturas de pirólise (TP) e atomização (TA), para determinação de Pb em tintura creme por GF AAS.

$$\text{Abs} = 0,2788 + 0,0193 \cdot \text{TP} - 1,2799 \cdot 10^{-5} \cdot \text{TP}^2 + 0,0237 \cdot \text{TA} - 6,5687 \cdot 10^{-6} \cdot \text{TA}^2 - 1,0833 \cdot 10^{-7} \cdot \text{TP} \cdot \text{TA} \quad \text{Eq. (2.6)}$$

As condições de análise otimizadas para as amostras de tinturas capilares líquidas, em pó e em creme são apresentadas na Tabela 2.19. As temperaturas de pirólise e atomização estabelecidas para as tinturas líquidas, em pó e em creme foram bem próximas àquelas estabelecidas para determinação de chumbo em cabelo, pelo método em desenvolvimento, as quais foram de 760 °C para a etapa de pirólise e de 1780 °C para a etapa de atomização.

Tabela 2.19. Condições ótimas de análise para determinação de Pb em tinturas capilares empregando amostragem em suspensão e GF AAS.

Variável Otimizada	Tintura Líquida	Tintura em Pó	Tintura Creme
Modificador Permanente	Rh	Rh	Rh
Modificador Químico	Pd	Pd	Pd
Tempo de Pirólise	20 s	20 s	10 s
Temperatura de Pirólise	790 °C	750 °C	745 °C
Temperatura de Atomização	1800 °C	1800 °C	1800 °C

2.4.2. Validação dos métodos desenvolvidos

2.4.2.1. Linearidade e Efeito de matriz

A linearidade dos métodos propostos para determinação de chumbo em cabelo e tintura foi avaliada na faixa de 0,0 a 50,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, uma vez que é a faixa que se pretende trabalhar. As curvas de calibração por padrões externos e por ajuste de matriz, para as matrizes em estudo, apresentaram uma linearidade satisfatória na faixa de trabalho escolhida, com coeficiente de determinação (R^2) superior a 0,99 (Tabela 2.20).

Tabela 2.20. Equações das retas de regressão linear e coeficiente de determinação (R^2) das curvas de calibração empregando calibração aquosa e por ajuste de matriz para as amostras de cabelo e tinturas capilares.

Amostra	Curva Aquosa	R^2	Ajuste de Matriz	R^2
Cabelo	$y = 0,0068x + 0,0072$	0,9991	$y = 0,0069x + 0,0096$	0,9990
Tintura Líquida	$y = 0,0078x + 0,0076$	0,9991	$y = 0,0079x + 0,0119$	0,9987
Tintura em Pó	$y = 0,0080x + 0,0093$	0,9968	$y = 0,0083x + 0,0118$	0,9984
Tintura Creme	$y = 0,0078x + 0,0053$	0,9989	$y = 0,0080x + 0,0093$	0,9992

O efeito de matriz foi avaliado por meio da comparação das inclinações e dos interceptos obtidos para as curvas de calibração por padrões externos com aqueles obtidos para as curvas construídas por ajuste de matriz para as amostras de cabelo e tinturas. A Figura 2.11 mostra a comparação entre as duas curvas de calibração. No estudo do efeito de matriz, aplicou-se o teste F (*Snedecor*) de homogeneidade de variâncias e o teste t (*Student*) de comparação de médias (Tabela 2.21).

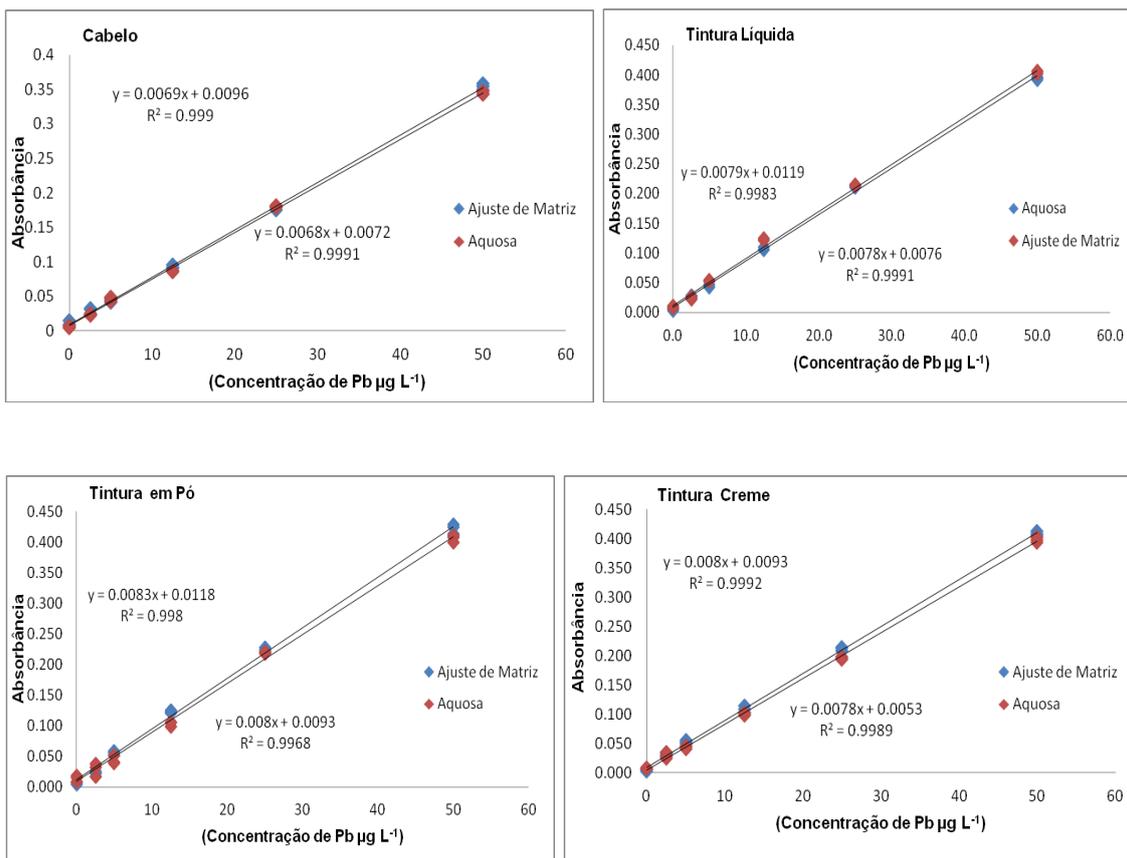


Figura 2.11. Curvas de calibração em meio aquoso e por ajuste de matriz, para determinação de Pb em cabelo e tinturas por GF AAS.

Tabela 2.21. Valores dos parâmetros t e F para as curvas analíticas obtidas no estudo do efeito de matriz.

Amostra	F _{calculado}	t _a (Inclinação)	t _b (Intercepto)
Cabelo	1,06 (F _{crítico} = 2,46)	1,27 (t _{crítico} = 2,04)	1,20 (t _{crítico} = 2,04)
Tintura Líquida	1,93 (F _{crítico} = 2,55)	1,88 (t _{crítico} = 2,04)	1,63 (t _{crítico} = 2,04)
Tintura em Pó	1,31 (F _{crítico} = 2,51)	1,89 (t _{crítico} = 2,04)	1,07 (t _{crítico} = 2,04)
Tintura Creme	1,25 (F _{crítico} = 2,35)	1,96 (t _{crítico} = 2,04)	1,91 (t _{crítico} = 2,04)

Os valores dos parâmetros t e F calculados indicaram que não houve diferença significativa entre as inclinações das curvas de calibração obtidas, por calibração em HNO₃ 2,5% v/v e H₂O₂ 1,5% v/v e por ajuste de matriz, ao nível de confiança de 95%. Assim, curvas de calibração em HNO₃ 2,5% v/v e H₂O₂ 1,5% v/v foram empregadas para determinação de Pb nas amostras de

cabelo e tinturas capilares. O fato de não se observar efeito de matriz indica que a etapa de pirólise foi eficiente para eliminação da matriz, possibilitando assim a calibração por padrões externos.

2.4.2.2. Limites de detecção e quantificação

Para determinação dos limites de detecção e quantificação 10 brancos analíticos independentes foram analisados pelo método proposto, sob as condições ótimas de análise, previamente estabelecidas. Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram determinados como descrito no item 2.3.7.3. e os valores obtidos são apresentados na Tabela 2.22.

Tabela 2.22. Limites de detecção e quantificação para as amostras de cabelo e tinturas capilares obtidos pelos métodos otimizados.

Amostra	Limite de Detecção	Limite de Quantificação
Cabelo	5,13 $\mu\text{g kg}^{-1}$	17,1 $\mu\text{g kg}^{-1}$
Tintura líquida	0,33 $\mu\text{g L}^{-1}$	1,11 $\mu\text{g L}^{-1}$
Tintura em Pó	13,3 $\mu\text{g kg}^{-1}$	44,3 $\mu\text{g kg}^{-1}$
Tintura Creme	8,32 $\mu\text{g kg}^{-1}$	27,7 $\mu\text{g kg}^{-1}$

Em um estudo realizado por Bermejo-Barrera e colaboradores (1996) para determinação do teor de chumbo em amostras de cabelo empregando amostragem em suspensão e GF AAS, os limites de detecção e quantificação foram da ordem de 270 e 970 $\mu\text{g kg}^{-1}$, respectivamente, sendo bem maiores que os valores estabelecidos pelo método proposto. Com relação aos limites de detecção e quantificação para as amostras de tintura, pode-se constatar que os valores foram bem inferiores à 20 mg kg^{-1} , valor estabelecido pelas legislações vigentes como limite máximo de chumbo em corantes usados na composição de tinturas (ANVISA, 2000; US FDA, 2002a).

A detectabilidade dos métodos foi também avaliada pelos valores obtidos para a massa característica (m_0), que corresponde à quantidade de analito capaz de absorver 1% da radiação incidente (absorbância integrada = 0,0044) (Tabela 2.23). A massa característica determinada para cada método foi bem próxima ao valor recomendado (9,0 pg), conferindo uma sensibilidade adequada aos métodos propostos.

Tabela 2.23. Massas caracterísiticas para as determinações de chumbo nas amostras de cabelo e tinturas capilares.

Amostra	Massa característica (m_0) (pg)
Cabelo	8,55
Tintura líquida	8,30
Tintura em Pó	11,0
Tintura Creme	10,1

2.4.2.3. Precisão

A precisão do método proposto em termos de repetitividade e precisão intermediária foi expressa por coeficientes de variação.(Tabela 2.24). Para determinação da precisão intermediária, 7 replicatas de cada matriz fortificadas em três níveis de concentração, foram analisadas pelo mesmo analista, no mesmo equipamento, sob as mesmas condições de uso, em diferentes dias (1 dia, 1 semana e 1 mês).

Tabela 2.24. Repetitividade e precisão intermediária obtidas pelos métodos propostos em três níveis de concentração para as matrizes de cabelo e tinturas capilares.

Matriz	Níveis de Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Repetitividade (CV %)	Precisão Intermediária (CV %)
Cabelo	2,0	1,6	3,6
	10	2,5	4,3
	20	2,3	2,8
Tintura Líquida	2,0	3,7	4,7
	10	2,9	4,2
	20	1,8	3,3
Tintura em Pó	2,0	2,9	4,5
	10	3,2	4,9
	20	1,8	3,9
Tintura Creme	2,0	3,7	4,4
	10	4,1	4,7
	20	3,1	3,9

De acordo com Ribani e colaboradores, em métodos de análise de traços ou impurezas, são aceitos coeficientes de variação de até 20%, dependendo da complexidade da amostra (Ribani *et al.*, 2004). Portanto, como os coeficientes de variação determinados foram inferiores a 5%, pode-se afirmar que os métodos propostos para determinação de Pb em cabelo e em tinturas capilares, são precisos, apresentando repetitividade e precisão intermediária adequadas.

2.4.2.4. Veracidade

A veracidade do método de amostragem em suspensão e GF AAS para determinação de chumbo em cabelo foi avaliada mediante análise em triplicata de material de referência certificado (BCR 397) para cabelo humano. O teste de hipóteses foi aplicado para avaliar a diferença entre o valor obtido e o valor certificado (Tabela 2.25), obtendo-se um valor de $t_{\text{calculado}}$ igual a 0,96. Como o valor de t_{tabelado} (0,05; 2) é igual a 4,30, pode-se concluir que os resultados são

significativamente iguais ao nível de 95% de confiança. Dessa forma, o método proposto para determinação de chumbo em amostras de cabelo humano apresenta exatidão adequada.

Tabela 2.25. Avaliação da exatidão do método, mediante emprego de material de referência certificado (BCR 397) para cabelo humano.

Valor certificado (mg kg ⁻¹)	Valor obtido (mg kg ⁻¹)	t _{calculado}
33,0 ± 1,2	35,0 ± 3,0	0,943

Para as amostras de tinturas capilares, a exatidão do método de amostragem em suspensão e determinação por GF AAS foi avaliada por comparação do método proposto com um método de referência (decomposição ácida assistida por radiação micro-ondas) e por ensaios de adição e recuperação. Os digeridos obtidos pelo método de referência foram analisados sob as mesmas condições analíticas otimizadas para as análises em suspensões, empregando calibração em HNO₃ 2,5% v/v e H₂O₂ 1,5% v/v para a quantificação do analito.

Os resultados obtidos pelos dois métodos são apresentados na Tabela 2.26. A comparação do método proposto com o método de referência foi realizada mediante aplicação de testes estatísticos (teste F e teste t de student) e os valores dos parâmetros t e F calculados indicaram que os resultados obtidos pelos dois métodos são significativamente iguais ao nível de 95% de confiança.

Tabela 2.26. Comparação entre o método proposto com o método de referência na determinação de Pb em amostras de tinturas.

Amostras	Suspensão	Digestão	Teste F**	Teste t***
	Concentração de Pb ($\mu\text{g kg}^{-1}$), n=3	Concentração de Pb ($\mu\text{g kg}^{-1}$), n=3		
Líquida	14 \pm 1*	15 \pm 2*	2,45	2,33
Pó	91 \pm 0,9	93 \pm 1	1,62	2,12
Creme	140 \pm 3	138 \pm 4	1,78	0,69

*Concentrações em $\mu\text{g L}^{-1}$

**F_{crítico} = 19,0

***t_{crítico} = 2,78

Quanto aos ensaios de adição e recuperação, pode-se concluir pelos resultados obtidos (Tabela 2.27) que a exatidão do método proposto se mostrou adequada. Todas as recuperações ficaram entre 80 e 120%, o que é aceitável segundo Ribani *et al.*, (2004).

Tabela 2.27. Recuperações (%) obtidas para Pb na avaliação da exatidão do método proposto para tinturas líquidas, em pó e creme.

Concentração adicionada na suspensão ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Tintura Líquida (%), n=3)	Tintura em Pó (%), n=3)	Tintura Creme (%), n=3)
2,00	101 \pm 11	108 \pm 2	102 \pm 7
10,0	85 \pm 4	90 \pm 3	103 \pm 3
20,0	107 \pm 3	93 \pm 2	105 \pm 2

2.4.3. Quantificação de chumbo nas amostras de cabelo e tinturas capilares

2.4.3.1. Amostras de cabelo

Como discutido anteriormente, para a quantificação do analito de interesse nas amostras de cabelo disponíveis, foi utilizada a curva de calibração por padrões externos e as análises foram realizadas sob as condições ótimas previamente estabelecidas. A Tabela 2.28 apresenta os resultados obtidos para a concentração de chumbo nas amostras de cabelos de usuários e não usuários de tintura capilar. Ao todo foram 10 amostras de não-usuários e 9 de usuários.

Tabela 2.28. Concentração de chumbo nas amostras de cabelos.

	Amostra	Concentração ($\mu\text{g kg}^{-1}$) n= 3
Não-usuário	1	290,0 \pm 0,4
	2	430,0 \pm 0,3
	3	850,0 \pm 0,1
	4	900,0 \pm 0,3
	5	1002,0 \pm 0,5
	6	1005,0 \pm 0,1
	7	1380,0 \pm 1,0
	8	1440,0 \pm 0,3
	9	1650,0 \pm 1,0
	10	1930,0 \pm 0,7
Usuário	11	2630,0 \pm 2,0
	12	3220,0 \pm 0,1
	13	3570,0 \pm 0,9
	14	3760,0 \pm 0,6
	15	3810,0 \pm 0,9
	16	4140,0 \pm 0,4
	17	4820,0 \pm 0,2
	18	4088,0 \pm 3,0
	19	7220,0 \pm 0,8

As concentrações de Pb nas amostras de cabelo variaram em uma ampla faixa de concentrações, mas ainda assim é possível observar claramente uma diferença nas concentrações de chumbo obtidas nas amostras de cabelo das pessoas que utilizam tintura capilar em relação à concentração de chumbo presente nos cabelos dos não usuários de tais produtos. Para os não usuários, as concentrações variaram de 290,0 a 1930 $\mu\text{g kg}^{-1}$, com média de $1087,7 \pm 517,5 \mu\text{g kg}^{-1}$. Já para os usuários as concentrações variaram de 2630 a 7220 $\mu\text{g kg}^{-1}$ com média de $4139,8 \pm 1306,5 \mu\text{g kg}^{-1}$. Essa diferença entre os grupos, dá indícios de que o uso de tinturas pode contribuir para o aumento da concentração de Pb nos cabelos. Baysal *et al* (2010) encontraram valores de 710 a 4600 $\mu\text{g kg}^{-1}$ para a concentração de chumbo nas amostras de cabelo analisadas. Já os em um estudo realizado para avaliação do teor de chumbo em amostras de cabelo de pessoas expostas ocupacionalmente ao metal, os valores variaram de 2003 a 35500 $\mu\text{g kg}^{-1}$, sendo bem mais elevados que os valores determinados pelo método proposto (Bermejo-Barrera *et al.*, 1996).

