

Universidade Federal de Juiz de Fora
Pós-graduação em Química
Mestrado em Química

Raiane Aparecida Lopes Neves

Desenvolvimento de Metodologia Eletroanalítica para Quantificação de
Filtros Solares em Cosméticos usando Eletrodos Modificados.

Juiz de Fora
2017

Raiane Aparecida Lopes Neves

Desenvolvimento de Metodologia Eletroanalítica para Quantificação de Filtros Solares em Cosméticos usando Eletrodos Modificados.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Química, área de concentração: Química Analítica, da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Química.

:

Orientador: Prof. Dr. Renato Camargo Matos

Co-Orientadora: Prof^a Dr^a Maria Auxiliadora Costa Matos

Juiz de Fora

2017

*Dedico este trabalho aos meus pais,
José Maria e Meire, com todo amor
e gratidão que merecem. Amo vo-
cês.*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus, ele quem ilumina meus caminhos, me dá forças para superar os obstáculos e me concede a honra de realizar sonhos que pareciam impossíveis.

Aos meus pais, Meire e José Maria, devo tudo que sou e tenho. É difícil encontrar palavras o suficiente para agradecê-los, mas obrigada por serem os melhores pais do mundo, por estarem ao meu lado sempre, por dedicarem à vida a mim e ao Mateus. Dedico todos os meus sonhos realizados a vocês.

Ao meu irmão Mateus, Teti para mim, por me conceder boas gargalhadas, por ser um incentivo para mim, pois para ele quero ser sempre um bom exemplo. Obrigada por ser esta pessoa com quem posso dividir minhas angústias e conquistas, obrigada por ser “o melhor” para mim.

Ao meu grande amor, noivo, companheiro, amigo, Vinícius, minha eterna gratidão. Obrigada amor por me incentivar, me apoiar, aguentar meu mau humor nos piores momentos, por me mostrar que sou capaz de feitos que nem mesmo eu acreditava que seria capaz de realizar. Obrigada por fazer parte da minha vida, te amo.

Serei sempre grata aos meus orientadores Renato e Dora. Obrigada por todas as oportunidades, obrigada por confiarem em mim e por todos os ensinamentos.

As amigas: Juliana, Mariana e Fernanda por serem companheiras de estudos, bagunças, por estarem ao meu lado desde o início da graduação e até hoje, nos momentos alegres e difíceis. Amigas da faculdade para a vida.

A minha segunda família NUPIS, meu muito obrigada. Vocês fizeram dos meus dias, dias alegres, divertidos, sendo sempre companheiros (as). Foram pacientes comigo, principalmente naqueles momentos de verdadeiro stress. Obrigada Gustavo, Taimara, Guilherme, Lucas, Fausto, Marcos, Davi e Bruno.

Obrigada aos amigos (as) Naira, Ângela, Antonio Pedro, Roberto, Mellina, Aparecida, Yara, Pâmella, Daniel, Rafaela, Thalles, Ana, por anos de bom convívio, risadas, trocas de experiências, por todos os bons momentos vividos.

Obrigada Marcela, Mari e Isabela por me concederem aquele “ombro amigo”, momentos felizes e muitas gargalhadas.

Obrigada aos amigos do grupo NEEM por serem sempre solícitos.

Aos professores Denise e Júlio pelas contribuições no exame de qualificação.

À CAPES, CNPq, UFJF e FAPEMIG pelo auxílio financeiro.

“As nuvens mudam sempre de posição, mas são sempre nuvens no céu. Assim devemos ser todo dia, mutantes, porém leais com o que pensamos e sonhamos; lembre-se, tudo se desmancha no ar, menos os pensamentos”. (Paulo Beleki)

RESUMO

A importância e a necessidade do uso de protetores solares, também denominados fotoprotetores, nos últimos anos, é uma realidade inquestionável, visto que protegem a pele contra a radiação ultravioleta. A resolução RDC nº 47 de março de 2006 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) determina quais tipos de filtros podem ser usados em produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes, bem como sua concentração máxima permitida (10 % para benzofenona-3 - BZ-3, 4 % para 4-metilbenzilideno cânfora – MBC e 10 % para 4-metoxicinamato-2-etilhexila – OMC). Portanto, o presente trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de um método eletroanalítico utilizando eletrodos modificados e voltametria de onda quadrada para quantificar BZ-3, MBC e OMC em amostras de protetor solar. Foram otimizadas a composição do eletrólito, eletrodo de trabalho e a técnica voltamétrica aplicada. O sistema eletroquímico consistiu em uma célula com três eletrodos: trabalho – eletrodo de ouro modificado com filme de mercúrio, referência – Ag/AgCl_(sat) e auxiliar - platina, como eletrólito foi usado 4,0 mL de Tampão Britton Robinson 0,04 mol.L⁻¹ (pH = 4,0), 1,0 mL de Metanol (grau HPLC) e 5,50 x 10⁻⁴ mol.L⁻¹ de brometo de cetiltrimetilamônio. As medidas eletroquímicas foram realizadas por voltametria de onda quadrada, sendo o sistema eletroquímico submetido a purga com argônio por 12 minutos antes das análises. Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram 0,47 mg.L⁻¹ e 1,56 mg.L⁻¹ para BZ-3, 0,77 mg.L⁻¹ e 2,58 mg.L⁻¹ para MBC e 0,78 mg.L⁻¹ e 2,59 mg.L⁻¹ para OMC. O método mostrou valores de recuperação entre 83,3 a 98,1 %. Foram encontrados valores de concentração para BZ-3 de 3,49 % m/m (728 mg.L⁻¹), para MBC de 0,56 % m/m (113 mg.L⁻¹) e para OMC 0,99 % m/m (208 mg.L⁻¹). As amostras de protetor solar foram avaliadas por cromatografia líquida de alta eficiência, como método de referência, demonstrando uma boa correlação entre os resultados. Desta forma, todos os valores estão abaixo do permitido pela ANVISA.

Palavras chaves: Protetor solar. Eletrodo de ouro modificado com filme de mercúrio. Análise por voltametria de onda quadrada. BZ-3. OMC. MBC.

ABSTRACT

In the last few years, the importance and necessity of the use of sunscreen protectors, also denominated photoprotectors, is an unquestionable reality, since they protect the skin against the ultraviolet radiation. The resolution RDC n. 47 of March, 2006 of National Sanitary Vigilance Agency (ANVISA) determines which kinds of filters can be used in personal hygiene products, cosmetics and perfumes, as well as their maximal allowed concentration (10% benzophenone-3 – BZ-3, 4% to camphor 4-methylbenzilidene – MBC and 10% to 2-ethylhexyl-4-methoxycinnamate – OMC). Therefore, the present work has as objective the development of an electroanalytical method utilizing modified electrodes and square wave voltammetry to quantify BZ-3, MBC and OMC in sunscreen protector samples. The electrode composition, work electrode and voltammetric technique were optimized. The electrochemical system consisted of a cell with three electrodes: work – gold electrode modified with mercury film, reference – Ag/AgCl_(sat) and auxiliary – platinum, using as electrolyte 4.0 mL of Britton Robinson Buffer 0.04 mol.L⁻¹ (pH = 4.0), 1.0 mL of methanol (HPLC degree) and 5.50 x 10⁻⁴ mol.L⁻¹ of cetyltrimethylammonium bromide. The electrochemical measurements were realized by square wave voltammetry, being the electrochemical system under an argon purge for 12 minutes before the analyses. The detection (LD) and quantification (LQ) limits were 0.47 mg.L⁻¹ and 1.56 mg.L⁻¹ to BZ-3, 0.77 mg.L⁻¹ and 2.58 mg.L⁻¹ to MBC and 0.78 mg.L⁻¹ and 2.59 mg.L⁻¹ to OMC. The method showed recovery values between 83.3 and 98.1%. Concentration values found were 3.49% m/m (728 mg.L⁻¹) to BZ-3, 0.56% m/m (113 mg.L⁻¹) to MBC and 0.99% m/m (208 mg.L⁻¹) to OMC. The sunscreen protector samples were evaluated by high performance liquid chromatography, as the reference method, demonstrating a good correlation between the results. In this way, all the values are below of that allowed by ANVISA.

Keywords: Sunscreen protectors. Gold electrode modified with mercury film. Analysis by square wave voltammetry. BZ-3. OMC. MBC.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Radiação Solar.....	21
Figura 2: Radiação Ultravioleta.....	22
Figura 3: Mecanismo de ação do filtro físico	23
Figura 4: Mecanismo de ação do filtro químico.....	24
Figura 5: Fórmula estrutural dos filtros orgânicos BZ-3, MBC e OMC.....	25
Figura 6: Sinal de excitação voltametria de pulso diferencial. Sendo E potencial, t tempo e a amplitude de potencial	30
Figura 7: Sinal de excitação voltametria de onda quadrada. Sendo E potencial, t tempo e a amplitude de potencial.....	31
Figura 8: (A) célula eletroquímica contendo eletrodo de trabalho de au (ET), eletrodo de referência Ag/AgCl _(sat) (ER) e eletrodo auxiliar de platina (EA). (B) gaiola de faraday.....	37
Figura 9: (A) Amostra pesada diretamente em um tubo de falcon. (B) Tudo de falcon envolvido em papel alumínio.....	46
Figura 10: Representação esquemática de uma molécula de surfactante.....	50
Figura 11: Estabilização das moléculas do tensoativo nas superfícies líquido-ar e líquido-sólido.	50
Figura 12: Voltamogramas obtidos por pulso diferencial dos filtros UV em 4,0 mL TBR 0,04 mol L ⁻¹ (pH = 4,0), 1,0 mL MeOH e 5,50 x 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ CTAB. Sendo em (a) branco, (b) 8,66 x 10 ⁻⁶ mol.L ⁻¹ , (c) 1,72 x 10 ⁻⁵ mol.L ⁻¹ , (d) 2,58 x 10 ⁻⁵ mol.L ⁻¹ e (e) 7,02 x 10 ⁻⁵ mol.L ⁻¹ de (a) BZ-3, (b) MBC e (c) OMC. Eletrodo de trabalho: eletrodo de ouro modificado com filme de mercúrio; eletrodo de referência: Ag/AgCl _(sat) ; eletrodo auxiliar: platina. Potencial inicial: -0,9 V; degrau de potencial: 12 mV, potencial final: -1,3 V; velocidade de varredura: 25 mV/s; amplitude 50 mV.....	51

Figura 13: Voltamogramas obtidos por pulso diferencial dos filtros UV em 4,0 mL TBR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 4,0), 1,0 mL MeOH e $5,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ CATB. Adição de padrão de benzofenona-3, sendo em (a) branco, (b) $1,04 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ de BZ-3, (c) $1,73 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ de BZ-3, (d) $2,42 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ de BZ-3, (e) $3,11 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ de BZ-3 e (f) $3,79 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ de BZ-3. Eletrodo de trabalho avaliado em (a) Au modificado com filme de Hg, (b) CV modificado com filme de Hg e (c) CV limpo. Eletrodo de referência: Ag/AgCl_(sat); eletrodo auxiliar: platina. Potencial inicial: -0,9 V; degrau de potencial: 12 mV, potencial final: -1,3 V; velocidade de varredura: 25 mV/s; amplitude 50 mV.54

Figura 14: Voltamogramas obtidos por pulso diferencial dos filtros UV em 4,0 mL TBR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 4,0), 1,0 mL MeOH e $5,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ CTAB. Adição de padrão de 4 metilbenzilideno cânfora, sendo em (a) branco, (b) $1,04 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ de MBC, (c) $1,73 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ de MBC, (d) $2,42 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ de MBC, (e) $3,11 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ de MBC e (f) $3,79 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ de MBC. Eletrodo de trabalho avaliado em (a) Au modificado com filme de hg, (b) CV modificado com filme de Hg e (c) CV limpo. Eletrodo de referência: Ag/AgCl_(sat); eletrodo auxiliar: platina. Potencial inicial: -0,9 V; degrau de potencial: 12 mV, potencial final: -1,3 V; velocidade de varredura: 25 mV/s; amplitude 50 mV.55

Figura 15: Voltamogramas hidrodinâmicos para filtros UV na concentração $2,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Composição da célula eletroquímica: 4,0 mL TBR $0,04 \text{ mol l}^{-1}$ (pH = 4,0), 1,0 mL MeOH e $5,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de CTAB. Condições: faixa de varredura de -0,8 a -1,3 v, eletrodo de trabalho: Au modificado com filme de Hg, eletrodo de referência: Ag/AgCl_(sat) e eletrodo auxiliar: platina57

Figura 16: Voltamogramas obtidos por (a) voltametria de onda quadrada (b) voltametria de pulso diferencial para BZ-3. Em 4,0 mL TBR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 4,0), 1,0 mL MeOH e $5,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de CTAB. Adição de padrão de benzofenona-3, sendo em (a) branco, (b) $5,20 \times 10^{-6} \text{ mol.LI}^{-1}$ de BZ-3, (c) $8,66 \times 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ de BZ-3, (d) $1,21 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ de BZ-3, (e) $1,55 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ de BZ-3 e (f) $1,89 \times 10^{-5} \text{ mol.LI}^{-1}$ de BZ-3. Eletrodo de trabalho: Au modificado com filme de Hg, eletrodo

de referência: Ag/AgCl_(sat); eletrodo auxiliar: platina. Parâmetros SWV: frequência : 90 Hz; amplitude: 60 mV; degrau de potencial: 5 mV; potencial inicial: -0,4 V; potencial final: -1,5 V. Parâmetros pulso diferencial: potencial inicial: -0,9 V; degrau de potencial: 12 mV, potencial final: -1,3 V; velocidade de varredura: 25 mV/s; amplitude 50 mV.....59

Figura 17: Voltamogramas obtidos por (a) voltametria de onda quadrada (b) voltametria de pulso diferencial para MBC. Em 4,0 mL TBR 0,04 mol L⁻¹ (pH = 4,0), 1,0 mL MeOH e 5,50 x 10⁻⁴ mol L⁻¹ de CTAB. Adição de padrão de 4 metilbenzilideno cânfora, sendo em (a) branco, (b) 6,93 x 10⁻⁶ mol.L⁻¹ de MBC, (c) 1,04 x 10⁻⁵ mol.LI⁻¹ de MBC, (d) 1,38 x 10⁻⁵ mol.L⁻¹ de MBC, (e) 1,72 x 10⁻⁵ mol.L⁻¹ de MBC e (f) 2,06 x 10⁻⁵ mol.L⁻¹ de MBC. Eletrodo de trabalho: Au modificado com filme de Hg, eletrodo de referência: Ag/AgCl_(sat); eletrodo auxiliar: platina. Parâmetros SWV: frequência : 90 Hz; amplitude: 60 mV; degrau de potencial: 5 mV; potencial inicial: -0,4 V; potencial final: -1,5 V. Parâmetros pulso diferencial: potencial inicial: -0,9 V; degrau de potencial: 12 mV, potencial final: -1,3 V; velocidade de varredura: 25 mV/s; amplitude 50 mV.....60

Figura 18: Estudo da influência da frequência na técnica de voltametria de onda quadrada, em (a) BZ-3, (b) MBC e (c) OMC. Todos os filtros UV na concentração 2,70 x 10⁻⁵ mol L⁻¹. Composição da célula eletroquímica: 4,0 mL de TBR 0,04 mol L⁻¹ (pH = 4,0), 1,0 mL de MeOH e 5,50 x 10⁻⁴ mol L⁻¹ de CTAB. Eletrodo de trabalho: Au modificado com filme de Hg, eletrodo de referência: Ag/AgCl_(sat); eletrodo auxiliar: platina.....64

Figura 19: Potencial de pico (Ep) em função do logaritmo da frequência (log f), para o filtro BZ-3 na concentração de 2,70 x 10⁻⁵ mol L⁻¹. Composição da célula eletroquímica: 4,0 mL de TBR 0,04 mol L⁻¹ (pH = 4,0), 1,0 mL de MeOH e 5,50 x 10⁻⁴ mol L⁻¹ de CTAB. Eletrodo de trabalho: Au modificado com filme de Hg, eletrodo de referência: Ag/AgCl_(sat); eletrodo auxiliar: platina.....66

Figura 20: Potencial de pico (E_p) em função do logaritmo da frequência ($\log f$), para os filtros (a) MBC e (b) OMC. Ambos na concentração de $2,70 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Composição da célula eletroquímica: 4,0 mL de TBR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 4,0$), 1,0 mL de MeOH e $5,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de CTAB. Eletrodo de trabalho: Au modificado com filme de Hg, eletrodo de referência: $\text{Ag}/\text{AgCl}_{(\text{sat})}$; eletrodo auxiliar: platina.67

Figura 21: Estudo da influência da amplitude na técnica de voltametria de onda quadrada, em (a) BZ-3, (b) MBC e (c) OMC. Todos os filtros UV na concentração $2,70 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Composição da célula eletroquímica: 4,0 mL de TBR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 4,0$), 1,0 mL de MeOH e $5,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de CTAB. Eletrodo de trabalho: Au modificado com filme de Hg, eletrodo de referência: $\text{Ag}/\text{AgCl}_{(\text{sat})}$; eletrodo auxiliar: platina.....68

Figura 22: Estudo da influência do degrau de potencial na técnica de voltametria de onda quadrada, em (a) BZ-3, (b) MBC e (c) OMC. Todos os filtros UV na concentração $2,70 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Composição da célula eletroquímica: 4,0 mL de TBR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 4,0$), 1,0 mL de MeOH e $5,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de CTAB. Eletrodo de trabalho: Au modificado com filme de Hg, eletrodo de referência: $\text{Ag}/\text{AgCl}_{(\text{sat})}$; eletrodo auxiliar: platina.....69

Figura 23: Análise simultânea de BZ-3 e OMC, sendo em (a) sinal eletroquímico de BZ-3, concentração $1,21 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ e (b) BZ-3 adicionando-se padrão de OMC, concentração estoque $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$. Composição da célula eletroquímica: 4,0 mL de TBR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 4,0$), 1,0 mL de MeOH e $5,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de CTAB. Eletrodo de trabalho: Au modificado com filme de Hg, eletrodo de referência: $\text{Ag}/\text{AgCl}_{(\text{sat})}$; eletrodo auxiliar: platina.....71

Figura 24: Análise simultânea de BZ-3 e MBC, sendo em (a) sinal eletroquímico de BZ-3, concentração $5,20 \times 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ e (b) BZ-3 adicionando-se padrão de MBC, concentração estoque $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$. Composição da célula eletroquímica: 4,0 mL de TBR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 4,0$), 1,0 mL de MeOH e $5,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de CTAB. Eletrodo

de trabalho: Au modificado com filme de Hg, eletrodo de referência: Ag/AgCl_(sat); eletrodo auxiliar: platina.....72

Figura 25: Análise simultânea de OMC e MBC, sendo em (a) sinal eletroquímico de MBC, concentração $6,93 \times 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ e (b) MBC adicionando-se padrão de OMC, concentração estoque $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$. Composição da célula eletroquímica: 4,0 mL de TBR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 4,0), 1,0 mL de MeOH e $5,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de CTAB. Eletrodo de trabalho: Au modificado com filme de Hg, eletrodo de referência: Ag/AgCl_(sat); eletrodo auxiliar: platina.....73

Figura 26: Análise simultânea de BZ-3, OMC e MBC, sendo em (a) sinal de redução de BZ-3 e MBC e (b) BZ-3 e MBC adicionando-se padrão de OMC. Composição da célula eletroquímica: 4,0 mL de TBR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 4,0), 1,0 mL de MeOH e $5,50 \times 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$ de CTAB. Eletrodo de trabalho: Au modificado com filme de Hg, eletrodo de referência: Ag/AgCl_(sat); eletrodo auxiliar: platina.....74

Figura 27: Curvas analíticas para avaliação da linearidade (a) BZ-3 na faixa de 1,60 a 4,66 mg.L⁻¹, (b) MBC na faixa de 1,35 a 4,93 mg.L⁻¹ e (c) OMC na faixa de 3,02 a 7,00 mg.L⁻¹ eletrólito 4,0 mL de TBR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 4,0), 1,0 mL de MeOH e $5,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de CTAB. ET: eletrodo de Au modificado com filme de Hg; ER: Ag/AgCl_(sat); EA: platina. Condições de análise para BZ-3, MBC e OMC respectivamente: frequência: 145, 105 e 125 Hz, amplitude: 70, 100 e 30 mV e degrau de potencial: 7, 6 e 7 mV.....76

Figura 28: Voltamograma amostra PROT 1. Composição da célula eletroquímica: 4,0 mL de TBR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 4,0), 1,0 mL de MeOH e $5,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de CTAB. Sendo (a) branco, (b) amostra PROT 1, (c) adição de $1,37 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ de BZ-3, (d) adição de $2,74 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ de BZ-3 e (e) adição de $4,09 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ de BZ-3. Análise por adição de padrão, voltametria de onda quadrada: frequência: 145 Hz, amplitude: 70 mV e degrau de potencial: 7 mV. Eletrodo de trabalho: eletrodo de ouro modificado com filme de mercúrio; eletrodo de referência: Ag/AgCl_(sat); eletrodo auxiliar: platina.....81

Figura 29: Voltamograma amostra PROT 2. Composição da célula eletroquímica: 4,0 mL de TBR 0,04 mol L⁻¹ (pH = 4,0), 1,0 mL de MeOH e 5,50 x 10⁻⁴ mol L⁻¹ de CTAB. Sendo (a) branco, (b) amostra PROT 2, (c) adição de 1,37 x 10⁻⁵ mol.L⁻¹ de OMC, (d) adição de 2,74 x 10⁻⁵ mol.L⁻¹ de OMC e (e) adição de 4,09 x 10⁻⁵ mol.L⁻¹ de OMC. Análise por adição de padrão, voltametria de onda quadrada: frequência: 125 Hz, amplitude: 30 mV e degrau de potencial: 7 mV. Eletrodo de trabalho: eletrodo de ouro modificado com filme de mercúrio; eletrodo de referência: Ag/AgCl_(sat); eletrodo auxiliar: platina.82

Figura 30: Voltamograma amostra PROT 3. Composição da célula eletroquímica: 4,0 mL de TBR 0,04 mol L⁻¹ (pH = 4,0), 1,0 mL de MeOH e 5,50 x 10⁻⁴ mol L⁻¹ de CTAB. Sendo (a) branco, (b) amostra PROT 3, (c) adição de 1,36 x 10⁻⁵ mol.L⁻¹ de MBC, (d) adição de 2,72 x 10⁻⁵ mol.L⁻¹ de MBC e (e) adição de 4,06 x 10⁻⁵ mol.L⁻¹ de MBC. Análise por adição de padrão, voltametria de onda quadrada: frequência: 105 Hz, amplitude: 100 mV e degrau de potencial: 6 mV. Eletrodo de trabalho: eletrodo de ouro modificado com filme de mercúrio; eletrodo de referência: Ag/AgCl_(sat); eletrodo auxiliar: platina.83

Figura 31: Curvas analíticas obtidas por adição de padrão, para uma réplica. Sendo (a) amostras PROT 1, determinação de BZ-3, (b) amostra PROT 2, determinação de OMC e (c) amostra PROT 3, determinação de MBC. Condições de análise idênticas em (a) figura 29, (b) figura 30 e (c) figura 31.84

Figura 32: (A) Gradiente exploratório, variação linear de MeOH, (B) cromatograma *mix* de amostra87

Figura 33: Cromatograma *mix* de amostra, modo de eluição isocrático. Fase móvel na proporção 85:15 de MeOH/Sol. HAc (pH = 4,0).....88

Figura 34: Cromatograma *mix* de amostra, modo de eluição isocrático. Fase móvel na proporção 85:15 de MeOH/Sol. H₃PO₄ (pH = 4,0).89

Figura 35: Cromatograma padrão *mix* na concentração de 60 mg.L⁻¹, modo de eluição isocrático. Fase móvel: MeOH:H₃PO₄, 85:15.....90

LISTA DE TABELA

Tabela 1: Máxima concentração autorizada para filtros UV orgânicos de acordo com a ANVISA.	26
Tabela 2: Parâmetros da voltametria de pulso diferencial, na otimização da composição da célula eletroquímica.	39
Tabela 3: Parâmetros da voltametria de pulso diferencial na avaliação da sensibilidade da técnica na determinação de BZ-3 e MBC.	41
Tabela 4: Parâmetros da voltametria de onda quadrada na avaliação da sensibilidade da técnica na determinação de BZ-3 e MBC.	41
Tabela 5: Amostras de protetor solar analisadas.	45
Tabela 6: Equações de retas e coeficiente de correlação (R^2) obtidos do gráfico dc vs C_{analito} , avaliação do eletrodo de trabalho para a determinação de BZ-3 e MBC.	53
Tabela 7: Dados obtidos a partir da comparação entre as técnicas voltamétricas pulso diferencial vs onda quadrada, na determinação de BZ-3 e MBC.	58
Tabela 8: Condições eletroquímicas otimizadas para a determinação de BZ-3, MBC e OMC.	61
Tabela 9: Parâmetros investigados e selecionados de voltametria de onda quadrada na análise de BZ-3.	62
Tabela 10: Parâmetros investigados e selecionados de voltametria de onda quadrada na análise de MBC.	62
Tabela 11: Parâmetros investigados e selecionados de voltametria de onda quadrada na análise de OMC.	62
Tabela 12: Equações das retas e coeficientes de correlação obtidos para a determinação dos filtros UV.	75
Tabela 13: Valores de $F_{\text{calculado}}$ para as curvas analíticas dos três filtros químicos.	77
Tabela 14: Limites de detecção e quantificação para os filtros UV.	77
Tabela 15: Valores de recuperação dos filtros UV.	79

Tabela 16: Equação da reta, coeficiente de correlação (R^2) e concentração dos analitos na análise, por adição de padrão, de amostras de filtro solar.....	85
Tabela 17: Concentração dos analitos BZ-3, OMC e MBC por CLAE.....	91
Tabela 18: Valores de concentração de BZ-3, MBC e OMC, juntamente com os desvios padrões, nas amostras analisadas por SWV e CLAE.....	91
Tabela 19: Comparação dos valores de LD e LQ obtidos por SWV e CLAE.....	90

