



GUSTAVO GIRALDI SHIMAMOTO

**POTENCIALIDADES DA FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X ALIADA À QUIMIOMETRIA NA
ANÁLISE DE COSMÉTICOS E ALIMENTOS**

CAMPINAS

2013



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE QUÍMICA**

GUSTAVO GIRALDI SHIMAMOTO

**POTENCIALIDADES DA FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X ALIADA À QUIMIOMETRIA NA
ANÁLISE DE COSMÉTICOS E ALIMENTOS**

ORIENTADORA: PROFA. DRA. MARIA IZABEL MARETTI SILVEIRA BUENO

COORIENTADORA: PROFA. DRA. ADRIANA VITORINO ROSSI

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO APRESENTADA
AO INSTITUTO DE QUÍMICA DA UNICAMP PARA
OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM QUÍMICA
NA ÁREA DE QUÍMICA ANALÍTICA.**

**ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA POR GUSTAVO
GIRALDI SHIMAMOTO, ORIENTADO PELA PROFA. DRA. MARIA IZABEL MARETTI SILVEIRA BUENO.**

Assinatura da Orientadora

CAMPINAS

2013

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR ANTONIO ANASTACIO - CRB8/7942 -
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE QUÍMICA DA UNICAMP**

Sh62p Shimamoto, Gustavo Giraldi (1987-).
Potencialidades da fluorescência de raios X aliada à
quimiometria na análise de cosméticos e alimentos/
Gustavo Giraldi Shimamoto – Campinas, SP: [s.n.], 2013.

Orientador: Maria Izabel Maretti Silveira Bueno.
Coorientador: Adriana Vitorino Rossi.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de
Campinas, Instituto de Química.

1. Fluorescência de raios X. 2. Quimiometria.
3. Cosméticos. 4. Alimentos. I. Bueno, Maria Izabel
Maretti Silveira. II. Rossi, Adriana Vitorino. III.
Universidade Estadual de Campinas. Instituto de
Química. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em inglês: Potentialities of X-ray fluorescence associated with chemometrics in cosmetics and foods analysis

Palavras-chave em inglês:

X-ray fluorescence
Chemometrics
Cosmetics
Foods

Área de concentração: Química Analítica

Titulação: Mestre em Química na área de Química Analítica

Banca examinadora:

Maria Izabel Maretti Silveira Bueno [Orientadora]
Fábio Luiz Melquiades
Solange Cadore

Data de defesa: 30/07/2013

Programa de Pós-Graduação: Química

“Aprender é a única coisa de que a mente nunca se cansa, nunca tem medo e nunca se arrepende.”

Leonardo da Vinci

AGRADECIMENTOS

A toda minha família, principalmente aos meus pais e meu irmão por acreditarem em meu potencial e por todo apoio.

À Profa. Dra. Maria Izabel Maretti Silveira Bueno (Bell), pela confiança, apoio, incentivo e por todo conhecimento compartilhado que contribuiu muito para meu amadurecimento acadêmico e profissional.

À Profa. Dra. Adriana Vitorino Rossi, por todo aprendizado inicial da área acadêmica e por todo apoio e orientação.

A todos os membros do Grupo de Espectroscopia de Raios X (GERX), pelas sugestões, críticas e apoio durante o desenvolvimento do trabalho, especialmente à Dra. Juliana Terra, pela contribuição e pelo esforço dedicado a este trabalho e a todo grupo de pesquisa.

Ao Prof. Dr. Matthieu Tubino e à Profa. Dra. Solange Cadore pelas valiosas sugestões e contribuições relacionadas ao trabalho. Ao Prof. Dr. Fábio Luiz Melquiades, membro externo da banca examinadora.

Aos membros da Diretoria, da Comissão de Pós-Graduação e do Departamento de Química Analítica do Instituto de Química da UNICAMP.

Aos queridos amigos que encontrei na Unicamp Acacia, Martha, Hipassia, Lucas, Rafael e Thais pelo apoio, amizade, convivência e momentos de descontração. Ao João, por todo incentivo, apoio e auxílio com a formatação das figuras relacionadas ao trabalho. Aos amigos Augusto, Julio, Luiz, Dudu, Dani e Victor que convivem comigo principalmente nos finais de semana.

Muito obrigado!

CURRÍCULO DO AUTOR

- **Graduação – Licenciatura em Química**

Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, Campinas-SP. *Conclusão:* 12/2011.

- **Graduação – Bacharelado em Química**

Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, Campinas-SP. *Conclusão:* 07/2011.

Atuação Profissional

- Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, Instituto de Química, Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear. Função: Químico. De 05/2012 a atual data.

Experiência Acadêmica

- Programa de Apoio Didático da UNICAMP: de 03/2011 a 07/2011.
- Iniciação Científica: “*Estudos da estabilidade de extratos de antocianinas de jussara em papéis e suas aplicações*”. Bolsista FAPESP de 2009 a 2011. Orientadora: Profa. Dra. Adriana Vitorino Rossi.

Prêmios e Títulos

- **2011** – Prêmio Lavoisier: Melhor Aluno da Modalidade Bacharelado em Química do 1º Semestre de 2011, Conselho Regional de Química - IV Regional (CRQ-IV).

Artigos completos publicados em periódicos

1. Favaro, M. M. A.; Castro, P. P.; **Shimamoto, G. G.**; Coelho, A. G.; Souza, P. T.; Salomão, A. A.; Rossi, A. V.; “*Photometric determination of total anthocyanins in fruits*”. Brazilian Journal of Analytical Chemistry, **2013**, 9, 393-397.
2. **Shimamoto, G. G.**; Terra, J.; Bueno, M. I. M. S.; “*Use of Portable X-ray Fluorescence to Discriminate Brands of Nail Polishes: a Potential Forensic Tool*”. Journal of the Brazilian Chemical Society, **2013**, 24, 731-735.
3. Favaro, M. M. A.; **Shimamoto, G. G.**; Bertran, C. A.; Rossi, A. V.; “*Fazer sorvete para aprender sobre abaixamento da temperatura de congelamento*”. Educació Química, **2012**, 12, 29-36.
4. **Shimamoto, G. G.**; Kazitoris, B.; Lima, L. F. R.; Abreu, N. D.; Salvador, V. T.; Bueno, M. I. M. S.; Castro, E. V. R.; Filho, E. A. S.; Romão, W.; “*Quantificação de antimônio em garrafas de politereftalato de etileno (PET) brasileiras por fluorescência de raios-X e avaliação quimiométrica para verificar a presença de PET reciclado através do teor de ferro*”. Química Nova, **2011**, 34, 1389-1393.

5. Rossi, A. V.; **Shimamoto, G. G.**; “*Antocianinas e gelo seco para visualizar equilíbrios ácido/base numa abordagem contextualizada*”. *Educación Química*, **2010**, 7, 31-36.

Capítulo de livro

1. “*Jogo pedagógico que explora a propriedade indicadora de pH de extratos de antocianinas de espécies brasileiras*”; Salomão, A. A.; Rossi, A. V.; Alves, A. S.; **Shimamoto, G. G.**; Favaro, M. M. A.; Coelho, T.B.; Organização Sociedade Brasileira de Química, *A Química Perto de Você: Experimentos de Baixo Custo para a Sala de Aula do Ensino Fundamental e Médio*, Cabeça de Papel Projetos e Design LTDA, São Paulo, 1ª Edição, 2010.

Trabalhos completos publicados em anais de congressos

1. Favaro, M. M. A.; **Shimamoto, G. G.**; Rossi, A. V.; Bertran, C. A.; “*Sorvete da Ciência: Experimentação contextualizada*”, VI Encontro Paulista de Pesquisa em Ensino de Química, 2011.
2. Rossi, A. V.; Favaro, M. M. A.; **Shimamoto, G. G.**; Salomão, A. A.; Coelho, T. B.; Alves, A. S.; “*Iniciação Científica Júnior: Experimentação e Pesquisa Integrando o Ensino Médio e a Universidade*”, XV Encontro Nacional de Ensino de Química, 2010.

Alguns trabalhos apresentados em eventos científicos

1. **Shimamoto, G. G.**; Terra, J.; Bueno, M. I. M. S.; “*X-ray Fluorescence and chemometrics - A Green and Fast Method to Investigate the Presence of Paraben and Propylene Glycol in Cosmetics*”, XIII Latin American Seminar of Analysis by X-ray Techniques, 2012.
2. Terra, J.; **Shimamoto, G. G.**; Bueno, M. I. M. S.; “*Classification of Nail Polish Brands by X-ray Fluorescence and Chemometrics: A Forensic Approach*”, XIII Latin American Seminar of Analysis by X-ray Techniques, 2012.
3. **Shimamoto, G. G.**; Terra, J.; Bueno, M. I. M. S.; “*Fluorescência de raios X aliada à quimiometria para a análise de sementes de plantas da família das leguminosas*”, 35ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2012.
4. Terra, J.; **Shimamoto, G. G.**; Forchetti, D. A. P.; Bueno, M. I. M. S.; “*Aliança entre quimiometria e fluorescência de raios X para averiguar a presença de resina em esmaltes de unha*”, III Workshop de Quimiometria, 2012.

Detalhes no Currículo Lattes:

<http://lattes.cnpq.br/2077276239751945>

RESUMO

“POTENCIALIDADES DA FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X ALIADA À QUIMIOMETRIA NA ANÁLISE DE COSMÉTICOS E ALIMENTOS”

Cosméticos e alimentos são produtos que recebem destaque, pois revelam importante influência na economia de muitos países, por apresentarem expressivo consumo. Nesse contexto, é necessário desenvolver metodologias cada vez mais rápidas e eficientes para analisá-los em termos de qualidade e autenticidade. O presente trabalho descreve métodos de análise com a técnica de fluorescência de raios X (XRF) associada à quimiometria para análise de creme hidratante, esmalte de unha, leite em pó e feijão. As análises foram realizadas diretamente nas amostras, dispensando a utilização de reagentes e sem geração de resíduos que necessitam de tratamento específico. A XRF permitiu quantificar, a partir do método dos parâmetros fundamentais, elementos metálicos e não metálicos nas amostras desses cosméticos e alimentos. Além disso, a associação desta técnica com a quimiometria também trouxe os seguintes resultados: **1)** identificação simultânea de parabenos e propilenoglicol em cremes hidratantes, a partir da análise de componentes principais (PCA) e dos métodos de mínimos quadrados parciais para análise discriminante (PLS-DA) e K-ésimo vizinho mais próximo (KNN), com classificação de amostras externas com 100% de acerto; **2)** detecção da resina toluenosulfonamida/formaldeído em esmaltes de unha a partir de PCA, PLS-DA e KNN com 100% de acerto na classificação de amostras externas; além disso, foi possível também evidenciar as principais diferenças entre as marcas brasileiras dos esmaltes, o que pode servir como ferramenta para as análises forenses; **3)** identificação e quantificação dos adulterantes soro e amido (na faixa de 0 a 30% m/m) em leite em pó, pelo método dos mínimos quadrados parciais (PLS) e **4)** reconhecimento de possíveis fatores intrínsecos para a germinação de grãos de feijão, associados principalmente com o teor de silício presente.

ABSTRACT

“POTENTIALITIES OF X-RAY FLUORESCENCE ASSOCIATED WITH CHEMOMETRICS IN COSMETICS AND FOODS ANALYSIS”

Cosmetics and food show expressive influence on the economy of several countries, due to their substantial consumption. In this context, it is necessary to develop methodologies increasingly faster and more efficient to analyze them in terms of quality and authenticity. This work describes analytical methods based on X-ray fluorescence (XRF) technique associated to chemometrics for analysis of moisturizer cream, nail polish, powder milk and crude bean seeds. X-ray radiation is applied directly on the samples, neither using reagents nor producing wastes, both sparing special final steps of residue treatment. Metallic and nonmetallic elements are quantified in these cosmetic and food samples using XRF fundamental parameters method. Furthermore, chemometrics applied to XRF spectra also resulted in: **1)** simultaneous identifications of parabens and propylene glycol in moisturizer creams through principal component analysis (PCA), partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) and K-nearest neighbor (KNN) methods, producing external sample classifications with accuracies of 100%; **2)** detection of resin toluene-sulfonamide/formaldehyde in nail polishes through PCA, PLS-DA and KNN, also with accuracies of 100%; in addition, it was possible to highlight the main differences among Brazilian brands of nail polish, serving as a tool for forensic analysis; **3)** identification and quantification of serum and starch as adulterants (in the range 0 to 30% w/w) in milk powder by partial least squares regression method (PLS) and **4)** pointing possible intrinsic factors affecting the germination of bean seeds, here associated with silicon content.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	xix
ÍNDICE DE TABELAS.....	xxi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xxiii
PREFÁCIO.....	1
Capítulo 1: INTRODUÇÃO.....	5
1.1. Fluorescência de Raios X.....	7
1.1.1. Fundamentos teóricos.....	7
1.1.2. Fluorescência de Raios X por Dispersão de Energia.....	9
1.1.2.1. Método dos Parâmetros Fundamentais.....	11
1.1.2.2. EDXRF associada à quimiometria.....	12
1.2. Quimiometria.....	12
1.2.1. Análise de Componentes Principais.....	13
1.2.2. Regressão por Mínimos Quadrados Parciais.....	15
1.2.3. Mínimos Quadrados Parciais para Análise Discriminante.....	16
1.2.4. Método do K-ésimo Vizinho mais Próximo.....	17
1.3. Cosméticos.....	19
1.3.1. Creme hidratante.....	19
1.3.2. Esmalte de unha.....	22
1.4. Alimentos.....	24
1.4.1. Leite em pó.....	25
1.4.2. Feijão.....	26
Capítulo 2: OBJETIVOS.....	27
Capítulo 3: PARTE EXPERIMENTAL.....	31
3.1. Amostras.....	33
3.1.1. Creme hidratante.....	33
3.1.2. Esmalte de unha.....	33
3.1.3. Leite em pó.....	33
3.1.4. Feijão.....	33
3.2. Obtenção dos espectros.....	33
3.2.1. Creme hidratante.....	35
3.2.2. Esmalte de unha.....	35
3.2.3. Leite em pó.....	36

3.2.4. Feijão.....	36
3.3. Tratamento quimiométrico dos dados.....	37
Capítulo 4: RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	39
4.1. Cosméticos.....	41
4.1.1. Creme hidratante.....	41
4.1.1.1. Quantificação de elementos em creme hidratante.....	41
4.1.1.2. Análise quimiométrica dos dados de creme hidratante.....	42
4.1.2. Esmalte de unha.....	48
4.1.2.1. Quantificação de elementos em esmalte de unha.....	48
4.1.2.2. Análise quimiométrica dos dados de esmalte de unha.....	50
4.2. Alimentos.....	58
4.2.1. Leite em pó.....	58
4.2.1.1. Quantificação de elementos em leite em pó.....	58
4.2.1.2. Análise quimiométrica dos dados de leite em pó.....	59
4.2.2. Feijão.....	64
4.2.2.1. Quantificação de elementos em feijão.....	64
4.2.2.2. Análise quimiométrica dos dados de feijão.....	66
Capítulo 5: CONCLUSÕES.....	71
5.1. Cosméticos.....	73
5.1.1. Creme hidratante.....	73
5.1.2. Esmalte de unha.....	73
5.2. Alimentos.....	74
5.2.1. Leite em pó.....	74
5.2.2. Feijão.....	74
Capítulo 6: TRATAMENTO DE RESÍDUOS.....	75
Capítulo 7: PERSPECTIVAS.....	79
Capítulo 8: REFERÊNCIAS.....	83

LISTA DE ABREVIATURAS

Abreviação	Descrição em Inglês	Descrição em Português
ATR-IR	<i>Attenuated Total Reflectance Infrared</i>	Infravermelho por Reflexão Total Atenuada
EDXRF	<i>Energy Dispersive X-Ray Fluorescence</i>	Fluorescência de Raios X por Dispersão de Energia
FP	<i>Fundamental Parameters</i>	Parâmetros Fundamentais
GC	<i>Gas Chromatography</i>	Cromatografia Gasosa
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
KNN	<i>K-Nearest Neighbor</i>	K-ésimo Vizinho mais Próximo
LV	<i>Latent Variables</i>	Variáveis Latentes
NIR	<i>Near-Infrared</i>	Infravermelho próximo
PABA	<i>Parabens</i>	Parabenos
PC	<i>Principal Component</i>	Componente Principal
PCs	<i>Principal Components</i>	Componentes Principais
PCA	<i>Principal Components Analysis</i>	Análise de componentes Principais
PG	<i>Propylene Glycol</i>	Propilenoglicol
PLS	<i>Partial Least Squares</i>	Mínimos Quadrados Parciais
PLS-DA	<i>Partial Least Square Discriminant Analysis</i>	Mínimos Quadrados Parciais para Análise Discriminante
RER	<i>Range Error Ratio</i>	Razão Faixa/Erro
RMSE	<i>Root Mean Square Error</i>	Raiz Quadrada do Erro Médio Quadrático
RMSEC	<i>Root Mean Square Error of Calibration</i>	Raiz Quadrada do Erro Médio Quadrático de Calibração
RMSECV	<i>Root Mean Square Error of Cross-Validation</i>	Raiz Quadrada do Erro Médio Quadrático de Validação Cruzada
RMSEP	<i>Root Mean Square Error of Prediction</i>	Raiz Quadrada do Erro Médio Quadrático de Previsão
TSFR	<i>Toluenesulfonamide/Formaldehyde Resin</i>	Resina Toluenosulfonamida/formaldeído
XRF	<i>X-Ray Fluorescence</i>	Fluorescência de Raios X

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Concentrações de amido e de soro consideradas para a construção dos modelos de calibração.....	36
Tabela 2. Ferramentas quimiométricas utilizadas para cada tipo de amostras.....	38
Tabela 3. Faixa de concentração dos elementos detectados nas amostras de creme hidratante a partir da XRF do método dos FP.....	41
Tabela 4. Atribuição das classes consideradas na construção dos modelos supervisionados PLS-DA e KNN (K = 3 vizinhos) para a detecção de PABA e PG.....	46
Tabela 5. Faixa de concentração dos elementos detectados nas amostras de esmalte de unha a partir da XRF e do método dos FP.....	49
Tabela 6. Faixa de concentração dos elementos detectados nas amostras de leite em pó e composto lácteo a partir da XRF e do método dos FP.....	58
Tabela 7. Erros absolutos na validação cruzada e na calibração das amostras de leites em pó que não continham adulterantes.....	61
Tabela 8. Valores de referências (V_r) e valores previstos (V_p) para a porcentagem de amido e soro nas amostras externas de leite em pó e módulo da diferença entre esses valores ($ V_r - V_p $).....	63
Tabela 9. Parâmetros dos modelos PLS construídos para a quantificação dos adulterantes amido e soro em leite em pó.....	64
Tabela 10. Faixa de concentração dos elementos detectados nas amostras de feijão a partir da XRF e do método dos FP.....	65

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Representação do efeito fotoelétrico. Adaptada de Jenkins (1999).....	7
Figura 2. Representação da emissão de raios X a partir de transições eletrônicas de elétrons externos para a vacância formada com o efeito fotoelétrico. Adaptada de Jenkins (1999).....	8
Figura 3. Representação dos espalhamentos Rayleigh e Compton. Adaptada de Jenkins (1999).....	9
Figura 4. Exemplo de um espectro de EDXRF de uma amostra de leite em pó, obtido nesta dissertação.....	10
Figura 5. Decomposição da matriz X de <i>m</i> amostras com <i>n</i> variáveis em um produto de outras duas matrizes, <i>scores T</i> (amostras) e <i>loadings P</i> (peso das variáveis), mais a matriz de resíduos E	14
Figura 6. Gráfico de um conjunto de dados bidimensionais e os eixos das PCs. Adaptada de FERREIRA <i>et al.</i> (1999).....	15
Figura 7. Representação do reconhecimento de padrão para as amostras X, Y e Z pelo método KNN. Adaptada de BEEBE <i>et al.</i> (1998).....	18
Figura 8. Estrutura do propano-1,2-diol (propilenoglicol, PG).....	20
Figura 9. Estrutura genérica e três exemplos de parabenos (PABA).....	21
Figura 10. Formação da resina toluenosulfonamida/formaldeído (TSFR), a partir dos compostos p-toluenosulfonamida e formaldeído.....	23
Figura 11. Esquema para montar as celas de XRF com filme de Mylar®.....	34
Figura 12. Espectros de XRF (a) canal Ti-U e (b) canal Na-Sc para as amostras de creme hidratante.....	41

Figura 13. Gráficos de (a) <i>scores</i> e (b) <i>loadings</i> para PC1 × PC2 dos espectros de XRF das amostras de creme hidratante, que distinguem as amostras com (■) e sem (□) PABA.....	43
Figura 14. Gráficos de (a) <i>scores</i> e (b) <i>loadings</i> para PC3 × PC4 dos espectros de XRF das amostras de creme hidratante, que distinguem as amostras com (●) e sem (○) PG.....	43
Figura 15. Gráficos de (a) <i>scores</i> e (b) <i>loadings</i> para PC1 × PC2 dos espectros de XRF das amostras de creme hidratante com (■) e sem (□) PABA e da outra amostra de creme sem (☆) e com (★) a adição de PABA.....	44
Figura 16. Gráficos de (a) <i>scores</i> e (b) <i>loadings</i> para PC3 × PC4 dos espectros de XRF das amostras de creme hidratante com (●) e sem (○) PG e da outra amostra de creme sem (☆) e com (★) a adição de PG.....	45
Figura 17. Valores previstos de calibração, de validação cruzada e das amostras externas para o modelo PLS-DA construído para o reconhecimento do padrão presença e ausência de PABA.....	46
Figura 18. Valores previstos de calibração, de validação cruzada e das amostras externas para o modelo PLS-DA construído para o reconhecimento do padrão presença e ausência de PG.....	47
Figura 19. Porcentagens da presença de PABA e PG nas amostras de creme hidratante analisadas.....	48
Figura 20. Espectros de XRF (a) canal Ti-U e (b) canal Na-Sc para as amostras de esmalte de unha.....	49
Figura 21. Gráficos de (a) <i>scores</i> e (b) <i>loadings</i> para PC1 × PC2 dos espectros de XRF das amostras de esmalte de unha, que distinguem as amostras vermelhas e marrons (▷) das demais.....	50

Figura 22. Gráficos de (a) <i>scores</i> e (b) <i>loadings</i> para PC1 × PC2 da região de 0 – 6 keV dos espectros de XRF das amostras de esmalte de unha, que distinguem as amostras com e sem TSFR.....	51
Figura 23. Exemplos de espectros de ATR-IR de amostras de esmalte de unha com (----) e sem (---) TSFR.....	53
Figura 24. Espectros de XRF do canal Na-Sc para as amostras de esmalte de unha, diferenciando as amostras com (----) e sem (---) TSFR.....	54
Figura 25. Valores previstos de calibração, de validação cruzada e das amostras externas para o modelo PLS-DA construído para o reconhecimento de presença e ausência de TSFR.....	55
Figura 26. Espectros de XRF das superfícies de papel recobertas com amostras de esmalte de unha.....	56
Figura 27. Gráfico de (a) <i>scores</i> e (b) <i>loadings</i> PC1 × PC2 dos espectros de XRF das amostras de superfícies de papel recobertas com os esmaltes de unha.....	57
Figura 28. Espectros de XRF (a) canal Ti-U e (b) canal Na-Sc para as amostras de leite em pó e composto lácteo.....	58
Figura 29. Gráfico de (a) <i>scores</i> e (b) <i>loadings</i> para PC1 × PC2 dos espectros de XRF das amostras de leite em pó e composto lácteo, onde D = desnatado, I = integral e L = composto lácteo.....	59
Figura 30. Gráfico de (a) <i>scores</i> e (b) <i>loadings</i> para PC1 × PC2 da região de espalhamento do Rh dos espectros de XRF das amostras de leite em pó e composto lácteo, onde D = desnatado, I = integral e L = composto lácteo.....	60
Figura 31. Gráfico de valores de referências × valores previstos para o modelo PLS que quantifica as adulterações de (a) amido e (b) soro nas amostras de leite em pó.....	62

Figura 32. Espectros de XRF (a) canal Ti-U e (b) canal Na-Sc para as amostras de feijão.....
.....65

Figura 33. Gráfico de (a) *scores* e (b) *loadings* para PC1 × PC2 dos espectros de XRF das amostras de feijão, onde **C** = carioca e **P** = preto..... 66

Figura 34. Gráfico de (a) *scores* e (b) *loadings* para PC1 × PC3 dos espectros de XRF das amostras de feijão, que revelam uma tendência agrupamento das amostras que geminaram (*****) e das que não germinaram (*****), onde **C** = carioca e **P** = preto.....67

Figura 35. Gráfico de linha de *loadings* de PC1 e PC3 dos espectros de XRF das amostras de feijão..... 68

PREFÁCIO

Fluorescência de Raios X (XRF) é uma técnica que vem sendo aplicada a diversos tipos de amostras relacionadas às áreas agroindustrial, geológica, ambiental, metalúrgica, alimentícia e cosmética (WEST *et al.*, 2012).