2.4.3.2. Amostras de Tinturas

As concentrações de chumbo nas amostras de tinturas foram determinadas usando as condições experimentais previamente otimizadas e descritas anteriormente. Os resultados são apresentados na Tabela 2.27. Foram analisadas amostras de marcas diferentes e cores diferentes, sendo 9 amostras de tinturas em creme, 6 em pó e 5 líquidas. Nenhuma das amostras analisadas informava no rótulo o uso de acetato de chumbo na formulação, portanto, as concentrações encontradas referem-se à contaminantes nos corantes utilizados.

A concentração de chumbo variou de 0,97 a 11,3 $\mu\text{g L}^{-1}$ para tinturas líquidas, de 9,29 a 100,1 $\mu\text{g kg}^{-1}$ para tinturas em pó e de 24,3 a 238,1 $\mu\text{g kg}^{-1}$ para tinturas creme (Tabela 2.29). Foi verificada uma maior concentração de chumbo em tinturas creme de cores escuras. Vale ressaltar que dentro do

mesma marca de tintura, todas as cores escuras apresentaram concentrações mais elevadas de Pb.

Tabela 2.29. Concentração de chumbo nas amostras de tinturas.

Amostras De Tintura	Concentração de Pb ($\mu\text{g L}^{-1}$), n=3	Concentração de Pb ($\mu\text{g kg}^{-1}$), n=3
Creme A*	1,9 \pm 0,1	24 \pm 1
Creme B*	2,3 \pm 0,1	29 \pm 1
Creme C**	5,14 \pm 0,06	63,2 \pm 0,8
Creme D**	5,53 \pm 0,06	65,1 \pm 0,7
Creme E**	7,4 \pm 0,2	92 \pm 2
Creme F**	9,11 \pm 0,06	112 \pm 1
Creme G**	13,2 \pm 0,2	165 \pm 2
Creme H**	14,4 \pm 0,1	178 \pm 2
Creme I**	19,1 \pm 0,2	238 \pm 2
Pó A*	1,4 \pm 0,1	14 \pm 2
Pó B*	1,49 \pm 0,09	14,2 \pm 0,8
Pó C**	2,51 \pm 0,04	24 \pm 2
Pó D**	4,32 \pm 0,04	42,6 \pm 0,4
Pó E**	6,60 \pm 0,04	64 \pm 1
Pó F**	10,1 \pm 0,1	100 \pm 2
Líquida A*	1,0 \pm 0,5	
Líquida B*	1,9 \pm 0,5	
Líquida C**	3,8 \pm 0,1	
Líquida D**	7,1 \pm 0,5	
Líquida E**	10,10 \pm 0,03	
Líquida F**	11,30 \pm 0,09	

* Cor clara

**Cor escura

Apesar de o teor de Pb encontrado nas amostras de tinturas capilares não ser elevado, tal fato não deve ser negligenciado. Como verificado nos estudos para determinação de Pb em amostras de cabelo, existe indícios de que o uso de tinturas pode contribuir para o aumento da concentração do metal

nos cabelos. Como os efeitos do chumbo no organismo são cumulativos, sua presença em tinturas capilares pode representar riscos à saúde dos usuários. Segundo descrito no trabalho publicado por Sainio e colaboradores (2000), o chumbo presente em produtos cosméticos pode ser parcialmente absorvido pela pele e tecido capilar, principalmente se o cosmético for formulado sob a forma pastosa ou líquida. A toxicidade decorrente da exposição ao elemento já é bem conhecida, podendo provocar danos ao sistema renal e nervoso central, perda de memória, entre outros (Ahamed *et al.*, 2007).

2.5. CONCLUSÕES

Nesse trabalho foram otimizados e validados métodos empregando amostragem em suspensão e espectrometria de absorção atômica em forno de grafite para determinação de chumbo em amostras de cabelo e tinturas capilares.

Condições ideais de análise como modificadores permanentes, temperaturas de pirólise e atomização, tempos de pirólise e modificador químico em solução, foram avaliadas no sentido de alcançar uma maior eficiência analítica. O método de amostragem em suspensão com posterior determinação por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite mostrou-se rápido e simples para análise de chumbo em amostras de cabelo e tinturas capilares, possibilitando a obtenção de resultados satisfatórios que tornaram possível a validação do método proposto.

Os parâmetros analíticos obtidos comprovaram a viabilidade do método tanto para a determinação de chumbo em amostras de cabelo como para determinação deste analito em tinturas capilares. Pode-se verificar pelos resultados, que maiores concentrações de chumbo foram encontradas nas amostras de cabelo de usuários de tintura capilar, o que indica uma contribuição destes produtos para o aumento da concentração de Pb nos cabelos.

Nas análises das tinturas, verificou-se que apesar deste metal ou seus sais não serem utilizados como constituintes das tinturas, o Pb se encontra presente como contaminante e sua concentração é dependente principalmente do tipo de tintura (líquida, creme ou pó) e da cor, o que deve estar relacionada com os corantes utilizados na fabricação. Infelizmente, tanto no Brasil como no exterior, não existe uma legislação específica quanto à presença de chumbo em tinturas capilares, o que faz com que a maioria das pessoas ainda utilize produtos com total desconhecimento da composição real destes e dos possíveis efeitos nocivos que podem provocar.

REFERÊNCIAS

Ahamed, M.; Kaleem, M.; Siddiqui, K. J. Environmental lead toxicity and nutritional factors. **Clinical Nutrition** 26 (2007) 400–408.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA); Resolução nº 899 de 29/05/03 – **Guia para Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos**.

Ajtony, Z.; Szoboszlai, N.; Bella, Z.; Bolla, S.; Szakal, P.; Bencs, L. Determination of total selenium content in cereals and bakery products by flow injection hydride generation graphite furnace atomic absorption spectrometry applying in situ trapping on iridium-treated graphite platforms. **Microchimica Acta** 150 (2005) 1–8.

Baysal, A.; Akman, S. Determination of lead in hair and its segmental analysis by solid sampling electrothermal atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B** 65 (2010) 340–344.

Brandão, G.C.; Jesus, R. M.; Silva, E. G. P.; Ferreira, S. L. C. Use of slurry sampling for the direct determination of zinc in yogurt by high resolution-continuum source flame atomic absorption spectrometry. **Talanta** 81 (2010) 1357 – 1359.

He, K.; Wang, S.; Zhang, J. Blood lead levels of children and its trend in China. **Science of the Total Environment** 407 (2009) 3986–3993.

Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial; Vocabulário internacional de termos fundamentais e gerais de metrologia (VIM), 3ª ed., Portaria INMETRO 029 de 1995: Rio de Janeiro, 2003.

Instituto Nacional de Metrologia. Normatização e Qualidade Industrial (INMETRO); **Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaios Químicos**; DOQ-CGCRE-008, Revisão: 02 de junho de 2007.

International Atomic Energy Agency (IAEA). **Reference methods for marine pollution studies**. Vienna: International Atomic Energy Agency; 1987.

Kirkland, D. J.; Henderson, L.; Marzin, D.; Muller, L.; Parry, J. M. Testing strategies in mutagenicity and genetic toxicology: An appraisal of the guidelines of the European Scientific Committee for Cosmetics and Non-Food Products for the evaluation of hair dyes. **Mutation Research** 588 (2005) 88–105.

Koirtjohann, S.; Kaiser, Ml. Furnace atomic absorption – a method approaching maturity. **Analytical Chemistry** 54 (1982) 1515A-1524.

Lanças, F. M. **Validação de métodos cromatográficos de análise**. Editora Rima, São Carlos, SP, 2004.

Lima, E. C.; Krug, F. J.; Ferreira, A. T.; Barbosa, J. R. F. Tungsten-rhodium permanent chemical modifier for cadmium determination in fish slurries by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry** 14 (1999) 269 – 274.

Meyer, P.A.; Brown, M. J.; Falk, H. Global approach to reducing lead exposure and poisoning. **Mutation Research** 659 (2008) 166–175.

Moreira, F. R.; Moreira, J. C. A importância da análise de especiação do chumbo em plasma para a avaliação dos riscos à saúde. **Química Nova** 27 (2004) 251-260.

Olmedo, P.; Pla, A.; Hernández, A. F.; López-Guarnido, O.; Rodrigo, L.; Gil, F. Validation of a method to quantify chromium, cadmium, manganese, nickel and lead in human whole blood, urine, saliva and hair samples by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta** 659 (2010) 60–67.

Ribani, M.; Bottoli, C. B. G.; Collins, C. H.; Jardim, I. C. S. F.; Melo, L. F. C.; Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova** 27 (2004) 771.

Sainio, E. L.; Engström, K.; Henriks-Eckerman, M. L.; Kanerva, L. Allergenic ingredients in nail polishes. **Contact Dermatitis** 1997; 37: 155-62.

Santos, E. E.; Lauria, D. C.; Porto DA Silveira, C. L.; Assessment of daily intake of trace elements due to consumption of foodstuffs by adult inhabitants of Rio de Janeiro city. **The Science of Total Environment** (2004) 327, p. 69-79.

Santos, L. M. G.; Gonçalves, J. M.; Jacob, S. C. Determinação simultânea de as, cd e pb em amostras de água purificada para hemodiálise por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite, após otimização multivariada baseada no uso de planejamento experimental. **Química Nova** 31 (2008) 975-979.

Shi, G.; Chen, Z.; Bi, C.; Li, I.; Teng, J.; Wang, L.; Xu, S. Comprehensive assessment of toxic metals in urban and suburban street deposited sediments (SDSs) in the biggest metropolitan area of China. **Environmental Pollution** 158 (2010) 694–703.

Silva, E. L.; Roldan, P. S.; Simultaneous flow injection preconcentration of lead and cadmium using cloud point extraction and determination by atomic absorption spectrometry. **Journal of Hazardous Materials** 161 (2009) 142–147.

Silva, J. B. B.; Silva, M. A. M.; Curtius, A. J.; Welz, B. Determination of Ag, Pb and Sn in aqua regia extracts from sediments by electrothermal atomic absorption spectrometry using Ru as a permanent modifier. **Journal Analytical Atomic Spectrometry** 14 (1999)1737 – 1742.

Thompson, M.; Ellison, S. L. R.; Wood, R.; Harmonized guidelines for single laboratory validation of methods of analysis. **Pure and Applied Chemistry** 74 (5) (2002), 835 - 855.

Zhou, Y.; Parsons, P. J.; Aldous, K. M.; Brockman, P.; Slavin, W. Rhodium as permanent modifier for atomization of lead from biological fluids using tungsten filament electrothermal atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B** 57 (2002) 727–740.

**CAPÍTULO 3 - DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS PARA
DETERMINAÇÃO DE CHUMBO EM PRODUTOS PARA
MAQUIAGEM: BATOM E SOMBRA**

3.1. INTRODUÇÃO

A indústria de cosméticos é hoje um dos setores industriais que mais cresce no Brasil e no mundo. Os produtos para maquiagem, que prometem realçar a beleza feminina, estão cada vez mais modernos e sofisticados. Porém, apesar de todo investimento para aperfeiçoar as fórmulas dos produtos cosméticos, a maioria das pessoas ainda usa produtos sem conhecer sua composição real, a pureza dos componentes presentes e os possíveis efeitos nocivos ao organismo.

Os produtos para maquiagem, como sombras e batons tem como principal atrativo a combinação das cores. Tais cores são resultado do uso de corantes e pigmentos inorgânicos, geralmente óxidos de metais, como óxido de ferro, dióxido de titânio, pó de cobre, óxido de cromo, entre outros. Alguns dos pigmentos usados na formulação de produtos para maquiagem podem arrastar como impurezas elementos tóxicos, como As, Ni, Pb, Cr, Cd, entre outros (Draelos, 2001). Como o uso de produtos para maquiagem se caracteriza pela aplicação direta do produto sobre a pele e mucosas, a presença de certos metais tóxicos, mesmo a níveis traço, pode levar à uma exposição crônica, causando danos à saúde do usuário (Nohynek *et al.*, 2010; Tomankova *et al.*, 2011; Davies & Graham, 2011).

Considerando a região dos olhos, como a mais sensível (pele fina) do rosto, os metais tóxicos presentes como impurezas nas sombras podem penetrar a barreira cutânea e atingir os órgãos internos. Além disso, a pele da pálpebra é extremamente susceptível a eczemas e dermatites de contato (Fisher, 1984; Valsecchi *et al.*, 1992). Os produtos cosméticos que são aplicados nas membranas mucosas são ainda mais perigosos, como no caso de produtos para os lábios, como os batons, que possuem o risco de ingestão oral direta (Wang *et al.*, 2008). Estima-se que uma mulher inadvertidamente ingere em média 1,8 kg de batom ao longo de sua vida (CSC, 2007). Assim, é lógico que uma mulher ao usar um batom contendo metais tóxicos, irá ingerir tais substâncias.

Dentre os metais que podem estar presentes em produtos para maquiagem, o chumbo é considerado como um dos de maior toxicidade, e por

isso, tanto no Brasil como nos Estados Unidos o limite máximo para a concentração deste metal em corantes usados na composição de produtos cosméticos é de $20,0 \mu\text{g g}^{-1}$ (Anvisa, 2000, US FDA, 2002a). Nos anos 90 surgiram os primeiros relatos referentes à presença de chumbo em batons. Em 2007, a Campanha por Cosméticos Seguros testou 33 batons vermelhos e descobriu que dois terços deles continham chumbo em concentrações superiores à $0,65 \mu\text{g g}^{-1}$ (CSC, 2007). Já em 2009, o FDA detectou a presença de chumbo em todas as 20 amostras de batom analisadas, com concentrações que variaram de $0,09$ a $3,06 \mu\text{g g}^{-1}$ (Hepp *et al.*, 2009). Com relação às sombras, um estudo realizado com 88 amostras de diferentes marcas e cores, revelou que 75 % das amostras analisadas continham chumbo acima de $5 \mu\text{g g}^{-1}$ (Sainio *et al.*, 2000).

Como os teores de chumbo em produtos para maquiagem, geralmente, se encontram a níveis traço, sua determinação requer técnicas analíticas muito sensíveis. Os trabalhos disponíveis na literatura, referentes à determinação de metais tóxicos em produtos cosméticos, envolvem métodos convencionais de análise, como fusão ou dissolução ácida, sendo que os mesmos, geralmente, demandam muito tempo, são mais suscetíveis à perdas e contaminação, requerem reagentes de alto grau de pureza, e conseqüentemente de alto custo (Dittert *et al.*, 2009). Assim, processos analíticos como amostragem em suspensão e solubilização de amostras com hidróxido de tetrametilamônio (TMAH), se mostram altamente atraentes, principalmente no que diz respeito à diminuição de custos e tempo de análise, e simplificação das etapas de preparo das amostras.

3.2. OBJETIVOS

Objetivo Geral

Nesta parte do trabalho métodos simples e de baixo custo foram desenvolvidos para a determinação de chumbo em batons e sombras por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite.

Objetivos Específicos

- Otimização e validação de um método para determinação de Pb em amostras de batom empregando solubilização com hidróxido de tetrametilamônio (TMAH) e GF AAS.
- Otimização e validação de um método por amostragem em suspensão e GF AAS para determinação de Pb em amostras de sombra.
- Determinação da concentração de Pb presente em amostras de batom e sombra, de diferentes marcas e cores disponíveis no mercado.

3.3. PARTE EXPERIMENTAL

3.3.1. Reagentes e Soluções

Para o preparo das amostras foram utilizados ácido nítrico 65% m/m e peróxido de hidrogênio 30% m/v (Merck, Darmstadt, Alemanha), hidróxido de tetrametilamônio 25 % v/v (Sigma-Aldrich, São Paulo, Brasil) e água deionizada (resistividade de $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$), obtida em um sistema Direct-Q (Millipore, Billerica, MA, USA). Soluções de referência de chumbo foram preparadas em $5\% \text{ v v}^{-1}$ de ácido nítrico por diluições da solução estoque 1000 mg L^{-1} , obtida a partir de uma ampola titrisol (Merck Darmstadt, Alemanha).

Soluções de 1000 mg L^{-1} de irídio, nióbio, tântalo, rutênio, ródio e zircônio obtidas da Fluka ((Fluka, Buchs, Switzerland) foram utilizadas como modificadores permanentes no tratamento dos tubos de grafite. Uma solução de paládio 1000 mg L^{-1} obtida da Ultra Scientific (North Kingstown, RI, USA), foi utilizada como modificador químico em solução.

3.3.2. Instrumentação

Para as análises foi utilizado um espectrômetro de absorção atômica Perkin Elmer AAnalyst 400, equipado com forno de grafite (HGA 800), com correção de fundo por lâmpada de deutério e amostrador automático (AS-800). Utilizou-se uma lâmpada de catodo oco para Pb da PerkinElmer, operando nas condições recomendadas pelo fabricante (comprimento de onda de 283,3 nm, corrente de 10 mA e fenda de 2,7/1,05 nm) e todas as medidas foram baseadas em valores de absorbância integrada. Tanto para as amostras como para os padrões, o volume injetado no tubo de grafite pelo pipetador automático foi de 20 µL. Como gás de purga foi usado argônio de alta pureza (99,996% da White Martins, Belo Horizonte, MG, Brasil). As digestões das amostras foram realizadas em forno de micro-ondas com cavidade modelo ETHOS 1 (Milestone, Sorisole, Itália).

3.3.3. Tratamento dos tubos de grafite

Tubos de grafite com plataformas de L'vov acopladas foram tratados como descrito no item 2.2.3.

3.3.4. Amostras

Um total de 22 amostras de batom e 15 amostras de sombra de diferentes marcas e cores foram adquiridas no comércio local. As amostras analisadas foram fabricadas no Brasil, China, Estados Unidos, Taiwan e França.

3.3.5. Digestão ácida assistida por radiação micro-ondas

3.3.5.1. Amostras de batom

Cerca de 300 mg das amostras de batom foram pesados diretamente nos frascos de digestão, sendo posteriormente adicionados 5,0 mL de HNO₃ e 2,0 mL de HF concentrados, como descrito no método proposto pelo FDA (Hepp *et al.*, 2009). Os frascos foram fechados e dispostos no forno de micro-ondas. As amostras foram submetidas ao programa de aquecimento mostrado na Tabela 3.1. Após a etapa de resfriamento os digeridos foram transferidos quantitativamente para frascos de polietileno graduados e o volume final foi completado para 25,0 mL com água deionizada.