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS OU SÍMBOLOS

Ar	Argônio
A_{eletrodo}	Área do eletrodo
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
Au	Ouro
CATB	Brometo de cetiltrimetilamônio
CG	Cromatografia gasosa
CL	Cromatografia líquida
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CMC	Concentração micelar crítica
CV	Carbono Vítreo
dC	Densidade de corrente
DPR	Desvio padrão relativo
EA	Eletrodo auxiliar
EFM	Eletrodos de filme de mercúrio
EGM	Eletrodo gotejante de mercúrio
EQM	Eletrodo quimicamente modificado
ER	Eletrodo de referência
E_p	Potencial de pico
ET	Eletrodo de trabalho
EtOH	Etanol
f	Frequência
FPS	Fator de proteção
FE	Fase Estacionária
FM	Fase Móvel
Hg	Mercúrio

HAc	Ácido acético
I_{pico}	Corrente de pico
IV	Infravermelho
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
MeOH	Metanol
MQ_{ep}	Média quadrática do erro puro
MQ_{faj}	Média quadrática da falta de ajuste
R^2	Coefficiente de correlação
Sol.	Solução
SWV	Voltametria de onda quadrada
TBR	Tampão Britton Robinson
UV	Ultravioleta
Vis	Visível

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	20
1.1. RADIAÇÃO SOLAR.....	21
1.2. CLASSIFICAÇÃO DOS FILTROS SOLARES	23
1.3. TÉCNICAS ANALÍTICAS E ELETROANALÍTICAS NA DETERMINAÇÃO DE FILTROS UV	28
1.3.1. CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA.....	28
1.3.2. TÉCNICAS ELETROANALÍTICAS	29
2. JUSTIFICATIVA	33
3. OBJETIVOS	34
3.1. OBJETIVO GERAL.....	34
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	34
4. PARTE EXPERIMENTAL	35
4.1. REAGENTES E SOLUÇÕES	35
4.2. INSTRUMENTAÇÃO.....	36
4.3. ELETRODOS E CÉLULA ELETROQUÍMICA.....	36
4.4. MODIFICAÇÃO <i>EX SITU</i> DE MERCÚRIO PARA A DETERMINAÇÃO DE FILTROS ORGÂNICOS	38
4.5. OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES QUÍMICAS E ELETROQUÍMICAS PARA DETERMINAÇÃO DE BENZOFENONA-3 (BZ-3), 4-METILBENZILIDENO CÂNFORA (MBC) E 4-METOXICINAMATO-2-ETILHEXILA (OMC).....	38
4.5.1. COMPOSIÇÃO DO ELETRÓLITO	38
4.5.2. MEDIDAS ELETROQUÍMICAS	39
4.5.2.1. Estudo do eletrodo de trabalho	39
4.5.2.2. Voltametria hidrodinâmica.....	40
4.5.2.3. Avaliação das técnicas voltamétricas pulso diferencial e onda quadrada na determinação de BZ-3, MBC e OMC	40
4.5.2.4. análise simultânea de benzofenona-3 (BZ-3), 4 metilbenzilideno cânfora (MBC) e 4-metoxicinamato-2-etilhexila (MBC).....	42
4.6. CONDIÇÕES DE SEPARAÇÃO DOS FILTROS UV POR CLAE	42
4.7. CURVAS ANALÍTICAS E LIMITES DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO ...	43

4.8. AMOSTRAS	44
4.8.1. AQUISIÇÃO DAS AMOSTRAS	44
4.8.2. PREPARO DE AMOSTRA	45
4.8.3. ANÁLISE DAS AMOSTRAS	46
5. RESULTADOS	48
5.1. COMPOSIÇÃO DO ELETRÓLITO	48
5.2. ESTUDO DO ELETRODO DE TRABALHO.....	51
5.3. VOLTAMETRIA HIDRODINÂMICA	56
5.4. VOLTAMETRIA DE PULSO DIFERENCIAL VS VOLTAMETRIA DE ONDA QUADRADA NA DETERMINAÇÃO DE FILTROS UV	58
5.5. OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS COM VARREDURA DE POTENCIAL DO TIPO ONDA QUADRADA NA ANÁLISE DE BZ-3, MBC E OMC.....	61
5.6. ANÁLISE SIMULTÂNEA DE BZ, MBC E OMC	70
5.7. CURVAS ANALÍTICAS E LIMITES DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO ...	74
5.8. AMOSTRAS	78
5.8.1. <i>PREPARO DE AMOSTRA</i>	78
5.8.2. <i>AVALIAÇÃO DE BZ-3, OMC E MBC POR VOLTAMETRIA DE ONDA QUADRADA EM AMOSTRAS DE PROTETOR SOLAR</i>	80
5.8.3. <i>AVALIAÇÃO DE BZ-3, OMC E MBC POR CROMATOLOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA EM AMOSTRAS DE PROTETOR SOLAR</i>	86
5.8.3.1. <i>Otimização da condição de separação</i>	86
5.8.3.2. <i>Análise de amostras por CLAE</i>	90
5.8.4. <i>AVALIAÇÃO DA EXATIDÃO DO MÉTODO POR COMPARAÇÃO ESTATÍSTICA COM CLAE</i>	91
6. CONCLUSÕES	93
ATIVIDADES FUTURAS	95
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	96

1. INTRODUÇÃO

Pensar em um mundo no qual a preocupação com a aparência e com a higiene pessoal não é relevante vem se tornando cada vez mais difícil. Há relatos do uso de pinturas, óleos, cremes faciais, desde a antiguidade e a procura por produtos que possam “mascarar” sinais de envelhecimento vem aumentando ao longo dos anos. Chorilli *et al.*, 2002 define os cosméticos como “preparações constituídas por substâncias naturais ou sintéticas, de uso externo nas diversas partes do corpo humano com o objetivo principal de limpar, perfumar e alterar a aparência”. Além de ocultar imperfeições, os cosméticos também podem ser usados como bloqueadores solares, visto que nas duas últimas décadas os efeitos nocivos da radiação solar tornaram-se mais conhecidos e divulgados (MILESI & GUTERRES, 2002).

A exposição excessiva ao sol está associada ao fotoenvelhecimento da pele, aumento do risco de câncer de pele, cataratas e outras doenças oftalmológicas (RIBEIRO, 2004). Na pele humana existem cromóforos que são capazes de absorver a radiação ultravioleta (UV), o que resulta em reações fotoquímicas que podem ser danosas ao organismo (WHARTON *et al.*, 2011). A importância e a necessidade do uso de protetores solares, também denominados fotoprotetores, nos últimos anos, é uma realidade inquestionável, visto que protegem a pele contra a radiação UV (FLOR & DAVOLOS, 2007; RIBEIRO, 2004).

Há uma resolução de 16 de março de 2006, RDC nº 47 - ANVISA, que aprova uma lista de filtros UV permitidos em produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes. Além disso, esta mesma resolução classifica os filtros solares como cosméticos (CABRAL *et al.*, 2011).

A eficácia de um protetor solar está relacionada à sua formulação, sendo que seus componentes podem interferir no produto final, aumentando ou diminuindo o fator de proteção (FPS). Para garantir um elevado FPS e obter a proteção desejada, além da formulação, deve-se tomar cuidado com a aplicação do produto. A quantidade de protetor aplicada sobre a pele, o tempo de reaplicação, produção excessiva de suor ou contato com a água são fatores que devem ser considerados para garantir a eficiência de proteção do cosmético utilizado (MILESI & GUTERRES, 2002).

Com objetivo de apresentar produtos com mais qualidade (com melhor eficiência de proteção e maior estabilidade química), o mercado tem exigido dos formula-

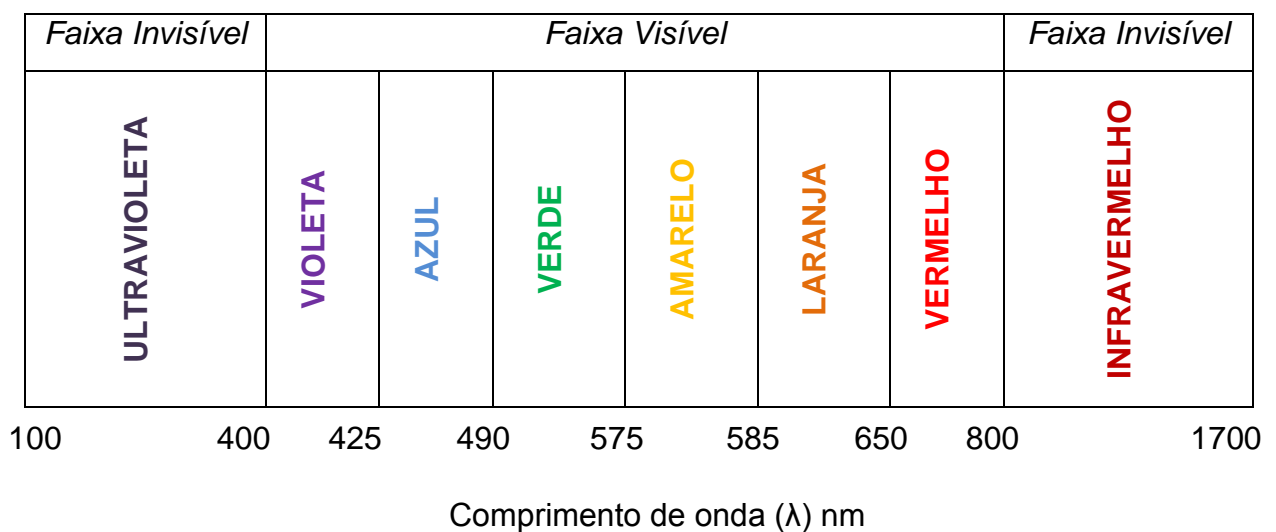
dores grande aprimoramento técnico e dos fabricantes de matéria prima, pesquisa e desenvolvimento de novos protetores solares (FLOR & DAVOLOS, 2007). Além disso, é de extrema importância a análise química desses produtos para que se enquadrem nas normas estabelecidas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

1.1. RADIAÇÃO SOLAR

O tempo de exposição à radiação solar pode causar reações que podem ser classificadas como agudas ou crônicas. As reações imediatas (agudas) são queimaduras, bronzeamento e produção de vitamina D. Já as reações a longo prazo (crônicas) são fotoenvelhecimento e câncer de pele. A diferença entre os tipos de reação também está associada aos diferentes comprimentos de onda (λ) da radiação ultravioleta.

A radiação solar consiste de um espectro de comprimento de onda indo do infravermelho (IV), passando pelo visível, até a radiação ultravioleta (UV), conforme descrito pela Figura 1 (PAESE, 2008).

Figura 1: Radiação solar.



Fonte: Adaptado de RIBEIRO, 2004.

A radiação infravermelha (IV, λ acima de 800 nm) é percebida sob a forma de calor, a radiação visível (Vis, λ entre 400-800 nm) através das diferentes cores detectadas pela visão e a radiação ultravioleta (UV, λ entre 100-400 nm) através de reações fotoquímicas, envolvidas em diferentes processos no organismo (FLOR & DAVOLOS, 2007). De toda radiação solar que atinge a superfície terrestre, 38,9 % consiste da luz visível, 54,3 % são raios infravermelhos e o restante radiação ultravioleta (MAIER & KORTING, apud PAESE, 2008). Dependendo dos efeitos causados sobre a pele, a radiação UV pode ser dividida em três partes: UVA (320 a 400 nm), UVB (280 a 320 nm) e UVC (100 a 280 nm), Figura 2 (FLOR & DAVOLOS, 2007).

Figura 2: Radiação ultravioleta.

UVC	UVB	UVA
100 nm	280 nm	320 nm
		400 nm

Fonte: Elaborada pela própria autora.

Normalmente a radiação UVA não causa vermelhidões na pele, dependendo do tipo de pele e do tempo de exposição ao sol o eritema causado é mínimo (FLOR & DAVOLOS, 2007). Este tipo de radiação bronzeia mais, pois atinge a derme mais profundamente, sendo a principal responsável pelo fotoenvelhecimento, flacidez e surgimento de rugas (CABRAL *et al.*, 2011). É mais abundante na terra que a radiação UVB (UVA 95 % e UVB 5 %) (FLOR & DAVOLOS, 2007).

A radiação UVB possui menor comprimento de onda que a radiação UVA, sendo a radiação de maior energia. A elevada exposição a este tipo de radiação pode causar lesões no DNA e anular a resposta imunológica da pele (FLOR & DAVOLOS, 2007). Além disso, a radiação UVB é mais nociva, causa o fotoenvelhecimento, câncer de pele e provoca queimaduras (CABRAL *et al.*, 2011).

A radiação UVC possui elevada energia, sendo extremamente lesiva a seres vivos. Devido à absorção pelo oxigênio e pelo ozônio na estratosfera nenhuma radiação UVC chega à superfície terrestre (FLOR & DAVOLOS, 2007).

Desta forma, o uso de filtro solar se justifica e se intensifica com o passar dos anos, visto que deve proteger a pele contra os malefícios da radiação UV. Além disso, os protetores solares precisam ter substâncias que são capazes de absorver energia eletromagnética na faixa do ultravioleta e emití-la sob outra forma, por

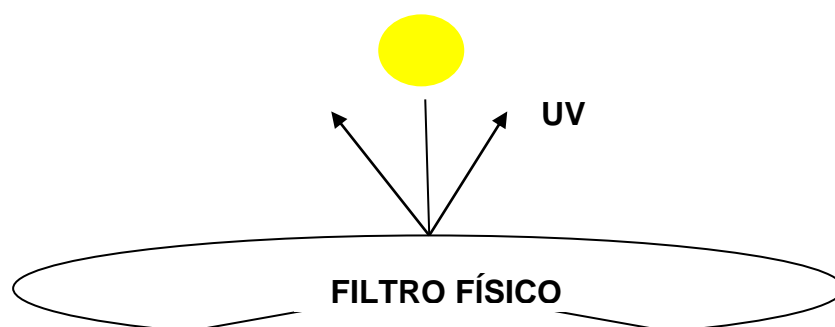
exemplo, sob a forma de infravermelho, produzindo sensação de calor (RIBEIRO, 2004).

1.2. CLASSIFICAÇÃO DOS FILTROS SOLARES

Há duas classes de filtros solares: filtros inorgânicos e filtros orgânicos. Estes ainda podem ser classificados, respectivamente, como filtros físicos e como filtros químicos (FLOR & DAVOLOS, 2007).

Os filtros inorgânicos incluem partículas minerais, tais como dióxido de titânio (TiO_2) e óxido de zinco (ZnO), tendo como principal função refletir a radiação UV, funcionando como uma barreira, Figura 3, (CABRAL *et al.*, 2011). Durante o fenômeno de reflexão, a luz incidente nas partículas inorgânicas muda de direção, refletindo de volta ou se espalhando por caminhos distintos (RIBEIRO, apud Cabral *et al.*, 2011). Os filtros físicos possuem capacidade alergênica baixa, sendo largamente utilizados em cosméticos infantis e em protetores para adultos com peles sensíveis (RIBEIRO & OHARA, apud Cabral *et al.*, 2011).

Figura 3: Mecanismo de ação do filtro físico.

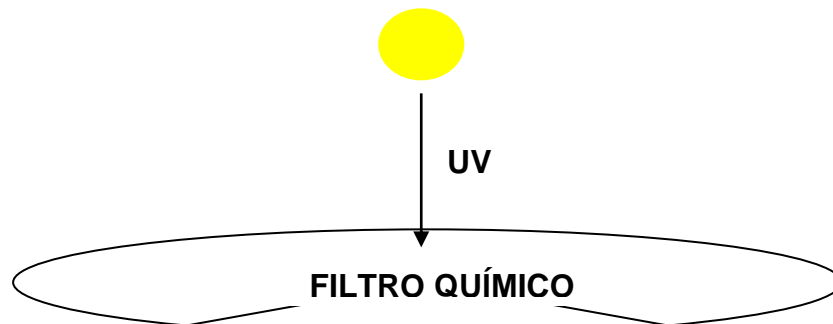


Fonte: Elaborada pela própria autora.

A proteção através do uso de filtros orgânicos acontece de forma distinta, pois estes protegem a pele através da absorção da radiação UV, Figura 4, (CABRAL *et al.*, 2011). Os filtros químicos são constituídos por moléculas orgânicas com a capacidade de transformar a energia UV (maior energia) em radiações com menores

energias (FLOR & DAVOLOS, 2007). Basicamente, estas moléculas são compostos aromáticos apresentando grupos carboxílicos em sua estrutura. Em alguns casos, há um grupo doador de elétrons como uma amina ou um grupo metoxila ligados nas posições orto ou para do anel benzênico (FLOR & DAVOLOS, 2007; CABRAL *et al.*, 2011). Estes tipos de filtros possuem em suas estruturas inúmeras duplas ligações, seja no anel aromático ou na cadeia linear. Esta configuração permite que elétrons localizados em orbitais de menor energia absorvam a radiação UV incidente e em seguida, sejam excitados para orbitais de maior energia, transformando as radiações de alta energia e pequenos λ , nocivas à saúde, em radiações de baixa energia e elevados comprimentos de onda. A energia UV absorvida é liberada quando a molécula absorvedora retorna ao seu estado de repouso, sendo liberada na forma de luz fluorescente ou fosforescente e calor. Logo, um filtro orgânico absorve a energia ruim transformando-a em formas de energia não prejudiciais a pele (RIBEIRO, apud Cabral *et al.*, 2011).

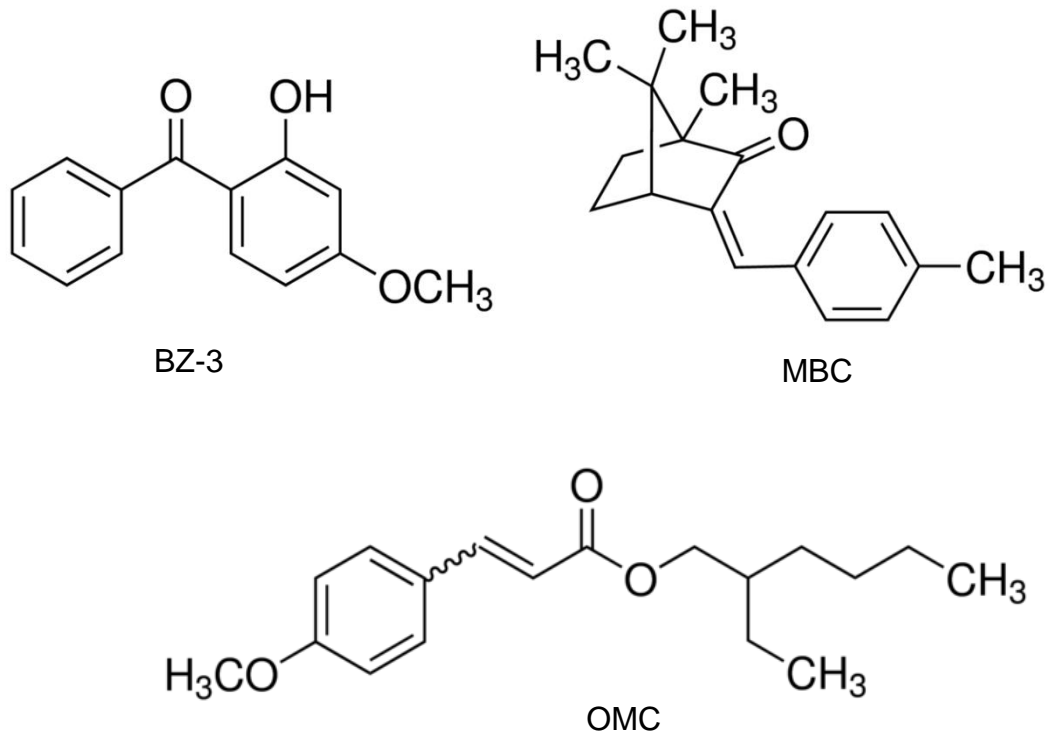
Figura 4: Mecanismo de ação do filtro químico.



Fonte: Elaborada pela própria autora.

Benzofenona-3 (BZ-3), 4-metilbenzilideno cânfora (MBC) e 4-metoxicinamato-2-etilhexila (OMC) estão entre os filtros orgânicos mais conhecidos (CARDOSO *et al.*, 2008; WANG *et al.*, 2007). As estruturas desses compostos estão apresentadas na Figura 5.

Figura 5: Fórmula estrutural dos filtros orgânicos BZ-3, MBC e OMC.



Fonte: Adaptada de CHISVERT *et al.*, 2012.

A indústria de cosméticos normalmente adiciona dois ou mais filtros UV nas suas formulações, devido principalmente aos baixos níveis permitidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Esta combinação de filtros pode melhorar o FPS (CABRAL *et al.*, 2011). A Tabela 1 apresenta a concentração máxima permitida pela ANVISA para três filtros orgânicos (ANVISA, 2006).

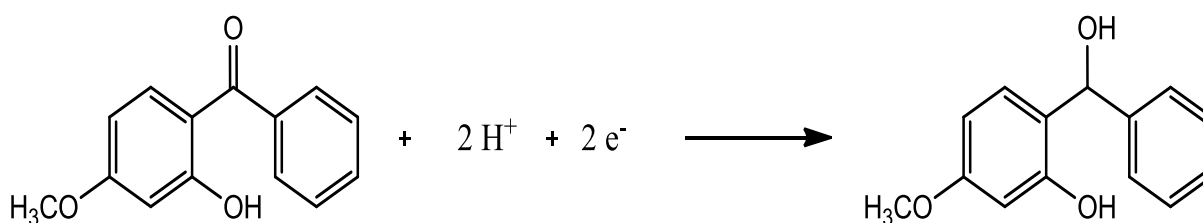
Tabela 1: Máxima concentração autorizada para filtros UV orgânicos de acordo com a ANVISA.

Filtros UV	Máxima concentração autorizada %m/m
BZ-3	10%
OMC	10%
MBC	4%

Fonte: Elaborada pela própria autora.

A Benzofenona-3 (2-hidroxi-4-metoxibenzofenona, oxibenzona) é um dos tipos de filtros UV mais amplamente utilizado e está disponível como um agente protetor solar há mais de 40 anos. Possui ponto de fusão entre 62 e 64 °C, dose letal (DL₅₀) maior que 5 g.Kg⁻¹ (oral), absorção máxima em comprimento de onda de 288 a 325 nm. É solúvel em solventes orgânicos e insolúvel em água (ROGGIA *et al.*, 2014).

Um mecanismo proposto por Michielli e Elving, 1968 para a redução de benzofenona-3 em meio prótico está apresentado abaixo.



Em meio prótico a redução acontece em apenas um passo com a perda de dois elétrons, em meio aprótico a redução acontece em dois passos sucessivos de um elétron (MICHIELLI & ELVING, 1968).

Diversos trabalhos são encontrados na literatura que descrevem os impactos ambientais, principalmente nos ecossistemas aquáticos, causados pelo uso indiscriminado de vários filtros UV, dentre eles a BZ-3 (BALMER *et al.*, 2005; CUDERMAN & HEATH, 2007). Já do ponto de vista toxicológico, estudos recentes mostram a atividade da BZ-3 como desreguladores endócrinos (FENT *et al.*, 2008; HENEWEER *et al.*, 2005). Devido aos efeitos colaterais da BZ-3 para o ser humano e para o meio ambiente, esta se tornou um componente importante de monitoramento em diversos tipos de amostras, tais como rios (SILVA *et al.*, 2013), lagos, piscinas (CUDERMAN & HEATH, 2007), sedimentos (JEON *et al.*, 2006) e urina (CALAFAT *et al.*,

2008). Além desses fatores, estudos recentes têm demonstrado que o filtro benzofenona-3 pode agir de forma não esperada no organismo contribuindo para a produção de hormônio sexual feminino (ROGGIA *et al.*, 2014). A produção deste hormônio pode alterar o ciclo menstrual e provocar endometriose, nos homens pode levar a diminuição de espermatozoides e atrofia dos testículos (ROGGIA *et al.*, 2014).

Os cinamatos são os filtros UVB mais populares na Europa e nos Estados Unidos (EUA), entretanto, apresentam absorção reduzida sendo, muitas vezes, combinados com os demais filtros UV com a finalidade de se atingir um FPS maior. Apresentam potencial inferior de causar irritabilidade à pele. O 4-metoxicinamato de 2-etilhexila (OMC) é um exemplo deste grupo de filtros UVB. Este composto é um filtro absorvedor dos raios UVB, lipossolúvel e utilizado como solvente para demais filtros orgânicos sintéticos sólidos lipossolúveis. (BALOGH, *et al.*, 2011). Estudos realizados na Suíça avaliaram as concentrações de 9 filtros solares nas águas dos rios. Dentre os quatro filtros mais encontrados está o 4-metoxicinamato de 2-etilhexila (OMC). Os resultados sugeriram, também, a acumulação dos filtros solares na cadeia alimentar, já que os animais maiores apresentaram as maiores concentrações de filtros no corpo (CHRISTEN & FENT, 2011).

O 4-metilbenzilideno cânfora (MBC) apresenta evidências de bioacumulação ambiental, ou seja, acumula-se em peixes, em ratos, em culturas de células humanas e em seres humanos, podendo exercer ação hormonal nesses modelos. (SEIDLOVA-WUTTKE *et al.*, 2005). Em estudo publicado no *The Journal of Investigative Dermatology*, pesquisadores dinamarqueses avaliaram os parâmetros de absorção cutânea do MBC, BZ-3 e outros compostos. O estudo foi realizado em 32 voluntários saudáveis, entre eles 15 homens e 17 mulheres pós-menopausadas que aplicaram 2 mg/cm² de creme contendo MBC 10% e BZ-3 10%. A presença dos dois filtros foi constatada na corrente sanguínea, após avaliação da concentração plasmática. Os filtros também foram encontrados na urina e, nos homens foi, inclusive, notada uma diferença nos níveis de estradiol sérico (hormônio produzido pelo corpo feminino e masculino). (JANJUA *et al.*, 2004).

1.3. TÉCNICAS ANALÍTICAS E ELETROANALÍTICAS NA DETERMINAÇÃO DE FILTROS UV

1.3.1. CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

A Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) é uma técnica cromatográfica amplamente utilizada para análises quantitativas e qualitativas. Apresenta como vantagens, tempo reduzido de análise, alta resolução e boa detectabilidade (COLLINS *et al.*, 2006).