A associação dessa técnica com ferramentas quimiométricas relacionadas à análise exploratória e classificação pode fornecer informações relacionadas à presença de material reciclado em garrafas PET (SHIMAMOTO *et al.*, 2011), evidenciar diferenças e semelhanças em materiais escolares (DA-COL *et al.*, 2013), verificar a autenticidade de medicamentos (ORTIZ *et al.*, 2012) e agrupar diferentes tipos de solos (KANIU *et al.*, 2012a), por exemplo. Já sua associação com métodos quimiométricos de calibração pode gerar diversas aplicações como a quantificação simultânea de elementos metálicos e não metálicos em solo (KANIU *et al.*, 2012a; KANIU *et al.*, 2012b), em óleo lubrificante (ANGEYO *et al.*, 2012) e em fluidos biológicos como a urina, na qual também foram quantificados compostos orgânicos como ureia, glicose e creatinina (BORTOLETO *et al.*, 2011). Além da quantificação de elementos e compostos, também é possível aplicar XRF para a determinação de propriedades físicas e químicas, como o valor energético de alimentos (TERRA *et al.*, 2010), parâmetros de qualidade da cana de açúcar (MELQUIADES *et al.*, 2012) e o grau de doçura em açúcares (GORAIEB *et al.*, 2007).

Esse contexto amplo e diversificado das aplicações da XRF aliada à quimiometria motivou o desenvolvimento do trabalho descrito nesta dissertação, visando obter informações dos cosméticos: creme hidratante e esmalte de unha, e dos alimentos: leite em pó e feijão.

O texto da dissertação inicia-se com uma breve fundamentação teórica da XRF, incluindo a dispersão de energia, o método dos parâmetros fundamentais e o tratamento de dados por quimiometria. Há também uma breve introdução sobre os métodos quimiométricos utilizados no trabalho. No Capítulo 1, há ainda uma introdução específica para cada tipo de amostra estudada, iniciando-se pelos cosméticos creme hidratante e esmalte de unha, seguidos pelos alimentos leite em pó e feijão.

O Capítulo 2 apresenta os objetivos do trabalho.

O Capítulo 3 descreve a parte experimental, subdividida em quatro partes, relacionadas a cada tipo de amostra analisada.

O Capítulo 4, Resultados e Discussão, também foi subdividido de acordo com o tipo de amostras. Além disso, para cada cosmético e alimento, primeiramente apresentam-se os resultados e as discussões referentes à quantificação elementar, seguidos pelos obtidos pelos tratamentos quimiométricos utilizados.

O Capítulo 5 expõe as conclusões do trabalho, específicas para cada amostra. Seguem-se o Capítulo 6 que descreve o destino dos resíduos gerados durante a execução do trabalho e o Capítulo 7 que indica as perspectivas do trabalho.

Por fim, o Capítulo 8 lista as referências bibliográficas que fundamentaram este trabalho.

Para fins de organização do texto, as siglas em inglês serão mantidas, pois são termos muito utilizados e conhecidos da comunidade química.

CAPÍTULO 1:

INTRODUÇÃO

1.1. Fluorescência de Raios X

1.1.1. Fundamentos Teóricos

Fluorescência de raios X (XRF) é uma técnica espectroscópica de emissão atômica, fundamentada no efeito fotoelétrico (SKOOG *et al.*, 2002; JENKINS e DE VRIES, 1970; JENKINS, 1999). Ao expor os átomos de uma amostra à radiação eletromagnética de alta energia (E), como raios X, é possível que elétrons de camadas internas sejam ejetados, caso a energia que ligue esses elétrons nos átomos (E_0) seja menor que a energia da radiação. Nessa situação, o elétron ejetado é denominado fotoelétron e terá energia cinética igual à diferença entre essas energias ($E_c = E - E_0$), já o fenômeno é o efeito fotoelétrico, apresentado na Figura 1.

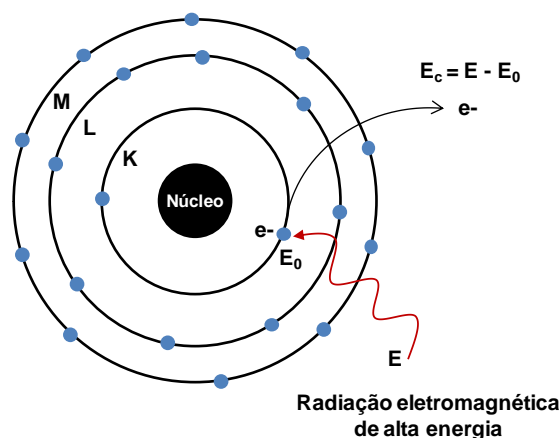


Figura 1. Representação do efeito fotoelétrico. Adaptada de Jenkins (1999).

Com a ocorrência do efeito fotoelétrico, há a formação de uma vacância na camada interna, o que torna o átomo instável. Para retornar ao seu estado fundamental, dois processos podem ocorrer: um radioativo e outro não radioativo (JENKINS, 1999).

O processo radioativo é designado fluorescência (de raios X) e ocorre devido às transições eletrônicas que podem ocorrer de elétrons externos para a vacância formada com o efeito fotoelétrico. Para que essas transições ocorram, é necessário que haja perda de energia, uma vez que os elétrons externos são mais energéticos (E_1 e E_2) que os elétrons internos (E_0). Essa perda de energia ocorre na forma de emissão de raios X, com energia

equivalente a diferença entre essas energias ($\Delta E = E_1 - E_0$ ou $\Delta E = E_2 - E_0$), conforme ilustrado na Figura 2.

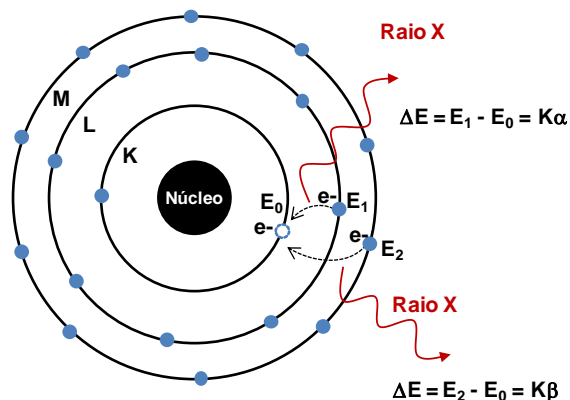


Figura 2. Representação da emissão de raios X a partir de transições eletrônicas de elétrons externos para a vacância formada com o efeito fotoelétrico. Adaptada de Jenkins (1999).

Na Figura 2, as transições exemplificadas ocorreram da camada L para a camada K ou da camada M para a K, originando emissões denominadas $K\alpha$ e $K\beta$, respectivamente. A nomenclatura das emissões depende das camadas envolvidas na transição. O nome é formado por duas letras: uma romana, seguida por uma grega. A letra romana (K, L, M) representa a camada final da transição, ou seja, a camada mais interna, na qual ocorreu o efeito fotoelétrico, já a letra grega (α , β , γ) indica a proximidade da camada de origem do elétron envolvido na transição, sendo α (alfa) representando a camada externa mais próxima e assim sucessivamente com β (beta) e γ (gama).

As emissões apresentam energias características para cada elemento, o que torna possível a identificação de elementos em uma amostra. Além disso, também são possíveis análises quantitativas, uma vez que a intensidade de emissão é proporcional à concentração do elemento na amostra (SKOOG *et al.*, 2002; JENKINS, 1999; JENKINS e DE VRIES, 1970).

O segundo processo que pode ocorrer, o não radioativo, para que o átomo retorne ao seu estado fundamental é o efeito Auger. Nesse processo, ao invés da emissão de radiação

ocorre a emissão de outro elétron para que o átomo perca energia: o elétron Auger (JENKINS, 1999).

Além do efeito fotoelétrico, a interação da radiação com a matéria também pode gerar outros fenômenos como o espalhamento. Todos os elementos são capazes de espalhar a radiação, mas a intensidade da ocorrência desse fenômeno depende do número atômico e da estrutura da amostra. Os dois principais espalhamentos são o efeito Rayleigh e o efeito Compton (JENKINS, 1999). O efeito Rayleigh é denominado espalhamento coerente, uma vez que não há perda de energia na interação da radiação com a matéria, por isto é considerado uma interação elástica. Já o efeito Compton é considerado uma interação inelástica e é designado espalhamento incoerente, pois ocorre perda de energia e, por consequência, aumento no comprimento de onda da radiação (JENKINS, 1999). Ambos os efeitos de espalhamento da radiação estão representados na Figura 3.

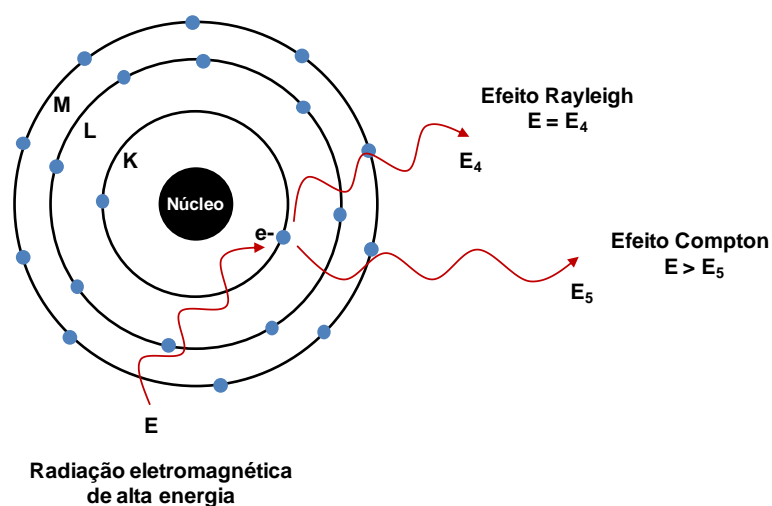


Figura 3. Representação dos espalhamentos Rayleigh e Compton. Adaptada de Jenkins (1999).

1.1.2. Fluorescência de raios X por Dispersão de Energia

A maioria dos equipamentos de fluorescência de raios X por dispersão de energia (EDXRF) apresenta duas unidades básicas: a fonte de excitação e o sistema de detecção. Como fonte, é comumente utilizado um tubo de raios X, mas alguns elementos naturalmente

radioativos também podem atuar nessa função. Já para a detecção o mais comum é a utilização de semicondutores, como Si(Li), acoplados a sistemas eletrônicos que atuam como agentes de dispersão (SKOOG *et al.*, 2002; JENKINS, 1999).

Um típico espectro obtido por EDXRF está ilustrado na Figura 4. Nele, podem ser observados picos característicos de alguns elementos, relacionados com o efeito fotoelétrico, além da região do espalhamento da radiação da fonte, neste caso um tubo de raios X com ânodo de Rh.

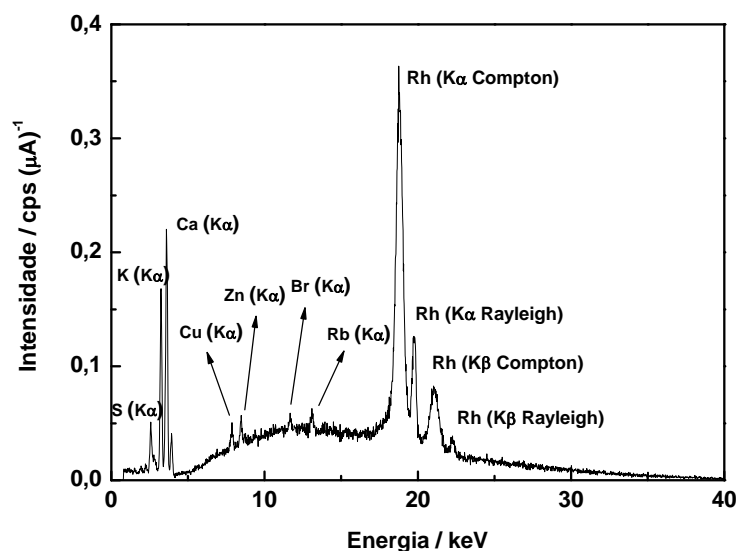


Figura 4. Exemplo de um espectro de EDXRF de uma amostra de leite em pó, obtido nesta dissertação.

Informações relacionadas à presença de elementos com número atômico maior que 11 podem ser facilmente obtidas por EDXRF. Essa é uma técnica multielementar, rápida, não destrutiva, com baixo custo operacional, muitas vezes sem consumo de reagentes e sem preparo de amostra (SKOOG *et al.*, 2002).

Esta técnica é utilizada principalmente para amostras sólidas, mas também permite a análise de líquidos. Ela apresenta uma alta velocidade analítica e suas aplicações vão desde amostras de interesse agroindustrial, geológico, ambiental, metalúrgico, até alimentos, cosméticos e polímeros (WEST *et al.*, 2012). Algumas aplicações foram previamente descritas no prefácio desta dissertação.

1.1.2.1. Método dos Parâmetros Fundamentais

Uma das formas de se extrair informações quantitativas dos espectros de XRF é através da aplicação do método dos parâmetros fundamentais, FP, (JENKINS e DE VRIES, 1970), que leva em consideração, além das emissões elementares características, a radiação espalhada de forma coerente e incoerente (SKOOG *et al.*, 2002; JENKINS e DE VRIES, 1970; JENKINS, 1999).

Esse método permite calcular a composição analítica de uma amostra, a partir da medida de intensidade da linha de emissão do analito e de valores tabelados de três FP: distribuição espectral primária (fonte), coeficiente de absorção (fotoelétrico e de massa) e rendimento de fluorescência. Ao analisar uma amostra de matriz conhecida, submetendo-a a parâmetros instrumentais definidos, o método permite obter uma curva de sensibilidade do equipamento para cada analito. Dessa forma, a curva de sensibilidade do equipamento correlaciona a intensidade fluorescente teórica e a obtida experimentalmente para cada elemento (WASTOWSKI *et al.*, 2010; BONA *et al.*, 2007).

Muitos espectrômetros de XRF apresentam em seus programas de operação equações necessárias para realizar os cálculos do método dos FP, o que permite a obtenção direta de resultados da composição de amostras. De forma simplificada, a concentração (C) de um elemento está relacionada com a intensidade fluorescente (I), a partir da sensibilidade elementar (S) e do fator de absorção (A), conforme apresenta a Equação 1 (SILVA *et al.*, 2004).

$$I = C \times S \times A \quad \text{Equação 1}$$

A sensibilidade elementar (S) é um parâmetro que se relaciona a fatores geométricos do equipamento, à eficiência do detector e a um conjunto de constantes físicas, como o rendimento de fluorescência e o coeficiente relacionado ao efeito fotoelétrico, dentre outras. Já o fator de absorção (A) relaciona-se com a capacidade do elemento em absorver certa radiação (SILVA *et al.*, 2004).

Em algumas aplicações, a utilização de padrões e curvas analíticas se torna inviável. Nesse contexto, a utilização do método de FP sem padrões para análise de rotina de

inúmeras amostras pode fornecer resultados quantitativos, com precisão e exatidão adequadas, de forma muito rápida (HAN *et al.*, 2006).

1.1.2.2. EDXRF associada à quimiometria

As linhas características para os elementos leves (número atômico < 11) não são visualizadas no espectro de EDXRF, pois tais elementos promovem essencialmente o espalhamento dos raios X. Apesar disso, esta região de espalhamento pode trazer diversas informações sobre a amostra em termos qualitativos e quantitativos, que só podem ser aproveitadas quando os dados são tratados com quimiometria (SHIMAMOTO *et al.*, 2011; ROMÃO *et al.*, 2010; TERRA *et al.*, 2010; TSUJI *et al.*, 2004).

Com a aplicação de quimiometria aos dados dos espectros de EDXRF é possível realizar uma avaliação multivariada. Além disso, como é fácil e rápido obter um espectro, o volume de dados obtidos pode se tornar elevado e aplicar quimiometria facilita a interpretação (SCHWAB *et al.*, 2012; SHIMAMOTO *et al.*, 2011). Alguns exemplos das diversas aplicações da união da XRF com a quimiometria foram descritos no prefácio desta dissertação. Uma breve revisão das ferramentas quimiométricas que foram utilizadas no trabalho, para a extração de informações de espectros de EDXRF, estão na seção “1.2. Quimiometria”.

1.2. Quimiometria

A análise multivariada de dados químicos, aplicada para avaliação e interpretação, é denominada “Quimiometria”, que está fundamentada pelas ciências Química, Matemática e Estatística. Pode-se considerar que tenha sido introduzida em 1972, a partir dos trabalhos do sueco Svante Wold e do americano Bruce R. Kowalski (SHARAF *et al.*, 1986; BEEBE *et al.*, 1998). Desde então, a Química Analítica, dentre outras áreas, vem utilizando as ferramentas quimiométricas para expandir a potencialidade das respostas e viabilizar interpretações mais abrangentes (FAVARO, 2012).

A quimiometria permite a análise de um grande número de variáveis de forma simultânea (BRUNS e FAIGLE, 1985). Com ela, é possível encontrar correlações entre as amostras, entre as variáveis e entre amostras e variáveis, extraíndo a maior quantidade de informação que possa ser útil. Nesse contexto, os procedimentos quimiométricos têm sido utilizados para diversas finalidades, como otimização de experimentos, análise exploratória, classificação, calibração, dentre outras (BEEBE *et al.*, 1998).

Para uma análise multivariada a partir das ferramentas quimiométricas, os dados devem ser inicialmente organizados e, se necessário, receber pré-tratamentos e/ou pré-processamentos. Um conjunto de dados bidimensionais geralmente é organizado na forma de uma matriz \mathbf{X} , com m linhas que representam as amostras e n colunas, representando as variáveis. No caso de espectros, as variáveis são os valores de comprimento de onda ou de energia, no caso de espectros de EDXRF.

Podem ser realizados alguns pré-tratamentos nas amostras (nas linhas) como o alisamento dos espectros ou a aplicação de funções derivadas, dentre outros. Já o pré-processamento aplica-se nas variáveis (nas colunas). Em espectros, geralmente há regiões mais importantes que outras pela presença de picos ou bandas, sendo um pré-processamento comum centrar os dados na média, como foi utilizado neste trabalho. Este procedimento implica na subtração do elemento de cada coluna pelo valor médio dos elementos dessa coluna, obtendo-se como resultado uma matriz na qual todas as colunas têm média zero (BEEBE *et al.*, 1998).

1.2.1. Análise de Componentes Principais

A análise de componentes principais (PCA) é uma ferramenta quimiométrica que permite extrair, do conjunto de dados, informações importantes para sua interpretação e entendimento. Baseia-se na redução da dimensão original dos dados para um menor conjunto de dimensões chamadas de componentes principais (PCs), o que facilita a visualização de informações importantes. A PCA é classificada como exploratória não supervisionada, uma vez que nenhuma informação com relação à identidade das amostras é

levada em consideração (DE SOUZA e POPPI, 2012; MATOS *et al.*, 2003; BEEBE *et al.*, 1998).

O procedimento de PCA decompõe a matriz original de dados \mathbf{X} em um produto de outras duas matrizes \mathbf{T} (*scores*) e \mathbf{P}^t (*loadings*)^{*} mais uma matriz de resíduos \mathbf{E} (Figura 5). Enquanto a matriz de *scores* traz informações relacionadas às amostras, a matriz de *loadings* apresenta informações das variáveis.

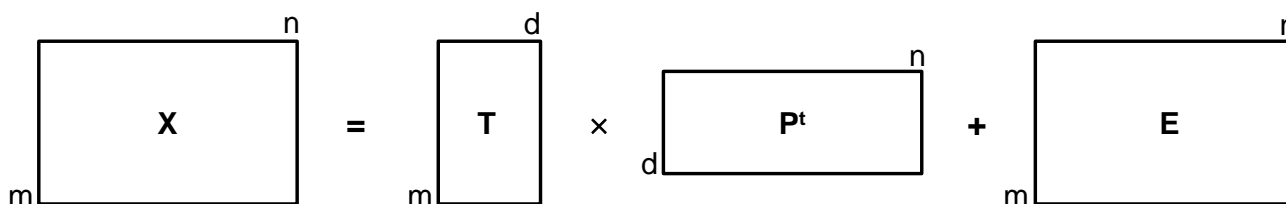


Figura 5. Decomposição da matriz \mathbf{X} de m amostras com n variáveis em um produto de outras duas matrizes, *scores* \mathbf{T} (amostras) e *loadings* \mathbf{P} (peso das variáveis), mais a matriz de resíduos \mathbf{E} .

Scores representam as coordenadas das amostras no novo sistema de eixos, formado pelas PCs. Cada componente principal (PC) é construída pela combinação linear das variáveis originais e os coeficientes da combinação são chamados *loadings*, que representam o quanto cada variável original contribui para a formação de uma PC específica. A primeira componente principal (PC1) é traçada na direção da maior variabilidade nos dados; a segunda (PC2) é traçada ortogonalmente à primeira, descrevendo a maior variação não contida na PC1 e assim sucessivamente, conforme ilustração da Figura 6. A análise dos *loadings* aponta quais variáveis são mais relevantes para os agrupamentos observados no gráfico de *scores*. Assim, avaliando-se simultaneamente os gráficos de *scores* e *loadings* constatam-se quais variáveis são responsáveis pelas diferenças entre as amostras (DE SOUZA e POPPI, 2012; BEEBE *et al.*, 1998.)

^{*}*Scores* e *loadings* são termos em inglês que correspondem a *escores* e *pesos*, respectivamente. Como são muito utilizados e conhecidos da comunidade química, optou-se por não traduzi-los neste trabalho.

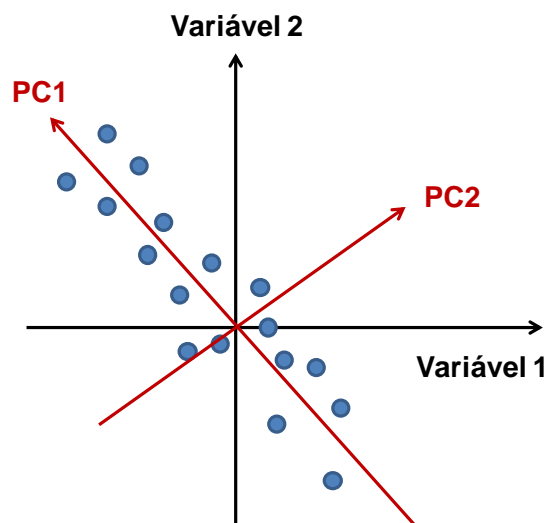


Figura 6. Gráfico de um conjunto de dados bidimensionais e os eixos das PCs. Adaptada de FERREIRA *et al.* (1999).

1.2.2. Regressão por Mínimos Quadrados Parciais

O método de regressão por mínimos quadrados parciais (PLS) é um procedimento de calibração multivariada que utiliza PCA para reduzir a dimensão do conjunto de dados. Posteriormente, é feita uma correlação entre esse conjunto de dados, tais como espectros na matriz \mathbf{X} , e as propriedades de interesse, organizadas em outra matriz, denominada \mathbf{Y} . As propriedades de interesse podem ser características físicas ou químicas como, por exemplo, a concentração de um analito (DE SOUZA *et al.*, 2013).

A matriz \mathbf{X} é decomposta por PCA como na Figura 5 (Equação 2) e a matriz \mathbf{Y} é decomposta de forma análoga de acordo com a Equação 3.

$$\mathbf{X} = \mathbf{T} \times \mathbf{P}^t + \mathbf{E} \quad \text{Equação 2}$$

$$\mathbf{Y} = \mathbf{U} \times \mathbf{Q}^t + \mathbf{F} \quad \text{Equação 3}$$

Onde:

Dados	Scores	Loadings	Resíduos
\mathbf{X}	\mathbf{T}	\mathbf{P}	\mathbf{E}
\mathbf{Y}	\mathbf{U}	\mathbf{Q}	\mathbf{F}

Os valores dos *scores* nas matrizes **T** e **U** são alterados até que o melhor modelo linear seja estabelecido entre eles e assim, a maior covariância entre **X** e **Y** seja obtida. Isso é realizado em várias etapas, que são repetidas para cada PC estimada a partir de um processo iterativo. Deste modo, há no PLS um compromisso entre a explicação da variância em **X** e a obtenção da maior correlação com **Y**. Como no cálculo das PCs, os valores da propriedade de interesse presentes em **Y** são levados em consideração (sendo, portanto um método supervisionado), as PCs passam a ser nomeadas de variáveis latentes, LV, (DE SOUZA *et al.*, 2013).

