



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
INSTITUTO DE QUÍMICA  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA  
Grupo de Espectroscopia de Raios X

DETERMINAÇÃO DE DIÓXIDO DE TITÂNIO EM CREMES DENTAIS POR  
FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X E CALIBRAÇÃO MULTIVARIADA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Nicolas Vilczaki Schwab

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Izabel Marette Silveira Bueno

CAMPINAS  
FEVEREIRO, 2011

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE QUÍMICA DA UNICAMP**

Sch19d Schwab, Nicolas Vilczaki.  
Determinação de dióxido de titânio em cremes dentais por fluorescência de raios X e calibração multivariada / Nicolas Vilczaki Schwab. -- Campinas, SP: [s.n], 2011.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Izabel Maretti Silveira Bueno.

Mestrado - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química.

1. PLS. 2. Dióxido de titânio. 3. Fluorescência de raio X. 4. Cremes dentais. I. Bueno, Maria Izabel Maretti Silveira. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. III. Título.

**Título em inglês:** Titanium dioxide determination in toothpastes by X-ray fluorescence and multivariate calibration

**Palavras-chaves em inglês:** PLS, Titanium dioxide, X-ray fluorescence, Toothpastes

**Área de concentração:** Química Analítica

**Titulação:** Mestre em Química na área de Química Analítica

**Banca examinadora:** Profa. Dra. Maria Izabel Maretti Silveira Bueno (orientadora), Profa. Dra. Noemi Nagata (DQ-UFPR), Prof. Dr. Ronei Jesus Poppi (IQ-UNICAMP)

**Data de defesa:** 17/02/2011

*Aos meus queridos, amados e idolatrados pais.  
Meu eterno agradecimento, por todo carinho e amor.*

*“If you're not part of the solution, you're part of the precipitate - Henry J. Tillman”*

## **AGRADECIMENTOS**

A Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Izabel Maretti Silveira Bueno, sempre demonstrando simpatia, bom humor e nunca deixando de acreditar em mim.

Aos meus amigos do GERX (Guto, Vinicius, Jut, Rafa, Alê, Bárbara), pela ajuda e companhia.

Aos Prof(s). Dr(s). Ronei Jesus Poppi e Ana Valéria C. S. Cantú, pelas importantes contribuições a esta dissertação.

Ao Prof. Dr. Celso Aparecido Bertran, por gentilmente disponibilizar em seu laboratório as muflas para realizar o preparo das amostras.

A todos os amigos de Guarapuava, pois a amizade perdura até hoje.

Aos amigos da República (sem nome até hoje) pelas inusitadas e divertidas situações ocorridas.

A Cíntia pelas conversas sempre hilárias e absurdas.

A toda direção e aos funcionários do Instituto de Química da Unicamp pelo apoio acadêmico e técnico.

Ao seu Duda, o avô mais “underground” que alguém poderia ter.

A CAPES pelo apoio financeiro.

## Currículo

---

### 1. Dados pessoais

---

**Nome:** Nicolas Vilczaki Schwab

**Fone:** (19) 9797-9590

**E-mail:** [nicoschwab@gmail.com](mailto:nicoschwab@gmail.com)

### 2. Formação Acadêmica (Graduação e Pós-Graduação)

---

**Curso Superior:** Química Bacharelado

**Instituição:** Universidade Estadual do Centro-Oeste – UNICENTRO

**Situação:** Concluído (Dez/2007)

### 3. Produção Científica

---

#### 3.1. Resumo do trabalho científico apresentado em congresso

SCHWAB, N. V.; DA-COL, J. A; TERRA, J. ; BUENO, M. I. M. S. Determination of Titanium Dioxide in Toohpastes by EDXRF and Multivariate Calibration. In 11<sup>th</sup> Rio Symposium on Atomic Spectrometry, 2010, Mar Del Plata – Argentina. Caderno de Resumos do 11<sup>th</sup> Rio Symposium on Atomic Spectrometry, 2010.

SCHWAB, N. V.; DA-COL, J. A; TERRA, J. ; BUENO, M. I. M. S. Investigating the Presence of Toxic Elements in Crayons and Modeling Clays by X-ray Fluorescence. In 11<sup>th</sup> Rio Symposium on Atomic Spectrometry, 2010, Mar del Plata – Argentina. Caderno de Resumos do 11th Rio Symposium on Atomic Spectrometry, 2010.

SCHWAB, N. V.; DA-COL, J. A; TERRA, J. ; BUENO, M. I. M. S. Determinação de Abrasivos em Cremes Dentais por Fluorescência de Raios X. In: I Congresso de Iniciação Científica e Pós-Graduação, 2010, Florianópolis. Resumo on-line disponível em: [www.cicpg.udesc.br](http://www.cicpg.udesc.br), 2010

SCHWAB, N. V.; TERRA, J.; Da-Col, J. A; BUENO, M. I. M. S. Comparação de PLS e LS-SVM na Quantificação de Teores de Proteína em Farinhas de Soja por EDXRF. In: 33<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2010, Águas de Lindóia. Caderno de Resumos da 33<sup>a</sup> Reunião da Sociedade Brasileira de Química, 2010.

## 3.2. Publicação

### 3.2.1. Artigos submetidos

**Título:** Ecstasy and m-CPP Tablets Analyzed by Easy Ambient Sonic-Spray Ionization Mass Spectrometry and X-Ray Fluorescence.

**Autores:** Nicolas V. Schwab, Wanderson Romão, Gustavo B. Sanvido, Maria F. Riccio, Emanuele A. Alves, Bruno D. Sabino, Adriano O. Maldaner, Maria Izabel M. S. Bueno, Marcos N. Eberlin.

**Título:** Fast Direct Determination of Titanium Dioxide in Toothpastes by X-Ray Fluorescence and Multivariate Calibration.

**Autores:** Nicolas V. Schwab, Juliana Terra, José Augusto Da-Col, Maria I. M. S. Bueno.

**Título:** Química Forense: Perspectivas sobre novas metodologias analíticas aplicadas à documentoscopia, balística e drogas de abuso.

**Autores:** Nicolas V. Schwab, Wanderson Romão, Andrea Martiny, Bruno D. Sabino, Adriano O. Maldaner, Regina Sparrapan, Marcos N. Eberlin, Eustáquio V. R. de Castro, Maria Izabel M. S. Bueno.

## 4. Outros

---

### 4.1. Monitorias

**Instituição:** UNICAMP – Programa de Estágio Docente C (PED C)

**Disciplinas:** QA216 / QA217 – Departamento de Química Analítica

**Período:** 2º Semestre de 2010

**Local:** Campinas / SP

### 4.2. Experiência Profissional na Área

**Vínculo:** Cooperativa Agrária Agroindustrial

**Enquadramento:** Analista de Laboratório

**Admissão/Demissão:** 05/2008 – 02/2009

**Local:** Guarapuava / PR

## RESUMO

O método de parâmetros fundamentais (PF), embora muito eficaz para a determinação elementar em fluorescência de raios X (FRX) em análise de amostras simples (como ligas e misturas de óxidos), é inviável para a quantificação em matrizes complexas, como cremes dentais. Por outro lado, ao contrário do método de PF, a quimiometria evita cálculos de coeficientes teóricos, relacionados à matriz da amostra e às características geométricas e instrumentais, permitindo ao sistema obter modelos com maior habilidade de previsão. Esse trabalho propõe uma metodologia para determinação de dióxido de titânio diretamente em pastas de dente com uso de calibração multivariada (PLS), usando como pré-tratamento das amostras em alguns casos, apenas a homogeneização e requerendo somente 5 minutos para a análise. Para construção do modelo foram analisadas 22 amostras de diversas marcas e tipos. O método proposto envolveu a utilização de espectros de FRX de pastas de dente e quimiometria, usando como valores de referência os obtidos pelo método de Parâmetros Fundamentais para as cinzas das mesmas amostras, método que requer pelo menos 8 horas para cada análise. Oito variáveis latentes foram necessárias para descrever o conjunto, tornando o modelo adequado para realizar análises diretas para as diferentes marcas encontradas no comércio brasileiro, sem que ocorra sobreajuste no modelo. Ele foi capaz de prever o teor de dióxido de titânio em amostras externas com erros de até 16% para 100 s e 9% para 700 s de irradiação; no entanto, sem diferença significativa entre os métodos, evidenciada estatisticamente pelo teste *t*, com 95% de confiança. Dessa forma, pode-se afirmar que a proposta é eficaz para a determinação de teores de  $\text{TiO}_2$  em matrizes complexas como as pastas de dentes, de forma rápida e com o mínimo preparo de amostra.

## ABSTRACT

The direct application of a fundamental parameters method in elemental determinations using X-ray fluorescence is not feasible for complex samples, like dentifrices or toothpastes, as it is for simpler samples, like alloys or mixtures of elemental oxides. However, instead of fundamental parameters method, chemometric methods, not based on the uncertainty of theoretical coefficients related to sample matrices and of geometrical and instrumental parameters, allow obtaining models with adequate prediction abilities. This work proposes a methodology to determine titanium dioxide contents directly in toothpastes, by applying Partial Least Square Regression, having as sample pretreatment just its homogenization, when required. The analytical frequency is very high, ca. 24 samples per hour. Twenty-two toothpaste samples having different Brazilian brand names and in diverse presentations were used to build and validate the model. Direct X-ray Fluorescence toothpaste spectra and chemometrics were considered, where the reference values of their  $\text{TiO}_2$  concentrations were obtained from fundamental parameters data of the ash of the same samples, requiring 8 hours to be obtained. Eight latent variables are necessary to describe the whole sample set and the Partial Least Square Regression model be able to make direct analysis of the different samples found on the Brazilian market, without over-fitting the model. The Partial Least Square Regression model is able to predict the content of  $\text{TiO}_2$  in external samples with average errors until 16% for 100 s and 9% for 700 s of irradiation, however, no significant difference between the methods, as statistically indicated by *t*-test, with 95% of confidence. The advantages of the proposed approach are mainly its speed, minimum sample preparation and robustness.

