

## **AVALIAÇÃO DE MÉTODOS DE PREPARO DE AMOSTRA PARA A SUBSEQUENTE DETERMINAÇÃO DE Cl E F EM LÁPIS PARA OLHOS POR CROMATOGRAFIA DE ÍONS**

JANAÍNA DO ROSÁRIO BRUM; VANIZE CALDEIRA DA COSTA; DIRCE TAINÁ  
TEIXEIRA DE OLIVEIRA; JULIA EISENHARDT DE MELLO; FILIPE SOARES  
RONDAN; MÁRCIA FOSTER MESKO

*Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas  
janainabrum91@gmail.com; marciamesko@yahoo.com.br*

### **1. INTRODUÇÃO**

Tendo em vista que os olhos possuem a pele mais fina e sensível do corpo humano, e que os produtos cosméticos utilizados nesta região podem provocar efeitos adversos, tais como a dermatite de contato alérgica ou irritativa (SAXENA et al., 2001; CORONEO et al., 2006), faz-se necessário que a presença de alérgenos e/ou irritantes seja controlada nas formulações, especialmente naquelas utilizadas na área dos olhos. Segundo a Agência para Registro de Substâncias Tóxicas e Doenças (ATSDR), a exposição ao Cl e ao F pode afetar os olhos, causando irritação e processos inflamatórios (ATSDR, 2017). Dessa forma, torna-se importante a determinação desses elementos em cosméticos utilizados na região dos olhos, como o lápis para olhos.

Dentre os cosméticos utilizados na margem palpebral, o lápis para olhos é um dos mais utilizados, principalmente, devido à facilidade de aplicação. Apesar disso e da complexidade deste tipo de amostra, composta por ceras, óleos e pigmentos, não há métodos relatados na literatura visando à determinação de Cl e F em lápis para olhos (DRAELOS, 2001). Isso provavelmente está associado ao uso de ácidos não ser recomendado para a subsequente determinação de halogênios, como o Cl e o F, os quais são amplamente utilizados para o preparo de amostras majoritariamente orgânicas. No entanto, a combustão iniciada por micro-ondas (MIC) tem sido relatada como uma alternativa para o preparo de amostras de variados tipos de matrizes visando à subsequente determinação de halogênios (KRUG; ROCHA, 2016). A MIC é uma técnica que possibilita a oxidação dos compostos orgânicos presentes na amostra pela ação direta do oxigênio, e os analitos são absorvidos em uma solução adequada à técnica de determinação. Outra alternativa, são os métodos de preparo de amostra baseados no uso de soluções alcalinas, os quais podem ser realizados em sistemas abertos ou fechados, com aquecimento convencional ou assistido por radiação micro-ondas. Ainda, esses podem envolver o uso do ultrassom como uma fonte de energia alternativa, podendo favorecer o processo de extração ou dissolução (NÓBREGA et al., 2006).

Quanto à determinação de halogênios, a cromatografia de íons (IC) pode ser destacada por apresentar elevada sensibilidade para a determinação de Cl e F, capacidade de determinação multielementar e, principalmente, menores custos quando comparada às técnicas espectrométricas. Essas características associadas à utilização de um método de preparo de amostra adequado tornam a IC uma técnica de determinação promissora para a análise de rotina. Nesse sentido, é importante mencionar que a utilização da MIC para o preparo das amostras tem viabilizado a obtenção de soluções compatíveis com a IC (FLORES, et. al., 2008).

Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar e desenvolver métodos utilizando a MIC e a extração assistida por ultrassom (UAE) para a subsequente determinação de Cl e F em lápis para olhos por IC.

## 2. METODOLOGIA

Neste trabalho foram utilizadas amostras de lápis para olhos de duas marcas diferentes (L1 e L2) e de variadas cores (azul, branco, marrom, prata, preto e marrom acinzentado), produzidas na China ou nos Estados Unidos. O lápis para olhos de cor azul foi escolhido aleatoriamente para a avaliação e desenvolvimento dos métodos. Previamente à avaliação dos métodos de preparo de amostra, cerca de 30 g de amostra, que estavam na forma de bastão, no lápis para olhos, foram transferidos para frascos de polipropileno e homogeneizados por aquecimento em um banho de água a 70 °C por 20 min sob agitação manual.