O número de LV a ser utilizado é comumente selecionado por validação cruzada com o procedimento *leave-one-out* (“um por vez”). Neste processo, uma amostra do conjunto de calibração é excluída, o modelo é estabelecido com as demais e é realizada a previsão da propriedade de interesse para esta amostra empregando um número crescente de LV. Este artifício é então repetido para todas as amostras e um erro é calculado para cada número de variável latente. O valor de variável latente a partir do qual não existe variação considerável no erro é utilizado para determinar o número de LV a ser utilizado no modelo. (DE SOUZA *et al.*, 2013; GELADI e KOWALSKI, 1986).

Definido o número de LV e obtido o modelo de regressão, este deve ser testado por validação externa, com amostras que não foram utilizadas na etapa de calibração. Estas amostras devem ter seus valores da propriedade de interesse previamente conhecidos, para verificar a capacidade de previsão do modelo (DE SOUZA *et al.*, 2013; FERREIRA *et al.*, 1999).

1.2.3. Mínimos Quadrados Parciais para Análise Discriminante

O método PLS não foi originalmente desenvolvido para atuar como uma ferramenta de discriminação estatística. Entretanto, muitos pesquisadores utilizam esse método para classificação e evidências empíricas sugerem que ele executa muito bem essa função (BARKER e RAYENS, 2003). Dessa forma, surgiu o método multivariado dos mínimos quadrados parciais para análise discriminante (PLS-DA), como uma adaptação de um método de regressão, com a finalidade de classificar.

O método PLS-DA é um procedimento supervisionado utilizado para classificação de amostras, com redução de variáveis. Ele é executado de forma análoga ao PLS, entretanto, a matriz Y em um modelo PLS-DA indica a classe a qual cada amostra pertence. Geralmente, quando o modelo apresenta apenas duas classes, define-se a variável dependente y , assumindo os valores 0 ou 1. Nessa condição, os valores previstos pelo modelo PLS-DA são idealmente 0 ou 1, mas na prática obtêm-se valores próximos a isto. Para classificar uma amostra, é definido um valor limite, entre 0 e 1, sendo que valores acima deste limite indicam que a amostra pertence a uma das classes modeladas e valores inferiores indicam que a amostra pertence à outra classe (BARKER e RAYENS, 2003).

1.2.4. Método do K-ésimo Vizinho mais Próximo

O método do K-ésimo vizinho mais próximo (KNN) é um procedimento que permite classificar amostras e reconhecer padrões de semelhança entre elas. Este é considerado um método supervisionado, já que considera informações relacionadas à identidade das amostras durante a construção do modelo.

Um conjunto de treinamento é utilizado para distribuir as amostras entre as classes, sendo cada amostra classificada na mesma categoria dos seus vizinhos mais próximos. Este é um método muito simples e que se baseia em um modelo de similaridades, no qual amostras do conjunto de treinamento mais similares à amostra em análise servem como padrão para a classificação. Para selecionar um número K ótimo de vizinhos, a classificação das amostras é repetida utilizando-se diferentes números de vizinhos mais próximos e avaliando-se os erros obtidos em função do valor de K . Então, opta-se por um valor de K que gere o menor erro de classificação (BEEBE *et al.*, 1998). A Figura 7 representa um exemplo de classificação utilizando KNN para três amostras desconhecidas (X, Y e Z) em um sistema com duas variáveis e quatro classes (A, B, C e D).

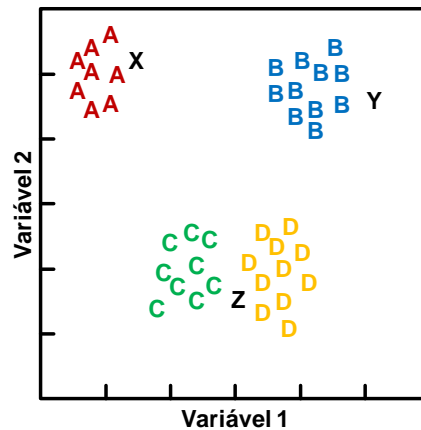


Figura 7. Representação do reconhecimento de padrão para as amostras X, Y e Z pelo método KNN. Adaptada de BEEBE *et al.* (1998).

A partir da distribuição das amostras exemplificada na Figura 7, o método KNN classifica a amostra X como pertencente à classe A, pois os 8 vizinhos mais próximos de X são da classe A. Analogamente, a amostra Y é classificada como integrante da classe B. Já a amostra Z está entre as classes C e D, e a classificação não é tão evidente. O primeiro vizinho mais próximo a Z é da classe D, entretanto o segundo é da classe C, já o terceiro é novamente pertencente à classe D. Nessa condição, a amostra é classificada na classe contendo a maioria dos vizinhos mais próximos. Nesse exemplo, um modelo utilizando-se três vizinhos mais próximos ($K = 3$) classifica a amostra Z como classe D (BEEBE *et al.*, 1998).

O modelo KNN não é capaz de sugerir que uma mesma amostra possa pertencer a duas classes, assim como também não é capaz de indicar que uma amostra não pertença a nenhuma das classes estabelecidas (BEEBE *et al.*, 1998; BRUNS e FAIGLE, 1985). Nesse contexto, essa metodologia torna-se adequada para classes com poucas amostras e/ou classes antagônicas, tais como: “sim” e “não”, “contém” e “não contém”, “regular” e “irregular”, “dentro das especificações” e “fora das especificações”.

Trabalhos da literatura que envolvem modelos KNN apresentam erros de classificação de até 30% e vem sendo aceitos para a validação de amostras externas (FAVARO, 2012).

Após a fundamentação teórica da XRF e da quimiometria, as próximas sessões da introdução trazem informações específicas para cada tipo de amostra estudada, iniciando-se pelos cosméticos, seguidos pelos alimentos.

1.3. Cosméticos

Conforme a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) 211 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), de 14 de julho de 2005, no Brasil:

“Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes são preparações constituídas por substâncias naturais ou sintéticas, de uso externo nas diversas partes do corpo humano, pele, sistema capilar, unhas, lábios, órgãos genitais externos, dentes e membranas mucosas da cavidade oral, com o objetivo exclusivo ou principal de limpá-los, perfumá-los, alterar sua aparência e ou corrigir odores corporais e ou protegê-los ou mantê-los em bom estado” (ANVISA, 2005).

A qualidade de um produto cosmético pode ser definida como o conjunto de propriedades e características que confere sua capacidade para atender as necessidades dos seus consumidores (CRF-GO, 2010). Para assegurar essa qualidade, as empresas cosméticas devem seguir regulamentações da ANVISA, de forma que a preocupação com a qualidade dos produtos deve estar presente desde o desenvolvimento dos mesmos, com a utilização de substâncias permitidas e em quantidades permitidas pela legislação vigente.

Neste contexto, o presente trabalho aplicou tratamento quimiométrico em dados de XRF para analisar dois cosméticos de expressivo consumo: creme hidratante e esmalte de unha. As análises visaram o desenvolvimento de metodologias que contribuíssem principalmente para com o controle da qualidade destes produtos, com algumas informações específicas apresentadas nas próximas sessões.

1.3.1. Creme hidratante

Os cremes hidratantes são muito utilizados como cosméticos, principalmente para o tratamento da pele seca, que sem esses cremes pode ter descamações, fissuras, tensão,

vermelhidão, promovendo, inclusive, sangramento (MILAN *et al.*, 2007). Paralelamente, cremes podem ser associados a princípios ativos específicos, com ação medicamentosa para prevenir, curar ou tratar patologias, principalmente dermatológicas.

Apesar dos diversos aspectos benéficos, cabe destacar que os cremes hidratantes podem conter em sua formulação substâncias que podem se tornar prejudiciais à saúde, dependendo da concentração, como, por exemplo: propilenoglicol e parabenos. Em contato com a pele, o primeiro composto pode causar irritações e alergias cutâneas (HORIGUCHI *et al.*, 2005; FUNK e MAIBACH, 1994; DE GALDEANO *et al.*, 1994) e o segundo pode até aumentar os riscos de doenças graves, como o câncer de mama (BARR *et al.*, 2012; FISHER, 1979).

O propano-1,2-diol (Figura 8), comumente conhecido por propilenoglicol (PG), é um composto muito utilizado em cosméticos, produtos de higiene pessoal, medicamentos e alimentos, por seu efeito conservante, antisséptico e principalmente hidratante (FUNK e MAIBACH, 1994).

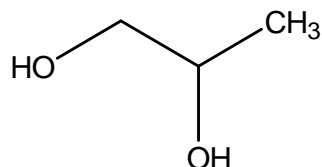


Figura 8. Estrutura do propano-1,2-diol (propilenoglicol, PG).

O PG interage com a água e age como um hidratante, prevenindo a pele seca, ou atuando como umectante, evitando assim o ressecamento de fórmulas cosméticas. Além disso, ele também apresenta efeito antimicrobiano, auxiliando na conservação e prolongamento do tempo de prateleira da mercadoria (WARSHAW *et al.*, 2009; HORIGUCHI *et al.*, 2005; FUNK e MAIBACH, 1994). Apesar dessas vantagens da utilização do PG em cosméticos, esse diálcool pode estar relacionado à hipersensibilidade de contato e dermatites alérgicas ou irritantes, problemas renais e hepáticos (WARSHAW *et al.*, 2009; HORIGUCHI *et al.*, 2005; FUNK e MAIBACH, 1994).

Os parabenos (PABA), Figura 9, são ésteres derivados do ácido para-hidroxibenzoico, muito usados como conservantes, pois são inodoros, incolores, insípidos, não são voláteis, nem higroscópicos (BLANCO *et al.*, 2009; GIL *et al.*, 2012).

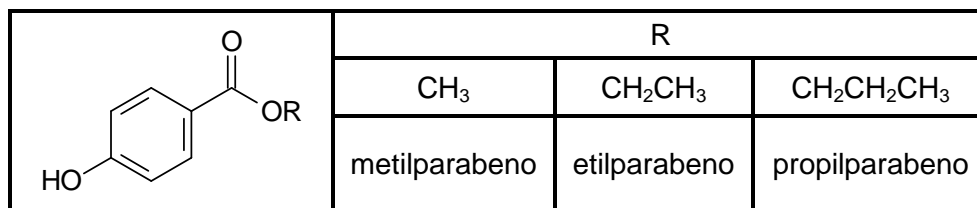


Figura 9. Estrutura genérica e três exemplos de parabenos (PABA).

Apesar dessas vantagens, os PABA apresentam propriedades estrogênicas, ou seja, comportam-se como o principal hormônio feminino e podem ligar-se aos seus receptores, o que pode causar desequilíbrios hormonais. Além disso, estudos relatam que cosméticos com esse conservante devem ser evitados na região da axila, pois ele pode estar associado ao aumento da incidência de câncer de mama (BARR *et al.*, 2012; DARBRE *et al.*, 2004).

PARK *et al.* (2012) constataram que os PABA podem também afetar o sistema reprodutivo masculino de camundongos, alterando a produção de espermatozoides e os níveis de testosterona. Outros estudos com ratos revelaram que a exposição de PABA em fêmeas grávidas pode afetar a aprendizagem e a parte emocional de sua prole, assim como o comportamento social da mãe e dos filhotes (KAWAGUCHI *et al.*, 2009; KAWAGUCHI *et al.*, 2010).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2001) expressa na Resolução RDC nº 162 a máxima concentração autorizada de PABA em cosméticos. Para um éster individual, esta concentração é de 0,4% (m/m expresso como ácido); já para misturas desses ésteres, é de 0,8% (m/m expresso como ácido).

Nesse contexto, torna-se relevante o desenvolvimento de metodologias que identifiquem a presença e quantifiquem PABA e PG nos cremes hidratantes de forma rápida, simples e segura, uma vez que os métodos descritos na literatura para essas finalidades envolvem as técnicas: cromatografia gasosa (GC) e cromatografia líquida de alta eficiência

(HPLC) (SHANMUGAM *et al.*, 2010; Zhou *et al.*, 2007; IVANOVIC *et al.*, 1995; GEAHCHAN *et al.*, 1979), que são laboriosas, além de utilizarem solventes e gerarem resíduos. Além disso, os métodos obtidos na literatura não identificam a presença de PABA e PG de forma simultânea.

1.3.2. Esmalte de unha

Esmaltes são produtos utilizados para proteger e embelezar as unhas, dando, em geral, brilho e coloração. Na sua maioria, os esmaltes são compostos por substâncias que formam uma película - chamada de base - (15%), resinas termoplásticas (7%), plastificantes (7%), solventes (70%), pigmentos (0-1%) e agentes de suspensão (1%) (FAVARO *et al.*, 2005; IORIZZO *et al.*, 2007).

A resina termoplástica permite adesão entre a superfície da unha e o esmalte, melhorando a dureza, brilho e viscosidade. Nos esmaltes brasileiros, a toluenosulfonamida/formaldeído (TSFR), cuja reação de formação está ilustrada na Figura 10, é bastante utilizada, principalmente pelo seu poder de evitar o desgaste dos esmaltes. Entretanto, diversos estudos revelaram que entre 1 a 3% da população é altamente sensível a este composto, o que pode acarretar sérios problemas dermatológicos (IORIZZO *et al.*, 2007; MOOSSAVI e SCHER, 2001; LIDÉN *et al.*, 1993).

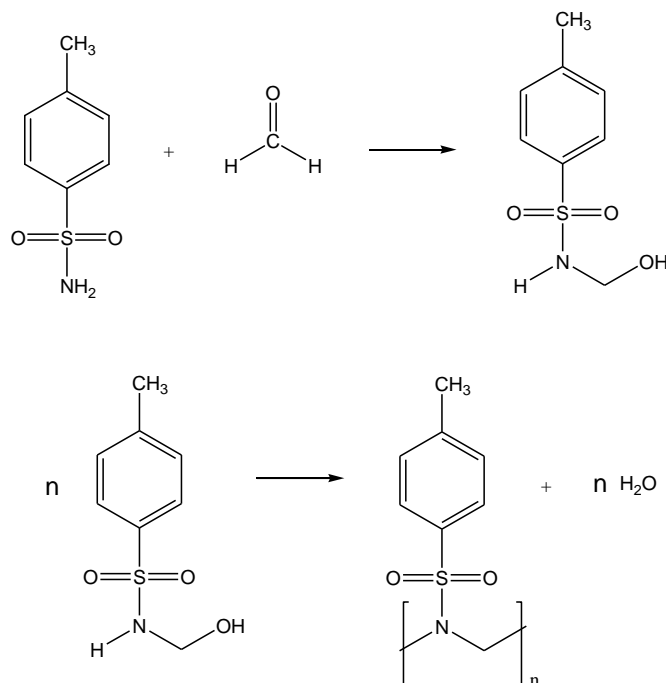


Figura 10. Formação da resina toluenosulfonamida/formaldeído (TSFR), a partir dos compostos p-toluenosulfonamida e formaldeído.

A concentração de TSFR pode variar entre 0,08 a 11% e monômeros e dímeros desse polímero apresentam maior potencial alergênico (SAINIO *et al.*, 1997). A TSFR pode ser substituída por resinas derivadas de éster, que embora não sejam muito eficientes em retardar o desgaste do esmalte, possuem menor potencial alergênico (SAINIO *et al.*, 1997; IORIZZO *et al.*, 2007). A formação do filme do esmalte e a sua aderência à unha estão relacionadas principalmente com o mecanismo de reações químicas do sistema polimérico. Entretanto, outros fatores como solventes, pigmentos e aditivos também podem influenciar (FAZENDA, 2005).

Os esmaltes apresentam também relevância para a ciência forense (O'NEILL *et al.*, 2009; GRESHAM *et al.*, 2000). Evidências relacionadas a esmaltes em cenas de crime são cuidadosamente procuradas, uma vez que homens e mulheres têm investido cada vez mais em cuidados com as unhas. Marcações causadas por tintas, esmaltes, corantes, pigmentos e até fluídos biológicos coloridos, como sangue, são exemplo típico de provas por rastreamento, que são rotineiramente analisadas por laboratórios forenses (BELL, 2009; O'NEILL *et al.*, 2009).

A análise dos esfregaços ou de flocos de pintura podem fornecer provas que relacionem informações com uma pessoa (ROUX e LENNARD 2006). Há muitos exemplos de pinturas associadas a cosméticos como prova forense: desde batom em colarinho de roupa a resquícios de esmalte de unha em sacos de lixo usados para esconder provas de crime (O'NEILL *et al.*, 2009).

A presença de pigmentos nos esmaltes de unhas pode proporcionar marcações em superfícies como paredes, papéis ou fitas adesivas. Além disso, pedaços de unhas pintadas encontrados em cenas de crime podem fornecer detalhes do evento em investigação. A coloração do esmalte é uma evidência primária, mas não é a única. Características ligadas aos componentes deste produto podem revelar, por exemplo, o fabricante, aumentando assim as informações sobre o possível indivíduo relacionado ao crime (GORDON, 2004).

Por essas razões, o desenvolvimento de métodos que reconheçam a presença, assim como quantifiquem TSFR em esmaltes de unha, além de métodos que sejam capazes de diferenciar as marcas dos esmaltes podem respectivamente contribuir para a fiscalização desse produto e gerar perspectivas para a ciência forense. Os métodos reportados na literatura para detectar TSFR utilizam preparo de amostra laborioso e cromatografia de camada fina ou HPLC, usando-se solventes e gerando resíduos (HAUSEN, 1995; SAINIO *et al.*, 1997).

1.4. Alimentos

Na literatura, podem-se encontrar outros termos relacionados à ciência dos alimentos como “química dos alimentos” e “bromatologia”. Os alimentos são estudados em termos da composição, da ação nos organismos, do valor energético, das diversas propriedades químicas e físicas. Também são realizadas pesquisas envolvendo toxicologia, adulterações, fraudes e contaminações (CECCHI, 2007; SALINAS, 2002; SHERMAN, 1928). Desta forma, fica evidente a importância da química, ao se lidar com estudos dos alimentos.

Neste contexto, o presente trabalho analisou por XRF e quimiometria dois alimentos de significativa importância: leite em pó e feijão. Para o leite em pó, as análises visaram o desenvolvimento de métodos que colaborassem principalmente com o controle da qualidade,

com reconhecimento e quantificação dos adulterantes soro e amido. Já para o feijão, buscou-se correlacionar a composição elementar obtida a partir da XRF com desenvolvimento inicial dos grãos na germinação. Nas duas próximas sessões apresentam-se algumas informações sobre cada um desses alimentos.

1.4.1. Leite em pó

O leite é um alimento de destaque na alimentação da população, apresentando também significativa importância econômica na sociedade. A fiscalização da autenticidade desse produto é crucial por razões econômicas e de saúde pública. Com a necessidade de verificar a qualidade do leite, o desenvolvimento de análises rápidas que detectem fraudes e adulterações é importante (FERRÃO *et al.*, 2007).

As adulterações mais comuns no leite fluido ocorrem com a adição de água, neutralizadores que mascaram a acidez (inclusive soda cáustica), sal, açúcar, soro, dentre outros (FERRÃO *et al.*, 2007). Em maio de 2013, no Estado do Rio Grande do Sul, foram descobertas adulterações com formol, ureia e água, tornando o produto impróprio para o consumo humano. Este é um exemplo circunstancial que preocupa e deixa a população e os órgãos de fiscalização em alerta.

Para o leite em pó, as fraudes mais frequentes ocorrem com a adição de soro de leite, amido, maltose e sacarose, na faixa de 20 a 25% de adulterante no leite em pó, pois nessa condição o consumidor ainda não percebe diferença no sabor (FERRÃO *et al.*, 2007). Para a segurança dos consumidores, a qualidade do leite em pó, assim como do leite fluido pasteurizado, deve seguir o regulamento técnico de identidade e qualidade. Dessa forma, a verificação e a quantificação de adulterantes no leite em pó com análises rápidas recebem destaque e auxiliam na fiscalização realizada pelos órgãos responsáveis.

Nesse contexto, o presente trabalho propôs uma metodologia para detectar e quantificar os adulterantes soro e amido em leite em pó com tratamento quimiométrico de dados de XRF.

1.4.2. Feijão

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é um alimento de destaque, por sua rica composição nutricional. Os grãos contêm elevados teores de minerais, vitaminas, carboidratos, fibras e proteínas. Além de fonte desses nutrientes essenciais, o feijão contém substâncias consideradas como funcionais, como por exemplo, os flavonoides e os ácidos fenólicos (ANTUNES e SGARBIERI, 1980). Pesquisas realizadas com diversas variedades de feijão demonstraram seu potencial como alimento funcional, devido à sua ação na diminuição dos riscos de doenças cardiovasculares e renais (ANDERSON *et al.*, 1999), redução no índice glicêmico para diabéticos (VISWANATHAN *et al.*, 1989), aumento na saciedade (LEATHWOOD e POLLET, 1988) e na prevenção do câncer (HANGEN e BENNINK, 2002).

Estas características e o expressivo consumo do feijão revelam a importância de procedimentos que permitam obter informações úteis para aprimorar a produção, o preparo e o consumo desse alimento.

Características como cor, tamanho e brilho dos grãos de feijão influenciam no seu consumo e podem estar relacionadas à composição elementar das sementes. Os grãos pequenos e opacos apresentam melhor aceitação em relação aos maiores e com brilho. A preferência e exigência do consumidor orientam a seleção e obtenção de novos cultivos. (AIDAR *et al.*, 2003).

A germinação do feijão, como de qualquer outro vegetal, é influenciada por diversos fatores como: disponibilidade de água, luz, temperatura, condições do solo, e até mesmo parasitismo ou competição com outras espécies. Além disso, existem também fatores intrínsecos para que uma semente se desenvolva, como suas características físicas e sua composição, que estão relacionadas à sua imaturidade fisiológica, impermeabilidade, presença de substâncias inibidoras, dentre outros (BOMBO, 2012; BEWLEY e BLACK, 1982).

Nesse contexto, foi utilizada a técnica de XRF aliada a ferramentas quimiométricas de análise exploratória para extrair informações de feijão carioca e preto, com a finalidade de explorar uma possível correlação entre a composição elementar e o desenvolvimento inicial dessas plantas, supondo-se assim possíveis fatores intrínsecos de sua germinação.

CAPÍTULO 2:

OBJETIVOS

O presente trabalho teve o seguinte objetivo geral:

- ✓ Desenvolver metodologias analíticas simples, rápidas, sem consumo de reagentes e sem geração de resíduos para que auxiliem no controle de qualidade e autenticidade de cosméticos e alimentos, utilizando XRF e métodos quimiométricos.

Foram objetivos específicos da aplicação de quimiometria aos dados de XRF:

- ✓ Construir modelos de classificação por PLS-DA e KNN para identificar simultaneamente a presença de PABA e PG em cremes hidratantes.
- ✓ Obter modelos de classificação por PLS-DA e KNN para identificar a presença de TSFR em esmalte de unha e reconhecer diferenças em relação à composição, a partir de análise exploratória, entre marcas brasileiras de esmaltes de unha, visando uma potencial ferramenta para a química forense.
- ✓ Construir modelos de calibração multivariada com PLS para identificar e quantificar os adulterantes soro e amido em amostras de leite em pó.
- ✓ Buscar correlações entre a composição elementar de feijão carioca e preto e o processo de desenvolvimento inicial desses grãos, na etapa de germinação.

CAPÍTULO 3:
PARTE EXPERIMENTAL

3.1. Amostras

Todas as amostras foram adquiridas no comércio varejista de Campinas-SP.

3.1.1. Creme hidratante

Foram utilizadas 33 amostras de creme hidratante, de variadas marcas, cores (azul, amarelo, rosa, verde e branco) e nacionalidades (brasileira, americana e canadense).

3.1.2. Esmalte de unha

Foram utilizadas 50 amostras de esmalte de diferentes marcas, cores (vermelho, azul, amarelo, rosa, marrom, verde e branco) e nacionalidades (brasileira, americana, canadense e chinesa).

3.1.3. Leite em pó

Foram utilizadas amostras de leite em pó integral e desnatado de 5 fabricantes brasileiros. Também foi utilizada uma amostra de composto lácteo, que consiste em uma mistura de gordura vegetal e soro de leite em pó.

3.1.4. Feijão

Foram utilizadas duas variedades de feijão (*Phaseolus vulgaris L.*): carioca e preto.

3.2. Obtenção dos espectros

Para todos os tipos de amostras, os espectros foram obtidos em duplicatas, com o espectrômetro de XRF, Shimadzu, modelo EDX-700, constituído por um tubo de raios X com ânodo de ródio e um detector semicondutor de Si(Li).

