

**CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA DE MINAS GERAIS  
(CEFET-MG)**

**Laíza Alves**

**OTIMIZAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO  
DE CHUMBO E COBRE EM AMOSTRAS DE TINTURAS CAPILARES  
EMPREGANDO ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA EM FORNO DE  
GRAFITE**

**Belo Horizonte (MG)**

**2020**

**Laíza Alves**

**OTIMIZAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO  
DE CHUMBO E COBRE EM AMOSTRAS DE TINTURAS CAPILARES  
EMPREGANDO ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA EM FORNO DE  
GRAFITE**

**Trabalho de conclusão de curso apresentado  
como requisito parcial para a obtenção do  
título de Bacharel em Química Tecnológica.  
Orientador: Prof. Dr. Patrícia Sueli de  
Rezende.**

**CEFET-MG**

**Belo Horizonte (MG)**

**2020**

**Laíza Alves**

**OTIMIZAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO  
DE CHUMBO E COBRE EM AMOSTRAS DE TINTURAS CAPILARES  
EMPREGANDO ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA EM FORNO DE  
GRAFITE**

**Trabalho de conclusão de curso do Bacharelado em  
Química Tecnológica  
CEFET-MG**

**Belo Horizonte, 12 de novembro de 2020**

**Prof. Dr. Patrícia Sueli de Rezende  
(Orientadora – CEFET-MG)**

**Prof. Dr. Cleverson Fernando Garcia  
(avaliador – CEFET-MG)**

**Prof<sup>a</sup>. Dra. Flávia Regina de Amorim  
(avaliadora - CEFET-MG)**

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus pela oportunidade de realizar esse sonho, por me sustentar em cada etapa desta caminhada e por ser minha força e auxílio em momentos de dificuldades.

Aos meus pais, por serem sempre minha base, pela paciência, educação e carinho comigo, que sempre me apoiaram, estiveram ao meu lado a cada dia e pela compreensão nos momentos difíceis.

Aos meus familiares, por me apoiarem e sempre torcerem pelo meu sucesso. Meus avós pelas orações e conselhos. Agradeço em especial ao meu noivo, Higor, que nunca mediu esforços para me ajudar, estando sempre ao meu lado e me dando força em todos os momentos dessa jornada.

Aos mestres por compartilharem todo conhecimento com paciência e estarem sempre dispostos a ajudar, dentro e fora da sala de aula. Ao professor Cleverson por disponibilizar equipamentos para realização deste trabalho. Ao professor Leonel por me ajudar esclarecendo dúvidas. Agradeço em especial à minha orientadora Patrícia Rezende, que é minha referência de profissional, um exemplo de professora. Agradeço à sua paciência, dedicação e conhecimento compartilhado, tanto pessoalmente quanto virtualmente, durante não só o período deste trabalho mas em todo o curso.

Ao Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais e ao Departamento de Química, pela disponibilização de laboratórios, materiais e reagentes para realização dos experimentos e aos funcionários por todo auxílio.

A todas as pessoas que me ajudaram na doação das amostras, em especial minha madrinha Emiliane França, que me presenteou com a compra das 15 amostras que seriam utilizadas no trabalho.

Aos amigos e colegas, pelo incentivo, apoio e paciência. Agradeço em especial à Letícia e a Mayara, por sempre estarem ao meu lado, me ouvindo e me apoiando. À Viviane, por sempre me ajudar quando preciso.

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

Meus sinceros agradecimentos.

## RESUMO

### **ALVES, L.; REZENDE, P. S. Otimização e Desenvolvimento de métodos para determinação de chumbo e cobre em amostras de tinturas capilares empregando Espectrometria de Absorção Atômica em forno de grafite (GF AAS).**

O costume de pintar os cabelos existe desde a antiguidade. Os primeiros povos a tingir os cabelos foram os egípcios. No entanto, com a evolução e interesse de consumidores pelos cosméticos, os corantes sintéticos têm sido de maior procura, uma vez que estes produtos possuem grande variedade de cores. Além disso, foram surgindo diferentes tipos de tinturas capilares, como as tinturas temporárias, semipermanentes e permanentes, cada uma com sua finalidade específica. A desvantagem disso é que as tinturas capilares sintéticas possuem grande quantidade de substâncias com potencial nocivo, como amônia, peróxido de hidrogênio e metais tóxicos, como chumbo e cobre, e isso traz consequências negativas, tornando esses produtos agressivos para o organismo humano. Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo a otimização e desenvolvimento de método para quantificar chumbo e cobre em amostras de tinturas capilares, empregando a Espectrometria de Absorção Atômica em Forno de Grafite (GF AAS), técnica analítica sensível a baixas concentrações ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ). As amostras de tinturas utilizadas para otimização e validação do método foram do tipo em creme na cor castanho escuro. Foi realizada a abertura das amostras com  $\text{HNO}_3$  concentrado, sob aquecimento em bloco digestor, em tubos fechados. Também foi realizada a otimização do método para determinação da concentração de chumbo nas amostras e a otimização e parte da validação do método para determinação da concentração de cobre nas amostras. A otimização foi feita em três etapas, sendo elas a triagem de modificadores, planejamento fatorial completo  $2^3$  e o planejamento composto central (CCD) para reduzir o número de ensaios e obter um método com as melhores respostas. A validação foi realizada de acordo com as instruções do guia do Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO). As condições otimizadas para o chumbo foram de  $266^\circ\text{C}$  para temperatura de pirólise e  $1690^\circ\text{C}$  para temperatura de atomização, utilizando o zircônio como modificador químico. Já para o cobre, as temperaturas de  $800^\circ\text{C}$  para pirólise e  $2300^\circ\text{C}$  para atomização, utilizando zircônio como modificador químico foram as condições otimizadas. Todas as figuras de mérito avaliadas na validação obtiveram resultados satisfatórios, de acordo com o guia de validação do INMETRO (2016).

**Palavras-chave:** Tinturas capilares. Chumbo. Cobre. GF AAS. Validação de método.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Representação gráfica do crescimento do mercado consumidor de cosméticos no Brasil. .....	6
Figura 2. Exemplo da estrutura da fibra capilar. ....	8
Figura 3. Corte longitudinal de um atomizador de forno de grafite. ....	14
Figura 4. Avaliação dos modificadores e dos tipos de preparo das amostras para o Chumbo. ....	33
Figura 5. Avaliação dos modificadores e dos tipos de preparo das amostras para o Cobre. ....	34
Figura 6. Tabela ANOVA do segundo CCD do Chumbo, gerado pelo STATISTICA. ....	41
Gráfico 1. Gráfico de Pareto para o planejamento completo $2^3$ com os principais efeitos obtidos para o metal chumbo. ....	38
Gráfico 2. Gráfico de Pareto para o planejamento completo $2^3$ com os principais efeitos obtidos para o metal cobre. ....	38
Gráfico 3. Superfície de resposta do primeiro planejamento CCD para o chumbo. ....	39
Gráfico 4. Superfície de resposta do segundo planejamento CCD para o chumbo. ....	41
Gráfico 5. Superfície de resposta do primeiro (a) e segundo (b) planejamento CCD para o cobre, respectivamente. ....	42
Gráfico 6. Resultados das absorbâncias em relação as temperaturas analisadas no planejamento univariado do cobre. ....	44
Gráfico 7. Resultados das absorbâncias nas regiões de 2300 °C a 2500 °C do planejamento univariado do cobre. ....	44
Gráfico 8. Curvas de adição de padrão e aquosa do parâmetro seletividade para o cobre. ....	45
Gráfico 9. Curva de calibração externa para teste de linearidade do cobre. ....	47
Gráfico 10. Curva de calibração externa para teste de linearidade do cobre retirando o ponto de 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ . ....	48
Quadro 1. Tipos de produtos cosméticos que são considerados de grau 1 e 2. ....	11
Quadro 2. Condições testadas no preparo das amostras de tinturas capilares. ....	23
Quadro 3. Condições operacionais para determinação de Pb e Cu em GF AAS. ....	24
Quadro 4. Programa de forno recomendado pelo fabricante para a determinação de Chumbo em soluções aquosas por GF AAS. ....	24
Quadro 5. Programa de forno recomendado pelo fabricante para a determinação de Cobre em soluções aquosas por GF AAS. ....	25
Quadro 6. Programa de forno utilizado no planejamento fatorial $2^3$ para Chumbo. ....	26
Quadro 7. Programa de forno utilizado no planejamento fatorial $2^3$ para Cobre. ....	26

Quadro 8. Matriz utilizada para o planejamento fatorial completo com os valores reais e codificados para o chumbo.....	27
Quadro 9. Matriz utilizada para o planejamento fatorial completo com os valores reais e codificados para o cobre. ....	27
Quadro 10. Matriz codificada para o planejamento CCD do chumbo e do cobre. ....	29
Quadro 11. Temperaturas de pirólise e atomização de cada nível utilizadas no primeiro planejamento CCD do chumbo.....	39
Quadro 12. Temperaturas de pirólise e atomização de cada nível utilizadas no segundo planejamento CCD do chumbo.....	40
Quadro 13. Temperaturas de pirólise e atomização de cada nível utilizadas nos planejamentos CCD do cobre.....	42
Quadro 14. Temperaturas de pirólise e atomização sugeridas por meio do deslocamento. ....	43

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Preparo da curva de adição de padrão utilizada no parâmetro de seletividade.....	30
Tabela 2. Resultados do cálculo de massa característica utilizada para escolha dos modificadores. .....	35
Tabela 3. Desvio padrão dos preparos realizados com os modificadores, em porcentagem, para o chumbo. ....	36
Tabela 4. Desvio padrão dos preparos realizados com os modificadores, em porcentagem, para o cobre.....	36
Tabela 5. Matriz codificada e respostas em absorbâncias do planejamento fatorial $2^3$ , para chumbo e cobre. ....	37
Tabela 6. Matriz codificada e resultados do segundo planejamento CCD para o chumbo. ....	40
Tabela 7. Resultados do planejamento univariado para o cobre em absorbância e sinal de fundo. .....	44
Tabela 8. Valores em absorbância das curvas analisadas e resultados dos testes F e t para a seletividade do cobre.....	46
Tabela 9. Faixa de trabalho escolhida para o método do cobre. ....	49

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ABDI** - Agência Brasileira de Desenvolvimento Industrial
- ABIHPEC** - Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos
- Abs** - Absorbância
- ANVISA** - Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- BG** - *Background*
- CCD** - Planejamento Composto Central (do inglês *Central Composite Design*)
- DPASV** - Voltametria de pulso diferencial de redissolução anódica (do inglês *Differential Pulse Anodic Stripping Voltammetry*)
- DPR** - Desvio padrão relativo
- FAAS** - Espectrometria de Absorção Atômica por Chama (do inglês *Flame Atomic Absorption Spectroscopy*)
- FT** - Faixa de Trabalho
- GF AAS** - Espectrometria de Absorção Atômica por Forno de Grafite (*Graphite Furnace Atomic Absorption Spectroscopy*)
- HPPC** - Higiene pessoal, perfumaria e cosméticos
- IARC** - Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (do francês *International Agency for Research on Cancer*)
- ICH** - Conferência Internacional de Harmonização (do inglês *International Conference on Harmonisation*)
- ICP-MS** - Espectrometria de Massa por Plasma Acoplado Indutivamente (do inglês *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*)
- ICP-OES** - Espectrometria de Emissão Óptica por Plasma Acoplado Indutivamente (do inglês *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*)
- INMETRO** - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial
- ISO** - Organização Internacional de Normalização (do inglês *International Organization for Standardization*)
- LD** - Limite de detecção
- LDE** - Limite de detecção do equipamento
- LDM** - Limite de detecção do método
- LQ** - Limite de Quantificação
- NBR** - Norma Técnica Brasileira
- OMS** - Organização Mundial da Saúde

**PC** - Ponto Central

**RDC** - Resolução da Diretoria Colegiada

**TA** - Temperatura de atomização

**TP** - Temperatura de pirólise

## LISTA DE SÍMBOLOS E UNIDADES

**%** - Por cento

**±** - Mais ou menos

**µg g<sup>-1</sup>** - Micrograma por grama

**µg L<sup>-1</sup>** - Micrograma por litro

**µL** - Microlitro

**g** - Grama

**L min<sup>-1</sup>** - Litro por minuto

**mA** - Miliampere

**mg** - Miligrama

**mg L<sup>-1</sup>** - Miligrama por litro

**mL** - Mililitro

**mol L<sup>-1</sup>** - Mol por litro

**n<sup>o</sup>** - Número

**ng g<sup>-1</sup>** - Nanograma por grama

**nm** - Nanômetro

**° C** - Graus Celsius

**ppb** - Partes por bilhão

**R** - Coeficiente de regressão linear

**s** - Segundos

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1. Histórico de produtos cosméticos .....	4
2.2. Mercado atual da indústria de cosméticos .....	5
2.3. Tinturas Capilares .....	7
2.4. Legislação Brasileira para produtos cosméticos .....	10
2.5. Metais e os riscos para os consumidores de tinturas capilares.....	11
2.6. Métodos analíticos aplicados na determinação de metais em produtos cosméticos.....	13
2.7. Preparo de amostras .....	16
3. MATERIAIS E MÉTODOS .....	22
3.1 Preparo da amostra .....	22
3.2 Instrumentação .....	23
3.3 Otimização .....	23
3.3.1 Triagem de modificadores .....	25
3.3.2 Planejamento fatorial completo $2^3$ .....	25
3.3.3 Planejamento CCD .....	28
3.4 Validação do método .....	29
3.4.1 Seletividade .....	29
3.4.2 Linearidade .....	30
3.4.3 Sensibilidade .....	30
3.4.4 Limite de detecção e de quantificação .....	31
3.4.5 Faixa de trabalho .....	31
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	32
4.1. Preparo de amostra e triagem de modificadores .....	32
4.2. Otimização.....	36
4.3. Validação .....	45
4.3.1. Seletividade .....	45
4.3.2. Linearidade.....	46
4.3.3. Sensibilidade.....	48
4.3.4. Limite de detecção e Limite de quantificação.....	48
4.3.5. Faixa de Trabalho .....	49
5. CONCLUSÃO.....	50
6. PERSPECTIVAS FUTURAS .....	51
7. REFERÊNCIAS.....	52

## 1. INTRODUÇÃO

Produtos cosméticos são composições que consistem de substâncias naturais ou sintéticas, sendo apenas de uso externo nas diversas partes do corpo humano com o objetivo de embelezamento, limpeza ou alteração da aparência, além de promover a correção de odores corporais e ou mantê-los em bom estado, segundo a RDC Nº 07, de 10 de Fevereiro de 2015 (BRASIL, 2015). Sendo assim, tinturas capilares são consideradas produtos cosméticos.

Tingir os cabelos faz parte da vida humana desde os tempos antigos. Os primeiros povos a tingir os cabelos foram os egípcios. Até o século XIX o tingimento era realizado por meio de corantes extraídos das plantas (PINHEIRO *et al*, 2002). No entanto, com a evolução e interesse de consumidores pelos cosméticos, os corantes sintéticos têm sido de maior procura, uma vez que estes produtos possuem grande variedade de cores. Além disso, foram surgindo diferentes tipos de tinturas capilares, como as tinturas temporárias, semipermanentes e permanentes, cada uma com sua finalidade específica (GOMES, 1999). Portanto, há um elevado crescimento no mercado de produtos cosméticos, visto que, não só as tinturas capilares como qualquer outro cosmético está em desenvolvimento contínuo de novas matérias-primas, processos e inovações.

O Brasil é o quarto maior mercado consumidor de produtos de higiene pessoal e perfumaria, sendo este setor o segundo do país que mais investe em inovação, o que corresponde a 2,8% da população mundial. O brasileiro é responsável por 6,9% do consumo de produtos de higiene, perfumaria e cosméticos. O mercado do Brasil ocupa o 3º lugar em vendas de produtos capilares, destacando a importância deste setor no país (ABIHPEC, 2018).

Mesmo sendo aplicados topicamente, alguns produtos cosméticos possuem componentes que podem penetrar a barreira cutânea, sendo então absorvidos pelo organismo (CASTANEDO-TARDAN; ZUG, 2009 *apud* SOARES, 2012). Isso pode se tornar prejudicial à saúde humana quando diz respeito aos componentes tóxicos. Nos produtos para cabelo, esse fato possui algumas desvantagens, uma vez que as tinturas capilares sintéticas possuem grande quantidade de componentes com potencial alergênico e/ou até mesmo tóxico, como amônia, peróxido de hidrogênio e íons metálicos, como chumbo e cobre, e isso traz consequências negativas, tornando-os agressivos para o organismo humano (HEMIELEWSKI; SILVEIRA, 2007). Compostos orgânicos de chumbo podem penetrar através da pele e quando se diz respeito às tinturas capilares, o chumbo pode estar presente como acetato de chumbo (sal orgânico) e com isso há alta possibilidade desse metal entrar no organismo humano pela penetração no couro cabeludo. Pode haver também inalação durante a aplicação da tinta, e como o chumbo é um metal bioacumulativo, há o risco de acumular uma dose alta desse elemento no

organismo, causando assim problemas de saúde, como anemia, encefalopatia, perda de memória, convulsões, paralisia, entre outras doenças (SOARES, 2012). Já o cobre pode ser encontrado nas tinturas capilares em forma de sais, como cloreto ou sulfato de cobre e esses sais possuem afinidade com a queratina do cabelo. Altos níveis de cobre no organismo podem causar problemas no fígado e nos rins. Assim como o chumbo, esse metal também é bioacumulativo e, portanto, dependendo do grau de exposição ao metal pode acarretar danos à saúde, apesar de ser menos tóxico que o chumbo (MOREIRA; MOREIRA, 2004; RODRIGUES, *et al*, 2009). Com isso, é possível observar a necessidade de avaliar a concentração desses metais em tinturas capilares.

A qualidade do produto é de extrema importância, uma vez que está diretamente ligada a proteção do consumidor. De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), 2013, a quantidade máxima permitida de acetato de chumbo nas tinturas capilares é de 0,6% (calculada como chumbo), visto que nessa quantidade os danos ao organismo humano são pouco prováveis. No entanto, não é especificada a quantidade máxima permitida de cobre nesses produtos.

O presente trabalho teve como objetivo principal desenvolver métodos para quantificar chumbo e cobre em amostras de tinturas capilares (em creme), empregando a Espectrometria de Absorção Atômica em Forno de Grafite (GF AAS). Nesta metodologia, a amostra é introduzida em um tubo de grafite, onde ocorre a secagem (evaporação do solvente), pirólise (decomposição da matriz) e atomização do metal. Uma fonte de radiação externa (lâmpada de cátodo oco) incide sobre o vapor do metal confinado no tubo que é gerado na etapa de atomização. Devido à atomização de toda alíquota injetada no tubo e o confinamento temporário do vapor gerado, essa técnica é de alta sensibilidade, capaz de quantificar com alta precisão baixas concentrações do analito ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) (SKOOG *et al*, 2016).