Tabela 3.1. Programa de aquecimento do forno de micro-ondas.

Etapa	Tempo (min)	Potência (W)*	Pressão (bar)*	Temperatura(°C)
1	10	750	30	180
2	30	750	30	180
3**	Overnight			

*Potência e pressão máxima que poderia ser alcançada no sistema de micro-ondas para manter a temperatura de 180 °C.

**Etapa de Resfriamento

3.3.5.2. Amostras de sombra

Foram pesados cerca de 200 mg de amostra nos frascos de teflon do micro-ondas, adicionados 5,0 mL de HNO₃ e 2,0 mL de HF concentrados (Atz, 2008). A mistura foi aquecida em forno de micro-ondas, empregando-se o mesmo programa utilizado para as amostras de batom (Tabela 3.1). Após resfriamento, os digeridos foram transferidos para frascos de polietileno graduados e o volume final completado para 25,0 mL com água deionizada.

3.3.6. Avaliação preliminar dos teores de As, Cd, Cr, Ni e Pb em amostras de sombra

Amostras de diferentes cores de sombras foram digeridas em forno de micro-ondas, como descrito em 3.3.5.2, e os teores de As, Cd, Cr, Ni e Pb foram determinados por GF AAS nas condições recomendadas pelo fabricante (Tabela 3.2). A partir dos resultados obtidos nesta avaliação preliminar, realizou-se a otimização e validação do método para determinação de Pb em sombras.

Tabela 3.2. Programa de temperatura usado na para determinação de As, Cd, Cr, Ni e Pb em amostras de sombra por GF AAS.

Etapa	As	Cd	Cr	Ni	Pb	Rampa (s)	Permanência (s)	Fluxo Ar (mL min ⁻¹)
Secagem	100	100	100	100	100	5	20	250
	140	140	140	140	140	15	15	250
Pirólise	1300	850	1650	1400	700	10	20	250
Atomização	2300	1650	2500	2500	1800	0	5	0
Limpeza	2600	2600	2600	2600	2600	1	5	250

3.3.7. Otimização das condições de preparo de amostra

As amostras de batom e sombra utilizadas na otimização dos procedimentos de preparo, foram fortificadas de forma que a concentração final adicionada de Pb fosse igual a 20 µg L⁻¹. As análises por GF AAS, foram realizadas sob as condições recomendadas pelo fabricante para as etapas de secagem, pirólise, atomização e limpeza (Tabela 3.2). As respostas obtidas foram tratadas através do software Statística 6.0 (Statsoft, 2001).

3.3.7.1. Amostras de batom

Para estabelecer as condições ótimas de preparo das amostras de batom por solubilização com TMAH, um planejamento fatorial fracionário 2^{4-1} foi construído para a triagem das variáveis significativas. Foram avaliados o tempo (30 e 60 min) e a temperatura de aquecimento (60 e 100 °C), o tempo de sonicação (0 e 30 min) e o volume de TMAH (0,5 e 1,0 mL). A massa de amostra utilizada no preparo das amostras foi de 50 mg e o volume final completado para 10 mL com água deionizada. Após avaliação do resultado, foi feito um planejamento composto central empregando as variáveis significativas e através da superfície de resposta obtida foram determinadas as condições ótimas de preparo.

3.3.7.2. Amostras de sombra

Na otimização das condições ótimas de preparo das amostras de sombra por amostragem em suspensão, as variáveis correspondentes ao tempo de sonicação (0 e 30 min), volume de HF (0 e 500 μ L) e volume de HNO₃ (0 e 500 μ L), foram avaliadas empregando um planejamento fatorial 2^3 . Massas de amostra de 50 mg foram utilizadas no preparo das suspensões e o volume final completado para 10 mL com água deionizada. As variáveis significativas foram empregadas na construção de um planejamento composto central e as condições ótimas de preparo estabelecidas através da superfície de resposta foram obtidas.

3.3.8. Otimização das condições para determinação de Pb por GF AAS

A primeira etapa da otimização das condições de análise, para determinação de chumbo por GF AAS, consistiu na escolha do modificador permanente. Tubos de grafite com plataformas de L'Vov foram tratados com diferentes modificadores conforme descrito no item 2.3.3. A solução resultante

da solubilização com TMAH da amostra de batom e a suspensão da amostra de sombra foram analisadas utilizando os diferentes modificadores permanentes e paládio como modificador químico em solução (co-injeção de 2,0 μL de uma solução 1000 mg L^{-1}). A partir destes resultados, foram escolhidos os modificadores que apresentaram melhor sensibilidade, isto é, apresentaram maior intensidade para o sinal de absorbância integrada, melhor repetitividade e melhor correção de fundo, para cada matriz.

Após a seleção do melhor modificador para cada matriz, este foi fixado e as temperaturas de pirólise e atomização foram estabelecidas por meio de curvas construídas em intervalos de 400 a 1100 $^{\circ}\text{C}$ para a etapa de pirólise e de 1500 a 2200 $^{\circ}\text{C}$ para a etapa de atomização. Os demais parâmetros do programa de aquecimento foram os sugeridos pelo fabricante (Tabela 3.2).

3.3.9. Validação dos métodos analíticos

Para validação dos métodos propostos foram avaliados os seguintes parâmetros de desempenho analítico: efeito de matriz, linearidade, limite de detecção, limite de quantificação, precisão e veracidade. Tais parâmetros foram avaliados de acordo com as normas propostas no guia “Orientação Sobre Validação de Métodos Analíticos” (INMETRO, 2011).

3.3.9.1. Efeito de Matriz e Linearidade

Para verificação do efeito de matriz e linearidade dos métodos propostos, preparou-se em triplicata uma curva de calibração por padrões externos, nos níveis de concentração de 0,5; 10,0; 20,0; 30,0; 40,0; e 50,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ de chumbo. Para o método referente à determinação de chumbo em batons, a curva por padrões externos foi preparada em solução de TMAH 5% v/v. Já para o método referente à determinação de chumbo em sombras, a curva de calibração por padrões externos foi preparada em HF 4 % v/v. Curvas de calibração por ajuste de matriz foram construídas em triplicata nos mesmos

níveis (0,5; 10,0; 20,0; 30,0; 40,0; e 50,0 $\mu\text{g L}^{-1}$) de chumbo, empregando-se amostras brancas das matrizes em estudo. As soluções padrão das curvas aquosas e por ajuste de matriz, foram analisadas em ordem aleatória.

Os parâmetros da regressão foram estimados pelo método dos mínimos quadrados ordinários (MMQO). Em seguida, gráficos dos resíduos da regressão foram construídos e examinados para avaliação de valores discrepantes (*outliers*), homoscedasticidade dos resíduos e linearidade do modelo. Foram considerados *outliers* os pontos fora do intervalo $\pm t_{(0,975;n-2)} s_{res}$, sendo s_{res} o desvio padrão dos resíduos da regressão (Gomes & Souza, 2010), os quais foram confirmados pelo teste de resíduo *Jackknife* (Souza & Junqueira, 2005). A avaliação da homocedasticidade, isto é, homogeneidade da variância dos resíduos foi realizada pelo teste de Levene modificado (Souza & Junqueira, 2005). Análise de variância (ANOVA) foi conduzida para verificar o ajuste ao modelo linear por meio da avaliação das significâncias da regressão e do desvio da linearidade (Belsley *et al.*, 1980).

Uma vez comprovadas as premissas e o ajuste ao modelo linear, as inclinações e interseções obtidas para as curvas por padrões externos foram comparadas com aquelas estimadas para as curvas por ajuste de matriz, mediante aplicação do teste F e teste t de Student ao nível de 95% de confiança.

3.3.9.2. Limites de detecção e quantificação

Os limites de detecção e de quantificação foram determinados a partir da análise de 10 replicatas independentes do branco da amostra. O limite de detecção foi calculado pela equação 3.1:

$$LD = \bar{X} + 3s \quad (\text{Eq. 3.1})$$

onde, \bar{X} é a média das 10 replicatas do branco e s é o desvio padrão das 10 replicatas (INMETRO, 2011). Já o limite de quantificação foi calculado pela equação 2.2:

$$LD = \bar{X} + 10s \quad (\text{Eq. 3.2})$$

3.3.9.3. Precisão

A precisão dos métodos propostos, em termos de repetitividade e precisão intermediária, foi avaliada com replicatas independentes de amostras brancas de batom e sombra, fortificadas com o analito nas seguintes concentrações: 2, 10 e 20 $\mu\text{g L}^{-1}$ ($n = 7$). Os resultados obtidos foram expressos em termos de coeficientes de variação (CV,%). Para a avaliação da precisão intermediária as amostras foram analisadas pelo mesmo analista, no mesmo equipamento, sob as mesmas condições de uso, em diferentes dias (1 dia, 1 semana e 1 mês).

3.3.9.4. Veracidade

Devido à inexistência de materiais de referência certificados devidamente caracterizados para batom e sombra, a exatidão foi investigada por ensaios de adição e recuperação e por comparação dos métodos propostos com um método de referência. Visando a comparação entre métodos, os resultados obtidos empregando solubilização com TMAH para as amostras de batom e empregando amostragem em suspensão para as amostras de sombra, foram comparados com os resultados obtidos empregando digestão ácida assistida por micro-ondas para ambas as matrizes, conforme procedimentos descritos nos itens 3.3.6.1 e 3.3.6.2.

3.4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.4.1. Avaliação preliminar dos teores de As, Cd, Cr, Ni e Pb em amostras de sombra

Níquel e chumbo foram os metais encontrados em maior concentração nas amostras de sombra analisadas (Tabela 3.3). Como o chumbo, apresenta maior toxicidade em comparação ao níquel, procedeu-se à otimização e validação de um método empregando amostragem em suspensão para determinação de chumbo em sombras por GF AAS.

Tabela 3.3. Concentração de Cd, Ni, Cr, As e Pb nas amostras de sombra, determinadas por GF AAS.

Amostra	Concentração de Cd ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Concentração de Ni ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Concentração de Cr ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Concentração de As ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Concentração de Pb ($\mu\text{g g}^{-1}$)
Branca	$0,21 \pm 0,09$	$1,9 \pm 0,2$	$2,2 \pm 0,1$	$0,29 \pm 0,08$	$0,33 \pm 0,09$
Azul	$0,41 \pm 0,06$	$5,99 \pm 0,08$	$4,51 \pm 0,07$	$1,3 \pm 0,1$	$6,9 \pm 0,1$
Verde	$1,22 \pm 0,09$	$6,32 \pm 0,05$	$4,7 \pm 0,3$	$0,39 \pm 0,05$	$6,49 \pm 0,07$
Rosa	$0,55 \pm 0,03$	$5,9 \pm 0,1$	$3,5 \pm 0,2$	$0,26 \pm 0,08$	$5,8 \pm 0,2$
Grafite	$0,13 \pm 0,07$	$4,12 \pm 0,06$	$1,3 \pm 0,1$	$2,1 \pm 0,2$	$7,21 \pm 0,08$

Para as amostras de batom tal avaliação preliminar dos teores de metais tóxicos não foi realizada, devido aos vários relatos na literatura sobre a presença de chumbo nestes produtos, o que demonstra a necessidade do desenvolvimento de métodos simples e eficazes para determinação a níveis de traço do metal em batons. Assim, procedeu-se à otimização e validação de um método para determinação de chumbo em amostras de batom empregando solubilização com TMAH e GF AAS.

3.4.1. Otimização das condições de preparo das amostras

3.4.1.1. Amostras de batom

A solubilização de amostras com TMAH consiste em uma alternativa de preparo de amostra interessante que vêm sendo empregada com sucesso na solubilização de diferentes matrizes como biodiesel, leite, tecidos de peixe e mexilhão, sangue entre outras (Ghisi *et al.*, 2011; Ribeiro *et al.*, 2003; Torres *et al.*, 2009; Rodrigues *et al.*, 2009). As amostras tratadas com TMAH resultam em uma solução com características de suspensão, apresentando muitas vezes um baixo fator de diluição e permanecendo estável durante meses, mesmo quando estocada em temperatura ambiente (Ghisi *et al.*, 2007).

Esta é a primeira vez que a solubilização com TMAH é aplicada à amostras de batons e por isso é importante otimizar as variáveis que podem afetar o processo de solubilização.

Um planejamento fatorial fracionário 2^{4-1} foi construído para triagem das variáveis significativas. Como pode ser observado no gráfico de Pareto (Figura 3.1), as variáveis correspondentes ao volume de TMAH e ao tempo de aquecimento apresentaram efeito significativo no sinal analítico, ao nível de 95% de confiança. O valor negativo (-4,99) para o efeito do volume de TMAH indica que o valor da absorbância integrada diminui com a utilização de volumes maiores da base. O valor positivo do tempo de aquecimento (3,77) indica que quando se passa do nível mínimo para o nível máximo deste fator ocorre um aumento na resposta analítica. As variáveis correspondentes ao tempo de sonicação e temperatura de aquecimento nos intervalos estudados não foram estatisticamente significativas, e, portanto, a solubilização das amostras foi realizada na ausência de sonicação, empregando-se uma temperatura de aquecimento em banho-maria de 60 °C, para os estudos posteriores.

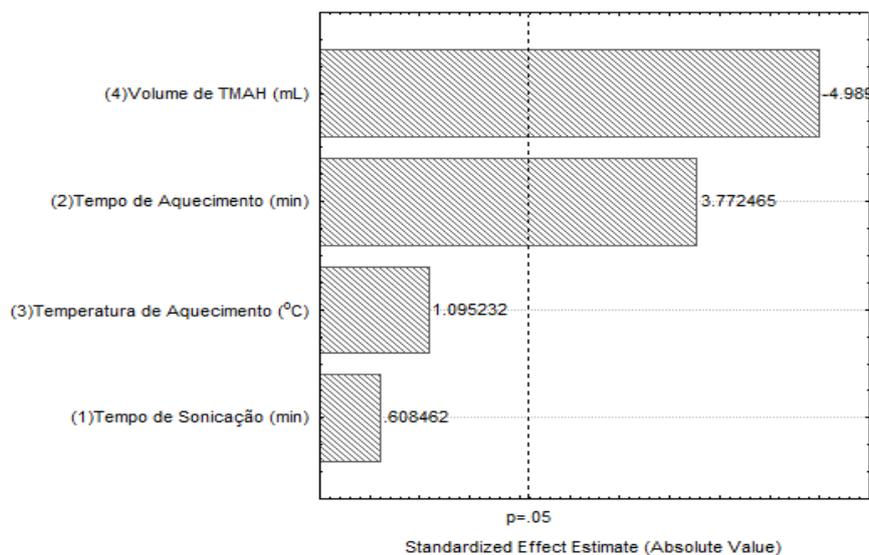


Figura 3.1. Gráfico de Pareto gerado à partir do planejamento fatorial fracionário para o procedimento de solubilização da amostra com TMAH.

Através dos resultados do planejamento fatorial, observou-se que o volume de TMAH e o tempo de aquecimento, necessitavam de uma otimização final. Assim um planejamento composto central (CCD) foi empregado para se obter um melhor ajuste destas variáveis, sendo estudada uma faixa de 300 a 700 μL para o volume de TMAH e uma faixa de 30 a 90 minutos para o tempo de aquecimento (Tabela 3.4).

Tabela 3.4. Matriz de experimentos e absorvâncias obtidas do planejamento composto central (CCD) para otimização das variáveis significativas na otimização das condições de preparo das amostras de batom.

Exp.	Volume de TMAH (mL)	Tempo de Aquecimento (min)	Absorvância Integrada (n=3)
1	300	30	0,105 ± 0,004
2	300	90	0,103 ± 0,005
3	700	30	0,090 ± 0,008
4	700	90	0,070 ± 0,005
5	217	60	0,120 ± 0,009
6	783	60	0,050 ± 0,006
7	500	18	0,130 ± 0,002
8	500	102	0,140 ± 0,003
9	500	60	0,163 ± 0,002
10	500	60	0,165 ± 0,003
11	500	60	0,166 ± 0,002

À partir dos resultados obtidos, foi gerada uma superfície de resposta e uma superfície de contorno (Figura 3.2), descritas pela equação quadrática (3.3).

$$\text{Abs} = - 0,15912 + 0,00104 \cdot V - 1,09250 \cdot 10^{-7} \cdot V^2 + 0,00283 \cdot T + 2,0778 \cdot 10^{-7} \cdot T^2 + 7,50000 \cdot 10^{-8} \cdot V \cdot T \quad \text{Eq. (3.3)}$$

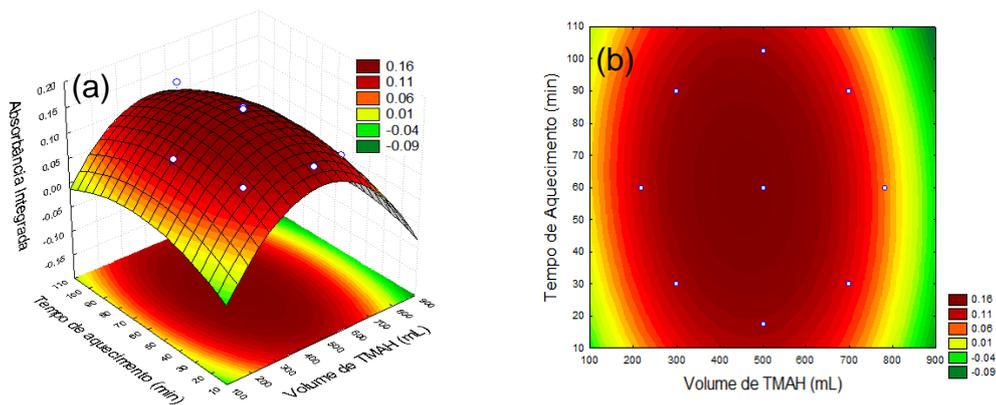


Figura 3.2. Superfície de resposta (a) e superfície de contorno (b) obtidas na otimização final do volume de TMAH (V) e da temperatura de aquecimento (T), para o procedimento de solubilização da batom com TMAH.