Foram realizadas as análises em dois canais de energia: Na-Sc e Ti-U. No canal de Na-Sc (espectro de 0 a 20 keV, com passo de 0,01 keV) foi aplicada voltagem de 15 kV e 300 s de irradiação. Já no canal de Ti-U (espectro de 0 a 40 keV, com passo de 0,02 keV), a voltagem foi de 50 kV e 100 s de irradiação. Para ambos os canais, o tempo morto do detector foi de 25%. Utilizou-se atmosfera de vácuo para a obtenção dos espectros das amostras sólidas e atmosfera de ar para as demais amostras.

Para a obtenção dos espectros, sem qualquer tratamento prévio, as amostras foram inseridas em celas de XRF, Figura 11, (Chemplex 1300, diâmetro externo de 30,7 mm e altura de 24,4 mm) montadas com o fundo sustentado por um filme de Mylar® (Chemplex 100), de espessura de 2,5 µm.

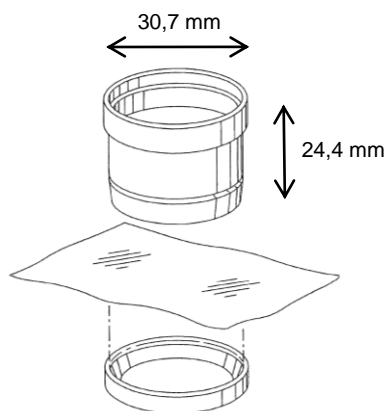


Figura 11. Esquema para montar as celas de XRF com filme de Mylar®.

Para a quantificação dos elementos, a partir do método dos FP, utilizou-se o próprio programa de operação do equipamento, considerando-se a matriz orgânica como “CHON” para o balanço de massa de todas as amostras. A quantificação realizada visou principalmente uma triagem geral das amostras e uma comparação relativa para reconhecer os elementos presentes em maiores quantidades e os que se apresentam nas menores concentrações. Nesse contexto, não houve comparações com métodos oficiais nem verificação estatística da exatidão dos valores obtidos.

Visando explorar a potencialidade de utilizar XRF aliada à quimiometria com perspectivas de auxiliar na ciência forense, que requer análises rápidas em campo, para as

amostras de esmalte de unha, utilizou-se também o espectrômetro portátil EDXRF resfriado por sistema Peltier, marca InnovX, modelo AlphaCam, constituído por um tubo de raios X com ânodo de tântalo e um detector de diodo de SiPIN. Durante os 20 s de irradiação das amostras, a voltagem aplicada no tubo de raios X foi de 40 kV. Nesse caso, o espectro obtido foi de 0 a 30 keV, com passo de 0,02 keV. As análises neste equipamento foram realizadas mediante seu posicionamento diretamente para a amostra, dispensando o uso de celas específicas.

3.2.1. Creme hidratante

As celas de XRF foram completamente preenchidas com cada amostra de creme. Além disso, foram preparadas amostras adicionadas de PABA e PG, a partir de um creme hidratante isento desses compostos (indicação do rótulo). Uma amostra foi preparada pela adição de 0,4% (m/m expresso como ácido) de metil-parabeno (nipagim, Synth), outra pela adição de 0,4% (m/m expresso como ácido) de propil-parabeno (nipazol, Synth) e uma terceira pela adição de 0,8% (m/m expresso como ácidos) para a mistura dos dois PABA. Essas concentrações foram utilizadas por representarem limites estabelecidos pela ANVISA (2001). Já para o PG (PA, Synth), foram preparadas 3 amostras adicionadas desse composto na concentração de 5% (m/m), usualmente utilizada em formulações comercializadas. Cada amostra foi irradiada em duplicata e esses procedimentos visaram avaliar o desempenho dessas amostras antes e após a adição.

3.2.2. Esmalte de unha

Aproximadamente 1 mL de cada uma das 50 amostras de esmalte foi transferido para celas de XRF e deixado exposto ao ar, por 24 horas a temperatura ambiente, para evaporação dos solventes antes da obtenção dos espectros.

Para a obtenção das medidas no equipamento portátil, uma área de aproximadamente 5 cm² de papel de filtro qualitativo (14 mm, Qualy) foi recoberta com cada uma das 22 amostras de marcas brasileiras, irradiada em duplicata após secagem natural de 48 horas. O

papel sem esmalte de unha também foi irradiado, e seu espectro foi subtraído de cada espectro obtido para as amostras de papel recobertas com esmalte.

Foram obtidos também espectros no infravermelho por reflexão total atenuada (ATR-IR), de películas secas dos esmaltes, para investigação da presença da resina TSFR. Utilizou-se o espectrômetro Smiths, modelo Illuminat IR II, constituído de fonte de SiC, cristal de diamante e ZnSe e detector MCT (HgCdTe), para obtenção de espectros entre 4000 e 650 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} .

3.2.3. Leite em pó

As celas de XRF foram completamente preenchidas com cada amostra de leite em pó. Foram preparadas também amostras de leite em pó simulando adulterações com amido e soro de leite na faixa de 0 a 30% (m/m) para análise e construção de modelos de calibração multivariada (Tabela 1). Para cada nível de concentração da curva, foram preparadas duas amostras que foram irradiadas em duplicatas.

Tabela 1. Concentrações de amido e de soro consideradas para a construção dos modelos de calibração.

Concentrações de amido (%)												
0,0	1,8	3,2	5,2	10,0	12,3	15,5	17,9	20,4	23,1	25,4	30,4	
Concentrações de soro (%)												
	0,0	3,5	6,0	11,0	17,9	23,4	26,1	31,0				

3.2.4. Feijão

Foram utilizados 12 grãos de cada tipo de feijão. Cada grão foi transferido para uma cela de XRF, apoiado em suporte de Teflon®. Obtidos os espectros de XRF, os grãos foram cultivados em discos de algodão (Apolo, diâmetro de 5,0 cm e massa aproximada de

600 mg), adicionando 5,0 mL de água diariamente, por 15 dias, com iluminação e temperatura ambiente, observando-se a evolução de germinação.

3.3. Tratamento quimiométrico dos dados

Todos os tratamentos foram realizados utilizando-se o *software* Pirouette® (Infometrix Co., 2003), versão 3.11. Como pré-processamento dos dados, os espectros foram centrados na média. As ferramentas quimiométricas utilizadas foram: PCA para agrupamento das amostras de acordo com suas similaridades; PLS-DA e KNN para classificação com reconhecimento da presença de PABA e PG em cremes e TSFR em esmaltes; e PLS para identificação e quantificação de adulterantes: amido e soro, conforme indicado na Tabela 2.

Para cada amostra, foram obtidos dois tipos de espectros (um para cada canal de energia: Na-Sc e Ti-U) e o tratamento quimiométrico foi realizado com os dois conjuntos de espectros, apresentando-se na sequência o tratamento que gerou os melhores resultados.

O canal Na-Sc (15 kV) é mais adequado para a avaliação de elementos leves, porque utiliza uma voltagem mais baixa no tubo de ródio, o que excita somente elementos que não necessitam de uma grande quantidade de energia para emitir raios X. Já o canal Ti-U (50 kV) é indicado para uma triagem geral, pois pode ser utilizado para a análise de elementos leves e pesados, entretanto perde em termos de resolução comparado ao canal Na-Sc e promove maior espalhamento da radiação da fonte (GORAIEB, 2009). Quanto maior a voltagem no tubo de raios X, mais energética é a radiação produzida (menores comprimentos de onda), o que influencia nos fenômenos de absorção, fluorescência e espalhamento dos raios X (JENKINS, 1999). Nesse contexto, o tratamento quimiométrico torna-se mais adequado utilizando-se o canal de energia que apresenta as melhores condições para os elementos que se correlacionam com as propriedades de interesse.

Tabela 2. Ferramentas quimiométricas utilizadas para cada tipo de amostras.

Amostras	Ferramentas quimiométricas		
Creme hidratante	PCA	PLS-DA	KNN
Esmalte de unha	PCA	PLS-DA	KNN
Leite em pó	PCA		PLS
Feijão		PCA	

CAPÍTULO 4:
RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Cosméticos

4.1.1. Creme hidratante

4.1.1.1. Quantificação de elementos em creme hidratante

Os espectros sobrepostos para todas as amostras, obtidos para ambos os canais de energia, estão apresentados na Figura 12. As concentrações dos elementos metálicos e não metálicos identificados nas amostras variaram conforme a cor e a marca do produto. A Tabela 3 apresenta esses elementos associados com suas energias características de emissão $K\alpha$ e com as respectivas faixas de concentração observadas no conjunto amostral, obtidas pelo método de FP.

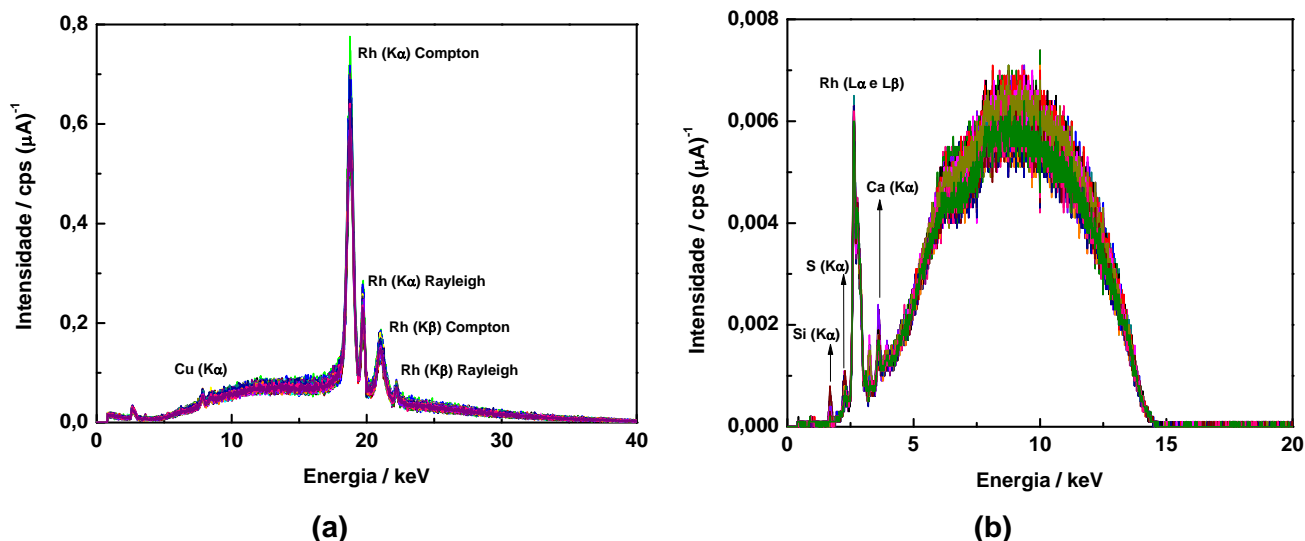


Figura 12. Espectros de XRF (a) canal Ti-U e (b) canal Na-Sc para as amostras de creme hidratante.

Tabela 3. Faixa de concentração dos elementos detectados nas amostras de creme hidratante a partir da XRF do método dos FP.

Elemento	$K\alpha$ (keV)	Faixa ($g\ kg^{-1}$)
Si	1,74	ND a 40
S	2,31	ND a 1,36
Ca	3,69	0,144 a 0,239
Cu	8,04	0,042 a 0,062

ND = Não detectado.

A presença de silício em cremes hidratantes está relacionada com o polidimetilsiloxano (óleo de silicone ou dimetilsilicone). Este é um ingrediente comumente utilizado em formulações de cremes, atuando como antiespumante, agente de proteção e condicionamento da pele. O enxofre e o cálcio devem, provavelmente, estar relacionados à presença de compostos naturais extraídos de plantas (COSMETICS INFO, 2013). Já a presença do cobre justifica-se, pois esse metal tem ações favoráveis envolvidas com o combate aos radicais livres que são responsáveis pelo envelhecimento das células; ele também auxilia na síntese do colágeno, proteína presente na pele e que mantém a aparência saudável, contribui para a rigidez e força mecânica dos ossos (GONÇALVES *et al.*, 2007; HENDLER, 2002).

4.1.1.2. Análise quimiométrica dos dados de creme hidratante

A região espectral de 0 a 4,5 keV foi considerada para a realização dos tratamentos quimiométricos dos espectros obtidos pelo canal de Na-Sc. O uso do espectro todo tende a dificultar a distinção das amostras quanto à presença ou ausência de PABA e de PG, porque os cremes hidratantes apresentam matrizes complexas, muito diferenciadas em relação aos compostos orgânicos e com presença de água. Este fato promove a intensificação do espalhamento dos raios X, como pode ser observado na Figura 12.

A Figura 13-a apresenta o gráfico de *scores* de PC1 × PC2 obtido, no qual é possível verificar dois grandes grupos em função da presença (■) e da ausência (□) de PABA. Já no gráfico de *loadings* da Figura 13-b, estão indicadas as variáveis relevantes que proporcionaram esse agrupamento: principalmente o espalhamento das linhas L α e L β do ródio e K β do argônio, elemento presente no ar, cuja presença permite distinguir as amostras mais aeradas (próximas a 0,002 em PC1) das menos aeradas (próximas a -0,002 em PC1).

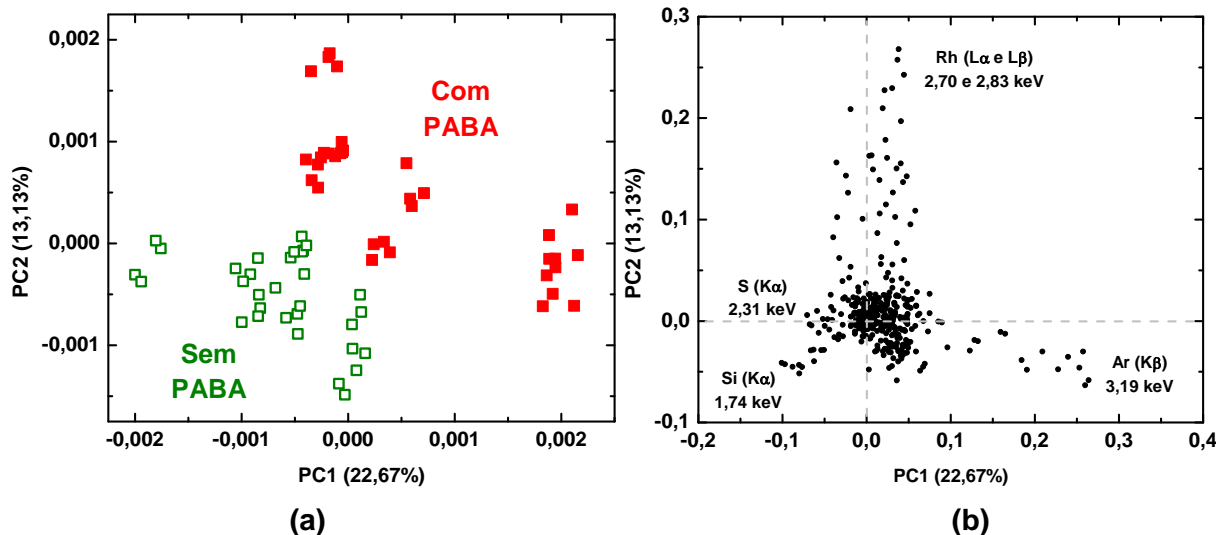


Figura 13. Gráficos de (a) *scores* e (b) *loadings* para PC1 \times PC2 dos espectros de XRF das amostras de creme hidratante, que distinguem as amostras com (■) e sem (□) PABA.

Simultaneamente, foi possível observar uma segregação das amostras que apresentam PG (●) das que não apresentam (○) no gráfico de PC3 \times PC4 (Figura 14-a). Para esta classificação, as linhas K α do cálcio, silício e enxofre contribuíram de forma mais significativa, além do argônio e do espalhamento dos raios X.

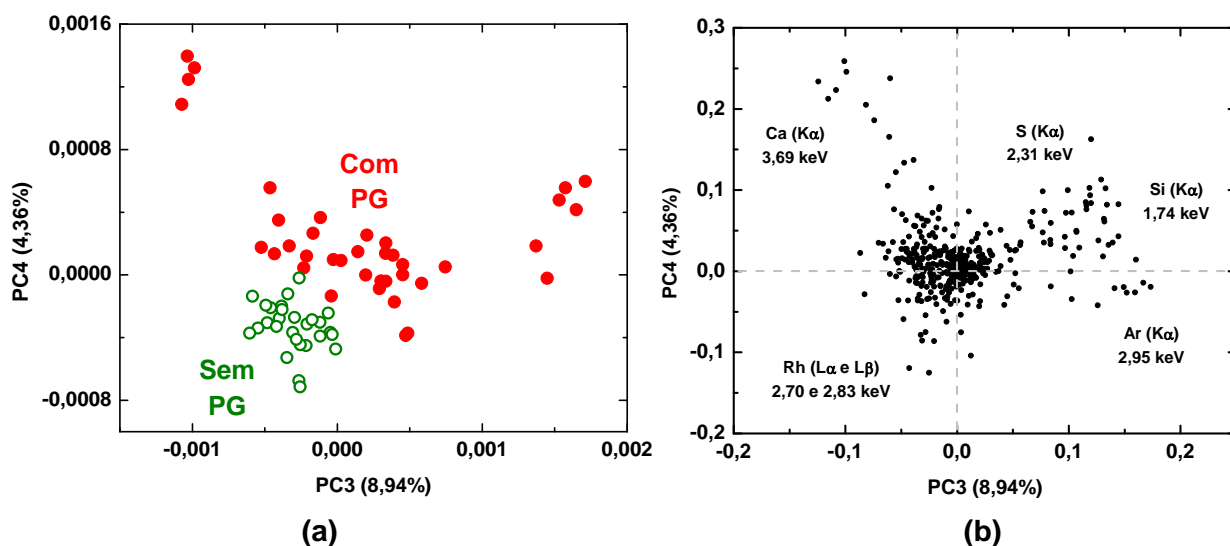


Figura 14. Gráficos de (a) *scores* e (b) *loadings* para PC3 \times PC4 dos espectros de XRF das amostras de creme hidratante, que distinguem as amostras com (●) e sem (○) PG.

Nas Figuras 15 e 16 estão os gráficos de *scores* e *loadings*, respectivamente PC1 × PC2 e PC3 × PC4, para as mesmas amostras de creme hidratante, além de uma outra amostra, sem PABA nem PG (☆) e com adição de PABA ou PG (★). Na Figura 15-a, observa-se que a adição de PABA faz com que as amostras apresentem valores superiores de *score* na PC2. Pelo gráfico de *loadings* (Figura 15-b) nota-se que isto está relacionado à maior intensidade do espalhamento das linhas $L\alpha$ e $L\beta$ do ródio, o que está ligado a diferenças em termos dos compostos orgânicos contidos na amostra.

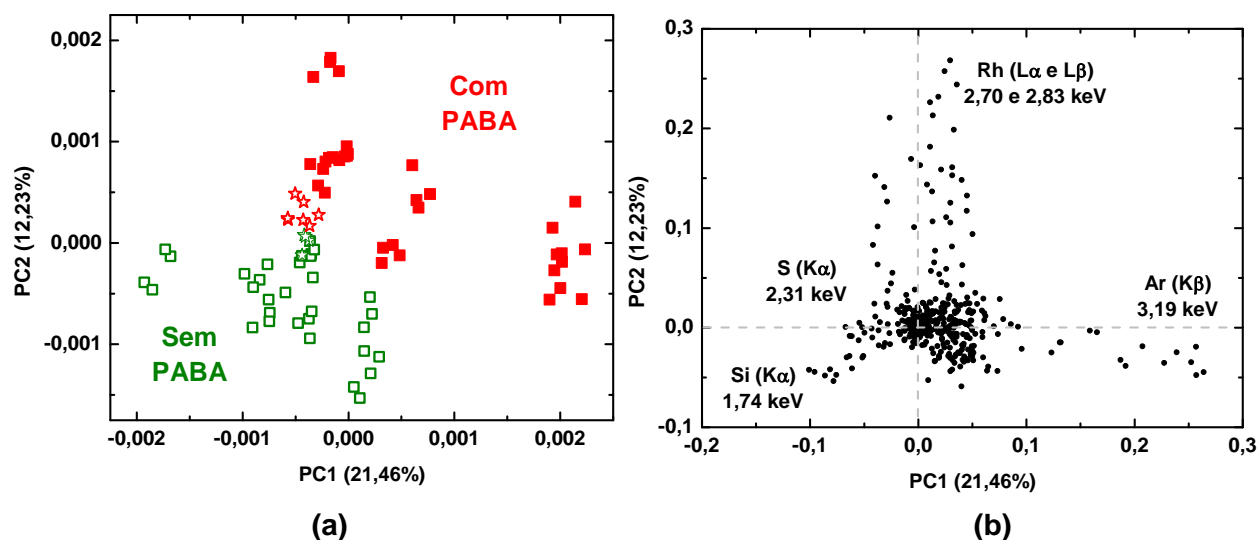


Figura 15. Gráficos de (a) *scores* e (b) *loadings* para PC1 × PC2 dos espectros de XRF das amostras de creme hidratante com (■) e sem (□) PABA e da outra amostra de creme sem (☆) e com (★) a adição de PABA.

Já na Figura 16-a, observa-se que de forma geral, a adição de PG faz com que as amostras apresentem valores superiores de *score* na PC4. O gráfico de *loadings* revela que isto está relacionado à menor intensidade do espalhamento das linhas $L\alpha$ e $L\beta$ do ródio. O PG é um composto orgânico que confere diferentes propriedades, quando adicionado aos cremes, alterando principalmente sua viscosidade. Esta diferença na viscosidade pode estar relacionada à menor intensidade do espalhamento das linhas do ródio. Além disso, pelo gráfico de *loadings*, nota-se também que há uma correlação entre a presença de PG e os teores de cálcio, enxofre e silício e a aeração da amostra de creme, indicada pelo sinal correspondente ao argônio.

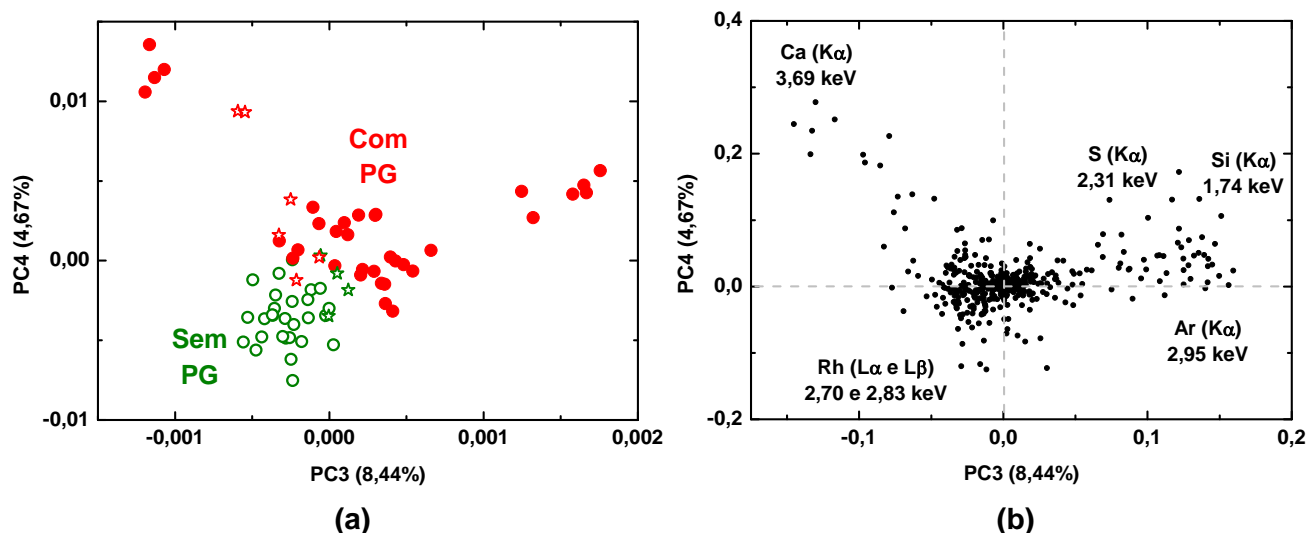


Figura 16. Gráficos de (a) *scores* e (b) *loadings* para PC3 \times PC4 dos espectros de XRF das amostras de creme hidratante com (●) e sem (○) PG e da outra amostra de creme sem (☆) e com (★) a adição de PG.

Nota-se que as quatro primeiras PCs explicam apenas cerca de 50% da variância total. Isso revela elevada variação no conjunto amostral. As amostras de creme apresentam matrizes complexas, muito diferenciadas em relação aos compostos orgânicos e inorgânicos, diferentes teores de água, viscosidade, aeração, densidade, dentre outros fatores. Como não foi realizado nenhum preparo de amostras com a finalidade de deixá-las nas mesmas condições ou em condições muito próximas, essas grandes disparidades de características são notadas na PCA. Ainda assim, foi possível o reconhecimento da presença de PABA e PG.