# SUMÁRIO

<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b> .....	<b>xii</b>
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	<b>xiv</b>
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	<b>xv</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
1.1. RAIOS X .....	2
1.2. ESPECTROMETRIA DE FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X .....	3
1.2.1. Fundamentos Teóricos .....	3
1.2.2. Fluorescência de Raios X por Energia Dispersiva .....	8
1.2.3. Interferências .....	9
1.3. MÉTODO DE PARÂMETROS FUNDAMENTAIS .....	12
1.4. QUIMIOMETRIA .....	15
1.4.1. Regressão por Quadrados Mínimos Parciais .....	16
1.5. VALIDAÇÃO E FIGURAS DE MÉRITO .....	18
1.6. TESTE DE HIPÓTESES .....	21
1.7. CREMES DENTAIS .....	22
1.8. DIÓXIDO DE TITÂNIO .....	24
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>26</b>
2.1. OBJETIVO GERAL .....	27
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	27
<b>3. EXPERIMENTAL</b> .....	<b>28</b>
3.1. CONDIÇÕES INSTRUMENTAIS .....	29
3.2. AMOSTRAS .....	30
3.3. ANÁLISE DAS CINZAS POR PARÂMETROS FUNDAMENTAIS .....	33

3.4. AVERIGUAÇÃO DA EXATIDÃO DOS TEORES OBTIDOS POR PARÂMETROS FUNDAMENTAIS.....	34
3.2. ANÁLISE DIRETA DE TiO <sub>2</sub> EM CREMES DENTAIS.....	34
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>36</b>
4.1. MODELO DE PLS PARA AMOSTRAS IRRADIADAS POR 100 SEGUNDOS ....	39
4.2. MODELOS DE PLS PARA AMOSTRAS IRRADIADAS POR 700 SEGUNDOS..	49
<b>5. CONCLUSÃO .....</b>	<b>58</b>
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>60</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS

Abreviatura	Descrição em inglês	Descrição em português
ANVISA	---	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
EDXRF	<i>Energy Dispersive X-ray Fluorescence</i>	Fluorescência de Raios X de Energia Dispersiva
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>	---
FRX	---	Fluorescência de Raios X
IARC	<i>International Agency for Research on Cancer</i>	Agência Internacional de Pesquisa sobre Câncer
ICP-OES	<i>Inductively Coupled Plasma – Optical Emission Spectroscopy</i>	Espectrometria de Emissão Ótica com Fonte de Plasma por Acoplamento Indutivo
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>	União Internacional de Química Pura e Aplicada
LOD	<i>Limit of Detection</i>	Limite de Detecção
LOQ	<i>Limit of Quantification</i>	Limite de Quantificação
PF	---	Parâmetros Fundamentais
PLS	<i>Partial Least Square</i>	Regressão por Quadrados Mínimos Parciais
$r_{cal}$	<i>Correlation coefficient of calibration</i>	Coeficiente de correlação da calibração

<b>Abreviatura</b>	<b>Descrição em inglês</b>	<b>Descrição em português</b>
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 da Validação Cruzada
$r_{val}$	<i>Correlation coefficient of validation</i>	Coefficiente de correlação da validação
SDV	<i>Standard Deviation of Validation</i>	Desvio Padrão dos Erros de Validação
SÊN	<i>Sensitivity</i>	Sensibilidade
VL	---	Variável Latente
WDXRF	<i>Wavelength-Dispersive X-ray Fluorescence Spectrometry</i>	Fluorescência de Raios X de Comprimento de Onda Dispersivo

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Composições das 22 amostras comerciais de cremes dentais analisadas, transcritas diretamente dos respectivos rótulos .....	35
<b>Tabela 2:</b> Concentrações médias (g/100 g) de dióxido de titânio nas cinzas e os valores ajustados em função da massa inicial dos cremes dentais (n = 3).....	44
<b>Tabela 3:</b> Resultados dos testes de recuperação de TiO <sub>2</sub> com diferentes concentrações em matriz de sílica (n = 3). .....	45
<b>Tabela 4:</b> Valores de RMSECV para 10 variáveis latentes do modelo PLS.....	49
<b>Tabela 5:</b> Valores e erros médios de previsão na validação interna dos teores de TiO <sub>2</sub> do modelo de PLS (n = 3).....	54
<b>Tabela 6:</b> Figuras de mérito do modelo multivariado na análise de TiO <sub>2</sub> nas amostras de cremes dentais.....	55
<b>Tabela 7:</b> Valores e erros médios de previsão para validação externa dos teores de TiO <sub>2</sub> , usando o modelo de PLS (n = 3). .....	55
<b>Tabela 8:</b> Valores de RMSECV das amostras irradiadas por 700 s. ....	57
<b>Tabela 9:</b> Valores e erros médios de previsão na validação interna para teores de TiO <sub>2</sub> para as amostras irradiadas por 700 s (n = 3).....	60
<b>Tabela 10:</b> Figuras de mérito para o modelo PLS com as amostras irradiadas por 700 s. ....	62
<b>Tabela 11:</b> Valores e erros médios de previsão para validação externa para os teores de TiO <sub>2</sub> usando o modelo de PLS, amostras irradiadas por 700 s (n = 3) .....	62

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Representação do efeito fotoelétrico e processo de estabilização do átomo envolvendo elétrons externos. ....	4
<b>Figura 2:</b> Representação do efeito Auger....	5
<b>Figura 3:</b> Diagrama de transições de raios X e suas respectivas denominações....	6
<b>Figura 4:</b> Rendimento da fluorescência de raios X em função do número atômico ....	7
<b>Figura 5:</b> Representação dos efeitos Compton e Rayleigh.....	8
<b>Figura 6:</b> Representação dos fenômenos de absorção; B: elemento interesse; Eb: Emissão de B; A: elementos interferentes; Ea: Emissão de A; I: Intensidade de B....	12
<b>Figura 7:</b> Representação dos fenômenos de intensificação; B: elemento interesse; Eb: Emissão de B; A: elementos interferentes; Ea: Emissão de A; I: Intensidade de B .....	13
<b>Figura 8:</b> Espectrômetro de fluorescência de raios X por energia dispersiva (EDX-700).....	35
<b>Figura 9:</b> (a) Componentes das celas de polietileno, (b) Cela pronta para ser irradiada.....	38
<b>Figura 10:</b> Celas de polietileno com filme Mylar® com cremes dentais antes e após a homogeneização.....	39
<b>Figura 11:</b> Espectros de raios X sobrepostos das 16 amostras de cremes dentais irradiadas diretamente, que compõem o conjunto de calibração. ....	47
<b>Figura 12:</b> Número de variáveis latentes, em função do RMSECV.....	48
<b>Figura 13:</b> Gráfico dos vetores dos coeficientes de regressão para o modelo de PLS a 100 s.....	48
<b>Figura 14:</b> Gráfico de loadings em função da energia para a primeira variável latente .....	49
<b>Figura 15:</b> Gráfico de loadings em função da energia, para a segunda e terceira variável latente (2 VL e 3 VL, respectivamente).....	50

<b>Figura 16:</b> Intensidade em função da concentração de titânio, após irradiação direta das pastas de dente (método univariado) .....	51
<b>Figura 17:</b> Gráfico de loadings em função da energia da quarta até a oitava variável latente .....	52
<b>Figura 18:</b> Curvas de correlação entre os valores de referência e os valores previstos dos teores de TiO <sub>2</sub> para calibração e validação interna, usando método multivariado .....	53
<b>Figura 19:</b> Espectros de raios X sobrepostos das 16 amostras de cremes dentais irradiadas diretamente por 700 segundos, que compõem o conjunto de calibração ..	56
<b>Figura 20:</b> Gráfico dos vetores dos coeficientes de regressão para o modelo de PLS a 700 s .....	56
<b>Figura 21:</b> Gráfico de loadings em função da energia para a primeira variável latente .....	57
<b>Figura 22:</b> Gráfico de loadings em função da energia para a segunda e terceira variável latente, respectivamente.....	58
<b>Figura 23:</b> Gráfico de loadings em função da energia da quarta até oitava variável latente .....	59
<b>Figura 24:</b> Curvas de correlação entre os valores de referência e os valores previstos para os teores de TiO <sub>2</sub> no modelo PLS, para calibração e validação interna das amostras irradiadas por 700 s.....	61

---

---

# **1. INTRODUÇÃO**

---

---

## 1.1. RAIOS X

Os raios X compreendem uma forma de radiação eletromagnética de pequeno comprimento de onda, descoberta pelo físico alemão Wilhelm Conrad Röntgen, em 1895 [1].

Röntgen, em 08 de novembro de 1895, estudava a condutividade dos gases [2], trabalhando com um tubo de Crookes que era coberto por uma blindagem de papelão preto. Um papel com platinocianeto de bário estava próximo dali. Ao passar uma corrente elétrica pelo tubo, ele notou uma linha preta peculiar no papel, que só poderia ser produzida pela passagem da luz. Mas, a princípio, nenhuma luz poderia provir do tubo, pois a blindagem que o cobria era opaca a qualquer radiação conhecida. Mesmo assim, Röntgen assumiu que o efeito deveria vir dali e o investigou. Em poucos minutos, descobriu que realmente estavam sendo produzidos raios “invisíveis” do tubo e que esses provocavam um efeito luminescente no papel. Ele notou também que objetos tornavam-se transparentes diante dos novos raios, que, por serem desconhecidos, foram chamados de raios X [3-4]. Em 1901, Röntgen foi laureado com o Prêmio Nobel da Física [3] e, posteriormente, seu nome foi dado ao elemento 111 da tabela periódica [5].

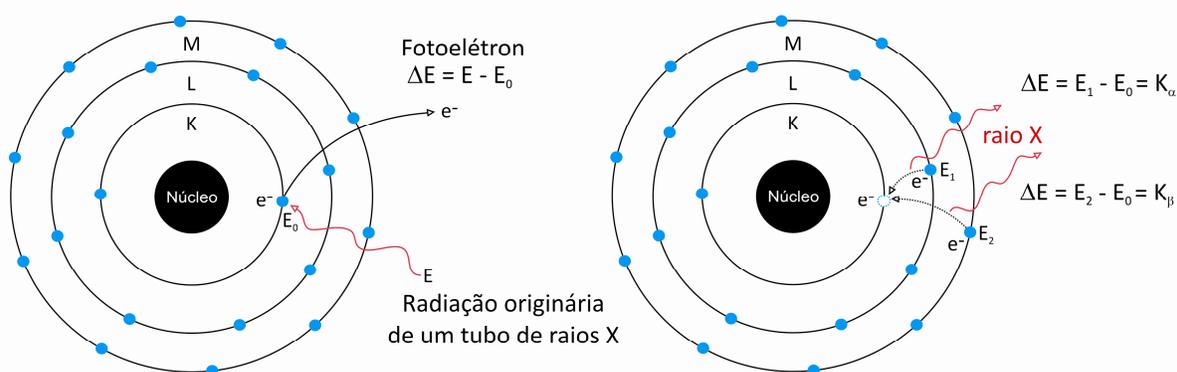
Na Primeira Guerra Mundial, o emprego em campo de equipamentos rústicos de raios X foi responsável por salvar milhares de vidas. A partir de 1950, técnicas baseadas em raios X se tornaram ferramentas importantes dentro da física teórica e desde então, seu uso vem crescendo em diversas áreas, como a de caracterização de materiais, por exemplo [2]. A tecnologia tem avançado hoje para um alto grau de sofisticação e alguns métodos tomográficos, também baseados em raios X, fornecem uma visão tridimensional quase completa de qualquer seção transversal do corpo humano, sendo uma poderosa ferramenta na área médica. Além disso, as técnicas analíticas baseadas em difração de raios X e espectrometria de raios X têm se tornado indispensáveis na análise e estudo de amostras orgânicas e inorgânicas, sendo amplamente utilizadas na área de pesquisa e na área industrial [1].