Em cromatografia líquida deseja-se apenas que a amostra seja solúvel na fase móvel (FM) e que possuam algum tipo de interação com a fase estacionária (FE) (ROGÉRIO, 2008). Assim sendo, é necessário realizar a otimização dos componentes da fase móvel, bem como o fluxo, sistema de detecção, entre outros.

A eluição por gradiente é o modo de eluição amplamente utilizado para análises de filtros UV, sendo que neste tipo de eluição a composição da fase móvel varia durante a separação. Já o modo de eluição isocrático, preferido devido sua simplicidade, conveniência e repetitividade das análises, a força cromatográfica da FM permanece constante durante toda a análise (COLLINS *et al.*, 2006).

Em cromatografia líquida de fase reversa, a FE é mais apolar que a FM, portanto fases móveis fortes são aquelas que possuem maior proporção de solvente orgânico (COLLINS *et al.*, 2006).

O uso de CLAE acoplada ao detector UV/Vis foi relatada na literatura como umas das técnicas mais utilizadas para a separação e quantificação de filtros solares em diversas matrizes, tais como cosméticos, urina, plasmas, soros e matrizes biológicas (CHISVERT *et al.*, 2012). SALVADOR & CHISVERT, 2005 determinaram simultaneamente 18 filtros ultravioletas, entre eles OMC, MBC e BZ-3, em amostras de cosméticos, através da cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao detector UV. Sarveiya *et al.*, 2004 quantificou filtros UV comuns em amostras de protetor solar por CLAE em matrizes biológicas.

1.3.2. TÉCNICAS ELETROANALÍTICAS

Como alternativa aos métodos cromatográficos, trabalhos recentes vêm mostrando o uso de técnicas eletroanalíticas, mais precisamente a polarografia, para a determinação de filtros orgânicos. Cardoso *et al.*, 2007 desenvolveram uma metodologia para a determinação simultânea de três filtros de proteção solar mais comumente encontrado em cosméticos (BZ-3, OMC, MBC) utilizando a polarografia de pulso diferencial (CARDOSO, 2007).

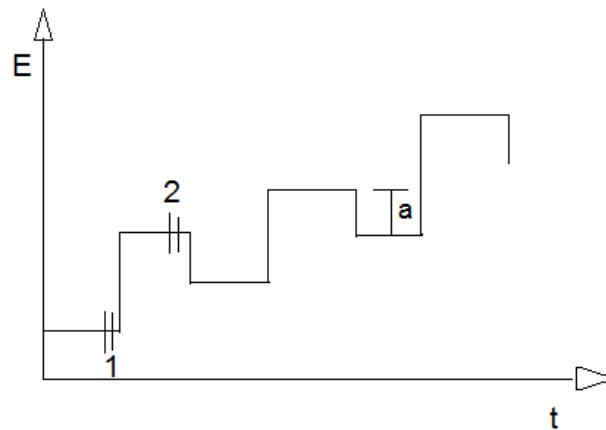
O uso do eletrodo de mercúrio, frente a outros eletrodos utilizados em voltametria, tem a vantagem de que sua superfície se renova a cada nova gota formada, não havendo acúmulo de materiais adsorvidos em sua superfície. Entretanto, o eletrodo de mercúrio apresenta instabilidade da gota em relação ao fluxo de solução, no caso de análises em fluxo, e é necessário realizar a recuperação deste metal para descartar a solução analisada (ZEZZA, 2011). Tais desvantagens têm incentivado o desenvolvimento de eletrodos alternativos, dentre eles, eletrodos sólidos (metálicos ou inertes) modificados com filme de mercúrio (ZEZZA, 2011). Quando comparados aos eletrodos de mercúrio, os eletrodos modificados com filme de mercúrio utilizam menor volume de solução de Hg, o que contribui para uma minimização da toxicidade no manuseio desta solução.

Modificar um eletrodo consiste em atribuir e controlar novas propriedades físico-químicas, por meio do acoplamento de espécies eletroativas (ou não) à sua superfície. Ao bloquear o acesso de espécies indesejadas à superfície do eletrodo, inibem-se alguns processos e promovem-se outros. A modificação dos eletrodos tem por objetivo originar sinais de correntes mais elevados do que na ausência do modificador o que provoca uma melhor sensibilidade do método analítico.

Os eletrodos modificados podem ser utilizados em voltametria, onde se usa o sistema de três eletrodos, sendo a corrente medida entre o eletrodo de trabalho (eletrodo modificado com filme de mercúrio, por exemplo) e o eletrodo auxiliar e o potencial medido entre o eletrodo de trabalho e o eletrodo de referência. Dentre as diferentes técnicas voltamétricas, têm-se as técnicas de pulso, onde se destacam a voltametria de pulso diferencial e a voltametria de onda quadrada.

A voltametria de pulso diferencial é uma técnica eletroanalítica que consiste em aplicar pulsos de amplitude de potencial fixos sobrepostos a uma rampa linear e crescente de potencial ao eletrodo de trabalho (PACHECO *et al.*, 2013), Figura 6.

Figura 6: Sinal de excitação voltametria de pulso diferencial. Sendo (E) potencial, (t) tempo e (a) amplitude de potencial.



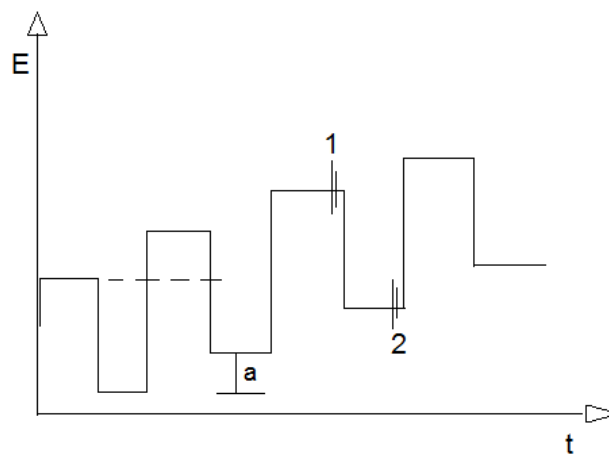
Fonte: Elaborada pela própria autora.

À medida que se aplica o pulso há um aumento da corrente capacitiva e da corrente faradaica, contudo a corrente capacitiva diminui exponencialmente, enquanto a corrente faradaica decresce linearmente. É feita a medida destas duas correntes, em 1 e 2 Figura 6, sendo registrada a diferença entre elas. Medindo-se estas correntes em um tempo apropriado haverá uma menor contribuição da corrente capacitiva, conferindo uma maior sensibilidade à técnica (BRETT *et al.*, 1996). Em eletrodos sólidos, a melhor resposta usando a voltametria de pulso diferencial frente à voltametria de pulso normal é clara em muitos casos, especialmente envolvendo compostos orgânicos. Como estes conduzem frequentemente à adsorção no eletrodo, é possível que uma técnica diferencial discrimine os efeitos que são mais ou menos constantes antes e depois da aplicação do pulso. Além disso, este tipo de voltametria apresenta limite de detecção na ordem de 10^{-8} mol L⁻¹ (BRETT *et al.*, 1996).

Na voltametria de onda quadrada (*SWV- do inglês square wave voltammetry*), uma onda quadrada simétrica é sobreposta a uma rampa de potencial, em forma de escada. A corrente é medida duas vezes, uma ao final do pulso direto, 1 Figura 7,

(direção do pulso na mesma direção da velocidade de varredura) e outra ao final do pulso reverso, 2 Figura 7, (direção do pulso contrária à direção da velocidade de varredura).

Figura 7: Sinal de excitação voltametria de onda quadrada. Sendo (E) potencial, (t) tempo e (a) amplitude de potencial.



Fonte: Elaborada pela própria autora.

Assim como na voltametria de pulso diferencial trabalha-se com a diferença de corrente, minimizando a contribuição da corrente capacitiva visto que a mesma é medida onde já se tornou negligenciável (ZEZZA, 2011). A SWV é uma das técnicas de pulso mais rápidas e sensíveis, além disso, a otimização de parâmetros característicos da técnica (frequência, amplitude, degrau de potencial) possibilitam a avaliação da cinética e o mecanismo do processo eletroquímico estudado. Os limites de detecção (LD) desta técnica podem ser comparados aos das técnicas espectroscópicas e cromatográficas (SOUZA *et al.*, 2003).

Cardoso *et al.*, 2008 determinou simultaneamente MBC, OMC E BZ-3 por polarografia de pulso diferencial utilizando surfactante na composição do eletrólito. Silva *et al.*, 2006 quantificou eletroquimicamente três filtros orgânicos em amostras de protetor solar, tendo como eletrodo de trabalho o eletrodo de mercúrio. Cardoso *et al.*, 2007 determinou MBC em filtro solar por voltametria de onda quadrada usando eletrodo de mercúrio como eletrodo de trabalho.

Assim, poucos trabalhos são encontrados na literatura que descreve a quantificação de filtros solares orgânicos através de técnicas eletroquímicas. Sendo que, todos os trabalhos disponíveis na literatura usam o eletrodo de gota de mercúrio como eletrodo de trabalho.

2. JUSTIFICATIVA

Como já relatado, os trabalhos reportados na literatura envolvendo determinação eletroquímica de filtros UV MBC, OMC e BZ-3 em amostras de cosméticos utilizam como eletrodo de trabalho o eletrodo de mercúrio. Contudo, nos últimos anos este tipo de eletrodo vem sendo cada vez menos utilizado. O trabalho aqui apresentado estudou eletrodos metálicos, ouro e carbono vítreo, modificados com filme de mercúrio na quantificação de filtros químicos em amostras de protetor solar, buscando uma alternativa aos eletrodos de gota de mercúrio e aos métodos cromatográficos. Além disso, no item 1.2 foi descrito a importância de se quantificar filtros químicos em amostras de cosméticos a fim de verificar se está de acordo com RDC nº 47, ANVISA e evitar reações indesejáveis. O estudo de parâmetros envolvendo a técnica eletroanalítica voltametria de onda quadrada e o desenvolvimento de preparo de amostra completam o desenvolvimento do trabalho.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

Desenvolver um método eletroanalítico utilizando eletrodos modificados e técnicas voltamétricas para quantificar benzofenona-3 (BZ-3), 4-metoxicinamato-2-etilhexila (OMC) e 4-metilbenzilideno cânfora (MBC) em cosméticos.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Otimizar uma metodologia para a determinação de filtros UV (Benzo-3, MBC e OMC) em amostras de protetor solar usando eletrodos modificados com filme de mercúrio;
2. Avaliar a sensibilidade dos eletrodos de carbono vítreo e ouro para os analitos orgânicos de interesse;
3. Otimizar a técnica voltamétrica, assim como seus parâmetros (pulso diferencial vs onda quadrada) para a detecção e quantificação de filtros UV;
4. Otimizar um método de tratamento de amostras para análise de filtros UV;
5. Determinar BZ-3, OMC e MBC em amostras de cosméticos;
6. Analisar a exatidão do método comparando os resultados obtidos por voltametria com os obtidos por CLAE.

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1. REAGENTES E SOLUÇÕES

O solvente metanol (MeOH) da marca Scharlau, grau HPLC, foi utilizado para compor o eletrólito na célula eletroquímica, bem como para a diluição dos padrões.

Ácido fosfórico (H_3PO_4), (85% v/v – Tedia), Ácido bórico (H_3BO_3) PA (99,8% m/m – Vetec) e Ácido acético glacial (CH_3COOH) PA (99,7% v/v – Impex), foram usados no preparo do Tampão Britton Robinson (TBR), usado na célula eletroquímica como eletrólito suporte.

Ácido clorídrico (HCl) PA (36,5 - 38,0% v/v – Vetec), foi utilizado para a remoção do filme de mercúrio formado na superfície do eletrodo de ouro.

CTAB (*do inglês Hexadecyltrimethyl-ammonium bromide- $\text{C}_{19}\text{H}_{42}\text{NBr}$* 99% m/m – Sigma aldrich) foi utilizado como surfactante na cela eletroquímica.

Solução de Ácido fosfórico (H_3PO_4 , grau HPLC) pH = 4,0 e solução de Ácido acético (CH_3COOH , grau HPLC), pH = 4,0, foram utilizadas para compor a fase móvel do método cromatográfico empregado.

Soluções padrões dos analitos na ordem de 10^{-2} mol.L⁻¹ foram preparadas através de diluições, em MeOH (grau HPLC), de Benzo-3 (sólido), MBC (sólido) e OMC (líquido-Sigma aldrich). Uma solução estoque de Hg^{+2} 1000 mg.L⁻¹ (SpecSol) foi utilizada para a modificação eletroquímica da superfície do eletrodo de trabalho.

Para filtrar as soluções de injeção foram utilizados filtros com membrana de PTFE 0,45 μm de porosidade da marca Agilent.

Uma solução de KCl 3,0 mol L⁻¹ foi usada como solução interna no preparo do eletrodo de referência e uma suspensão de alumina em pó foi utilizada para polir a superfície do eletrodo de trabalho.

As soluções de HCl, TBR, CTAB e KCl foram preparadas com água ultra pura (Mili Q), sendo esta utilizada para a limpeza de toda a vidraria empregada.

4.2. INSTRUMENTAÇÃO

Para a realização das medidas eletroquímicas, foi empregado um potenciostato μ Autolab (EcoChemie, Utrecht, Holanda), interfaceado a um microcomputador, utilizando o software GPES 4.9.

Os ajustes de pH foram feitos usando-se um potenciômetro (Digimed DM 20, Brasil) com eletrodo combinado de vidro.

Um agitador magnético (IKA-lab Disc, Alemanha) com barras magnéticas de 5mm de diâmetro foi utilizado para homogeneização da solução na célula eletroquímica, assim como para a deposição do filme de Hg na superfície do eletrodo de trabalho.

Para o tratamento de amostra utilizou-se um ultrassom (Unique), empregado para auxiliar na solubilização das amostras, um vórtex (Phoenix , modelo AP-56) utilizado para homogeneização das mesmas e uma centrífuga (Nova Instruments) para separar as diferentes fases da amostra.

Com o objetivo de validar o método proposto um HPLC Agilent 1100 serie com injetor manual e alças de amostragem de 20 μ L (válvula Rheodyne), sistema desga-seificador, bomba quaternária, detector UV-Vis de múltiplos comprimentos de onda (MWD) e software Agilent Chemstation LC Systems, foi utilizado na determinação de BZ-3, MBC e OMC nas amostras. Utilizou-se uma coluna cromatográfica de fase reversa C 18 Inertsil ODS-3 (150 mm x 4,6 mm de diâmetro interno, 5 μ m de diâmetro de partícula), com coluna de guarda Inertsil ODS.

4.3. ELETRODOS E CÉLULA ELETROQUÍMICA

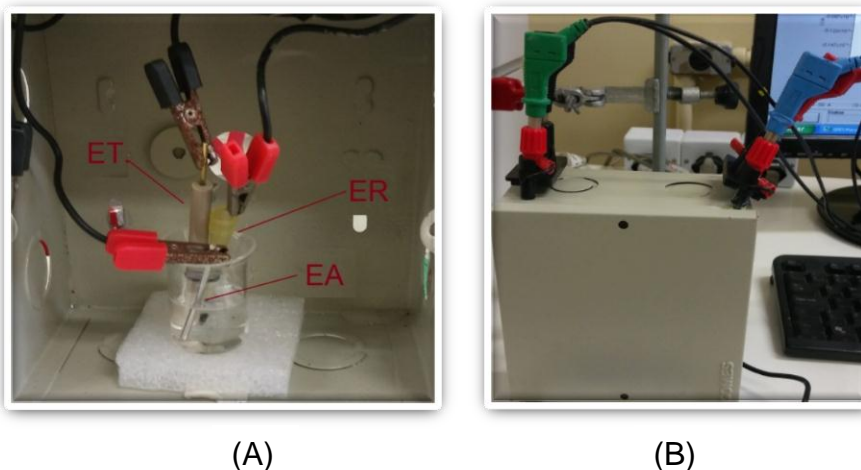
Eletrodos de carbono vítreo (CV), de 7,00 mm² de área, e ouro (Au), de 3,14 mm² de área, foram utilizados como eletrodos de trabalho (ET), modificados eletroquimicamente com filme de mercúrio para a determinação dos analitos de interesse. Como eletrodo auxiliar (EA) foi empregado um eletrodo de platina.

Um eletrodo de referência (ER) prata/cloreto de prata saturado ($\text{Ag}/\text{AgCl}_{(\text{sat})}$) foi construído no próprio grupo de pesquisa. Um fio de prata recoberto com AgCl foi inserido dentro de uma ponteira de micropipeta (10 – 100 μL), a qual foi preenchida com solução de KCl 3,0 mol L^{-1} (CERQUEIRA, 2012).

O sistema de três eletrodos (trabalho, referência e auxiliar), Figura 8 (A), foi inserido dentro de um béquer de vidro de 10 mL para a realização das medidas eletroquímicas. Em seguida, a célula eletroquímica foi inserida em uma gaiola de Faraday, construída no próprio grupo de pesquisa e apresentada na Figura 8 (B), a fim de eliminar ruídos eletrônicos.

Para a realização de todas as medidas eletroquímicas, purgou-se argônio (Ar) durante 12 minutos para a eliminação de oxigênio dissolvido, antes de cada análise.

Figura 8: (A) Célula eletroquímica contendo eletrodo de trabalho de Au (ET), eletrodo de referência $\text{Ag}/\text{AgCl}_{(\text{sat})}$ (ER) e eletrodo auxiliar de platina (EA). (B) Gaiola de Faraday.



Fonte: Elaborada pela própria autora.

4.4. MODIFICAÇÃO *EX SITU* DE MERCÚRIO PARA A DETERMINAÇÃO DE FILTROS ORGÂNICOS

Para a formação do filme de Hg no eletrodo de carbono vítreo, o mesmo foi imerso em uma solução de Hg 1000 mg L^{-1} , aproximadamente 4 mL, em seguida um potencial de $-0,8 \text{ V}$ foi aplicado durante 300 s. O mesmo procedimento foi feito para o eletrodo de ouro, entretanto o tempo de aplicação de potencial ($-0,8 \text{ V}$) foi de 1000 s.

4.5. OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES QUÍMICAS E ELETROQUÍMICAS PARA DETERMINAÇÃO DE BENZOFENONA-3 (BZ-3), 4-METILBENZILIDENO CÂNFORA (MBC) E 4-METOXICINAMATO-2-ETILHEXILA (OMC)

4.5.1. COMPOSIÇÃO DO ELETRÓLITO

Em 2008, um estudo relatou a determinação simultânea de três filtros químicos por polarografia de pulso diferencial (BZ-3, MBC e OMC), sendo a célula eletroquímica composta por 8,0 mL de Tampão BR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 4$), 2,0 mL metanol e $3,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de CTAB (CARDOSO *et al.*, 2008). Dentro deste contexto, a primeira composição para a célula eletroquímica utilizada para dar início às atividades foi: 4,0 mL TBR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$, 1,0 mL MeOH e $2,55 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ CTAB. Esta composição inicial foi alterada até que uma condição ótima para a determinação de BZ-3, MBC e OMC fosse encontrada. A concentração de CTAB estudada variou de $2,55 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ a $5,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e os volumes de 1,0 e 2,0 mL de MeOH foram avaliados na determinação dos analitos de interesse.

A otimização da composição da célula eletroquímica foi realizada por voltametria de pulso diferencial. Os parâmetros da técnica foram otimizados em um trabalho de conclusão de curso, desenvolvido no próprio grupo de pesquisa. O objetivo do

trabalho era avaliar eletrodos na análise eletroquímica de Benzofenona-3 em amostras de protetor solar. Os parâmetros utilizados estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2: Parâmetros da voltametria de pulso diferencial, na otimização da composição da célula eletroquímica.

Potencial Inicial	-0,9 V
Degrau de potencial	12 mV
Potencial Final	-1,3 V
Velocidade de Varredura	25 mV/s
Amplitude	50 mV

Fonte: Elaborada pela própria autora.

4.5.2. MEDIDAS ELETROQUÍMICAS

A otimização das condições eletroquímicas foi realizada a fim de proporcionar uma melhor sensibilidade para os filtros químicos analisados. Os trabalhos feitos para chegar à melhor condição de análise consistiram na avaliação do eletrodo de trabalho, estudo de potencial e comparação entre as técnicas voltamétricas pulso diferencial e onda quadrada.

4.5.2.1. Estudo do eletrodo de trabalho

Os sinais eletroquímicos dos analitos BZ-3 e MBC frente aos eletrodos de carbono vítreo (CV) e ouro (Au), limpos e modificados com filme de Hg, foram analisados. Estas análises foram realizadas por adição de padrão, em triplicata, utilizando a técnica voltamétrica de pulso diferencial usando os parâmetros listados na Tabela 2 e em meio de 4,0 mL de Tampão BR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 4), 1,0 mL MeOH e $5,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ CTAB (condição otimizada para a composição do eletrólito). Foram reali-

zadas sucessivas adições de 15, 25, 35, 45 e 55 μL da solução estoque na concentração de $2,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de BZ-3 e MBC (preparados em MeOH).

A fim de avaliar qual dos eletrodos era mais sensível, construiu-se um gráfico densidade de corrente (dC) vs Concentração do analito (C_{analito}), devido a área dos eletrodos estudados serem distintas. A dC foi calculada da seguinte forma:

$$dC = \frac{i_{\text{pico}}}{A_{\text{eletrodo}}} \quad \text{Equação 1}$$

Onde, i_{pico} é a corrente de pico, sendo medida como a área dos picos obtidos e A_{eletrodo} é a área do eletrodo de trabalho utilizado.

O eletrodo de ouro modificado com filme de mercúrio se mostrou mais sensível na determinação de BZ-3 e MBC, sendo este mesmo eletrodo utilizado na determinação de OMC. O estudo do eletrodo de trabalho para o filtro químico OMC não foi realizado devido à falta deste analito durante esta etapa do estudo.

4.5.2.2. Voltametria Hidrodinâmica

A fim de avaliar o potencial de redução dos compostos de interesse fez-se um estudo de potencial das soluções individuais dos filtros orgânicos na concentração de $2,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (diluição em MeOH). Estes foram feitos por amperometria de múltiplos pulsos numa faixa de potencial entre -0,8 a -1,3 V.

4.5.2.3. Avaliação das técnicas voltamétricas pulso diferencial e onda quadrada na determinação de Benzo-3, MBC e OMC

As técnicas voltamétricas estão sendo cada vez mais utilizadas em diversas áreas de conhecimento, com destaque para as técnicas de pulso. No presente traba-

As duas dessas técnicas foram avaliadas: pulso diferencial e onda quadrada. Os parâmetros utilizados em cada técnica para a análise de BZ-3 e MBC estão listados nas Tabelas 3 e 4, respectivamente. Foram realizadas adições de 15, 25, 35, 45 e 55 μL de solução $2,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de BZ-3 (preparados em MeOH) e 20, 30, 40, 50 e 60 μL de solução $2,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de MBC (preparados em MeOH) à célula eletroquímica.

Tabela 3: Parâmetros da voltametria de pulso diferencial na avaliação da sensibilidade da técnica na determinação de BZ-3 e MBC.

Potencial Inicial	-0,4 V
Degrau de potencial	12 mV
Potencial Final	-1,5 V
Velocidade de Varredura	25 mV/s
Amplitude	50 mV

Fonte: Elaborada pela própria autora.

Os parâmetros utilizados na voltametria de onda quadrada foram baseados em um trabalho reportado na literatura, o qual relata a determinação de MBC em amostras de protetor solar por voltametria de onda quadrada (CARDOSO *et al.*, 2007).

Tabela 4: Parâmetros da voltametria de onda quadrada na avaliação da sensibilidade da técnica na determinação de BZ-3 e MBC.

Frequência	90 Hz
Amplitude	60 mV
Degrau de potencial	5 mV
Potencial Inicial	-0,4 V
Potencial Final	-1,5 V

Fonte: Elaborada pela própria autora.

Para o analito OMC não foi realizada a otimização da técnica voltamétrica devido à falta deste analito nesta etapa do trabalho, sendo utilizada a técnica mais sensível para determinação de BZ-3 e MBC. Realizando a comparação entre as técnicas de voltametria de pulso diferencial e voltametria de onda quadrada, aquela que

apresentou melhor sensibilidade na determinação de BZ-3 e MBC foi à voltametria de onda quadrada (SWV).

Para a técnica mais sensível (SWV), realizou-se a otimização de parâmetros instrumentais. Para estes estudos, adicionou-se à célula eletroquímica 35 µL da solução de BZ-3, 30 µL da solução de MBC e 75 µL da solução de OMC, todos na concentração $4,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e preparados em MeOH.

4.5.2.4. *Análise simultânea de benzofenona-3 (BZ-3), 4 metilbenzilideno cânfora (MBC) e 4-metoxicinamato-2-etilhexila (OMC)*

Há relatos na literatura onde filtros UV foram analisados, simultaneamente, utilizando um eletrodo gotejante de mercúrio (EGM). Cardoso *et al.*, 2008, determinou, simultaneamente, três filtros orgânicos Benzofenona-3 (BZ-3), 4-metoxicinamato-2-etilhexila (OMC) e 4 metilbenzilideno cânfora (MBC) por polarografia de pulso diferencial. Assim, no presente estudo foram feitos testes a fim de realizar a análise simultânea de BZ-3, MBC e OMC, por meio da voltametria de onda quadrada, sendo o eletrodo de trabalho empregado o eletrodo de ouro modificado com filme de mercúrio.

Para a realização da determinação simultânea de BZ-3, OMC e MBC foram utilizados diferentes valores de pH do eletrólito suporte TBR, sendo testados os valores de 2,0; 4,0; 8,0 e 10,0. Estas análises foram feitas através da voltametria de pulso diferencial e voltametria de onda quadrada nos parâmetros listados nas Tabelas 3 e 4, respectivamente. Além disso, foram realizados testes por SWV nos parâmetros instrumentais otimizados para cada analito, sendo estes apresentados no item 5.5.