Para utilização desta metodologia, foi necessário realizar a otimização do método, selecionando o melhor modificador químico e as melhores temperaturas que convertem o analito em sua espécie volátil com o mínimo de efeito de matriz. A validação dos métodos foi iniciada, tendo sido avaliados os parâmetros seletividade, faixa de trabalho, linearidade, sensibilidade, limite de detecção, limite de quantificação, exatidão e precisão (nos níveis de repetitividade e precisão intermediária), de acordo com o descrito pelo Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO, 2016), para então determinar a concentração dos metais (chumbo e cobre) nas amostras.

Portanto, os objetivos específicos deste trabalho foram:

- Otimização do método de quantificação de chumbo em tinturas capilares por GF AAS;

- Otimização do método de quantificação de cobre em tinturas capilares por GF AAS;
- Validação do método de quantificação de cobre em tinturas capilares por GF AAS, de acordo com o guia do INMETRO (2016).

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Histórico de produtos cosméticos

Cosmético é uma palavra originada do grego *kosmetikós*, que tem como significado “hábil em adornar, ou seja, o que serve para ornamentar”. O uso de cosméticos é comum desde a antiguidade, mesmo que em menor escala e com menor variedade de produtos. Sua história teve início com os homens pré-históricos, os quais pintavam seus corpos a cerca de 30 mil anos atrás, usando terra, cascas de árvores, seiva de folhas esmagadas e orvalho (TREVISAN, 2011; GAO *et al.*, 2015). Contudo, acredita-se que os primeiros a registrar uso de produtos cosméticos foram os egípcios, que eram habituados a se banharem com uma mistura perfumada de cinzas ou argila, além de usarem sais de antimônio ou manganês para pintar os olhos e o rosto. Alguns relatos de historiadores afirmam que a rainha do Egito, Cleópatra, usava leite para hidratar a pele e o cabelo durante o banho. Outra razão para o uso de produtos cosméticos era a religião, uma vez que eram usados em cerimônias religiosas ou rituais algumas resinas e unguentos de perfumes de aroma suaves (GALEMBECK; CSORDAS, n.d.).

Com grande desenvolvimento de produtos na época, os gregos entraram na história da cosmetologia com uma contribuição significativa. Foram eles os primeiros a desenvolver e produzir sabões à base de óleos vegetais como azeite de oliva, além dos produtos à base de minerais alcalinos que eram resultado da moagem de rochas. Isso porque na Grécia antiga era bastante comum a prática de “tomar banho”. Com isso, os gregos espalharam vários produtos de beleza e formulações cosméticas por toda a Europa, além do culto ao corpo e ao banho. Pode-se afirmar com isso, que foi na Grécia que surgiu o conceito de estética e do padrão clássico de beleza, fazendo com que, ao passar dos anos mais produtos fossem desenvolvidos (GALEMBECK; CSORDAS, n.d; MIRANDA, 2018).

Em Roma, famosos da época, principalmente atores, usavam pinturas por meio de maquiagens que eram produzidas com pigmentos naturais, extraídos de rochas. Isso acarretou na morte de muitos atores por intoxicação, uma vez que muitos desses pigmentos continham em sua composição chumbo e/ou mercúrio (GALEMBECK; CSORDAS, n.d; MIRANDA, 2018).

As tinturas capilares também têm sua importância desde os tempos antigos. No século XVI, as mulheres europeias clareavam os cabelos misturando enxofre negro, alúmen e mel, uma vez que, cabelos loiros eram considerados como símbolo de formosura. Já no século XVII, foram surgindo profissionais da área dos cosméticos que adotavam a prática de banho de vinho ou de leite nos cabelos (NOHYNEK *et al.*, 2004). Segundo Nohynek e seus colaboradores (2004), foram encontrados no Egito registros de múmias com cabelo pintado de

hena. Já no Império Romano pentes de chumbo mergulhados no vinagre eram utilizados com o objetivo de escurecer cabelos grisalhos.

De fato foi no século XX que houve um avanço significativo na área dos cosméticos, pois sua produção passou de artesanal para escala industrial. Isso evidencia que a tecnologia e o mercado consumidor ganharam mais espaço, representando atualmente um grande setor na economia, de acordo com a Agência Brasileira de Desenvolvimento Industrial (ABDI), (2009). Com o avanço da tecnologia na área dos cosméticos, os relatos de infecções e intoxicações com produtos cosméticos cresceram e diante disso fez-se necessário se atentar aos contaminantes e compostos tóxicos nestes tipos de produto. Sendo assim, na década de 60 surgiram estudos que permitiam a identificação de contaminantes, para que houvesse instruções na fabricação e armazenagem de cada produto (PINTO, KANEKO e PINTO, 2010).

Foi na década de 90 que produtos multifuncionais foram surgindo e, com eles, as matérias-primas também multifuncionais foram ganhando espaço. Além disso, cada vez mais os cosméticos faziam parte do cotidiano das pessoas, uma vez que esses produtos traziam resultados satisfatórios em pouco tempo (GALEMBECK; CSORDAS, n.d.). Assim sendo, os produtos de tinturas capilares também foi evoluindo e ganhando espaço nas prateleiras dos comércios, com variedade de cores e efeitos para agradar todo e qualquer tipo de pessoa.

## **2.2. Mercado atual da indústria de cosméticos**

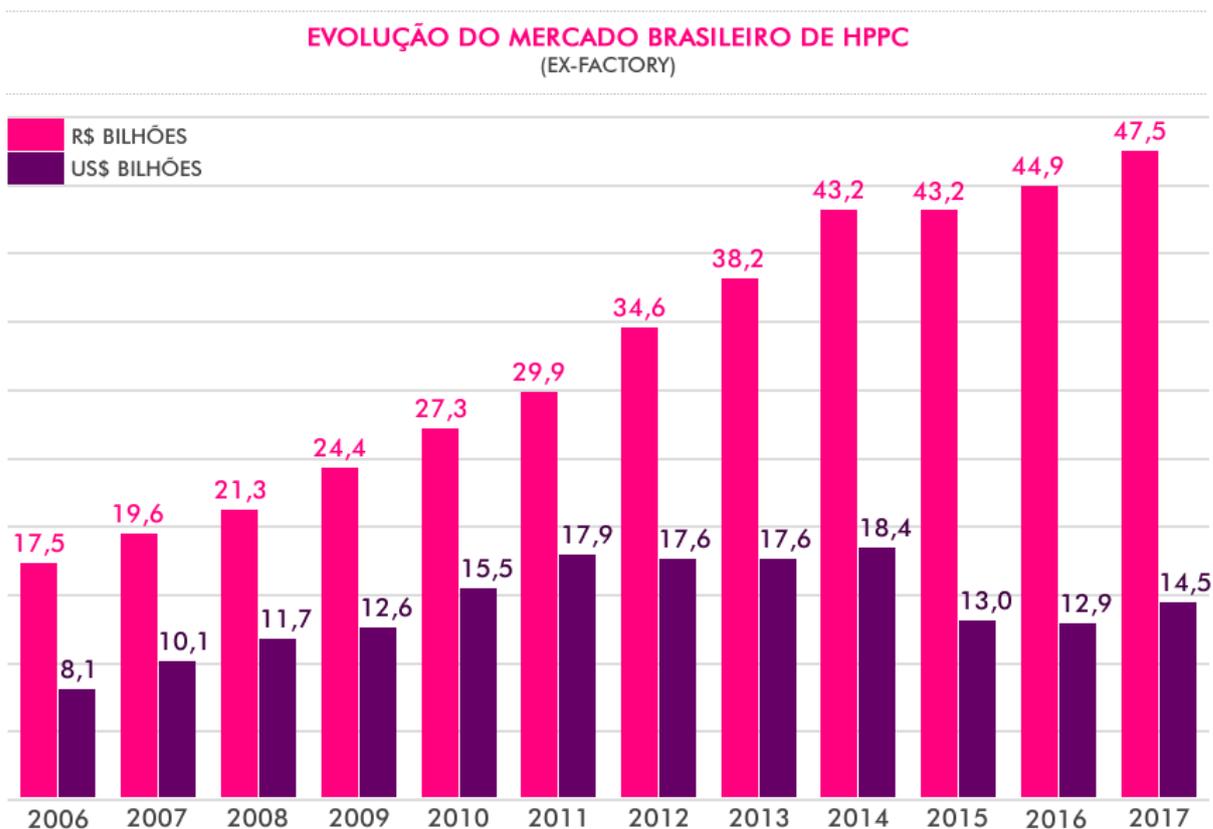
A indústria de cosméticos vem crescendo de forma significativa ano após ano no Brasil. Vários fatores contribuem para tal realidade, como o constante desenvolvimento da tecnologia de ponta, investindo na inovação de produtos cada vez mais eficientes, que atendem as diversas necessidades dos consumidores e consequente aumento no setor produtivo. Outro fator que contribui é a crescente participação da mulher no mercado de trabalho, além do interesse das pessoas em manterem o bem-estar e conservar a jovialidade, com melhor qualidade de vida (ABDI, 2009; MIRANDA, 2018).

Estatisticamente, a indústria brasileira de higiene pessoal, perfumaria e cosméticos (HPPC) cresceu cerca de 10,9% entre 1996 e 2006, tendo faturamento de R\$ 4,9 bilhões em 1996 e R\$ 17,5 bilhões em 2006. No ano de 2010 o crescimento foi de 9,5%, já em 2011 o setor brasileiro atingiu o maior crescimento percentual entre os dez maiores mercados mundiais, que foi de 10,1%, segundo dados da Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos (ABIHPEC, 2011; ABIHPEC, 2020).

Devido a crises econômicas sofridas pelo país, principalmente entre 2015 e 2016 o mercado consumidor afetou também no âmbito dos cosméticos. Ainda assim, em 2017 este setor se reergueu no mercado, ocupando o quarto lugar no ranking mundial de consumo de

HPPC, atrás apenas dos Estados Unidos, China e Japão, com crescimento de aproximadamente 2,8%. O setor registrou uma alta em vendas no ano de 2020, cerca de 0,6% de faturamento, mesmo com o cenário de pandemia registrado nesse ano (ABIHPEC, 2018; ABIHPEC, 2020). Vê-se na Figura 1 a representação gráfica do crescimento do mercado consumidor de cosméticos no Brasil até o ano de 2017, que são dados mais recentes da ABIHPEC (ABIHPEC, 2018).

**Figura 1.** Representação gráfica do crescimento do mercado consumidor de cosméticos no Brasil.



Fonte. ABIHPEC, 2018.

Quanto aos produtos capilares, o Brasil ocupa o terceiro lugar no mercado mundial. No que diz respeito à coloração capilar, o crescimento também é significativo. De acordo com a ABIHPEC (2018), a categoria hoje alcança 51,4% dos lares brasileiros. A inovação nesse ramo também é frequente. O desenvolvimento de produtos eficientes, com ação rápida e de boa qualidade, além da variedade de cores e produtos foi também motivo de tal crescimento. Ademais, não somente as mulheres estão em busca de produtos como tinturas capilares, mas também o mercado brasileiro masculino tem ganhado espaço no setor, o que eleva ainda mais o mercado consumidor (ABIHPEC, 2018; ABIHPEC, 2019).

### 2.3. Tinturas Capilares

Tingir os cabelos é uma prática antiga, que vêm sendo cada vez mais comum na sociedade. De acordo com Franquilino (2019), dados de Nielsen de 2016, revelam que tinturas capilares estão presentes em 51,4% dos lares brasileiros, visto que mudar a cor do cabelo está relacionado com autoestima e a experimentação de mais cores em um curto intervalo de tempo tem crescido cada vez mais (FRANQUILINO, 2019).

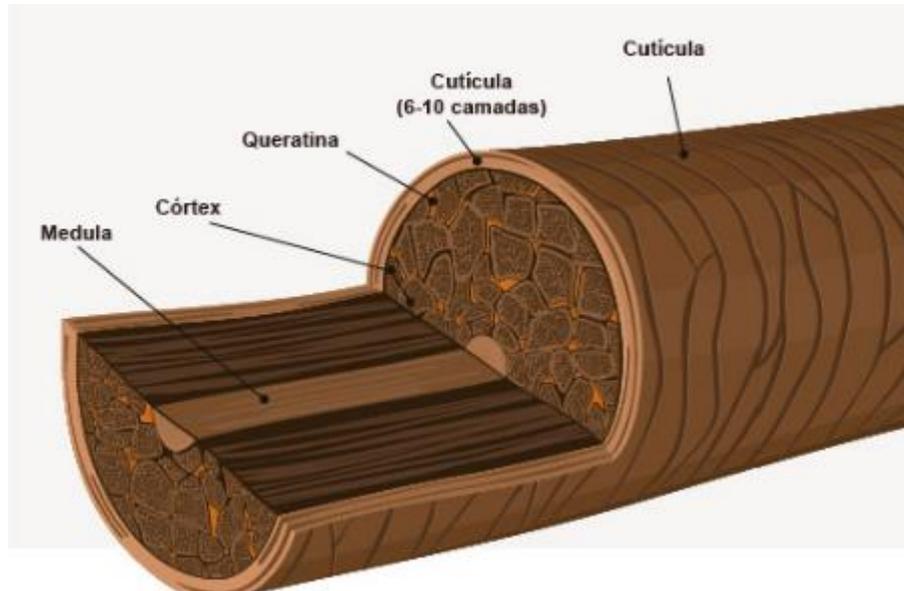
O cabelo é uma fibra morta que possui o objetivo de trazer proteção ao couro cabeludo (HOREV, 2004). De acordo com Feughelman (1997), o cabelo é um anexo da epiderme, cobre os tecidos externos do corpo e funciona como um isolante térmico, protegendo a cabeça e a pele de raios solares por meio da melanina, além de proteger a cabeça contra abrasão mecânica por meio do couro cabeludo. Os fios são produzidos no folículo piloso e este folículo é uma invaginação epidérmica contendo estrutura queratinizada (pelo). Existe em toda a superfície cutânea exceto nas palmas das mãos, pés, lábios, glândula, pequenos lábios. Em outras palavras, os cabelos são compostos por células mortas da epiderme e passam pela queratinização. As células que produzem a queratinização, denominadas queratinócitos, se proliferam rapidamente para formar as estruturas capilares (SANTOS *et al*, 2016).

A fibra capilar é composta por três estruturas. A cutícula é a estrutura mais externa, que protege os fios, sendo conhecida como camada protetora. É uma estrutura lipoproteica, amorfa e possui a capacidade de aumentar de volume devido ao baixo conteúdo de cisteína. Com isso, algumas moléculas pequenas conseguem atravessar a cutícula e chegar ao córtex, que é a segunda estrutura da fibra capilar. É o córtex que possui a maior quantidade de massa do cabelo. Contém células alongadas e é também o córtex que possui o pigmento natural do cabelo, denominado melanina (FRANQUILINO, 2019). Santos e seus colaboradores (2016) também afirmam que as melaninas produzidas nos melanócitos se encontram distribuídas no córtex, sob a forma de grânulos ovais ou esféricos e são responsáveis pela pigmentação natural dos cabelos.

Existem dois tipos de melanina, a eumelanina, polímero que possui forma semelhante a um grão de arroz. Sua coloração varia de vermelho a preto escuro. Há também a feumelanina, em que sua formação começa quando um produto intermediário da eumelanina reage com a cisteína. As moléculas que são formadas nessa reação contém enxofre, proveniente da cisteína. Possui graduação do amarelo ao vermelho. Sendo assim, o cabelo possui dois tipos de melanina e quanto maior a quantidade de eumelanina, mais escuro será o fio (FRANQUILINO, 2019; SANTOS *et al*, 2016). A terceira estrutura é a medula que se encontra no centro da fibra capilar, sendo a camada mais interna. Suas células possuem aspecto esponjoso e sua função não foi ainda definida (FRANQUILINO, 2019). De acordo com TORRES *et al*. (2005), a presença da

medula ao longo do cabelo geralmente é descontinuada ou até ausente e esta não interfere na estrutura capilar. As estruturas da fibra capilar estão representadas na Figura 2.

**Figura 2.** Exemplo da estrutura da fibra capilar.



Fonte. Franquilino, 2019

Elementos inorgânicos podem se ligar aos cabelos com facilidade, causando a mudança na coloração. Isso pode acontecer após a exposição a substâncias exógenas, por exemplo, a cor verde remete a cromo, cobre, cobalto e níquel; a cor castanho remete a ferro; e a cor cinza escuro a alguns metais tóxicos, tais como chumbo e prata (JONES, 2006).

As tintas de cabelo possuem quatro classificações diferentes, sendo elas a permanente, semipermanente, temporárias e naturais. A composição destas depende do tipo de coloração. Esta classificação está relacionada com o tempo em que a tinta permanece nos fios, além do tamanho das moléculas dos corantes e da presença de agentes modificadores da estrutura dos fios (KIRKLAND *et al.*, 2005; PINHEIRO *et al.*, 2002).

As colorações permanentes são as que possuem um efeito mais duradouro no cabelo, resistente a lavagens com shampoo, aplicação de temperatura para secagem, dentre outros fatores. Esse tipo de coloração atua diretamente no córtex e os precursores de pigmentos são moléculas pequenas capazes de penetrar no interior do córtex. Esses precursores irão se polimerizar dentro do fio (OLIVEIRA, 2013; FRANQUILINO, 2019). Um dos componentes utilizados nas tintas permanentes é o peróxido de hidrogênio, também conhecido como água oxigenada, que é capaz de revelar a cor do corante no cabelo. Sua ação é na oxidação dos pigmentos melânicos do cabelo que estão na sua cor natural. Assim, ocorre a abertura das cutículas e absorção do corante e da amônia para fixação da cor (HEMIELEWSKI; SILVEIRA, 2007). Neste tipo de tintura, há grande afinidade entre o corante e a queratina do cabelo, o que

permite a reaplicação do produto somente quando há crescimento dos fios, uma vez que a raiz cresce com a tonalidade natural (PRUNIÉRAS, 1994). Dentro desta classificação existem outros dois tipos de tinturas, sendo as tinturas capilares oxidativas, onde misturam-se uma solução de pigmentos, aminas primárias, amônia e uma solução oxidante (peróxido de hidrogênio). O outro tipo são as tinturas capilares progressivas, que são comuns para cobrir cabelos grisalhos. É composto por sais de chumbo, bismuto ou prata e as partículas metálicas vão interagir com resíduos de cisteína presente na queratina, o que provoca a mudança da cor (CORBETT, 1999; SOARES, 2012).

As colorações semipermanentes possuem ação na parte externa do cabelo e por meio da abertura da cutícula dos fios. No entanto possuem efeito menos duradouro comparando-se às colorações permanentes, resistindo entre 8 e 12 lavagens após sua aplicação (FRANQUILINO, 2019). Em suas formulações contém água oxigenada, corantes artificiais hidrossolúveis e de baixo peso molecular, evidenciando a baixa durabilidade da cor, uma vez que pode retornar para fora dos fios (HEMIELEWSKI; SILVEIRA, 2007). Além desses componentes, há também os agentes de tratamento e uma pequena concentração de amônia. As tinturas semipermanentes normalmente são aplicadas sobre o cabelo úmido ou em conjunto com tensoativos, como por exemplo os shampoos tonalizantes, e penetram na parte externa do talo do cabelo, provocando a coloração. Geralmente a durabilidade da tinta no cabelo é de um mês, dependendo da frequência de lavagem dos fios (SOARES, 2012).