Dessa forma, o volume de TMAH e o tempo de aquecimento da amostra ótimos foram determinados, sendo correspondentes à 460 μ L e 60 minutos, respectivamente.

Assim, para o preparo das amostras de batom, empregando solubilização com TMAH, massas de aproximadamente 50 mg de amostra, foram pesadas em tubos de polipropileno, com posterior adição de 460 μ L de uma solução de TMAH 25% m/v. Em seguida, a mistura foi aquecida em banho-maria à 60 $^{\circ}$ C por 60 minutos e após essa etapa o volume foi completado para 10,0 mL com água deionizada. As soluções resultantes apresentaram aspecto de uma suspensão (Figura 3.3), sendo estáveis e homogêneas à temperatura ambiente e, portanto adequadas para a realização das análises por GF AAS.



Figura 3.3. Soluções resultantes da solubilização das amostras de batom com TMAH.

3.4.1.2. Amostras de sombra

Um planejamento fatorial 2^3 foi empregado para avaliar as variáveis significativas no preparo das amostras de sombra por amostragem em suspensão. Através do gráfico de Pareto obtido (Figura 3.4) pode-se verificar que as variáveis volume de HF e tempo de sonicação apresentaram efeito significativo na absorvância, ao nível de 95% de confiança. Os efeitos positivos referentes a estas variáveis indicam que o aumento do volume de HF e do tempo de sonicação resultam em um aumento na resposta analítica. Como a utilização de HNO_3 , não foi significativa, optou-se por não utilizar esse reagente no preparo das amostras de sombra.

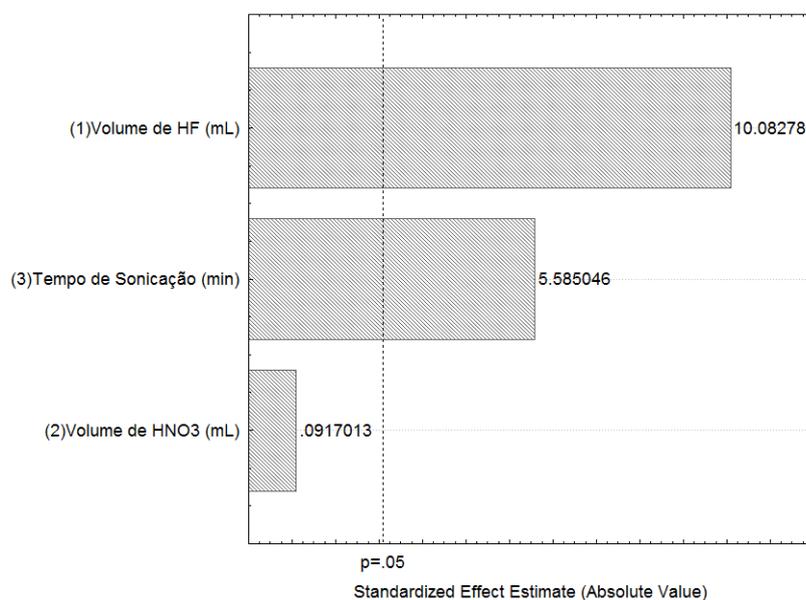


Figura 3.4. Gráfico de Pareto gerado à partir do planejamento fatorial para o procedimento de amostragem em suspensão.

Para melhor ajuste das variáveis correspondentes ao volume de HF e ao tempo de sonicação foi empregado um planejamento composto central (CCD) (Tabela 3.5) e à partir dos resultados dos experimentos realizados foi gerada uma superfície de resposta e uma superfície de contorno (Figura 3.5), descritas pela equação quadrática (3.4).

Tabela 3.5. Matriz de experimentos e absorbâncias obtidas do planejamento composto central (CCD) para otimização das variáveis significativas na otimização das condições de preparo das amostras de sombra.

Exp.	Volume de HF (mL)	Tempo de Sonicação (min)	Absorbância Integrada (n=3)
1	200	10	0,116 ± 0,003
2	200	30	0,120 ± 0,003
3	500	10	0,143 ± 0,002
4	500	30	0,141 ± 0,003
5	138	20	0,095 ± 0,005
6	562	20	0,154 ± 0,006
7	350	6	0,128 ± 0,002
8	350	34	0,163 ± 0,001
9	350	20	0,186 ± 0,002
10	350	20	0,171 ± 0,003
11	350	20	0,175 ± 0,002

$$\text{Abs} = - 0,10046 + 0,00099 \cdot V - 1,23333 \cdot 10^{-7} \cdot V^2 + 0,00788 \cdot T + 1,71667 \cdot 10^{-5} \cdot T^2 + 1,05556 \cdot 10^{-7} \cdot V \cdot T \quad \text{Eq.(3.4)}$$

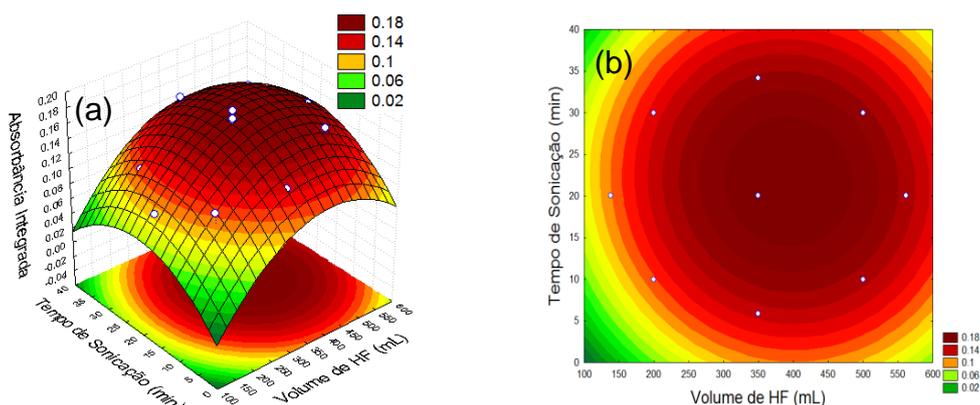


Figura 3.5 Superfície de resposta (a) e superfície de contorno (b) obtidas na otimização final do volume de HF (V) e do tempo de Sonicação (T), para o procedimento de amostragem em suspensão.

O volume de HF e o tempo de sonicação ótimos foram estabelecidos em 400 μL e em 20 minutos, respectivamente. Assim para o preparo das suspensões, à aproximadamente 50 mg de amostra de sombra foram adicionados 400 μL de HF e o volume completado para 10 mL com água deionizada, com posterior sonicação por 20 minutos. As suspensões obtidas apresentaram estabilidade e homogeneidade adequadas para realização das análises (Figura 3.6).

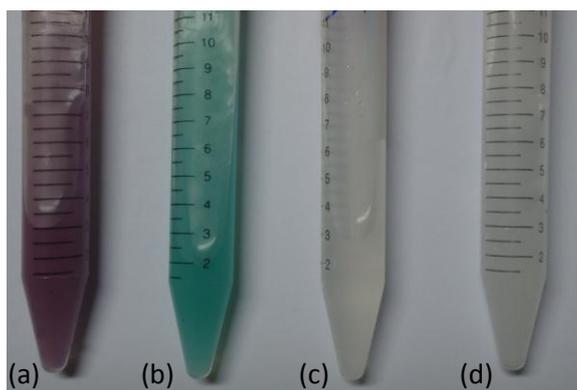


Figura 3.6. Suspensões resultantes da solubilização das amostras de sombra rosa (a), verde (b), branca (c) e cinza (d), respectivamente.

3.4.2. Otimização das condições para determinação de Pb por GF AAS

Para a escolha do melhor modificador permanente, as análises foram realizadas em triplicata nas condições recomendadas pelo fabricante para as etapas de pirólise e atomização. As temperaturas de pirólise e atomização empregadas foram de 700 e 1800 $^{\circ}\text{C}$, respectivamente. As mesmas amostras de batom e sombra utilizadas na otimização dos procedimentos de preparo, foram empregadas na otimização das condições analíticas, sendo fortificadas de forma que a concentração final adicionada de Pb fosse igual a 20 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Os resultados obtidos para os diferentes modificadores permanentes avaliados na determinação de Pb em batons empregando solubilização com TMAH e análise por GF AAS são apresentados na Tabela 3.6. Como pode ser observado, maior intensidade para o sinal de absorvância, menor desvio

padrão relativo (DPR) e melhor correção da absorção de fundo foram obtidos com o uso de nióbio como modificador permanente.

Tabela 3.6. Sinais analíticos obtidos, utilizando diferentes modificadores permanentes na determinação de Pb em amostras de batom por GF AAS.

Modificador Permanente	Absorbância Integrada	DPR (%)	Absorção de Fundo
Sem modificador	0,183	3,28	0,091
Zircônio	0,163	2,75	0,068
Ródio	0,193	2,09	0,041
Rutênio	0,146	5,12	0,102
Nióbio	0,202	1,59	0,035
Tântalo	0,152	6,03	0,095
Irídio	0,139	6,56	0,082

Na Figura 3.7, pode-se observar que a utilização de paládio como modificador químico em solução, conjuntamente com o modificador permanente Nb, proporcionou um aumento da resposta analítica e seu uso foi empregado nos estudos posteriores. Dobrowolski e colaboradores (2010) estudaram a ação de misturas de nióbio/irídio e tungstênio/irídio para determinação de cádmio e chumbo em amostras de solos e sedimentos empregando amostragem em suspensão e GF AAS e puderam constatar que o uso da mistura nióbio/irídio proporcionou um aumento da resposta analítica e uma maior vida útil do tubo de grafite.

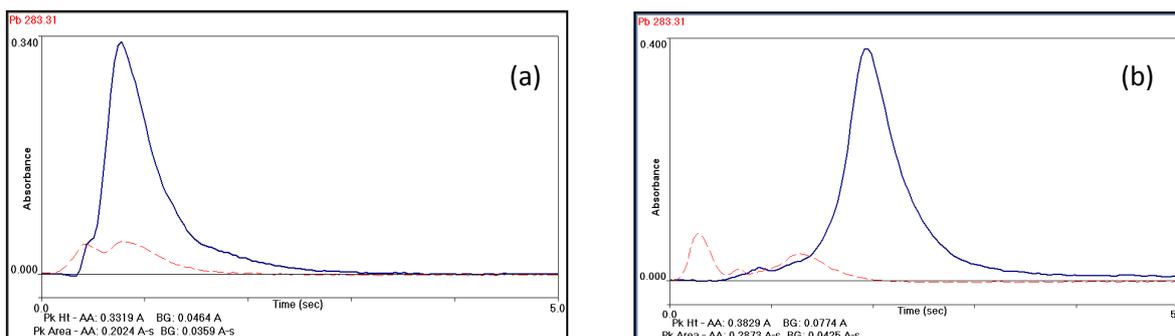


Figura 3.7. Perfis dos sinais analíticos obtidos utilizando Nb (modificador permanente) (a) e Nb (modificador permanente) + Pd (modificador químico em solução) (b), na determinação de Pb em batom por GF AAS.

Na avaliação dos diferentes modificadores permanentes para determinação de Pb em amostras de sombra por amostragem em suspensão e GF AAS, o zircônio apresentou um melhor desempenho como modificador permanente, como pode ser verificado na Tabela 3.7 e a utilização de paládio como modificador químico em solução também proporcionou um aumento da resposta analítica e uma melhor correção da absorção de fundo (Figura 3.8)

Tabela 3.7. Sinais analíticos obtidos utilizando diferentes modificadores permanentes na determinação de Pb em amostras de sombra por GF AAS.

Modificador Permanente	Absorbância Integrada	DPR (%)	Absorção de Fundo
Sem modificador	0,130	4,02	0,057
Zircônio	0,151	1,65	0,047
Ródio	0,133	2,17	0,041
Rutênio	0,116	4,14	0,055
Nióbio	0,122	2,55	0,035
Tântalo	0,085	5,07	0,065
Irídio	0,099	4,68	0,062

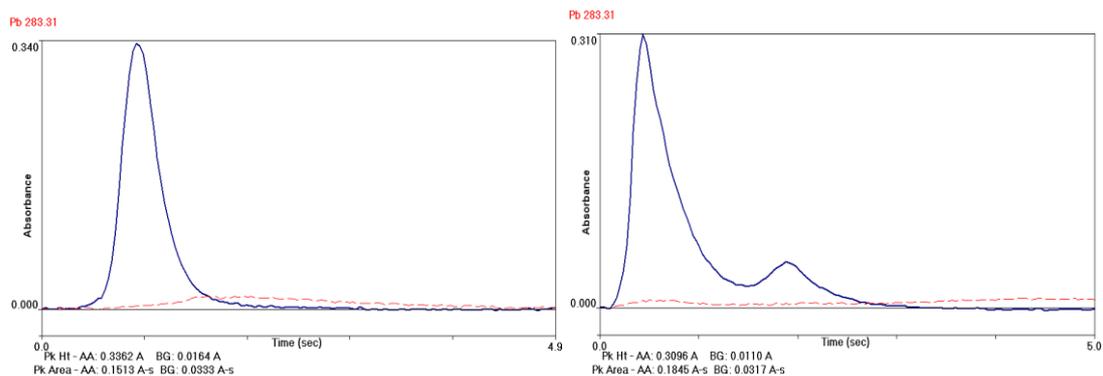


Figura 3.8. Perfis dos sinais analíticos obtidos utilizando Zr (modificador permanente) (a) e Zr (modificador permanente) + Pd (modificador químico em solução) (b), na determinação de Pb em sombra por GF AAS.

Após a escolha do melhor modificador para cada matriz, este foi fixado e o programa de temperatura foi otimizado por meio de curvas de pirólise e atomização para cada matriz (Figuras 3.9 e 3.10). Para as amostras de batom as temperaturas ótimas de pirólise e atomização foram estabelecidas em 900 e 1800 °C, respectivamente. Já para as amostras de sombra as temperaturas ideais foram de 1000 °C para a etapa de pirólise e de 2000 °C para a etapa de atomização.

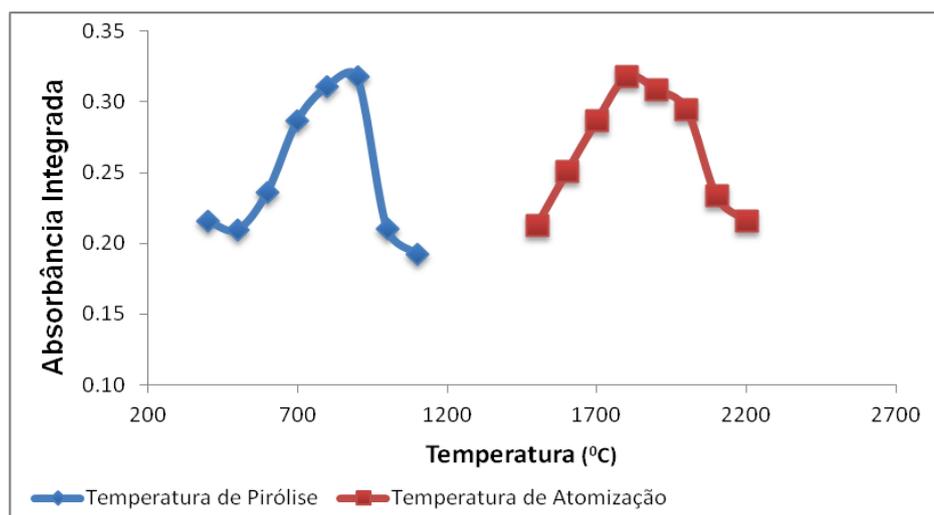


Figura 3.9. Curvas de pirólise e atomização obtidas para determinação de Pb em batom por GF AAS.

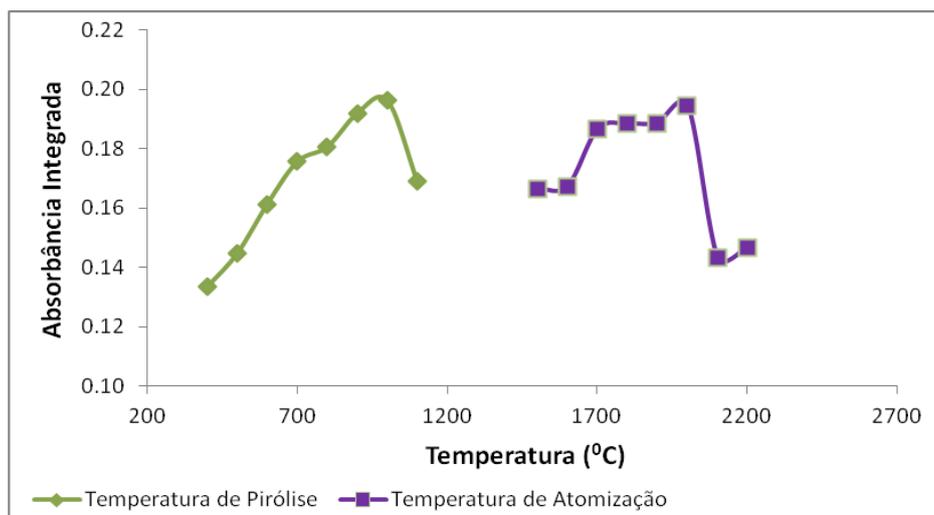


Figura 3.10. Curvas de pirólise e atomização obtidas para determinação de Pb em sombra por GF AAS.