4.6. CONDIÇÕES DE SEPARAÇÃO DOS FILTROS UV POR CLAE

Salvador & Chisvert, 2005 desenvolveram um método cromatográfico para a separação e quantificação de 18 filtros UV por cromatografia líquida de alta eficiên-

cia com detector UV, em modo de eluição por gradiente (segmentado), coluna de fase reversa C 18, fluxo de $0.5 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ e comprimento de onda (λ) de 313 nm. Os filtros UV avaliados foram divididos em duas classes: solúveis e insolúveis em água. Para os filtros insolúveis, como BZ-3, OMC e MBC, a fase móvel utilizada no preparo dos padrões foi Etanol (EtOH) e solução 1% de Ácido acético (HAc) na proporção de 70:30. Entretanto, a eluição por gradiente apresenta algumas desvantagens quando comparada ao modo de eluição isocrático, como a necessidade de regeneração da coluna antes da próxima análise, o que aumenta o tempo de análise e o consumo de solvente (COLLINS *et al.*, 2006).

Tendo como base o trabalho de Salvador & Chisvert, 2005 testes foram realizados a fim de otimizar a melhor condição de separação dos compostos BZ-3, OMC e MBC. Foi efetuado um gradiente exploratório variado a porcentagem de metanol (MeOH) e solução de Ácido acético pH = 4,0 (HAc) de 0 a 100 %, no fluxo de $1 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, a fim de verificar se há uma proporção fixa dos solventes que seja eficiente na separação dos analitos. Ou seja, se é possível aplicar o modo de eluição isocrático.

O tempo de eluição total dos compostos foi de 10 minutos e o comprimento de onda selecionado foi de 313 nm para detecção dos filtros químicos por detecção UV.

4.7. CURVAS ANALÍTICAS E LIMITES DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO

As curvas analíticas para a determinação dos filtros UV abrangeu os níveis de concentração para BZ-3 de 6,98 a $20,8 \mu\text{mol L}^{-1}$, de 5,32 a $19,4 \mu\text{mol L}^{-1}$ para MBC e de 10,4 a $24,1 \mu\text{mol L}^{-1}$ para OMC preparados a partir da diluição da solução estoque de concentração $2.00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, para todos os padrões em MeOH. As curvas obtidas em triplicata em cada nível de concentração foram utilizadas para a avaliação da linearidade e dos limites de quantificação (LQ) e detecção (LD).

Para verificar se o modelo descreve satisfatoriamente o comportamento dos dados experimentais, fez-se o teste de análise de variância ANOVA. Calculou-se o valor de $F_{\text{calculado}}$, de acordo com a Equação 2:

$$F_{\text{calculado}} = \frac{MQ_{\text{faj}}}{MQ_{\text{ep}}} \quad \text{Equação 2}$$

Sendo MQ_{faj} a média quadrática da falta de ajuste e MQ_{ep} a média quadrática do erro puro. O número de graus de liberdade para MQ_{faj} é 3 e para MQ_{ep} 10. Se o valor de $F_{\text{calculado}}$ for menor que o valor de $F_{\text{crítico}}$, não há falta de ajuste do modelo.

Os limites de quantificação e detecção foram calculados conforme as Equações 3 e 4, respectivamente.

$$LQ = \frac{10xSb}{a} \quad \text{Equação 3}$$

$$LD = \frac{3xSb}{a} \quad \text{Equação 4}$$

Onde, Sb é o desvio padrão do coeficiente linear e a o coeficiente angular da reta obtida para a curva analítica da regressão linear.

4.8. AMOSTRAS

4.8.1. AQUISIÇÃO DAS AMOSTRAS

As amostras de protetor solar foram adquiridas no comércio local da cidade de Juiz de Fora, Minas Gerais (MG). Dentre todas as opções de protetor solar, selecionaram-se aqueles que continham em sua composição pelo menos um dos analitos de interesse: benzofenona-3 (BZ-3), 4 metilbenzilideno cânfora (MBC) ou 4-metoxicinamato-2-etilhexila (OMC).

Três amostras foram analisadas, PROT 1, PROT 2 e PROT 3, sendo que cada amostra possuía, descrito em seu rótulo, um dos analitos a serem determinados, conforme apresentado na Tabela 5.

Tabela 5: Amostras de protetor solar analisadas.

Amostra	Analito
PROT 1	BZ-3
PROT 2	OMC
PROT 3	MBC

Fonte: Elaborada pela própria autora.

4.8.2. PREPARO DE AMOSTRA

O método de solubilização das amostras foi adaptado de SILVA *et al.*, 2006 e CARDOSO *et al.*, 2008.

Pesou-se, aproximadamente, 0,500 g de protetor solar, sendo esta quantidade dissolvida em 7,0 mL de metanol e levada em banho ultrassônico por 10 minutos. Em seguida, foram misturados em vórtex durante 5 minutos e centrifugados a 1600 rpm durante 20 minutos. O sobrenadante foi coletado e armazenado em um balão de 25,0 mL. Este procedimento foi repetido três vezes e no fim, o volume do balão foi completado com metanol.

As amostras foram pesadas diretamente em tubos de falcon, Figura 9 (A), sendo estes envolvidos em papel alumínio a fim de evitar a fotodegradação dos filtros UV, como apresentado na Figura 9 (B).

Figura 9: (A) Amostra pesada diretamente em um tubo de falcon. (B) Tudo de falcon envolvido em papel alumínio.



Para a fortificação das amostras, foram adicionados padrão dos filtros químicos, para uma concentração final de BZ-3 igual a $4,32 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, de MBC igual a $1,46 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ e de OMC igual a $2,06 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$.

As amostras tratadas foram filtradas em filtros de membrana de PTFE $0,45 \mu\text{m}$ de porosidade para serem injetadas no cromatógrafo líquido.

4.8.3. ANÁLISE DAS AMOSTRAS

As amostras foram analisadas por voltametria de onda quadrada e por cromatografia líquida de alta eficiência, método de comparação. Os parâmetros para ambas as técnicas foram otimizados, como descrito nos itens seguintes, sendo possível realizar a determinação de filtros UV BZ-3, OMC e MBC nas amostras PROT 1, PROT 2 e PROT 3, respectivamente.

Para as medidas eletroquímicas estudaram-se composição do eletrólito, variando a concentração de CTAB e volume de MeOH; eletrodo de trabalho, sendo avaliados os eletrodos de ouro e carbono vítreo limpos e modificados com filme de mer-

cúrio. Além desses estudos, ainda foi realizada a comparação entre as técnicas voltamétricas pulso diferencial e onda quadrada, sendo a voltametria de onda quadrada a técnica mais sensível, como já mencionado. Os parâmetros instrumentais frequência, amplitude e degrau de potencial da SWV foram otimizados para BZ-3, OMC e MBC. Para análise por CLAE os modos de eluição por gradiente e isocrático foram avaliados, bem como a otimização da composição da fase móvel.

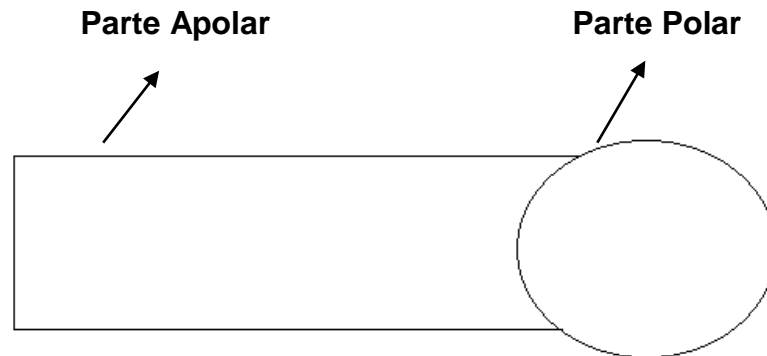
5. RESULTADOS

5.1. COMPOSIÇÃO DO ELETRÓLITO

Como relatado, a primeira composição para a célula eletroquímica foi baseada em um trabalho da literatura (CARDOSO *et al.*, 2008), sendo esta: 4,0 mL TBR 0,04 mol L⁻¹ (pH = 4), 1,0 mL MeOH e 2,55 x 10⁻⁴ mol L⁻¹ CTAB, purga com Ar por 10 minutos. Estes testes preliminares foram feitos para os três analitos BZ-3, MBC e OMC. Para uma primeira análise nesta composição, o eletrodo de trabalho utilizado foi o eletrodo de ouro modificado com filme de mercúrio. Foram realizadas adições de 50,0 µL dos padrões na concentração (estoque) de 1,00 x 10⁻³ mol L⁻¹. Nestas condições, não houve resposta do analito OMC. A fim de verificar se a variação no volume de metanol acarretaria na obtenção do sinal analítico para o OMC e melhor sinal para a BZ-3 e MBC, a composição foi alterada para 2,0 mL TBR 0,04 mol L⁻¹ (pH = 4), 4,0 mL MeOH e 2,55 x 10⁻⁴ mol L⁻¹ CTAB, purga com Ar por 10 minutos, porém sem sucesso. Como uma última tentativa para a condição proposta inicialmente, o eletrodo de trabalho foi alterado para carbono vítreo, entretanto nenhuma melhora foi observada. Os voltamogramas obtidos para estes testes não estão apresentados neste trabalho.

CTAB é um surfactante catiônico e seu intenso uso está relacionado à sua capacidade de alterar algumas propriedades, tendo como consequência uma melhor sensibilidade e/ou seletividade analítica (MANIASSO, 2001). Os tensoativos são compostos que possuem uma parte com característica polar ligado a uma parte apolar, conferindo a este tipo de molécula a capacidade de ser apolar e polar ao mesmo tempo, como apresentado na Figura 10. (DALTIM, 2012). Esse aspecto não permite uma estabilidade garantida na dissolução de um surfactante, seja em meio polar ou apolar. Contudo, é essa instabilidade que permite aos tensoativos propriedades diferenciadas de outras substâncias (DALTIM, 2012).

Figura 10: Representação esquemática de uma molécula de surfactante.

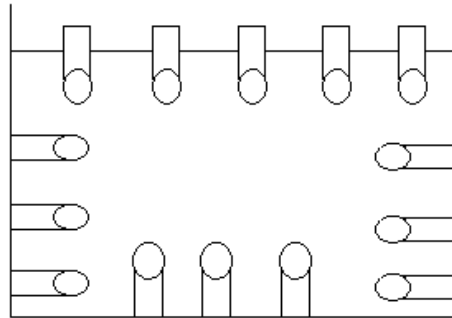


Fonte: Adaptada de DALVIN, 2012.

Silva *et al.*, 2006 retrata, entre outras coisas, a influência do surfactante CTAB na redução de OMC. Assim, uma nova composição foi estudada, onde o volume adicionado de CTAB passou de 50 μL para 80 μL . As novas proporções avaliadas foram: 4,0 mL TBR 0,04 mol L^{-1} (pH = 4,0), 1,0 mL MeOH e $4,30 \times 10^{-4}$ mol L^{-1} CTAB, purga com 10 minutos de Ar. Para esta composição os analitos responderam eletroquimicamente, porém não houve reprodutibilidade.

Quando a dissolução de um tensoativo acontece há um sistema bifásico, as moléculas do tensoativo tendem a ir para a superfície de separação das duas soluções. Neste ponto, a parte hidrofóbica do surfactante se posiciona a favor da parte pouco solúvel, enquanto a parte hidrofílica se direciona para a parte solúvel. Esta posição das moléculas confere uma estabilidade na solubilização do surfactante. Se o tensoativo for adicionado a um sistema monofásico, as moléculas do surfactante tendem a ocupar as superfícies líquido-ar e líquido-sólido, como demonstrado pela Figura 11 (DALVIN, 2012).

Figura 11: Estabilização das moléculas do tensoativo nas superfícies líquido-ar e líquido-sólido.



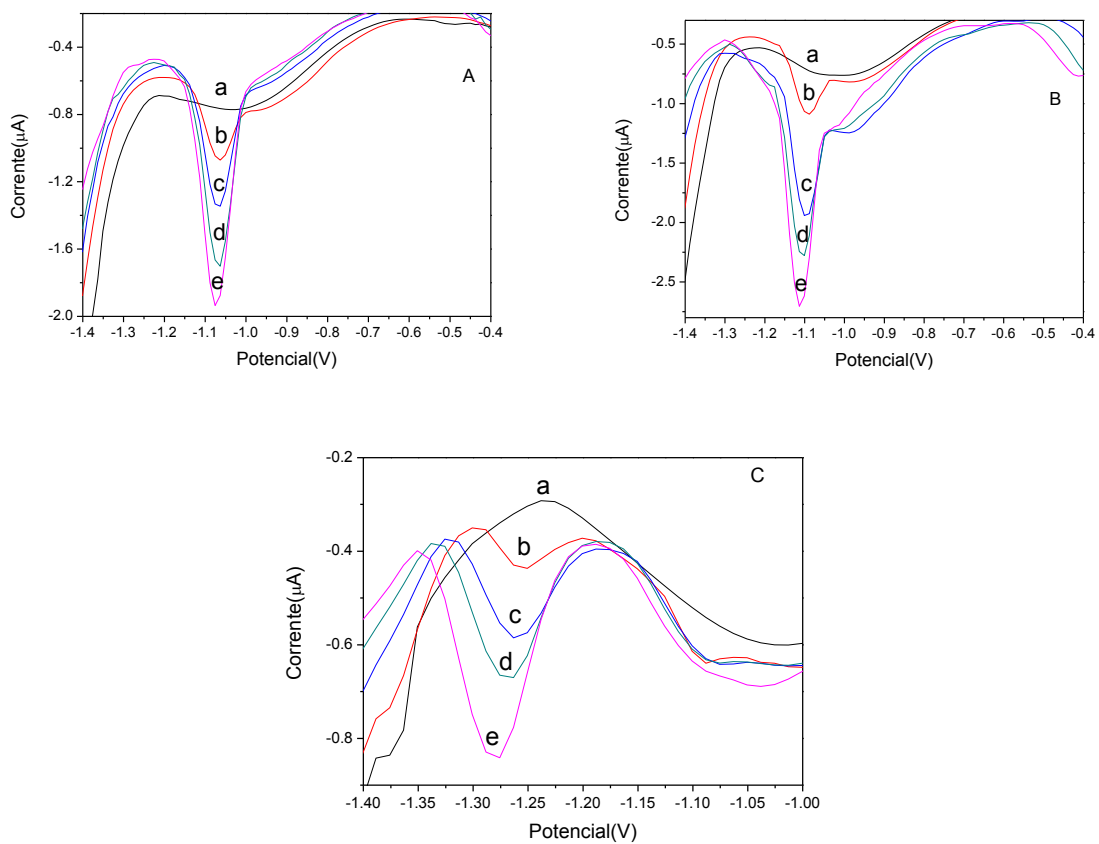
Fonte: Adaptada de DALTIM, 2012.

Caso a quantidade de tensoativo adicionada continue aumentando, não haverá mais espaço nas superfícies líquido-ar e líquido-sólido. Sendo assim, as moléculas vão para o seio da solução e se reorganizam. As moléculas se agrupam pela parte hidrofóbica expondo a parte hidrofílica ao meio aquoso. Este tipo de estrutura dá-se o nome de micela (DALTIM, 2012). As micelas possuem como principal característica o poder de solubilizar os mais variados solutos.

O aumento da concentração do surfactante pode promover a formação de micelas, caso a concentração micelar crítica (CMC) seja atingida. Cardoso *et al.*, 2008 relata como a variação na concentração do surfactante pode afetar a determinação simultânea de BZ-3, MBC e OMC eletroquimicamente. Assim, aumentou-se a concentração de CTAB na célula eletroquímica, sendo possível atingir a condição ótima.

A composição da célula eletroquímica otimizada foi: 4,0 mL TBR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 4,0), 1,0 mL MeOH e $5,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ CTAB, purga com Ar por 12 minutos. A Figura 12 mostra os voltamogramas obtidos para os filtros UV BZ-3, OMC e MBC, através da composição otimizada para célula eletroquímica.

Figura 12: Voltamogramas obtidos por pulso diferencial dos filtros UV em 4,0 mL TBR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 4,0$), 1,0 mL MeOH e $5,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ CTAB. Sendo em (a) branco, (b) $8,66 \times 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$, (c) $1,72 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$, (d) $2,58 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ e (e) $7,02 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ de (A) BZ-3, (B) MBC e (C) OMC. Eletrodo de trabalho: eletrodo de ouro modificado com filme de mercúrio; eletrodo de referência: $\text{Ag/AgCl}_{(\text{Sat})}$; eletrodo auxiliar: platina. Potencial inicial: $-0,9\text{V}$; degrau de potencial: 12mV ; potencial final: $-1,3\text{V}$; velocidade de varredura: 25mv/s ; amplitude: 50mV .



Fonte: Elaborada pela própria autora.

5.2. ESTUDO DO ELETRODO DE TRABALHO

Os processos de redução/oxidação acontecem na superfície do eletrodo de trabalho. Os eletrodos metálicos são amplamente empregados em intervalos de potenciais positivos, já em janelas de potenciais negativos os eletrodos de mercúrio

são os mais utilizados (SILVA *et al.*, 2011). Silva *et al.*, 2006 determinou OMC em cremes anti-rugas através da polarografia de pulso diferencial na presença de $1,63 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de CTAB e Tampão BR (pH = 4,0). Cardoso *et al.*, 2008 realizou a análise simultânea de três filtros UV (BZ-3, MBC e OMC) em amostras de protetor solar por polarografia de pulso diferencial utilizando Tampão BR $0,04 \text{ mol.L}^{-1}$ (pH = 4,0) e $3,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de CTAB.

Contudo, os eletrodos de mercúrio e eletrodos sólidos apresentam algumas desvantagens, os eletrodos de mercúrio apresentam faixa de trabalho na região anódica estreita e eletrodos sólidos não apresentam sobrepotencial à redução de H^+ . E uma alternativa a esses eletrodos são os eletrodos quimicamente modificados (EQM), os quais apresentam vantagens tanto de eletrodos de mercúrio como de eletrodos sólidos. Um exemplo destes tipos de eletrodos são os eletrodos de filme de mercúrio (EFM). Os EFM têm como vantagens elevada razão área superficial/volume, alta resistência mecânica, sendo estável ao acoplamento com sistemas em fluxo e elevada sobretensão à redução de H^+ (OLIVEIRA *et al.*, 2004). Ao se modificar a superfície de um eletrodo pretende-se melhorar propriedades eletroquímicas como sensibilidade, seletividade, estabilidade química ou eletroquímica (SILVA, 2014). Assim, dois tipos de eletrodos foram estudados no presente trabalho: eletrodos sólidos de carbono vítreo (CV) e ouro (Au) e eletrodos de CV e Au modificados com filme de mercúrio (Hg).

Os eletrodos de Au e CV, puros e modificados, foram comparados a fim de avaliar qual seria mais sensível na determinação de BZ-3 e MBC. A sensibilidade da calibração é uma das figuras de mérito utilizada para avaliar os procedimentos analíticos. Segundo Skoog *et al*, 2008, sensibilidade da calibração é a inclinação da curva analítica. Quanto maior o coeficiente angular, mais sensível é o método avaliado.

O gráfico construído para verificar qual dos eletrodos estudados é mais sensível aos filtros UV foi densidade de corrente (dC) vs Concentração do analito (C_{analito}). Levou-se em consideração a densidade de corrente visto que as áreas dos eletrodos de carbono vítreo e ouro são diferentes.

Na Tabela 6 estão descritos as equações de reta, bem como o coeficiente de correlação (R^2) para os gráficos dC vs C_{analito} , conforme descrito no item 4.5.2.1.

Tabela 6: Equações de retas e coeficiente de correlação (R^2) obtidos do gráfico dC vs C_{analito} , avaliação do eletrodo de trabalho para a determinação de BZ-3 e MBC.

<i>Eletrodos</i>	<i>BZ-3</i>		<i>MBC</i>	
	<i>Equação da reta</i>	<i>R²</i>	<i>Equação da reta</i>	<i>R²</i>
C.V puro	$dC=0,007C_{\text{analito}}+4,20 \times 10^{-7}$	0,955	$dC=0,01C_{\text{analito}}+3,26 \times 10^{-7}$	0,994
C.V com filme Hg	$dC=0,01C_{\text{analito}}-1,70 \times 10^{-8}$	0,954	$dC=0,03C_{\text{analito}}-6,33 \times 10^{-8}$	0,962
Au com filme Hg	$dC=0,13 C_{\text{analito}}-2,46 \times 10^{-7}$	0,967	$dC=0,04C_{\text{analito}}-1,58 \times 10^{-7}$	0,971

dC = densidade de corrente ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$) e C_{analito} = concentração do analito ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$).

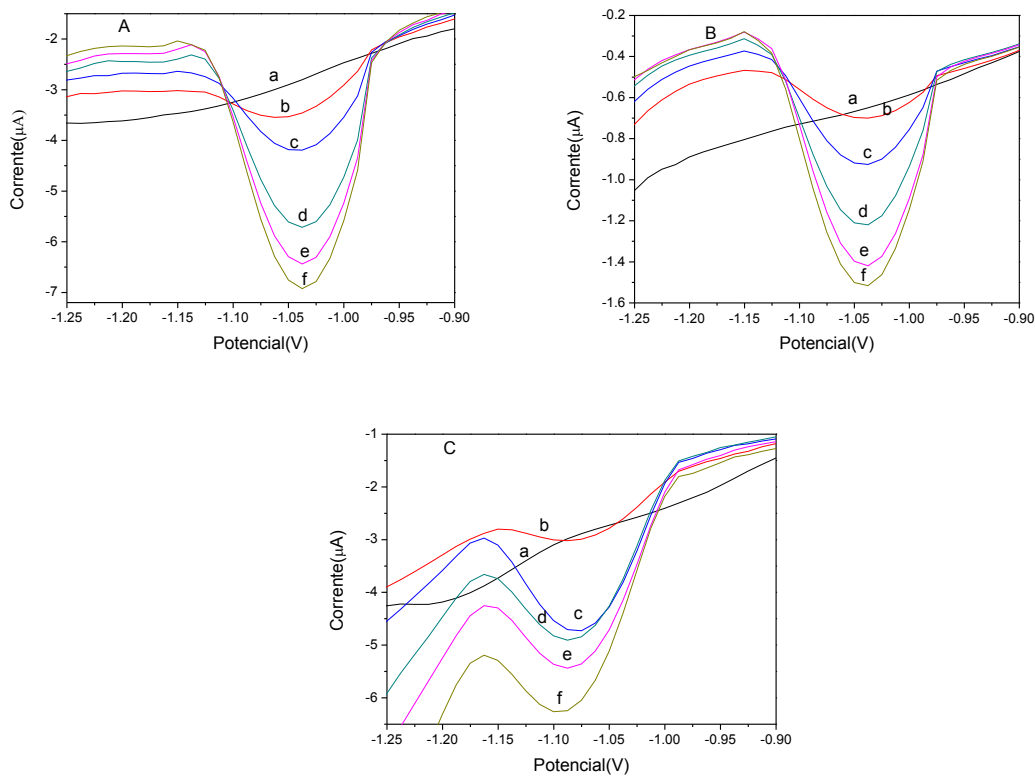
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Para o eletrodo de Au puro, não houve resposta dos analitos BZ-3 e MBC.

Através da Tabela 6 apresentada, pode-se concluir que o eletrodo de ouro modificado com filme de mercúrio é o mais sensível na determinação dos filtros químicos, pois apresenta maior coeficiente angular, sendo 0,13 para a regressão da BZ-3 e 0,04 para a regressão do MBC.

A Figura 13 apresenta os voltamogramas obtidos para os três eletrodos avaliados na determinação de BZ-3.

Figura 13: Voltamogramas obtidos por pulso diferencial dos filtros UV em 4,0 mL TBR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 4,0$), 1,0 mL MeOH e $5,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ CTAB. Adição de padrão de benzofenona-3, sendo em (a) branco, (b) $1,04 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ de BZ-3, (c) $1,73 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ de BZ-3, (d) $2,42 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ de BZ-3, (e) $3,11 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ de BZ-3 e (f) $3,79 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ de BZ-3. Eletrodo de trabalho avaliado em (A) Au modificado com filme de Hg, (B) CV modificado com filme de Hg e (C) CV limpo. Eletrodo de referência: $\text{Ag}/\text{AgCl}_{(\text{Sat})}$; eletrodo auxiliar: platina. Potencial inicial: $-0,9\text{V}$; degrau de potencial: 12mV ; potencial final: $-1,3\text{V}$; velocidade de varredura: 25mV/s ; amplitude: 50mV .



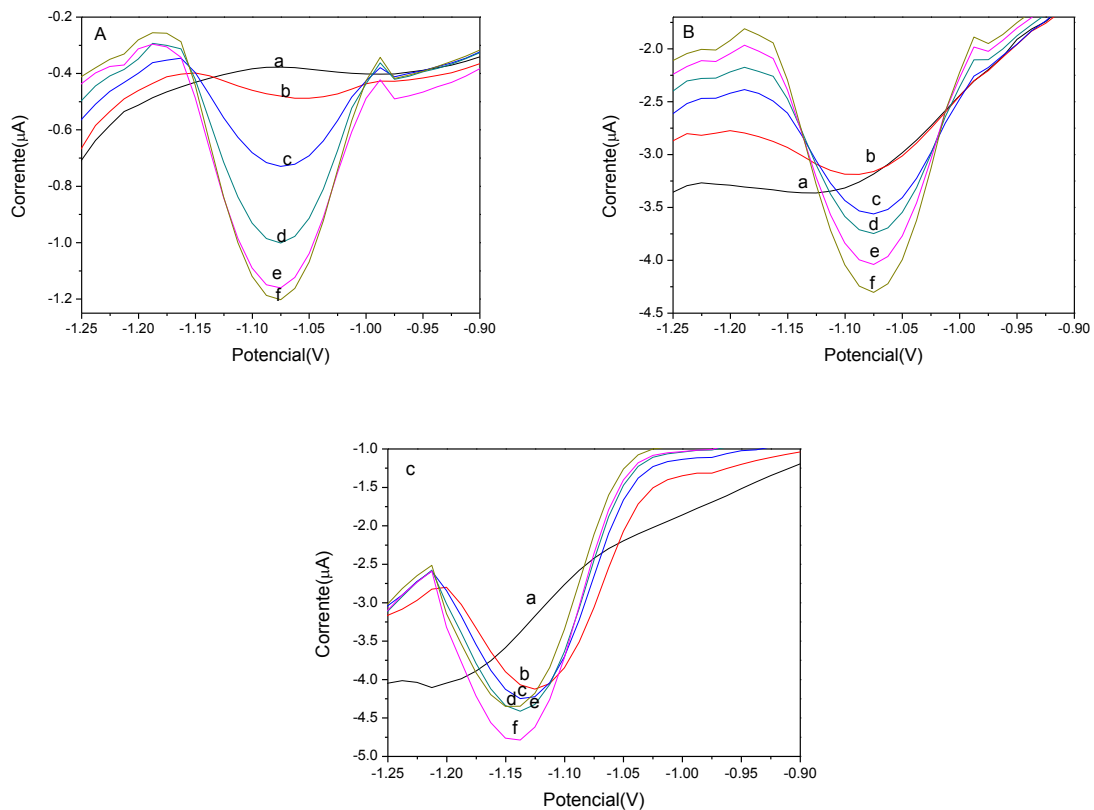
Fonte: Elaborada pela própria autora.