Os resultados obtidos sugeriram o desenvolvimento de modelos quimiométricos supervisionados aplicados em espectros de XRF como uma alternativa às análises para o controle de qualidade de cremes hidratantes que se denominam “livre” de PABA e/ou PG.

Nesse contexto, 10 amostras foram removidas de forma aleatória para a construção de modelos de reconhecimento de padrões pelos métodos PLS-DA e KNN e posteriormente foram testadas como amostras externas. As classes consideradas no modelo KNN e os parâmetros utilizados no método PLS-DA estão apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4. Atribuição das classes consideradas na construção dos modelos supervisionados PLS-DA e KNN (K = 3 vizinhos) para a detecção de PABA e PG.

Classes dos Modelos PLS-DA e KNN							
Parabenos				Propilenoglicol			
y* PLS-DA (4 LV)	Classe: KNN	Símbolo	Atributo	y* PLS-DA (3 LV)	Classe: KNN	Símbolo	Atributo
1	1	■	Presença de PABA	1	3	●	Presença de PG
0	2	□	Ausência de PABA	0	4	○	Ausência de PG

*y = valor da variável dependente no modelo PLS, que indica a classe no modelo PLS-DA.

As Figuras 17 e 18 apresentam os valores previstos de calibração, de validação cruzada e das amostras externas para os modelos PLS-DA, para a identificação de PABA e PG, respectivamente. Em ambos os casos, o valor 0,5 foi considerado como o limite entre as classes 1 e 0, uma vez que as classes são antagônicas, ou seja, 1 representa a presença de PABA ou PG e 0 a ausência desses compostos nas amostras de creme. A partir das Figuras 17 e 18, nota-se que as amostras externas foram classificadas corretamente com acerto de 100%. Já na validação cruzada, apenas 3 amostras com PG foram classificadas erroneamente como se não o contivesse.

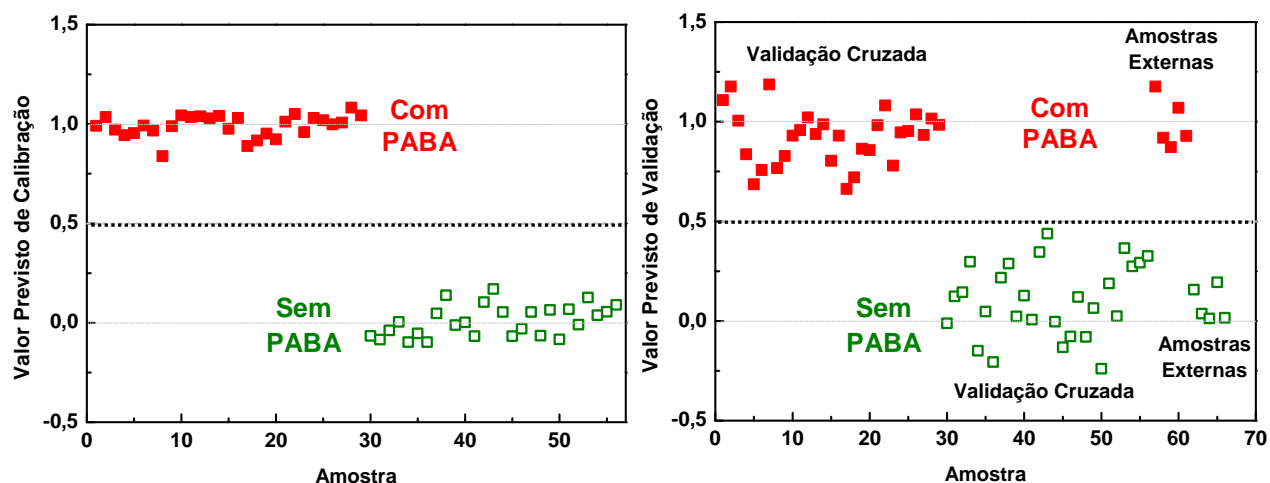


Figura 17. Valores previstos de calibração, de validação cruzada e das amostras externas para o modelo PLS-DA construído para o reconhecimento do padrão presença e ausência de PABA.

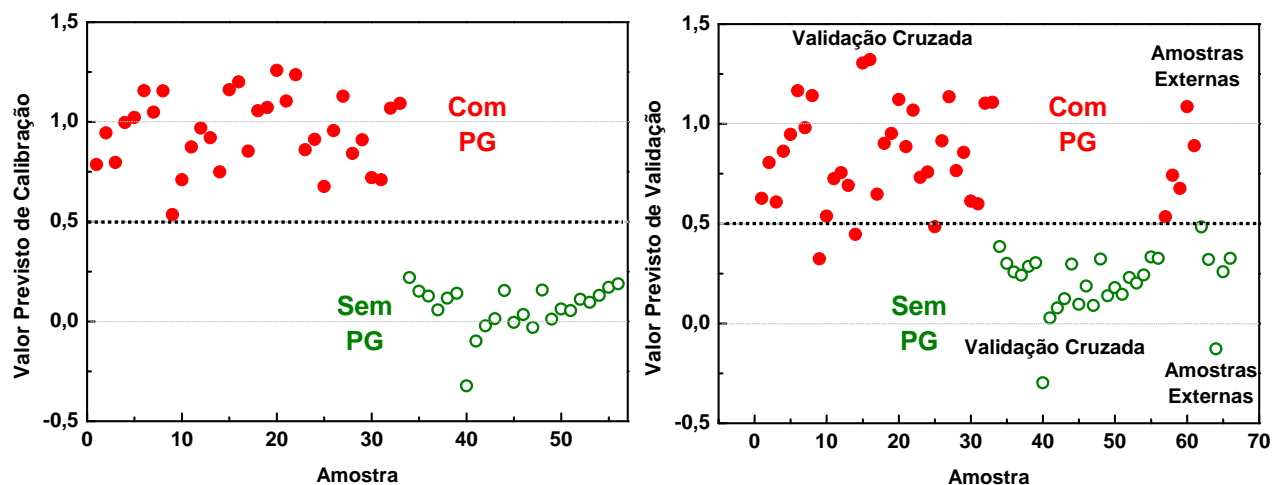


Figura 18. Valores previstos de calibração, de validação cruzada e das amostras externas para o modelo PLS-DA construído para o reconhecimento do padrão presença e ausência de PG.

Assim como o método PLS-DA, o KNN também foi capaz de classificar corretamente 100% das amostras de cremes, permitindo verificar aquelas que possuem em sua composição os PABA assim como o PG, e que, por consequência, podem ser prejudiciais aos usuários, dependendo das concentrações. Esses resultados indicam a potencialidade da aliança entre XRF e quimiometria na fiscalização de cremes hidratantes classificados pelos fabricantes como sendo isentos de PABA e/ou PG.

A Figura 19 apresenta dados gerais indicativos da presença de PABA e PG no conjunto amostral estudado, a partir de informações do rótulo que foram confirmadas pelos procedimentos desenvolvidos. Nota-se que 73% das amostras de creme hidratante continham pelo menos um dos compostos (PABA ou PG), sendo os PABA mais frequentes. De todas as amostras analisadas, 55% delas continham PABA e em 47% havia a presença de PG. Isso revela a expressiva utilização desses compostos em cremes hidratantes, independente da nacionalidade do produto.

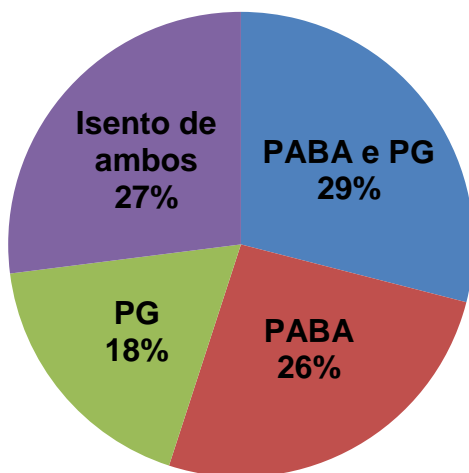


Figura 19. Porcentagens da presença de PABA e PG nas amostras de creme hidratante analisadas.

Não se conhece legislação que proíba o uso de PABA e PG em cremes, entretanto alguns fabricantes de cosméticos vêm desenvolvendo produtos isentos de PABA e PG, tornando interessante dispor de um método rápido, simples e de baixo custo operacional para avaliar a veracidade dessa informação. O método proposto atende a todos esses requisitos e ainda pode ser considerado um método verde. Além disso, esse trabalho gera perspectivas para o desenvolvimento de métodos análogos para a detecção desses compostos, ou outros relevantes, em diferentes tipos de cosméticos.

4.1.2. Esmalte de unha

4.1.2.1. Quantificação de elementos em esmalte de unha

Os espectros obtidos estão apresentados na Figura 20. As concentrações dos elementos metálicos e não metálicos identificados nas amostras variaram conforme a cor e a marca do produto. A Tabela 5 apresenta esses elementos associados com suas energias características de emissão $K\alpha$ e com as respectivas faixas de concentração no conjunto amostral, obtidas pelo método de FP.

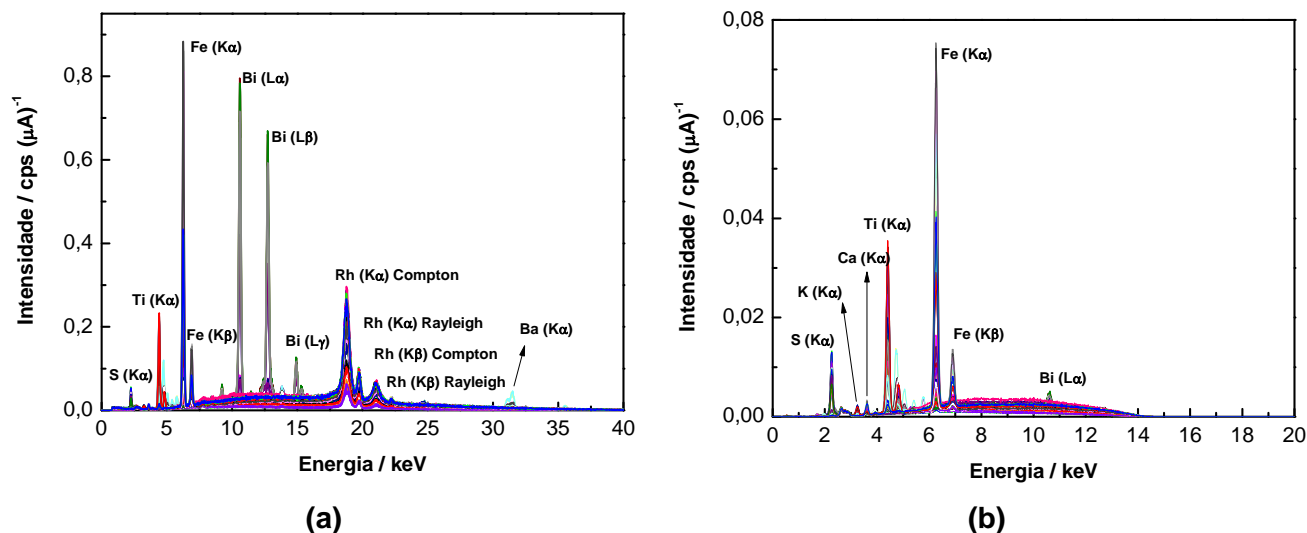


Figura 20. Espectros de XRF (a) canal Ti-U e (b) canal Na-Sc para as amostras de esmalte de unha.

Tabela 5. Faixa de concentração dos elementos detectados nas amostras de esmalte de unha a partir da XRF e do método dos FP.

Elemento	K α (keV)	Faixa (10^{-1}g kg^{-1})
S	2,31	ND a 718
K	3,31	ND a 17,9
Ca	3,69	1,8 a 14,8
Ti	4,51	ND a 85,3
Fe	6,40	0,83 a 80,1
Ba	32,06	ND a 202
*Bi	76,32	ND a 54,7

*Quantificado pelas linha L α = 10,86 keV; ND = Não detectado.

A presença de titânio e bário pode se tornar uma preocupação, uma vez que esses elementos, dependendo da forma e da concentração em que se apresentam, podem ser potencialmente tóxicos (SCHWAB *et al.*, 2012; TUBINO e SIMONI, 2007). XRF detecta e pode quantificar diversos metais, entretanto esta é uma técnica elementar que não permite identificar a espécie contendo o elemento.

É provável que o titânio detectado esteja na forma de dióxido de titânio (TiO₂), indicado no rótulo como *color index* (CI) 77891. Este composto é amplamente usado nas indústrias de tintas e esmaltes, para proporcionar cor branca ou opacidade (COSMETICS

INFO, 2013; Peixoto, 2006). Apesar de sua larga e intensa aplicação, TiO_2 tem sido caracterizado como uma substância potencialmente cancerígena (TROUILLER *et al.*, 2009).

O bário é um metal com diversas aplicações na indústria de cosméticos; entretanto, estudos têm associado um alto poder alergênico a este metal (CHORILLI *et al.*, 2007). O bário contido em cosméticos está principalmente na forma de BaSO_4 (CI 77115), pois esse composto confere a característica opaca aos cosméticos (COSMETICS INFO, 2013). Na forma de sal de sulfato, o bário é considerado seguro para a saúde humana, pois, devido à sua baixa solubilidade até mesmo em meio ácido, ele não é absorvido pelo organismo. Contudo, como foi mencionada anteriormente, a XRF não é capaz de identificar se o bário detectado está nessa forma e caso haja a absorção desse elemento, a sobredosagem sistêmica pode ocasionar náusea, vômitos e dores abdominais, podendo ser até letal (TUBINO e SIMONI, 2007).

4.1.2.1. Análise quimiométrica dos dados de esmalte de unha

A PCA foi realizada utilizando os espectros de XRF obtidos com o canal Na-Sc. O gráfico de *scores* (Figura 21-a) entre as duas primeiras PCs permite verificar a separação das amostras em dois grupos principais, cuja variável contribuinte para isso pode ser observada no gráfico de *loadings* (Figura 21-b): teor de ferro na PC1.

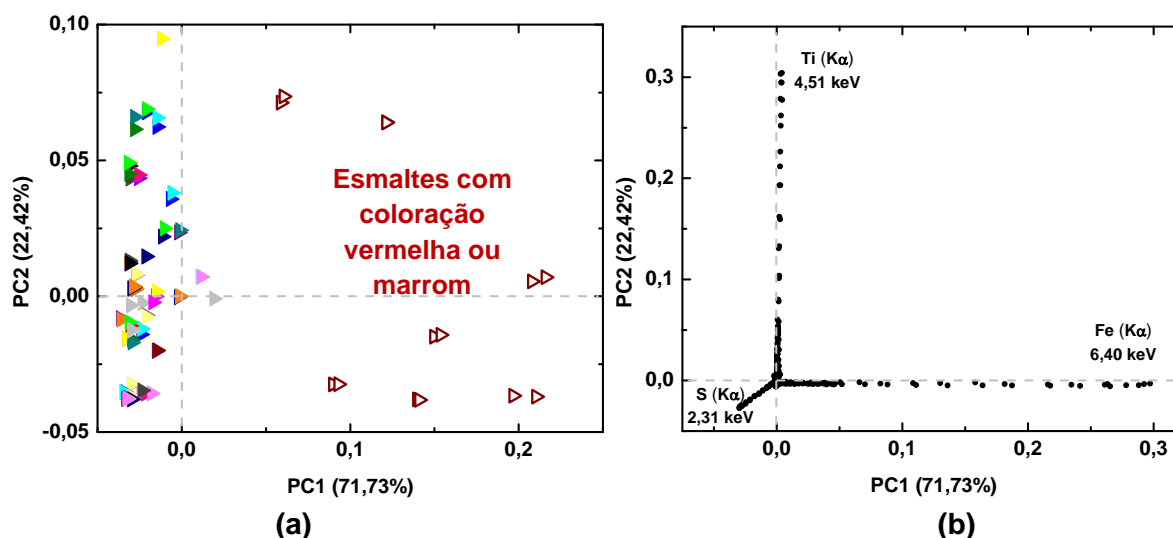


Figura 21. Gráficos de (a) *scores* e (b) *loadings* para PC1 \times PC2 dos espectros de XRF das amostras de esmalte de unha, que distinguem as amostras vermelhas e marrons (\blacktriangleright) das demais.

As amostras representadas por \blacktriangleright estão relacionadas com a coloração marrom ou vermelha dos esmaltes, enquanto as demais amostras são de outras colorações. Nesse contexto, é possível inferir que essa tonalidade de diversos esmaltes pode ser ajustada com compostos que contenham ferro, pois óxidos de ferro são amplamente utilizados para produzir pigmentos dessas cores (MONTEDO *et al.*, 2004). Os rótulos desses produtos foram consultados, confirmando-se a presença de óxido de ferro (CI 77491), que confere a coloração vermelha ao esmalte.

Uma vez que a PCA realizada com o espectro inteiro permitiu agrupar amostras segundo características possíveis de distinguir visualmente (coloração), uma nova PCA foi feita considerando os espectros de 0 a 6,00 keV, o que exclui os picos $K\alpha$ (6,40 keV) e $K\beta$ (7,06 keV) do ferro. A nova PCA gerou novos gráficos de *scores* e *loadings* (Figuras 22-a e 22-b). No gráfico de *scores*, é possível verificar a separação das amostras em dois outros grupos principais, cujas variáveis contribuintes para isso foram o titânio e o enxofre.

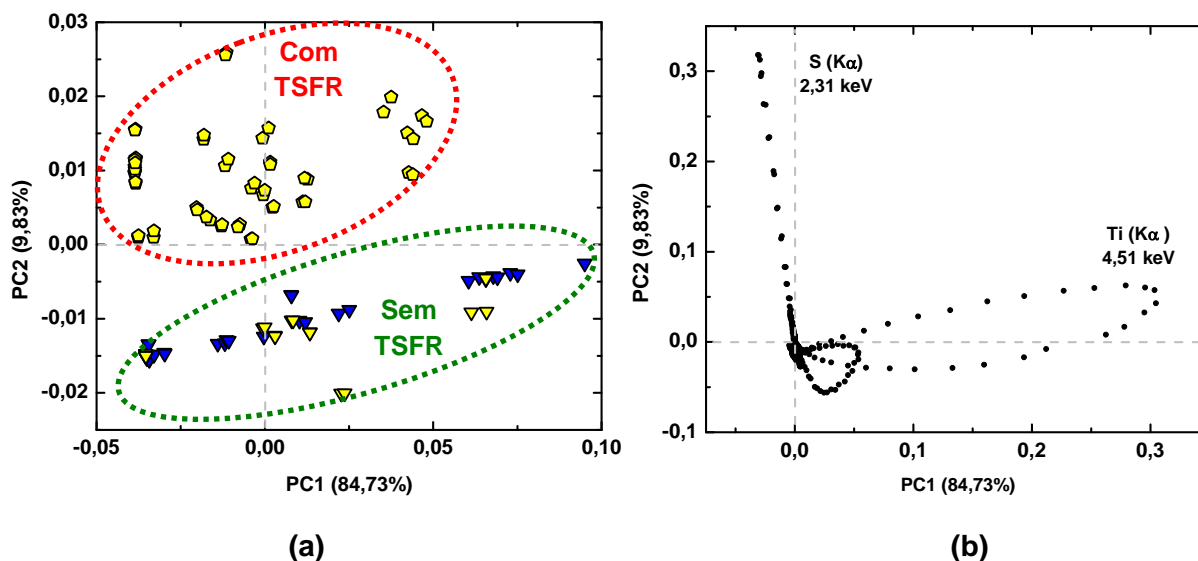


Figura 22. Gráficos de (a) *scores* e (b) *loadings* para PC1 \times PC2 da região de 0 a 6,00 keV dos espectros de XRF das amostras de esmalte de unha, que distinguem as amostras com e sem TSFR.

As maiores concentrações de enxofre, detectadas nas amostras indicadas por \blacklozenge podem estar associadas à presença de TSFR, enquanto que, pode-se inferir que essa resina

está ausente nas amostras representadas por ▼ e ▼, que apresentaram as menores concentrações do elemento.

Além desta constatação, verificou-se também que todas as amostras estrangeiras (▼) agruparam-se junto as amostras consideradas isentas de TSFR. Já, dentre as brasileiras (representadas por ◆ e ▼), uma marca apresentou todas suas amostras (▼) agrupadas às estrangeiras, sugerindo que a referida marca, assim como as produzidas fora do Brasil, usa outra resina que não contenha enxofre. Nas demais marcas brasileiras (◆), foram detectados maiores teores de enxofre, inferindo-se a presença da resina e o potencial alergênico que pode causar nos usuários.

Estados Unidos e Europa evitam o uso de TSFR em esmaltes de unha, havendo inclusive uma lei da Califórnia que proibiu o uso de tolueno nesses produtos tendo sido eliminados, na maioria dos casos, tolueno e TSFR dos esmaltes (KANERVA *et al.*, 2004). Isso pode explicar o agrupamento de todas as amostras estrangeiras que seriam então isentas da resina TSFR.

Os rótulos dos esmaltes analisados foram consultados, confirmando-se a presença da resina termoplástica TSFR somente nas amostras que apresentaram valor de *score* de PC2 superior a zero (◆), corroborando com as expectativas.

Buscando-se indicativos adicionais de que os grupos formados na Figura 22 estão relacionados com a presença ou a ausência da resina TSFR, foram obtidos espectros no infravermelho por ATR (Figura 23). Isso poderia confirmar que o enxofre detectado por XRF em concentrações mais elevadas está diretamente relacionado à TSFR.

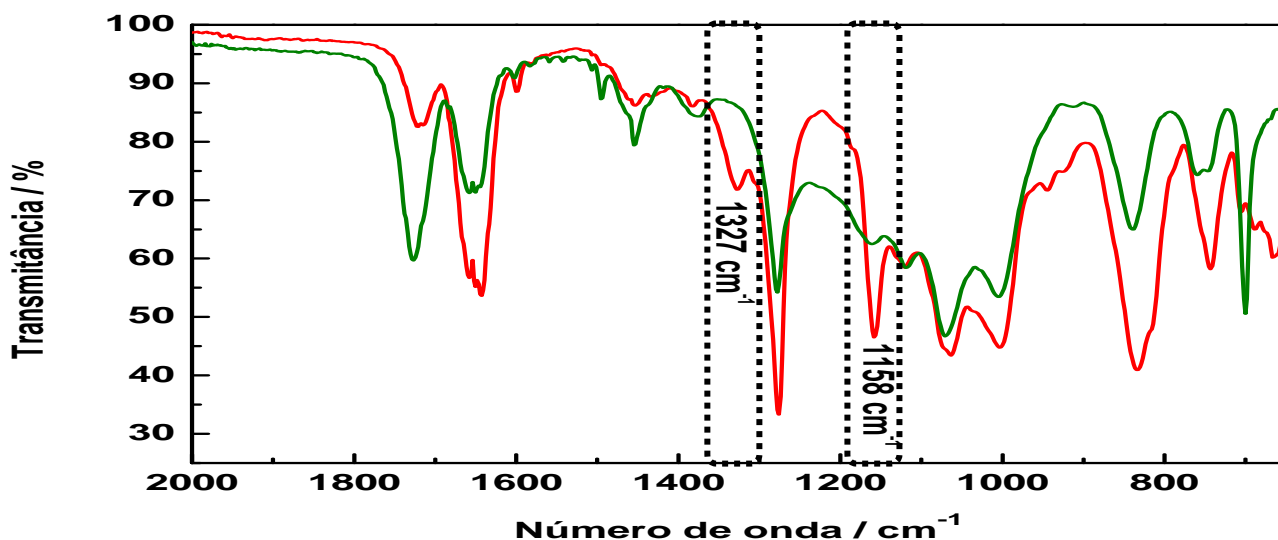


Figura 23. Exemplos de espectros de ATR-IR de amostras de esmalte de unha com (---) e sem (---) TSFR.

As sulfonamidas são compostos orgânicos que apresentam o grupo $-\text{SO}_2\text{N}-$. Esses compostos absorvem fortemente entre $1370\text{--}1335\text{ cm}^{-1}$ e $1170\text{--}1155\text{ cm}^{-1}$, devido ao seu grupo característico. No caso da película do esmalte (fase sólida), estes números de onda podem variar de 10 a 20 cm^{-1} e utilizando-se a técnica de ATR, a variação pode ser ainda maior (SILVERSTEIN e WEBSTER, 2000). Na Figura 23, observa-se a presença de uma banda em 1327 cm^{-1} e outra em 1158 cm^{-1} nos espectros das amostras de esmalte do grupo para o qual se inferiu a presença de TSFR (---), já nas amostras de esmalte inferidas como livres de TSFR (---) essas bandas não foram observadas. Esses resultados apoiam as hipóteses e contribuem para confirmar a informação sobre a composição dos esmaltes presente nos rótulos.