## 1.2. ESPECTROMETRIA DE FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X

### 1.2.1. Fundamentos Teóricos

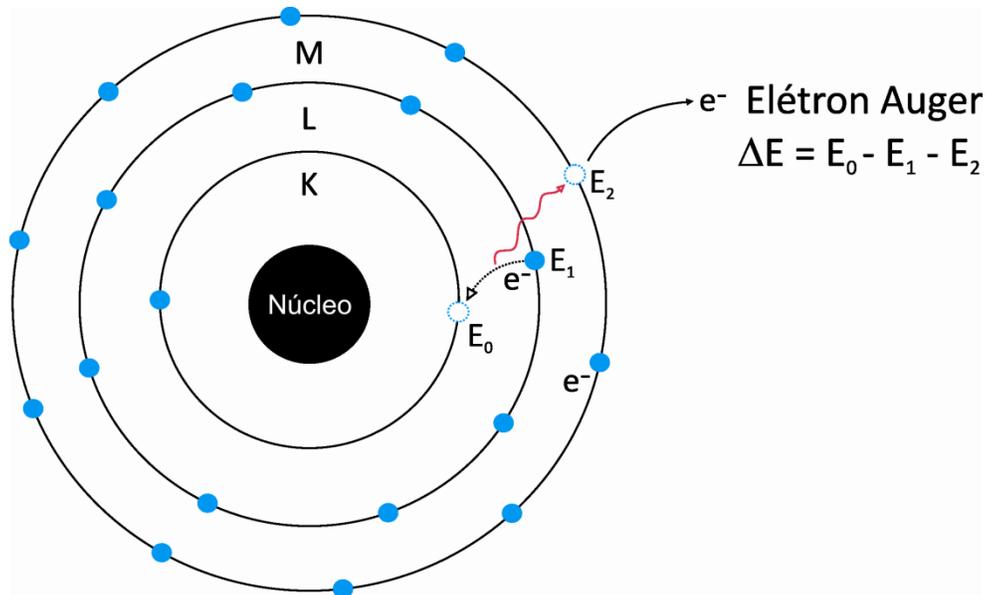
A fluorescência de raios X (FRX) relaciona a medida de intensidade e energia característica da radiação X emitida por uma amostra irradiada, com radiação eletromagnética de alta energia [6]. A resposta analítica gerada é obtida pela medida das intensidades dos raios X emitidos pelos elementos em energias ou comprimentos de onda específicos. Análises quantitativas podem ser realizadas, uma vez que essas intensidades de radiação emitidas são proporcionais às concentrações das espécies [7].

A FRX é classificada como uma técnica espectroscópica de emissão atômica, baseada no efeito fotoelétrico [1, 8]. Quando uma partícula com alta energia, como um fóton, atinge um elétron das camadas internas de um átomo, e a energia ( $E$ ) dessa partícula é maior que a energia de ligação ( $E_0$ ) do elétron no átomo, é possível que o elétron seja ejetado, com energia cinética ( $E - E_0$ ) equivalente à diferença entre a energia inicial da partícula e a energia de ligação do elétron no átomo. O elétron ejetado é chamado fotoelétron e esse fenômeno é denominado efeito fotoelétrico (Figura 1) [1].



**Figura 1:** Representação do efeito fotoelétrico e processo de estabilização do átomo envolvendo elétrons externos.

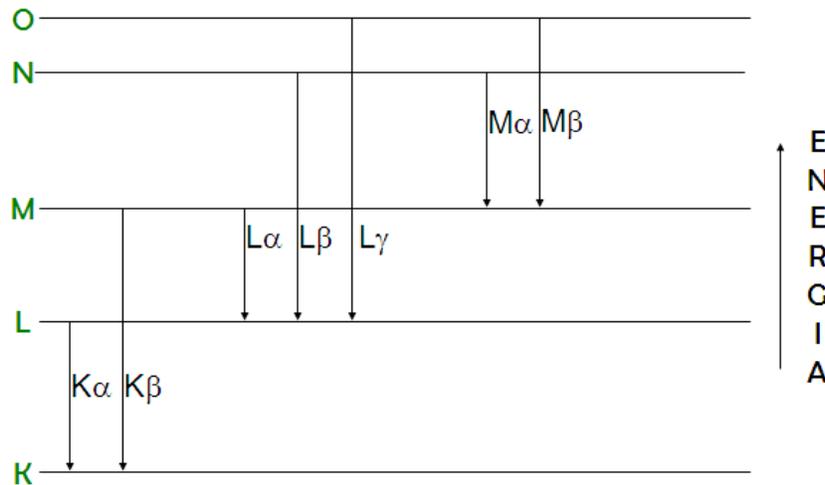
A partir do momento em que o elétron é ejetado, uma vacância é criada, deixando o átomo em um estado instável. Há dois processos para que o átomo retorne ao seu estado original: o primeiro envolve a transferência de um elétron de uma camada mais externa para preenchimento da vacância, permitindo que o átomo recupere sua estabilidade, sendo a diferença de energia entre o estado inicial e final do elétron transferido liberada na forma de fótons de raios X. O segundo processo envolve um rearranjo que não resulta na emissão de fótons de raios X, mas em emissão de outros fotoelétrons. Esse efeito é conhecido como efeito Auger e os fotoelétrons emitidos são chamados de elétrons Auger (Figura 2).



**Figura 2:** Representação do efeito Auger.

Como todos os fótons de raios X emitidos têm energia proporcional à diferença entre os estados eletrônicos de um determinado átomo, as linhas emitidas por um determinado elemento serão características do mesmo. Dependendo das camadas envolvidas nesta transição de elétrons, as emissões de raios X recebem uma nomenclatura específica. A camada a ser preenchida pelo elétron é que determina a nomenclatura da emissão. Além disso, se o elétron se desloca para a camada mais

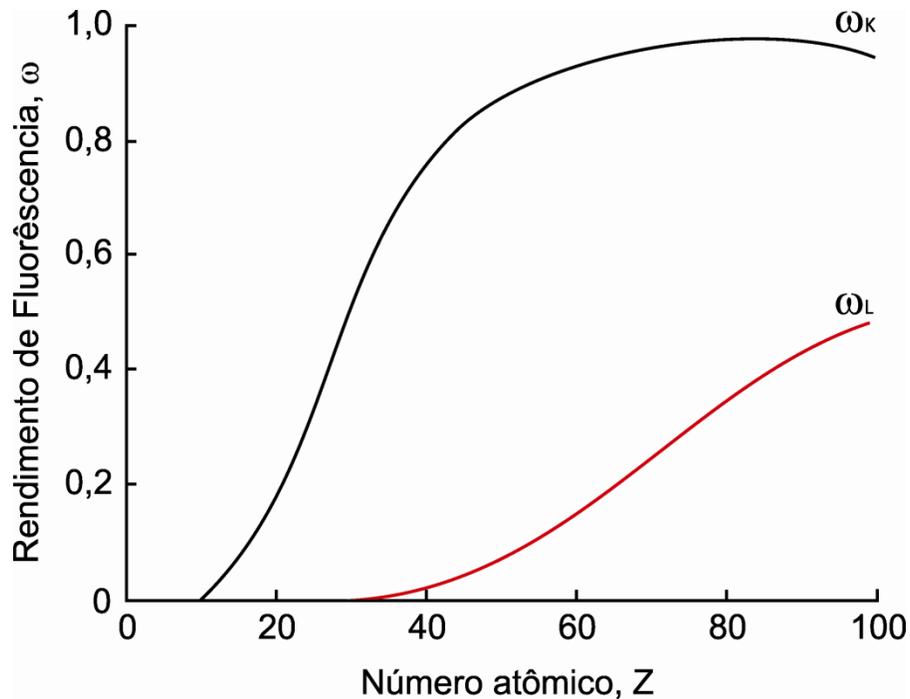
próxima, a emissão do fóton de raios X será denominada de  $\alpha$  e as camadas posteriores sucessivamente de  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ , etc, conforme esquematizado na Figura 3 [1].



**Figura 3:** Diagrama de transições de raios X e suas respectivas denominações.

Um parâmetro importante a ser considerado em FRX é o rendimento de fluorescência, definido como o número de raios X efetivamente emitidos em relação ao número de vacâncias produzidas em uma dada camada, como pode ser verificado na Figura 4. A partir desta, pode ser denotado o baixo rendimento de fluorescência da camada K para os elementos leves (de número atômico abaixo de 20), da camada L para os elementos de número atômico até 60.

O rendimento da fluorescência é dependente dos processos de estabilização das vacâncias com preenchimentos dos elétrons externos e o Efeito Auger. O baixo rendimento para elementos leves é devido à alta intensidade de elétrons Auger; neste caso, não há emissão de fótons e sim, outros elétrons são fotoejetados [1].

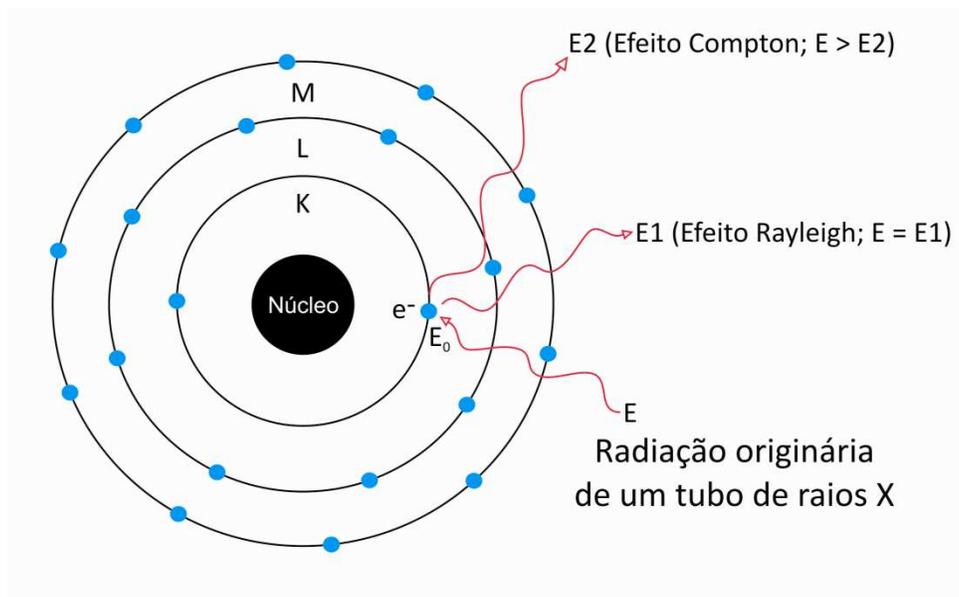


**Figura 4:** Rendimento da fluorescência de raios X em função do número atômico.

Simultaneamente ao efeito fotoelétrico, ocorrem os efeitos Rayleigh [9], Compton [10] e Raman [11], relacionados ao espalhamento do feixe incidente. O processo de espalhamento ocorre quando um fóton de raios X interage com os elétrons dos elementos químicos, sem que haja absorção ou emissão. Todos os átomos espalham fótons de raios X, mas a intensidade destes fenômenos depende do número atômico e da composição da amostra.