Para a digestão de lápis para olhos por MIC, 50 a 250 mg de amostra foram misturados com celulose microcristalina (0 a 50 mg) e envolvidos por um filme de polietileno, que foi selado por aquecimento. Após a obtenção do invólucro contendo a amostra, esse foi disposto na base de um suporte de quartzo contendo um papel filtro umedecido com 50 µL de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  (6 mol L<sup>-1</sup>). Posteriormente, o suporte foi inserido no interior de um frasco de quartzo contendo a solução absorvedora (6 mL de água ou de  $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$  – 50 ou 100 mmol L<sup>-1</sup>). Por fim, os frascos foram fechados, fixados no rotor, pressurizados com 20 bar de  $\text{O}_2$  e submetidos ao seguinte programa de irradiação: 1400 W por 5 min; 0 W por 20 min, que foi conduzido em um forno micro-ondas (Multiwave 3000, Anton Paar, Áustria). Após o preparo das amostras, as soluções obtidas foram avolumadas a 25 mL e analisadas por IC para a determinação de Cl e F.

As soluções absorvedoras foram avaliadas através de ensaios de recuperação, que foram realizados pela adição de uma solução de referência com concentração conhecida, na amostra, previamente à etapa de digestão por MIC. A exatidão do método proposto também foi avaliada pelo preparo de misturas contendo 50 mg do CRM MESS-4 (*Marine Sediment*) e 150 mg da amostra; ou 100 mg do CRM BCR 040 (*Trace Element in Coal*) e 100 mg da amostra por MIC, utilizando as condições selecionadas.

Para a avaliação da UAE, 500 mg de amostra foram transferidos para frascos de PTFE-TFM juntamente com 6 mL de solução extratora (água ultrapura,  $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$  100 mmol L<sup>-1</sup> ou HTMA 200 mmol L<sup>-1</sup>). Após, as amostras foram levadas a um banho de ultrassom (300 W, UltraSonic Cleaner, UNIQUE, Brasil), sob aquecimento a 65 °C, por 90 min e agitadas em intervalos de 15 min. Por fim, as soluções foram filtradas, transferidas para frascos volumétricos e o volume foi aferido a 25 mL. A determinação de Cl e F nas soluções obtidas após o preparo das amostras também foi feita por IC. Após a otimização do método proposto, esse foi aplicado para a determinação de Cl e F nas outras amostras de lápis para olhos.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante a otimização do processo de combustão, a massa máxima de amostra que poderia ser digerida por MIC foi de 150 mg, sendo que com o uso de massas superiores à esta foi observada a formação de fuligem nos frascos, indicando uma combustão incompleta. Assim, com o intuito de viabilizar a decomposição de massas de amostra superiores à 150 mg, foi avaliada a utilização de celulose microcristalina como um auxiliar de combustão. Com isso, foi possível decompor até 200 mg de lápis para olhos utilizando 50 mg de auxiliar. Cabe destacar que não foi possível avaliar massas superiores de celulose microcristalina, a qual poderia viabilizar a digestão de massas mais elevadas de amostra, devido à chama gerada durante a combustão do lápis para olhos ter sido muito intensa, podendo danificar a tampa de PTFE do frasco de digestão.