O voltamograma (A), eletrodo de Au modificado com filme de Hg, apresenta melhor estabilização da linha base do branco e maior incremento de corrente quando se adiciona padrão de benzofenona-3 quando comparado com o voltamograma (B), eletrodo de CV modificado com filme de Hg. Já o voltamograma obtido utilizando o eletrodo de CV puro, (C), apresenta um deslocamento de potencial e um aumento

irregular de corrente quando se adiciona padrão de benzofenona-3, o que está relacionado a baixa sensibilidade deste eletrodo na faixa de potenciais negativos.

Os voltamogramas obtidos para o analito MBC na avaliação do eletrodo de trabalho estão apresentados na Figura 14.

Figura 14: Voltamogramas obtidos por pulso diferencial dos filtros UV em 4,0 mL TBR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 4,0$), 1,0 mL MeOH e $5,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ CTAB. Adição de padrão de 4 metilbenzilideno cânfora, sendo em (a) branco, (b) $1,04 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ de MBC, (c) $1,73 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ de MBC, (d) $2,42 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ de MBC, (e) $3,11 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ de MBC e (f) $3,79 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ de MBC. Eletrodo de trabalho avaliado em (A) Au modificado com filme de Hg, (B) CV modificado com filme de Hg e (C) CV limpo. Eletrodo de referência: $\text{Ag/AgCl}_{(\text{Sat})}$; eletrodo auxiliar: platina. Potencial inicial: $-0,9\text{V}$; degrau de potencial: 12mV ; potencial final: $-1,3\text{V}$; velocidade de varredura: 25mv/s ; amplitude: 50mV .



Fonte: Elaborada pela própria autora.

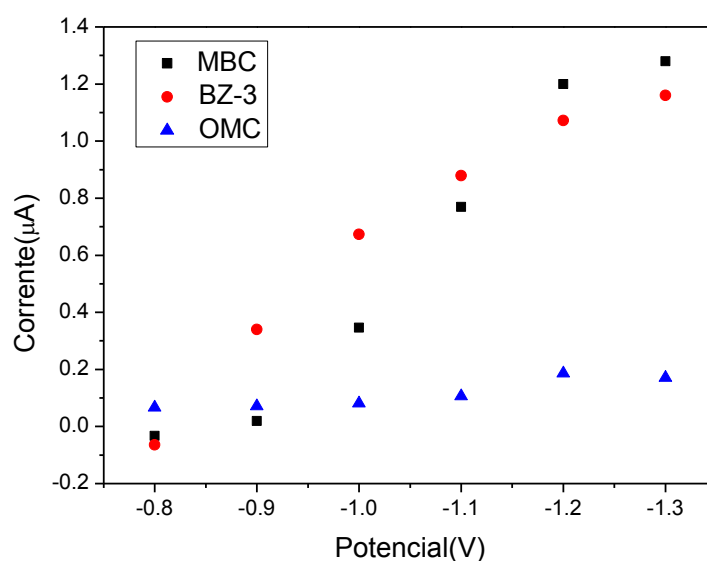
Os voltamogramas obtidos para o filtro MBC apresentam comportamento similar aos obtidos para BZ-3. Em (A), eletrodo de Au modificado com filme de Hg, há uma boa estabilização da linha base do branco e um aumento regular na corrente quando se adiciona padrão do filtro químico. Já em (B), eletrodo de CV modificado com filme de Hg, não há um incremento frequente de corrente quando se adiciona padrão. Quando o eletrodo de trabalho avaliado é o eletrodo de CV puro, (C), o acréscimo de corrente observado é irregular e baixo quando se eleva a concentração de MBC e um deslocamento de potencial também pode ser visto.

Com base nesse estudo, decidiu-se trabalhar com o eletrodo de ouro modificado com mercúrio.

5.3. VOLTAMETRIA HIDRODINÂMICA

A fim de identificar o comportamento eletroquímico dos filtros UV, no sistema proposto (4,0 mL TBR (pH = 4,0), 1,0 mL MeOH e $5,50 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de CTAB, purga com argônio por 12 minutos; eletrodo de Au modificado com filme de mercúrio) voltamogramas hidrodinâmicos na faixa de potencial que abrange a redução eletroquímica das espécies BZ-3, MBC e OMC foram obtidos através da técnica de amperometria de múltiplos pulsos conforme descrito no item 4.5.2.2. e apresentados na Figura 15.

Figura 15: Voltamogramas hidrodinâmicos para filtros UV na concentração $2,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Composição da célula eletroquímica: 4,0 mL TBR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 4,0), 1,0 mL MeOH e $5,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de CTAB. Condições: faixa de varredura de -0,8 a -1,3 V, eletrodo de trabalho: Au modificado com filme de Hg, eletrodo de referência: Ag/AgCl_(Sat) e eletrodo auxiliar: platina.



Fonte: Elaborada pela própria autora.

Pode-se observar que a partir de -0,9 V vs Ag/AgCl_(Sat) os filtros UV BZ-3, MBC e OMC apresentam uma corrente de redução mais sensível, isto é, um aumento de corrente. O potencial de -1,2 V vs Ag/AgCl_(Sat) seria o potencial ótimo para realizar a análise simultânea dos três filtros orgânicos. Para os analitos BZ-3 e MBC nota-se uma corrente de redução mais elevada em -1,3 V vs Ag/AgCl_(Sat), contudo este acréscimo de corrente não é tão considerável quando comparado com o valor de corrente em -1,2 V vs Ag/AgCl_(Sat).

5.4. VOLTAMETRIA DE PULSO DIFERENCIAL VS VOLTAMETRIA DE ONDA QUADRADA NA DETERMINAÇÃO DE FILTROS UV

Não há um método oficial para a determinação de filtros UV em amostras de cosméticos, contudo a literatura reporta, na maioria dos trabalhos, o uso de métodos cromatográficos. Chisvert *et al.*, 2013 determinou simultaneamente 15 filtros UV, dentre eles BZ-3 e MBC por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com detecção espectrofotométrica no UV, utilizando uma coluna C18, composição da fase móvel água:etanol sendo a eluição por gradiente, no fluxo de 1 mL min⁻¹. Kim *et al.*, 2011 quantificou nove filtros UV por CLAE, tendo como fase móvel água:acetonitrila (contendo 0,5% de ácido acético), eluição por gradiente e fluxo de 0,9 mL min⁻¹.

Uma alternativa aos métodos cromatográficos são as medidas eletroquímicas. Como já mencionado no item 4.5.2.3, duas dessas técnicas foram avaliadas no presente estudo, pulso diferencial e onda quadrada, a fim de verificar qual seria mais sensível aos filtros UV. A Tabela 7 traz as equações de reta, bem como o coeficiente de correlação (R^2), obtidos a partir dos gráficos corrente de pico (i_{pico}) vs Concentração do analito (C_{analito}), BZ-3 e MBC, para ambas as técnicas.

Tabela 7: Dados obtidos a partir da comparação entre as técnicas voltamétricas pulso diferencial vs onda quadrada, na determinação de BZ-3 e MBC.

<i>Analito</i>	<i>Pulso Diferencial</i>		<i>Onda Quadrada</i>	
	Equação da reta	R^2	Equação da reta	R^2
<i>BZ-3</i>	$y=0,09C_{\text{analito}} - 2,41 \times 10^{-8}$	0,993	$y=0,51C_{\text{analito}} - 1,13 \times 10^{-6}$	0,996
<i>MBC</i>	$y=0,04 C_{\text{analito}} - 7,77 \times 10^{-8}$	0,961	$y=0,27 C_{\text{analito}} - 1,27 \times 10^{-6}$	0,999

y = corrente de pico (μA) e C_{analito} = concentração do analito ($\mu\text{mol L}^{-1}$)

Fonte: Elaborada pela própria autora.

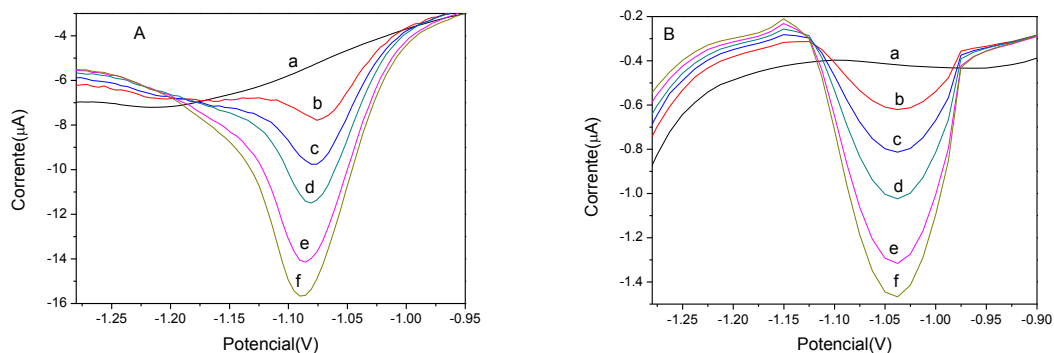
O coeficiente de correlação (R^2) exibe uma faixa que vai de $-1 < R^2 < +1$, sendo que quanto mais próximo de 1 ou -1 estiver menor será erro associado ao coeficiente linear (RIBEIRO & FERREIRA, 2008). Assim, a função matemática escolhida para ajustar os pontos se mostra adequada. Para as equações de reta obtidas a partir da voltametria de onda quadrada os valores de R^2 estão próximos de 1, sen-

do 0,996 para o filtro BZ-3 e 0,999 para MBC. Portanto, os pontos da curva estão em cima de uma reta com inclinação positiva.

Como já dito, sensibilidade da calibração é a inclinação da curva analítica (SKOOG *et al.*, 2008). Quanto maior o coeficiente angular, mais sensível é a técnica. A Tabela 7 apresenta os valores de 0,51 para BZ-3 e 0,27 para MBC na voltametria de onda quadrada e 0,09 para BZ-3 e 0,04 para MBC na voltametria de pulso diferencial. Assim, a técnica mais sensível para a determinação de filtros UV BZ-3 e MBC é a voltametria de onda quadrada.

A Figura 16 mostra os voltamogramas obtidos para BZ-3 na análise por pulso diferencial e por onda quadrada.

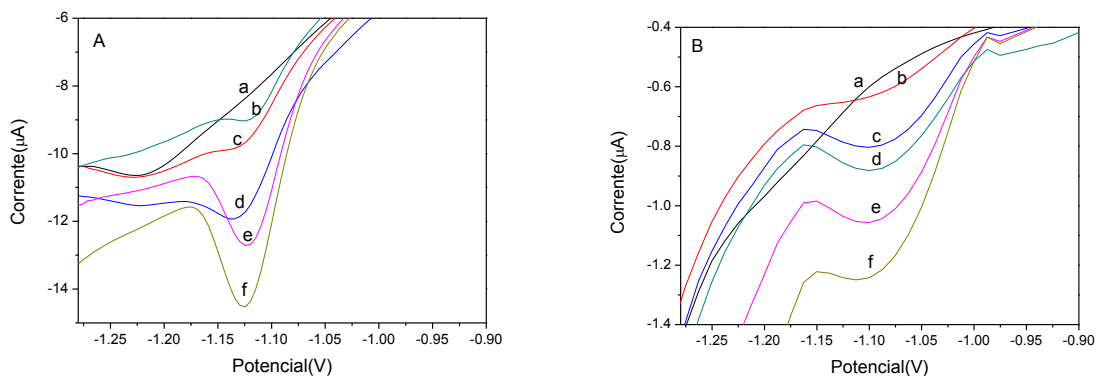
Figura 16: Voltamogramas obtidos por (A) voltametria de onda quadrada (B) voltametria de pulso diferencial para BZ-3. Em 4,0 mL TBR 0,04 mol L⁻¹ (pH = 4,0), 1,0 mL MeOH e 5,50 x 10⁻⁴ mol L⁻¹ de CTAB. Adição de padrão de benzofenona-3, sendo em (a) branco, (b) 5,20 x 10⁻⁶ mol.L⁻¹ de BZ-3, (c) 8,66 x 10⁻⁶ mol.L⁻¹ de BZ-3, (d) 1,21 x 10⁻⁵ mol.L⁻¹ de BZ-3, (e) 1,55 x 10⁻⁵ mol.L⁻¹ de BZ-3 e (f) 1,89 x 10⁻⁵ mol.L⁻¹ de BZ-3. Eletrodo de trabalho: Au modificado com filme de Hg, eletrodo de referência: Ag/AgCl_(Sat); eletrodo auxiliar: platina. Parâmetros SWV: frequência: 90Hz; amplitude: 60mV; degrau de potencial: 5mV; potencial inicial: -0,4V; potencial final: -1,5V. Parâmetros pulso diferencial: potencial inicial: -0,9V; degrau de potencial: 12mV; potencial final: -1,3V; velocidade de varredura: 25mv/s; amplitude: 50mV.



Fonte: Elaborada pela própria autora.

A Figura 17 apresenta os voltamogramas obtidos para o filtro químico MBC por voltametria de onda quadrada e voltametria de pulso diferencial.

Figura 17: Voltamogramas obtidos por (A) voltametria de onda quadrada (B) voltametria de pulso diferencial para MBC. Em 4,0 mL TBR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 4,0), 1,0 mL MeOH e $5,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de CTAB. Adição de padrão de 4 metilbenzilideno cânfora, sendo em (a) branco, (b) $6,93 \times 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ de MBC, (c) $1,04 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ de MBC, (d) $1,38 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ de MBC, (e) $1,72 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ de MBC e (f) $2,06 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ de MBC. Eletrodo de trabalho: Au modificado com filme de Hg, eletrodo de referência: Ag/AgCl_(Sat); eletrodo auxiliar: platina. Parâmetros SWV: frequência: 90Hz; amplitude: 60mV; degrau de potencial: 5mV; potencial inicial: -0,4V; potencial final: -1,5V. Parâmetros pulso diferencial: potencial inicial: -0,9V; degrau de potencial: 12mV; potencial final: -1,3V; velocidade de varredura: 25mv/s; amplitude: 50mV.



Fonte: Elaborada pela própria autora.

Para o filtro UV MBC o voltamograma obtido por pulso diferencial não apresentou uma boa estabilização de linha base, desencadeando um deslocamento de potencial de pico.

A voltametria de onda quadrada possui algumas vantagens quando comparada a voltametria de pulso diferencial. As análises feitas por SWV são mais rápidas, o que possibilita obter correntes de pico bem definidas, melhorando a sensibilidade da técnica (SOUZA *et al.*, 2003). Além disso, possui menores problemas com o envenenamento da superfície do eletrodo de trabalho (BRETT *et al.*, 1996). Através da

observação da varredura direta e inversa por voltametria de onda quadrada, é possível obter informações similares à voltametria cíclica, porém com maior sensibilidade devido à minimização da corrente capacitiva (SOUZA *et al.*, 2003).

As condições eletroquímicas otimizadas para a determinação de BZ-3, MBC e OMC estão resumidas na Tabela 8.

Tabela 8: Condições eletroquímicas otimizadas para a determinação de BZ-3, MBC e OMC.

Composição da cela eletroquímica	4,0 mL de TBR 0,04 mol L ⁻¹ (pH = 4,0), 1,0 mL de MeOH e 5,50 x 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ de CTAB
Eletrodo de Trabalho	Eletrodo de Au modificado com filme de Hg
Técnica Voltamétrica	Onda Quadrada

Fonte: Elaborada pela própria autora.

5.5. OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS COM VARREDURA DE POTENCIAL DO TIPO ONDA QUADRADA NA ANÁLISE DE BZ-3, MBC E OMC

Na voltametria de onda quadrada, os sinais analíticos dependem de parâmetros como amplitude, frequência e degrau de potencial (LOURENÇÃO, 2009). As Tabelas 9, 10 e 11 mostram a faixa estudada para cada parâmetro, assim como o valor otimizado para a análise de BZ-3, MBC e OMC.

Tabela 9: Parâmetros investigados e selecionados de voltametria de onda quadrada na análise de BZ-3.

<i>Parâmetros</i>	<i>Faixa estudada</i>	<i>Parâmetro otimizado:</i> <i>BZ-3</i>
Frequência	55 – 165 Hz	145 Hz
Amplitude	20 – 80 mV	70 mV
Degrau de potencial	4 – 10 mV	7 mV

Fonte: Elaborada pela própria autora.

Tabela 10: Parâmetros investigados e selecionados de voltametria de onda quadrada na análise de MBC.

<i>Parâmetros</i>	<i>Faixa estudada</i>	<i>Parâmetro otimizado:</i> <i>MBC</i>
Frequência	75 - 120 Hz	105 Hz
Amplitude	50 – 110 mV	100 mV
Degrau de potencial	4 – 9 mV	6 mV

Fonte: Elaborada pela própria autora.

Tabela 11: Parâmetros investigados e selecionados de voltametria de onda quadrada na análise de OMC.

<i>Parâmetros</i>	<i>Faixa estudada</i>	<i>Parâmetro otimizado:</i> <i>OMC</i>
Frequência	30 - 155 Hz	125 Hz
Amplitude	10 – 60 mV	30 mV
Degrau de potencial	4 – 9 mV	7 mV

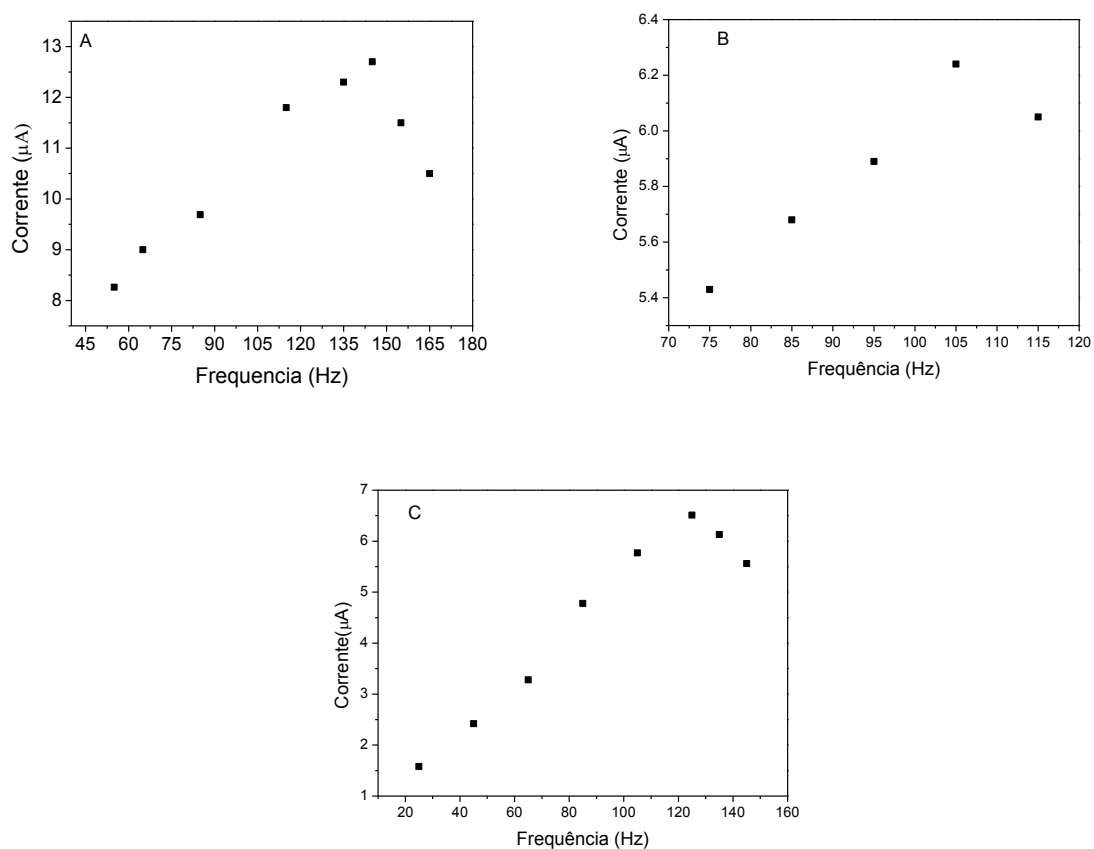
Fonte: Elaborada pela própria autora.

O primeiro parâmetro otimizado foi à frequência de aplicação dos pulsos. De acordo com as Tabelas 9, 10 e 11, para BZ-3 a faixa de frequência estudada foi 55-165 Hz, para MBC 75-120 Hz e para OMC 30-155 Hz. Segundo Souza *et al*, 2003, frequências acima de 1000 Hz podem ocasionar pequenos desvios da linearidade devido a própria resistência da solução. Assim como em frequências abaixo de 30 Hz, desvios aqui gerados devido a ruídos provenientes do sistema eletrônico.

A Figura 18 apresenta a variação da frequência com a corrente de pico para os filtros orgânicos BZ-3, MBC e OMC. A condição ótima foi estabelecida quando o parâmetro estudado atingia um valor máximo de corrente ou então a corrente se tornava constante. O mesmo critério foi utilizado para determinar o valor ótimo das medidas amplitude e degrau de potencial.

Na Figura 18 (A), (B) e (C) o mesmo comportamento para o parâmetro frequência é observado. A corrente vai aumentando gradativamente até atingir um valor máximo e em seguida decresce. O valor máximo atingido é o valor ótimo da frequência, sendo 145 Hz para BZ-3, 105 Hz para MBC e 125 Hz para OMC.

Figura 18: Estudo da influência da frequência na técnica de voltametria de onda quadrada, em (A) BZ-3, (B) MBC e (C) OMC. Todos os filtros UV na concentração $2,70 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Composição da célula eletroquímica: 4,0 mL de TBR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 4,0), 1,0 mL de MeOH e $5,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de CTAB. Eletrodo de trabalho: Au modificado com filme de Hg, eletrodo de referência: Ag/AgCl_(Sat); eletrodo auxiliar: platina.



Fonte: Elaborada pela própria autora.

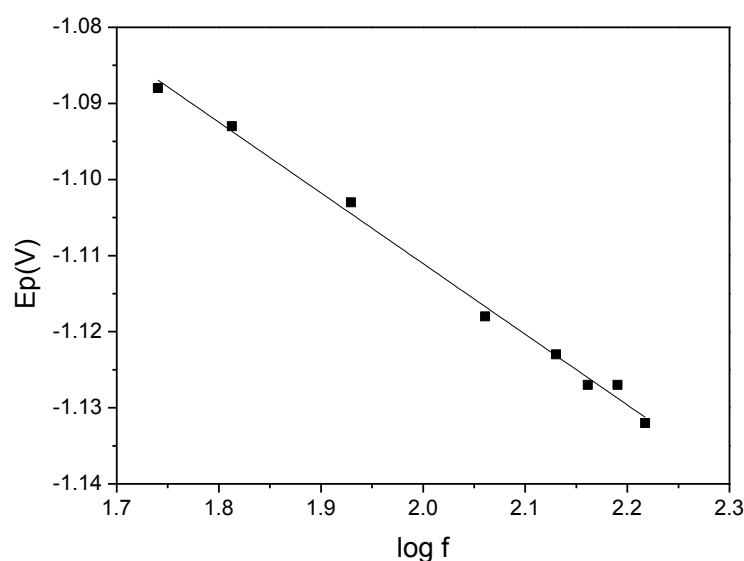
Dois grupos de pesquisas estudaram espécies eletroativas por onda quadrada e a partir dos dados coletados desenvolveram modelos teóricos para esta técnica voltamétrica (SOUZA *et al.*, 2003). O desenvolvimento computacional possibilitou simular o comportamento químico para sistemas irreversíveis, reversíveis e quase-reversíveis. O modelo teórico criado pode informar sobre o mecanismo das reações envolvidas, assim como realizar estudos analíticos das espécies avaliadas (SOUZA

et al., 2003). Quando o sistema estudado é reversível ou quase-reversível, a adsorção de reagentes ou produtos pode causar um aumento significativo no sinal analítico obtido por voltametria de onda quadrada. Já quando se trabalha com compostos orgânicos geralmente contendo anéis aromáticos homo ou heterocíclicos o sistema é irreversível na maioria dos casos, pois há uma rápida inativação do produto de redução ou ainda, baixa velocidade de transferência de carga (SOUZA *et al.*, 2003).

Para estudar a reversibilidade de um sistema, a avaliação deve ser feita através da presença de uma relação linear ou não nos gráficos: i) frequência (f) versus corrente de pico (I_p), ii) logaritmo da frequência ($\log f$) versus potencial de pico (E_p). Se a relação não for linear o sistema é classificado como quase-reversível, mas se a relação for linear o sistema é irreversível (DORNELLAS, 2014).

Para o filtro benzofenona-3 não é observada uma relação linear entre a I_p e a f , como pode ser visto na Figura 18 (A), atribuindo ao sistema a quase-reversibilidade. A faixa em (A) de 45 a 120 Hz, aparentemente, é linear, porém logo em seguida esta relação linear não mais se confirma. Contudo, o gráfico $\log f$ vs E_p , Figura 19, apresentou o valor de R^2 igual a 0,994, confirmando a linearidade da regressão e classificando o sistema como irreversível. Portanto, através da voltametria de onda quadrada não foi possível afirmar sobre a reversibilidade do filtro químico BZ-3, visto que há uma divergência entre os gráficos I_p vs f e f vs E_p , sendo o primeiro não linear e o segundo linear. Uma alternativa para comprovar se o sistema estudado é irreversível ou quase-reversível seria fazer uso da voltametria cíclica.