O efeito Rayleigh (Figura 5), também chamado de espalhamento coerente, é resultado da interação elástica de fótons de raios X com o meio. Portanto, não há perda de energia durante o processo de colisão, o que justifica o fato do valor do pico máximo de energia observado no espectro de raios X para esse efeito ser igual a do elemento utilizado na fonte de raios X [12].

Já o efeito Compton (ou espalhamento incoerente, Figura 5) está associado ao espalhamento inelástico de fótons de raios X, ou seja, parte da energia do fóton é dispersa após a colisão, sendo transferida para os elétrons da camada de valência, que sofrem excitação [13].



**Figura 5:** Representação dos efeitos Compton e Rayleigh.

Outro espalhamento inelástico que ocorre do feixe de raios X é o Raman. Neste caso, a perda de energia de fótons é acompanhada pela migração de elétrons da camada K. Estudos mais detalhados sobre este espalhamento [11] permitiram constatar que o seu comportamento é variável em função do ângulo de incidência, de maneira que, a  $90^\circ$ , não é observada a banda referente ao espalhamento Raman. Isto ocorre porque, neste ângulo de incidência, o Raman fica totalmente encoberto pelos espalhamentos Compton e Rayleigh.

Devido ao fato do espalhamento Raman não ser observado nos espectros obtidos por fluorescência de raios X, muitos pesquisadores ignoram a sua existência ou acreditam que ele não forneça informações relevantes.

Hoje, entretanto, já se sabe que, com o auxílio de ferramentas quimiométricas, a região de espalhamento da FRX pode revelar detalhes importantes sobre as amostras, uma vez que ela é dependente de várias características da amostra como composição, estrutura cristalina e concentrações relativas de seus componentes.

## 1.2.2. Fluorescência de Raios X por Energia Dispersiva

A Fluorescência de Raios X por Dispersão de Energia (EDXRF, do inglês, *Energy Dispersive X-ray Fluorescence*) é uma técnica de análise rápida, multielementar que envolve baixo custo operacional e pode fornecer simultaneamente resultados qualitativos e quantitativos, tanto com relação às características inorgânicas e, recentemente orgânicas da amostra [14]. A maioria dos instrumentos de fluorescência de raios X por energia dispersiva é multicanal e consiste somente de duas unidades básicas: a fonte de excitação e o sistema de detecção, que geralmente emprega um detector semicondutor de Si(Li) acoplado a sistemas eletrônicos que atuam como agente de dispersão. Os raios X são selecionados através de pulsos eletrônicos no detector, sendo que as amplitudes destes pulsos são diretamente proporcionais às energias dos raios X.

A análise quantitativa por EDXRF apresenta baixa resolução e pobre detectabilidade para certos elementos. Para contornar o problema dos limites de detecção, alguns trabalhos reportados na literatura empregam métodos de concentração da amostra antes da análise por EDXRF. Teixeira *et al.* [15] propuseram um método de quantificação para cobre e ferro em gasolina automotiva, após concentração dos analitos em papel celulose. Embora muitas técnicas sejam capazes de realizar determinações quantitativas de Cu e Fe, o trabalho é interessante, se for considerado que XRF é a técnica padrão para quantificar enxofre em gasolina, e que pode se estender para quantificar simultaneamente outros elementos de grande importância nesse tipo de amostra. Pataca *et al.* [16], desenvolveram um método rápido para determinar traços de arsênio em águas naturais, por fluorescência de raios X através de pré-concentração das amostras em filmes de Mylar<sup>®</sup>. Neste caso, 50 µL da amostra foram depositados sobre a superfície do filme e secados a 50 °C por duas horas, sendo posteriormente irradiadas no espectrômetro de EDXRF. A metodologia apresentou desvios de 6,8% e limite de detecção de 10,5 µg/L de arsênio.

Em matrizes simples, tais como ligas metálicas [17], cinzas [18,19], cerâmicas [20], polímeros [21] a EDXRF apresenta diversas vantagens devido ao fato da análise envolver o mínimo ou, nenhum preparo da amostra, fazendo com que esta técnica

tenha uma ampla aplicação, não só na área da química, mas também em outras ciências, tais como medicina [22], geologia [23], biologia [24], arqueologia [25], alimentos [26], farmacêutica [27] e química ambiental [28].

### 1.2.3. Interferências

Existem dois fatores de grande importância que se constituem como os principais limitantes para a técnica de FRX convencional ser consolidada como ferramenta analítica. São elas, a baixa sensibilidade da técnica e as interferências de matriz [29].

A fluorescência de raios X é uma técnica susceptível a três tipos de interferências, tais como:

**Efeitos físicos de matriz:** causados basicamente pela falta de homogeneidade da amostra [1], este tipo interferência é comum em toda técnica analítica, mas, na FRX também é agravado pelo tamanho das partículas presentes em amostras e padrões [30].

Grande parte dos problemas de interferência deste tipo é resultado de amostras pouco homogêneas. A diferença de granulometria dificulta a irradiação homogênea, o que será um sombreamento das partículas menores, quando elas encontram-se nas proximidades de partículas significativamente maiores. Este tipo de interferência pode ser minimizado, efetuando-se processos de trituração, peneiramento e posterior homogeneização da amostra.

**Efeitos espectrais:** situação em que ocorre sobreposição das linhas de emissão no espectro de raios X. Os problemas mais graves envolvem a interferência da principal linha de emissão do elemento de interesse e outra linha de emissão principal ou secundária, de outro elemento presente na matriz.

Em função da relativa simplicidade do espectro de emissão de raios X e das características do sistema instrumental, os problemas derivados deste tipo de interferência não costumam ser intensos. A técnica permite a determinação simultânea

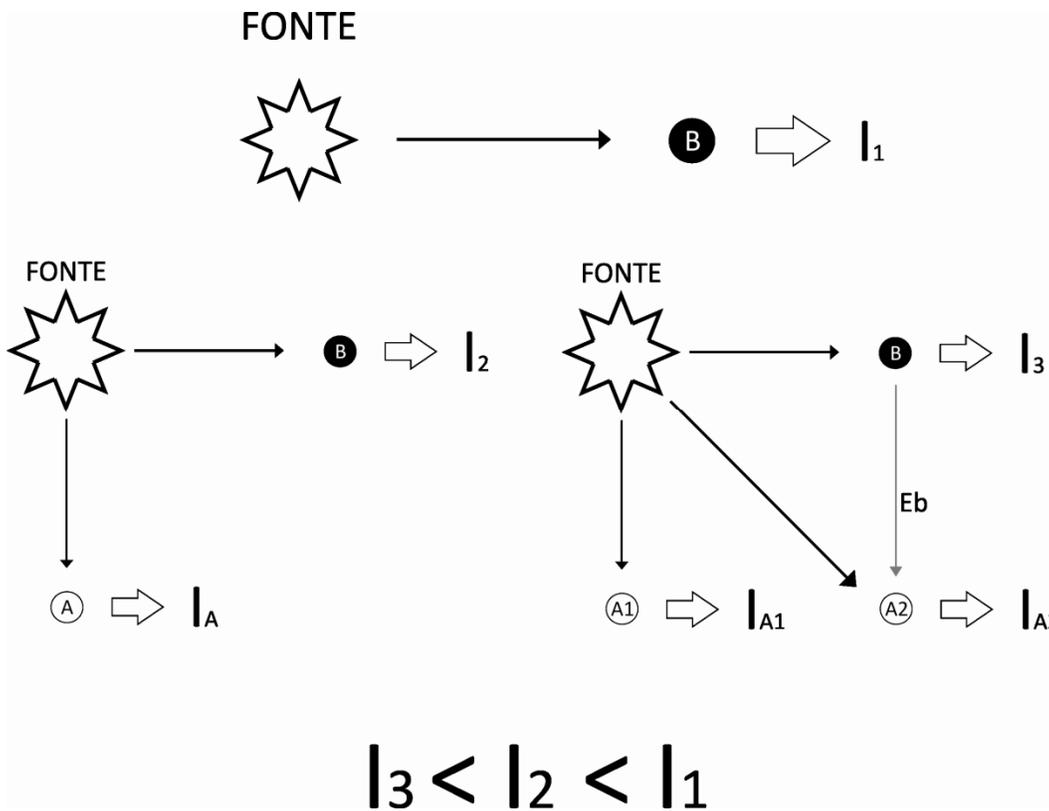
de misturas bastante complexas (zircônio-háfio, lantanídeos, etc), difíceis de serem determinadas através de outras técnicas espectroscópicas, em função do elevado grau de semelhança nas propriedades químicas destas espécies [29].

Quando a interferência espectral ocorre, várias alternativas podem ser utilizadas para contornar seus efeitos, como por exemplo, escolha de uma linha espectral alternativa, filtração do sinal do interferente, utilização de um detector que apresente eficiência máxima na linha de interesse (ou mínima nas linhas interferentes), processos de separação química ou métodos matemáticos (calibração multivariada, etc.).

**Efeitos interelementares:** são efeitos comuns em fluorescência de raios X, causados pela absorção ou intensificação do sinal de emissão do elemento de interesse, por elementos que constituem a matriz amostral [8].

O fenômeno de absorção de FRX acontece quando um feixe de raios X passa através da matéria e sofre atenuação, ou redução na sua intensidade, como consequência de uma série complexa de interações com os átomos. O efeito de absorção é muito significativo nas análises por fluorescência de raios X, uma vez que é uma função da composição, necessitando sempre de correções [1,8].

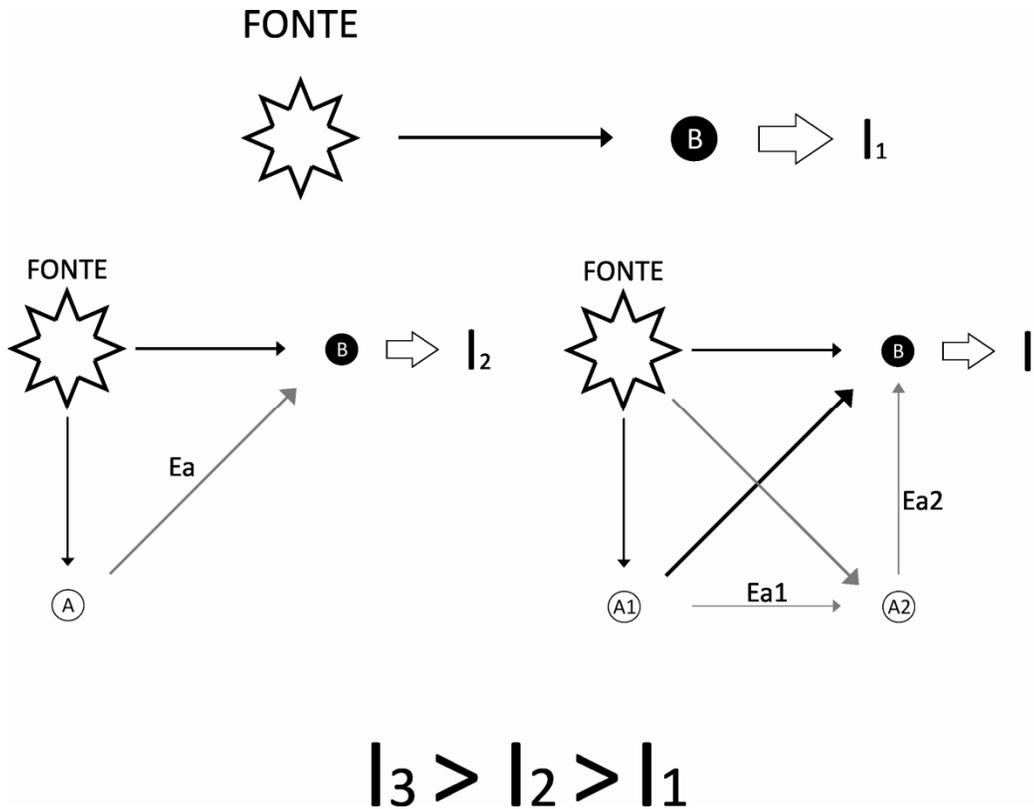
O processo de absorção está representado na Figura 6, onde o analito B pode sofrer perda da intensidade de fluorescência devido à competição dos outros elementos presentes na matriz amostral; tal efeito é denominado efeito de absorção primária. Existem também processos de absorção secundária, que estão relacionados com a absorção da radiação característica emitida pelo elemento de interesse (B), por parte de outros elementos presentes na matriz [29].