A detecção de TSFR nos esmaltes a partir dos espectros de ATR não pode ser conclusiva, uma vez que se trata de matrizes complexas e a sobreposição de diferentes bandas relacionadas à vibração de diferentes grupos pode ocorrer, o que requer a aplicação de modelos quimiométricos para extrair as informações mais específicas, relacionadas à presença da resina. Além disso, as bandas características das sulfonamidas podem ocorrer em uma extensa faixa de valores de número de onda ($1370\text{ a }1335\text{ cm}^{-1}$ e $1170\text{ a }1155\text{ cm}^{-1}$).

Nesse contexto, avaliaram-se novamente os dados de XRF com foco no pico relacionado à emissão $K\alpha$ do enxofre e notou-se que apenas com os espectros de XRF é possível diferenciar diretamente as amostras com a presença (---) e as amostras isentas (---) de TSFR. A partir dos dados apresentados na Figura 24, nota-se uma vantagem da XRF em relação à ATR-IR, já que a presença da resina pode ser diretamente inferida, mesmo sem a aplicação de quimiometria.

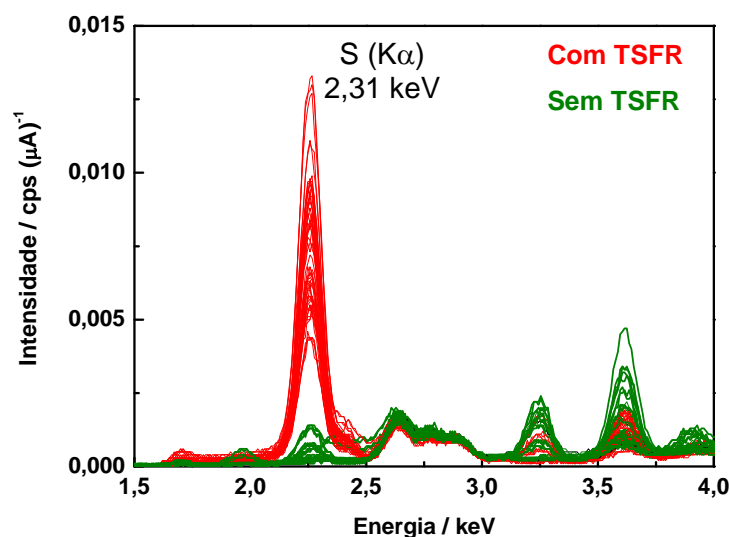


Figura 24. Espectros de XRF do canal Na-Sc para as amostras de esmalte de unha, diferenciando as amostras com (---) e sem (---) TSFR.

A partir dos dados das Figuras 22 e 24 foram construídos modelos para a classificação das amostras, fundamentados em parâmetros matemáticos e estatísticos, a partir dos modelos de classificação PLS-DA e KNN. Para esta etapa, foram selecionadas aleatoriamente 12 amostras para validação dos modelos PLS-DA e KNN, construídos com as outras 38 amostras. Utilizaram-se 4 LV para o PLS-DA e 3 vizinhos mais próximos para o KNN.

A Figura 25 apresenta os valores previstos de calibração, de validação cruzada e das amostras externas para o modelo PLS-DA. Considerou-se o valor 1 como presença de TSFR e o valor 0 sua ausência nas amostras de esmalte de unha. O valor 0,5 foi estabelecido como limite entre as classes, uma vez que elas são antagônicas. Na Figura 25, nota-se que

tanto na validação cruzada como no teste com as amostras externas, o modelo classificou as amostras com acerto de 100%.

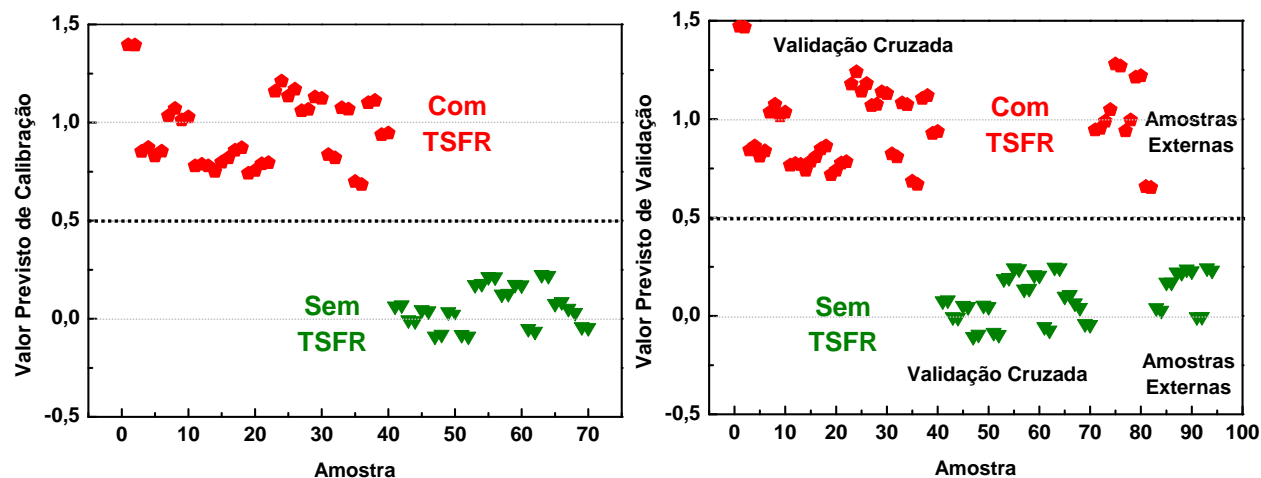


Figura 25. Valores previstos de calibração, de validação cruzada e das amostras externas para o modelo PLS-DA construído para o reconhecimento de presença e ausência de TSFR.

Analogamente, o método KNN também foi capaz de classificar corretamente 100% das amostras de esmaltes, permitindo verificar aquelas que possuem em sua composição a resina TSFR, e que, por consequência, podem ser alergênicas para muitas pessoas. Esses resultados indicam a potencialidade da aliança da XRF à quimiometria, a partir dos modelos desenvolvidos, para a fiscalização da presença dessa resina em amostras denominadas hipoalergênicas de forma rápida e sem consumo de reagentes.

A Figura 26 apresenta os espectros de XRF das superfícies de papel recobertas com amostras brasileiras de esmalte de unha. Esses dados foram obtidos no equipamento portátil para demonstrar a possibilidade de análise em campo, indicando perspectivas para auxiliar nas investigações de crimes da ciência forense.

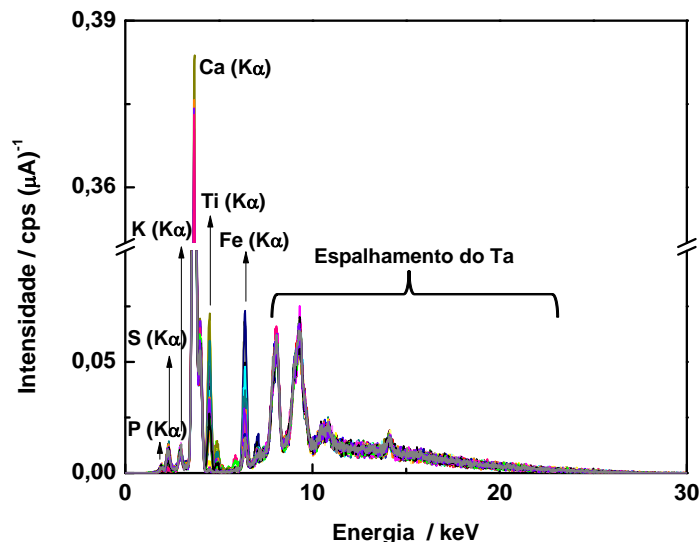


Figura 26. Espectros de XRF das superfícies de papel recobertas com amostras de esmalte de unha.

A PCA realizada com os espectros das superfícies recobertas com os esmaltes brasileiros permitiu a distribuição do conjunto amostral de acordo com o gráfico de *scores* da Figura 27-a. Esta distribuição foi explicada pelas duas primeiras PCs, principalmente pelas linhas $K\alpha$ de cálcio e titânio (Figura 27-b).

Cada símbolo na Figura 27-a corresponde a uma das cinco marcas brasileiras de esmalte. Os grupos obtidos a partir da PCA sugerem qualitativamente a distinção de duas marcas de esmaltes: \blacklozenge e \blacktriangle . A marca representada por \blacktriangle distinguiu-se por apresentar maior teor de cálcio, enquanto que a marca \blacklozenge diferenciou-se pelo menor teor desse mesmo elemento, de acordo com o gráfico de *loadings* (Figura 27-b). Para as demais marcas, a distinção não é tão nítida por PCA. Eventualmente com dados de um conjunto amostral maior, os grupos poderiam ser diferenciados em modelos de classificação, como KNN.

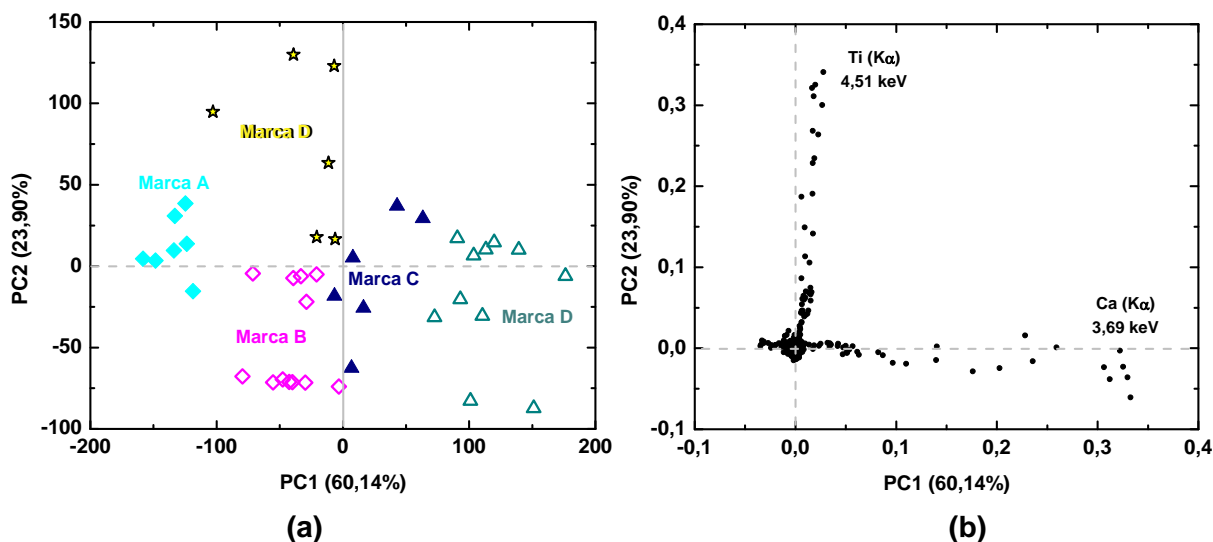


Figura 27. Gráfico de (a) scores e (b) loadings PC1 \times PC2 dos espectros de XRF das amostras de superfícies de papel recobertas com os esmaltes de unha.

A literatura apresenta alguns trabalhos relacionados com distinção de esmaltes para aplicações forenses utilizando técnicas mais sofisticadas como a espectrometria de massas (GRESHAM *et al.*, 2000; O'NEILL *et al.*, 2009), que necessitam muitas vezes de preparo de amostra, usam reagentes, geram resíduos e são destrutivas. A proposta apresentada evita tais inconvenientes, obedece aos princípios de Química Verde, além de poder ser realizada em campo, evitando o transporte, perda e contaminação da amostra.

Espera-se que com a perspectiva de identificação ou mesmo da exclusão de marcas de esmalte, possam ser desenvolvidas metodologias para analisar vestígios de esmalte em cenas de crime, como contribuição para análise forense.

Os resultados deste estudo já foram publicados em: SHIMAMOTO, G. G.; TERRA, J.; BUENO, M. I. M. S.; Use of Portable X-Ray Fluorescence to Discriminate Brands of Nail Polishes: a Potential Forensic Tool, **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 24, n. 5, p. 731-735, 2013.

4.2. Alimentos

4.2.1. Leite em pó

4.2.1.1. Quantificação de elementos em leite em pó

Os espectros sobrepostos de todas as amostras, obtidos para ambos os canais de energia, estão apresentados na Figura 28. A Tabela 6 apresenta a identificação dos elementos encontrados, principalmente pela energia $K\alpha$, assim como as faixas de concentração destes no conjunto amostral, a partir da quantificação pelo método dos FP.

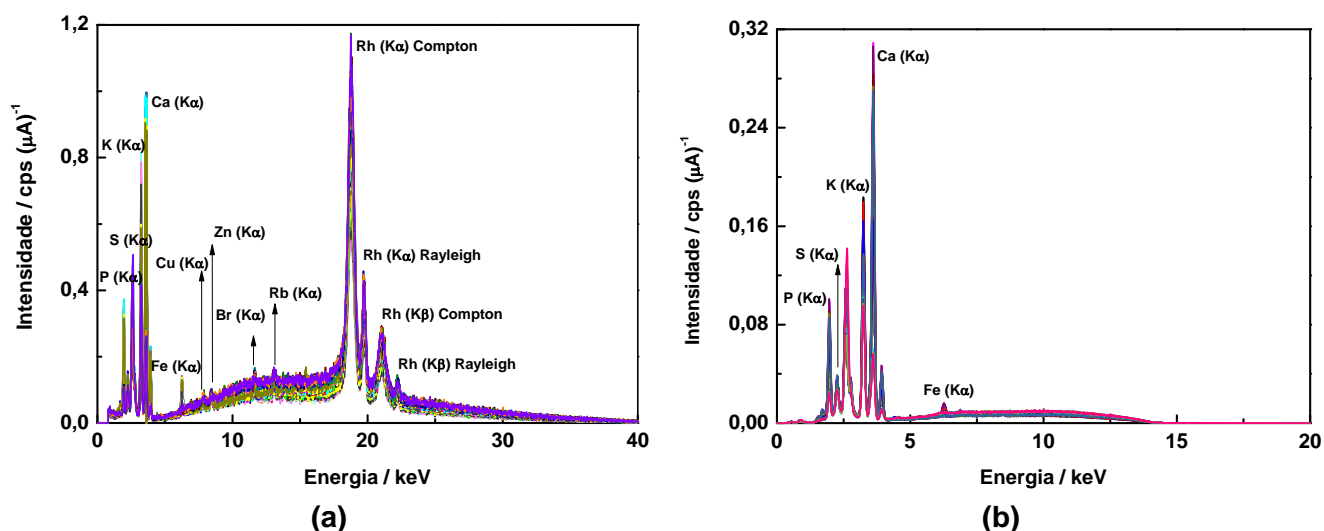


Figura 28. Espectros de XRF (a) canal Ti-U e (b) canal Na-Sc para as amostras de leite em pó e composto lácteo.

Tabela 6. Faixa de concentração dos elementos detectados nas amostras de leite em pó e composto lácteo a partir da XRF e do método dos FP.

Elemento	$K\alpha$ (keV)	Faixa ($10^{-3} \text{ g kg}^{-1}$)
P	2,01	(33,2 a 157,7) $\times 10^2$
S	2,31	(16,2 a 24,3) $\times 10^2$
K	3,31	(135,7 a 298,1) $\times 10^2$
Ca	3,69	(49,3 a 280,3) $\times 10^2$
Fe	6,40	ND a 308
Cu	8,04	ND a 60
Zn	8,63	ND a 75
Br	11,9	ND a 65
Rb	13,4	ND a 60

ND = Não detectado.

É importante destacar que o composto lácteo (uma das amostras testadas), que consiste em uma mistura de gordura vegetal e soro de leite em pó, apresentou as menores concentrações para fósforo, enxofre, potássio e cálcio. Além disso, nessas amostras não foram detectados os elementos ferro, cobre, zinco, bromo e rubídio. Isso é um indicativo da expressiva diferença de composição nutricional mineral entre o leite em pó (seja integral ou desnatado) e esse composto lácteo. O leite é um produto natural composto por água, gordura, vitaminas, proteínas, enzimas e lactose, sendo um dos alimentos que apresenta o elemento cálcio com a maior biodisponibilidade (CQUALI, 2013; BUZINARO *et al.*, 2006). Já o composto lácteo não pode ser chamado de leite porque apresenta outros ingredientes em sua composição, é feito a partir de leite, leite reconstituído e/ou derivados de leite, com ou sem outros ingredientes. A base láctea do composto deve ser de no mínimo 51% m/m do total do produto (CQUALI, 2013).

4.2.1.2. Análise quimiométrica dos dados de leite em pó

Os tratamentos quimiométricos apresentados a seguir foram realizados com os espectros obtidos a partir do canal Ti-U. A Figura 29 representa o gráfico de *scores* e *loadings* de PC1 × PC2 para as amostras de leite em pó e composto lácteo. Essa PCA com apenas 2 fatores explica 88,75% da variância total das amostras.

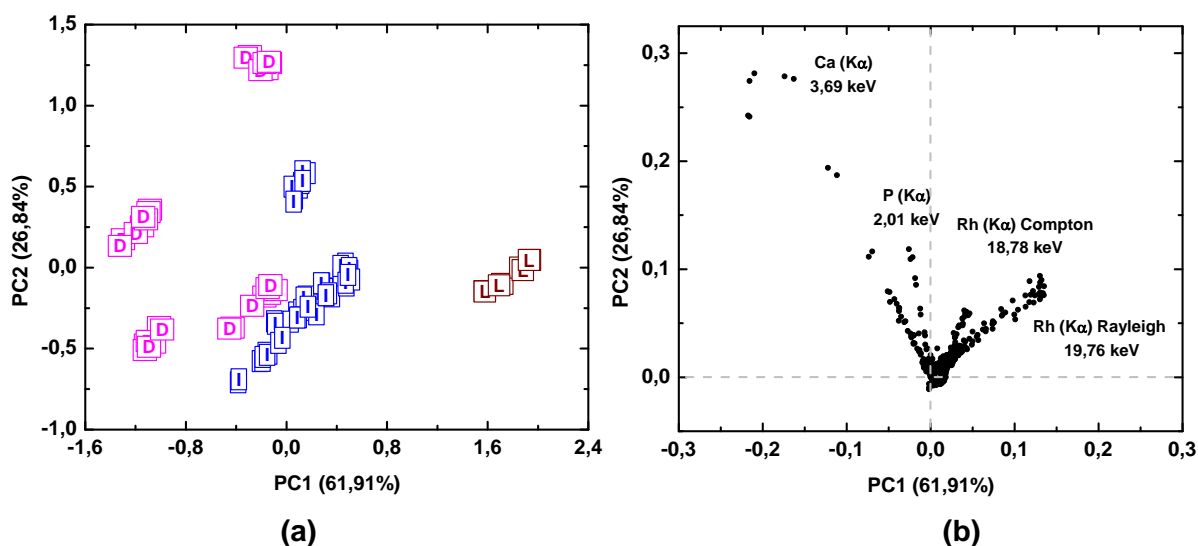


Figura 29. Gráfico de (a) *scores* e (b) *loadings* para PC1 × PC2 dos espectros de XRF das amostras de leite em pó e composto lácteo, onde **D** = desnatado, **I** = integral e **L** = composto lácteo.

Na Figura 29, nota-se que as amostras de compostos lácteos (**L**) distinguem-se das demais amostras de leite, pois apresentaram *scores* superiores a 1,2 na PC1. Entretanto, não houve uma separação definida entre as amostras de leite em pó integral (**I**) e desnatado (**D**). Pelo gráfico de *loadings*, observa-se que as principais variáveis responsáveis por esses resultados são as linhas $K\alpha$ do cálcio e do fósforo e o espalhamento do ródio gerado pela parte orgânica das amostras, principalmente pelas gorduras, cujo teor varia acentuadamente nestes produtos.

Nesse contexto, realizou-se uma seleção de variáveis para gerar uma PCA na qual só foi considerada a parte do espalhamento do ródio; ou seja, a parte orgânica das amostras. A Figura 30 apresenta o gráfico de *scores* e *loadings* para essa nova PCA.

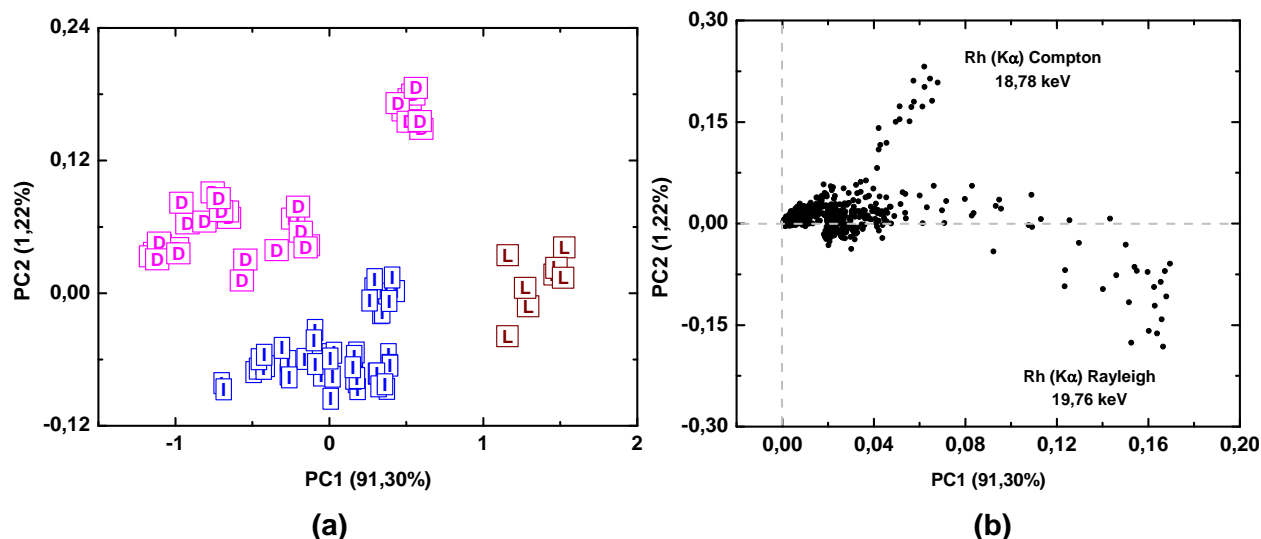


Figura 30. Gráfico de (a) *scores* e (b) *loadings* para PC1 × PC2 da região de espalhamento do Rh dos espectros de XRF das amostras de leite em pó e composto lácteo, onde **D** = desnatado, **I** = integral e **L** = composto lácteo.

Com a Figura 30, observa-se uma classificação adequada dos leites em pó integral (**I**), desnatado (**D**) e do composto lácteo (**L**) e uma explicação de 92,52% da variância total dos dados, com apenas 2 fatores. Os diferentes espalhamentos das linhas do ródio, provavelmente devem-se ao maior teor de gordura do composto lácteo, seguido do leite integral e por fim do leite desnatado. Esses resultados sugerem que além do composto

lácteo possuir menores teores minerais (indicado pela quantificação dos elementos por FP), esse tipo de produto apresenta o maior teor de gordura. Esses resultados estão coerentes com as informações disponíveis nos rótulos dos produtos.

Considerando-se esses resultados, desenvolveram-se dois modelos a partir do método PLS para quantificar os adulterantes: soro de leite em pó e amido. Amostras de leite em pó foram adulteradas com esses compostos em uma faixa de 0 a 30% (m/m) utilizando-se balança analítica e os espectros de XRF foram obtidos nas condições do canal de Ti-U. Utilizou-se essa faixa, pois até 25% (m/m) o consumidor ainda não percebe diferença no sabor (FERRÃO *et al.*, 2007).

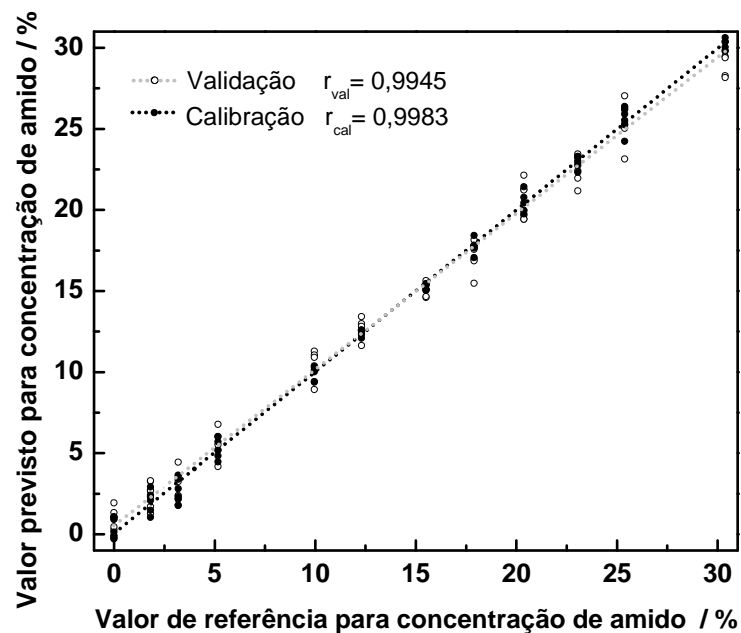
A Tabela 7 apresenta os valores dos erros absolutos na calibração e na validação cruzada para as amostras que não continham quaisquer adulterantes em sua composição.