3.4.3. Validação do método analítico

3.4.3.1. Linearidade e Efeito de Matriz

A Figura 3.11 ilustra os gráficos exploratórios dos resíduos da regressão com indicação dos *outliers* tratados para as matrizes de batom e sombra, respectivamente. Os perfis destes gráficos de resíduos demonstraram que não houve tendências óbvias que conferissem heteroscedasticidade ou desvio de linearidade para ambos os métodos propostos. Para o método referente à determinação de chumbo em batons, os intervalos de confiança dos resíduos ($\pm t_{(0,975;n-2)} s_{res}$) sugeriram a presença de dois *outliers* nos níveis de 5,0 e 50,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ para a curva aquosa e de três *outliers* nos níveis de 10,0; 20,0 e 30,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ para a curva por ajuste de matriz. Já para o método correspondente à determinação de Pb em sombras, os intervalos de confiança dos resíduos sugeriram a ausência de *outliers* para a curva aquosa e a presença de dois *outliers* nos níveis correspondentes à 30,0 e 50,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Pb para a curva matrizada. A presença dos valores discrepantes foi confirmada pelo teste de

resíduos padronizado Jackknife. Os *outliers* foram removidos e os modelos de regressão obtidos após a exclusão.

A avaliação da homogeneidade da variância dos resíduos, pelo teste de Levene modificado, confirmou a homoscedasticidade dos resíduos da regressão uma vez que as estatísticas t de Levene, não foram significativas. Através da ANOVA, pode-se constatar o ajuste ao modelo linear ($F_{\text{calculado}} < F_{\text{crítico}}$) e a ausência de desvios da linearidade na faixa estudada (Tabela 3.8).

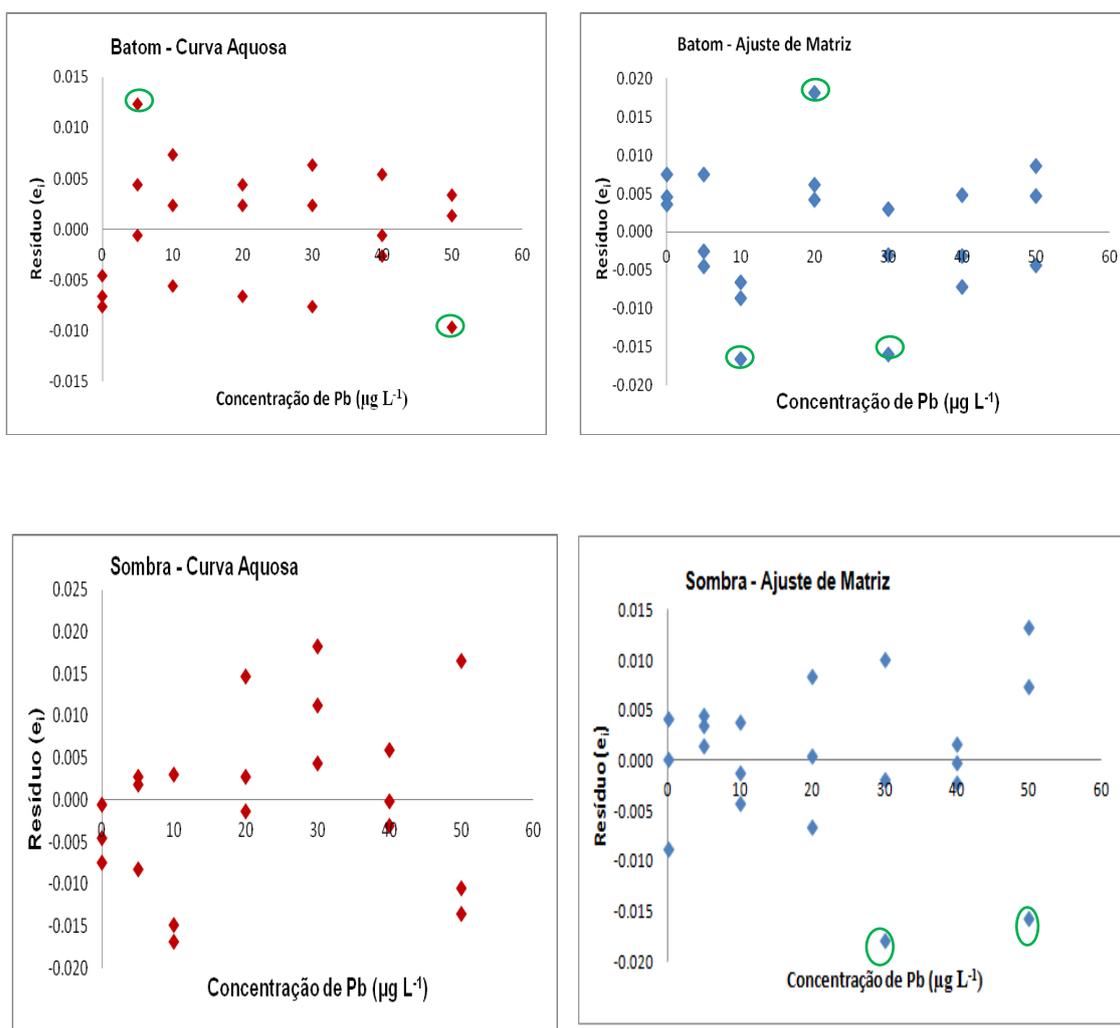


Figura 3.11. Gráficos exploratórios dos resíduos de regressão das curvas para batom e sombra, com indicação dos respectivos outliers diagnosticados pelo teste de resíduos padronizados *Jackknife*.

Tabela 3.8. Avaliação da homocedasticidade e do ajuste ao modelo linear para as curvas aquosas e por ajuste de matriz para batom e sombra.

Estatística	Batom		Sombra	
	Curva Aquosa	Curva Ajuste de Matriz	Curva Aquosa	Curva Ajuste de Matriz
t_L	1,46 ($t_{\text{crítico}} = 2,12$)	0,47 ($t_{\text{crítico}} = 2,12$)	0,88 ($t_{\text{crítico}} = 2,09$)	0,12 ($t_{\text{crítico}} = 2,09$)
F	3,10 ($F_{\text{crítico}} = 4,45$)	3,20 ($F_{\text{crítico}} = 4,49$)	2,95 ($F_{\text{crítico}} = 4,38$)	3,02 ($F_{\text{crítico}} = 4,41$)

Após comprovar o ajuste ao modelo linear, o efeito de matriz foi avaliado por meio da comparação das inclinações e dos interceptos obtidos para as curvas de calibração aquosas com as curvas construídas por ajuste de matriz para as amostras de batom e sombra. A Figura 3.12 mostra a comparação entre as curvas por padrões externos e por ajuste de matriz. No estudo do efeito de matriz, aplicou-se o teste F (*Snedecor*) de homogeneidade de variâncias e o teste t (*Student*) de comparação de médias (Tabela 3.9).

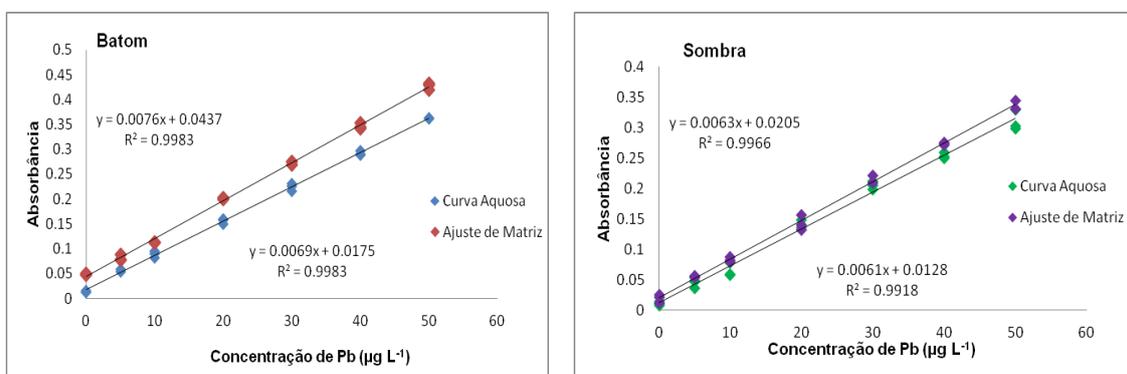


Figura 3.12. Curvas de calibração em meio aquoso e por ajuste de matriz, para determinação de Pb em batom e sombra por GF AAS.

Tabela 3.9. Valores dos parâmetros t e F para as curvas analíticas obtidas no estudo do efeito de matriz.

Amostra	F _{calculado}	t _a (Inclinação)	t _b (Intercepto)
Batom	1,47 (F _{crítico} = 2,27)	7,12 (t _{crítico} = 2,03)	9,20 (t _{crítico} = 2,03)
Sombra	2,24 (F _{crítico} = 2,32)	1,84 (t _{crítico} = 2,03)	1,80 (t _{crítico} = 2,03)

Para a matriz correspondente ao batom, as inclinações e os interceptos obtidos para as curvas de calibração aquosa e por ajuste de matriz, mostraram-se diferentes estatisticamente ao nível de 95% de confiança, pelo teste t (Tabela 3.8). Portanto, curvas de calibração por ajuste de matriz foram empregadas para determinação de chumbo nas amostras de batom pelo método proposto. Na avaliação do efeito de matriz para o método referente à determinação de chumbo em sombra, os valores dos parâmetros t e F calculados indicaram que não houve diferença significativa entre as inclinações e os interceptos das curvas de calibração em HF 4,0% v/v e por ajuste de matriz, ao nível de confiança de 95%. Assim, curvas de calibração em HF 4,0% v/v foram empregadas nos estudos posteriores.

3.4.3.2. Limites de detecção e quantificação

Os limites de detecção e quantificação foram avaliados através da análise de 10 amostras independentes do branco da amostra, pelos métodos propostos, sob as condições ótimas de análise, previamente estabelecidas, sendo determinados como descrito no item 3.3.9.3. Os resultados obtidos são apresentados na tabela 3.10.

Tabela 3.10. Limites de detecção e quantificação para as amostras de batom e sombra obtidos pelos métodos otimizados.

Amostra	Limite de Detecção ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Limite de Quantificação ($\mu\text{g g}^{-1}$)
Batom	0,20	0,34
Sombra	0,18	0,37

Em um estudo realizado para avaliação do teor de chumbo em amostras de batom e sombra por GF AAS empregando digestão ácida em bloco, o limite de detecção estabelecido foi da ordem de $0,25 \mu\text{g g}^{-1}$, sendo que em tal estudo o limite de quantificação não foi determinado (Al-Saleh *et al.*, 2010). Os valores dos limites de detecção estabelecidos para os métodos propostos para determinação de chumbo em batom e sombra estão bem próximos do valor determinado por Al-Saleh e colaboradores (2010), conferindo uma boa sensibilidade aos métodos desenvolvidos.

A detectabilidade dos métodos foi também avaliada pelos valores obtidos para as massas características (m_0), sendo correspondentes à $8,5 \text{ pg}$ para determinação de chumbo em batom e $9,9$ para determinação do analito em sombra. Como os valores foram bem próximos ao valor recomendado ($9,0 \text{ pg}$), pode-se afirmar que os métodos apresentam uma sensibilidade satisfatória.

3.4.3.4. Precisão e Veracidade

A precisão do método referente à determinação de chumbo em batom por GF AAS após solubilização da amostra com TMAH, em termos de repetitividade, variou de 2,37 a 4,61%. Já na avaliação da precisão intermediária, os coeficientes de variação obtidos foram de 4,93 a 9,75% (Tabela 3.11). Para o método referente à determinação de Pb em sombra por amostragem em suspensão e GF AAS, os valores dos coeficientes de variação em termos de repetitividade foram de 2,93 a 4,15% e a precisão intermediária variou de 6,61 a 8,34%. De acordo com as normas estabelecidas pelo

INMETRO (2010), são aceitáveis coeficientes de variação de até 10% para concentrações superiores a 100 ng g^{-1} , portanto de acordo com tal critério, a precisão de ambos os métodos desenvolvidos pode ser considerada satisfatória.

Tabela 3.11. Repetitividade, precisão intermediária e recuperação obtidas pelos métodos propostos em três níveis de concentração para as matrizes de batom e sombra.

Matriz	Níveis de Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$) ¹⁾	Repetitividade (CV %) (n=7)	Precisão Intermediária (CV %) (n=21)	Recuperação (%)
Batom	2,0	4,61	9,75	109
	10	2,37	7,24	96,2
	20	2,54	4,93	98,9
Sombra	2,0	4,15	6,61	90,2
	10	4,01	7,13	94,3
	20	2,93	8,34	105

Na avaliação da veracidade por ensaios de adição e recuperação, as taxas de recuperação obtidas variaram de 96,2 a 109% para o método referente à determinação de chumbo em batons (Tabela 3.8) e de 90,2 a 105% para o método correspondente à determinação de chumbo em sombras. Esses resultados são considerados satisfatórios, de acordo com os critérios estabelecidos pelo INMETRO (2010) e pela Comissão Europeia (2002), os quais consideram como adequadas recuperações entre 80 e 110%.

Na comparação dos métodos desenvolvidos com métodos de referência mediante aplicação de testes estatísticos (teste F e teste t de student), os valores dos parâmetros F e t calculados, indicaram que os métodos empregando solubilização alcalina na determinação de chumbo em batom e amostragem em suspensão na determinação de chumbo em sombra, apresentaram uma exatidão satisfatória. Ambos foram significativamente iguais aos métodos de referência ao nível de 95% de confiança (Tabela 3.12)

Tabela 3.12. Comparação entre os métodos propostos com os métodos de referência na determinação de Pb em amostras de batom e sombra.

Amostra	Cor	Método Proposto Conc. ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Digestão Conc. ($\mu\text{g g}^{-1}$)
Batom	Cor de Boca	$2,07 \pm 0,03$	$2,15 \pm 0,08$
	Rosa	$3,40 \pm 0,09$	$3,25 \pm 0,10$
	Vermelho	$4,20 \pm 0,07$	$4,32 \pm 0,20$
	Marrom	$3,72 \pm 0,06$	$3,56 \pm 0,15$
Sombra	Branca	$0,38 \pm 0,02$	$0,42 \pm 0,05$
	Azul	$6,65 \pm 0,06$	$6,80 \pm 0,10$
	Verde	$6,50 \pm 0,10$	$6,34 \pm 0,08$
	Rosa	$5,69 \pm 0,09$	$5,84 \pm 0,06$
	Grafite	$7,16 \pm 0,05$	$7,07 \pm 0,10$

3.4.4. Quantificação de chumbo nas amostras de batom e sombra

3.4.4.1. Amostras de Batom

O método proposto para determinação de chumbo em batom por GF AAS, após solubilização alcalina da amostra foi aplicado para análise de 22 amostras de batom de diferentes marcas e cores, fabricadas no Brasil, China, Estados Unidos, Taiwan e França (Tabela 3.13). A concentração de chumbo variou de $0,27$ a $2,36 \mu\text{g g}^{-1}$ para as amostras de batom cor de boca, de $1,02$ a $3,37 \mu\text{g g}^{-1}$ para amostras cor de rosa, de $1,62$ a $4,54 \mu\text{g g}^{-1}$ para os batons vermelhos e de $1,46$ a $3,72 \mu\text{g g}^{-1}$ para os batons marrons. As maiores concentrações de chumbo foram obtidas nas amostras de batom vermelho e marrom. Os batons importados da China apresentaram um maior teor do metal, com concentrações variando de $2,07$ a $4,45 \mu\text{g g}^{-1}$.

Tabela 3.13. Concentração de chumbo nas amostras de batom.

Amostra	País de Origem	Cor	Pb ($\mu\text{g g}^{-1}$) n=3
1	China	Cor de boca cremoso	$2,07 \pm 0,06$
2	China	Cor de boca cintilante	$2,36 \pm 0,07$
3	China	Rosa cintilante	$3,37 \pm 0,13$
4	China	Vermelho cremoso	$4,17 \pm 0,10$
5	China	Vermelho cintilante	$4,54 \pm 0,05$
6	China	Marrom cremoso	$3,18 \pm 0,02$
7	China	Marrom cintilante	$3,72 \pm 0,10$
8	Brasil	Cor de boca cremoso	$0,49 \pm 0,05$
9	Brasil	Cor de boca cremoso	$0,64 \pm 0,05$
10	Brasil	Cor de boca cintilante	$0,62 \pm 0,16$
11	Brasil	Cor de boca cintilante	$0,57 \pm 0,02$
12	Brasil	Rosa cremoso	$1,02 \pm 0,02$
13	Brasil	Rosa cintilante	$1,96 \pm 0,05$
14	Brasil	Vermelho cremoso	$1,88 \pm 0,09$
15	Brasil	Vermelho cremoso	$1,62 \pm 0,05$
16	Brasil	Vermelho cintilante	$1,72 \pm 0,12$
17	Brasil	Marrom cremoso	$1,52 \pm 0,05$
18	Brasil	Marrom cintilante	$1,46 \pm 0,09$
19	Taiwan	Vermelho cintilante	$3,64 \pm 0,13$
20	Estados Unidos	Cor de boca cremoso	$0,51 \pm 0,10$
21	Estados Unidos	Cor de boca cintilante	$0,27 \pm 0,05$
22	França	Rosa cintilante	< LQ

A presença de chumbo foi detectada em 21 das 22 amostras analisadas. Sendo que a menor concentração do metal detectada foi de $0,27 \mu\text{g g}^{-1}$ e a

maior concentração de $4,45 \mu\text{g g}^{-1}$. Esta grande variação na concentração de chumbo pode ser atribuída à qualidade das matérias-primas utilizadas na produção dos batons. O FDA estabeleceu o valor de $20 \mu\text{g g}^{-1}$ como a quantidade máxima de chumbo permitida em corantes utilizados na fabricação de produtos cosméticos. No entanto, nos Estados Unidos, Brasil, Europa e Ásia não existe legislação específica para regular o nível de metais tóxicos em batons. Recentemente, o FDA, analisou 20 amostras de batom de diferentes marcas e cores, encontrando uma concentração mínima de $0,09 \mu\text{g g}^{-1}$ e uma concentração máxima de $3,06 \mu\text{g g}^{-1}$ de chumbo nas amostras avaliadas (Hepp *et al.*, 2009). Em um estudo realizado em 2007 pela Campanha para Cosméticos Seguros, a presença de chumbo foi detectada em 61% das amostras analisadas, com concentrações variando de $0,03$ a $0,65 \mu\text{g g}^{-1}$ (CSC, 2007).