Quanto à solução mais adequada para absorção de Cl e F durante a digestão de lápis para olhos por MIC, foram avaliadas soluções de  $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$  (50 ou 100 mmol L<sup>-1</sup>) e água. Para tanto, 200 mg de amostra em presença de 50 mg de celulose foram decompostas por MIC, utilizando as soluções avaliadas. No entanto, não foram verificadas diferenças significativas (ANOVA/teste Tukey, nível de confiança de 95%) entre os resultados obtidos para Cl e F, após o preparo da amostra de lápis para olhos por MIC utilizando água (Cl:  $758 \pm 30$  mg kg<sup>-1</sup>; F:  $186 \pm 16$  mg kg<sup>-1</sup>),  $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$  50 mmol L<sup>-1</sup> (Cl:  $743 \pm 32$  mg kg<sup>-1</sup>; F:  $196 \pm 12$  mg kg<sup>-1</sup>) ou  $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$  100 mmol L<sup>-1</sup> (Cl:  $786 \pm 39$  mg kg<sup>-1</sup>; F:  $215 \pm 17$  mg kg<sup>-1</sup>). Assim, os resultados indicam que todas as soluções avaliadas são adequadas para a absorção de Cl e F durante a digestão de lápis para olhos por MIC. Com base nestes resultados, a água foi escolhida para os estudos subsequentes tendo em vista a possibilidade de geração de resíduos ambientalmente amigáveis e a maior compatibilidade com a técnica de determinação.

As recuperações obtidas para Cl e F utilizando a condição selecionada foram de  $105 \pm 1\%$  e  $93 \pm 5\%$ , respectivamente. Além disso, as concentrações obtidas para Cl ( $11146 \pm 368$  mg kg<sup>-1</sup>) e F ( $107 \pm 3$  mg kg<sup>-1</sup>) após decomposição dos CRMs misturados à amostra não diferiram significativamente das concentrações certificadas para estes analitos (Cl:  $13100 \pm 4400$  mg kg<sup>-1</sup>; F:  $111,4 \pm 7,6$  mg kg<sup>-1</sup>). Assim, os resultados indicam que o método proposto foi adequado para o preparo de amostras de lápis para olhos por MIC e determinação de Cl e F por IC. Adicionalmente, é importante mencionar que, utilizando as condições selecionadas, foram obtidos baixos RSDs (< 9%) e LODs (Cl: 36,9 mg kg<sup>-1</sup>; F: 3,86 mg kg<sup>-1</sup>).

Na UAE, foram avaliadas como soluções extratoras HTMA 200 mmol L<sup>-1</sup>,  $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$  100 mmol L<sup>-1</sup> e água. Quando o HTMA foi utilizado, os resultados obtidos para Cl e F foram inferiores aos LODs (Cl: 7488 mg kg<sup>-1</sup> e F: 3150 mg kg<sup>-1</sup>). Cabe salientar que isso ocorreu devido à incompatibilidade da solução obtida com a técnica de determinação, o que culminou na utilização de elevados fatores de diluição previamente à análise (cerca de 300 vezes) e, consequentemente, em elevados LODs para os analitos.

Com relação aos resultados obtidos para Cl, também é importante mencionar que foram verificadas diferenças significativas (teste-t *Student*, nível de confiança de 95%) entre as concentrações obtidas utilizando água ( $371 \pm 36$  mg kg<sup>-1</sup>) ou  $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$  100 mmol L<sup>-1</sup> ( $486 \pm 28$  mg kg<sup>-1</sup>) como solução extratora. Além disso, essas concentrações foram inferiores à obtida após a digestão da amostra por MIC ( $758 \pm 36$  mg kg<sup>-1</sup>). Assim como ocorreu para o Cl, as concentrações de F obtidas utilizando água ( $70 \pm 2$  mg kg<sup>-1</sup>) ou  $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$  100 mmol L<sup>-1</sup> (< 90 mg kg<sup>-1</sup>) foram inferiores à obtida após o preparo da amostra por MIC ( $186 \pm 16$  mg kg<sup>-1</sup>), o que indica que o processo de extração também foi ineficiente para este analito. A partir dos resultados obtidos, a MIC foi aplicada para o preparo de lápis para olhos de variadas cores visando a posterior determinação de Cl e F por IC. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 1.