Tabela 7. Erros absolutos na validação cruzada e na calibração das amostras de leites em pó que não continham adulterantes.

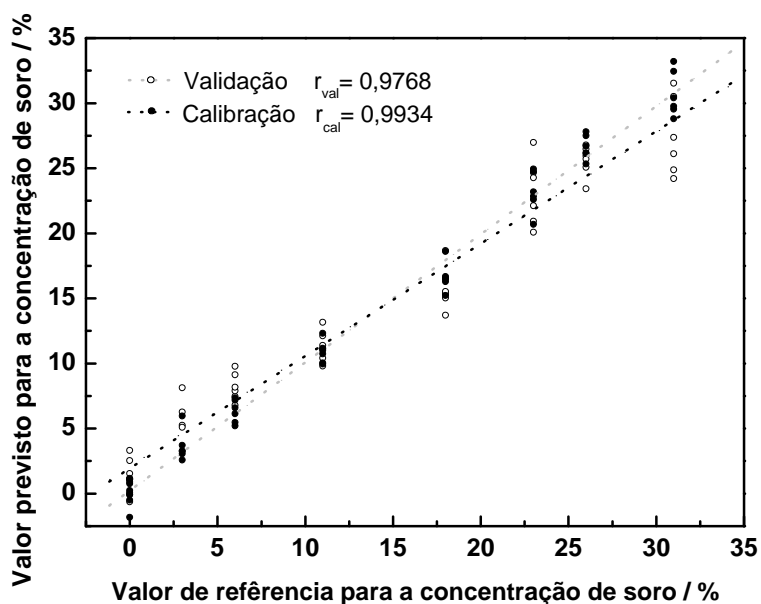
Concentração de Amido (% m/m)		Concentração de Soro (% m/m)	
Valor Previsto na Calibração	Valor Previsto na Validação Cruzada	Valor Previsto na Calibração	Valor Previsto na Validação Cruzada
-0,2	-0,2	1,1	1,5
1,1	1,3	-1,8	-0,6
-0,1	0,3	0,2	-0,1
0,9	1,0	-0,1	2,6
0,1	0,9	0,7	1,2
1,1	1,9	0,1	3,3
-0,3	0,5	1,1	0,9

Verificou-se adequação dos modelos PLS em reconhecer a ausência dos adulterantes, uma vez que o maior valor obtido para as amostras não adulteradas foi de 1,9% (m/m) para o amido e 3,3% (m/m) para o soro. Além disso, muitas amostras resultaram em valores negativos, o que não tem significado físico, mas pode ser associado com ausência dos adulterantes.

A Figura 31 apresenta os gráficos para os valores de referência \times valores previstos pela calibração e pela validação cruzada dos modelos PLS que foram construídos com 3 LV.



(a)



(b)

Figura 31. Gráfico de valores de referências \times valores previstos para o modelo PLS que quantifica as adulterações de (a) amido e (b) soro nas amostras de leite em pó.

Amostras externas, que não foram utilizadas na construção dos modelos, foram testadas para avaliar a capacidade de previsão. A Tabela 8 apresenta os valores de referência e os valores previstos pelos modelos para essas amostras externas.

Tabela 8. Valores de referências (Vr) e valores previstos (Vp) para a porcentagem de amido e soro nas amostras externas de leite em pó e módulo da diferença entre esses valores ($|Vr-Vp|$).

Concentração de Amido (% m/m)				Concentração de Soro (% m/m)			
Vr	Vp	$ Vr-Vp $	Erro (%)	Vr	Vp	$ Vr-Vp $	Erro (%)
2,0	2,2	0,2	10	6,0	5,8	0,2	3
3,2	3,3	0,1	3	11,0	11,5	0,5	5
5,2	5,2	0,0	0	18,0	18,0	0	0
10,0	10,3	0,3	3	23,0	22,0	1,0	4
12,3	12,2	0,1	1	26,0	24,6	1,4	5
15,5	14,4	1,1	7	31,0	28,4	2,6	8
18,0	16,6	1,4	8				
20,4	19,5	0,9	4				
23,1	22,2	0,9	4				
25,4	24,3	1,1	4				
30,4	30,0	0,4	1				

Para avaliar o desempenho dos modelos de calibração, foram calculados os parâmetros: raiz quadrada do erro médio quadrático (RMSE) de calibração (RMSEC), de validação cruzada (RMSECV) e de previsão (RMSEP). A Equação 4 representa a equação geral dos erros, na qual \hat{y}_i representa o valor previsto pelo modelo multivariado, y_i representa o valor referência e n corresponde ao número de amostras (FERREIRA *et al.*, 1999). Além disso, a performance do modelo também foi avaliada pelo cálculo da razão faixa/erro (RER), presente na Equação 5. Modelos que apresentam valores de RER entre 10 e 20 são considerados modelos adequados para triagem, já modelos com valores de RER superiores a 20 são essencialmente quantitativos (WARD *et al.*, 2005; WILLIAMS, 1987). Todos esses parâmetros estão apresentados na Tabela 9.

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{n}} \quad \text{Equação 4}$$

$$RER = \frac{\text{Faixa}}{RMSEP} \quad \text{Equação 5}$$

Tabela 9. Parâmetros dos modelos PLS construídos para a quantificação dos adulterantes amido e soro em leite em pó.

Parâmetro	Amido	Soro
LV	3	3
Faixa (%)	0 – 30,4	0 – 31,0
r_{cal}	0,9983	0,9934
r_{val}	0,9945	0,9768
RMSEC (%)	0,5898	1,3026
RMSECV (%)	1,0475	2,5722
RMSEP (%)	0,9249	1,5099
RER	32,9	20,5

A partir dos valores observados nas Tabelas 7 a 9, nota-se uma melhor adequação na identificação e na quantificação do amido em relação ao soro. Isso se deve, provavelmente, ao fato do adulterante soro apresentar maior semelhança química e física à matriz da amostra de leite em pó. Isto é demonstrado pelos menores valores de erros e maiores valores de RER, r_{cal} e r_{val} para as amostras adulteradas com amido em relação àquelas adulteradas com soro.

Propõe-se a aplicação dos modelos PLS desenvolvidos na identificação e quantificação de amido e soro em amostras de leite em pó. A utilização de modelos PLS mostrou-se um procedimento adequado para ser empregado na avaliação da qualidade de produtos alimentícios através de medidas de espectros de XRF, como uma alternativa à técnica usada na região do infravermelho próximo (NIR), como já citado na literatura (FERRÃO *et al.*, 2007).

4.2.2. Feijão

4.2.2.1. Quantificação de elementos em feijão

Os espectros obtidos para ambos os canais de energia estão apresentados na Figura 32. A Tabela 10 apresenta a identificação dos elementos obtidos, principalmente pela

energia $K\alpha$, assim como a faixa de concentração no conjunto amostral obtida para esses elementos, usando-se quantificação pelo método dos FP.

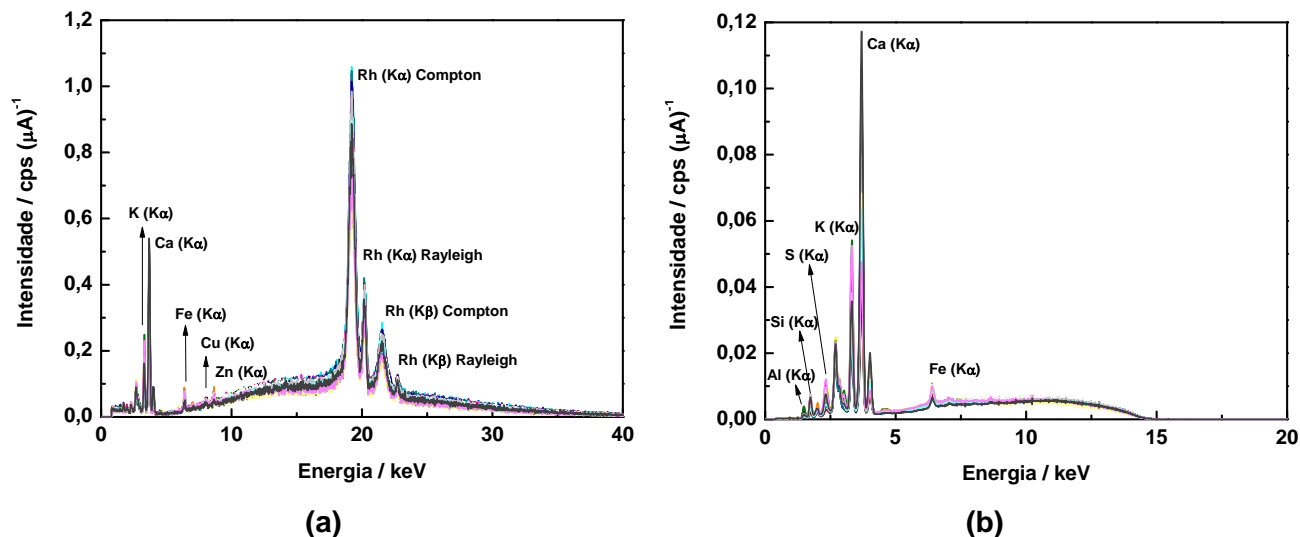


Figura 32. Espectros de XRF (a) canal Ti-U e (b) canal Na-Sc para as amostras de feijão.

Tabela 10. Faixa de concentração dos elementos detectados nas amostras de feijão a partir da XRF e do método dos FP.

Elemento	$K\alpha$ (keV)	Faixa (g kg ⁻¹)	Elemento	$K\alpha$ (keV)	Faixa (g kg ⁻¹)
Al	1,49	0,86 a 5,42	Ca	3,69	4,06 a 15,54
Si	1,74	0,333 a 2,14	Fe	6,40	0,137 a 0,320
S	2,31	0,166 a 0,990	Cu	8,04	0,029 a 0,045
K	3,31	4,05 a 10,87	Zn	8,63	0,056 a 0,074

Dentre os metais detectados no feijão, o mais preocupante é o Al. Isso porque, de acordo com a literatura internacional (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2013), o limite aceitável de consumo semanal de alumínio é de no máximo 7 mg por kg de massa corporal. O excesso de alumínio no organismo pode estar associado a diversos problemas de saúde, com fortes indícios de relações com câncer de pulmão, eventos inflamatórios e até com o mal de Alzheimer (QUINTAES, 2000; FIMREITE *et al.*, 1997; GREGER *et al.*, 1985). FERREIRA *et al.* (2008) realizaram uma revisão sistemática de literatura produzida entre 1990 e 2005 em trabalhos relacionando a exposição ao alumínio e o risco para

desenvolvimento da doença de Alzheimer; dos 34 trabalhos selecionados, 68% apontaram relação entre esse metal e o mal de Alzheimer, 23,5% não apresentaram dados conclusivos e 8,5% não estabeleceram nenhuma relação.

Além desse panorama, pesquisas comprovaram que a concentração desse metal tende a aumentar significativamente no alimento preparado em panela de alumínio. Nesse contexto, recomendam-se as panelas de teflon para evitar a transferência de alumínio para os alimentos, assim como a adição de sal somente após o cozimento nas panelas de alumínio, pois o NaCl acentua ainda mais essa lixiviação (QUINTAES, 2000).

4.2.2.2. Análise quimiométrica dos dados de feijão

O tratamento quimiométrico apresentado a seguir foi realizado com os espectros obtidos com o canal Na-Sc. A Figura 33-a representa o gráfico de *scores* e *loadings* de PC1 × PC2 para as amostras de grãos de feijão.

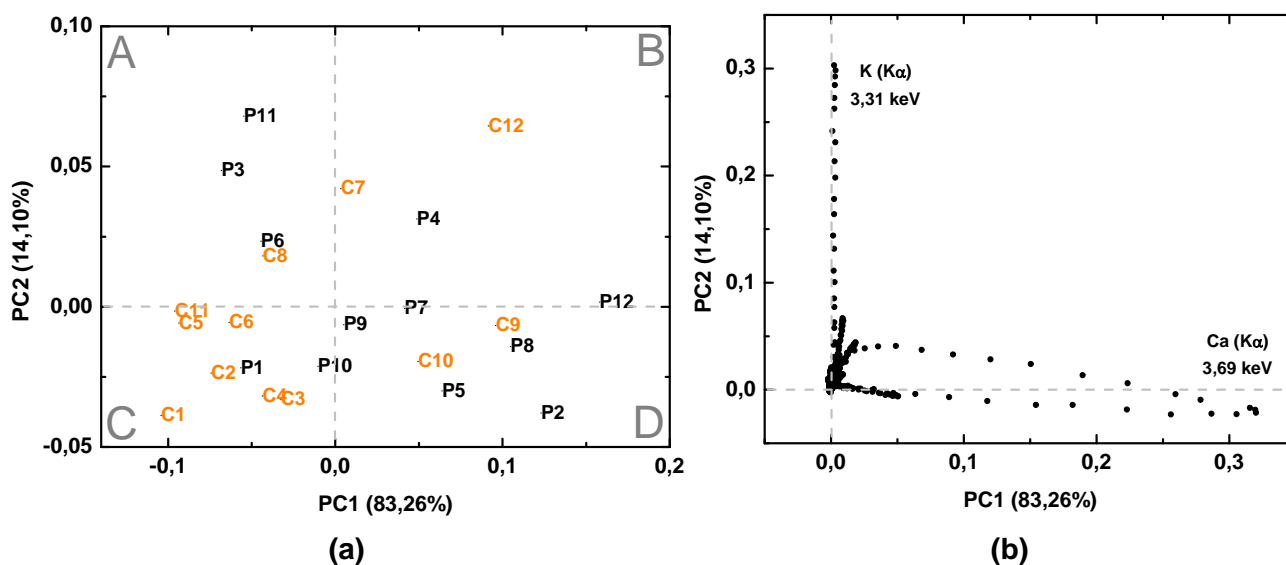


Figura 33. Gráfico de (a) *scores* e (b) *loadings* para PC1 × PC2 dos espectros de XRF das amostras de feijão, onde **C** = carioca e **P** = preto.

Nota-se pelo gráfico de *loadings* da Figura 33-b que a PC1 distribuiu os feijões em função da variância do teor de cálcio, enquanto que a PC2 ordenou-os a partir do teor de potássio (independentemente da variedade do feijão). Nessa distribuição, pode-se subdividi-los em quatro subgrupos, em cada um dos quadrantes do gráfico de *scores* da Figura 33-a. O quadrante A contém as amostras com menor teor de cálcio e maior de potássio; o quadrante B apresenta as amostras com maior teor de ambos os elementos; o quadrante C mostra as com menor teor de ambos os elementos e o quadrante do grupo D traz amostras com maior teor de cálcio e menor teor de potássio.

Essa PCA, com apenas 2 fatores, explica 97,36% da variância total e não apresenta *outliers*. É interessante notar que os teores dos dois elementos destacados na PCA, cálcio e potássio, podem representar potencial influência na atividade celular, no processo de hidratação por osmose, e por consequência, no desenvolvimento das sementes, assim como nas características das plantas formadas e das futuras sementes (FAVARO *et al.*, 2000).

Na Figura 34, apresenta-se o gráfico de *scores* e *loadings* entre PC1 \times PC3, que sugere uma tendência de separação das amostras em grupos daquelas que germinaram (*) e as que não germinaram (*) no período de 15 dias, as quais correspondem aos valores de *scores* superiores na PC3.

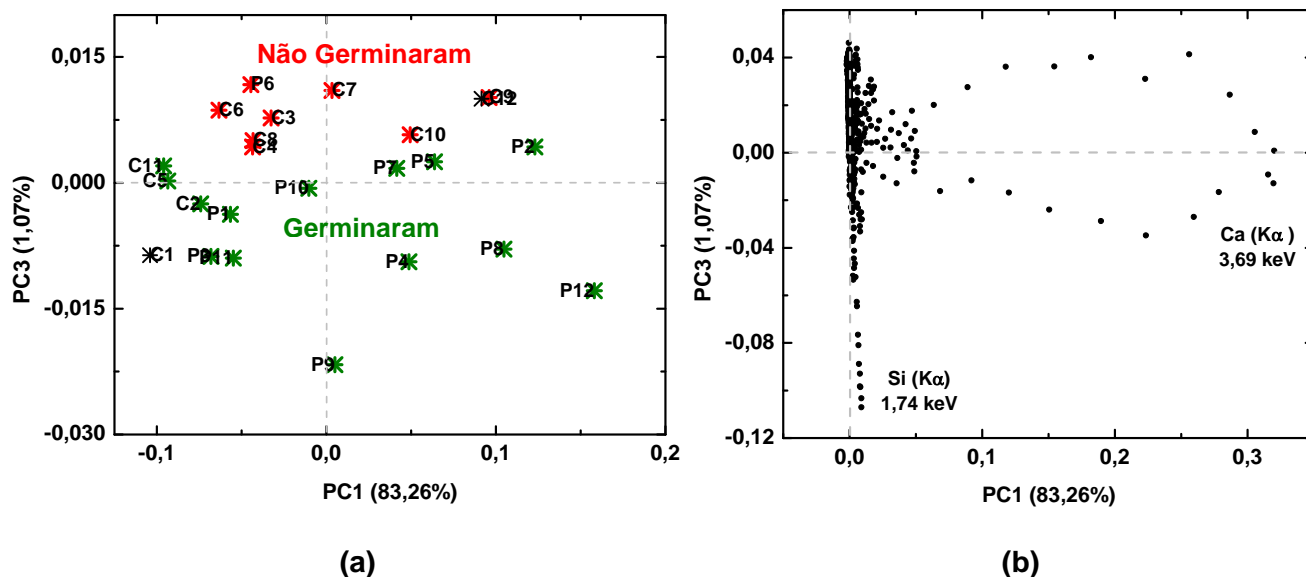


Figura 34. Gráfico de (a) *scores* e (b) *loadings* para PC1 \times PC3 dos espectros de XRF das amostras de feijão, que revelam uma tendência agrupamento das amostras que germinaram (*) e das que não germinaram (*), onde C = carioca e P = preto.

A partir do gráfico de *loadings* da Figura 34-b, nota-se que principalmente o teor de silício está relacionado com essa tendência de classificação, na qual as amostras que obtiveram uma maior concentração de silício tenderam à germinação, com exceção das amostras C1 e C12. A literatura demonstra relação entre o silício e aspectos estruturais, fisiológicos e bioquímicos dos vegetais, com diversas funções. Esse elemento atua de forma a proporcionar melhores condições para suportar adversidades climáticas, biológicas e até relacionadas ao solo. Além disso, o silício pode minimizar os efeitos causados por metais pesados e/ou tóxicos, e reduzir a susceptibilidade das plantas a doenças causadas por fungos (RODRIGUES *et al.*, 2011). Todos esses benefícios relacionados ao silício podem proporcionar um aumento na produção de feijão de boa qualidade.

A Figura 35, gráfico de linha de *loadings*, revela que além do silício, os teores de alumínio, enxofre, potássio, cálcio, ferro e o espalhamento de raios X provocado pela parte orgânica também apresentam influência na PC3, ou seja, na tendência de classificação das amostras que germinaram. Dessa forma, pode-se inferir que dentre os fatores intrínsecos para a germinação dos grãos de feijão, os teores desses elementos e compostos são importantes, com principal destaque para o teor de silício.

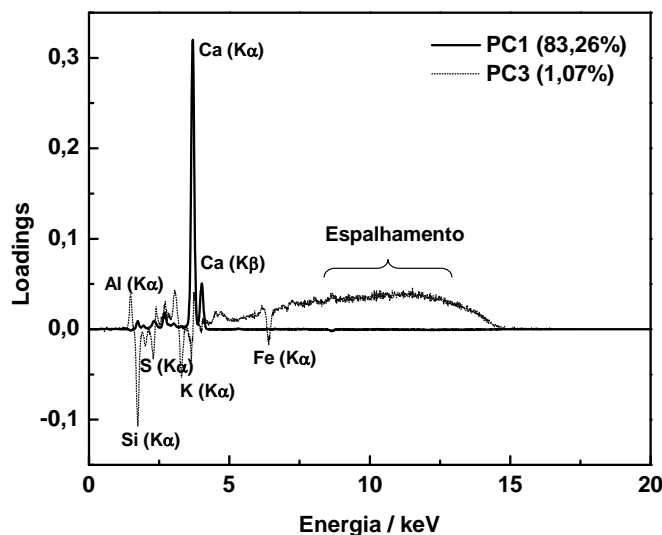


Figura 35. Gráfico de linha de *loadings* de PC1 e PC3 dos espectros de XRF das amostras de feijão.

Esses resultados representam perspectivas para a criação de um modelo quimiométrico que relacione importantes informações sobre o desenvolvimento inicial do feijão, a partir dos espectros de XRF das sementes, eventualmente para estabelecer índices de germinação em função do teor dos elementos. Assim, seria possível selecionar grãos mais produtivos para comercialização.

CAPÍTULO 5:
CONCLUSÕES

5.1. Cosméticos

5.1.1. Creme hidratante

Os resultados obtidos indicaram que a proposta pode ser uma alternativa rápida, de baixo custo e sem consumo de reagentes para se verificar simultaneamente a presença de PABA e PG em cremes hidratantes, um dos cosméticos mais utilizados e que atende um público altamente diversificado. Os modelos supervisionados KNN e PLS-DA reforçaram a aplicação da proposta ao permitirem classificar as amostras externas com 100% de acerto para a presença de ambos os compostos.

5.1.2. Esmalte de unha

Os resultados obtidos permitiram verificar que o método desenvolvido representa uma alternativa rápida, de baixo custo operacional e sem consumo de reagentes para verificar a presença de metais em esmaltes de unha, que é um produto de expressivo uso atualmente.

Paralelamente, associar XRF e quimiometria mostrou ser eficiente para verificar a presença de TSFR nestas amostras, tendo sido possível notar que a maior parte das marcas brasileiras estudadas usa a referida resina, apesar de diversos estudos comprovarem o seu caráter alergênico. Os modelos supervisionados KNN e PLS-DA reforçaram a aplicação da proposta ao permitirem classificar as amostras externas com 100% de acerto.

Além disso, ao encontrar um vestígio de esmalte de unha em superfícies como paredes ou papel, ou mesmo um pedaço de unha pintada, a identificação da marca do esmalte pode trazer importantes conclusões durante a investigação de um crime. Nesse contexto, a XRF associada à quimiometria revelou-se como uma potencial ferramenta para que futuramente sejam desenvolvidas metodologias aplicadas às amostras reais da ciência forense, relacionadas a rastros de esmalte.

5.2. Alimentos

5.2.1. Leite em pó

A quantificação dos elementos presentes nessas amostras demonstrou que o composto lácteo (mistura de gordura vegetal e soro de leite em pó) tem menor concentração de elementos relacionados aos compostos inorgânicos, quando comparado aos leites em pó (integral ou desnatado). A análise exploratória dos espectros de XRF, realizada com PCA permitiu diferenciar as amostras de leite em pó integral, desnatado e os compostos lácteos. Os modelos PLS desenvolvidos resultaram em previsões adequadas para a quantificação de adulterantes (amido e soro) em leite em pó. Nesse contexto, a combinação da XRF e da quimiometria representou uma opção adequada para a análise da qualidade e pode servir para a fiscalização desse produto.

5.2.2. Feijão

Há uma tendência de classificação entre os grãos que germinaram e os que não germinaram no período estudado em função principalmente do teor de silício, o que pode gerar um modelo que traga informações relevantes para a previsão do desenvolvimento inicial dessa planta a partir de dados obtidos diretamente dos grãos.

CAPÍTULO 6:
TRATAMENTO DE RESÍDUOS

No desenvolvimento de todo o trabalho, não foram utilizados reagentes e não foram gerados resíduos que precisam ser tratados. Todos os materiais residuais, como sobras de cosméticos ou alimentos, foram reutilizados ou descartados em lixo comum, sem custos operacionais ou riscos de contaminação.

CAPÍTULO 7:
PERSPECTIVAS

Considerando-se os resultados favoráveis deste trabalho na aplicação de quimiometria aos dados de XRF, com medidas simples, rápidas, de baixo custo e sem necessidade de preparo de amostras, vislumbra-se a possibilidade de expandir os tipos de alimentos e cosméticos a serem analisados.