Apesar de, o chumbo presente em batons ser considerado como uma fonte pequena de exposição quando comparado com outras fontes como água, alimentos ou ar, a exposição ao metal decorrente do uso de tal produto não deve ser negligenciada. Como o chumbo pode se acumular no organismo ao longo do tempo, a aplicação repetitiva de batons contendo o metal pode levar a níveis significativos de exposição, visto que alguns dos ingredientes presentes nos batons podem penetrar a pele e atingir órgãos internos vitais através da circulação. Além disso, os batons apresentam o risco de ingestão oral direta, o que pode agravar os efeitos negativos do chumbo no organismo (Wang *et al.*, 2008).

3.4.4.2. Amostras de Sombra

Após otimização e validação, o método baseado na amostragem em suspensão para determinação de chumbo em amostras de sombra por GF AAS foi empregado na determinação do metal em 15 amostras de sombra de diferentes marcas, cores e origens (Tabela 3.13). Como verificado nos estudos para determinação de Pb em amostras de batom, as amostras de sombra importadas da China apresentaram um maior teor do analito, com

concentrações variando de 0,41 a 7,08 $\mu\text{g g}^{-1}$. Tal fato pode estar relacionado com um menor rigor e controle das matérias primas e dos processos utilizados na fabricação dos produtos cosméticos no país. As amostras fabricadas no Brasil apresentaram concentrações de chumbo na faixa de 2,49 a 4,41 $\mu\text{g g}^{-1}$ e as amostras importadas da França e dos Estados Unidos foram as que apresentaram o menor teor do metal com concentrações de 0,53 a 2,07 $\mu\text{g g}^{-1}$.

Um maior teor de chumbo foi detectado em amostras de sombra de cores escuras, em comparação com as cores claras. O que pode estar relacionado aos óxidos metálicos presentes nos pigmentos usados na formulação. As concentrações de chumbo encontradas nas amostras de sombra analisadas neste trabalho são semelhantes às relatadas por Atz e colaboradores na avaliação do metal em amostras de sombra de maior popularidade comercializadas no mercado brasileiro, as quais variaram de 1,12 a 8,49 $\mu\text{g g}^{-1}$. Já em um estudo realizado por Sainio e colaboradores, a concentração de chumbo nas amostras em estudo variou de 0,12 a 16,8 $\mu\text{g g}^{-1}$ (Sainio *et al.*, 2000).

Tabela 3.14. Concentração de chumbo nas amostras de sombra.

Amostra	País de Origem	Cor	Pb ($\mu\text{g g}^{-1}$) n=3
1	China	Branco	0,41 \pm 0,09
2	China	Azul	6,35 \pm 0,1
3	China	Verde	6,56 \pm 0,08
4	China	Rosa	5,99 \pm 0,04
5	China	Grafite	7,08 \pm 0,07
6	Brasil	Branco	< LD
7	Brasil	Azul	2,81 \pm 0,08
8	Brasil	Verde	3,53 \pm 0,07
9	Brasil	Rosa	2,49 \pm 0,06
10	Brasil	Grafite	4,41 \pm 0,08
11	Brasil	Marrom	2,53 \pm 0,07
12	Estados Unidos	Grafite	2,07 \pm 0,02
13	Estados Unidos	Marrom	0,92 \pm 0,06
14	França	Rosa	0,53 \pm 0,05
15	França	Verde	1,92 \pm 0,05

As concentrações de chumbo encontradas nas amostras de sombra foram superiores às encontradas nas amostras de batom, e isto se deve ao fato de a matriz do batom ser composta basicamente por ceras e óleos, apresentando uma menor proporção de óxidos inorgânicos. Além disso, existe um maior controle das impurezas presentes nos componentes usados nas formulações dos batons, pelo fato de tais produtos serem aplicados diretamente sobre os lábios, podendo ser parcialmente ingeridos. Porém, embora, as sombras não possuam risco de ingestão oral direta, é preciso levar em consideração a alta sensibilidade da região ocular, a qual apresenta a pele mais fina do rosto, facilitando a penetração de metais tóxicos.

3.5. CONCLUSÃO

Nesta parte do trabalho, métodos empregando solubilização alcalina das amostras de batom e amostragem em suspensão para as amostras de sombra, com posterior quantificação de chumbo por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite foram desenvolvidos. Condições ideais de preparo das amostras foram estabelecidas mediante aplicação de otimização multivariada e o programa de temperatura para cada método otimizado através de curvas de pirólise e atomização. Os parâmetros analíticos obtidos comprovaram a viabilidade dos métodos para a determinação de chumbo a níveis de traço nas amostras de batom e sombra. Os procedimentos de amostragem em suspensão e solubilização de amostras com TMAH se mostraram altamente atraentes, principalmente no que diz respeito à diminuição de custos e tempo de análise, simplificando assim as etapas de preparo das amostras.

Chumbo foi detectado na maioria das amostras de batom e sombra analisadas, sendo que maiores teores do analito foram encontrados nas amostras de cores escuras importadas da China. Os resultados obtidos nas análises das amostras de batom e sombra demonstram a necessidade de um maior controle de qualidade na produção dos produtos cosméticos e do

estabelecimento de legislações específicas que possam controlar a presença de metais tóxicos em tais produtos.

REFERÊNCIAS

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº79, de 28 de agosto de 2000. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/cosmeticos/>> Acesso em 02 de maio de 2012.

Al-Saleh, I.; Al-Enazi, S.; Shinwari, N. Assessment of lead in cosmetic products. **Regulatory Toxicology and Pharmacology** 54 (2009) 105–113.

Atz, V. L. **Desenvolvimento de métodos para determinação de elementos traço em sombra para área dos olhos e batom**. Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Química, 2008.

Belsley, D. A.; Kuh, E.; Welsch, R.E. Regression diagnostics: identifying influential data and sources of collinearity, Wiley, New York, 1980.

CSC, The Campaign for Safe Cosmetics, 2007. A poison kiss: the problem of lead in lipstick. Disponível em: http://www.safecosmetics.org/docUploads/A%20Poison%20Kis_.pdf. Acesso em 20/05/2012.

Davies, R.F.; Graham A. J. New and emerging cosmetic allergens. **Clinics in Dermatology** 29 (2011) 311–315.

Dobrowolski, R.; Adamczyk, A.; Otto, M. Comparison of action of mixed permanent chemical modifiers for cadmium and lead determination in sediments and soils by slurry sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Talanta** 82 (2010) 1325–1331.

Draelos Z.D. Special considerations in eye cosmetics. **Clinics in Dermatology** 19 (2001) 424-430.

European Commission. Commission decision 2002/657/EC of 12 August 2002. Implementing Council Directive 96/23/EC concerning performance of analytical methods and the interpretation of results. Official Journal of the European Communities, L 221/8, 2002.

Fisher, A. A. Cosmetic dermatitis of the eyelids. **Cutis** 84 (1984) 216–221.

Ghisi, M.; Chaves, E. S.; Quadros, D. P. C.; Marques, E. P.; Curtius, A. J.; Marques, A. L. B.; Simple method for the determination of Cu and Fe by electrothermal atomic absorption spectrometry in biodiesel treated with tetramethylammonium hydroxide. **Microchemical Journal** 98 (2011) 62–65.

Ghisi, M.; Ribeiro, A. S.; Vieira, M. A.; Curtius, A. J. Avaliação de diferentes formas de introdução de amostra biológica tratada com hidróxido de tetrametilamônio em espectrometria de absorção atômica com chama. **Revista Analytica** 28 (2007) 58-65.

Hepp, N. M.; Mindak, W. R.; Cheng, J. Determination of total lead in lipstick: Development and validation of a microwave-assisted digestion, inductively coupled plasma–mass spectrometric method. **Journal of Cosmetic Science** 60 (2009) 405–414.

INMETRO, Instituto Nacional de Metrologia. Normatização e Qualidade Industrial. **Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaios Químicos**, DOQ-CGCRE-008, Revisão: 04 de julho de 2011.

INMETRO, Instituto Nacional de Metrologia. Normatização e Qualidade Industrial. **Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaios Químicos**; DOQ-CGCRE-008, Revisão: 03 de fevereiro de 2010.

Magalhães, C. E. C.; Arruda, M. A. Z. Amostragem de suspensões: emprego da técnica na análise direta de amostras. **Química nova** 21 (1998) 459 - 466.

Nohynek, G.J.; Antignac, E.; Re, T.; Toutain, H. Safety assessment of personal care products/cosmetics and their ingredients. **Toxicology and Applied Pharmacology** 243 (2010) 239–259.

Ribeiro, A.S.; Moretto A.L.; Arruda M.A.Z.; Cadore S. Analysis of Powdered Coffee and Milk by ICP OES after Sample Treatment with Tetramethylammonium Hydroxide. **Microchimica Acta** 141 (2003) 149-155.

Rodrigues, J. L.; Torres, D. P.; Souza, V. C. O.; Batista, B. L.; Souza, S. S.; Curtius, A. J.; Barbosa Jr, F.; Determination of total and inorganic mercury in whole blood by cold vapor inductively coupled plasma mass spectrometry (CV ICP-MS) with alkaline sample preparation. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry** 24 (2009) 1414-1420.

Sainio, E. L.; Jolanki, R.; Hakala, E.; Kanerva L. Metals and arsenic in eye shadows. **Contact Dermatitis** 42 (2000) 5-10.

Souza, S.V.C.; Junqueira, R.G. A procedure to assess linearity by ordinary least squares method. **Analytica Chimica Acta** 552 (2005) 25-35.

Tomankova, K.; Kejlova, K.; Binder, S.; Daskova, A.; Zapletalova, J.; Bendova, H.; Kolarova, H.; Jirova, D. In vitro cytotoxicity and phototoxicity study of cosmetics colorants. **Toxicology in Vitro** 25 (2011) 1242–1250.

Torres, D. P.; Frescura, V. L. A.; Curtius, A. J. Simple mercury fractionation in biological samples by CV AAS following microwave-assisted acid digestion or TMAH pre-treatment. **Microchemical Journal** 93 (2009) 206–210.

US FDA, United States Food and Drug Authorities, 2002a. Title 21- Food and Drugs. Chapter I - Food and Drug Administration, Department of Health and Human Services. Part 74 - Listing of Color Additives Subject to Certification/Office of Cosmetics and Colors. Sec. 74.1306 D&C Red No. 6.

Disponível em :<http://www.cfsan.fda.gov/lrd/cf741306.html>. Acesso em 02 de maio de 2012.

Valsecchi, R.; Imberti, G.; Martino, D.; Cainelli, T. Eyelid dermatitis: an evaluation of 150 patients. **Contact Dermatitis** 27 (1992) 143–147.

Wang, CC.; Masi, A.N.; Fernández, L. On-line micellar-enhanced spectrofluorimetric determination of rhodamine dye in cosmetics. **Talanta** 75 (2008) 135–140.

**CAPÍTULO 4 - DETERMINAÇÃO DIRETA DE NÍQUEL EM
PERFUMES POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA
EM FORNO DE GRAFITE**

4.1. INTRODUÇÃO

O uso de fragrâncias começou com uma pequena elite (reis, faraós, imperadores e monarcas) e com significados religiosos. A partir do século vinte, com a combinação da química e da revolução industrial o uso de perfumes se difundiu no mundo todo, Nos dias atuais o setor da indústria química voltado para a produção de produtos de higiene pessoal, perfumaria e cosméticos vem crescendo continuamente e paralelamente aumentam os casos de adulterações e falsificações envolvendo estes produtos (Dias & Silva, 1996)

As fragrâncias características dos perfumes foram obtidas durante muito tempo exclusivamente a partir de óleos essenciais extraídos de flores, folhas, raízes e de alguns animais selvagens. Esses óleos receberam o nome de óleos essenciais porque continham a essência, ou seja, aquilo que confere à planta seu odor característico. Embora os óleos essenciais sejam ainda hoje obtidos a partir dessas fontes naturais, têm sido substituídos cada vez mais por compostos sintéticos. Os químicos já identificaram cerca de três mil óleos essenciais, sendo que cerca de 150 são importantes como ingredientes de perfumes (Teixeira *et al.*, 2009). A concentração de tais óleos em perfumes determina a intensidade, longevidade, e preço do produto. Geralmente, a porcentagem de essências é de 20 a 40% em extratos de perfume; de 10 a 30% em águas de perfume; de 2 a 5% em águas de colônia e de 1 a 2% em deocolônias (Dias & Silva, 1996).

Os perfumes fazem parte do dia-a-dia da sociedade moderna e embora sejam aplicados topicamente, um ou mais de seus componentes podem permear a barreira cutânea, sendo parcial ou totalmente absorvidos (Castanedo-Tardan & Zug, 2009), podendo assim causar algum malefício para os usuários. Para minimizar os riscos que estes produtos podem oferecer à saúde da população, antes de serem comercializados, os mesmos devem passar por uma avaliação de segurança, na qual os seguintes parâmetros devem ser analisados: categoria do produto, condições de uso, concentração de cada componente na formulação, quantidade de produto em cada aplicação, frequência de uso, local de contato direto com o produto, superfície total de pele ou de mucosa onde o produto é aplicado, duração do contato, consumidor

alvo, possíveis desvios no emprego (uso inadequado ou acidental) do produto (Giovani *et al.*, 2006).

Quanto aos perfumes infantis, as formulações requerem um cuidado especial. Uma das condições essenciais é que sejam excluídos todos os ingredientes que possam constituir uma potencial agressão cutânea. Esta premissa é obviamente extensível a todos os perfumes, mas sem dúvida mais difícil de executar nos produtos para aplicação sobre a frágil pele das crianças (Nichols & Cookbolden, 2009). O ideal é que todos os perfumes infantis sejam dermatologicamente testados ou hipoalergênicos (Lahti *et al.*, 2003)

Apesar de toda preocupação por parte dos órgãos fiscalizadores, o uso de perfumes resulta com frequência em processos irritativos e dermatites de contato. A sensibilização ao níquel representa uma das principais causas dessas reações, o que torna fundamental o monitoramento de tal metal em formulações de uso adulto e infantil (Biebl & Warshaw, 2006).

Assim sendo, o desenvolvimento de novos métodos para análise de contaminantes inorgânicos em perfumes, é considerado de extrema importância, seja devido às possíveis contaminações e adulterações que podem ocorrer durante as etapas de processamento, acondicionamento e armazenagem dos produtos, ou para avaliar a exposição dos consumidores à certos compostos tóxicos.

4.2. OBJETIVOS

Objetivo Geral

Este trabalho visa otimizar e validar um método de análise para determinação direta de níquel em perfumes por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite.

Objetivos Específicos

- Otimização multivariada das condições experimentais do GF AAS para determinação de Ni em amostras de perfumes.
- Validação do método, de forma a garantir a confiabilidade dos resultados obtidos pelo método proposto.
- Determinação e comparação da concentração de Ni em diferentes tipos de perfumes, nacionais e importados, de uso adulto e infantil.

4.3. PARTE EXPERIMENTAL

4.3.1. Reagentes e Soluções

Todas as soluções foram preparadas usando água deionizada (resistividade de $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$), obtida por num sistema Direct-Q (Millipore, Billerica, MA, USA). Soluções de referência de níquel foram preparadas em 5% v/v de ácido nítrico por diluições da solução estoque 1000 mg L^{-1} , obtida a partir de uma ampola titrisol (Merck, Darmstadt, Alemanha). Soluções 1000 mg L^{-1} dos metais irídio, nióbio, titânio, tântalo, rutênio, ródio e zircônio obtidas da Fluka (Fluka, Buchs, Switzerland) foram utilizadas como modificadores permanentes no tratamentos dos tubos de grafite. Uma solução de paládio 1000 mg L^{-1} obtida da Ultra Scientific (North Kingstown, RI, USA), foi utilizada como modificador químico em solução.

4.3.2. Instrumentação

Um espectrômetro de absorção atômica Perkin Elmer (Norwalk, CT, USA) AAnalyst 400, equipado com forno de grafite (HGA 800), com correção de fundo por lâmpada de deutério e amostrador automático (AS-800), foi utilizado para realização das análises. Foi utilizada uma lâmpada de catodo-

oco para Ni da Perkin, operando nas condições recomendadas pelo fabricante comprimento de onda de 232 nm, corrente de 40 mA e fenda de 1,80/1,35 nm). O volume de amostra injetado no tubo de grafite pelo pipetador automático foi de 20 µL e as medidas foram baseadas em valores de absorvância integrada. Como gás de purga foi usado argônio de alta pureza (99,996% da White Martins, Belo Horizonte, MG, Brasil).

4.3.3. Tratamentos dos tubos de grafite

Tubos de grafite pirolítico com plataforma de L'Vov inserida (Perkin Elmer, Norwalk, CT, USA) foram tratados, independentemente, como descrito no item 2.3.3.

4.3.4. Amostras

Foram analisadas amostras de águas de perfume; águas de colônia e deocolônias nacionais e importadas, de uso adulto e infantil. Essências usadas em formulações de “perfumes genéricos”, adquiridas no comércio local, também foram analisadas.

As amostras foram submetidas à análise direta, sem nenhum tratamento prévio.

4.3.5. Otimização das condições analíticas

Inicialmente, as análises de perfumes foram realizadas utilizando diferentes modificadores permanentes, sob as condições recomendadas pelo fabricante para as etapas de pirólise, atomização e limpeza. Foram avaliados os metais irídio, nióbio, titânio, tântalo, rutênio, ródio e zircônio como modificadores permanentes, sendo escolhido aquele que possibilitou maior intensidade para o sinal de absorvância, menor desvio padrão relativo e melhor correção de fundo.

Para otimização do programa de temperatura e avaliação do modificador convencional (Pd), optou-se por um planejamento fracionário 2^{4-1} para selecionar os variáveis que mais influenciariam na resposta analítica. As variáveis estudadas foram modificador químico paládio (sem e com), tempo de pirólise (10 e 20 s) e temperaturas de pirólise (1200 e 1600 °C) e atomização (2200 e 2600 °C). Após a realização do planejamento fracionário para triagem, os fatores significativos foram selecionados e a metodologia de análise de superfície de resposta foi empregada para obtenção das condições ótimas.