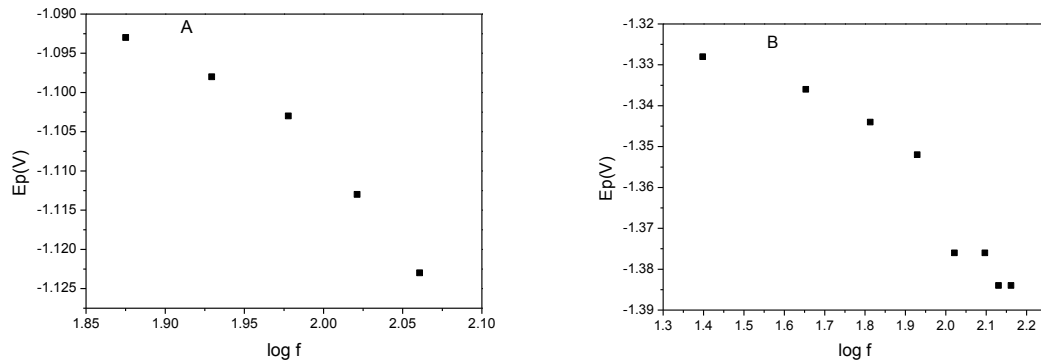
Figura 19: Potencial de pico (E_p) em função do logaritmo da frequência ($\log f$), para o filtro BZ-3 na concentração de $2,70 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Composição da célula eletroquímica: 4,0 mL de TBR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 4,0$), 1,0 mL de MeOH e $5,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de CTAB. Eletrodo de trabalho: Au modificado com filme de Hg, eletrodo de referência: $\text{Ag}/\text{AgCl}_{(\text{Sat})}$; eletrodo auxiliar: platina.



Fonte: Elaborada pela própria autora.

A Figura 18, também apresenta os gráficos f vs I_p para os filtros 4 metilbenziledeno cânfora e 4 metoxicinamato-2-etilhexila, (B) e (C) respectivamente. A não linearidade do gráfico é verdadeira para ambos os analitos. As faixas em (B) de 45 a 120 Hz e em (C) de 30 a 130 Hz, possivelmente são lineares, porém logo em seguida esta relação linear não mais se confirma. Portanto, o sistema estudado pode ser classificado como quase-reversível. Este fato é confirmado com os gráficos apresentados na Figura 20. Não se observa uma relação linear entre $\log f$ e E_p para os filtros químicos MBC e OMC. Sendo assim, os sistemas MBC e OMC são classificados como quase-reversíveis.

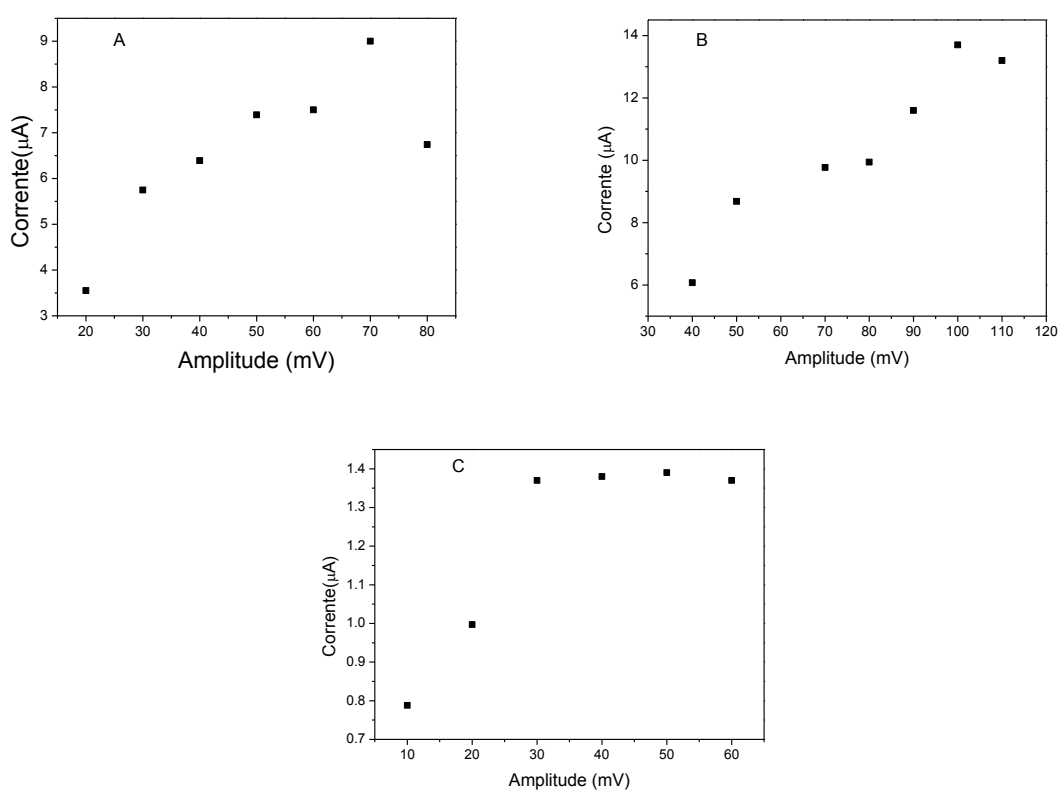
Figura 20: Potencial de pico (E_p) em função do logaritmo da frequência ($\log f$), para os filtros (A) MBC e (B) OMC. Ambos na concentração de $2,70 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Composição da célula eletroquímica: 4,0 mL de TBR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 4,0$), 1,0 mL de MeOH e $5,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de CTAB. Eletrodo de trabalho: Au modificado com filme de Hg, eletrodo de referência: $\text{Ag}/\text{AgCl}_{(\text{Sat})}$; eletrodo auxiliar: platina.



Fonte: Elaborada pela própria autora.

Após ter encontrado a frequência ideal, o segundo parâmetro estudado foi à amplitude. Os gráficos construídos para a avaliação deste parâmetro estão apresentados na Figura 21.

Figura 21: Estudo da influência da amplitude na técnica de voltametria de onda quadrada, em (A) BZ-3, (B) MBC e (C) OMC. Todos os filtros UV na concentração $2,70 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Composição da célula eletroquímica: 4,0 mL de TBR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 4,0), 1,0 mL de MeOH e $5,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de CTAB. Eletrodo de trabalho: Au modificado com filme de Hg, eletrodo de referência: Ag/AgCl_(Sat); eletrodo auxiliar: platina.

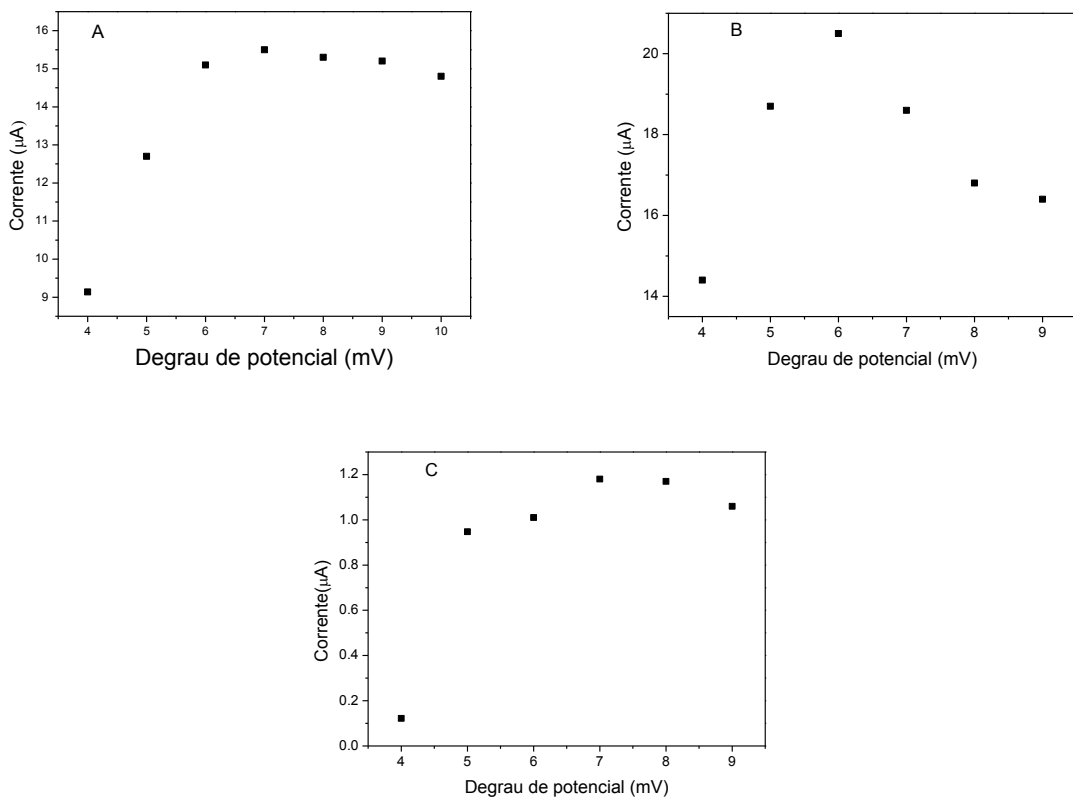


Fonte: Elaborada pela própria autora.

Na Figura 21 (A) e (B), a corrente vai aumentando gradativamente e em um momento ela se apresenta mais sensível, sendo que em seguida cai consideravelmente. O valor de amplitude onde a corrente se mostrou mais sensível é o valor ótimo, sendo 70 mV para BZ-3 e 100 mV para MBC. Já em (C) o comportamento se difere, a corrente também aumenta gradativamente, entretanto em determinado valor de amplitude ela permanece constante. Este valor para o filtro OMC é de 30 mV, sendo este o valor otimizado, já que a partir dele não se observa nenhum ganho de corrente.

O último parâmetro otimizado foi o degrau de potencial. A Figura 22 exibe os gráficos obtidos para esta medida.

Figura 22: Estudo da influência do degrau de potencial na técnica de voltametria de onda quadrada, em (A) BZ-3, (B) MBC e (C) OMC. Todos os filtros UV na concentração $2,70 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Composição da célula eletroquímica: 4,0 mL de TBR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 4,0), 1,0 mL de MeOH e $5,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de CTAB. Eletrodo de trabalho: Au modificado com filme de Hg, eletrodo de referência: Ag/AgCl_(Sat); eletrodo auxiliar: platina.



Fonte: Elaborada pela própria autora.

A corrente em (A) e (C), Figura 22, se eleva até um valor de degrau de potencial e em seguida permanece constante. Sendo assim, o valor otimizado de degrau de potencial para BZ-3 e OMC é de 7 mV. Diferentemente de BZ-3 e OMC, na Figura 22 (B) a corrente aumenta até 6 mV e decresce em seguida. Portanto, 6 mV é o valor ótimo de degrau de potencial para o filtro UV MBC.

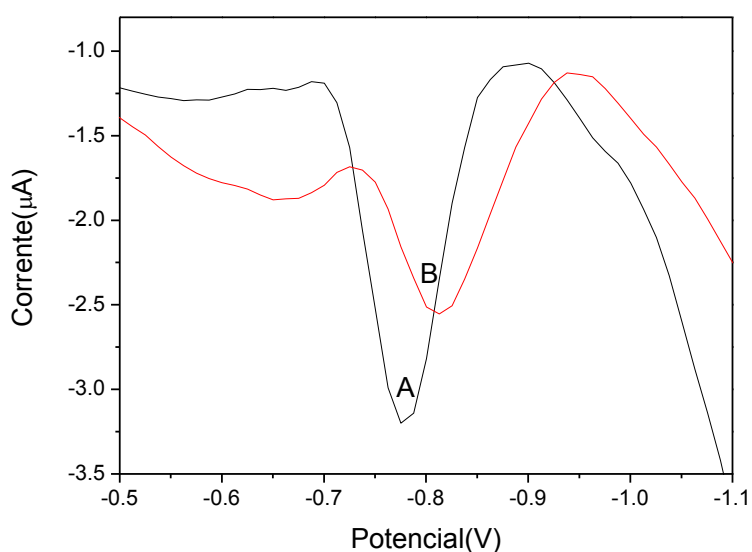
5.6. ANÁLISE SIMULTÂNEA DE BZ-3, MBC E OMC

Nos dias atuais, grande parte dos protetores solares apresenta combinação de filtros químicos e físicos (CABRAL *et al.*, 2011). A determinação simultânea de filtros UV tem sido reportada na literatura utilizando diferentes técnicas, como cromatografia gasosa, cromatografia líquida, espectroscopia e técnicas eletroquímicas (SALVADOR & CHISVERT, 2005). A análise simultânea dos filtros UV Benzofenona-3, 4-metilbenzilideno cânfora e 4-metoxicinamato-2-etilhexila foi estudada no presente trabalho, empregando as técnicas voltamétricas pulso diferencial e onda quadrada.

A composição do eletrólito estudada não variou, foi utilizado sempre TBR, MeOH e CTAB, contudo várias proporções foram testadas. Tentou-se realizar a análise simultânea na condição otimizada do eletrólito, 4,0 mL TBR (pH = 4,0), 1,0 mL MeOH e $5,50 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de CTAB, sem sucesso. Portanto, uma alternativa foi variar o pH do eletrólito suporte. Preparou-se TBR nos pHs 2,0; 4,0; 8,0 e 10,0, sendo feita a análise eletroquímica com cada uma das soluções preparadas. Entretanto, o único valor de pH onde foi possível verificar o sinal eletroquímico dos filtros químicos foi em pH 4,0.

Não houve sucesso em nenhum dos testes realizados. O voltamograma apresentado na Figura 23 exibe uma tentativa de realizar a análise simultânea de BZ-3 e OMC.

Figura 23: Análise simultânea de BZ-3 e OMC, sendo em (A) sinal eletroquímico de BZ-3, concentração $1,21 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ e (B) BZ-3 adicionando-se padrão de OMC, concentração esteque $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$. Composição da célula eletroquímica: 4,0 mL de TBR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 4,0), 1,0 mL de MeOH e $5,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de CTAB. Eletrodo de trabalho: Au modificado com filme de Hg, eletrodo de referência: $\text{Ag/AgCl}_{(\text{sat})}$; eletrodo auxiliar: platina.

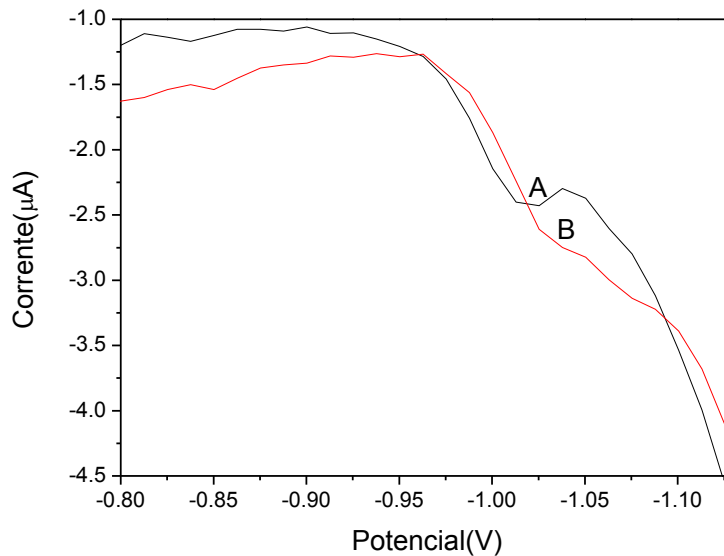


Fonte: Elaborada pela própria autora.

Analisando o voltamograma apresentado, Figura 23, primeiramente verifica-se o sinal analítico do padrão de BZ-3, sendo adicionado somente ele à célula eletroquímica. Contudo, em seguida, adiciona-se padrão de OMC e o que se observa é uma diminuição do sinal de BZ-3 e o não aparecimento do pico de redução de OMC.

A Figura 24 revela a pretensão da determinação simultânea de BZ-3 e MBC.

Figura 24: Análise simultânea de BZ-3 e MBC, sendo em (A) sinal eletroquímico de BZ-3, concentração $5,20 \times 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ e (B) BZ-3 adicionando-se padrão de MBC, concentração esteque de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$. Composição da célula eletroquímica: 4,0 mL de TBR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 4,0$), 1,0 mL de MeOH e $5,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de CTAB. Eletrodo de trabalho: Au modificado com filme de Hg, eletrodo de referência: $\text{Ag/AgCl}_{(\text{sat})}$; eletrodo auxiliar: platina.

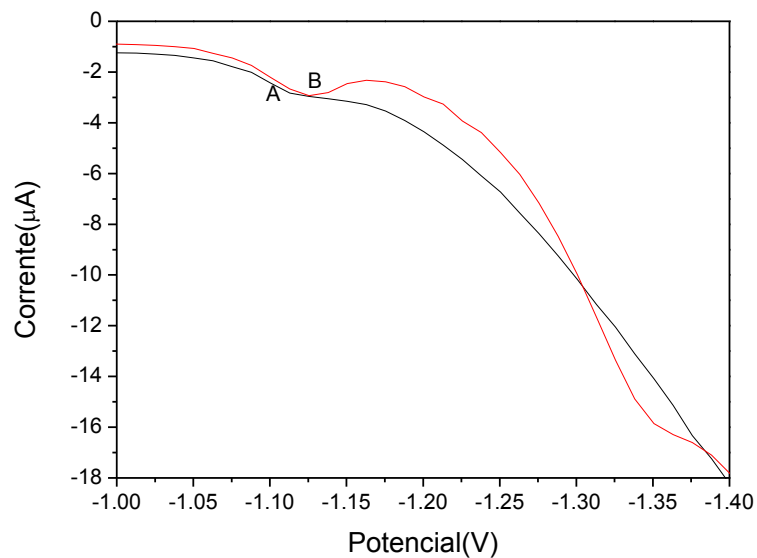


Fonte: Elaborada pela própria autora.

Em (A) é possível vê o pico de redução de BZ-3, contudo em (B) adiciona-se padrão de MBC e verifica-se a existência de apenas um pico. A Figura 24 evidencia que quando é feita a análise simultânea de BZ-3 e MBC há a junção dos picos de redução podendo ser visualizado apenas um sinal eletroquímico.

O teste feito para a determinação simultânea de MBC e OMC também não evidenciou um bom resultado, como pode ser visto na Figura 25.

Figura 25: Análise simultânea de OMC e MBC, sendo em (A) sinal eletroquímico de MBC, concentração $6,93 \times 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ e (B) MBC adicionando-se padrão de OMC, concentração esteque $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$. Composição da célula eletroquímica: 4,0 mL de TBR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 4,0), 1,0 mL de MeOH e $5,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de CTAB. Eletrodo de trabalho: Au modificado com filme de Hg, eletrodo de referência: $\text{Ag/AgCl}_{(\text{sat})}$; eletrodo auxiliar: platina.

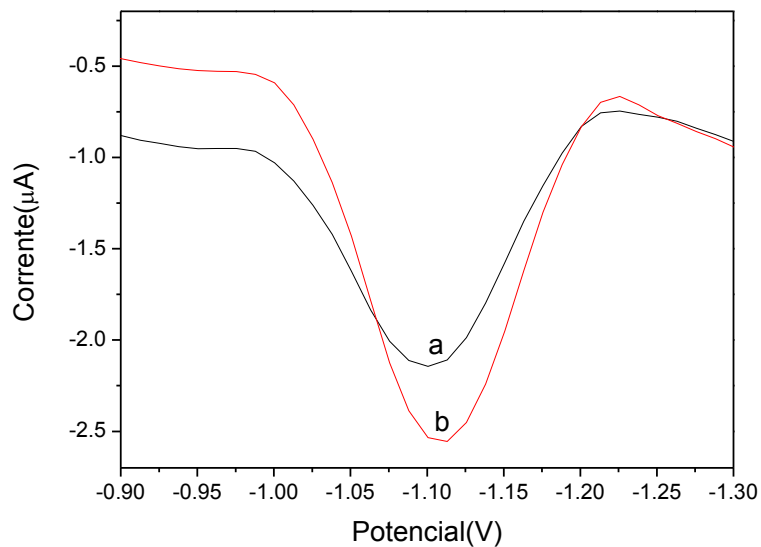


Fonte: Elaborada pela própria autora.

Através da Figura 25 (A), verifica-se a redução do filtro UV MBC, sendo que só o padrão deste foi adicionado à cela eletroquímica. Já em (B) dois picos de redução podem ser vistos, sendo o primeiro de MBC e o segundo OMC. Contudo, em (B) adiciona-se apenas padrão de OMC e é observado um aumento de corrente de redução no filtro químico MBC e o aparecimento do sinal de redução do OMC. Ao adicionar padrão de OMC há um aumento do pico de redução de MBC, o que não deveria ser observado, já que nenhum padrão de MBC foi adicionado ao sistema.

A Figura 26 apresenta um voltamograma dos três filtros UV BZ-3, MBC e OMC. Sendo que em (A) observa-se um pico referente à redução de BZ-3 e MBC e em (B) um aumento de sinal provocado pela adição de OMC, entretanto nenhum pico de redução deste filtro orgânico é verificado. Portanto, no presente trabalho não foi possível realizar a determinação simultânea de BZ-3, OMC e MBC.

Figura 26: Análise simultânea de BZ-3, OMC e MBC, sendo em (A) sinal de redução de BZ-3 e MBC e (B) BZ-3 e MBC adicionando-se padrão de OMC. Composição da célula eletroquímica: 4,0 mL de TBR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 4,0$), 1,0 mL de MeOH e $5,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de CTAB. Eletrodo de trabalho: Au modificado com filme de Hg, eletrodo de referência: Ag/AgCl_(sat); eletrodo auxiliar: platina.



Fonte: Elaborada pela própria autora.

5.7. CURVAS ANALÍTICAS E LIMITES DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO

As curvas analíticas obtidas para a quantificação dos filtros UV BZ-3, OMC e MBC, foram obtidas conforme relatado no item 4.7. Estas foram elaboradas a fim de avaliar a linearidade e determinar os limites de detecção e quantificação para os dois filtros UV com triplicata em cada nível. As equações das retas estão apresentadas na Tabela 12 e as curvas analíticas na Figura 27.

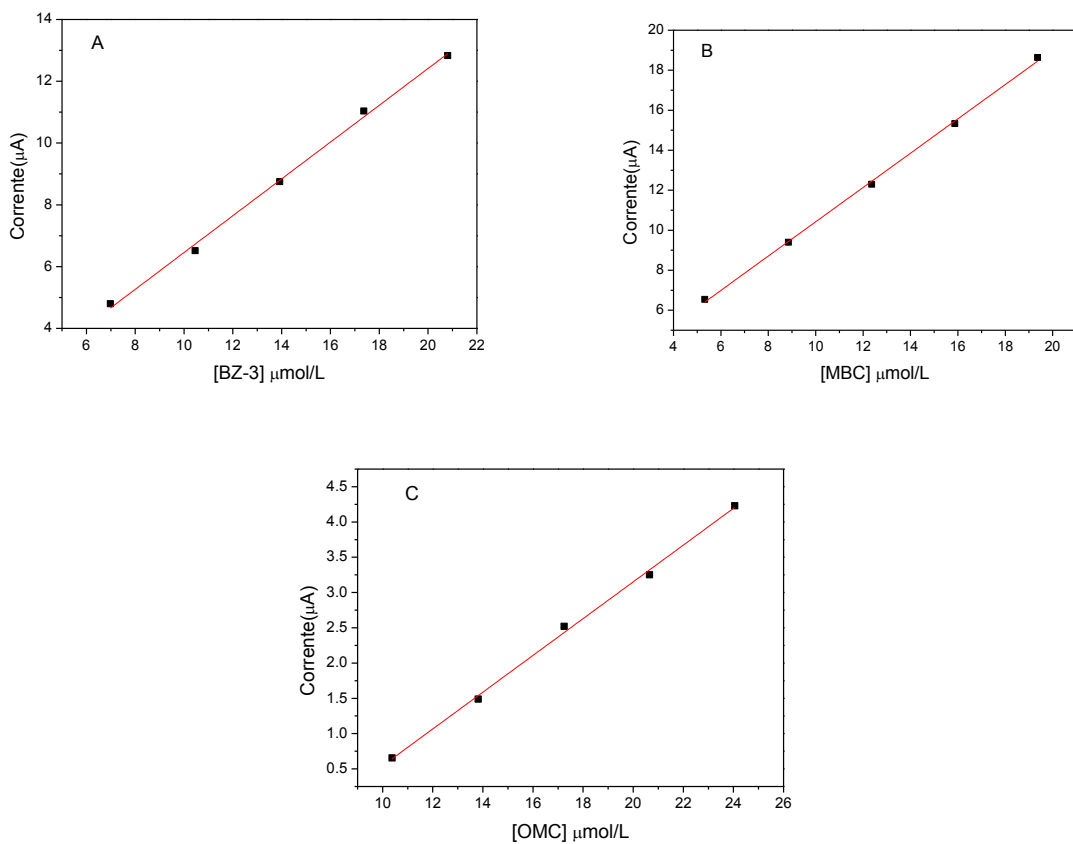
Tabela 12: Equações das retas e coeficientes de correlação obtidos para a determinação dos filtros UV.

<i>Analito</i>	<i>Equação da reta</i>	<i>R²</i>
BZ-3	$y = 0,60 C_{\text{analito}} + 4,98 \times 10^{-7}$	0,997
MBC	$y = 0,86 C_{\text{analito}} + 1,85 \times 10^{-6}$	0,998
OMC	$y = 0,26 C_{\text{analito}} - 2,06 \times 10^{-6}$	0,997

y = corrente (μA) e C_{analito} = concentração do analito (mol.L^{-1})

Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 27: Curvas analíticas para avaliação da linearidade (A) BZ-3 na faixa de 1,60 a 4,66 mg.L⁻¹, (B) MBC na faixa de 1,35 a 4,93 mg.L⁻¹ e (C) OMC na faixa de 3,02 a 7,00 mg.L⁻¹. Eletrólito 4,0 mL de TBR 0,04 mol L⁻¹ (pH = 4,0), 1,0 mL de MeOH e 5,50 x 10⁻⁴ mol L⁻¹ de CTAB. ET: eletrodo de Au modificado com filme de Hg; ER: Ag/AgCl_(sat); EA: platina. Condições de análise para BZ-3, MBC e OMC respectivamente: frequência: 145, 105 e 125 Hz, amplitude: 70, 100 e 30 mV e degrau de potencial: 7, 6 e 7 mV.