As tinturas que são classificadas como temporárias permanecem nos cabelos por um curto período de tempo, entre duas e três lavagens (FRANQUILINO, 2019). Em sua composição não são incluídos a amônia e os corantes utilizados nessa classificação de tintura possuem baixa interação com a queratina do cabelo, justificando assim a facilidade de remoção da tinta (SOARES, 2012). As colorações temporárias possuem a finalidade de dar nova cor aos fios, corrigir cores indesejáveis e até mesmo intensificar cores durante o intervalo de uso das colorações permanentes (FRANQUILINO, 2019; HEMIELEWSKI; SILVEIRA, 2007). Elas possuem diversas apresentações, como shampoo, gel, emulsão e solução (líquida). Já as tinturas naturais são produzidas por meio da extração das folhas de *Lawsonia inermis*, ou o *lawsone* (2-hidroxi-1,4-naftoquinona) (NOHYNEK *et al.*, 2004). Por serem compostos naturais, essas tinturas possuem baixa variedade de cores, o que prejudica a preferência por parte dos consumidores, uma vez que as tinturas sintéticas têm mais opções de cores. No entanto, sua durabilidade é semelhante às colorações semipermanentes (SOARES, 2012).

## 2.4. Legislação Brasileira para produtos cosméticos

De acordo com a ANVISA, órgão nacional que atua na vigilância sanitária do setor de cosméticos no Brasil, por meio da RDC N° 332, de 1° de Dezembro de 2005, entrou em vigor a obrigatoriedade da implementação do sistema de Cosmetovigilância nas empresas, sejam elas fabricantes ou importadoras de Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes, a partir do dia 31 de dezembro de 2005 (BRASIL, 2005). De acordo com esta RDC,

“O Sistema de Cosmetovigilância de Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes, facilitará a comunicação, por parte do usuário, sobre problemas decorrentes do uso, defeitos de qualidade ou efeitos indesejáveis e o acesso do consumidor à informação.” (BRASIL, 2005).

As empresas cosméticas deverão também registrar e avaliar todos os relatos de consumidores em relação aos problemas do cosmético. Além disso, o Art. 3 dessa legislação diz que:

“Se do resultado da avaliação dos relatos identificarem situações que impliquem em risco para a saúde do usuário, as empresas fabricantes e/ou importadoras dos Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes instalados no território nacional deverão notificar à Autoridade Sanitária Federal do Brasil (Anvisa) e dos Estados Partes do Mercosul envolvidos.” (BRASIL, 2005).

A Legislação vigente no Brasil diz que produtos cosméticos, assim como produtos de higiene pessoal e perfumaria são composições que consistem de 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 de embelezamento, limpeza ou alteração da aparência, além de promover a correção de odores corporais e ou mantê-los em bom estado, segundo a RDC N° 07, de 10 de Fevereiro de 2015 (BRASIL, 2015).

Esta resolução subdivide tais produtos em duas categorias de acordo com o seu grau de risco sanitário, sendo eles grau 1:

“Produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes cuja formulação cumpre com a definição adotada no item I do Anexo I desta Resolução e que se caracterizam por possuírem propriedades básicas ou elementares, cuja comprovação não seja inicialmente necessária e não requeiram informações detalhadas quanto ao seu modo de usar e suas restrições de uso, devido às características intrínsecas do produto, conforme mencionado na lista indicativa.” (BRASIL, 2015).

E os produtos de grau 2, que são:

“Produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes cuja formulação cumpre com a definição adotada no item I do Anexo I desta Resolução e que possuem indicações específicas, cujas características exigem comprovação de segurança e/ou eficácia, bem como informações e cuidados, modo e restrições de uso, conforme mencionado na lista indicativa.” (BRASIL, 2015).

Alguns exemplos de produtos de grau 1 e grau 2 são mostrados no Quadro 1 (BRASIL, 2015).

**Quadro 1.** Tipos de produtos cosméticos que são considerados de grau 1 e 2.

<b>Produtos cosméticos de grau 1</b>	<b>Produtos cosméticos de grau 2</b>
Sabonetes, xampus, cremes e loções hidratantes, óleos, batons, lápis e delineadores, produtos para maquiagem (sem proteção solar), perfumes.	Xampus anticaspa, cremes dentais anticáries e antiplacas, desodorantes íntimos, esfoliantes químicos, protetores labiais, produtos para área dos olhos, fotoprotetores, bronzeadores, tinturas capilares, clareadores, produtos para ondular os cabelos, depilatórios químicos, removedores de cutícula, repelentes de insetos, todos os produtos de uso infantil.

Fonte: Elaborado pela autora. Adaptado de BRASIL, 2015.

Segundo a RDC Nº 7 (2015), os produtos de tinturas capilares se encontram na lista de produtos de grau 2. O limite de concentração segundo a legislação é de 0,6% calculados como Pb, no entanto não dispõe-se da concentração máxima permitida para cobre na legislação. Esta legislação também informa outros tipos de limitações e requerimentos, além de disponibilizar as condições de uso e advertências (BRASIL, 2013).

### **2.5. Metais e os riscos para os consumidores de tinturas capilares**

Metais tóxicos podem estar presentes nas formulações de tinturas capilares, por meio dos pigmentos inorgânicos, como chumbo, mercúrio, cádmio, cromo, arsênio e níquel. Em alguns casos pode acontecer a absorção parcial desses metais pela pele, quando estão solúveis em água, o que é mais comum nos cosméticos que são formulados na forma pastosa ou líquida (SOARES, 2012). Alguns metais são necessários no sistema biológico dos seres vivos, em nível traço. No entanto, quando se trata de concentrações mais elevadas, podem se tornar prejudiciais à saúde humana (MALTEZ, 2007). Isso pode causar alteração nas estruturas celulares, inibição de enzimas vitais ou a geração de radicais livres (SOARES, 2012).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), o chumbo é considerado um dos elementos mais prejudiciais à saúde humana, uma vez que esse metal afeta vários órgãos e sistemas do corpo humano (VANZ *et al.*, 2003). Quanto à classificação IARC (2006), o chumbo faz parte do grupo 2B e os compostos inorgânicos de chumbo estão no grupo 2A. Segundo a IARC (2006),

“Os compostos orgânicos de chumbo são metabolizados, pelo menos em parte, em chumbo iônico, tanto em humanos quanto em animais. Na medida em que o chumbo iônico, gerado a partir do chumbo orgânico, está presente no corpo, espera-se que ele exerça as toxicidades associadas ao chumbo inorgânico” (IARC, 2006).

Existem estudos que apresentam efeitos adversos à saúde com baixos níveis de chumbo no sangue, chegando a concentrações menores que  $100 \mu\text{g L}^{-1}$ , especialmente em crianças. Os principais efeitos desse elemento são no sistema nervoso central, medula óssea e nos rins, sendo esses considerados sítios críticos de exposição do metal (MOREIRA; MOREIRA, 2004). Segundo estudos (IARC, 2006), não foi possível confirmar o mecanismo de carcinogênese do chumbo em humanos, isso porque não foi possível separar exatamente as populações expostas somente ao chumbo orgânico, livre de chumbo inorgânico. No entanto, estudos mostram que os compostos orgânicos de chumbo são metabolizados in vivo, ao menos em parte, com isso, espera-se que esse chumbo metabolizado possua as toxicidades associadas ao chumbo inorgânico, que possuem efeitos carcinogênicos.

Existem compostos de chumbo inorgânico e esses entram no organismo por inalação ou ingestão. Os compostos orgânicos de chumbo podem penetrar através da pele. Quando se diz respeito à tintura capilar, o chumbo está presente como acetato de chumbo, que é um sal orgânico e, portanto, com alta possibilidade de entrar no organismo humano pela penetração no couro cabeludo. Além disso, as fontes de exposição do chumbo são variadas, podendo haver também a inalação durante a aplicação da tinta, e como se trata de um metal bioacumulativo, há o risco de acumular uma dose alta de chumbo no organismo, causando assim problemas de saúde (MOREIRA; MOREIRA, 2004). Alguns problemas que podem ser desencadeados são anemia, encefalopatia, perda de memória, convulsões, paralisia, entre outras doenças (SOARES, 2012). Mulheres grávidas também são prejudicadas, uma vez que o chumbo quando entra no organismo pode atravessar a placenta, comprometendo o desenvolvimento do feto, além disso, outro problema associado ao metal é a redução da fertilidade feminina e masculina (SOARES, 2012; IARC, 2006).

O cobre é um elemento considerado essencial para plantas e animais. De acordo com a IARC (1987), esse metal está no grupo 3 e não possui efeito carcinogênico para os humanos. Pode ser liberado por decomposição vegetal na queima de florestas ou por ação antrópica, como exploração mineral e atividades industriais (MALTEZ, 2007). No entanto, altos níveis de cobre no organismo podem causar problemas no fígado e nos rins. Assim como o chumbo, esse metal também é bioacumulativo e, portanto, dependendo do grau de exposição ao metal pode acarretar danos à saúde, apesar de ser menos tóxico que o chumbo. Normalmente são encontrados sais

de cobre em tintas de cabelo, como cloreto e sulfato de cobre, sendo que este possui afinidade com a queratina (RODRIGUES, *et al*, 2009).

## **2.6.Métodos analíticos aplicados na determinação de metais em produtos cosméticos**

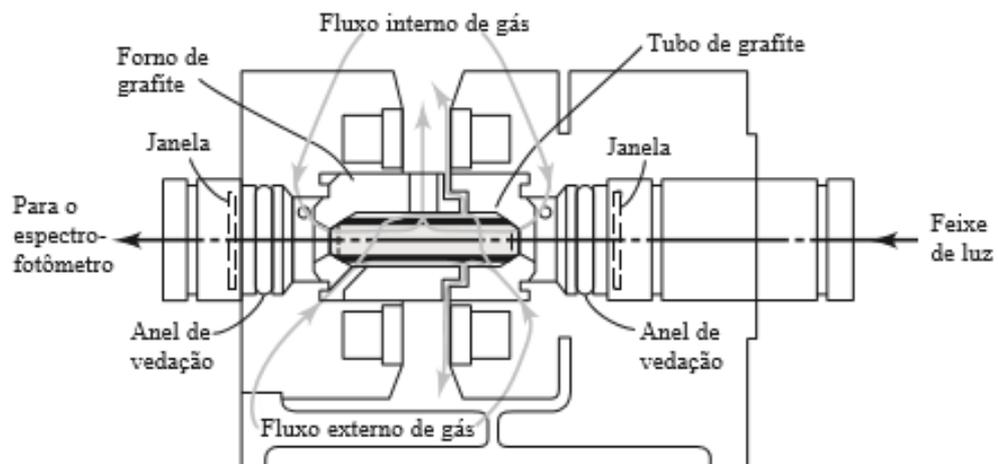
Existem várias técnicas instrumentais na química analítica que são eficazes na quantificação de metais em produtos cosméticos, como a voltametria de pulso diferencial de redissolução anódica (*Differential Pulse Anodic Stripping Voltammetry* - DPASV), que possui a capacidade de detectar elementos-traço em concentrações normalmente presentes no ambiente, concentrações da ordem de  $10^{-11}$ - $10^{-12}$  mol L<sup>-1</sup>, espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente (*Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometry* – ICP-MS), técnica que atinge limites de detecção ao nível de partes por trilhão, espectrometria óptica com plasma acoplado indutivamente (*Inductively Coupled Plasma – Optical Emission Spectrometry* – ICP-OES), técnica de detecção multielementar e pode cobrir limites de detecção de mg L<sup>-1</sup> a µg L<sup>-1</sup>. Além dessas técnicas, existe a espectrometria de absorção atômica, podendo ser em chama (*Flame Atomic Absorption Spectrometry* – FAAS), com capacidade de determinar metais na ordem de mg L<sup>-1</sup>, ou em forno de grafite (*Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry* - GF AAS), podendo trabalhar com concentrações na faixa de µg L<sup>-1</sup>. Outras alternativas viáveis para determinar metais traço em cosméticos são as técnicas potenciométricas e voltamétricas (FERNANDES, 2016).

Ao se escolher determinada técnica, deve-se analisar principalmente sua sensibilidade, ou seja, a variação da intensidade do sinal em relação à concentração do analito, assim como sua exatidão, que é o grau de concordância entre um valor medido (analito) e um valor verdadeiro (ou valor de referência). Além desses fatores, é importante avaliar também a disponibilidade de analito na amostra, a matriz da amostra e os custos de análise. Alguns estudos mostram a eficiência da espectrometria de absorção atômica em forno de grafite para determinação de metais traço em cosméticos. Isso porque a GF AAS possui baixos limites de detecção, na ordem de microgramas por litro (µg L<sup>-1</sup>) e espera-se que a quantidade de metais como cobre e chumbo em amostras de cosméticos seja mínima, portanto essa técnica é bastante utilizada nestes casos. O baixo volume de amostra necessário e o menor tempo gasto para análise também são motivos para que o forno de grafite seja a opção para vários autores, minimizando a quantidade de resíduos gerados em consonância com os princípios da química verde (SOARES, 2012). No entanto, pode haver interferências na técnica, como alterações na introdução da amostra, sinais de *background* (absorção não específica, fundo) e também efeitos

de memória, mas que podem ser minimizados com adequada otimização das condições operacionais (BORGES, 2016; WELZ; SPERLING, 1999).

A espectrometria de absorção atômica é uma técnica que utiliza uma fonte externa de radiação que incide no analito no estado vaporizado. Essa técnica fundamenta-se na interação da radiação com a matéria. A amostra é então convertida em átomos e íons na fase gasosa. Cada elemento absorve luz em um comprimento de onda específico, justificando a seletividade da técnica. Na espectrometria de absorção atômica por forno de grafite (GF AAS), a atomização acontece dentro de um tubo de grafite, representado na Figura 3. Esse tubo possui formato cilíndrico, aberto nas duas extremidades e com um orifício central, por onde a amostra é injetada. Posteriormente, acontece uma série de aquecimentos programados, sendo essas etapas identificadas como secagem, pirólise e atomização. Na secagem acontece a evaporação do solvente da amostra, em temperatura geralmente próxima de  $100^{\circ}\text{C}$ . A pirólise já é um processo com temperatura mais alta, em que a matéria orgânica proveniente da amostra é calcinada e parte da matriz é eliminada, diminuindo riscos de interferência. É comum que a temperatura dessa etapa varie de  $300$  a  $1.200^{\circ}\text{C}$ , dependendo das características da matriz. Por último acontece a atomização (normalmente entre  $2.000$  e  $3.000^{\circ}\text{C}$ ), na qual o analito é vaporizado e o equipamento detecta o metal de interesse. Há dois fluxos de gás inerte, que criam uma corrente de gás, eliminando o ar e carreando os vapores gerados pela matriz para que não haja influência na detecção (SKOOG, 2006; WELZ; SPERLING 2005).

**Figura 3.** Corte longitudinal de um atomizador de forno de grafite.



Fonte. SKOOG, 2006.

Com o objetivo de aumentar a estabilidade térmica do analito, utilizam-se modificadores químicos para as análises por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite. Conseqüentemente a eficiência da etapa de pirólise é influenciada pelos modificadores, permitindo maiores temperaturas nessa etapa (SOARES, 2012). Os modificadores podem ser

introduzidos de forma convencional, sendo injetado juntamente com a amostra, em forma de solução e também de forma permanente, em que o modificador é adicionado previamente nas paredes do tubo de grafite, onde fica fixado por meio de sucessivas aplicações da solução do modificador químico com tratamento térmico. Normalmente são utilizados metais com alta temperatura de fusão, como paládio, platina, irídio, ródio, ou elementos que formam carbetos, como, por exemplo, molibdênio, nióbio, zircônio, vanádio e silício (FROES *et al.*, 2006; ATZ, 2008).

Borges (2016) determinou alumínio em cervejas e vinhos tintos, chumbo em cerveja e cobre em *ice-drinks* empregando GF AAS. Essa técnica foi escolhida no trabalho devido à baixa concentração dos metais nas matrizes analisadas. Os valores encontrados de  $Al^{3+}$  encontram-se na faixa de 166 a 513  $\mu g L^{-1}$ . Os valores encontrados para cobre foram na faixa de 5,2 a 34,2  $\mu g L^{-1}$  e para chumbo em amostras de cerveja foram na faixa de 1,4 e 4,8  $\mu g L^{-1}$  e alumínio de 0,5 a 1,6  $\mu g L^{-1}$ . Além disso, essa técnica permitiu a análise sem nenhum preparo de amostra (análise direta), tornando-se assim, adequado para a determinação de metais nestas matrizes de forma simples e rápida. A autora utilizou modificadores permanentes, que mostrou ser uma alternativa eficaz para minimização de efeitos de matriz, sendo eles ródio na matriz vinho tinto, tungstênio na matriz *ice-drink*. Já na determinação de alumínio em cervejas, utilizou ródio como modificador e na determinação de chumbo em cerveja, utilizou irídio como modificador permanente.

Pessoa *et al* (2012) determinaram Ba em amostras de petróleo utilizando a técnica de GF AAS. A presença desse metal em petróleo bruto deve ser controlada, visto que podem levar a incrustações em tubos de aço, válvulas e outros equipamentos utilizados na perfuração do petróleo bruto. Segundo os autores, essa técnica foi escolhida por ser rápida e de fácil execução, evitando etapas tediosas e demoradas, além disso, eles confirmaram boa precisão nas análises. A faixa de concentração obtida neste trabalho foi entre  $72,8 \pm 3,2$  e  $656 \pm 27$   $ng g^{-1}$ . Eles relataram que o uso de  $CaCl_2$  como modificador foram escolhidos devido aos resultados apresentarem baixos desvios-padrão, indicando baixa interferência da matriz.

Marthe (2011) utilizou a técnica de GF AAS para analisar alumínio, chumbo, cobre, ferro e zinco em folhas, extratos, cápsulas, comprimidos e bebidas originados a partir da alcachofra (*Cynara scolymus L.*) e da catuaba (*Trichilia catigua*). De acordo com a autora, a técnica é uma boa forma para avaliar a presença de metais em amostras de alcachofra e catuaba, uma vez que permitiu a quantificação dos cinco elementos estudados em uma ampla faixa de concentração, visto que os metais apresentam baixas concentrações nas matrizes ( $\mu g g^{-1}$ ).

Batista (2017) inicialmente desenvolveu uma metodologia analítica, utilizando FAAS, para determinação de Pb em batons e tinturas capilares. No entanto, a autora verificou que devido à baixa sensibilidade da técnica, não foi possível quantificar o elemento na maioria das amostras. Sendo assim foi necessário utilizar GF AAS para quantificar Pb nessas amostras, visto que esta apresenta uma melhor sensibilidade, quando comparada à FAAS, pois a amostra é atomizada em um período curto e o tempo médio de permanência dos átomos no caminho óptico é maior, cerca de um segundo ou mais permitindo análises numa faixa de trabalho na ordem de  $\mu\text{g L}^{-1}$  apresentando-se como uma melhor alternativa para determinação de Pb em batons e em tinturas capilares.