4.3.6. Validação do método analítico

Foram avaliados os parâmetros analíticos correspondentes ao efeito de matriz, linearidade, limite de detecção, limite de quantificação, precisão e veracidade. Estes parâmetros, com exceção da veracidade, foram determinados como apresentado no capítulo 2.

Como materiais de referência certificados de perfume não estão disponíveis comercialmente, não foi possível utilizar esse procedimento para avaliar a veracidade. Por isso, tal parâmetro foi investigado por ensaios de adição e recuperação, realizados em triplicata, em três diferentes níveis de concentração, correspondentes à 2,0; 10,0 e 20,0 $\mu\text{g L}^{-1}$.

4.4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.4.1. Otimização das condições para determinação direta de Ni em perfumes por GF AAS

A amostra utilizada na otimização do método foi previamente analisada, de forma a se obter uma estimativa do teor de Ni presente. Como a absorvância do analito foi considerada satisfatória, a amostra de perfume usada nesta etapa não foi fortificada.

Os resultados obtidos para os diferentes modificadores permanentes avaliados para a determinação de Ni em perfumes são apresentados na Tabela 4.1. Entre os modificadores permanentes avaliados, o titânio apresentou maior intensidade para o sinal de absorbância, menor desvio padrão e melhor correção de fundo nas análises de perfume por GF AAS (Figura 4.1). As análises foram realizadas em triplicata nas condições recomendadas pelo fabricante para as temperaturas de pirólise (1400 °C) e atomização (2500 °C).

Tabela 4.1. Sinais analíticos obtidos, utilizando modificadores permanentes na determinação de Ni em perfume por GF AAS.

Modificador Permanente	Absorbância Integrada	Absorbância de Fundo
Sem modificador	0,046 ± 0,004	0,008
Zircônio	0,053 ± 0,003	0,013
Ródio	0,060 ± 0,002	0,003
Rutênio	0,075 ± 0,002	0,002
Nióbio	0,074 ± 0,003	0,009
Tântalo	0,084 ± 0,003	0,003
Írídio	0,067 ± 0,002	0,006
Titânio	0,094 ± 0,001	0,0003

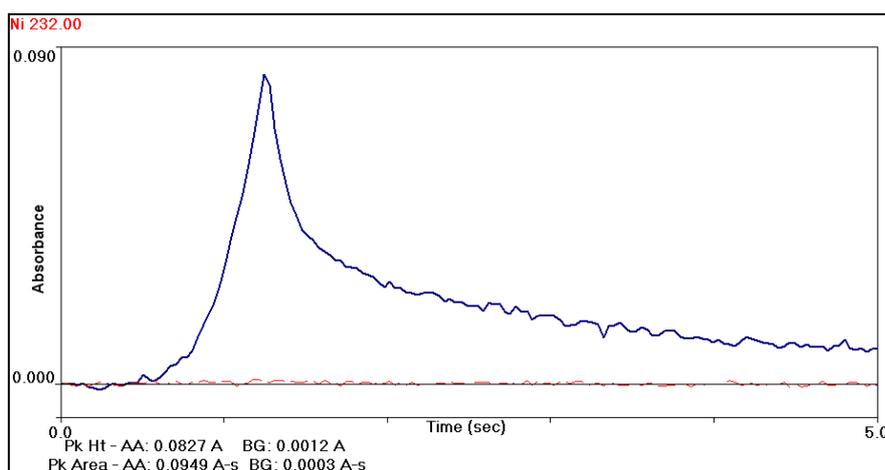


Figura 4.1. Perfil do sinal analítico obtido utilizando Ti como modificador permanente na determinação de Ni em perfume por GF AAS

A Tabela 4.2 apresenta o programa de temperatura usado durante a etapa de otimização do método proposto para determinação de níquel em amostras de perfume.

Tabela 4.2. Programa de temperatura do forno de grafite usado na otimização do método para determinação de Ni em perfumes.

Etapa	Temperatura (°C)	Rampa (s)	Permanência (s)	Fluxo de argônio (mL min ⁻¹)
Secagem	100	5	20	250
Secagem	140	15	15	250
Pirólise	^a	10	^c	250
Atomização	^b	0	5	0
Limpeza	2600	1	5	250
Resfriamento	30	1	10	250

^{a,b,c}Variáveis otimizadas.

A matriz de planejamento e os resultados obtidos no planejamento 2^{4-1} são apresentados na Tabela 4.3. As respostas analíticas obtidas, através dos resultados experimentais, foram inseridas no programa Statistica 6.0, o que permitiu avaliar as interações entre as variáveis estudadas e a sua influência sobre a resposta analítica de interesse.

Tabela 4.3. Matriz do planejamento 2^{4-1} e absorvâncias obtidas para otimização das variáveis para análise direta de Ni em perfume por GF AAS.

Temperatura de pirólise (°C)	Temperatura de atomização (°C)	Tempo de pirólise (s)	Modificador químico (Pd)	Absorvância integrada (A s ⁻¹)
1200	2200	10	sem	0,110 ± 0,003
1600	2200	10	com	0,137 ± 0,002
1200	2600	10	com	0,198 ± 0,002
1600	2600	10	sem	0,193 ± 0,001
1200	2200	20	com	0,126 ± 0,001
1600	2200	20	sem	0,116 ± 0,002
1200	2600	20	sem	0,193 ± 0,002
1600	2600	20	com	0,191 ± 0,001

Com os resultados foi construído o gráfico de Pareto (Figura 4.2) onde observa-se que as variáveis correspondentes às temperaturas de pirólise e atomização e uso de modificador químico em solução, juntamente com a interação entre temperatura e tempo de pirólise, apresentaram efeito significativo na absorvância, ao nível de 95% de confiança. O valor negativo (-104,21) para o efeito da temperatura de pirólise indica que o valor de absorvância integrada aumenta em temperaturas de pirólise mais baixas. O valor positivo da temperatura de atomização (12,91) indica que quando se passa de 2200 °C para 2600 °C ocorre um aumento na resposta analítica.

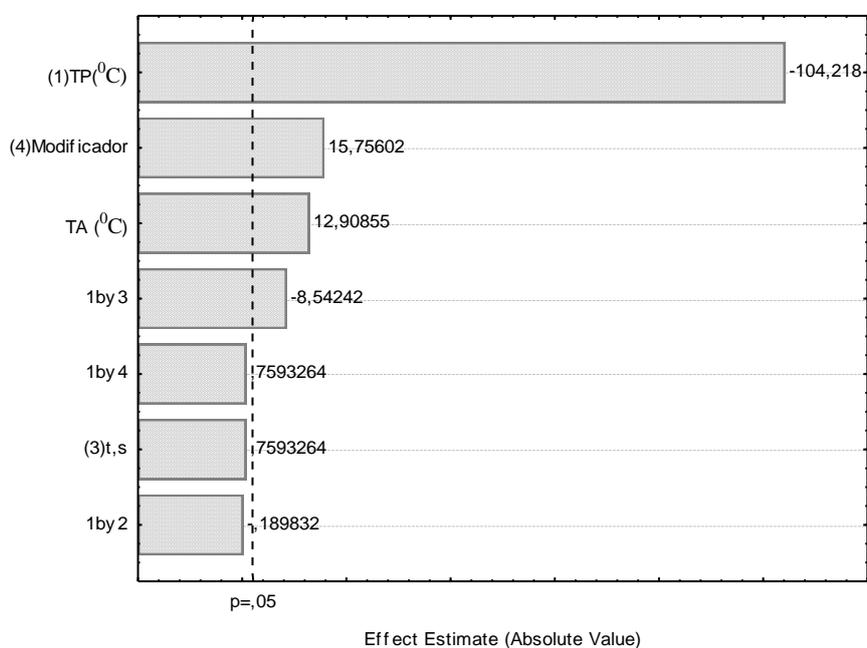


Figura 4.2. Gráfico de Pareto gerado a partir do planejamento fatorial fracionário para otimização do método para determinação de Ni em perfumes por GF AAS.

Para melhor ajuste das variáveis correspondentes às temperaturas de pirólise (TP) e atomização (TA), foi empregado um planejamento composto central (CCD) (Tabela 4.4). Nesse estudo foi utilizado titânio como modificador permanente, paládio como modificador químico em solução e um tempo de pirólise de 20 segundos, uma vez que essas condições foram estabelecidas a partir dos estudos anteriores.

Tabela 4.4. Matriz de experimentos e absorvâncias obtidas do planejamento composto central (CCD) para otimização das variáveis significativas na determinação de Ni em perfume por GF AAS.

Exp	Temperatura de Pirólise (°C)	Temperatura de Atomização (°C)	Absorvância Integrada
1	1200	2200	0,167 ± 0,002
2	1200	2600	0,254 ± 0,001
3	1600	2200	0,190 ± 0,002
4	1600	2600	0,258 ± 0,002
5	1117	2400	0,250 ± 0,030
6	1683	2400	0,247 ± 0,002
7	1400	2117	0,153 ± 0,003
8	1400	2683	0,264 ± 0,004
9	1400	2400	0,274 ± 0,001
10	1400	2400	0,279 ± 0,002
11	1400	2400	0,280 ± 0,003

A partir dos resultados dos experimentos do planejamento composto central foi gerada uma superfície de resposta e uma superfície de contorno (Figura 4.3), descritas pela equação quadrática (4.1):

$$\text{Abs} = -6,8456 + 0,0015 \cdot \text{TP} - 4,4895 \cdot 10^{-7} \cdot \text{TP}^2 + 0,0048 \cdot \text{TA} - 9,2812 \cdot 10^{-7} \cdot \text{TA}^2 - 1,2083 \cdot 10^{-7} \cdot \text{TA} \cdot \text{TP} \quad \text{Eq. (4.1)}$$

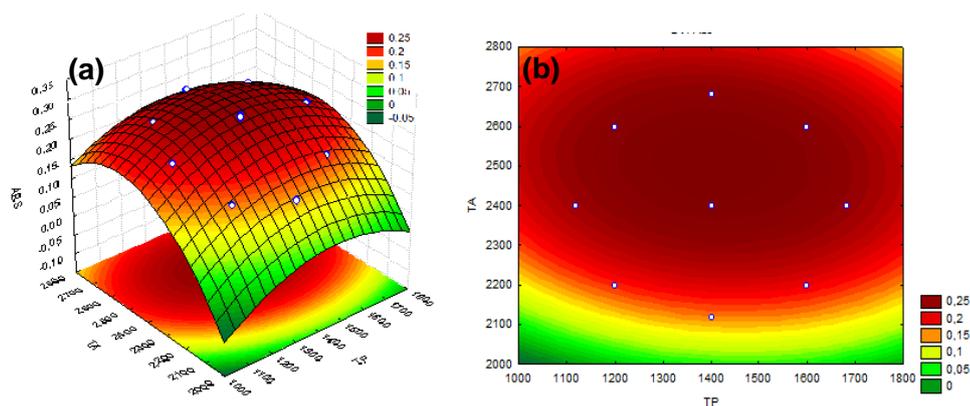


Figura 4.3. Superfície de resposta (a) e superfície de contorno (b) obtidas na otimização final das temperaturas de pirólise (TP) e atomização (TA), para determinação de Ni em perfume por GF AAS.

A partir da equação 4.1 pode-se determinar as temperaturas de pirólise e atomização ótimas, sendo correspondentes à 1420 e 2500 °C, respectivamente. Em um estudo para determinação de níquel em águas de superfície e em águas do mar por GF AAS as temperaturas de pirólise e atomização foram estabelecidas em 1200 e 2300 °C, respectivamente (Bidabadi *et al.*, 2009). Já as temperaturas de pirólise e atomização estabelecidas por Moreno e colaboradores (2007) na determinação de níquel em amostras de vinho por GF AAS, foram de 1350 °C para a etapa de pirólise e de 2350 °C para a etapa de atomização, valores considerados próximos aos valores determinados pelo método proposto. A Tabela 4.5 apresenta as condições ótimas de análise estabelecidas para o método de determinação direta de Ni em perfume por GF AAS.

Tabela 4.5. Condições ótimas de análise para determinação direta de Ni em perfume por GF AAS.

Variável Otimizada	Condição ótima
Modificador Permanente	Ti
Modificador Químico em solução	Pd
Tempo de Pirólise	20 s
Temperatura de Pirólise	1420 °C
Temperatura de Atomização	2500 °C

4.4.2. Validação do método

4.4.2.1. Linearidade e Efeito de matriz

Para verificação da linearidade e do efeito de matriz do método proposto, preparou-se em triplicata uma curva de calibração por padrões externos e uma curva por ajuste de matriz nos níveis de concentração de 2,5; 5,0; 12,5; 25,0; e 50,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ de níquel. Tanto a curva de calibração por padrões externo ($y = 0,0059x + 0,0013$) como a curva por ajuste de matriz ($y = 0,0061x + 0,0056$), apresentaram uma linearidade satisfatória na faixa de trabalho escolhida, com coeficiente de determinação (R^2) superior a 0,99.

No estudo do efeito de matriz, aplicou-se o teste F (*Snedecor*) de homogeneidade de variâncias e o teste t (*Student*) de comparação de médias (Tabela 4.6) e valores obtidos para os parâmetros indicaram que não houve diferença significativa entre as inclinações e os interceptos das curvas de calibração obtidas por padrões externos e por ajuste de matriz, ao nível de confiança de 95%. Desta forma se concluiu que a matriz não afeta o ensaio, o que pode ser confirmado através da figura 4.4 onde são apresentadas as duas curvas de calibração avaliadas. Assim, curvas de calibração por padrões externos foram utilizadas ao longo dos estudos posteriores.

Tabela 4.6. Valores dos parâmetros t e F para as curvas analíticas obtidas no estudo do efeito de matriz.

$F_{\text{calculado}}$	t_a (Inclinação)	t_b (Intercepto)
1,75 ($F_{\text{crítico}}=2,33$)	1,85 ($t_{\text{crítico}} = 2,04$)	1,69 ($t_{\text{crítico}} = 2,04$)

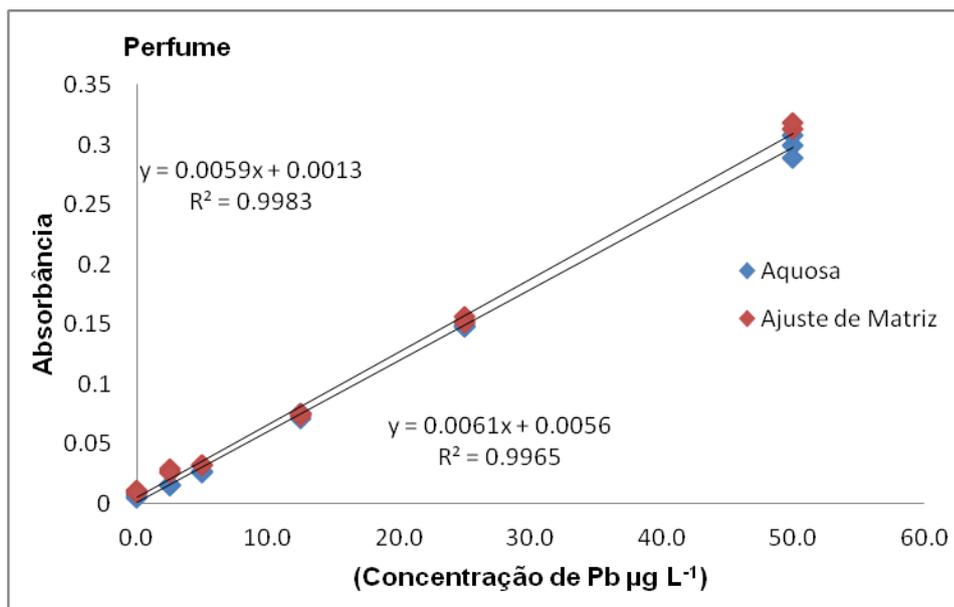


Figura 4.4. Curva de calibração para soluções padrão de Ni em concentrações de 0,0 a 50,0 $\mu\text{g L}^{-1}$.

4.4.2.3. Limites de detecção e quantificação

Para determinação dos limites de detecção e quantificação do método, foram realizadas medidas de 10 brancos independentes e os valores de LD e LQ foram calculados como descrito no item 2.3.7.3. Os valores obtidos para os limites de detecção e quantificação foram de $(0,52 \pm 0,01)$ e $(1,74 \pm 0,04) \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Apesar de não serem encontrados dados relacionados à determinação de Ni em perfumes, observa-se que os valores obtidos para tais parâmetros são da mesma ordem de grandeza que os valores presentes na literatura para outras matrizes e são adequados para o controle de qualidade

de perfumes, visto que são limites que podem ser considerados baixos. Em um estudo para determinação de elementos traço em vinhos argentinos por GF AAS, os limites de detecção e quantificação obtidos para o níquel foram da ordem de 5,01 e 16,7 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente (Lara *et al.*, 2005). Em outro trabalho, para determinação de Ni em águas de superfície e em águas do mar por GF AAS, Bidabadi e colaboradores (2009), obtiveram um valor de 0,30 $\mu\text{g L}^{-1}$ para o limite de detecção e de 1,00 $\mu\text{g L}^{-1}$ para o limite de quantificação.

Ao se avaliar a massa característica (m_0), pode-se verificar que o método apresentou uma boa sensibilidade, visto que o valor determinado para tal parâmetro (13,4) foi inferior ao valor recomendado pelo fabricante (15,0 μg).