Outra vertente de trabalhos que podem surgir a partir dos resultados positivos deste, envolve a construção de modelos quimiométricos de calibração multivariada com espectros de XRF para a quantificação de TSFR em esmalte de unha e de PABA e PG em cremes hidratantes.

Os resultados obtidos para os grãos de feijão geram perspectivas para a criação de um modelo quimiométrico que origine informações relacionadas à germinação dessas plantas, a partir dos espectros obtidos da semente. Esses modelos poderiam inclusive apresentar informações úteis para a tentativa de estabelecer um índice de probabilidade de germinação em função dos teores dos elementos.

CAPÍTULO 8:
REFERÊNCIAS

AIDAR, H.; SARTORATO, A.; RAVA, C. A.; FERREIRA, C. M.; DA SILVA, C. C.; VIEIRA, E. H. N.; QUINTELA, E. D.; FERREIRA, E.; MERCANTE, F. M.; DE OLIVEIRA, I. P.; FONSECA, J. R.; DA SILVA, J. G.; DE FARIA, J. C.; YOKOYAMA, L. P.; DE FARIA, L. C.; STONE, L. F.; TEIXEIRA, M. G.; PELOSO, M. J. D.; BARBOSA FILHO, M. P.; FAGÉRIA, N. K.; DA SILVA, O. F.; DA SILVEIRA, P. M.; STRALIOTTO, R.; DA SILVA, S. C.; STEINMETZ, S.; COBUCCI, T.; Cultivo do feijoeiro comum, **Embrapa Arroz e Feijão-Sistemas de Produção**, v. 2, 2003.

ANDERSON, J. W.; SMITH, B. M.; WASHNOCK, C. S.; Cardiovascular and renal benefits of dry bean and soybean intake, **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 70, n. 3, p. 464S-474S, 1999.

ANGEYO, K. H.; GARI, S.; MUSTAPHA, A. O.; MANGALA, J. M.; Feasibility for direct rapid energy dispersive X-ray fluorescence (EDXRF) and scattering analysis of complex matrix liquids by partial least squares, **Applied Radiation and Isotopes**, v. 70, p. 2596-2601, 2012.

ANTUNES, P. L.; SGARBIERI, V. C.; Fatores antinutricionais, toxicidade e valor nutricional do feijão comum (*Phaseolus vulgaris*, L.), **Agros**, v. 15, n. 1, p. 39-62, 1980.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 162 de 11 de setembro de 2001. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br>>. Acesso em 07 de mai. 2013.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 211, de 14 de julho de 2005. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br>>. Acesso em 07 de mai. 2013.

BARKER, M.; RAYENS, W.; Partial least squares for discrimination, **Journal of Chemometrics**, v. 17, p. 166-173, 2003.

BARR, L.; METAXAS, G.; HARBACH, C. A. J.; SAVOYC, L. A.; DARBRED, P. D.; Measurement of paraben concentrations in human breast tissue at serial locations across the breast from axilla to sternum, **Journal of Applied Toxicology**, v. 32, n. 3, p. 219-232, 2012.

BEEBE, K. R.; PELL, R. J.; SEASHOLTZ, M. B.; **Chemometrics: A Practical Guide**, 1. ed. New York: John Wiley & Sons, 1998.

BELL, S.; Forensic Chemistry, **Annual Review of Analytical Chemistry**, v. 2, p. 297-319, 2009.

BEWLEY, J. D.; BLACK, M.; **Physiology and biochemistry of seeds: in relation to germination**, 1. ed. Berlin: Springer, 1982.

BLANCO, E.; CASAIS, M. D. C.; MEJUTO, M. D. C.; CELA, R.; Combination of off-line solid-phase extraction and on-column sample stacking for sensitive determination of parabens and p-hydroxybenzoic acid in waters by non-aqueous capillary electrophoresis, **Analytica Chimica Acta**, v. 647, n. 1, p. 104-111, 2009.

BOMBO, A. B.; **Anatomia, análise do óleo essencial e germinação de sementes de três espécies de Viguiera Kunth (Asteraceae - Heliantheae)**; 2012, 87 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) – Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

BONA, I. A. T.; SARKIS, J. E. S.; SALVADOR, V. L. R.; SOARES, A. L. R.; KLAMT, S. C.; Análise Arqueométrica de Cerâmica Tupiguarani da Região Central do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil, Usando Fluorescência de Raios X por Dispersão de Energia (EDXRF), **Química Nova**, v. 30, n. 4, p. 785-790, 2007.

BORTOLETO, G. G.; GORAIEB, K.; SOUSA, R. A.; BUENO, M. I. M. S.; Simultaneous Determination of Ca, P, Na, K, Mg, Cl, Urea, Glucose and Creatinine in Urine by Energy Dispersive X-Ray Spectrometry and Partial Least Squares Regression, **Atomic Spectroscopy**, v. 32, n. 4, p. 145-151, 2011.

BRUNS, R. E.; FAIGLE, J. F. G.; Quimiometria, **Química Nova**, v. 8, n. 2, p. 84-99, 1985.

BUZINARO, E. F.; ALMEIDA, R. N. A.; MAZETO, G. M.F.S.; Biodisponibilidade do cálcio dietético, **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 50, n. 5, p. 852-861, 2006.

CECCHI, H. M.; **Fundamentos Teóricos e Práticos em Análise de Alimentos**, 2. ed. Campinas: Editora UNICAMP, 2007.

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

COSMETICS INFO – **Nail Products; Skin Care Products**. Disponível em: <<http://www.cosmeticsinfo.org>>. Acesso em 07 de mai. 2013.

CQUALI LEITE – **Monitoramento da Qualidade do Leite**. Disponível em: <<http://www.cquali.gov.br>>. Acesso em 07 de mai. 2013.

CRF-GO – Conselho Regional de Farmácia do Estado de Goiás. Manual de Diretrizes Indústria Cosmética de Agosto de 2010.

DA-COL, J. A.; SANCHEZ, R. O.; TERRA, J.; BUENO M. I. M. S.; Análise exploratória rápida e não destrutiva (*screening*) da presença de elementos químicos tóxicos em material escolar por fluorescência de raios X, **Química Nova**, no Prelo, 2013.

DARBRE, P. D.; ALJARRAH, A.; MILLER, W. R.; COLDHAM, N. G.; SAUER, M. J.; POPE, G. S.; Concentrations of parabens in human breast tumours, **Journal of Applied Toxicology**, v. 24, n. 1, p. 5-13, 2004.

DE GALDEANO, C. S.; AGUIRRE, A.; RATÓN, J. A.; ZABALA, R.; LANDA, N.; DIAZ-PEREZ, J. L.; Contact dermatitis from a moisturizing cream, **Contact Dermatitis**, v. 30, n. 1, p. 50-51, 1994.

DE SOUZA, A. M.; BREITKREITZ, M. C.; FILGUEIRAS, P. R.; ROHWEDDER, J. J. R.; POPPI, R. J.; Experimento didático de quimiometria para calibração multivariada na determinação de paracetamol em comprimidos comerciais utilizando espectroscopia no infravermelho próximo: um tutorial, parte II, **Química Nova**, no Prelo, 2013.

DE SOUZA, A. M.; POPPI, R. J.; Experimento didático de quimiometria para análise exploratória de óleos vegetais comestíveis por espectroscopia no infravermelho médio e análise de componentes principais: um tutorial, parte I, **Química Nova**, v. 35, n. 1, p. 223-229, 2012.

FAVARO, M. M. A.; **Exploração de dados multivariados de fontes e extratos de antocianinas utilizando análise de componentes principais e método do vizinho mais próximo**; 2012, 146 f. Tese (Doutorado em Química Analítica) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

FAVARO, P. C.; BODE, P.; DE NADAI FERNANDES, E. A.; Trace elements in nail polish as a source of contamination of nail clippings when used in epidemiological studies, **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 264, n. 1, p. 61-65, 2005.

FAVARO, S. P.; DE SÁ, M. C.; IDA, E. I.; BRAGA NETO, J. A.; Cor de feijão vagem fresco e processado após aplicação de cálcio, **Scientia Agricola**, v. 57, n. 3, p. 561-563, 2000.

FAZENDA, J. M. R.; **Tintas e vernizes: ciência e tecnologia**, 3. ed. São Paulo: Edgard Blucher, 2005.

FERRÃO, M. F.; MELLO, C.; BORIN, A.; MARETTO, D. A.; POPPI, R. J.; LS-SVM: uma nova ferramenta quimiométrica para regressão multivariada. Comparação de modelos de regressão LS-SVM e PLS na quantificação de adulterantes em leite em pó empregando NIR, **Química Nova**, v. 30, n. 4, p. 852-859, 2007.

FERREIRA, M. M. C.; ANTUNES, A. M.; MELGO, M. S.; VOLPE, P. L. O.; Quimiometria I: calibração multivariada, um tutorial, **Química Nova**, v. 22, n. 5, p. 724-731, 1999.

FERREIRA, P. C.; PIAI, K. A.; TAKAYANAGUI, A. M. M.; SEGURA-MUÑOZ, S. I.; Alumínio como fator de risco para a doença de Alzheimer, **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v. 16, n. 1, p. 151-157, 2008.

FIMREITE, N.; HANSEN, O. O.; PETERSEN, H. C.; Aluminium concentrations in selected foods prepared in aluminium cookware, and its implications for human health, **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 58, n. 1, p. 1-7, 1997.

FISHER, A. A.; Paraben dermatitis due to a new medicated bandage: the “paraben paradox”, **Contact Dermatitis**, v. 5, n. 4, p. 273-274, 1979.

FUNK, J. O.; MAIBACH, H. I.; Propylene glycol dermatitis: re-evaluation of an old problem, **Contact Dermatitis**, v. 31, n. 4, p. 236-241, 1994.

GEAHCHAN, A.; PIERSON, M.; CHAMBON, P.; Gas-chromatographic determination of preservatives in rennet, **Journal of Chromatography**, v. 176, n. 1, p. 123-125, 1979.

GELADI, P.; KOWALSKI, B.; Partial least squares regression: A tutorial, **Analytica Chimica Acta**, v. 185, p. 1-17, 1986.

GIL, E. S.; ANDRADE, C. H.; BARBOSA, N. L.; BRAGA, R. C.; SERRANO, S. H. P.; Cyclic voltammetry and computational chemistry studies on the evaluation of the redox behavior of parabens and other analogues, **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, n. 3, p. 565-572, 2012.

GONÇALVES, E. C. B. A.; TEODORO, A. J.; TAKASE, I.; Teores de cobre em extratos de carne in natura e processada, **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 2, p. 298-302, 2007.

GORAIEB, K.; ALEXANDRE, T. L.; BUENO, M. I. M. S.; X-ray spectrometry and chemometrics in sugar classification, correlation with degree of sweetness and specific rotation of polarized light, **Analytica Chimica Acta**, v. 595, n. 1-2, p. 170-175, 2007.

GORAIEB, K.; **Uso de Quimiometria aliada a Espectroscopia de Raios-X para caracterização de Al em aluminossilicatos e em sílicas modificadas com Al₂O₃**; 2009, 129 f. Tese (Doutorado em Química Analítica) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

GORDON, A.; COULSON, S.; The evidential value of cosmetic foundation smears in forensic casework, **Journal of Forensic Sciences**, v. 49, n. 6, p. 1244-1252, 2004.

GREGER, J. L.; GOETZ, W.; SULLIVAN, D.; Aluminum levels in foods cooked and stored in aluminum pans, trays and foil, **Journal of Food Protection**, v. 48, n. 9, p. 772-777, 1985.

GRESHAM, G. L.; GROENEWOLD, G. S.; BAUER, W. F.; INGRAM, J. C.; Secondary ion mass spectrometric characterization of nail polishes and paint surfaces, **Journal of Forensic Science**, v. 45, n. 2, p. 310-323, 2000.

HAN, X. Y.; ZHUO, S. J.; SHEN, R. X.; WANG, P. L.; JI, A.; Comparison of the quantitative results corrected by fundamental parameter method and difference calibration specimens in X-ray fluorescence spectrometry, **Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer**, v. 97, n. 1, 2006.

HANGEN, L.; BENNINK, M. R.; Consumption of black beans and navy beans (*Phaseolus vulgaris*) reduced azoxymethane-induced colon cancer in rats, **Nutrition and Cancer**, v. 44, n. 1, p. 60-65, 2002.

HAUSEN, B. M.; A simple method of determining TS-F-R in nail polish, **Contact Dermatitis**, v. 32, n. 3, p. 188-190, 1995.

HENDLER, S. S.; **A enciclopédia de vitaminas e minerais**, 9. ed. Rio de Janeiro: Campus, 2002.

HORIGUCHI, Y.; HONDA, T.; FUJII, S.; MATSUSHIMA, S.; OSAKI, Y.; A case of allergic contact dermatitis from propylene glycol in an ultrasonic gel, sensitized at a leakage skin injury due to transcatheter arterial chemoembolization for hepatocellular carcinoma, **International Journal of Dermatology**, v. 44, n. 8, p. 681-683, 2005.

IORIZZO, M.; PIRACCINI, B. M.; TOSTI, A.; Nail cosmetics in nail disorders, **Journal of Cosmetic Dermatology**, v. 6, p. 53-58, 2007.

IVANOVIC, D.; MEDENICA, M.; NIVAUDGUERNET, E.; GUERNET, M.; Effect of pH on the retention behavior of some preservatives-antioxidants in reversed-phase high-performance liquid-chromatography, **Chromatographia**, v. 40, n. 11, p. 652-656, 1995.

JENKINS, R.; DE VRIES, J. L.; **Practical X-Ray Spectrometry**, 2. ed. New York: Springer, 1970.

JENKINS, R.; **X-Ray Fluorescence**, 2. ed. New York: Wiley-Interscience, 1999.

KANERVA, L.; ELSNER, P.; WAHLBERG, J. E.; MAIBACH, H. I. (Eds.); **Condensed Handbook of Occupational Dermatology**, 1. ed. Heidelberg: Springer, 2004.

KANIU, M. I.; ANGEYO, K. H.; MWALA, A. K.; MANGALA, M. J.; Direct rapid analysis of trace bioavailable soil macronutrients by chemometrics-assisted energy dispersive X-ray fluorescence and scattering spectrometry, **Analytica Chimica Acta**, v. 729, p. 21-25, 2012a.

KANIU, M. I.; ANGEYO, K. H.; MWALA, A. K.; MWANGI, F. K.; Energy dispersive X-ray fluorescence and scattering assessment of soil quality via partial least squares and artificial neural networks analytical modeling approaches, **Talanta**, v. 98, p. 236-240, 2012b.

KAWAGUCHI, M.; IRIE, K.; MOROHOSHI, K.; WATANABE, G.; TAYA, K.; MORITA, M.; KONDO, Y.; IMAI, H.; HIMI, T.; Maternal isobutyl-paraben exposure alters anxiety and passive avoidance test performance in adult male rats, **Neuroscience Research**, v. 65, n. 2, p. 136-140, 2009.

KAWAGUCHI, M.; MOROHOSHI, K.; IMAI, H.; MORITA, M.; KATO, N.; HIMI, T.; Maternal Exposure to Isobutyl-Paraben Impairs Social Recognition in Adult Female Rats, **Experimental Animals**, v. 59, n. 5, p. 631-635, 2010.

LEATHWOOD, P.; POLLET, R.; Effects of slow release carbohydrates in the form of bean flakes on the evolution of hunger and satiety in man, **Appetite**, v. 10, n. 1, p. 1-11, 1988.

LIDÉN, C.; BERG, M.; FÄRM, G.; WRANGSJÖ, K.; Nail varnish allergy with far-reaching consequences, **British Journal of Dermatology**, v. 128, n. 1, p. 57-62, 1993.

MATOS, G. D.; PEREIRA-FILHO, E. R.; POPPI, R. J.; ARRUDA, M. A. Z.; Análise exploratória em química analítica com emprego de quimiometria: PCA e PCA de imagens, **Revista Analytica**, v. 6, p. 38-50, 2003.

MELQUIADES, F. L.; BORTOLETO, G. G.; MARCHIORI, L. F. S.; BUENO, M. I. M. S.; Direct determination of sugar cane quality parameters by X-ray spectrometry and multivariate analysis, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 43, p. 10755-10761, 2012.

MILAN, A. L. K.; MILÃO, D.; SOUTO, A. A.; CORTE, T. W. F.; Estudo da hidratação da pele por emulsões cosméticas para xerose e sua estabilidade por reologia, **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, n. 4, p. 649-657, 2007.

MONTEDO, O. R. K.; BERTRAN, F. M.; PICOLLI, R.; HOTZA, D.; DE OLIVEIRA, A. P. N.; **Obtenção de Pigmentos de Óxido de Ferro a partir de Resíduos Siderúrgicos**, In: 48º Congresso Brasileiro de Cerâmica, 2004, Curitiba – PR, Anais 48º Congresso Brasileiro de Cerâmica, Curitiba: Associação Brasileira de Metalurgia, Materiais e Mineração, 2004.

MOOSSAVI, M.; SCHER, R. K.; Nail care products, **Clinics in Dermatology**, v. 19, n. 4, p. 445-448, 2001.

O'NEILL, E.; HARRINGTON, D.; ALLISON, J.; Interpretation of laser desorption mass spectra of unexpected inorganic species found in a cosmetic sample of forensic interest: fingernail polish, **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 394, n. 8, p. 2029-2038, 2009.

ORTIZ, R. S.; MARIOTTI, K. C.; SCHWAB, N. V.; SABIN, G. P.; ROCHA, W. F. C.; CASTRO, E. V. R.; LIMBERGER, R. P.; MAYORGA, P.; BUENO, M. I. M. S.; ROMÃO, W.; Fingerprinting of sildenafil citrate and tadalafil tablets in pharmaceutical formulations via X-ray fluorescence (XRF) spectrometry, **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 58, p. 7-11, 2012.

PARK, C. J.; NAH, W. H.; LEE, J. E.; OH, Y. S.; GYE, M. C.; Butyl paraben-induced changes in DNA methylation in rat epididymal spermatozoa, **International Journal of Andrology**, v. 44, n. 1, p. 187-193, 2012.

PEIXOTO, E. M. A.; Titânio, **Química Nova na Escola**, n. 23, 2006. Disponível em: <<http://qnesc.sbq.org.br/online/qnesc23/a14.pdf>>. Acesso em 04 de jul. 2013.

QUINTAES, K. D.; Utensílios para alimentos e implicações nutricionais, **Revista de Nutrição**, v. 13, n. 3, p. 151-156, 2000.

RODRIGUES, F. A.; OLIVEIRA, L. A.; KORNDÖRFER, A. P.; KORNDÖRFER, G. H.; Silício: um elemento benéfico e importante para as plantas, **Informações Agrônomicas**, n. 134, 2011.

ROMÃO, W.; FRANCO, M. F.; BUENO, M. I. M. S.; EBERLIN, M. N.; DE PAOLI, M-A.; Analysing Metals in Bottle-Grade Poly(ethylene terephthalate) by X-ray Fluorescence Spectrometry, **Journal of Applied Polymer Science**, v. 117, n. 5, p. 2993-3000, 2010.

ROUX, C.; LENNARD, C.; **X-Ray Fluorescence in Forensic Science - Encyclopedia of Analytical Chemistry**, New York: John Wiley & Sons, 2006.

SAINIO, E-L.; ENGSTRÖM K.; HENRIKS-ECKERMAN, M-L.; KANERVA, L.; Allergenic ingredients in nail polishes, **Contact Dermatitis**, v. 37, n. 4, p. 155-162, 1997.

SALINAS, R. D.; **Alimentos e nutrição: introdução à bromatologia**, 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2002.

SCHWAB, N. V.; DA-COL, J. A.; TERRA, J.; BUENO, M. I. M. S.; Fast Direct Determination of Titanium Dioxide in Toothpastes by X-Ray Fluorescence and Multivariate Calibration, **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, n. 3, p. 546-554, 2012.

SHANMUGAM, G.; RAMASWAMY, B. R.; RADHAKRISHNAN, V.; TAO, H.; GC-MS method for the determination of paraben preservatives in the human breast cancerous tissue, **Microchemical Journal**, v. 96, n. 2, p.391-396, 2010.

SHARAF, M. A.; ILLMAN, D. L.; KOWALSKI, B. R.; **Chemometrics**, 1. ed. New York: John Wiley & Sons, 1986.

SHERMAN, H. C.; **Chemistry of food and nutrition**, 3. ed. New York: Macmillan, 1928.

SHIMAMOTO, G. G.; KAZITORIS, B.; DE LIMA, L. F. R.; DE ABREU, N. D.; SALVADOR, V. T.; BUENO, M. I. M. S.; DE CASTRO, E. V. R.; FILHO, E. A. S.; ROMÃO, W.; Quantificação

de antimônio em garrafas de politereftalato de etileno (PET) brasileiras por fluorescência de raios-X e avaliação quimiométrica para verificar a presença de pet reciclado através do teor de ferro, **Química Nova**, v. 34, n. 8, p. 1389-1393, 2011.

SILVA, R. M. C.; NASCIMENTO FILHO, V. F.; APPOLONI, C. R.; Fluorescência de raios X por dispersão em energia, **LFNATEC - Publicação Técnica do Laboratório de Física Nuclear Aplicada**, v. 8, n. 4, p. 1-19, 2004.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**, 6. ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 2000.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NILMAN, T. A.; **Princípios da Análise Instrumental**, 5. ed. Porto Alegre: Bookman, 2002.

TERRA, J.; ANTUNES, A. M.; PRADO, M. A.; BUENO, M. I. M. S.; Energy value determinations of industrialized foods: the potential of using X-ray spectroscopy and partial least squares, **X-Ray Spectrometry**, v. 39, n. 3, p. 167-175, 2010.

TROUILLER, B.; RELIENE, R.; WESTBROOK, A.; Titanium Dioxide Nanoparticles Induce DNA Damage and Genetic Instability In vivo in Mice, **Cancer Research**, v. 69, n. 22, p. 8784-8789, 2009.

TSUJI, K.; INJUK, J.; GRIEKEN, V.; **X-Ray Spectrometry: Recent Technological Advances**, 1. ed. Chichester: Wiley, 2004.

TUBINO, M.; SIMONI, J. A.; Refletindo sobre o caso celobar®, **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 505-506, 2007.

VISWANATHAN, M.; RAMACHANDRAN, A.; INDIRA, P.; SNEHALATHA, C.; MOHAN, V.; KYMAL, P. K.; Responses to legumes in NIDDM subjects: lower plasma glucose and higher insulin levels, **Nutrition Reports International**, v. 40, p. 803-812, 1989.

WARD, A.; NIELSEN, A. L.; MØLLER, H.; Rapid Assessment of Mineral Concentration in Meadow Grasses by Near Infrared Reflectance Spectroscopy, **Sensors**, v. 11, p. 4830-4839, 2011.

WARSHAW, E. M.; BOTTO, N. C.; MAIBACH, H. I.; FOWLER, J. F. JR.; RIETSCHER, R. L.; ZUG, K. A.; BELSITO, D. V.; TAYLOR, J. S.; DELEO, V. A.; PRATT, M. D.; SASSEVILLE, D.; STORRS, F. J.; MARKS, J. G. JR.; MATHIAS, C. G.; Positive patch-test reactions to propylene glycol: a retrospective cross-sectional analysis from the North American Contact Dermatitis Group, 1996 to 2006, **Dermatitis**, v. 20, n. 1, p. 14-20, 2009.

WASTOWSKI, A. D.; DA ROSA, G. M.; CHERUBIN, M. R.; RIGON, J. P. G.; Caracterização dos níveis de elementos químicos em solo, submetido a diferentes sistemas de uso e manejo, utilizando espectrometria de fluorescência de raios-x por energia dispersiva (EDXRF), **Química Nova**, v. 33, n. 7, p. 1449-1452, 2010.

WEST, M.; ELLIS, A.T.; POTTS, P.J.; STRELI, C.; VANHOOF, C.; WEGRZYNEK, D.; WOBRAUSCHEK, P.; Atomic spectrometry update - X-ray fluorescence spectrometry, **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 27, n. 10, p. 1603-1644, 2012.

WILLIAMS, P.C.; **Variables affecting near-infrared reflectance spectroscopic analysis**, In: Near Infrared Technology in the Agriculture and Food Industries (WILLIAMS e NORRIS, eds), 1. ed. St. Paul: The American Association of Cereal Chemists, 1987.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – **Chemical hazards in drinking-water-aluminium**. Disponível em: <http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/aluminium/en/>. Acesso em 07 de mai. 2013.

ZHOU, T.; ZHANG, H. Y.; DUAN, G. L.; Simultaneous determination of diethylene glycol and propylene glycol in pharmaceutical products by HPLC after precolumn derivatization with p-toluenesulfonyl isocyanate, **Journal of Separation Science**, v. 30, n. 16, p. 2620-2627, 2007.