### **2.7.Preparo de amostras**

Realizar um tratamento adequado de preparação de uma amostra é o primeiro passo de uma análise. A forma de decomposição dessa amostra irá depender de sua natureza, assim como do elemento de interesse. Além disso, deve-se observar também o método de análise, a precisão e exatidão desejadas. Com isso, a etapa de preparo de amostra é a mais crítica de uma análise e todos esses fatores são importantes na escolha do método de preparo (KRUG, 2008). Se tratando de matrizes orgânicas e analito inorgânico, o preparo de amostras é de grande importância, visto que muitas vezes o metal não se encontra na forma disponível para detecção. O preparo de amostras corresponde ao conjunto de procedimentos que tem o objetivo de converter uma amostra bruta representativa em uma forma mais adequada para análise química (HARRIS, 2013). Além disso, é uma etapa que demanda um tempo maior, mais gasto operacional (custo) e está susceptível a erros sistemáticos, como contaminação, erros de calibração de instrumentos, perda de analito, etc. O preparo de amostras pode ser tanto por via úmida (digestão ou dissolução ácida) ou por via seca (cinzas para materiais orgânicos, fusão para materiais inorgânicos refratários) (AUGUSTO, 2014; BARROS, 2016). Para a decomposição por via úmida, dois equipamentos são comumente utilizados: o forno micro-ondas e o bloco digestor. A decomposição da matriz assistida por radiação micro-ondas é uma opção de tratamento de amostras de grande valia. É um processo que possui grandes vantagens por ser rápido e eficiente, uma vez que há o aquecimento devido ao aumento de pressão dentro do frasco que os vapores ácidos e os gases liberados na decomposição geram. Uma desvantagem nesse sistema é a frequência analítica reduzida, limitação da massa de amostra empregada e além disso, a amostra final digerida deve estar com concentração reduzida de carbono (AUGUSTO, 2014).

O uso de bloco digestor para decomposição da matriz também é uma opção muito utilizada, principalmente em casos de que não está disponível o uso do micro-ondas, visto que

é um equipamento de alto custo. O preparo de amostras nesse equipamento possui maior frequência analítica, baixas pressões, o que facilita o manuseio e o custo também é baixo. No entanto, o tempo de digestão da amostra é maior e está mais propício à contaminação, perda de materiais voláteis no caso de sistemas abertos e para sistemas fechados, há riscos de explosão quando utilizados ácidos fortes (como  $\text{HClO}_4$  por exemplo). No entanto, o uso do bloco digestor com sistema fechado possui grandes vantagens, reduzindo a perda por volatilização e a contaminação, em relação ao forno micro-ondas. Portanto, é importante ressaltar que a abertura de amostras em bloco digestor e sistema fechado deve ser realizada de forma cuidadosa, devido aos riscos de explosão dos tubos, ficando limitada somente a casos de baixas massas de amostras ou para amostras com menores teores de matéria orgânica (AUGUSTO, 2014).

São encontrados na literatura vários trabalhos que utilizam ácidos concentrados no preparo de amostras em que as matrizes são produtos cosméticos. Como AL-SALEH *et al* (2009) que utilizaram  $\text{HNO}_3$  na decomposição de amostras de batom para determinação de Pb por GF AAS. Foram empregados 0,2 g de amostra e 4 mL de  $\text{HNO}_3$  concentrado. A mistura foi deixada por 4 horas em temperatura ambiente, e depois aquecida de um dia para o outro a  $85^\circ\text{C}$  em bloco digestor.

Para determinação de elementos de baixas concentrações, em determinados tipos de amostra, a decomposição por via úmida é bastante relevante, visto que os analitos de interesse podem ser convertidos em cátions não voláteis, permanecendo em solução (KRUG, 2008). Mesmo com a importância do controle de qualidade dos cosméticos, ainda não existem normas que padronizam algum tipo de preparo de amostras para determinação de metais e impurezas nesses tipos de produtos. Tratando-se do preparo de amostras de tinturas capilares, Fernandes (2016) realizou a digestão de cerca de 0,100 g de amostra com  $\text{HNO}_3$  (70%) e em banho-maria à temperatura de 60 a  $70^\circ\text{C}$ . A cada 2 horas de aquecimento o autor adicionou  $\text{H}_2\text{O}_2$  (10%) totalizando 8 horas. Batista (2017) realizou a digestão em bloco digestor, com uma massa de 1,000 g de amostra de tinturas capilares e  $\text{HNO}_3$  65%, as quais foram levadas ao bloco digestor a uma temperatura de  $100^\circ\text{C}$  por aproximadamente de 5 horas. A digestão utilizando forno micro-ondas também é bastante comum para esse tipo de amostra, como Soares (2012) que realizou a digestão de 0,2 g de amostra de tinturas capilares com  $\text{HNO}_3$  e  $\text{H}_2\text{O}_2$ , sendo dispostos no forno de micro-ondas. Esse procedimento possui menor tempo de preparo de amostra em relação ao banho-maria e ao bloco digestor, no entanto é um equipamento de alto custo, como já mencionado.

## 2.8.Otimização e validação de métodos

Muitas técnicas analíticas necessitam de um planejamento e otimização das condições instrumentais para aperfeiçoar o desempenho da técnica, como a GF AAS. A otimização é bastante utilizada na química analítica, servindo como ferramenta para alcançar melhorias nas condições de um processo, buscando os melhores resultados possíveis. Isso é feito analisando e monitorando a influência de variáveis do experimento, assim como a interação dessas variáveis na resposta final (BEZERRA, *et al*, 2008).

Dois tipos de otimização comumente utilizadas são a univariada e a multivariada. Na otimização univariada, são fixados todos os fatores em um certo nível e varia-se somente um fator até obter a melhor resposta e fixar tal condição, podendo estudar outro fator, até que todas as variáveis desejadas sejam otimizadas individualmente. É um procedimento de fácil interpretação dos dados, uma vez que relaciona a resposta analítica com a variável estudada. No entanto, não é possível monitorar as interações entre as variáveis, além disso, há um aumento no número de ensaios quando aumenta o número de variáveis (MALTEZ, 2007). Já a otimização multivariada possui maiores vantagens em relação à univariada, uma vez que este tipo de otimização avalia simultaneamente os efeitos de todas as variáveis, além da influência das interações entre os fatores. Apesar de requerer mais habilidade na interpretação dos resultados, obtém-se uma redução no número de ensaios em relação à otimização univariada (SOARES, 2012).

Na otimização multivariada pode-se empregar o planejamento fatorial completo, que pode indicar as variáveis que são significativas, reduzindo assim o número de ensaios necessários. Nesse planejamento há a avaliação dos tipos de interações existentes entre os fatores e a influência na resposta, com o auxílio de uma superfície de resposta simples (MOURABET, *et al*. 2017). Depois do planejamento fatorial completo, refina-se a otimização, empregando-se o planejamento composto central (*Central Composite Design – CCD*), que permite obter uma superfície de resposta, da qual se pode extrair os pontos críticos que correspondem às condições que fornecem a melhor resposta. O CCD combina dois níveis do planejamento completo e no mínimo um ponto central para melhorar o ajuste quadrático (TARLEY, *et al*. 2009).

Segundo a NBR ISO 9000, a validação é importante, pois é quando se comprova que o método desenvolvido atende aos requisitos de qualidade utilizando-se evidências palpáveis, obtendo resultados confiáveis. Para que um método seja validado, o INMETRO indica os parâmetros a serem avaliados e confirmados, sendo eles: linearidade, sensibilidade, faixa de

trabalho, especificidade e seletividade, robustez, limite de detecção e quantificação, exatidão, precisão (INMETRO, 2016).

A linearidade diz respeito à habilidade em ter resultados que sejam diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra em uma determinada faixa (ICH, 2005). É obtida por meio da expressão matemática para calcular a concentração real do analito na amostra. A observação da linearidade pode ser tanto pelo gráfico obtido dos ensaios ou calculados com a equação da regressão linear, determinada pelo método dos mínimos quadrados. Observa-se também o valor do coeficiente de correlação linear ( $r$ ), que indica se uma reta é adequada ou não como modelo matemático. Geralmente um valor de  $r$  maior que 0,90 é considerado adequado.

A sensibilidade analítica indica a variação da resposta em função da concentração do analito. Além disso, é observada pela inclinação da curva de regressão linear dada pela curva de calibração (normalmente realizada na linearidade). A sensibilidade do método depende tanto da natureza do analito quanto da técnica de detecção utilizada. Pode-se afirmar que quanto maior a inclinação da reta (coeficiente angular), mais sensível é o método (INMETRO, 2016).

A faixa de trabalho é o intervalo entre a menor e maior concentração do analito quando os resultados são proporcionais à concentração do analito na amostra. A menor concentração geralmente é dada pelo valor do limite de quantificação (LQ) e a maior concentração normalmente é dada por meio da linearidade, sendo o último ponto linear da curva (ICH, 2005). Muitos equipamentos estabelecem sua faixa dinâmica linear de trabalho. Portanto, deve-se analisar se a faixa de concentração do analito seja coincidente com a faixa dinâmica do equipamento. É sempre importante ter a concentração mais esperada no centro da faixa de trabalho, quando possível (INMETRO, 2016).

A seletividade é a capacidade de medição exata do analito de interesse em um método analítico, mesmo com a presença de outros componentes como impurezas, produtos de degradação e até mesmo outros componentes da matriz (ANVISA, 2003). Um método é considerado seletivo quando ele distingue a resposta de um analito frente a vários outros. Os ensaios para teste de seletividade normalmente envolvem análises com padrões, material de referência ou amostras com ou sem analito. Na amostra pode existir componentes que interferem no resultado, aumentando ou diminuindo o sinal de resposta, dando um falso resultado. Sendo assim, nesse estudo de seletividade é importante verificar também se há efeito de matriz. Esse estudo é realizado por testes estatísticos, podendo ser o teste  $t$  (*Student*) de comparação de médias ou o teste  $F$  de homogeneidade de variâncias. Uma seletividade não assegurada compromete a linearidade, a exatidão e a precisão do método.

O limite de detecção (LD) de um método é a menor quantidade de analito existente na amostra de possível detecção, podendo ou não ser quantificada sob as condições estabelecidas (ICH, 2005; INMETRO, 2016). Em determinação de metais que possuem baixa concentração na amostra, como análise de traços, deve-se saber qual a menor concentração do analito que pode ser detectada pelo método. No guia da INMETRO de 2003 diz que:

“O limite de detecção do equipamento (LDE) é a concentração do analito que produz um sinal de três a cinco vezes a razão ruído/sinal do equipamento. O limite de detecção do método (LDM) é a concentração mínima de uma substância medida e declarada com 95% ou 99% de confiança de que a concentração do analito é maior que zero” (INMETRO, 2003).

Portanto, o limite de detecção de um método varia em função do tipo da amostra. Existem diversos modos de se calcular o limite de detecção. No entanto, o mais comum de ser utilizado é a estimativa pelo desvio padrão do branco, em que o branco é a matriz da amostra sem o analito de interesse (INMETRO, 2016).

O limite de quantificação (LQ) é a menor quantidade do analito que pode ser quantificado na amostra (ICH, 2005). É um parâmetro importante para métodos quantitativos e assim como o limite de detecção, também é calculado pela estimativa do desvio padrão do branco (INMETRO, 2016). A concentração do limite de quantificação é maior ou igual ao primeiro ponto da curva analítica.

A exatidão do método implica na concordância entre o resultado de um ensaio e o valor de referência aceito como convencionalmente verdadeiro. Os procedimentos mais utilizados para avaliar a exatidão de um método são com uso de material de referência, participação em comparações interlaboratoriais e realização de ensaios de recuperação. Quando não possui disponível o material de referência para determinada matriz, realizam-se ensaios de recuperação. Esses ensaios são realizados com amostras fortificadas de quantidade conhecida do analito, na faixa de uso do método. A limitação desse teste é que o analito adicionado não necessariamente se encontra na mesma forma que na amostra.

A precisão avalia a dispersão de resultados entre ensaios independentes e é expressa normalmente pelo desvio padrão ou desvio padrão relativo. Esses ensaios são repetidos de uma mesma amostra ou padrões, com diferentes concentrações e condições definidas. As formas mais comuns de expressar a precisão são pela repetitividade, que é a concordância entre medições sucessivas, sob as mesmas condições de medição e a reprodutibilidade, que é o grau de concordância entre os resultados das medições de um mesmo mensurando, efetuadas sob condições variadas de medição, normalmente em laboratórios diferentes, para verificar o quanto um método é reprodutível. Existe também a precisão intermediária que se diferencia da

repetitividade por ser analisada em tempos (dias) diferentes. É considerada mais representativa que a repetitividade, visto que, ao ser validada, o método pode ser utilizado sob quaisquer condições de tempo (INMETRO, 2016).

Por último tem-se a robustez, que é a capacidade de um método analítico não ser afetado por pequenas variações nos parâmetros de execução. Um método é considerado robusto quando não apresenta alta sensibilidade frente a pequenas variações que possam ocorrer. Além disso, esse parâmetro indica confiança do método durante uma aplicação rotineira (INMETRO, 2016).

Existem vários trabalhos na literatura que empregaram a otimização e validação de métodos do GF AAS. Soares, (2012) realizou a otimização e validação de métodos 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. De acordo com a autora, condições ideais de análise como modificadores permanentes, temperaturas de pirólise e atomização, tempos de pirólise e modificador químico em solução, foram avaliadas para alcançar uma maior eficiência analítica, evidenciando assim a importância de otimizar e validar um método.

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. De acordo com os resultados, a otimização multivariada obteve melhor sensibilidade, além de um maior tempo de vida útil do tubo de grafite, o que leva à redução dos custos das análises.

Borges (2016) realizou a otimização e validação de métodos para analisar alumínio em cervejas e vinhos tintos, chumbo em cerveja e cobre em ice-drinks empregando a técnica de GF AAS. Foi ressaltada a necessidade da otimização das condições analíticas como temperatura de pirólise e de atomização, além do tipo de modificador químico para obtenção de resultados satisfatórios. Essas variáveis exercem papel importante na sensibilidade, exatidão e precisão de cada método desenvolvido, enfatizando assim a importância tanto da otimização quanto da validação de um método.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Preparo da amostra

A amostra de tinta utilizada na otimização e validação do método foi obtida por aquisição em comércio local e foram utilizadas tinturas em creme na cor castanho escuro. Foram testadas quatro formas diferentes de preparo da mesma amostra para avaliar qual tipo de abertura seria mais eficiente. Para isso, foram medidos em balança analítica (Toledo - Modelo: AR2140), cerca de 500,0 mg de tinta de cabelo, em triplicata para cada tipo de preparo. Foram medidas as massas das amostras diretamente nos tubos de digestão para minimizar erros sistemáticos por perda de massa.

O ácido nítrico utilizado no preparo das amostras foi destilado e para isso foi utilizado o destilador de ácido Sub-boiling Milestone DuoPur, equipamento disponibilizado pelo CEFET-MG, que aquece o ácido nítrico por lâmpada de infravermelho, gerando a evaporação do ácido em temperaturas de aproximadamente 10° C ou 20° C abaixo de seu ponto de ebulição. Em seguida o ácido é condensado e recolhido em frasco apropriado.

Em todos os tubos foram adicionados 3,00 mL de ácido nítrico Merck purificado, com auxílio de pipeta graduada. Todas as formas de preparo foram repetidas, fortificando com 400 µL de soluções padrão 500 µg L<sup>-1</sup> de cobre e chumbo, levando a uma concentração de 20 µg L<sup>-1</sup> de chumbo e cobre. As soluções foram levadas ao bloco digestor, da marca Quimis, a 100° C por diferentes tempos e os tubos foram fechados. As soluções intermediárias de chumbo e cobre (500 µg L<sup>-1</sup>) foram preparadas usando padrões comerciais de 1000 mg L<sup>-1</sup> da marca Specsol. A forma de preparo (reagentes empregados e tempo de aquecimento em bloco digestor) de cada tratamento são apresentadas no Quadro 2. Nos preparos com emprego de peróxido de hidrogênio, foi adicionado 1,00 mL do reagente concentrado 30% v/v, da marca Synth.

**Quadro 2.** Condições testadas no preparo das amostras de tinturas capilares.

Preparo	Reagentes empregados	Tempo de digestão
1	HNO <sub>3</sub> / fortificado	2 horas
2	HNO <sub>3</sub> / fortificado	5 horas
3	HNO <sub>3</sub> + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> / fortificado	2 horas
4	HNO <sub>3</sub> + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> / fortificado	5 horas
5	HNO <sub>3</sub> / sem fortificar	2 horas
6	HNO <sub>3</sub> / sem fortificar	5 horas
7	HNO <sub>3</sub> + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> / sem fortificar	2 horas
8	HNO <sub>3</sub> + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> / sem fortificar	5 horas

Fonte. Elaborado pela autora.

Após esta etapa, as amostras foram resfriadas até temperatura ambiente e transferidas para os frascos de polietileno graduados, em que foram avolumados para 10,00 mL com água ultrapura, do tipo Direct-Q Millipore.

### 3.2 Instrumentação

O espectrômetro de absorção atômica utilizado é da marca Varian AA240Z, juntamente com um forno de grafite Varian GTA 120 e um amostrador automático Varian PSD 120. A fonte de radiação utilizada é uma lâmpada Varian de catodo oco para cada elemento, sendo a de chumbo operada a 283,3 nm e a de cobre a 327,4 nm. Foi utilizado argônio (99,996%; Air Products, Brasil) como gás de purga. As condições de secagem e limpeza utilizadas para todas as análises foram de acordo com o recomendado pelo fabricante. Foram utilizados tubos revestidos com grafite pirolítico Varian com plataformas de L'vov. Todo o equipamento foi disponibilizado pelo CEFET-MG para uso.

### 3.3 Otimização

A otimização do método foi realizada de forma a buscar as condições experimentais capazes de gerar o melhor sinal analítico (maior absorbância). Visto que, alguns fatores/variáveis podem influenciar na obtenção do sinal, percebeu-se a necessidade de otimização do método, com a investigação de variáveis e de seus níveis. Sendo assim, a otimização foi realizada em três etapas: triagem de modificadores, planejamento fatorial completo 2<sup>3</sup> com ponto central nas variáveis temperatura de pirólise e temperatura de atomização e planejamento Composto Central (*Central Composite Design - CCD*).

Todas as análises realizadas na etapa de otimização seguiram as condições recomendadas pelo fabricante de acordo com o Quadro 3.

**Quadro 3.** Condições operacionais para determinação de Pb e Cu em GF AAS.

<b>Métodos e parâmetros</b>	<b>Chumbo</b>	<b>Cobre</b>
Método	Pb Zeeman	Cu Zeeman
Método de medição	Área do pico	Área do pico
Número de replicatas	3	3
Comprimento de onda	283,3 nm	327,4 nm
Corrente da lâmpada	5,0 mA	4,0 mA
Taxa de recalibração	20	20
Volume da amostra	10 µL	10 µL
Concentração do padrão	30 µg L <sup>-1</sup>	30 µg L <sup>-1</sup>

Fonte: AGILENT TECNOLOGIES, 2012

Todas as amostras durante as etapas de triagem de modificadores e avaliação da forma de preparo de amostras foram analisadas utilizando a rampa de temperatura recomendada pelo fabricante (ver Quadro 4 e Quadro 5).