**Figura 6:** Representação dos fenômenos de absorção; B: elemento interesse; Eb: Emissão de B; A: elementos interferentes;  $I_1, I_2, I_3$ : Intensidades de emissão de B. [P1]

A intensificação da FRX é exatamente o contrário aos efeitos de absorção. Nele alguns elementos presentes na matriz amostral podem emitir energia igual ou maior que a energia necessária para excitar o elemento de interesse (Figura 7), contribuindo para um aumento na intensidade do sinal de emissão [1,8, 29-31].

As interferências descritas fazem com que a intensidade da radiação não se correlacione com a concentração do analito. Mas hoje, existem métodos matemáticos, como a equação de parâmetros fundamentais e quimiometria, que são exemplos de ferramentas usadas em fluorescência de raios X, para correção de problemas de efeitos interelementares.



**Figura 7:** Representação dos fenômenos de intensificação; B: elemento interesse; A: elementos interferentes; Ea: Emissão de A;  $I_1, I_2, I_3$ : Intensidades de emissão de B. [P2]

### 1.3. MÉTODO DE PARÂMETROS FUNDAMENTAIS

A metodologia dos parâmetros fundamentais (PF) consiste em correções teóricas dos efeitos de absorção e intensificação das linhas de emissão dos elementos de uma matriz amostral. Esta metodologia que foi considerada como o estado da arte para correção dos efeitos de matriz [32], baseia-se na utilização de cálculos matemáticos iterativos, levando em conta as condições instrumentais do equipamento e constantes físicas [33]. Sua fórmula para cálculo da intensidade de fluorescência de raios X é derivada das equações propostas por Sherman [34], que em 1955 desenvolveu equações matemáticas que permitiam calcular as intensidades de raios X emitidas por elementos de uma matriz de composição conhecida, e mais tarde, com computadores mais modernos, foram melhoradas por Shiraiwa e Fujino [35]. Hoje, softwares para

cálculos de PF já são integrados aos espectrômetros de XRF, permitindo a análise instantânea da composição de amostras.

Os parâmetros fundamentais calculam a composição analítica de uma amostra, a partir da medida de intensidade da linha de emissão do analito e valores tabelados de três parâmetros fundamentais: distribuição espectral primária (fonte), coeficiente de absorção (fotoelétrico e de massa) e rendimento de fluorescência. O coeficiente de absorção ( $\mu$ ) é uma constante que relaciona a perda de intensidade de fluorescência quando a radiação atravessa uma amostra, dividido pela espessura da mesma. No entanto, o coeficiente de absorção de massa ( $\mu_m$ ) é uma função de  $\mu$  dividido pela densidade do material (elemento), sendo uma constante mais útil [31]. A Equação 1 mostra a aplicação do processo de parâmetros fundamentais, considerando-se a excitação da amostra através de uma radiação monocromática [29].

$$I_L = I_0 \cdot \omega_A \cdot g_L \cdot \frac{r_a - 1}{r_a} \cdot \frac{d\Omega}{4\pi} \cdot \frac{C_A \cdot \mu_A(\lambda_{prim}) \cdot \cossec \varphi}{\mu_M(\lambda_{prim}) \cdot \cossec \varphi + \mu_M(\lambda_L) \cdot \cossec \psi} m \quad (\text{Equação 1})$$

Onde:

$I_L$  é a intensidade teórica da linha de emissão do analito A;

$I_0$ , intensidade do feixe primário no comprimento de onda efetivo  $\lambda_{prim}$ ;

$\lambda_{prim}$  é o comprimento de onda efetivo do raio X primário;

$\lambda_L$ , comprimento de onda da linha do analito A;

$\omega_A$  o rendimento de fluorescência do elemento A;

$g_L$  representa o valor fracional da linha L do analito em sua série;

$r_A$ , razão do borda de absorção do elemento A;

$d\Omega/4\pi$ , valor fracional do raio X fluorescente dirigido ao detector;

$C_A$  é a concentração do elemento A;

$\mu_A(\lambda_{prim})$ , coeficiente de absorção de massa de A para  $\lambda_{prim}$ ;

$\mu_M(\lambda_{prim})$  é o coeficiente de absorção de massa da matriz para  $\lambda_{prim}$ ;

$\mu_M(\lambda_L)$ , Coeficiente de absorção de massa da matriz para  $\lambda_L$ ;

$\varphi$ , ângulo de incidência do feixe primário;

$\psi$ , ângulo de saída do feixe fluorescente.

Para uma análise, a intensidade medida é multiplicada pela sensibilidade do instrumento e convertida a um valor de intensidade teórica. Essa intensidade teórica é usada para calcular a composição da amostra. O procedimento realizado por PF segue abaixo [36]:

(i) Primeiramente, as intensidades medidas são convertidas em um valor de intensidade teórica. Este valor é então usado para estimar uma primeira aproximação da composição;

(ii) A composição encontrada é usada para um novo cálculo das intensidades teóricas. Esses valores então são comparados com as intensidades medidas convertidas, e são usados para calcular uma nova aproximação da composição;

(iii) Assim é avaliada a convergência entre a composição mais recente com a encontrada primeiramente. Se as duas composições estão dentro do valor limite pré-estabelecido, a composição final é então determinada. Se as duas composições são muito diferentes, a etapa (ii) é repetida até atingir o critério de convergência.

Apesar de a metodologia conferir a possibilidade de analisar amostras sem a utilização de padrões, o método ganha maior confiabilidade se os diversos parâmetros que fazem parte da expressão matemática são obtidos a partir de padrões adequados [37]. Fazendo uma analogia com a lei de Beer-Lambert ( $A = \epsilon.L.C$ ), o método de Parâmetros Fundamentais calcula o correspondente ao  $\epsilon$ , não necessitando então de padrões para correlacionar os sinais com as concentrações. Para FRX, o método é bastante útil para corrigir efeitos de matriz, uma vez que, neste caso, a intensidade da linha fluorescente observada não é diretamente proporcional à concentração, pois é afetada pelos demais elementos presentes na amostra [38].

Na literatura, Sitko *et al.* [39] determinou terras raras em minérios de fosfato usando WDXRF (do inglês, *Wavelength-Dispersive X-ray Fluorescence Spectrometry*)

por parâmetros fundamentais, usando padrão de lantânio e as intensidades teóricas de cada terra rara para determinação. Análises *in-vivo* por FRX e PF foram relatadas por Szalóki, Lewis et al [40] para determinar platina em sistemas que simulam tumores, pois muitas drogas para tratamento de câncer por quimioterapia contêm esse elemento. Mantler e Kawahara em 2004 [41] descreveram importantes questionamentos sobre os diferentes modelos matemáticos envolvidos na equação fundamental para determinação de analitos, levando em conta a matriz amostral, a geometria do instrumento, fonte e o detector de FRX. Os autores concluíram que os erros devidos à equação fundamental são baseados principalmente nos efeitos da excitação indireta dos elementos leves que contribuem para o espalhamento da radiação.

A principal deficiência do método de PF é atribuída às incertezas presentes nos coeficientes de absorção de massa e rendimentos fluorescentes do analito, dados necessários para o desenvolvimento da equação fundamental [42]. Sua base de cálculo pode tornar-se muito complicada e imprecisa, principalmente em função da complexidade da matriz amostral que se deseja analisar.

#### 1.4. QUIMIOMETRIA

A quimiometria é a parte da química que utiliza métodos matemáticos e estatísticos para definir ou selecionar condições ótimas de medidas experimentais e também permitir a obtenção do máximo de informação a partir de dados de análise química [43]. Ela vem demonstrando ser uma ferramenta importante para a química analítica, pois pode trazer informações através de variáveis espectrais determinadas pelos diversos tipos de instrumentos. A espectroscopia de fluorescência de raios X e a calibração multivariada vêm fornecendo ótimas soluções, pois facilita o desenvolvimento de metodologias que minimizam ou eliminam etapas do processo analítico, principalmente o preparo de amostras [44-46].

### 1.4.1. Regressão por Quadrados Mínimos Parciais

A Calibração Multivariada tem como princípio básico a utilização simultânea de muitas variáveis, para classificar amostras quanto a um determinado parâmetro, ou mesmo, quantificar alguma outra variável de interesse. Em quimiometria, o método de Regressão por Quadrados Mínimos Parciais ou PLS (do inglês, *Partial Least Square*) é uma das ferramentas mais utilizadas na quantificação de um analito. Consiste em construir inicialmente uma relação entre a matriz de dados e as propriedades de referência, tornando possível extrair resultados de um grande número de variáveis. Esta relação é possível, pois geralmente um pequeno número destas variáveis contém as informações químicas mais relevantes, enquanto que a maioria das variáveis adiciona pouco ou nada à interpretação dos resultados em termos químicos [47].

É possível representar uma matriz de dados sem a perda de informação estatística útil, pela sua matriz de escores, que não precisa necessariamente ter correlação entre as variáveis. Os pesos expressam o peso ou contribuição da variável original na obtenção de um novo sistema de eixos.

Para o PLS, é feita a decomposição de uma matriz de dados  $X$  de forma dependente a um vetor  $y$ , buscando a máxima covariância entre  $X$  e  $y$ . Considerando uma matriz de dimensão  $(n \times z)$ , onde  $z$  é o número de colunas, tem-se a decomposição de ambas as matrizes  $X$  e  $Y$ , em suas matrizes de escores e pesos, conforme mostram as equações 2 e 3:

$$X = T.P' + E_X \quad (\text{Equação 2})$$

$$Y = U.Q' + E_Y \quad (\text{Equação 3})$$

onde  $X$  é a matriz das respostas instrumentais,  $Y$  é a matriz das respostas da propriedade de interesse obtidas por um método de referência,  $T$  e  $U$  são os escores de  $X$  e  $Y$ , respectivamente,  $P$  e  $Q$  são os respectivos pesos de  $X$  e  $Y$ ,  $E_X$  e  $E_Y$  as matrizes de resíduos e o símbolo ' representa a transposta de uma dada matriz [48].