Fonte: Elaborada pela própria autora.

Observa-se que os coeficientes de correlação (R^2) foram próximos de 1, indicando um ajuste adequado dos dados à curva. Foi realizada a análise de variância ANOVA para a avaliação da linearidade do modelo para todas as curvas, com o propósito de verificar se há falta de ajuste. Os valores de $F_{\text{calculado}}$ foram obtidos pela equação 2. Os valores de média quadrática de falta de ajuste (MQ_{faj}) e média quadrática de erro puro (MQ_{ep}), foram determinados para os três filtros UV. Os valores de $F_{\text{calculado}}$ estão apresentados na Tabela 13, observa-se que todos os valores de

$F_{\text{calculado}}$ são menores que o valor de $F_{\text{crítico}} = 4,83$, a um nível de 95 % de confiança nos graus de liberdade avaliados, item 3.7., indicando que não há falta de ajusto no modelo.

Tabela 13: Valores de $F_{\text{calculado}}$ para as curvas analíticas dos três filtros químicos.

<i>Analito</i>	$F_{\text{calculado}}$
BZ-3	0,33
MBC	0,022
OMC	0,22
$F_{\text{crítico}}$	4,83

Fonte: Elaborada pela própria autora.

Com os dados obtidos a partir da regressão, calcularam-se os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) instrumental e do método, conforme descrito no item 3.7. Estes estão descritos na Tabela 14.

Vale destacar, que os valores apresentados para os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) do método levaram em conta os fatores de diluição bem como a massa de amostra (0,5 g), sendo, portanto, baseados no preparo de amostra.

Tabela 14: Limites de detecção e quantificação para os filtros UV.

<i>Analito</i>	<i>LQ</i>		<i>LD</i>	
	<i>Instrumental</i> $mg.L^{-1}$	<i>Método</i> $mg.g^{-1}$	<i>Instrumental</i> $mg.L^{-1}$	<i>Método</i> $mg.g^{-1}$
BZ-3	1,56	0,078	0,47	0,023
MBC	2,58	0,13	0,77	0,039
OMC	2,59	0,13	0,78	0,039

LD = limite de detecção, LQ = limite de quantificação

Fonte: Elaborada pela própria autora.

5.8. AMOSTRAS

5.8.1. PREPARO DE AMOSTRA

A RDC nº 47 classifica os protetores solares como cosméticos, como já mencionado, entretanto o filtro solar deve ser usado de forma correta por diversos fatores. Fatores estes relacionados ao paciente e àqueles associados à sua formulação (CABRAL *et al.*, 2011). O uso de cosméticos podem causar reações não desejáveis como: reações irritativas imediatas ou acumulativas, reações alérgicas, reações sistêmicas por inalação, ação carcinogênica (CHORILLI *et al.*, 2007). A mesma resolução, de março de 2006, também relata os filtros permitidos no Brasil e suas quantidades máximas autorizadas pela ANVISA (CABRAL *et al.*, 2011).

A Tabela 1 apresenta a concentração máxima permitida para três filtros BZ-3 (10% m/m), MBC (4% m/m) e OMC (10% m/m) (ANVISA, 2006). Desta forma, a determinação da concentração desses filtros UV em amostras de cosméticos se faz necessária.

Inicialmente o método de preparo de amostra proposto consistia em pesar, aproximadamente, 0,500 g de protetor solar, sendo esta quantidade dissolvida em 7,5 mL de metanol. Em seguida, o sistema era misturado em vórtex durante 15 minutos e centrifugado a 1000 rpm durante 10 minutos. Por fim, o sobrenadante era transferido para um balão volumétrico de 25,0 mL e o volume completado com MeOH. Para esta proposta de preparo de amostra observou-se que o sobrenadante, mesmo depois de centrifugado, apresentava uma turbidez elevada. Mesmo assim, realizou-se um estudo de fortificação para validar o método colocado. Contudo, foram encontrados valores de porcentagem de recuperação em torno de 30%, indicando que há interação dos analitos de interesse com a amostra

Um novo tratamento de amostra foi realizado, conforme apresentado em 3.8.2. Novas etapas de extração foram adicionadas e o procedimento foi repetido três vezes a fim de aumentar a porcentagem de filtros UV BZ-3, OMC e MBC na fase extratora. O uso de ultrassom foi reportado por CARDOSO *et al.*, 2008, sendo este utilizado para melhor solubilização do sólido (amostra) em metanol. O tempo de mistura

em vórtex passou de 15 minutos para 5 minutos, entretanto na metodologia apresentada há repetição do procedimento, totalizando ao final de três repetições 15 minutos de homogeneização em vórtex. A rotação por minuto na centrífuga passou de 1000 rpm para 1600 rpm, sendo a amostra submetida a centrífuga durante 20 minutos, 10 minutos a mais que no método inicialmente testado. Este aumento proporcionou menor turbidez no sobrenadante.

Para validar o novo método de tratamento de amostra estudos de recuperação, em triplicata, foram realizados. A Tabela 15 apresenta os valores médios de recuperação obtidos para cada um dos filtros químicos nas amostras fortificadas, bem como os desvios padrões relativos (DPR) percentuais.

Tabela 15: Valores de recuperação dos filtros UV.

Analito	Recuperação	DPR(%)
	Amostra fortificada	
BZ-3	97,6	2,3
OMC	83,3	7,2
MBC	98,1	3,8

Fonte: Elaborada pela própria autora.

Para confirmar que o método apresenta boa exatidão, são aceitas taxas de recuperação entre 80 a 115 % (MIRANDA *et al.*, 2015). Assim, a metodologia exibida apresenta boa exatidão, visto que as porcentagens médias de recuperação variaram de 83,3 a 98,1 %.

A precisão pode ser avaliada através do desvio padrão relativo (DPR). Os estudos de recuperação, apresentados na Tabela 15, podem ser utilizados para este fim. Os valores de DPR (n = 3) para as amostras fortificadas variaram de 2,3 a 7,2 %.

Segundo o Ministério da Agricultura, pode-se calcular o valor do DPR máximo permitido para o nível de concentração dos analitos estudados. Este cálculo é derivado da equação de Horwitz (BRASIL, 2014). Para qualquer método se utiliza a equação 5. A faixa de concentração avaliada (C) está na ordem de g/g.

$$\text{DPR} = 2^{(1-0,5\log(C))} \quad \text{Equação 5}$$

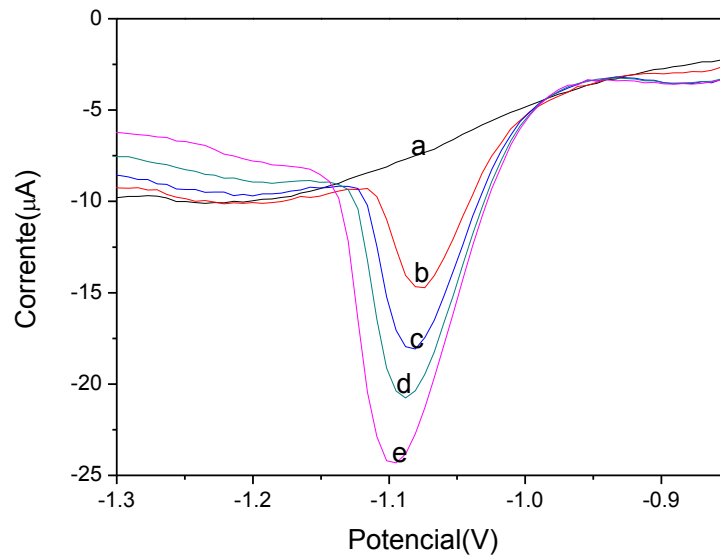
Para o nível de fortificação de cada um dos filtros orgânicos, o valor de DPR obtido a partir da equação de Horwitz para BZ-3 foi de 5 %, para OMC de 7% e para o MBC de 6 %. Portanto, os valores de desvio padrão relativo encontrados para os filtros químicos BZ-3, OMC e MBC estão de acordo com os critérios de aceitabilidade, confirmando a precisão do método desenvolvido.

5.8.2. AVALIAÇÃO DE BZ-3, OMC E MBC POR VOLTAMETRIA DE ONDA QUADRADA EM AMOSTRAS DE PROTETOR SOLAR

Depois de otimizar e validar o método de tratamento de amostras foi possível aplicar a metodologia desenvolvida em algumas amostras de filtro solar. Três filtros solares, de marcas diferentes e tipos distintos, foram analisados. A primeira amostra, aqui denominada PROT 1, Tabela 5, é um filtro solar facial, PROT 2 protetor solar corporal e PROT 3 fotoprotetor facial hipoalergênico. A aquisição das amostras está apresentada em 4.8.1.

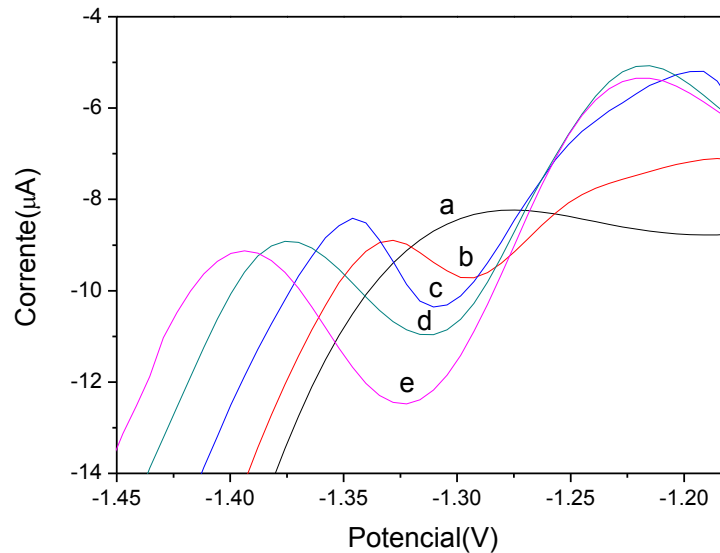
As amostras foram analisadas em triplicata, por adição de padrão. As Figuras 28, 29 e 30 apresentam os voltamogramas obtidos para uma réplica de cada amostra.

Figura 28: Voltamograma amostra PROT 1. Composição da célula eletroquímica: 4,0 mL de TBR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 4,0$), 1,0 mL de MeOH e $5,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de CTAB. Sendo (a) branco, (b) amostra PROT 1, (c) adição de $1,37 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ de BZ-3, (d) adição de $2,74 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ de BZ-3 e (e) adição de $4,09 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ de BZ-3. Análise por adição de padrão, voltametria de onda quadrada: frequência: 145 Hz, amplitude: 70 mV e degrau de potencial: 7 mV. Eletrodo de trabalho: eletrodo de ouro modificado com filme de mercúrio; eletrodo de referência: $\text{Ag/AgCl}_{(\text{Sat})}$; eletrodo auxiliar: platina.



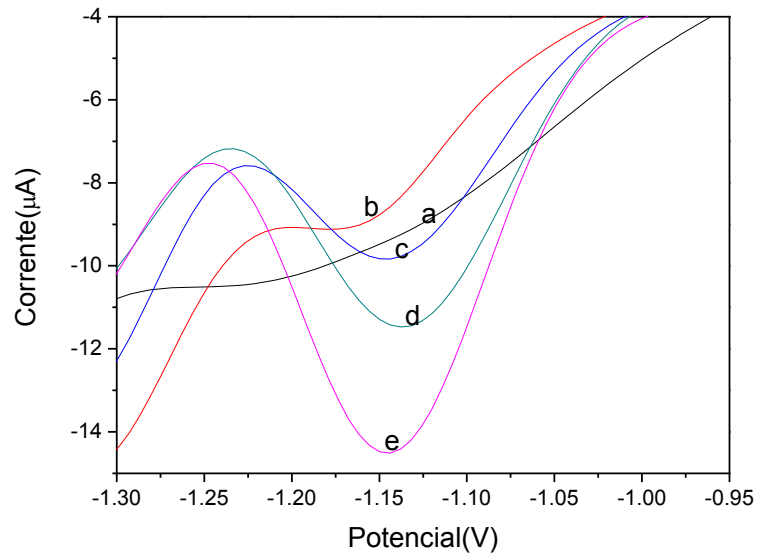
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 29: Voltamograma amostra PROT 2. Composição da célula eletroquímica: 4,0 mL de TBR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 4,0$), 1,0 mL de MeOH e $5,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de CTAB. Sendo (a) branco, (b) amostra PROT 2, (c) adição de $1,37 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ de OMC, (d) adição de $2,74 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ de OMC e (e) adição de $4,09 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ de OMC. Análise por adição de padrão, voltametria de onda quadrada: frequência: 125 Hz, amplitude: 30 mV e degrau de potencial: 7 mV. Eletrodo de trabalho: eletrodo de ouro modificado com filme de mercúrio; eletrodo de referência: $\text{Ag}/\text{AgCl}_{(\text{Sat})}$; eletrodo auxiliar: platina.



Fonte: Elaborada pela própria autora.

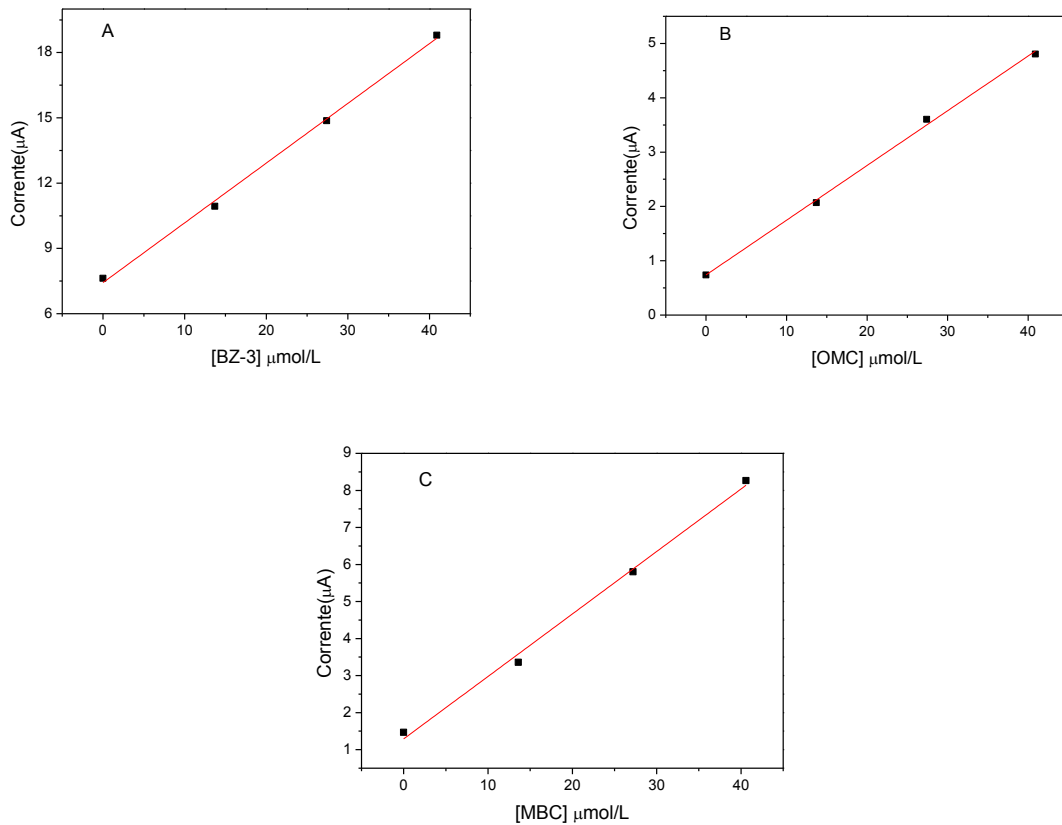
Figura 30: Voltamograma amostra PROT 3. Composição da célula eletroquímica: 4,0 mL de TBR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 4,0), 1,0 mL de MeOH e $5,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de CTAB. Sendo (a) branco, (b) amostra PROT 3, (c) adição de $1,36 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ de MBC, (d) adição de $2,72 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ de MBC e (e) adição de $4,06 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ de MBC. Análise por adição de padrão, voltametria de onda quadrada: frequência: 105 Hz, amplitude: 100 mV e degrau de potencial: 6 mV. Eletrodo de trabalho: eletrodo de ouro modificado com filme de mercúrio; eletrodo de referência: $\text{Ag}/\text{AgCl}_{(\text{Sat})}$; eletrodo auxiliar: platina.



Fonte: Elaborada pela própria autora.

A Figura 31 apresenta as curvas analíticas obtidas por adição de padrão para a determinação de BZ-3, OMC e MBC em amostras de filtros solar.

Figura 31: Curvas analíticas obtidas por adição de padrão, para uma réplica. Sendo (A) amostras PROT 1, determinação de BZ-3, (B) amostra PROT 2, determinação de OMC e (C) amostra PROT 3, determinação de MBC. Condições de análise idênticas em (A) Figura 29, (B) Figura 30 e (C) Figura 31.



Fonte: Elaborada pela própria autora.

A Tabela 16 retrata as equações de reta obtidas, bem como os coeficientes de correlação (R^2) e as concentrações encontradas (% m/m) dos analitos BZ-3, OMC e MBC nas amostras PROT 1, PROT 2 E PROT 3.

Tabela 16: Equação da reta, coeficiente de correlação (R^2) e concentração dos analitos na análise, por adição de padrão, de amostras de filtro solar.

<i>Amostra</i>	<i>Equação da reta</i>	R^2	$C_{analito}$ (%m/m) \pm s	$C_{analito}$ (mg.L ⁻¹)
PROT 1	$y = 0,27C_{analito} + 7,43 \times 10^{-6}$	0,997	3,49	728
PROT 2	$y = 0,10C_{analito} + 7,38 \times 10^{-7}$	0,997	0,99	208
PROT 3	$y = 0,17C_{analito} + 1,29 \times 10^{-6}$	0,994	0,56	113

y = corrente (μ A) e $C_{analito}$ = concentração do analito. Na amostra PROT 1 $C_{analito}$ = [BZ-3], na amostra PROT 2 $C_{analito}$ = [OMC] e na amostra PROT 3 $C_{analito}$ = [MBC].

Fonte: Elaborada pela própria autora.

O método aqui aplicado gerou resultados linearmente proporcionais à concentração do analito. Este fato pode ser comprovado pelo coeficiente de correlação do gráfico analítico, o qual deve ser próximo de 1, e pela inclinação da reta, que deve ser diferente de zero (MIRANDA *et al.*, 2015). Para as amostras PROT 1, PROT 2 e PROT 3, desvio padrão (s) entre 0,00 e 0,01, os valores de R^2 foram, respectivamente, 0,997, 0,997 e 0,994, valores próximos de 1. Além disso, os coeficientes angulares obtidos, Tabela 16, são diferentes de zero. Assim, metodologia analítica desenvolvida produziu resultados diretamente proporcionais à concentração dos filtros UV BZ-3, OMC e MBC.

Pode-se observar a partir da Tabela 16 que a concentração de BZ-3, OMC e MBC nas amostras analisadas, estão abaixo do permitido pela ANVISA (CABRAL *et al.*, 2011), prevenindo reações não desejáveis por uso de filtro solar. Além disso, análises deste tipo de amostra podem ser utilizadas para controle de qualidade, visto que não é informado pelo fabricante, vide rótulo, a concentração dos filtros químicos presentes nos cosméticos.

5.8.3. AVALIAÇÃO DE BZ-3, OMC E MBC POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA EM AMOSTRAS DE PROTETOR SOLAR

5.8.3.1. Otimização da condição de separação

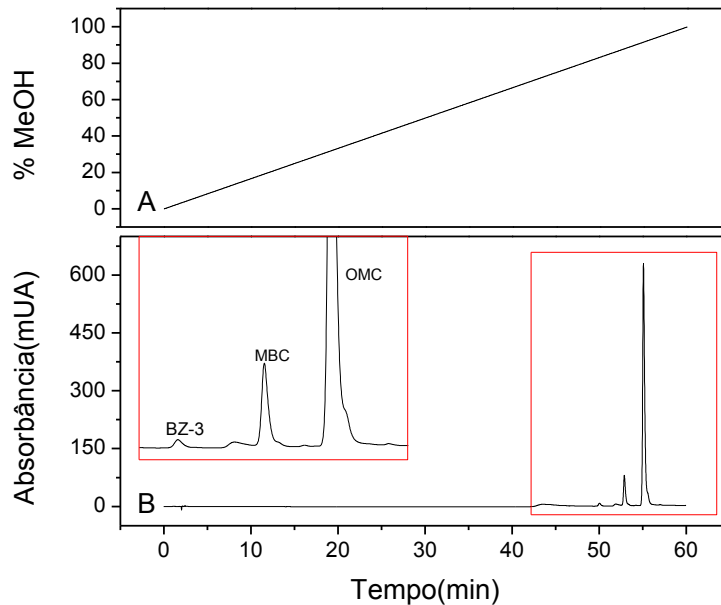
Há diferentes técnicas cromatográficas que podem ser utilizadas na determinação de filtros UV como cromatografia em camada fina, cromatografia a gás (CG), cromatografia líquida (CL) (SALVADOR & CHISVERT, 2005). Esta última é geralmente preferida para a quantificação de filtros químicos, já que estes são compostos de baixa volatilidade (SALVADOR & CHISVERT, 2005). A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) é um tipo de CL amplamente utilizada, sendo que na determinação de filtros UV o modo de eluição por gradiente é o mais aplicado. Kim *et al.*, 2011 quantificou nove filtros orgânicos por CLAE em modo de eluição por gradiente, utilizando como solventes acetonitrila e água (contendo 0,5 % de ácido acético). Chisvert *et al.*, 2013 determinou filtros UV, dentre eles BZ-3, OMC e MBC, em cosméticos por CLAE, modo de eluição por gradiente e fase móvel etanol e solução de ácido fórmico (1 %) contendo modificador químico.

Como relatado no item 4.8.2., para otimizar a condição de separação dos analitos BZ-3, OMC e MBC fez-se uso de um gradiente exploratório. A composição da fase móvel utilizada foi adaptada do trabalho de Salvador & Chisvert, 2005, sendo esta inicialmente composta por metanol (MeOH) e solução de ácido acético (HAc), pH = 4,0, fluxo de 1 mL.min⁻¹ e comprimento de onda 313 nm. O pH da solução (Sol.) de HAc foi estabelecido, preliminarmente como 4,0 visando um possível acoplamento *home made* entre CLAE detector UV-Vis e detector eletroquímico.

Devido à baixa quantidade de padrão dos filtros UV, para a execução dos testes iniciais fez-se uso de um *mix* (mistura) de amostras, sendo o tratamento de amostra aplicado conforme descrito em 4.8.1., onde os três filtros BZ-3, OMC e MBC constavam na composição. Portanto, variou-se linearmente a composição de MeOH na fase móvel de 0 a 100 % em 60 minutos. A análise do gradiente exploratório permitiu verificar que a partir de 85 % de MeOH se iniciava a separação dos com-

postos. A Figura 32 exibe o gradiente exploratório realizado, juntamente com o cromatograma do *mix* de amostra obtido nesta condição.

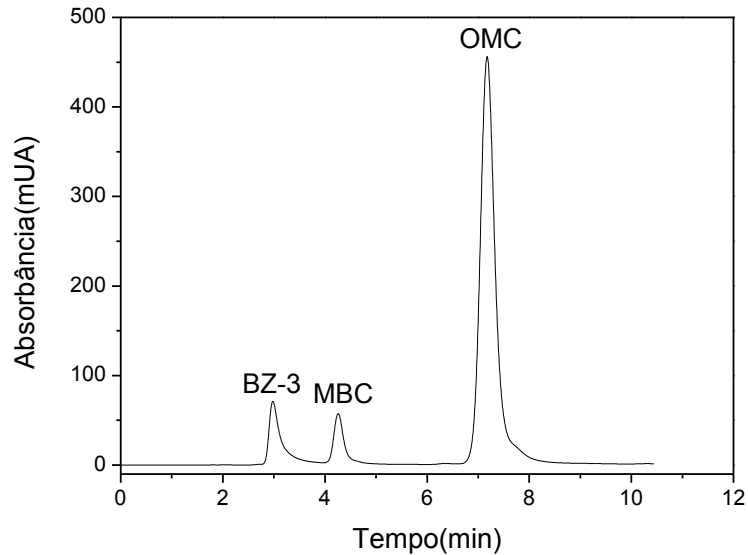
Figura 32: (A) Gradiente exploratório, variação linear de MeOH, (B) Cromatograma *mix* de amostra.



Fonte: Elaborada pela própria autora.

Como apresentado pela Figura 32, é possível realizar a análise destes filtros através do modo de eluição por gradiente, contudo em 85 % de MeOH os filtros químicos começam a eluir. Sendo assim, testou-se a proporção de fase móvel 85:15 de MeOH: Sol. HAc (pH = 4,0) no modo de eluição isocrático. O modo de eluição isocrático é preferido devido a sua simplicidade, conveniência, repetitividade das análises (COLLINS *et al.*, 2006). A Figura 33 apresenta o cromatograma obtido para o *mix* de amostra, naquela condição de análise, sendo possível perceber que o modo de eluição isocrático é eficiente na separação cromatográfica dos filtros BZ-3, MBC e OMC, sendo então o modo de eluição escolhido para a determinação de filtros orgânicos em cosméticos no presente estudo.