**Quadro 4.** Programa de forno recomendado pelo fabricante para a determinação de Chumbo em soluções aquosas por GF AAS.

<b>Elemento</b>	<b>Etapas</b>	<b>Objetivo</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Tempo (s)</b>	<b>Fluxo de gás (L min<sup>-1</sup>)</b>	<b>Ler</b>	<b>Comprimento de onda (nm)</b>
Chumbo	1	Secagem	85	5	3	Não	283,3
	2	Secagem	95	40	3	Não	283,3
	3	Secagem	120	10	3	Não	283,3
	4	Pirólise	400	5	3	Não	283,3
	5	Pirólise	400	1	3	Não	283,3
	6	Pirólise	400	2	0	Não	283,3
	7	Atomização	2100	1	0	Sim	283,3
	8	Atomização	2100	2	0	Sim	283,3
	9	Atomização	2100	2	3	Não	283,3
	10	Limpeza	2600	2	3	Não	283,3

Fonte: AGILENT TECNOLOGIES, 2012

**Quadro 5.** Programa de forno recomendado pelo fabricante para a determinação de Cobre em soluções aquosas por GF AAS.

Elemento	Etapa	Objetivo	Temperatura (°C)	Tempo (s)	Fluxo de gás (L min <sup>-1</sup> )	Ler	Comprimento de onda (nm)
Cobre	1	Secagem	85	5	3	Não	327,4
	2	Secagem	95	40	3	Não	327,4
	3	Secagem	120	10	3	Não	327,4
	4	Pirólise	800	5	3	Não	327,4
	5	Pirólise	800	1	3	Não	327,4
	6	Pirólise	800	2	0	Não	327,4
	7	Atomização	2300	1,1	0	Sim	327,4
	8	Atomização	2300	2	0	Sim	327,4
	9	Atomização	2300	2	3	Não	327,4
	10	Limpeza	2600	2	3	Não	327,4

Fonte: AGILENT TECHNOLOGIES, 2012

### 3.3.1 *Triagem de modificadores*

A primeira etapa da otimização foi a triagem dos modificadores, tendo sido testados os seguintes: irídio permanente, paládio permanente, ródio permanente, rutênio permanente, zircônio permanente e sem modificador. Todas as condições operacionais do espectrômetro nesta etapa foram de acordo com o recomendado pelo fabricante, descritos no Quadro 3. Em seguida, foram selecionados os dois modificadores e o preparo que obtiveram as melhores respostas de absorvância, com menores sinais de fundo para realizar a segunda etapa da otimização. Também foi calculada a massa característica (Equação 1) para cada modificador, com o objetivo de selecionar o modificador que mais contribuir com o aumento da sensibilidade do método, onde C é a concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ), V representa o volume de solução injetado ( $\mu\text{L}$ ), A é a área do pico ( $\text{s}^{-1}$ ).

$$m_0 = \frac{(c \cdot v \cdot 0,0044 \text{ s}^{-1})}{A} \quad \text{Equação 1.}$$

### 3.3.2 *Planejamento fatorial completo 2<sup>3</sup>*

De acordo com os resultados de absorvância e sinal de fundo obtidos na triagem de modificadores, foram selecionados dois modificadores e a forma de preparo da amostra que apresentaram os melhores resultados (maior absorvância e menor sinal de fundo), sendo então utilizados na próxima etapa da otimização. O programa de forno utilizado nesta etapa está descrito no Quadro 6 para o Chumbo e no Quadro 7 para o Cobre, cujas siglas “TP” e “TA” se

referem à temperatura de pirólise e à temperatura de atomização, respectivamente, uma vez que foram utilizadas combinações diferentes de temperaturas. Realizaram-se 12 ensaios com duplicata do ponto central nas variáveis temperatura de pirólise e de atomização. O modificador é uma variável qualitativa, portanto não tem ponto central. Os resultados obtidos foram tratados no programa *STATISTICA* versão 12.0 para analisar as melhores condições.

**Quadro 6.** Programa de forno utilizado no planejamento fatorial  $2^3$  para Chumbo.

Elemento	Etapa	Objetivo	Temperatura (°C)	Tempo (s)	Fluxo de gás (L min <sup>-1</sup> )	Ler	Comprimento de onda (nm)
Chumbo	1	Secagem	85	5	3	Não	283,3
	2	Secagem	95	40	3	Não	283,3
	3	Secagem	120	10	3	Não	283,3
	4	Pirólise	TP	5	3	Não	283,3
	5	Pirólise	TP	1	3	Não	283,3
	6	Pirólise	TP	2	0	Não	283,3
	7	Atomização	TA	1	0	Sim	283,3
	8	Atomização	TA	2	0	Sim	283,3
	9	Atomização	TA	2	3	Não	283,3
	10	Limpeza	2600	2	3	Não	283,3

Fonte. Elaborado pela autora.

**Quadro 7.** Programa de forno utilizado no planejamento fatorial  $2^3$  para Cobre.

Elemento	Etapa	Objetivo	Temperatura (°C)	Tempo (s)	Fluxo de gás (L min <sup>-1</sup> )	Ler	Comprimento de onda (nm)
Cobre	1	Secagem	85	5	3	Não	327,4
	2	Secagem	95	40	3	Não	327,4
	3	Secagem	120	10	3	Não	327,4
	4	Pirólise	TP	5	3	Não	327,4
	5	Pirólise	TP	1	3	Não	327,4
	6	Pirólise	TP	2	0	Não	327,4
	7	Atomização	TA	1,1	0	Sim	327,4
	8	Atomização	TA	2	0	Sim	327,4
	9	Atomização	TA	2	3	Não	327,4
	10	Limpeza	2600	2	3	Não	327,4

Fonte. Elaborado pela autora.

A matriz com as temperaturas reais e codificada para esta etapa está descrita no Quadro 8 com as temperaturas do chumbo e no Quadro 9 com as temperaturas do cobre.

**Quadro 8.** Matriz utilizada para o planejamento fatorial completo com os valores reais e codificados para o chumbo.

<b>Ensaio</b>	<b>Modificador</b>	<b>TP</b>	<b>TA</b>
<b>1</b>	Sem Modificador (-1)	300 (-1)	1800 (-1)
<b>2</b>	Sem Modificador (-1)	300 (-1)	2400 (+1)
<b>3</b>	Sem Modificador (-1)	700 (+1)	1800 (-1)
<b>4</b>	Sem Modificador (-1)	700 (+1)	2400 (+1)
<b>5</b>	Ir permanente (+1)	300 (-1)	1800 (-1)
<b>6</b>	Ir permanente (+1)	300 (-1)	2400 (+1)
<b>7</b>	Ir permanente (+1)	700 (+1)	1800 (-1)
<b>8</b>	Ir permanente (+1)	700 (+1)	2400 (+1)
<b>9</b>	Sem Modificador (-1)	500 (0)	2100 (0)
<b>10</b>	Sem Modificador (-1)	500 (0)	2100 (0)
<b>11</b>	Ir permanente (+1)	500 (0)	2100 (0)
<b>12</b>	Ir permanente (+1)	500 (0)	2100 (0)

Fonte. Elaborado pela autora

**Quadro 9.** Matriz utilizada para o planejamento fatorial completo com os valores reais e codificados para o cobre.

<b>Ensaio</b>	<b>Modificador</b>	<b>TP</b>	<b>TA</b>
<b>1</b>	Sem Modificador (-1)	600 (-1)	2000 (-1)
<b>2</b>	Sem Modificador (-1)	600 (-1)	2600 (+1)
<b>3</b>	Sem Modificador (-1)	1000 (+1)	2000 (-1)
<b>4</b>	Sem Modificador (-1)	1000 (+1)	2600 (+1)
<b>5</b>	Ir permanente (+1)	600 (-1)	2000 (-1)
<b>6</b>	Ir permanente (+1)	600 (-1)	2600 (+1)
<b>7</b>	Ir permanente (+1)	1000 (+1)	2000 (-1)
<b>8</b>	Ir permanente (+1)	1000 (+1)	2600 (+1)
<b>9</b>	Sem Modificador (-1)	800 (0)	2300 (0)
<b>10</b>	Sem Modificador (-1)	800 (0)	2300 (0)
<b>11</b>	Ir permanente (+1)	800 (0)	2300 (0)
<b>12</b>	Ir permanente (+1)	800 (0)	2300 (0)

Fonte. Elaborado pela autora

Os valores de absorvência resultantes da aplicação do planejamento fatorial completo  $2^3$  foram tratados empregando o software *STATISTICA* e analisados por meio dos gráficos de Pareto correspondentes. As indicações de significância das variáveis e suas interações, bem como os valores de *background* foram analisados conjuntamente para a seleção das faixas de temperaturas que seriam testadas na próxima etapa da otimização.

### 3.3.3 *Planejamento CCD*

Utilizando como base as informações obtidas nos gráficos de Pareto geradas a partir dos dados do planejamento fatorial completo, as melhores faixas de temperatura de pirólise e de atomização foram selecionadas para um novo planejamento, com o objetivo de se obter a superfície de resposta utilizando o Planejamento Composto Central. Foram realizados 11 ensaios para cada metal, uma vez que os ensaios no ponto central foram repetidos três vezes. A ordem dos ensaios foi aleatória e o programa de forno seguiram os mesmos critérios do planejamento  $2^3$ , sendo que em “TP” e “TA” foram utilizadas as melhores combinações de temperaturas da etapa anterior. Os resultados obtidos no CCD foram tratados no programa *STATISTICA* 12.0 e utilizados para construir a superfície de resposta para a obtenção das temperaturas otimizadas de pirólise e de atomização de cada amostra, de acordo com as absorvências obtidas. Além disso avaliaram-se os resultados do ajuste por meio do teste ANOVA feito no programa *STATISTICA* 12.0 para certificar que o modelo é adequado. A matriz usada para o planejamento CCD, com os valores codificados, pode ser visualizada no Quadro 10.

**Quadro 10.** Matriz codificada para o planejamento CCD do chumbo e do cobre.

<b>Ensaio</b>	<b>Temperatura de Pirólise</b>	<b>Temperatura de atomização</b>
<b>1</b>	-1	1
<b>2</b>	1	-1
<b>3</b>	-1	-1
<b>4</b>	1	1
<b>5</b>	-1,41	0
<b>6</b>	1,41	0
<b>7</b>	0	-1,41
<b>8</b>	0	1,41
<b>9</b>	0	0
<b>10</b>	0	0
<b>11</b>	0	0

Fonte. Elaborado pela autora.

### **3.4 Validação do método**

Para a validação do método proposto para o cobre foram estudadas as seguintes figuras de mérito: linearidade, sensibilidade, seletividade, limite de detecção, limite de quantificação, faixa de trabalho, de acordo com o guia de validação do INMETRO (2016) e da EURACHEM (2014). Todos os parâmetros foram testados utilizando as condições otimizadas.

#### **3.4.1 Seletividade**

A própria lâmpada de catodo oco utilizada pelo equipamento GF AAS já é uma fonte seletiva de energia que garante a seletividade da técnica para o metal a ser analisado, já que emite no comprimento de onda do metal de interesse.

Além disso, buscou-se avaliar se algum componente presente na matriz da amostra poderia causar interferências na medida de absorvância, ou seja, foi feito um teste para verificar se havia efeito de matriz. O objetivo deste teste foi comparar uma curva de calibração externa, preparada pela diluição apropriada da solução padrão em água, e uma curva de calibração de adição de padrão, contendo em todos os pontos da curva um volume igual da solução obtida após decomposição da amostra, por meio de testes estatísticos. Para esse teste foram realizadas duas curvas de calibração. Para a curva de calibração por adição de padrão foram preparadas seis soluções conforme descritos na Tabela 1, avolumando-se para 10,0 mL com água ultrapura.

**Tabela 1.** Preparo da curva de adição de padrão utilizada no parâmetro de seletividade.

<b>Volume de amostra (mL)</b>	<b>Volume de HNO<sub>3</sub> purificado (mL)</b>	<b>Volume de solução padrão (Cu) 1000 µg L<sup>-1</sup> (mL)</b>	<b>Concentração do padrão (µg L<sup>-1</sup>)</b>
2,00	3,00	0,000	0,000
2,00	3,00	0,100	10,00
2,00	3,00	0,200	20,00
2,00	3,00	0,300	30,00
2,00	3,00	0,400	40,00
2,00	3,00	0,500	50,00

Fonte: Elaborado pela autora.

Em seguida, para a curva de calibração externa, foi preparada uma solução de 50 µg L<sup>-1</sup> de cobre, a qual adicionou-se 500 µL de solução padrão de cobre 1000 µg L<sup>-1</sup>, 3,00 mL de ácido nítrico purificado e completou-se o volume de 10,00 mL com água ultrapura. O GF AAS foi programado para fazer as diluições adequadas de forma que a curva foi construída analisando as seguintes concentrações: 10 µg L<sup>-1</sup>, 20 µg L<sup>-1</sup>, 30 µg L<sup>-1</sup>, 40 µg L<sup>-1</sup> e 50 µg L<sup>-1</sup>.

As curvas foram lidas no GF AAS sob condições otimizadas, conforme programa de aquecimento do forno descrito nos Quadros 6 e 7. Os resultados foram tratados, realizando os testes estatísticos (F e *t student*) para comparação das inclinações das curvas (INMETRO, 2016). Essa figura de mérito não foi realizada para o chumbo.

### 3.4.2 Linearidade

Para o parâmetro de linearidade, efetuou-se o preparo de uma solução padrão de concentração igual a 100 µg L<sup>-1</sup>, a partir da solução padrão da SPECSOL de (1000 ± 6) mg L<sup>-1</sup> e água ultrapura obtida de um sistema de purificação Milli-Q. A construção de uma curva de calibração externa através da solução preparada com diluições foi feita pelo próprio equipamento GF AAS. O equipamento fez as diluições de 90 µg L<sup>-1</sup>, 80 µg L<sup>-1</sup>, 70 µg L<sup>-1</sup>, 60 µg L<sup>-1</sup>, 50 µg L<sup>-1</sup>, 40 µg L<sup>-1</sup>, 30 µg L<sup>-1</sup>, 20 µg L<sup>-1</sup> e 10 µg L<sup>-1</sup> a partir da solução preparada anteriormente de 100 µg L<sup>-1</sup>. Com a curva de calibração foi possível avaliar a linearidade por meio do coeficiente de correlação linear (R) do modelo. Essa figura de mérito não foi realizada para o chumbo.

### 3.4.3 Sensibilidade

A sensibilidade foi determinada juntamente com o parâmetro de linearidade, visto que corresponde a inclinação da curva de calibração. Portanto, ao obter a curva de calibração da

linearidade (item 3.4.2) foi possível avaliar a sensibilidade do método por meio do coeficiente angular da curva (INMETRO, 2016). Essa figura de mérito não foi realizada para o chumbo.

#### **3.4.4 Limite de detecção e de quantificação**

Para determinar os limites de detecção e quantificação, foram preparados 7 brancos independentes por meio da adição de 3,00 mL de ácido nítrico purificado nos tubos de polietileno graduados, avolumando-os para 10,00 mL com água ultrapura Milli-Q. Realizou-se as análises dos brancos no forno de grafite, utilizando as condições otimizadas para o cobre e os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram calculados de acordo com as Equações 2 e 3 conforme guia do INMETRO (2016).

$$LD = 3,3 s / a \quad \text{Equação 2}$$

$$LQ = 10 s / a \quad \text{Equação 3}$$

Onde: “s” é o desvio padrão das medidas encontradas para os brancos e o “a” é a inclinação da curva de calibração, ou seja, o coeficiente angular da equação da curva de calibração (tangente da reta), obtido por meio do cálculo da variação da resposta em função da concentração, seguindo o modelo dos mínimos quadrados. Essa figura de mérito não foi realizada para o chumbo.

#### **3.4.5 Faixa de trabalho**

Com base no guia do INMETRO (2016), a faixa ótima de trabalho abrange o primeiro ponto logo após o limite de quantificação e o último ponto em que a curva se mantém linear. Conjuntamente com a linearidade e o limite de quantificação, a faixa de trabalho foi determinada levando-se em conta o limite de quantificação para escolha do primeiro ponto e o último ponto linear analisado na curva de calibração. Essa figura de mérito não foi realizada para o chumbo.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Preparo de amostra e triagem de modificadores

É de extrema importância a realização de um preparo de amostra adequado para sua finalidade. Sendo assim, foram realizados diferentes preparos, com variações no tempo de digestão e reagentes utilizados, para analisar qual tratamento das amostras obtém as melhores respostas em absorvância. Para tanto, foi realizado uma pesquisa na literatura para tomar como base alguns trabalhos já realizados com tintas de cabelo.

Os testes de preparo das amostras do presente trabalho foram realizados por via úmida, que possui grande aplicabilidade para determinação de baixas concentrações de constituintes inorgânicos em alguns tipos de amostras, uma vez que alguns desses analitos podem se converter em cátions não voláteis e permanecer solúveis em meio ácido (KRUG, 2008). O item 3.1 apresenta as formas de preparo que foram testadas.

Juntamente com o teste para identificar o melhor tratamento das amostras, foi realizada a triagem de modificadores químicos, como indicado no item 3.3.1. Essa triagem tem o intuito de reduzir o número de variáveis do experimento (NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2001). Sendo assim, foram testados 5 modificadores permanentes diferentes, sendo eles Zircônio (Zr), Rutênio (Ru), Ródio (Rh), Paládio (Pd), Irídio (Ir) e um tubo sem modificador (SM). Realizou-se a leitura de cada teste de abertura das amostras com cada modificador acima citado.

Esperava-se encontrar um modificador capaz de interagir com a matriz ou com o analito, proporcionando maior sinal de absorvância e menor sinal de fundo. Para melhor visualização dos resultados, construiu-se um gráfico para cada tipo de tratamento das amostras, podendo também comparar as absorvâncias e os sinais de fundo gerados para cada um dos modificadores estudados. Os gráficos referentes à triagem de modificadores e oito preparos realizados para o chumbo (de acordo com o Quadro 2 do tópico 3.1) são apresentados na Figura 4 e os resultados referentes ao cobre na Figura 5, sendo  $\text{abs}$ = média das absorvâncias,  $\text{SD}$ = desvio padrão das absorvâncias e  $\text{BG}$ = sinal de fundo ou *background*.

**Figura 4.** Avaliação dos modificadores e dos tipos de preparo das amostras para o Chumbo.



Fonte. Elaborado pela autora.

**Figura 5.** Avaliação dos modificadores e dos tipos de preparo das amostras para o Cobre.



Fonte. Elaborado pela autora.

Diante desses resultados, em relação ao chumbo, os modificadores que obtiveram as melhores respostas foram o zircônio (Zr) e o irídio (Ir), sendo as maiores absorvâncias e menores sinais de fundo. Em relação ao cobre, os resultados que apresentaram maiores absorvâncias e menores sinais de fundo foram com o modificador zircônio (Zr) e com o tubo sem modificador (SM). Sendo assim, esses modificadores foram selecionados para a etapa da otimização no planejamento fatorial. Além disso, esses modificadores apresentaram as menores massas características, isso significa que eles contribuem mais para o aumento da sensibilidade do método, sendo portanto escolhidos para a próxima etapa da otimização. Os resultados das massas características estão apresentados na Tabela 2 e os cálculos foram realizados de acordo com a Equação 1 do item 3.3.1.