4.4.2.4. Precisão

A precisão do método proposto foi avaliada em termos de repetitividade e precisão intermediária com uma amostra branca fortificada com o analito nas seguintes concentrações: 2, 10 e 20 $\mu\text{g L}^{-1}$ ($n = 7$). Os resultados obtidos foram expressos em termos de coeficientes de variação (CV,%) (Tabela 4.7). Para a avaliação da precisão intermediária as amostras foram analisadas pelo mesmo analista, no mesmo equipamento, sob as mesmas condições de uso, em diferentes dias (1 dia, 1 semana e 1 mês). Como os coeficientes de variação determinados foram inferiores a 5%, pode-se afirmar que o método proposto para determinação de Ni em perfume apresenta repetitividade e precisão intermediária adequadas, já que de acordo com as normas estabelecidas pelo INMETRO (2010), são aceitáveis coeficientes de variação de até 10% para concentrações superiores a 100 ng g^{-1} .

Tabela 4.7. Repetitividade e precisão intermediária obtidas pelo método proposto em três níveis de concentração para determinação Ni em perfume por GF AAS.

Níveis de Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Repetitividade (CV %, n =7)	Precisão Intermediária (CV %, n = 21)
2,0	3,6	4,9
10	2,3	4,3
20	3,3	3,7

4.4.2.5. Veracidade

A veracidade foi avaliada por estudos de adição e recuperação empregando uma amostra branca de perfume fortificada em 3 diferentes níveis de concentração. As recuperações variaram de 87 a 109 % (Tabela 4.8) e pode-se concluir que a veracidade obtida pelo método proposto foi adequada. Segundo Ribani *et al.*, (2004) recuperações entre 80 e 120% são aceitáveis.

Tabela 4.8. Recuperações (%) obtidas para Ni na avaliação da veracidade do método proposto.

Concentração de Ni ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Valor determinado ($\mu\text{g L}^{-1}$, n=3)	Recuperação (%, n=3)
2,00	1,90 \pm 0,04	87 \pm 1
10,0	9,90 \pm 0,09	99 \pm 9
20,0	21,6 \pm 0,2	109 \pm 3

4.4.3. Quantificação de Ni nas amostras de perfumes

Para a quantificação do analito de interesse nas amostras de perfumes, utilizou-se curvas de calibração por padrões externos e as análises foram realizadas em triplicata, sob as condições ótimas de análise previamente estabelecidas. Foram analisadas amostras de essências disponíveis no

comércio local para manipulação de “perfumes genéricos” (Tabela 4.9), amostras de águas de colônia de uso infantil (Tabela 4.10), amostras de águas de colônia e deocolônias (Tabela 4.11) e amostras de águas de perfume (Tabela 4.12).

Tabela 4.9. Concentração de Ni nas amostras de essências.

Amostras	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)
1E	< LQ)
2E	< LQ
3E	< LQ
4E	< LQ
5E	< LQ
6E	< LQ
7E	< LQ

Tabela 4.10. Concentração de Ni nas amostras de águas de colônias infantis.

Amostras	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)
1I	< LQ)
2I	< LQ
3I	< LQ
4I	< LQ
5I	1,77 \pm 0,05

Tabela 4.11. Concentração de Ni nas amostras de águas de colônia e deocolônias de uso adulto, nacionais e importadas.

Amostras	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)
1C*	< LQ)
2C*	< LQ
3C*	< LQ
4C*	< LQ
5C**	< LQ)
6C**	< LQ
7C**	< LQ
8C*	< LQ
9C*	< LQ
10C*	2,37 \pm 0,01
11C*	2,66 \pm 0,05
12C**	3,06 \pm 0,01
13C**	3,48 \pm 0,01
14C*	3,73 \pm 0,06
15C**	3,90 \pm 0,10
16C*	4,45 \pm 0,01
17C*	5,49 \pm 0,01
18C*	6,05 \pm 0,01
19C**	9,20 \pm 0,01
20C*	12,7 \pm 0,01

*Produto nacional

**Produto importado

Tabela 4.12. Concentração de Ni nas amostras de águas de perfume de uso adulto, nacionais e importadas.

Amostras	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)
1P*	< LQ
2P*	4,27 \pm 0,01
3P*	4,60 \pm 0,20
4P*	6,63 \pm 0,02
5P**	7,13 \pm 0,03
6P**	8,24 \pm 0,03
7P**	9,22 \pm 0,05
8P*	10,30 \pm 0,02
9P**	14,20 \pm 0,01
10P**	12,10 \pm 0,02
11P*	13,50 \pm 0,03
12P**	15,60 \pm 0,05
13P**	17,10 \pm 0,02
14P**	18,30 \pm 0,09
15P**	18,50 \pm 0,02
16P**	19,60 \pm 0,02
17P**	19,80 \pm 0,03
18P**	21,70 \pm 0,02

*Produto nacional

**Produto importado

Como pode ser observado na Tabela 4.9, as amostras de essências, com exceção da amostra 7E, apresentam uma concentração de Ni inferior ao limite de quantificação. Com relação às amostras de colônias infantis, águas de colônia e águas de perfume, observa-se um maior teor de Ni nas amostras de águas de perfume (Figura 4.5), sendo observada uma maior concentração do analito nas amostras de águas de perfume importadas. Nas águas de colônia e deocolônia, as concentrações de Ni variaram de < LQ a 12,7 $\mu\text{g L}^{-1}$ nos produtos nacionais avaliados e de < LQ a 9,20 $\mu\text{g L}^{-1}$ nos produtos importados. Já nas águas de perfume a concentração de Ni variou de < LQ a 13,50 $\mu\text{g L}^{-1}$ nas amostras nacionais e de 7,13 a 21,7 $\mu\text{g L}^{-1}$ nas amostras importadas. Pode-se verificar que tanto produtos nacionais como importados apresentam uma ampla variação na concentração de Ni.

Segundo Teixeira e colaboradores (2009) águas de perfume possuem uma maior quantidade de essência do que águas de colônias e deocolônias, possuindo assim um maior poder de fixação. Apesar da concentração de Ni nas essências genéricas ser muito baixa, acredita-se que a maior concentração de níquel presente nas amostras de águas de perfume, possa estar relacionada com a quantidade de essência adicionada e com a qualidade do perfume, que é traduzido pelo maior poder de fixação do mesmo. Os perfumes que apresentaram as maiores concentrações de Ni são de marcas conhecidas e comercialmente bem estabelecidas. Uma outra hipótese é que o Ni encontrado nestes perfumes seja resíduo de catalisadores utilizados na síntese de compostos empregados na fabricação de perfumes, como limoneno, eugenol, geraniol, etc. (Cerro-Alarcón *et al.*, 2006). Infelizmente, tal fato é de difícil comprovação, pois os fabricantes guardam as fórmulas como segredos (são protegidas por lei) o que torna impossível o acesso à real composição dos perfumes.

Apesar de sua fonte ser de difícil comprovação, a presença de níquel em perfumes pôde ser comprovada pelo método proposto. E sua presença em perfumes, principalmente em produtos infantis, mesmo que em baixas concentrações não deve ser negligenciada, devido ao seu alto poder em causar dermatites de contato e outras reações alérgicas (Torres *et al.*, 2009). Além disso, como o consumo de perfumes, se caracteriza pela aplicação do

produto diariamente sobre a pele, a presença do metal, pode levar à uma exposição crônica, podendo causar danos à saúde humana (Menné, 2003).

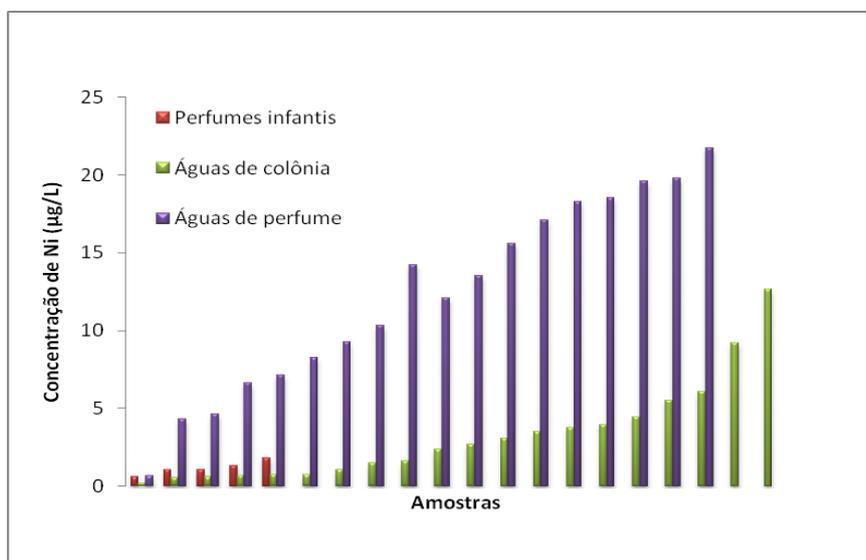


Figura 4.5. Comparação dos teores de níquel em amostras de colônias infantis, águas de colônias e águas de perfume.

4.5. CONCLUSÃO

Nesse trabalho foi otimizado e validado um método para determinação direta de níquel em perfumes por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite. Condições ideais de análise como modificador permanente, modificador químico em solução, temperatura de pirólise, temperatura de atomização e tempo de pirólise, foram avaliadas no sentido de otimizar o método proposto.

Os resultados obtidos para os parâmetros de validação, como linearidade, limite de detecção, limite de quantificação, precisão e exatidão indicaram que o método proposto é eficiente e confiável para determinação de níquel em amostras de perfume. Apresentando alta sensibilidade, com limites de detecção e quantificação na ordem de 0,52 e 1,74 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente.

Quanto ao teor de níquel presente nas amostras analisadas, observa-se uma maior concentração do metal em amostras de águas de perfume importadas e uma baixa concentração nas amostras de perfumes infantis e nas amostras de deocolônias.

REFERÊNCIAS

Bidabadi, M. S.; Dadfarnia, S.; Shabani, A. M. H. Solidified floating organic drop microextraction (SFODME) for simultaneous separation/preconcentration and determination of cobalt and nickel by graphite furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS). **Journal of Hazardous Materials** 166 (2009) 291–296.

Biebl, K. A.; Warshaw, E. M. Allergic Contact Dermatitis to Cosmetics. **Dermatologic Clinics** 24 (2006) 215 – 232.

Castanedo-Tardan, M. P.; Zug, K. A. Patterns of cosmetic contact allergy. **Dermatologic Clinics** 27 (2009) 265-280.

CERRO-ALARCÓN, M.; BACHILLER-BAEZA, B.; GUERRERO-RUIZ, A.; RODRÍGUEZ-RAMOS, I. Effect of the reduction–preparation method on the surface states and catalytic properties of supported-nickel particles. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical** 258 (2006) 221–230.

Dias, S. M.; Silva, R. R. Perfumes uma química inesquecível. **Química nova na escola** (1996) 1–6.

Giovanni, C. D.; Vincenzo, A.; Gambardella, L.; Sautebin, L. J. Sardans, J.; Montes, F.; Peñuelas, J. Determination of As, Cd, Cu, Hg and Pb in biological samples by modern electrothermal atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B** 65 (2010) 97–112.

Lahti, J. G.; Shabshin, U.; Lewis, T.A.; Benedetto, A. V. Pediatric cosmetic dermatology. **Clinics in Dermatology** 21 (2003) 315–320.

Lara, R.; Cerutti, S.; Salonia, J.; Olsina, A. R. A.; Martinez, L. D. Trace element determination of Argentine wines using ETAAS and USN-ICP-OES. **Food and Chemical Toxicology** 43 (2005) 293–297.

Menné, T. Allergie aux cosmétiques et aux parfums : est-ce que la législation européenne améliore la sécurité des consommateurs ? **Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique**, v. 43, p. 227–228, 2003.

Moreno, I. M.; González-Weller, D.; Gutierrez, V.; Marino, M.; Camean, A. M.; Gonzalez, A.; Hardisson, A. Differentiation of two Canary DO red wines according to their metal content from inductively coupled plasma optical emission spectrometry and graphite furnace atomic absorption spectrometry by using Probabilistic Neural Networks. **Talanta** 72 (2007) 263–268.

Nichols, K. M.; Cook-Bolden, F. E. Allergic skin disease: major highlights **Pharmacological Research** 53 (2009) 16–21.

Ribani, M.; Bottoli, C. B. G.; Collins, C. H.; Jardim, I. C. S. F.; Melo, L. F. C.; Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova** 27 (2004) 771.

Teixeira, M. A.; Rodríguez, O.; Mata, V. G.; Rodrigues, A.E. The diffusion of perfume mixtures and the odor performance. **Chemical Engineering Science** 64 (2009) 2570 – 2589.

Torres, F.; Melo, M. G.M.; Tosti, A. Management of contact dermatitis due to nickel allergy: an update. **Cosmetic and Investigational Dermatology** 2 (2009) 39–48.

CAPÍTULO 5 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho teve como foco principal o desenvolvimento de métodos simples e rápidos para determinação de metais tóxicos, mas precisamente chumbo e níquel, em produtos cosméticos (perfumes, tinturas capilares e maquiagem) e em amostras de cabelo humano, por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite.

Procedimentos de amostragem em suspensão foram empregados com sucesso no preparo das amostras de tintura, cabelo e sombra, visto que as suspensões obtidas apresentaram estabilidade e homogeneização adequadas para realização das análises por GF AAS. Já no preparo das amostras de batom, devido ao alto teor de gordura da matriz, empregou-se o procedimento de solubilização alcalinas das amostras. As soluções resultantes apresentaram aspecto de uma suspensão, sendo estáveis e homogêneas à temperatura ambiente. As amostras de perfume, foram submetidas à análise direta, sem nenhum tratamento prévio.

Como a GF AAS é uma técnica monoelementar, na qual o programa de temperatura deve ser otimizado para cada metal e para cada matriz em estudo, a determinação dos diversos contaminantes inorgânicos, que podem estar presentes nos produtos cosméticos, mostrou-se inviável por questões de prazo a ser cumprido. Assim, como o chumbo, é um dos metais de maior toxicidade, optou-se pelo desenvolvimento de métodos para sua determinação em tinturas, cabelo, batom e sombra. Já nas análises de perfumes, como existem diversos relatos de alergias decorrentes do uso de tais produtos, optou-se por avaliar a presença de níquel, visto que a sensibilização ao metal pode ser considerada como uma das principais causas de dermatite de contacto alérgica. Os estudos realizados demonstraram a potencialidade das estratégias de preparo de amostras empregadas neste trabalho para a análise de cosméticos. Acredita-se que estas estratégias possam ser utilizadas para outros analitos em matrizes iguais ou semelhantes às avaliadas nesta tese.

Os métodos desenvolvidos se mostraram eficientes e confiáveis, permitindo a determinação dos metais a níveis de traço nas amostras em estudo. Chumbo foi detectado na maioria das amostras de tintura, batom e

sombra analisadas. Nas análises de cabelo, maiores concentrações de chumbo foram encontradas nas amostras de usuários de tintura capilar, o que indica uma contribuição destes produtos para o aumento das concentrações de chumbo no organismo. Quanto ao teor de níquel presente nas amostras de perfume pode-se constatar uma maior concentração do metal em amostras de águas de perfume importadas.

Dessa forma, os resultados obtidos nas análises dos produtos cosméticos, demonstram a necessidade de um maior controle de qualidade na produção de tais produtos e o estabelecimento de legislações específicas e eficazes que possam controlar a presença de metais tóxicos nos produtos disponíveis para o consumidor.

ANEXOS

**QUESTIONÁRIO PREENCHIDO PELOS DOADORES DE AMOSTRAS DE
CABELO**

Nome:

Cidade:

Idade:

Sexo:

Fumante?

Usa tintura de cabelo?

Qual o tipo de tintura utilizada (pó, creme, xampu...)?

A quanto tempo faz uso de tinturas?

Qual foi a última vez que tingiu o cabelo?

PUBLICAÇÕES E COMUNICAÇÕES CIENTÍFICAS

Artigos aceitos para publicação:

SOARES, A. R; NASCENTES, C. C. Simple Method for Determination of Lead in Hair Dyes Using Slurry Sampling Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry. *Analytical Letters*, 2012.

SOARES, A. R; NASCENTES, C. C. Development of simple method for the determination of lead in lipstick using alkaline solubilization and graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Talanta*, 2012.

Trabalhos Apresentados em Congressos

- 1- SOARES, A. R.; NASCENTES, C. C. Amostragem em suspensão e espectrometria de absorção atômica com forno de grafite na determinação de chumbo em tinturas capilares. In: 16º Encontro Nacional de Química Analítica, 2011, Campos do Jordão. *Anais do 16º Encontro Nacional de Química Analítica*. São Paulo, 2011.
- 2- SOARES, A. R.; NASCENTES, C. C. Otimização de método para determinação de chumbo em batons empregando solubilização alcalina e GF AAS. In: 16º Encontro Nacional de Química Analítica, 2011, Campos do Jordão. *Anais do 16º Encontro Nacional de Química Analítica*. São Paulo, 2011.
- 3- SOARES, A. R.; NASCENTES, C. C. Direct determination of nickel in perfumes by electrothermal atomic absorption spectrometry. Eleventh Rio Symposium on Atomic Spectrometry, Mar Del Plata, 2010.
- 4- SOARES, A. R.; OLIVEIRA, R. F.; SILVA, J. B. B.; NASCENTES, C. C. Amostragem em suspensão e espectrometria de absorção atômica com forno de grafite na determinação de chumbo em amostras de cabelo. In: XV

Encontro Nacional de Química Analítica, 2009, Salvador. XV Encontro Nacional de Química Analítica, 2009.

- 5- NASCENTES, C. C.; SOARES, A. R.; OLIVEIRA, R. F.; SILVA, J. B. B. Slurry sampling procedure for the determination of lead in human hair by electrothermal atomic absorption spectrometry. In: Colloquium Spectroscopicum Internationale XXXVI, 2009, Budapest. CSI XXXVI, 2009.
- 6- SOARES, A. R.; SILVA, J. B. B.; NASCENTES, C. C. Otimização de método para determinação de chumbo em tinturas capilares empregando amostragem em suspensão e GF AAS. In: XVI Congresso Brasileiro de Toxicologia, 2009, Belo Horizonte. XVI Congresso Brasileiro de Toxicologia, 2009.