As equações 4 e 5 indicam que, entre os escores das matrizes  $X$  e  $Y$ , uma relação linear é então estabelecida.

$$u_a = b_a \cdot t_a \quad (\text{Equação 4})$$

$$U = b \cdot T \quad (\text{Equação 5})$$

em que  $b_a$  é o vetor de coeficientes de regressão do modelo linear para cada variável latente,  $A$  [48].

Assim o PLS realiza combinações das variáveis originais, gerando novas variáveis, chamadas de variáveis latentes. Para a construção dos modelos de regressão, a escolha do número de variáveis latentes é uma etapa muito importante. O número ideal de variáveis latentes é aquele que permite a construção de um modelo com boa capacidade de previsão para amostras externas, sem sobreajustar o modelo e nem promover a modelagem de ruídos [49].

A validação cruzada é um dos métodos mais utilizados para a determinação do número de variáveis latentes. Neste procedimento, a calibração é repetida  $n$  vezes, sendo que, em cada uma destas vezes, é feita a previsão das variáveis para uma  $i$ -ésima parte do conjunto de calibração. Ou seja, uma amostra é retirada do conjunto de  $n$  amostras e então é feita a calibração para as  $(n - 1)$  amostras restantes. Na sequência, a amostra não usada na calibração tem sua variável prevista pelo modelo. O processo é repetido até que todas as amostras tenham sido excluídas [50].

Os valores previstos pelo modelo são comparados com os valores de referência e os erros são calculados. A partir destes, é obtida a raiz quadrada dos resíduos (RMSECV, *Root Mean Square Error of Cross Validation*) para cada variável latente. Após a construção do modelo de calibração, amostras externas são utilizadas para verificar a capacidade de previsão do modelo [51].

Com o objetivo de facilitar a interpretação dos resultados, na maioria das vezes, são realizados pré-processamentos nos dados originais ao realizar o tratamento quimiométrico. O pré-processamento mais simples e mais utilizado nos dados de espectrometria consiste em centrar os dados na média. 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 médias zero [26].

Em algumas situações, são realizadas transformações nos espectros para remover matematicamente fontes de variação indesejáveis. Entre estas transformações, destacam-se as técnicas de alisamento que visam aumentar a razão sinal-ruído, e as correções da linha base, que minimizam as variações sistemáticas presentes no sistema.

Entre os trabalhos importantes usando quimiometria aplicada à espectrometria de raios X, Oliveira e Bueno [52] desenvolveram, a partir de espectros de FRX, uma metodologia capaz de determinar quantitativamente espécies de  $\text{Cr}^{3+}$  e  $\text{Cr}^{6+}$  em solução, diretamente por calibração multivariada. A principal explicação para o método desenvolvido está relacionado à combinação dos picos de cromo e da região de espalhamento do tubo de raios X conterem informações específicas para cada espécie analisada. Terra *et al.* [26, 44] determinaram, com uso de PLS, teores de carboidratos, proteínas, gorduras e valores energéticos de alimentos industrializados, de maneira rápida e sem uso de reagentes, por EDXRF. Os erros apresentados foram menores que 14%. Em FRX, as análises exploratórias também podem ser feitas por uso de ferramentas quimiométricas, como Custo *et al.* [53] que a usaram para classificação de solos. Alexandre e Bueno [54] conseguiram classificar diferentes espécies de plantas, através da análise direta irradiadas por raios X, metodologia muito útil para minimizar controvérsias, quando apenas a inspeção visual é utilizada por taxonomistas. Este método também pode ser usado para a classificação taxonômica em controle ambiental, por exemplo, para controlar os efeitos de alterações nas plantas transgênicas.

## 1.5. VALIDAÇÃO E FIGURAS DE MÉRITO

Para verificar a adequação de um procedimento analítico ou de um modelo proposto, sempre é imprescindível a realização de um processo de validação. A validação permite constatar se o procedimento ou modelo apresenta um desempenho adequado para as condições em que será aplicado. A sua realização envolve a determinação de parâmetros que são conhecidos como figuras de mérito [55].

Poppi *et al.* [56] propuseram o cálculo de algumas figuras de mérito ao se desenvolver um modelo usando calibração multivariada. Abaixo, estão expressas as fórmulas para obtenção de alguns parâmetros:

### **Exatidão**

A exatidão expressa o grau de concordância entre o valor estimado ou medido e o valor tido como verdadeiro ou de referência [57]. Comumente, em aplicações com calibração multivariada, a exatidão é estimada através da raiz quadrada do erro médio quadrático de validação cruzada, RMSECV (*Root Mean Squares Error of Cross Validation*), conforme mostra a Equação 6,

$$RMSECV = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{n}} \quad (\text{Equação 6})$$

onde  $n$  é o número de amostras da previsão,  $y_i$  e  $\hat{y}_i$  correspondem aos valores de referências e aos valores previstos, respectivamente.

### **Sensibilidade (SÊN)**

A sensibilidade é considerada como a fração do sinal responsável pelo acréscimo de uma unidade de concentração à propriedade de interesse. Em calibração multivariada é definida como está na Equação 7 [58],

$$SÊN = \frac{1}{\|b_k\|} \quad (\text{Equação 7})$$

onde  $b_k$  é o vetor dos coeficientes de regressão estimados pelo PLS.

## Limite de Detecção (LOD)

O limite de detecção equivale à menor concentração da substância de interesse que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada. [56, 58, 59] O *LOD*, em calibração multivariada (Equação 8), pode ser determinado de maneira análoga à calibração univariada:

$$LOD = 3. \delta_x \cdot \frac{1}{S\hat{E}N} \quad (\text{Equação 8})$$

onde,  $\delta_x$  é uma estimativa do desvio padrão da flutuação do sinal analítico e  $S\hat{E}N$  pode ser calculado pela Equação 7.

## Limite de Quantificação (LOQ)

O limite de quantificação representa a menor concentração da substância de interesse que pode ser medida com uma incerteza máxima de 10% [58, 59]. Seguindo a mesma aproximação feita para *LOD*, o *LOQ* pode ser determinado pela Equação 9:

$$LOQ = 10. \delta_x \cdot \frac{1}{S\hat{E}N} \quad (\text{Equação 9})$$

## Bias

Pelo menos dois erros são comumente encontrados em análises químicas, em termos estatísticos. Os erros aleatórios, que afeta a precisão da medida, e os erros sistemáticos, que afetam a exatidão dos resultados. Estes últimos possuem valor definido e a mesma magnitude, para todas as medidas efetuadas de uma mesma maneira.

Segundo a IUPAC [60], o termo *bias* é atribuído a erros sistemáticos que são calculados pela diferença entre a média da população e o valor verdadeiro, podendo

ser avaliados por teste  $t$ . Neste caso, verifica-se se o  $bias$  incluso no modelo é ou não significativo. O erro médio ( $bias$ ) pode ser calculado como é indicado na Equação 10,

$$bias = \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)}{n} \quad (\text{Equação 10})$$

onde  $n$ , é o número de amostras do conjunto de previsão e  $y_i$  e  $\hat{y}_i$  correspondem aos valores de referências e aos valores previstos pelo modelo, respectivamente.

Assim, o desvio padrão para os erros de validação, SDV (*Standard Deviation of Validation*), é obtido através da Equação 11:

$$SDV = \sqrt{\frac{\sum [(y_i - \hat{y}_i) - bias]^2}{n - 1}} \quad (\text{Equação 11})$$

Finalmente, a Equação 12 permite o cálculo do valor de  $t_{bias}$ .

$$t_{bias} = \frac{|bias| \cdot \sqrt{n}}{SDV} \quad (\text{Equação 12})$$

Caso o valor de  $t_{bias}$  calculado seja maior que o valor  $t$  crítico ( $t_{tabelado}$ ), para  $n - 1$  graus de liberdade a 95% de confiança há evidências de que erros sistemáticos presentes no modelo multivariado sejam significativos. Caso seja o contrário, ou seja,  $t_{bias} < t_{tabelado}$ , os erros sistemáticos incluídos no modelo podem ser considerados insignificantes e desprezados [61].

## 1.6. TESTE DE HIPÓTESES

O teste  $t$  também pode ser usado para comparar métodos e determinar se há diferenças significativas entre eles. Primeiramente, é determinada a média entre a diferença dos métodos ( $x_d$ ), através da Equação 13,

$$x_d = \frac{\sum(x_a - x_b)}{n} \quad (\text{Equação 13})$$

sendo que  $x_a$  e  $x_b$  são os valores determinados para uma mesma amostra, mas por métodos diferentes e  $n$ , o número de amostras. Pela Equação 14, o desvio padrão ( $S_d$ ) também pode ser calculado,

$$S_d = \frac{\sum(\Delta x - x_d)^2}{n - 1} \quad (\text{Equação 14})$$

onde,  $\Delta x$  é a diferença entre os métodos para uma dada amostra.

De maneira análoga à Equação 12, a Equação 15 mostra como  $t$  pode ser calculado e comparado com o  $t$  crítico a 95% de confiança.

$$t = \frac{x_d \cdot \sqrt{n}}{S_d} \quad (\text{Equação 15})$$

Se  $t_{\text{calculado}} < t_{\text{tabelado}}$ , a diferença entre as duas metodologias é apenas consequência de erros aleatórios [8].

## 1.7. CREMES DENTAIS

Entre as práticas usadas para a conservação dos dentes, os dentifrícios ocupam um papel importante. A composição de uma pasta de dente geralmente envolve substâncias que desempenham funções de abrasivo (agente de polimento), pigmentos, espumantes, umectantes, aglutinantes, edulcorantes, solventes e agentes terapêuticos. Outras substâncias podem ser adicionadas, para outras funções, como: flavorizantes, espessantes, conservantes e aromatizantes, atendendo a diversos propósitos [62].

O hábito de limpar os dentes é tão antigo quanto à própria espécie humana. O homem primitivo o fazia com os dedos, ou com o auxílio de folhas e gravetos. Posteriormente, foram utilizadas plantas, chás e substâncias naturais abrasivas. Este homem primitivo, entretanto, apresentava altíssima incidência de doenças gengivais, ainda que com uma alimentação muito mais fibrosa e com uma atividade mastigatória intensa [63].

A partir do século XVII, com a Revolução Industrial e a utilização maciça da sacarose nos alimentos, a incidência da cárie dental começou a ocorrer no mundo de forma cada vez mais crescente. Entre as doenças crônicas orais existentes, a cárie é a que afeta o maior número de pessoas em todo o mundo [63]. A cárie é consequência da formação da placa bacteriana, uma película fina e invisível que adere ao dente e que, aos poucos, com o auxílio dos restos de alimentos e da má higiene bucal, vai ficando cada vez mais espessa. Ao entrar em contato com o dente, a sacarose retira a proteção existente contra o ataque das bactérias da placa, num processo chamado desmineralização [64].