**Tabela 2.** Resultados do cálculo de massa característica utilizada para escolha dos modificadores.

	Massa Característica ( $\mu\text{g}$ )					
	Zr	SM	Ru	Rh	Pd	Ir
<b>Chumbo</b>	29	57	49	58	45	40
<b>Cobre</b>	33	22	400	45	46	58

Fonte. Elaborado pela autora.

Se tratando do tipo de tratamento, as amostras fortificadas que foram submetidas a abertura ácida por cinco horas (preparo 2) apresentaram as melhores respostas em absorvância, sendo, portanto, o tratamento escolhido para o trabalho, para ambos os elementos. Essa fortificação tem o objetivo de obter um sinal adequado para acompanhar a triagem de modificadores e para avaliar se não há perda de analito durante a digestão. Observou-se também que a adição de peróxido de hidrogênio (preparo 4) não influenciou nos resultados, portanto optou-se por não incluí-lo na abertura das amostras, visando a economia de reagentes. Vale ressaltar que a digestão foi realizada em tubos fechados para evitar perda de analito por volatilização, no entanto, cuidou-se para que não haja projeção da solução por aumento de pressão.

A Tabela 3 e a Tabela 4 apresentam o desvio padrão, em porcentagem, dos preparos realizados com cada modificador utilizado, para o chumbo e cobre, respectivamente. Esses valores justificam o motivo de alguns modificadores, mesmo apresentando altos sinais de absorvância, não serem selecionados devido aos altos valores de desvio padrão.

**Tabela 3.** Desvio padrão dos preparos realizados com os modificadores, em porcentagem, para o chumbo.

	Chumbo (SD %)					
	SM	Pd	Rh	Ru	Ir	Zr
<b>Preparo 1</b>	0,37	0,87	1,80	4,02	0,54	1,53
<b>Preparo 2</b>	1,41	2,27	1,81	0,92	0,75	2,14
<b>Preparo 3</b>	2,09	2,67	0,42	2,15	4,50	0,40
<b>Preparo 4</b>	2,33	0,87	4,41	1,05	1,86	1,50
<b>Preparo 5</b>	2,27	8,89	23,08	11,90	21,95	1,96
<b>Preparo 6</b>	16,00	14,81	28,57	4,00	53,33	2,65
<b>Preparo 7</b>	3,03	4,88	50,00	3,03	15,38	2,48
<b>Preparo 8</b>	1,17	0,00	2,13	1,45	0,96	1,86

Fonte. Elaborado pela autora.

**Tabela 4.** Desvio padrão dos preparos realizados com os modificadores, em porcentagem, para o cobre.

	Cobre (SD %)					
	SM	Pd	Rh	Ru	Ir	Zr
<b>Preparo 1</b>	0,15	3,42	6,92	28,00	2,89	5,49
<b>Preparo 2</b>	1,81	2,01	5,97	35,00	4,32	9,80
<b>Preparo 3</b>	0,46	4,92	10,46	39,47	7,17	5,80
<b>Preparo 4</b>	4,29	6,40	3,38	66,67	2,95	3,68
<b>Preparo 5</b>	5,81	26,19	20,00	17,14	125,00	150,00
<b>Preparo 6</b>	0,72	79,49	666,67	38,71	150,00	135,00
<b>Preparo 7</b>	3,05	30,43	433,33	63,16	220,00	50,00
<b>Preparo 8</b>	9,45	18,87	10,71	57,69	53,13	120,00

Fonte. Elaborado pela autora.

#### 4.2.Otimização

Se tratando de análises realizadas em GF AAS, é muito importante otimizar os parâmetros de análise, assim como a realização da validação do método, para garantir a confiabilidade do mesmo. A segunda etapa do experimento envolveu o planejamento fatorial  $2^3$  sendo dois níveis (alto e baixo) e três variáveis (modificador, temperatura de pirólise e temperatura de atomização), usando os modificadores selecionados na triagem juntamente com os fatores temperatura de pirólise e temperatura de atomização. As temperaturas de pirólise e atomização foram avaliadas com ponto central. A matriz do planejamento e os resultados estão dispostos na Tabela 5. Os valores de temperaturas decodificadas estão descritas no Quadro 8 para o chumbo e Quadro 9 para o cobre (item 3.3.2).

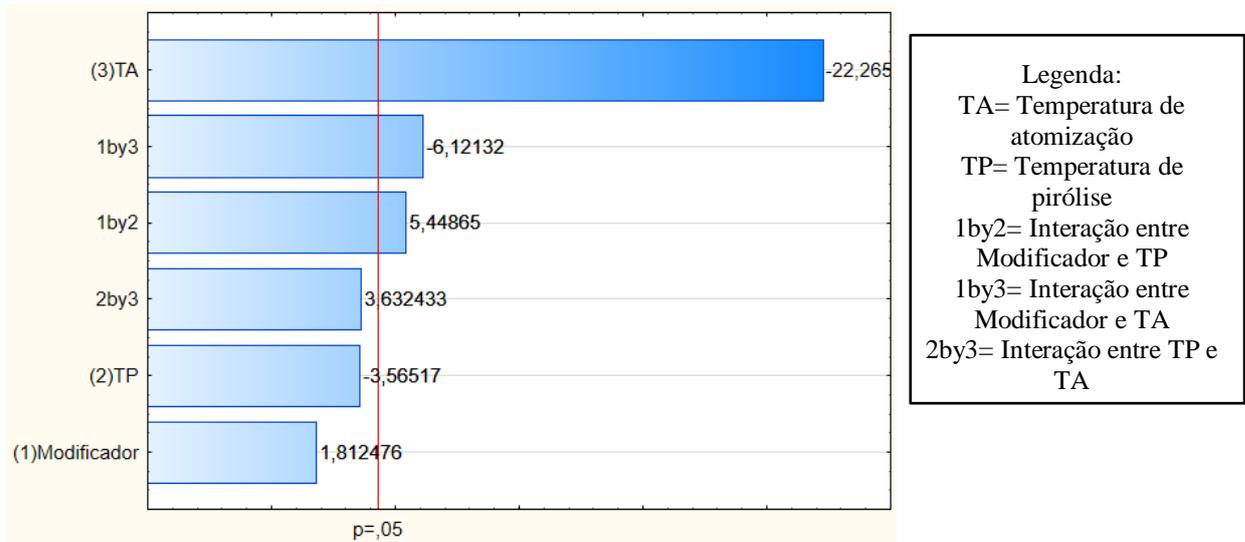
**Tabela 5.** Matriz codificada e respostas em absorbâncias do planejamento fatorial  $2^3$ , para chumbo e cobre.

Ensaio	Modificador	Temperatura de Pirólise	Temperatura de atomização	Absorbância	
				Pb	Cu
1	-1	-1	-1	0,0447	0,0283
2	-1	-1	1	0,0310	0,0051
3	-1	1	-1	0,0363	0,0176
4	-1	1	1	0,0260	0,0192
5	1	-1	-1	0,0500	0,0197
6	1	-1	1	0,0252	0,0509
7	1	1	-1	0,0477	0,0223
8	1	1	1	0,0303	0,0501
PC	-1	0	0	0,0374	0,0415
PC	-1	0	0	0,0395	0,0439
PC	1	0	0	0,0342	0,0457
PC	1	0	0	0,0341	0,0428

Fonte. Elaborado pela autora.

Com os resultados apresentados na Tabela 5, gerou-se os gráficos de Pareto 1 e 2, para chumbo e cobre, respectivamente. Os fatores que são significativos para os ensaios possuem efeitos com valores superiores à linha vermelha destacada no gráfico, que é indicado pelo valor de  $t$ . Observando os resultados do chumbo (Gráfico 1), conclui-se que a temperatura de atomização (TA) possui efeito significativo negativo, indicando que obtém-se as melhores respostas reduzindo a temperatura de atomização. A interação entre o modificador e a temperatura de atomização também possui efeito significativo negativo, o que significa que o modificador +1 (Zr) em combinação com TA mais baixa, produzem melhores respostas, ou modificador -1 (Ir) em combinação com TA mais alta. Já a interação do modificador com a temperatura de pirólise (TP) possui efeito significativo positivo, indicando que as melhores respostas são obtidas quando se trabalha com essas duas variáveis no nível alto ou as duas no nível baixo. A interação entre a temperatura de pirólise e a temperatura de atomização não possui efeitos significativos, assim como os fatores principais temperatura de pirólise (TP) e modificador, portanto, não afetam os resultados de forma significativa. Sendo assim, conclui-se que reduzir a TA e usar o modificador +1 (Zr), contribuem para aumentar a absorbância de Pb.

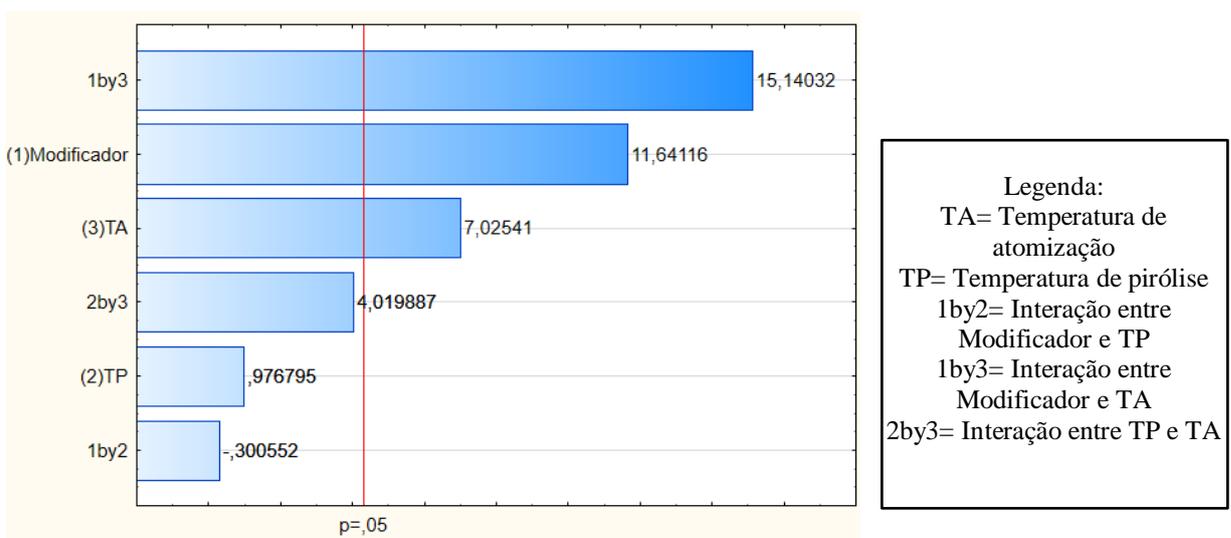
**Gráfico 1.** Gráfico de Pareto para o planejamento completo  $2^3$  com os principais efeitos obtidos para o metal chumbo.



Fonte. Elaborado pela autora.

Se tratando do cobre (Gráfico 2), a interação entre o modificador e a temperatura de atomização, assim como o fator modificador e o fator temperatura de atomização possuem efeitos significativos no nível positivo, ou seja, todos esses fatores terão suas melhores respostas no nível mais alto, que no caso do modificador é o zircônio e a temperatura de atomização (TA) é em torno de 2600° C. Os outros fatores não apresentaram efeitos significativos, portanto não afetam nos resultados.

**Gráfico 2.** Gráfico de Pareto para o planejamento completo  $2^3$  com os principais efeitos obtidos para o metal cobre.



Fonte. Elaborado pela autora.

A próxima etapa da otimização do método foi o planejamento CCD, com o objetivo de obter as temperaturas ótimas de pirólise e atomização para o método ao plotar a superfície de

resposta. Com o planejamento fatorial, concluiu-se então o modificador que seria usado na etapa do CCD, que tanto para o chumbo quanto para o cobre, foi o mesmo modificador (Zircônio).

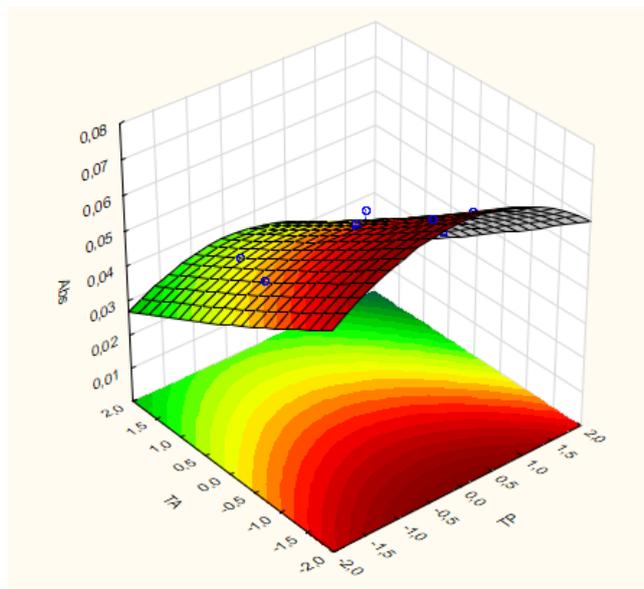
Se tratando do chumbo, realizou-se o primeiro CCD, fixando as mesmas temperaturas de pirólise do planejamento fatorial, uma vez que estas não apresentaram efeito significativo, assim como sua interação com a temperatura de atomização, podendo fixar a temperatura de pirólise na etapa do planejamento CCD. Como a temperatura de atomização indicou efeito significativo negativo, foi escolhida uma faixa de temperatura na região abaixo do nível 1 e o ponto central do planejamento  $2^3$ . As temperaturas selecionadas para este planejamento estão descritas no Quadro 11 e a superfície de resposta gerada por meio desse planejamento está apresentado no Gráfico 3.

**Quadro 11.** Temperaturas de pirólise e atomização de cada nível utilizadas no primeiro planejamento CCD do chumbo.

Nível	-1,41	-1	0	1	1,41
TP	218	300	500	700	782
TA	1518	1600	1800	2000	2082

Fonte. Elaborado pela autora.

**Gráfico 3.** Superfície de resposta do primeiro planejamento CCD para o chumbo.



Fonte. Elaborado pela autora.

No entanto, observa-se pelo Gráfico 3 que a superfície de resposta gerada não apresenta ponto de máximo. Isso significa que as temperaturas selecionadas para o estudo não correspondem aos maiores sinais de absorvância. Além disso, o gráfico também indica qual região poderá obter as melhores respostas. Sendo assim, optou-se por fazer outro planejamento

CCD, diminuindo a temperatura de atomização e mantendo a temperatura de pirólise, uma vez que as melhores respostas estão nessa região (região vermelha do gráfico).

A faixa de temperatura de atomização foi então reajustada com o objetivo de obter melhores respostas. As temperaturas selecionadas para este planejamento estão indicadas no Quadro 12. A matriz, juntamente com os resultados do segundo planejamento CCD estão apresentados na Tabela 6. A superfície de resposta gerada por meio desses resultados é mostrada pelo Gráfico 4. Este gráfico apresentou uma superfície contendo um ponto de máximo, indicando que as temperaturas selecionadas apresentam as melhores respostas, além disso, o modelo obteve um ajuste de 92%, como indicado na Figura 6, que representa a tabela ANOVA gerada pelo software *STATISTICA*. Isso indica que o modelo obteve ajuste adequado. Apesar do efeito de interação do modificador e temperatura de pirólise serem significativos no planejamento fatorial  $2^3$ , a faixa de temperatura utilizada foi adequada. A Equação 4 representa a função que descreve as respostas em função dos níveis dos fatores (descreve o modelo). As temperaturas críticas geradas por esse gráfico foram de 266° C para a pirólise e 1690° C para a atomização.

**Quadro 12.** Temperaturas de pirólise e atomização de cada nível utilizadas no segundo planejamento CCD do chumbo.

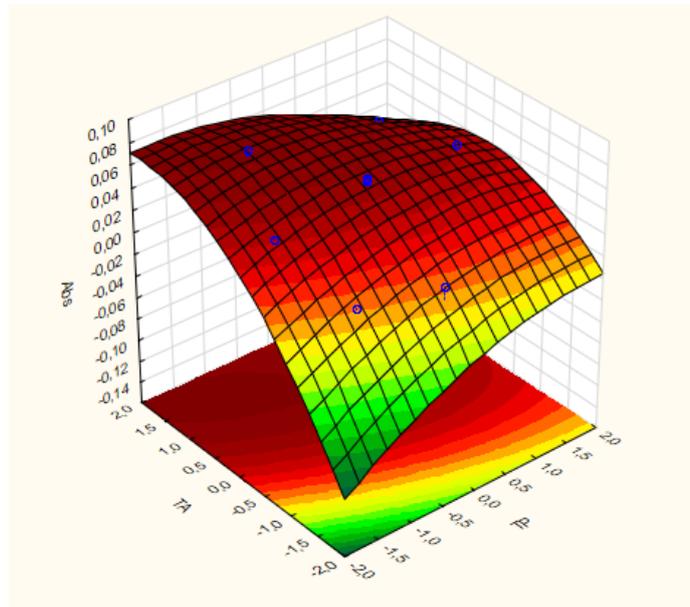
Nível	-1,41	-1	0	1	1,41
TP	218	300	500	700	782
TA	1118	1200	1400	1600	1682

Fonte. Elaborado pela autora.

**Tabela 6.** Matriz codificada e resultados do segundo planejamento CCD para o chumbo.

Ensaio	Temperatura de Pirólise	Temperatura de atomização	Absorbância
1	-1	1	0,0789
2	1	-1	0,0202
3	-1	-1	0,0010
4	1	1	0,0566
5	-1,41	0	0,0404
6	1,41	0	0,0539
7	0	-1,41	0,0066
8	0	1,41	0,0606
9	0	0	0,0562
10	0	0	0,0575
11	0	0	0,0594

Fonte. Elaborado pela autora.