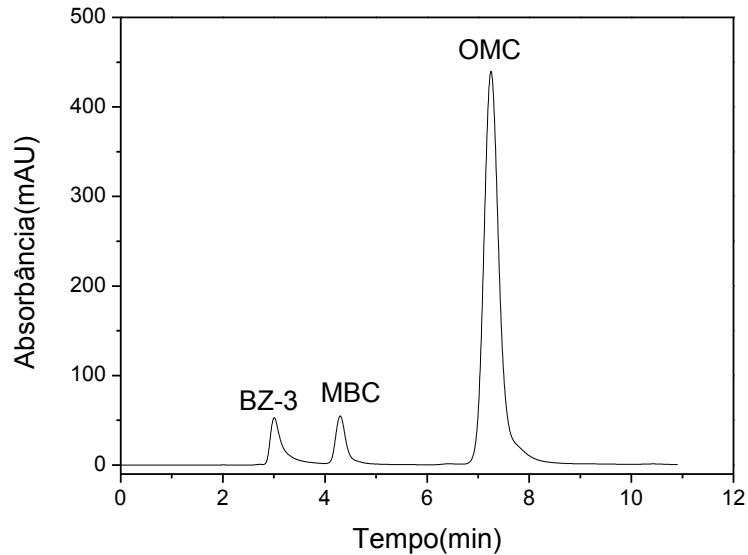
Figura 33: Cromatograma *mix* de amostra, modo de eluição isocrático. Fase móvel na proporção 85:15 de MeOH/Sol. HAc (pH = 4,0).



Fonte: Elaborada pela própria autora.

O ácido acético é um tipo de ácido com alta volatilidade, sendo difícil o seu manuseio durante as análises. Desta forma, optou-se por substituir o ácido acético por solução de ácido fosfórico (H_3PO_4) pH = 4,0. Portanto, realizou-se a injeção do *mix* de amostra nas condições citadas, substituindo a Sol. de HAc por Sol. de H_3PO_4 pH = 4,0 (85:15). A Figura 34 mostra que não há alteração na separação dos picos dos filtros UV quando se utiliza ácido fosfórico ao invés de ácido acético na fase móvel (FM).

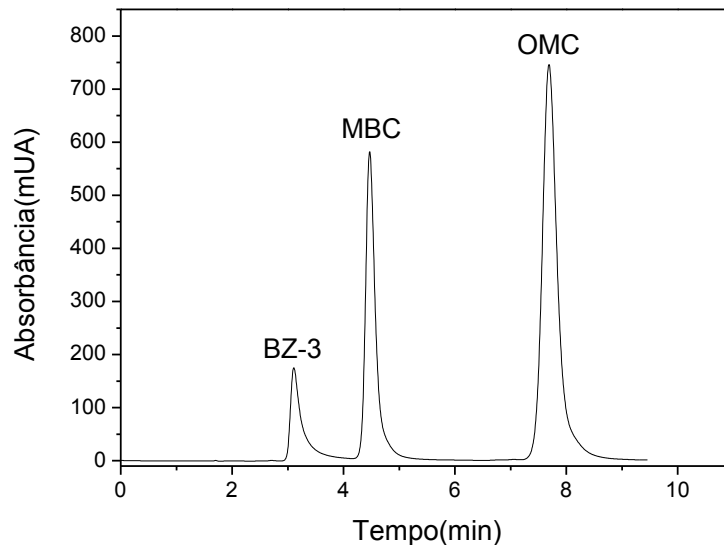
Figura 34: Cromatograma *mix* de amostra, modo de eluição isocrático. Fase móvel na proporção 85:15 de MeOH/Sol. H₃PO₄ (pH = 4,0).



Fonte: Elaborada pela própria autora.

Deste modo a condição de separação otimizada para a determinação de BZ-3, MBC e OMC em amostras de protetor solar por CLAE consiste em fase móvel composta por MeOH e solução de H₃PO₄ (pH = 4,0), na proporção 85:15, modo de eluição isocrático, fluxo de 1 mL.min⁻¹ e comprimento de onda igual a 313 nm. O cromatograma apresentado na Figura 35 foi obtido através da metodologia desenvolvida e aplicada a um padrão *mix* na concentração de 60 mg.L⁻¹, comprovando também a ordem de eluição dos picos.

Figura 35: Cromatograma padrão *mix* na concentração de 60 mg.L^{-1} , modo de eluição isocrático. Fase móvel: $\text{MeOH:H}_3\text{PO}_4$, 85:15.



Fonte: Elaborada pela própria autora.

5.8.3.2. Análise de amostras por CLAE

Visando a validação da metodologia desenvolvida foi realizada a avaliação de BZ-3, OMC e MBC por CLAE. O método de separação otimizado, item 4.8.3.1., foi utilizado nas análises, em triplicata, das amostras de filtro solar PROT 1, PROT 2 e PROT 3. A Tabela 17 apresenta os valores de concentração (% m/m) encontrados para cada analito, nos fotoprotetores analisados, sendo a variação do desvio padrão de 0,00 a 0,05. Para o cálculo da concentração dos analitos, padrões *mix* de concentração 20 a 100 mg.L^{-1} foram injetados para a construção da curva analítica.

As curvas analíticas obtidas se mostraram lineares ($y = 44,9 [\text{BZ-3}] - 88,2$, $R^2 = 0,998$; $y = 129,6 [\text{MBC}] - 249,1$, $R^2 = 0,998$ e $y = 259,7 [\text{OMC}] - 466,4$, $R^2 = 0,998$). Os limites de detecção e quantificação obtidos foram de, respectivamente, $3,78 \text{ mg.L}^{-1}$ e $12,6 \text{ mg.L}^{-1}$ para as determinações de BZ-3, $3,60 \text{ mg.L}^{-1}$ e $12,0 \text{ mg.L}^{-1}$ para

MBC e $4,06 \text{ mg.L}^{-1}$ e $13,5 \text{ mg.L}^{-1}$ sendo estes calculados à partir dos desvios padrões do intercepto das curvas analíticas e dos valores do coeficiente angular.

Tabela 17: Concentração dos analitos BZ-3, OMC e MBC por CLAE.

<i>Amostra</i>	$C_{\text{analito}} (\%m/m) \pm s$
PROT 1	3,54
PROT 2	1,02
PROT 3	0,56

Na amostra PROT 1 $C_{\text{analito}} = [\text{BZ-3}]$, na amostra PROT 2 $C_{\text{analito}} = [\text{OMC}]$ e na amostra PROT 3 $C_{\text{analito}} = [\text{MBC}]$.

Fonte: Elaborada pela própria autora.

5.8.4. AVALIAÇÃO DA EXATIDÃO DO MÉTODO POR COMPARAÇÃO ESTATÍSTICA COM CLAE

Os valores obtidos para BZ-3, OMC e MBC em amostras de cosméticos por voltametria de onda quadrada foram comparados com os valores obtidos por CLAE. A Tabela 18 apresenta os valores determinados para cada filtro analisado por ambas as técnicas, sendo que o desvio variou de 0,00 a 0,01 na análise por voltametria de onda quadrada e de 0,00 a 0,05 na análise por CLAE.

Tabela 18: Valores de concentração de BZ-3, MBC e OMC, juntamente com os desvios padrões, nas amostras analisadas por SWV e CLAE.

<i>Amostra</i>	<i>SWV</i>	<i>CLAE</i>
	$C_{\text{analito}} (\% m/m) \pm s$	$C_{\text{analito}} (\% m/m) \pm s$
PROT 1	3,49	3,54
PROT 2	0,99	1,02
PROT 3	0,56	0,56

Na amostra PROT 1 $C_{\text{analito}} = [\text{BZ-3}]$, na amostra PROT 2 $C_{\text{analito}} = [\text{OMC}]$ e na amostra PROT 3 $C_{\text{analito}} = [\text{MBC}]$.

Fonte: Elaborada pela própria autora.

As amostras analisadas foram selecionadas de forma aleatória, desta forma os testes estatísticos adotados levaram em consideração uma distribuição aleatória. Assim, testes t-student não pareados, com variância agrupada, foram realizados para verificar a exatidão da metodologia desenvolvida com a por CLAE.

Os testes t-student mostraram que os métodos não são significativamente diferentes com $\alpha = 0,05$, como podem ser observados para os valores de $t_{\text{calculado}}$, para BZ-3: $t_{\text{calculado}} = -0,78 < t_{\text{tabelado}} = 2,77$, para OMC: $t_{\text{calculado}} = -2,42 < t_{\text{tabelado}} = 2,77$ e para MBC: $t_{\text{calculado}} = -0,11 < t_{\text{tabelado}} = 2,77$.

A Tabela 19 apresenta os valores obtidos dos limites de detecção e quantificação obtidos por voltametria de onda quadrada e CLAE.

Tabela 19: Comparação dos valores de LD e LQ obtidos por SWV e CLAE.

	SWV			CLAE		
	BZ-3	MBC	OMC	BZ-3	MBC	OMC
LD (mg.L^{-1})	0,47	0,77	0,78	3,78	3,60	4,06
LQ (mg.L^{-1})	1,56	2,58	2,59	12,6	12,0	13,5

LD = Limite de detecção, LQ = limite de quantificação.

Fonte: Elaborada pela própria autora.

Pode-se observar pela Tabela 19, que a técnica eletroquímica voltametria de onda quadrada foi mais sensível que o método cromatográfico, visto que apresentou valores mais baixos de LD e LQ. Sendo assim, realizar a determinação de BZ-3, MBC e OMC por voltametria de onda quadrada é mais vantajoso, pois é um método de melhor sensibilidade, menor custo, fácil operação e manutenção quando comparado ao método desenvolvido por CLAE.

6. CONCLUSÕES

Mediante este trabalho foi possível desenvolver uma metodologia analítica para a determinação de BZ-3, MBC e OMC em amostras de protetor solar por voltametria de onda quadrada utilizando um eletrodo de ouro modificado com filme de mercúrio. O aumento da concentração de CTAB no eletrólito proporcionou mudanças significativas e desejáveis na análise dos filtros UV, aumentando a sensibilidade das medidas eletroquímicas.

Foi realizado a otimização do eletrodo de trabalho, visto que é um parâmetro essencial em determinações eletroquímicas já que a faixa de trabalho do mesmo é alterada com a decomposição do eletrólito suporte, natureza do solvente, entre outros fatores. Portanto, neste estudo utilizou-se um eletrodo metálico (eletrodo de ouro) com modificação *ex situ* de mercúrio para a quantificação de filtros químicos. O uso do ET modificado com filme de mercúrio ao invés de eletrodo de mercúrio, como reportado na maioria dos trabalhos da literatura envolvendo determinação eletroquímica de filtros orgânicos, é um grande atrativo, pois a quantidade de Hg utilizada é menor diminuindo o nível de toxicidade das análises.

A voltametria de onda quadrada é uma técnica mais sensível que a voltametria de pulso diferencial na determinação de BZ-3, OMC e MBC. Além disso, devido à otimização de parâmetros daquela técnica foi possível concluir sobre a reversibilidade dos sistemas de MBC e OMC, os quais apresentaram a quase reversibilidade. Contudo, o mesmo estudo para o filtro BZ-3 foi inconclusivo.

O estudo das condições químicas e eletroquímicas retratou uma boa relação com o sinal analítico. Entretanto, não foi possível realizar a determinação simultânea dos filtros químicos estudados.

O método desenvolvido se apresentou linear na faixa de 1,60 a 4,66 mg.L⁻¹ para BZ-3, de 1,35 a 4,93 mg.L⁻¹ para MBC e de 3,02 a 7,00 mg.L⁻¹ para OMC. Os limites de detecção e quantificação foram 0,47 e 1,56 mg.L⁻¹ para BZ-3, 0,77 e 2,58 mg.L⁻¹ para MBC e 0,78 e 2,59 mg.L⁻¹ para OMC. Os valores de recuperação obtidos variaram de 83,3 a 98,1 %.

Por meio dos resultados obtidos foi possível investigar se a concentração dos filtros UV BZ-3, MBC e OMC nas formulações dos filtros analisados estavam de acordo com RDC nº 47, de março de 2006. Os valores encontrados foram 3,49 % (m/m) para PROT 1 (concentração de BZ-3), 0,99 % (m/m) para PROT 2 (concentração de OMC) e 0,56 % (m/m) para PROT 3 (concentração de MBC). Portanto, todos os valores estão abaixo do permitido pela ANVISA. As amostras de protetor solar também foram analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), demonstrando uma boa correlação entre os resultados.

Vale ressaltar que o método de separação desenvolvido para medidas por CLAE é uma alternativa aos métodos reportados na literatura, visto que o modo de eluição aqui aplicado foi o modo de eluição isocrático diferente dos trabalhos publicados onde o modo de eluição para a determinação de filtros UV, em sua maioria, é o modo de eluição por gradiente.

Além disso, o trabalho possibilitou melhor compreensão do comportamento eletroquímico dos analitos BZ-3, MBC e OMC, fato pouco reportado na literatura. Sendo, portanto, um estudo promissor e um ponto de partida para estudos posteriores.

ATIVIDADES FUTURAS

- Concluir sobre a reversibilidade do sistema de benzofenona-3 (BZ-3) através de estudos realizados por voltametria cíclica.
- Propor mecanismos de reação de redução para os filtros UV benzofenona-3 (BZ-3), 4 metilbenzilideno cânfora (MBC) e 4 metoxicinamato-2-etilhexila (OMC), por meio de parâmetros da voltametria de onda quadrada.
- Aplicar o método desenvolvido neste trabalho para determinação de filtros químicos em outros tipos de cosméticos, como creme facial, base líquida, entre outros.
- Realizar o acoplamento *home made* CLAE detector UV-Vis com detecção eletroquímica para a determinação simultânea de BZ-3, OMC e MBC em amostras de filtro solar.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANVISA, Regulamento técnico Lista de Filtros Ultravioletas Permitidos para Produtos de Higiene Pessoais, Cosméticos e Perfumes, 2006.

ANVISA. Resolução- RDC nº 47, de 16 de março de 2006. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/14c345804aee4083b759bfa337abae9d/Resolu%C3%A7%C3%A3o+RDC+n%C2%BA+47,+de+16+de+mar%C3%A7o+de+2006.pdf?MOD=AJPERES>> Acessado em: 14.05.15.

BALMER, M.E.; BUSER, H.R.; MULLER, M.D.; POIGER, T.; Occurrence of some organic UV filters in wastewater, in surface waters, and in fish from Swiss lakes. **Environ Sci Technol**, v.39, p.953-62, 2005.

BALOGH, TATIANA SANTANA et al. Proteção à radiação ultravioleta: recursos disponíveis na atualidade em fotoproteção. **An. Bras. Dermatol**, n. 4, v. 86, p. 732-742, 2011.

BRASIL. *Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. Manual de validação, verificação/confirmação de desempenho, estimativa da incerteza de medição e controle de qualidade intralaboratorial*. Divisão de Ensaio Químico, Coordenação-Geral de Apoio Laboratorial DEQ/CGAL, novembro, 2014. Disponível em:

<<http://www.agricultura.gov.br/portal/page/portal/Internet-MAPA/pagina-inicial/laboratorios/publicacoes/manuais-e-guias>> Acesso em 04 de janeiro de 2017.

BRETT, A, BRETT, C. Electroquímica: princípios, métodos e aplicações. Coimbra: Livraria Almedina, p. 143, 152, 241, 345, 471. 1996.

CABRAL, L.D.S.; PEREIRA, S.O.; PARTATA, A.K. Filtros solares e fotoprotetores mais utilizados nas formulações no Brasil. **Revista Científica do ITPAC**, n. 3, v. 4, 2011.

CALAFAT, A.M.; WONG, L.Y.; YE, X.; REIDY, J.A.; NEEDHAM, L.L.; Concentrations of the sunscreen agent benzophenone-3 in residents of the United States: National Health and Nutrition Examination Survey 2003–2004. **Environ Health Perspect**, v. 116, p.893-7,2008.

CARDOSO, J, ARMONDES, B, ARAÚJO, T, RAPOSO Jr, J, POPPI, N, FERREIRA, V. Determination of 4-methylbenzilidene camphor in sunscreen by square wave voltammetry in media of cationic surfactant. **Microchemical Journal**, v. 85, p. 301–307, 2007.

CARDOSO, J.C.; ARMONDES, B.M.L.; JUNIOR, J.B.G.; FERREIRA, V.S. Simultaneous electrochemical determination of three sunscreens using cetyltrimethylammonium bromide. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v.63, p.34-40, 2008.

CERQUEIRA, M. Avaliação da concentração de metais pesados (Zn, Cd, Pb e Cu) em água de chuva visando sua aplicação como fonte alternativa de água potável na cidade de Juiz de Fora/MG. 2012. 122f. Dissertação de mestrado (Mestrado em Química)- Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2012.

CHISVERT, A, TARAZONA, I, SALVADOR, A. A reliable and environmentally-friendly liquid-chromatographic method for multi-class determination of fat-soluble UV filters in cosmetic products. **Analytica Chimica Acta**, v. 790, p. 61– 67, 2013.

CHIRVEST, A.; LEON-GONZALEZ, Z.; TARAZONA, I.; SALVADOR, A.; GIOKAS, D.; An overview of the analytical methods for the determination of organocultraviolet filters in biological fluids and tissues. **Analytica Chimica Acta**, v. 752, p.11-29, 2012.

CHRISTEN V; ZUCCHI S.; FENT, K.; Effects of the UV-filter 2-ethyl-hexyl-4-trimethoxycinnamate (EHMC) on expression of genes involved in hormonal pathways in fathead minnows (*Pimephales promelas*) and link to vitellogenin induction and histology. **Aquat Toxicol**, v. 102, issues 3-4, p. 167-176, 2011.

CHORILLI, M, SCARPA, M.V, LEONARDI, G.R, FRANCO, Y.O. Toxicologia dos Cosméticos. **Latin American Journal of Pharmacy**, n. 1, v. 26, p. 144-154, 2007.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Fundamentos de cromatografia**. Campinas, SP: Ed. Unicamp, 2006, 453 p.

CUDERMAN, P.; HEATH, E.; Determination of UV filters and antimicrobial agents in environmental water samples. **Anal Bioanal Chem**, v.387, p.1343-50, 2007.

DALTIN, D. Tensoativos: química, propriedades e aplicações. 1º reimpressão. Edgard Blucher Ltda, 2012.

DORNELLAS, R. M. Desenvolvimento de métodos eletroanalíticos para determinação de fungicidas da classe das estrobilurinas utilizando eletrodos de filme de bismuto e de diamante dopado com boro. 2014. 209 f. Tese (Doutorado em Química) – Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2014.

KIM, S.; CHOI, K. Occurrences, toxicities, and ecological risks of benzophenone-3, a common component of organic sunscreen products: A mini-review. **Environment International**, v.70, p.143-157, 2014.

KIM, K, MUELLER, J, PARK, Y, JUNG, H, KANG, S, YOON, M, LEE, J. Simultaneous Determination of Nine UV Filters and Four Preservatives in Suncare Products by High-Performance Liquid Chromatography. **Journal of Chromatographic Science**, v. 49, p. 554-559, 2011.

FENT, K.; KUNZ, P.Y.; GOMEZ, E.; UV filters in the aquatic environment induce hormonal effects and affect fertility and reproduction in fish. **Chimia (Aarau)**,v.62, p.368-75,2008.

FLOR, J.; DAVOLOS, M.R. Protetores Solares. **Química nova**, n. 1, v. 30, p.153-158, 2007.

HENEWEER, M.; MUUSSE, M.; VAN DEN BERG, M.; Sanderson JT. Additive estrogenic effects of mixtures of frequently used UV filters on pS2-gene transcription in MCF-7 cells. **Toxicol Appl Pharmacol**, v.208, p.170-7, 2005.

JANJUA, N.R.; MOGENSEN, B.; ANDERSSON, A.M.; PETERSEN, J.H.; HENRIKSEN, M., SKAKKEBAEK, N.E.; WULF, H.C.; Systemic absorption of the sunscreens benzophenone-3, octyl-methoxycinnamate, and 3-(4-methyl-benzylidene) camphor after whole-body topical application and reproductive hormone levels in humans. **J Invest Dermatol**, v. 123, n.1, p.57-61, 2004.

JEON, H.K.; CHUNG, Y.; RYU, J.C.; Simultaneous determination of benzophenone-type UV filters in water and soil by gas chromatography–mass spectrometry. **J Chromatogr A**, v.1131, p.192-202, 2006.

KIM, K.; MUELLER, J.; PARKER, Y.; JUNG, H.; YOON, M.; LEE, J. Simultaneous Determination of Nine UV Filters and Four Preservatives in Suncare Products by High-Performance Liquid Chromatography. **Journal of Chromatographic Science**, Vol. 49, p. 554-559, 2011.

LOURENÇÃO, B. C. Determinação voltamétrica simultânea de paracetamol e cafeína e de ácido ascórbico e cafeína em formulações farmacêuticas empregando um eletrodo de diamante dopado com boro. 2009. 140 f. Dissertação de mestrado (Mestrado em Química) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

MANIASSO, N. ambientes micelares em química analítica. **Química nova**, v. 24, n. 1, p. 87-93, 2001.

MICHIELLI, R.F; ELVING, P.J. Electrochemical Reduction of Benzophenone in Aprotic Medium. Effect of Proton Availability. **Journal of the American Chemical Society**, v. 10, p. 1989-1995, 1968.

MILESI, S.S.; GUTERRES, S.S. Fatores determinantes da eficácia de fotoprotetores. **Caderno de Farmácia**, v. 18, n. 2, p. 81-87, 2002.

MIRANDA, L, FELSNER, M.L, TORRES, Y.R, HOSS, I, GALLI, A, QUINÁIA, S.P. Validação intralaboratorial da determinação de metiltestosterona em águas naturais por voltametria usando eletrodo de gota pendente de mercúrio. **Química Nova**, n. 3, v. 38, p. 419-426, 2015.

OLIVEIRA, M.F, SACZK A.A, OKUMURA, L.L, FERNANDES, A.P, MORAES, M, STRADIOTTO, N.R. Simultaneous determination of zinc, copper, lead, and cadmium in fuel ethanol by anodic stripping voltammetry using a glassy carbon–mercury-film electrode. **Anal Bioanal Chem**, v. 380, p. 135-140, 2004.

PACHECO, W.F.; SEMAAN, F.S.; ALMEIDA, V.G.K.; RITTA, A.G.S.L.; AUCELIO, R.Q.; Voltametrias: Uma Breve Revisão Sobre os Conceitos. **Rev. Virtual Quim.**, n.5, v.5, p.516-537, 2013.

PAESE, K. Desenvolvimento tecnológico, estudo da fotoestabilidade e avaliação da permeação cutânea *in vitro* da benzofenona-3 a partir de nanocápsulas poliméricas incorporadas em diferentes veículos semi-sólidos. 2008. 213 f. Dissertação de mestrado (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)- Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

PIMENTEL, M.; NETO, B.B. Calibração: uma revisão para químicos analíticos. **Química Nova**, v. 19, p. 268-277, 1996.

RIBEIRO, F.A.L, FERREIRA, M.M.C. Planilha de validação: uma nova ferramenta para estimar figuras de mérito na validação de métodos analíticos univariados. **Química nova**, n. 1, v. 31, p. 164-171, 2008.

RIBEIRO, R. Desenvolvimento e validação da metodologia de análise do teor de filtros solares e determinação do FPS *in vitro* em formulações fotoprotetoras comerciais. 2004. 104 f. Dissertação de mestrado (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)- Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2004.

ROGGIA, I, FERRONY, D, ALVES, M.P, LAPORTA, L.V, FRIEDRICH, M, SANTOS, M.R, RUBIM, A, PEIXOTO, S.C, PAESE, K. Validação de metodologia analítica para a determinação de benzofenona-3 nanoencapsulada incorporada em creme gel e estudo da estabilidade físico química. **Rev Ciênc Farm Básica Apl**, n. 2, v. 35, p. 223-232, 2014.

SALVADOR, A.; CHISVERT, A. Sunscreen analysis A critical survey on UV filters determination. **Analytica Chimica Acta**, v. 537, p. 1–14, 2005.

SALVADOR, A.; CHISVERT, A. An environmentally friendly (“green”) reversed-phase liquid chromatography method for UV filters determination in cosmetics. **Analytica Chimica Acta**, v. 537, p. 15–24, 2005.

SANTOS, M. Polarografia e métodos polarográficos. **Química**, v. 55, p. 66-69, 1994.

SARVEIYA, V, RISK, S, BENSON, H. Liquid chromatographic assay for common sunscreen agents: application to *in vivo* assessment of skin penetration and systemic absorption in human volunteers. **Journal of Chromatography**, v. 803, p. 225-231, 2004.

SEIDLOVA-WUTTKE, D.; CHRISTOFFEL, J.; RIMOLDI, G.; JARRY, H; WUTTKE, W.; Comparison of effects of estradiol with those of octylmethoxycinnamate and 4-methylbenzylidene camphor on fat tissue, lipids and pituitary hormones. **Toxicol Appl Pharmacol**. 2005 Dec 17.

SILVA, A, TRINDADE, M, FERREIRA, V. Polarographic determination of sunscreen agents in cosmetic products in micellar media. **Talanta**, v.68, p. 679–685, 2006.

SILVA, C.P.; EMIDIO, E.S.; MARCHI, M.R.; UV filters in water samples: experimental design on the SPE optimization followed by GC–MS/MS analysis. **J Braz Chem Soc**, v.24, p.1433-41, 2013.

SILVA, D, MELO L.C, CORREIA, A.N, LIMA-NETO, P. Utilização de eletrodos sólidos de amálgama para a determinação analítica de compostos orgânicos e inorgânicos. **Química Nova**, n. 3, v. 34, p. 487-496, 2011.

SILVA, P.S. Desenvolvimento de eletrodos quimicamente modificados com silsesquioxano para detecção seletiva de isômeros de compostos fenólicos. 2014. 133 f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.

SKOOG, A.D; WEST, D.M; HOLLER, F.J; CROUCH, R.S. Fundamentos de Química Analítica. 8 ed. Thomson, 2008.

SOUZA, R. Metodologia para Determinação de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos em Sedimentos e Solos Periféricos à Represa São Pedro – Juiz de Fora, MG. 2008. 89 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2008.

SOUZA, D de.; MACHADO, S.A.S.; AVACA, L.A. Voltametria de onda quadrada. primeira parte: aspectos teóricos. **Química Nova**, v. 26, n. 4, p. 81-89, 2003.

ZEZZA, T. Desenvolvimento de eletrodos modificados para determinação de cálcio e magnésio em biodiesel. 2011. 94 f. Dissertação de mestrado (Mestrado em Química)- Instituto de Química, UNESP, Araraquara, 2011.

WHARTON, M, GEARY, M, O'CONNOR, N e MURPHY, B. A rapid High Performance Liquid Chromatographic (HPLC) method for the simultaneous determination of seven UV filters found in sunscreen and cosmetics. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 33, pp. 164–170, 2011.