A defesa do dente é feita pela saliva, que contém flúor proveniente do sangue, o qual força a reação química inversa, ou seja, a remineralização. O flúor interfere nos microorganismos produtores da cárie, ao alterar os cristais do esmalte, tornando-os mais resistentes. Entretanto, essa defesa é limitada e sua eficiência varia em função de quanto açúcar se ingere e de quando é ingerido. A recomendação para não ingerir doces antes de dormir, por exemplo, deve-se ao fato de que a saliva não é ativada durante o sono e, portanto, o ataque ao esmalte dos dentes é muito maior neste período [65].

Entre as práticas usadas para a conservação dos dentes, os dentifrícios ocupam um papel importante. O primeiro creme dental surgiu no Egito há cerca de quatro mil anos. Era um material à base de pedra-pome pulverizada e vinagre, que era esfregado nos dentes com pequenos ramos de arbustos. No século I da nossa era, os romanos acrescentaram a essa pasta mel, sangue, carvão, olhos de caranguejos e urina humana, todos com a finalidade de deixar os dentes mais brancos [63, 66].

O primeiro dentifrício comercial foi desenvolvido em 1850, nos Estados Unidos. Inicialmente na forma de um pó, foi modificado posteriormente para a forma de pasta.

Um aumento da comercialização das pastas de dente ocorreu quando elas começaram a ser embaladas em tubos metálicos flexíveis [64]. Nos dias de hoje, os dentífrícios podem ser encontrados na forma de pó, líquido e de pasta (creme dental), este último o mais usado e comercializado nos dias de hoje [67]. Pastas de dente são formas farmacêuticas semi-sólidas que contêm uma elevada concentração de pós finamente dispersos, variando normalmente este conteúdo de 20% até 60%, sendo mais firmes e espessas que as pomadas, mas sendo, geralmente, menos gordurosas que elas [68].

Um dentífrício é definido pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) como um Produto de Higiene [69], segundo os artigos 3º e 26º da Lei 6.360/76 e artigos 3º, 49º e 50º, do Decreto 79094/77.

## 1.7. DIÓXIDO DE TITÂNIO

Em pastas de dente, o dióxido de titânio ( $\text{TiO}_2$ ) é usado como pigmento; em alguns casos, para dar a cor branca ao produto e também age como agente opacificante [70], fornecendo o aspecto não translúcido ao produto. Em geral, suas propriedades permitem uma ampla faixa de aplicação, incluindo tintas arquitetônicas, industriais e de impressão, plásticos, borrachas, papel, produtos têxteis, alimentícios e fármacos [71].

O  $\text{TiO}_2$  apresenta alto índice de refração, que ajuda como proteção física ao Sol, pois reflete grande parte da luz, inclusive na região do ultravioleta [72]. Este óxido, em sua forma anatásia, também é um eficaz fotocatalisador [73] e um semicondutor sensível à luz [74], que absorve radiação eletromagnética na região do ultravioleta [75]. Em cosméticos, quando usado como pigmento, é conhecido como PW-6 ou CI 77891 [76]. O dióxido de titânio representa hoje cerca de 70% da produção mundial de pigmentos [77].

Em 2006, a Agência Internacional de Pesquisa sobre Câncer (IARC, *International Agency for Research on Cancer*) caracterizou o  $\text{TiO}_2$  como uma substância potencialmente cancerígena a humanos [77]. Pesquisas mostraram que a exposição de  $\text{TiO}_2$  em ratos induz câncer no trato respiratório. Estudos recentes comentam que

nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  induzem a citotoxicidade e genotoxicidade em várias linhagens de culturas de células, assim como possuem alto potencial carcinogênico em modelos animais [78,79].

Há também uma grande preocupação acerca do impacto de nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  ao meio ambiente [80], devido ao aumento considerável da sua produção, nos últimos anos. Os aumentos das concentrações de nanomateriais em lençóis freáticos e no solo podem levar a um aumento significativo a exposição de riscos ambientais [81]. Suas propriedades, tais como pequeno tamanho de partícula, grande área de superfície e alta reatividade são fontes de preocupação. Quando liberados no meio ambiente através de resíduos industriais ou domésticos, tendem a perturbar o microbiota de solos e águas, que desenvolvem funções importantes no ecossistema, que por sua vez podem levar a alteração da cadeia alimentar e prejudicar a produtividade das plantas, interrompendo processos de assimilação de nitrogênio, alteração no metabolismo e danos aos organismos aquáticos [82].

No Brasil, o dióxido de titânio é regulamentado como agente corante artificial (pigmento) pela ANVISA [83], mas não há definições quanto a valores máximos permitidos para o seu uso, em qualquer matriz. A FDA (*Food and Drugs Administration*), órgão governamental dos Estados Unidos, estabelece teores máximos de 1% (m/m) para dióxido de titânio, apenas quando usado como corante alimentício [84].

Entre os trabalhos relevantes na determinação de dióxido de titânio, Melquiades *et al.* [72] desenvolveram uma metodologia para determinar  $\text{TiO}_2$  em protetores solares, através de análises por EDXRF, para estimar o fator de proteção destes produtos, analisados a partir da construção de curva analítica com padrões. Em pastas de dente, Colquitt [85] determinou diversos óxidos em cremes dentais, usando as cinzas das amostras e ICP-OES. Yoon *et al.* [86] criaram um método não destrutivo para análises de  $\text{TiO}_2$  em formulações de cremes com o uso de espectroscopia Raman e calibração multivariada. Neste caso, os autores tiveram como principal problema, a variação do tamanho das partículas e a interação com os demais compostos da formulação dos cremes.

---

---

## **2. OBJETIVOS**

---

---

## 2.1. OBJETIVO GERAL

Quantificação do teor de dióxido de titânio pelo uso de calibração multivariada e fluorescência de raios X por dispersão de energia, diretamente em amostras de cremes dentais.

## 2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

(i) Analisar as cinzas das amostras de cremes dentais para determinar os teores percentuais de  $\text{TiO}_2$ , por metodologia de parâmetros fundamentais;

(ii) Fazer testes de recuperação de padrões de  $\text{TiO}_2$  em matriz de sílica, por parâmetros fundamentais;

(iii) Obter espectros de raios X das amostras de cremes dentais, irradiadas diretamente no instrumento, em tempos diferentes;

(iv) Construir um modelo de calibração multivariada por PLS, usando os dados obtidos em (i) como valores de referência, e os dados espectrais de (iii).

(v) Calcular algumas figuras de mérito para validar o modelo proposto.

---

---

## **3. EXPERIMENTAL**

---

---

### 3.1. CONDIÇÕES INSTRUMENTAIS

O procedimento experimental consistiu em três fases:

(i) Análises das cinzas dos cremes dentais para a determinação de dióxido de titânio por parâmetros fundamentais;

(ii) Averiguação da exatidão do método de parâmetros fundamentais, por testes de recuperação com padrões similares a matriz das cinzas, através de diferentes concentrações de dióxido de titânio em matriz de sílica;

(iii) Quantificação do teor de dióxido de titânio pelo uso de calibração multivariada (PLS) e fluorescência de raios X por dispersão de energia diretamente nas amostras, irradiadas por 100 e 700 segundos, com os dados de referência obtidos em (i) e validados em (ii);

Para todas as etapas, as amostras foram irradiadas em triplicatas, em um espectrômetro de fluorescência de raios X de energia dispersiva (Shimadzu, modelo EDX-700, Figura 8), com fonte de rádio e detector semicondutor de Si(Li). A voltagem aplicada ao tubo de raios X foi de 50 kV, com tempo morto no detector de 25%. Os espectros foram obtidos seqüencialmente, de 0 a 40 keV, com passo de energia de 0,02 keV. As celas de amostras para FRX foram preparadas com seu fundo sustentado por um filme de Mylar® (Chemplex®, referência 100), de espessura de 2,5 µm.

Para comparar os resultados da etapa (iii), as amostras de cremes dentais também foram irradiadas por 700 segundos. Os diferentes tempos de análise foram realizados com o intuito de avaliar possíveis diferenças entre os modelos de calibração multivariada construídos com diferentes tempos de irradiação por fluorescência de raios X.



**Figura 8:** Espectrômetro de fluorescência de raios X por energia dispersiva (EDX-700).

### 3.2. AMOSTRAS

O material de trabalho consistiu de 22 amostras comerciais de cremes dentais de diversas marcas e composições variadas (Tabela 1). Os cremes dentais foram obtidos em supermercados da região de Campinas/SP, Brasil.

**Tabela 1:** Composições das 22 amostras comerciais de cremes dentais analisadas, transcritas diretamente dos respectivos rótulos

<b>Amostra</b>	<b>Composição</b>
TP1	Cloreto de Potássio 3,75%, Fluoreto de Sódio (1450 ppm de Flúor ativo), Água, Sorbitol, Sílica, Glicerina, Betaína de Cocoamidopropil, Citrato de Zinco, Goma de Celulose, <b>Dióxido de Titânio</b> , Sacarina de Sódio, Acetato de Tocoferil, Fosfato Trissódico, Pantenol, Ácido Cítrico, BHT, Aroma.
TP2	Fluoreto de Sódio (1400 ppm de Flúor ativo), Nitrato de Potássio 5%, Água, Sílica, Sorbitol, Glicerina, PEG-6, Lauril Sulfato de Sódio, Aroma, Goma de Xantana, <b>Dióxido de Titânio</b> , Betaína de Cocoamidopropil, Sacarina de Sódio.
TP3	Monofluorofosfato de Sódio (1100 ppm de Flúor), Sorbitol, Carbonato de Cálcio, Água, Sílica Hidratada, PEG-8, Lauril Sulfato de Sódio, <b>Dióxido de Titânio</b> , Goma de Celulose, Aroma, Bicarbonato de Sódio, Sacarina de Sódio, Carragenina de Cálcio, Benzoato de Sódio, CI 42090, CI 73360
TP4	Fluoreto de Sódio (110 ppm de Flúor ativo), Nitrato de Potássio 5%, Água, Sorbitol, Glicerina, Lauril Sulfato de Sódio, <b>Dióxido de Titânio</b> , Aroma, Goma de Xantana, Hidróxido de Sódio, Sacarina de Sódio, Benzoato de Sódio, CI 42090, CI 73360.