**Gráfico 4.** Superfície de resposta do segundo planejamento CCD para o chumbo.

Fonte. Elaborado pela autora.

$$Abs = 0,057704 + 0,001998 (TP) + 0,023876 (TA) - 0,010375 (TP)(TA) \quad \text{Equação 4}$$

**Figura 6.** Tabela ANOVA do segundo CCD do Chumbo, gerado pelo *STATISTICA*.

ANOVA; Var.:Abs; R-sqr=,95987; Adj:,91974 (Spreadsheet4)						
2 factors, 1 Blocks, 11 Runs; MS Residual=,0000493						
DV: Abs						
Factor		SS	df	MS	F	p
(1)TP	(L)	0,000032	1	0,000032	0,64592	0,458064
TP	(Q)	0,000175	1	0,000175	3,54454	0,118466
(2)TA	(L)	0,004547	1	0,004547	92,25543	0,000207
TA	(Q)	0,000861	1	0,000861	17,47600	0,008651
1L by 2L		0,000431	1	0,000431	8,73590	0,031678
Error		0,000246	5	0,000049		
Total SS		0,006141	10			

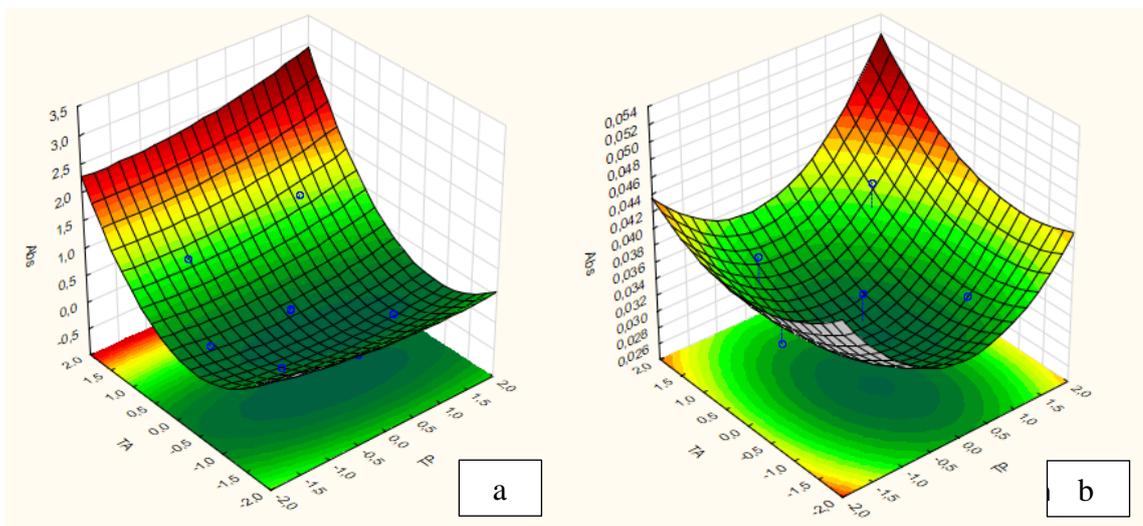
Fonte. STATISTICA

Observando o trabalho de Soares, 2012, que realizou a otimização para tinturas capilares em creme, as condições ótimas de análise para o chumbo foram de 745° C para temperatura de pirólise e 1800° C para temperatura de atomização, utilizando o ródio como modificador químico. Observa-se que a temperatura de pirólise foi diferente em relação a este trabalho. Isso possivelmente é devido aos diferentes tipos de preparo das amostras. No trabalho desta autora foi realizada solubilização alcalina, o que pode justificar a temperatura de pirólise ser mais alta, uma vez que foi necessário decompor toda a matéria. Como no presente trabalho a abertura foi ácida, os metais já se encontravam na forma iônica, não precisando de uma temperatura de pirólise tão alta. Observa-se também que as temperaturas de atomização estão próximas.

Já Batista, 2017, não realizou a otimização do método para determinação de chumbo em tinturas capilares, no entanto a autora realizou a quantificação com as temperaturas de 350° C para pirólise e 1500° C para atomização, temperaturas próximas às do presente trabalho.

Se tratando do cobre, foi realizado dois planejamentos CCD (Gráfico 5 e Quadro 13), no entanto nenhum deles apresentou resultados satisfatórios, uma vez que em ambos a superfície de resposta apresentou um ponto de mínimo, indicando que as faixas de temperatura de pirólise e atomização trabalhadas geraram os menores sinais de absorvância.

**Gráfico 5.** Superfície de resposta do primeiro (a) e segundo (b) planejamento CCD para o cobre, respectivamente.



Fonte. Elaborado pela autora.

**Quadro 13.** Temperaturas de pirólise e atomização de cada nível utilizadas nos planejamentos CCD do cobre.

CCD 1	Nível	-1,41	-1	0	1	1,41
	TP	518	600	800	1000	1082
	TA	2318	2400	2600	2800	2882
CCD 2	Nível	-1,41	-1	0	1	1,41
	TP	700	729	800	871	900
	TA	2200	2229	2300	2371	2400

Fonte. Elaborado pela autora.

Percebeu-se que as duas superfícies obtidas (Gráfico 5) indicavam que um aumento nas temperaturas de pirólise e atomização poderia trazer maiores sinais de absorvância, além disso, realizou-se também o cálculo do deslocamento para saber qual a região de temperaturas seria mais adequada para se propor uma nova região a estudar. Para realizar o deslocamento, cada efeito significativo foi dividido pelo maior efeito de acordo com o programa *STATISTICA*. Ao

aumentar uma unidade do maior efeito, somou-se o resultado da divisão para os outros efeitos. Com isso, tem-se os valores ideais de temperaturas que poderiam obter as melhores respostas (Quadro 14). Esse deslocamento também mostrou que seria ideal um reajuste aumentando as temperaturas para se obter as melhores respostas.

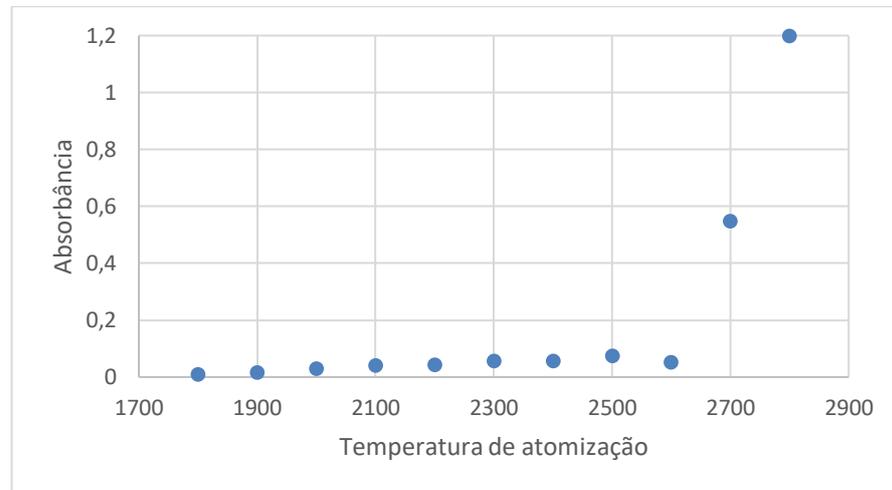
**Quadro 14.** Temperaturas de pirólise e atomização sugeridas por meio do deslocamento.

Nível	-1,41	-1	0	1	1,41
TP	820	902	1102	1302	1384
TA	2522	2645	2945	3245	3368

Fonte. Elaborado pela autora.

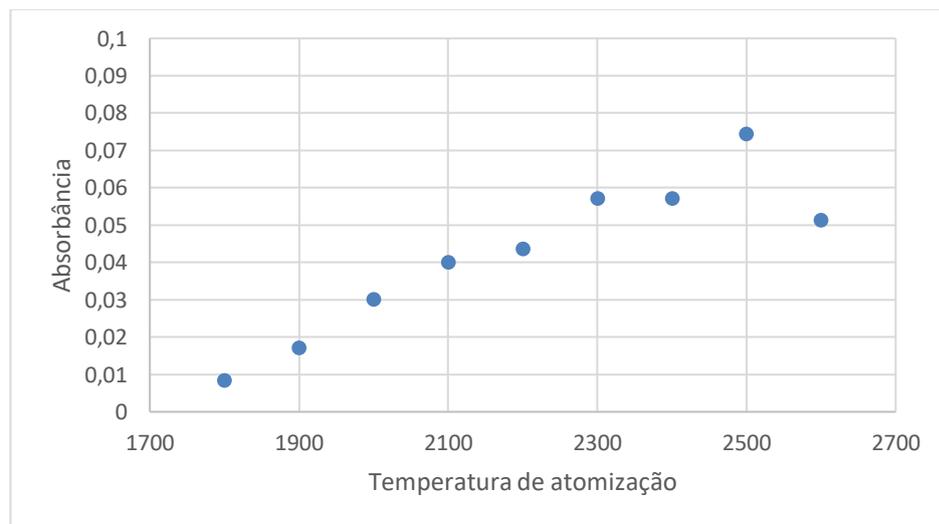
Não foi possível realizar o reajuste indicado pelo deslocamento, pois, foi observado que ao aumentar a temperatura acima de 2700° C o sinal de fundo aumentava drasticamente, interrompendo automaticamente as análises no equipamento. Diante disso, optou-se em realizar o planejamento univariado, onde fixou-se a temperatura de pirólise em 800° C, que foi a temperatura do ponto central no planejamento 2<sup>3</sup>. Neste planejamento, o fator temperatura de pirólise não apresentou resposta significativa, assim como sua interação com a temperatura de atomização e por esses motivos foi fixada a temperatura sugerida pelo fabricante. As temperaturas de atomização foram testadas entre 1800° C e 2800° C, variando a cada 100° C e as temperaturas de 2300° C à 2800° C apresentaram as melhores respostas, como indicado no Gráfico 6. No entanto, as temperaturas de 2600° C, 2700° C e 2800° C tiveram *backgrounds* altos, de forma que o equipamento interrompia a leitura das triplicatas, não sendo possíveis continuar as análises. Sendo assim, apesar dos sinais serem melhores, não são regiões possíveis de se trabalhar no equipamento. O Gráfico 7 e a Tabela 7 apresentam as melhores respostas das temperaturas de atomização de 2300° C a 2500° C. O planejamento univariado foi a opção mais adequada neste caso, uma vez que somente um fator principal significativo era quantitativo (TA).

**Gráfico 6.** Resultados das absorvâncias em relação as temperaturas analisadas no planejamento univariado do cobre.



Fonte. Elaborado pela autora.

**Gráfico 7.** Resultados das absorvâncias nas regiões de 2300 °C a 2500 °C do planejamento univariado do cobre.



Fonte. Elaborado pela autora.

**Tabela 7.** Resultados do planejamento univariado para o cobre em absorvância e sinal de fundo.

Temperatura (° C)	800-2300		800-2400		800-2500	
	Abs	BG	Abs	BG	Abs	BG
<b>Amostra 1</b>	0,0551	0,0015	0,0411	0,0673	0,0594	0,0345
<b>Amostra 2</b>	0,0558	-0,0003	0,051	0,0590	0,0661	0,0500
<b>Amostra 3</b>	0,0502	0,0070	0,0417	0,0620	0,0472	0,0577
<b>Amostra 4</b>	0,0406	-0,0009	0,0457	0,0477	0,0503	0,0490

Fonte. Elaborado pela autora.

Diante desses resultados, observa-se no Gráfico 7 que a temperatura de 2500° C possui as melhores respostas, no entanto, analisando a Tabela 7, observa-se que os sinais de fundo (BG) são mais altos. Sendo assim, a temperatura de 2300° C para a atomização foi selecionada, uma vez que esta obteve a melhor relação com maiores absorbâncias e menores sinais de fundo. Não foram encontrados trabalhos semelhantes de otimização de método para determinação de cobre em tinturas capilares.

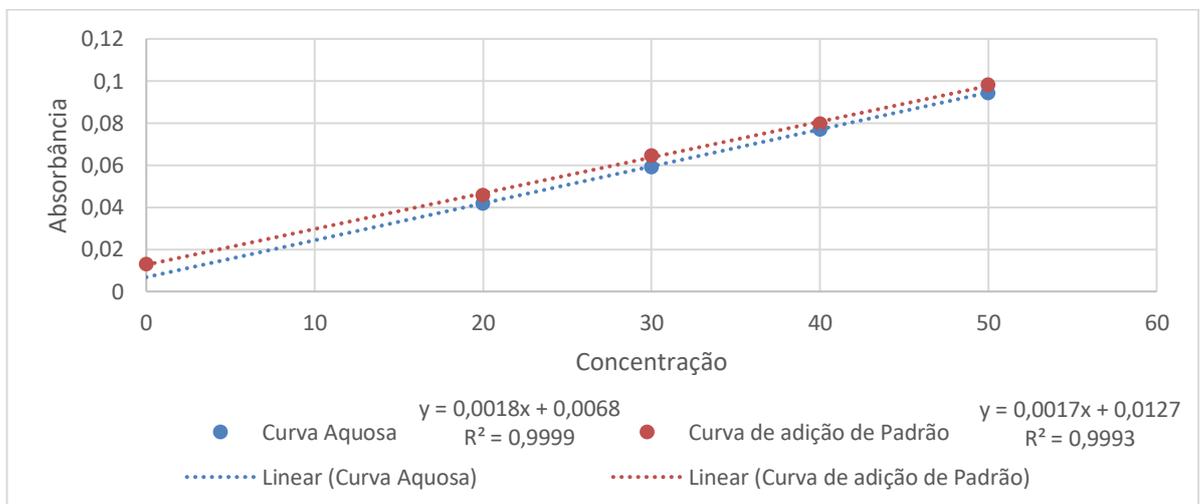
### 4.3. Validação

Para realizar a validação do método para determinação de cobre, foram verificados os parâmetros linearidade, sensibilidade, seletividade, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ) e faixa de trabalho. Não foi possível realizar a validação do chumbo.

#### 4.3.1. Seletividade

O parâmetro seletividade foi testado para verificar o efeito da matriz na análise, visto que podem haver interferentes da matriz, alterando o sinal lido. Para tanto, foi utilizada a curva de adição de padrão das amostras para comparar com a curva de calibração aquosa. A curva realizada é apresentada no Gráfico 8 para o cobre (INMETRO, 2016; EURACHEM, 2014).

**Gráfico 8.** Curvas de adição de padrão e aquosa do parâmetro seletividade para o cobre.



Fonte. Elaborado pela autora.

Foram realizados testes estatísticos (teste F e teste t) para confirmar se as curvas podem ser consideradas estatisticamente equivalentes. O teste F compara a variância de dois grupos para avaliar se esses grupos são estatisticamente equivalentes. Isso significa que ao aplicar esse teste, se as variâncias dos métodos derem diferentes, um método não pode ser substituído pelo outro. O valor de F considerado nessa análise foi de 1,4255. O teste t é usado para comparar se a média das duas curvas são iguais, ou seja, se a inclinação da curva de adição de padrão é equivalente a inclinação da curva de calibração aquosa. Isso significa que se der diferença nas

médias, não poderia substituir um método pelo outro, uma vez que esses não são estatisticamente equivalentes. O valor de t utilizado nessa análise foi de 0,9265. Na Tabela 8 estão apresentados os valores em absorbância das curvas aquosa e de adição de padrão, assim como os resultados do teste F e t.

**Tabela 8.** Valores em absorbância das curvas analisadas e resultados dos testes F e t para a seletividade do cobre.

	<b>Curva Aquosa</b>	<b>Adição de Padrão</b>
<b>Valores em Absorbância</b>	0,0073	0,0131
	0,0259	0,0578
	0,042	0,0457
	0,0592	0,0646
	0,0772	0,0799
	0,0945	0,0982
	<b>Média</b>	0,0510
<b>Desvio padrão</b>	0,0325	0,0293
<b>Variância</b>	0,0011	0,0009
<b>F</b>	1,2290	
<b>Teste F (Probabilidade associada)</b>	0,4132	
<b>t estatístico</b>		0,4969
<b>p</b>		0,6300

Fonte. Elaborado pela autora.

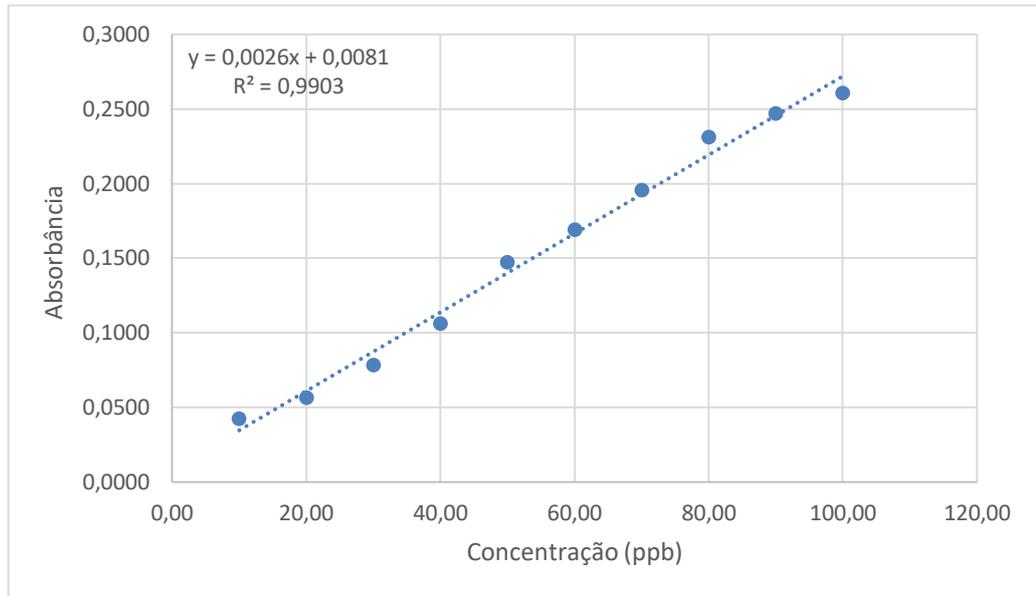
Observando a Tabela 8, nota-se que os valores das variâncias são próximos, indicando que as duas curvas podem ser estatisticamente equivalentes. Observa-se também pelo resultado de  $F = 0,4132$  (calculado) é menor que  $F$  tabelado. Isso significa que a hipótese nula é aceita, com 95% de confiança, logo não há diferença estatística entre as variâncias. De acordo com o teste t, a hipótese nula também é aceita, uma vez que a probabilidade (p) é maior que 0,05. Isso significa que não há diferença significativa nas médias das duas curvas a um nível de confiança de 95%. Além disso, pode-se observar pelos resultados das médias das duas curvas obtiveram resultados aproximados, indicando também a equivalência dos métodos. Conclui-se então que as curvas podem ser consideradas estatisticamente equivalentes, isso significa que não há efeito de matriz, podendo ser realizada a calibração externa na leitura das amostras.

#### 4.3.2. Linearidade

A linearidade serve para verificar se o método utilizado produz resultados de absorbâncias diretamente proporcional à concentração de chumbo e cobre em tinturas capilares, em uma faixa de concentração (INMETRO, 2016; EURACHEM, 2014).

Para a análise deste parâmetro, foi construído uma curva de calibração para o cobre, garantindo a relação linear entre absorvância e concentração. A curva possuía dez pontos com concentrações de 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100  $\mu\text{g L}^{-1}$  como apresentado no Gráfico 9.

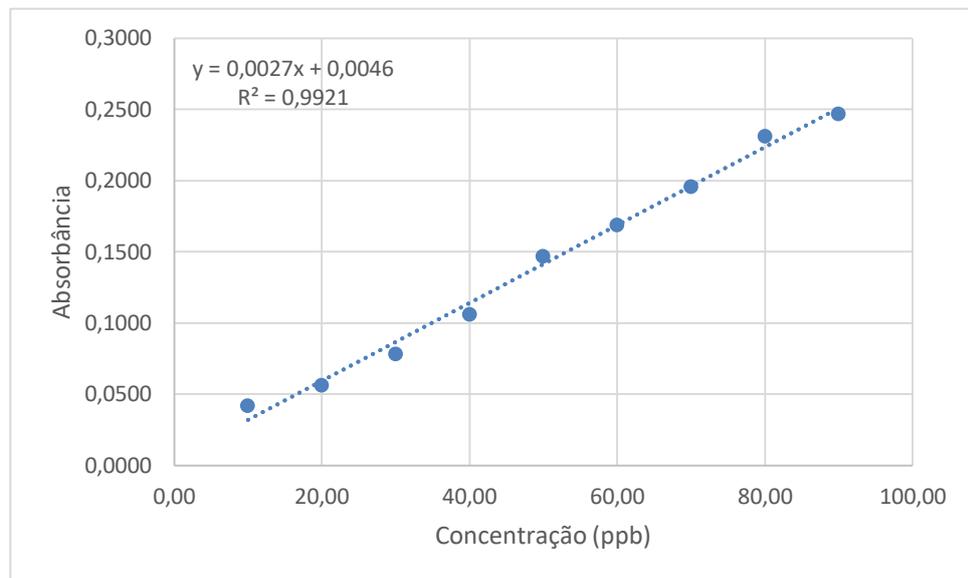
**Gráfico 9.** Curva de calibração externa para teste de linearidade do cobre.