Como pode ser observado na Tabela 1, as concentrações de Cl e de F variaram em uma ampla faixa nas amostras avaliadas. Adicionalmente, foi possível verificar que em algumas amostras a concentração de F (lápis para olhos prata, marrom acinzentado e branco) foram superiores às concentrações de Cl. As menores concentrações de ambos os analitos foram observadas no lápis para olhos branco. Por outro lado, as maiores concentrações de Cl e F foram obtidas para as amostras de lápis para olhos azul e marrom acinzentado.

**Tabela 1.** Concentrações de Cl e F em lápis para olhos de variadas cores obtidas após decomposição por MIC utilizando as condições otimizadas e determinação por IC (média  $\pm$  desvio padrão, n = 3).

Marca	Cor	Concentração (mg kg <sup>-1</sup> )	
		Cl	F
L1	Azul	758 $\pm$ 36	186 $\pm$ 16
	Prata	< 36,9*	135 $\pm$ 15
	Preto	76,1 $\pm$ 6,5	48,1 $\pm$ 4,5
	Marrom acinzentado	150 $\pm$ 12	327 $\pm$ 21
L2	Branco	< 36,9*	13,7 $\pm$ 2,4
	Marrom	76,9 $\pm$ 5,6	22,3 $\pm$ 4,9

Assim, embora as amostras pertençam a lotes e/ou marcas diferentes, as variações observadas indicam que a presença de Cl e F pode estar associada, principalmente, aos agentes colorantes utilizados nos cosméticos.

#### 4. CONCLUSÕES

Com base nos estudos realizados, foi possível observar que os métodos de preparo de amostra baseados na UAE não viabilizaram a obtenção de resultados quantitativos para Cl e F em lápis para olhos. Além disso, foram obtidos elevados LODs em algumas condições visto que elevados fatores de diluição foram requeridos previamente à análise. Por outro lado, a MIC foi adequada para o preparo da amostra de lápis para olhos para posterior determinação de Cl e F por IC. O método desenvolvido apresentou exatidão e precisão satisfatórias, permitiu a obtenção de baixos valores de brancos e LODs, bem como o uso de água como solução absorvedora, a qual contribui para a redução da geração de resíduos.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ATSDR. **Chlorine - ToxFAQs™**. Agência para Registro de Substâncias Tóxicas e Doenças. Acessado em 22 set. 2017. Online. Disponível em: <http://www.atsdr.cdc.gov>.
- ATSDR. **Fluorides, hydrogen fluoride, and fluorine**. Agência para Registro de Substâncias Tóxicas e Doenças. Acessado em 22 set. 2017. Online. Disponível em: <http://www.atsdr.cdc.gov>.
- CORONEO, M. T.; ROSENBERG, M. L.; CHEUNG L. M. Ocular effects of cosmetic products and procedures. **The Ocular Surface**, Oxford, v.4, n.2, p.94-102, 2006.
- DRAELOS, Z. D. Special considerations in eye cosmetics. **Clinics in Dermatology**, Oxford, v.19, p.424-430, 2001.
- FLORES, E. M. M.; MESKO, M. F.; MORAES, D. P.; PEREIRA, J. S. F.; MELLO, P. A.; BARIN, J. S.; KNAPP, G. Determination of halogens in coal 18 after digestion using the microwave-induced combustion technique. **Analytical Chemistry**, v.80, p.1865-1870, 2008.
- KRUG, F. J.; ROCHA, F. R. P.; **Métodos de preparo de amostras para análise elementar**. 3ªed., São Paulo: EditSBQ, 2016.
- NÓBREGA, J. A.; SANTOS, M. C.; SOUSA, R. A.; CADORE, S.; BARNES, R. M.; TATRO, M. Sample preparation in alkaline media. **Spectrochimica Acta Part B**, v.61, p.465-495, 2006.
- SAXENA, M.; WARSHAW, E.; AHMED, D. D. F. Eyelid allergic contact dermatitis to black iron oxide. **American Journal of Contact Dermatitis**, Filadélfia, v.12, n.1, p.38-39, 2001.