Fonte. Elaborado pela autora.

Segundo o INMETRO (2008), a linearidade de um método pode ser tanto observada experimentalmente (pelo gráfico dos resultados dos ensaios) quanto calculada a partir da equação da regressão linear. Observa-se também o valor do coeficiente de correlação linear ( $r$ ), que indica se uma reta é adequada ou não como modelo matemático. Por meio do Gráfico 9 que se refere a linearidade do cobre, observou-se que a partir do último ponto da curva começou a perder sua linearidade, indicando que a melhor faixa a ser trabalhada deve ser até o ponto de 90  $\mu\text{g L}^{-1}$ . O Gráfico 10 representa a linearidade do cobre até o ponto de 90  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

**Gráfico 10.** Curva de calibração externa para teste de linearidade do cobre retirando o ponto de  $100 \mu\text{g L}^{-1}$ .



Fonte. Elaborado pela autora.

Comparando-se os Gráficos 9 e 10, observou-se que ao retirar o ponto de concentração igual a  $100 \mu\text{g L}^{-1}$ , o valor de  $R^2$  aumentou e conseqüentemente melhorou o valor do coeficiente de regressão linear. Sendo assim, optou-se por considerar o ponto de concentração igual a  $90 \mu\text{g L}^{-1}$  como sendo o último ponto. Pela equação da regressão linear, observados pelo coeficiente de correlação (R) do modelo, o cobre apresentou valor de R maior que 0,99, sendo  $R = 0,9960$ . Nestes casos, segundo o INMETRO, valores superiores a 0,99 indicam que as retas podem ser consideradas adequadas ao modelo matemático.

#### 4.3.3. Sensibilidade

A sensibilidade de um método é um parâmetro analisado que demonstra a variação da resposta em função da concentração do analito, sendo determinada simultaneamente aos testes de linearidade por meio da inclinação da curva de regressão linear do teste de linearidade (INMETRO 2008; EURACHEM, 2014). Portanto, para esse método, a sensibilidade foi de 0,0027 para o cobre. Vale ressaltar que, quanto maior a inclinação da curva (coeficiente angular maior), mais sensível é o método. Além disso, o Zircônio foi escolhido como modificador químico, uma vez que a massa característica indicou que esse modificador foi o que mais contribuiu para aumento da sensibilidade da técnica.

#### 4.3.4. Limite de detecção e Limite de quantificação

O limite de detecção do método, realizado conforme procedimento descrito no item 3.4.4 foi de  $2,82 \mu\text{g L}^{-1}$  para o cobre. Esse limite é importante por indicar o menor valor de concentração do analito que pode ser detectado pelo método. Já o limite de quantificação

corresponde ao menor valor encontrado com nível estatístico aceitável de precisão e veracidade. O limite de quantificação do cobre foi de  $8,54 \mu\text{g L}^{-1}$ , utilizando o procedimento do item 3.4.4, de acordo com o guia da INMETRO (2016).

#### 4.3.5. Faixa de Trabalho

A faixa de trabalho foi determinada em conjunto com a linearidade e o limite de quantificação, sendo que o limite de quantificação corresponde ao limite inferior e o ponto máximo que obedece à linearidade corresponde ao ponto final da faixa de trabalho (limite superior). Se tratando do cobre, como o último ponto da curva de calibração já estava perdendo a linearidade, optou-se pelo ponto anterior ser o último ponto da faixa de trabalho. A faixa de trabalho (FT) determinada está representada na Tabela 9. Faixa de trabalho escolhida para o método do cobre.

**Tabela 9.** Faixa de trabalho escolhida para o método do cobre.

Elemento	FT ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )
Cobre	10-90

Fonte. Elaborado pela autora.

Sendo assim, as etapas da otimização tanto para o chumbo quanto para o cobre foram concluídas. Em relação à validação, não foram possíveis realizar a validação do chumbo, e para o cobre, a exatidão, precisão e robustez não foram possíveis de serem realizadas em razão ao cancelamento das atividades presenciais na instituição. Isso aconteceu devido ao estado de emergência de saúde pública de importância internacional decorrente da pandemia devido ao novo coronavírus (COVID-19).

A etapa de quantificação nas amostras não foi possível de ser concluída, devido ao cancelamento das atividades presenciais na instituição. No entanto, seria realizado o preparo adequado para 15 amostras, como mencionado no item 4.1 e a leitura de acordo com o método otimizado. Seriam selecionados 3 fabricantes diferentes e 5 tintas de cores diferentes para cada fabricante. Isso para comparar posteriormente se fatores como cor e fabricante influenciariam nos resultados.

Esperava-se encontrar concentrações de chumbo abaixo de 0,6% para todas as amostras, visto que esse é o limite máximo permitido na legislação. Em relação ao cobre, não possui na legislação um limite para sua concentração em tintas de cabelo, no entanto, também esperava-se encontrar baixos teores para certificar que as amostras seriam seguras para uso.

## 5. CONCLUSÃO

Por meio deste trabalho, foi possível realizar a otimização do chumbo e do cobre. Foi realizada parte da validação do cobre nas amostras de tinturas capilares em creme, de forma confiável, utilizando a espectrometria de absorção atômica em forno de grafite. Essa técnica foi escolhida devido à baixa concentração dos analitos nas amostras, na ordem de  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Portanto, foi necessária uma técnica sensível a essa concentração, como o GF AAS.

Utilizando o planejamento de experimentos foi possível obter as condições ótimas de análise para modificador químico, temperatura de pirólise e temperatura de atomização, visando a maior eficiência na análise. As condições otimizadas para o chumbo foram de TP=266° C e TA= 1690° C, já para o cobre foram TP= 800° C e TA=2300° C. Para os dois metais foi utilizado o Zircônio como modificador.

Para a validação do cobre, testaram-se as seguintes figuras de mérito: linearidade, sensibilidade, seletividade, limite de detecção e quantificação e faixa de trabalho. Todas essas figuras de mérito avaliadas mostraram-se satisfatórias, de acordo com o guia do INMETRO.

O preparo das amostras também se mostrou eficiente, visto que foi testado alguns métodos com base na literatura, e a partir dos resultados foi possível chegar em um preparo eficiente para as amostras em uso, utilizando os recursos disponíveis. A digestão foi realizada com os tubos fechados para evitar perda do analito por volatilização. Pode-se considerar uma vantagem desse método, uma vez que em bloco digestor não é comum utilizar frascos fechados devido ao aumento de pressão e possível projeção da solução. No entanto, nesse caso foi possível realizar com segurança a digestão com os tubos fechados, pois o risco era baixo, devido à baixa massa de amostra usada e ao baixo teor de material orgânico na matriz.

## **6. PERSPECTIVAS FUTURAS**

Como perspectivas futuras deste trabalho, propõe-se:

- Finalizar a validação do cobre, realizando os testes de exatidão, precisão e robustez;
- Realizar a validação do chumbo, realizando os testes de linearidade, sensibilidade, seletividade, limite de detecção e quantificação, faixa de trabalho, exatidão, precisão e robustez;
- Realizar a quantificação dos metais chumbo e cobre em amostra de tinturas capilares; de diversas cores e fabricantes;
- Realizar estudos empregando ferramentas estatísticas para avaliar correlações entre cores e fabricantes com as concentrações dos metais determinados;
- Realizar a quantificação de outros metais que podem ser contaminantes na matriz tinta de cabelo.

## 7. REFERÊNCIAS

- ABDI – Agência Brasileira de Desenvolvimento Industrial. Estudo Prospectivo - Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos. **Série Cadernos da Indústria ABDI**. Volume XIII. Brasília, 2009.
- ABIHPEC – Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos. **Panorama do Setor de HPPC 2017**. p. 1-30. São Paulo, SP. 2018.
- ABIHPEC – Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos. **Panorama do Setor de HPPC 2011**. p. 2-12. São Paulo, SP. 2011.
- ABIHPEC – Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos. **Caderno de Tendências 2019-2020**. ABIHPEC e SEBRAE. 2020.
- AGILENT TECHNOLOGIES. **Analytical Methods for Graphite Tube Atomizers – User’s Guide**. 8ª ed. Agilent Technologies, Inc. Australia, March 2012.
- AL-SALEH, I; AL-ENAZI, S; SHINWARI, S. **Assessment of lead in cosmetic products**. Regul. Toxicol. Pharm., v. 54, p. 105-113, 2009
- 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, 168–173. 2006.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC Nº15, de 26 de março de 2013**. Adendo 2. Brasília, 2013.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RE Nº899, de 29 de maio de 2003**. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. Brasília, 2003.
- ATZ, V. L. **Desenvolvimento de Métodos para Determinação de Elementos Traço em Sombra para Área dos Olhos e Batom**. Tese de mestrado em Química, apresentada a Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, outubro de 2008.
- AUGUSTO, A. S. **Determinação de Cd, Co, Cr, Cu, Ni e Pb em cosméticos infantis empregando técnicas espectroanalíticas**. Dissertação de Mestrado em Química. Universidade de São Carlos. São Carlos, 2014.
- BARROS, A. I. **Desenvolvimento de métodos para a determinação de Pb, Cd, Cr, Ni e Sb em cosméticos faciais por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite de alta resolução com fonte contínua empregando amostragem direta de sólidos**. Tese de doutorado em Química. Universidade Estadual Paulista. Araraquara - SP. 2016.
- BATISTA, L. S., **Determinação de chumbo em batons e tinturas capilares por Espectrometria de Absorção Atômica**. Trabalho de conclusão de curso-Licenciatura em química. Universidade Federal da Fronteira do Sul – Cerro Largo, 2017.

BEZERRA, M. A.; SANTELLI, R. E.; OLIVEIRA, E. P.; VILLAR, L. S.; ESCALEIRA, L. A. **Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry.** Talanta. P. 965-977, 2008.

BORGES, S. S. O.; **Estratégias analíticas para a determinação direta de alumínio, chumbo e cobre em amostras de bebidas por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite.** Doutorado em Química Instituição de Ensino: Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia Biblioteca Depositária: Biblioteca Central da UFU. 2016.

BRASIL. Resolução N° 332, de 1 de dezembro de 2005. **Ministério da Saúde (MS), Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).** Sistema de Cosmetovigilância. Art. 1°.

BRASIL. Resolução RDC N°15, de 26 de março de 2013. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).** “Lista de substâncias de uso cosmético: Acetato de chumbo, Pirogalol, Formaldeído e Paraformaldeído”.

BRASIL. Resolução RDC N°7, de 10 de fevereiro de 2015. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).** Anexo 1 - Definições.

CASTANEDO-TARDAN, M. P.; ZUG, K. A. **Patterns of Cosmetic Contact Allergy.** Dermatologic Clinics 27, 265-280. 2009.

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

EURACHEM, Guide. **The fitness for purpose of analytical methods. A laboratory guide to method validation and related topics.** Second edition, 2014.

FERNANDES, J. O. **Determinação Voltamétrica de chumbo em amostras de Creme Capilar Tonalizante por meio de eletrodos compósitos.** Trabalho de conclusão de curso. Departamento de engenharia química e de petróleo. Niterói, RJ. CDD 541.374, 2016.

FEUGHELMAN, M. **Morphology and Properties of Hair.** In: JOHNSON, D. H. Hair and Hair Care. New York: Maceal Dekker, 1997.

FRANQUILINO, E., **Revista de negócios da indústria de beleza-Temática digital Hair Color** n° 44 – Ano 14 – Outubro 2019. ISSN 1980-9832.

FROES, R. E. F.; WINDMÖLLER, 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, 32-43. 2006.

GALEMBECK, F.; CSORDAS, Y. **Cosméticos: A química da beleza.** Rio de Janeiro: Sala de Leitura PUC. Disponível em: [http://web.ccead.puc-rio.br/condigital/mvsl/Sala%20de%20Leitura/conteudos/SL\\_cosmeticos.pdf](http://web.ccead.puc-rio.br/condigital/mvsl/Sala%20de%20Leitura/conteudos/SL_cosmeticos.pdf). Acesso em 16/11/19.

GAO, C.; LIU, L., MA, W.; ZHU, N.; JIANG, L.; LI, Y.; KANNAN, K. **Benzenophenonetype UV filters in urine of Chinese Young Adults: Concentration, source and exposure.** Environmental Pollution. V. 203, p. 1-6. August, 2015.

GOMES, A. L. **O uso da tecnologia cosmética no trabalho do profissional cabeleireiro.** São Paulo: SENAC, 1999.

HARRIS, D. C., **Análise Química Quantitativa**, 8ª Edição, Rio de Janeiro: LTC, 2013.

HEMIELEWSKI, C., SILVEIRA, R. L., **Compostos nocivos ao organismo presentes em tonalizantes capilares.** Disc. Scientia. Série: Ciências da Saúde, Santa Maria, v. 8, n. 1, p. 41-49, 2007.

HOREV, L. **Exogenous factors in hair disorders.** Exogenous Dermatology, v. 3, n. 5, p. 237–245, 2004

IARC, **Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans**, Supplement 6, Genetic and Related Effects: An Updating of Selected IARC Monographs from Volumes 1 to 42, Lyon, 1987.

IARC, **Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans** Volume 87. Lyon, France 2006.

ICH: **Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology**, in Q2(R1). ICH Harmonised Tripartite Guideline: London, 2005.

INMETRO. **Orientações Sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos.** DOQCGCRE008. Revisão 01. Março de 2003.

INMETRO. **Orientações Sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos.** DOQCGCRE-008. Revisão 05. Agosto de 2016.

JONES, C. C.; **Henna para Cabelo "How-To" Henna.** Publicado por TapDancing Lizard™ LLC. 4237 Ave Klein. Stow, Ohio 44224 E.U.A. 2006.

IRKLAND, 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, 88–105. 2005.

KRUG, F. J., **Métodos de preparo de amostras – Fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar.** 1ª ed., Piracicaba 2008.

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.

MARTHE, D. B.; **Determinação de Al, Cu, Fe, Pb e Zn em amostras de Alcachofra e Catuaba por Espectrometria de Absorção Atômica.** Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais. Departamento de Química. 2011.

MIRANDA, F. M. P., **Determinação de chumbo e avaliação da qualidade microbiológica de sombras e batons**. Trabalho de conclusão de curso em química tecnológica – Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais. 2018.

MOREIRA, F. R., MOREIRA, J. C., **A cinética do chumbo no organismo humano e sua importância para a saúde**. Centro de Estudos da Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana (CESTEH), Escola Nacional de Saúde Pública (ENSP), Fiocruz. 2004.

MOURABET, M.; EL RHILASSI, A.; EL BOUJAADY, H.; BENNANI-ZIATNI, M. TAITAI, A. **Use of response surface methodology for aptimization of fluoride adsorption in na aqueous solution by Brushite**. Arabian Journal of Chemistry. v.10, p. S3292S3302, 2017.

NBR ISO 9000; **Sistemas de gestão da qualidade -Fundamentos e vocabulário**. Rio de Janeiro, 2000.

NETO, B. B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como Fazer Experimentos – Pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. Unicamp, 2ª ed. São Paulo 2001.

NOHYNEK, G. J.; FAUTZ, R.; BENECH-KIEFFER, F.; TOUTAIN, H. **Toxicity and human health risk of hair dyes**. Food and Chemical Toxicology 42, 517–543. 2004.

OLIVEIRA, V. G., **Cabelos: uma Contextualização no Ensino de Química**. PIBID UNICAMP – Programa Institucional de Bolsas de Incentivo à Docência - Subprojeto Química. 2013.

PESSOA, H. M.; HAUSER-DAVIS, R. A.; CAMPOS, R. C.; CASTRO, E. V. R.; **Determination of Ca, Mg, Sr and Ba in crude oil samples by atomic absorption spectrometry**. Journal of Analytical Atomic Spectrometry, Agosto, 2012. DOI: 10.1039/C2JA30125C.

PINHEIRO, A. S. *et al.* **Mecanismos de degradação da cor de cabelos tingidos: Um novo modelo de proteção**. Cosmetics & Toiletries, v. 14, p. 68-77, 2002.

PINTO, T.J.A.; KANEKO, T.M.; PINTO, A.F. **Controle Biológico de Qualidade de Produtos Farmacêuticos, Correlatos e Cosméticos**. São Paulo: Atheneu Editora, 780 p. 2010.

PRUNIÉRAS, M.; **Manual de Cosmetologia Dermatológica**; 2. ed. São Paulo: Andrei, p. 153-172. 1994.

RODRIGUES, G. B. *et al.*, **Análise das diferenças de composição e modo de aplicação de produtos capilares henê e hena**. Universidade do Vale do Itajaí- UNIVALI, Santa Catarina, 2009.

SANTOS, A. E.; *et al.* **Coloração Capilar: Os efeitos das tinturas na saúde e na fibra capilar**. Educação, Gestão e Sociedade: revista da Faculdade Eça de Queirós, ISSN 2179-9636, Ano 6, número 22, junho de 2016.

SKOOG, D.A.; WEST, D.M.; HOLLER, F.J.; CROUCH, S.R. **Fundamentos de Química Analítica**. 8a ed., São Paulo: Thomson Learning, 2006.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Principles of Instrumental Analysis**. 6th ed., Thomson Learning, 2016.

SOARES, A. R. **Desenvolvimento de Métodos para Determinação de Chumbo e Níquel em Produtos Cosméticos e Cabelo por GF AAS**. Tese de doutorado em Ciências – Química. Universidade Federal de Minas Gerais. 2012.

TARLEY, C. R. T.; SILVEIRA, G.; DOS SANTOS, W. N. L.; MATOS, G. D.; DA SILVA, E. G. P.; BEZERRA, M. A.; MIRÓ, M.; FERREIRA, S. L. C. **Chemometric tools in electroanalytical chemistry: Methods for optimization based on factorial design and response surface methodology**. *Microchemical Journal*. v.92, p.58-67, 2009.

TORRES, B. B. *et al.* **Bioquímica da beleza**. São Paulo: IQ-USP, 2005.

TREVISAN, C. A. **História dos Cosméticos**. Conselho Regional de Química – IV Região. Disponível em <https://www.crq4.org.br/historiadoscsmeticosquimicaviva>. Acesso em 16 de novembro de 2019. Publicado em 14 de abril de 2011.

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

WELZ, B.; SPERLING, M. **Atomic absorption spectrometry**. Weinheim: Wiley-VCH, 1999.