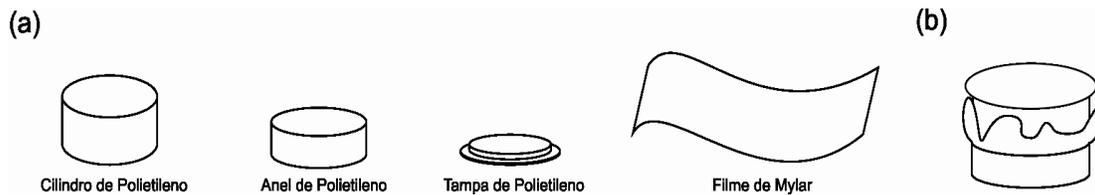
TP5	Fluoreto de Sódio (1450 ppm de Flúor ativo), Sorbitol, Água, Sílica Hidratada, Triclosan, Lauril Sulfato de Sódio, Copolímero PVM/MA, Aroma, Carragenina, Hidróxido de Sódio, Sacarina de Sódio, <b>Dióxido de Titânio</b> .
TP6	Cloreto de Potássio 3,75%, Fluoreto de Sódio (1400 ppm de Flúor ativo), Água, Sorbitol, Sílica, Glicerina, Betaína de Cocoamidopropil, Goma de Celulose, <b>Dióxido de Titânio</b> , Sacarina de Sódio, Aroma.
TP7	Fluoreto de Sódio (1100 ppm de Flúor ativo), Água, Sorbitol, Sílica Hidratada, Lauril Sulfato de Sódio, <b>Dióxido de Titânio</b> , Aroma, Fosfato Trissódico, Goma de Celulose, Sacarina de Sódio, Carbômero.
TP8	Fluoreto de Sódio (1450 ppm de Flúor ativo), Nitrato de Potássio 5%, Sorbitol, Água, Sílica Hidratada, Lauril Sulfato de Sódio, <b>Dióxido de Titânio</b> , PEG-6, Aroma, Goma de Xantana, Fosfato Trissódico, Fosfato de Sódio, Sacarina de Sódio, Carbômero.
TP9	Fluoreto de Sódio (1450 ppm de Flúor ativo), Sorbitol, Água, Sílica Hidratada, Triclosan, Lauril Sulfato de Sódio, Copolímero PVM/MA, Aroma, Carragenina, Hidróxido de Sódio, Propilenoglicol, Goma de Celulose, Sacarina de Sódio, <b>Dióxido de Titânio</b> .
TP10	Monofluorofosfato de Sódio (1450 ppm de Flúor ativo), Carbonato de Cálcio, Água, Sorbitol, Sílica, Lauril Sulfato de Sódio, Aroma, Fosfato Trissódico, <b>Dióxido de Titânio</b> , Perlita, Álcool Benzílico, Goma de Celulose, Sacarina de Sódio, CI 74160, Limoneno.
TP11	Monofluorofosfato de Sódio (1450 ppm de Flúor ativo), Citrato de Potássio 5,04%, Sorbitol, Água, Sílica Hidratada, Glicerina, PEG-12, Pirofosfato de Potássio, Copolímero PVM/MA, Aroma, Lauril Sulfato de Sódio, Hidróxido de Sódio, Goma de Celulose, Sacarina Sódica, Goma de Xantana, <b>Dióxido de Titânio</b> , CI 74160.
TP12	Fluoreto de Sódio (1450ppm de Flúor ativo), Sorbitol, Água, Sílica Hidratada, PEG-12, Lauril Sulfato de Sódio, Aroma, Goma de Celulose, Pirofosfato Tetrassódico, Betaína de Cocoamidopropil, Sacarina de Sódio, <b>Dióxido de Titânio</b> , CI74160.
TP13	Monofluorofosfato de Sódio (1450 ppm de Flúor ativo), Citrato de Potássio 5,04%, Citrato de Zinco 2,0%, Sorbitol, Água, Sílica Hidratada, Glicerina, PEG-12, Pirofosfato de Potássio, Copolímero PVM/MA, Aroma, Lauril Sulfato de Sódio, Hidróxido de Potássio, Goma de Celulose, Sacarina Sódica, Goma de Xantana, <b>Dióxido de Titânio</b> , Polietileno, Carbonato de Cálcio, CI 16255, CI 19140, CI 45410.
TP14	Fluoreto de Sódio (1100 ppm de Flúor ativo), Pirofosfato Dissódico, Pirofosfato Tetrassódico, Água, Sorbitol, Sílica Hidratada, Aroma, Goma de Xantana, Sacarina de Sódio, <b>Dióxido de Titânio</b> , Poloxâmico 407, Carbômero, Glicerina, Ácido Benzóico, Álcool, Polisorbato 80, Cloreto de Cetilpiridina, Benzoato de Sódio, CI 42090.

TP15	Cloreto de Sódio, Propileno Glicol, Monofluorofosfato de Sódio, Triclosan, Sorbitol, Água, Sílica Hidratada, Triclosan, Lauril Sulfato de Sódio, Aroma, Goma de Celulose, Citrato de Zinco, Sacarina de Sódio, Alantoína, Metilparabeno, <b>Dióxido de Titânio</b> , CI 45430.
TP16	Cloreto de Estrôncio 10%, Água, Glicerina, PEG-40, Aroma, Metilparabeno, Propilparabeno, Sacarina de Sódio, <b>Dióxido de Titânio</b> , Sílica, Sorbitol, Carbonato de Cálcio, Hidroxietil Celulose, Metil Cocoil Taurato de Sódio, Salicilato de Metila, CI 45410.
TP17	Fluoreto de Sódio (1450 ppm de Flúor ativo), Sorbitol, Água, Sílica Hidratada, Triclosan, Lauril Sulfato de Sódio, Copolímero PVM/MA, Aroma, Carragenenina, Hidróxido de Sódio, Sacarina de Sódio, <b>Dióxido de Titânio</b> , CI 77019, CI 42090.
TP18	Água, Sorbitol, Sílica Hidratada, PEG-12, Lauril Sulfato de Sódio, Aroma, Betaína de Cocoamidopropil, Goma de Celulose, Pirofostato Tetrassódico, Fluoreto de Sódio (1450 ppm de Flúor ativo), Sacarina de Sódio, Polietileno, <b>Dióxido de Titânio</b> , CI 16035.
TP19	Água, Sorbitol, Sílica Hidratada, PEG-12, Lauril Sulfato de Sódio, Aroma, Betaína de Cocoamidopropil, Goma de Celulose, Pirofostato Tetrassódico, Fluoreto de Sódio (1450 ppm de Flúor ativo), Sacarina de Sódio, Polietileno, <b>Dióxido de Titânio</b> , CI 47005, CI 42090.
TP20	Água, Sorbitol, Sílica Hidratada, PEG-12, Lauril Sulfato de Sódio, Aroma, Betaína de Cocoamidopropil, Goma de Celulose, Pirofostato Tetrassódico, Fluoreto de Sódio (1450 ppm de Flúor ativo), Sacarina de Sódio, Polietileno, <b>Dióxido de Titânio</b> , CI 42090.
TP21	Fluoreto de Sódio (1425 ppm de Flúor ativo), Nitrato de Potássio, Água, Sorbitol, Sílica, Glicerina, PEG-6, Betaína de Cocoamidopropil, Aroma, Goma de Xantana, Sacarina de Sódio, <b>Dióxido de Titânio</b> , Hidróxido de Sódio, Limoneno, Alcool de Anise.
TP22	Fluoreto de Sódio (1450 ppm de Flúor ativo), Sorbitol, Água, Sílica, PEG-32, Água, Sorbitol, Sílica Hidratada, Lauril Sulfato de Sódio, Goma de Celulose, Sacarina de Sódio, Proteína de Leite Hidrolisada, <b>Dióxido de Titânio</b> , CI 74160, Eugenol.

Todas as amostras indicavam no rótulo a presença de dióxido de titânio. Assim, na quantificação, foi considerado que a concentração de  $TiO_2$  é proporcional à concentração de titânio determinada, supondo que todo titânio medido nas amostras estava na forma de  $TiO_2$ .

### 3.3. ANÁLISE DAS CINZAS POR PARÂMETROS FUNDAMENTAIS

Para a quantificação do teor de cinzas, 10 g das amostras de cada dentifrício, pesados em cadinhos de porcelana (previamente tarados) foram aquecidas a 130° C em estufa (Quimis, modelo 317-24), por 2 horas, para evaporação da água. Os cadinhos foram levados posteriormente para calcinação em mufla (Fornitec Rebert Shaw Pyrotec), a 800 °C, por 4 horas. Ao final do processo, os cadinhos foram retirados da mufla e resfriados em dessecador, sendo então, pesados em balança analítica (Ohaus, modelo Analytical Plus). Esse procedimento foi realizado em triplicata para cada amostra. As cinzas das amostras foram maceradas e transferidas para celas de polietileno, com diâmetro externo de 32 mm, específicas para análises em EDXRF (Chemplex<sup>®</sup>, referência 1330), com seus fundos sustentados pelo filme de Mylar<sup>®</sup>, bem esticado (Figura 9). As celas contendo as amostras foram irradiadas em seguida.



**Figura 9:** (a) Componentes das celas de polietileno, (b) Cela pronta para ser irradiada.

O teor de dióxido de titânio nas cinzas das amostras ( $C_{cinzas}$ ) pode então ser calculado. Além desse teor, o dióxido de titânio da amostra de pasta de dente ( $C_{pasta}$ ) também foi calculado, através da consideração da massa inicial de pasta de dente antes da calcinação ( $m_{pasta}$ ) e da massa de cinzas ( $m_{cinzas}$ ), conforme a Equação 16. Esses valores,  $C_{pasta}$ , foram usados como referência para o método proposto.

$$C_{pasta} = \frac{m_{cinzas}}{m_{pasta}} \cdot C_{cinzas} \quad (\text{Equação 16})$$

### 3.4. AVERIGUAÇÃO DA EXATIDÃO DOS TEORES OBTIDOS POR PARÂMETROS FUNDAMENTAIS

Para os testes de recuperação, os reagentes usados foram previamente secos em estufa a 130 °C, por duas horas e resfriados em dessecador. Os padrões de dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>, Riedel-deHaën) foram pesados usando almofariz em balança analítica e completados até 1 g ( $\pm$  0,0001) com sílica (SiO<sub>2</sub>, Merck). Foram macerados em seguida e depositados em celas de FRX, que foram então irradiadas conforme as condições descritas no item 2.1.

Desta forma, foram obtidos padrões similares as cinzas com composição de dióxido de titânio de 0,25, 0,50, 1,00, 2,00, 3,00 e 3,50 (g/100 g) em matriz de sílica.

### 3.5. ANÁLISE DIRETA DE TiO<sub>2</sub> EM CREMES DENTAIS

As amostras de cremes dentais foram depositadas diretamente em celas de polietileno para análises em EDXRF e irradiadas conforme item 2.1.

As amostras não homogêneas visualmente (Figura 10) foram previamente homogeneizadas em béquer com auxílio de bagueta e, então, transferidas para as celas de FRX.



**Figura 10:** Celas de polietileno com filme Mylar<sup>®</sup> com cremes dentais antes e após a homogeneização.

Os espectros de fluorescência de raios X obtidos foram usados para a construção do modelo de calibração multivariada, sendo as médias dos valores em triplicata obtidos pelo método dos parâmetros fundamentais das cinzas das mesmas amostras, usadas como valores de referência. O tratamento dos dados foi realizado com o programa computacional *Pirouette*<sup>®</sup> 3.11 (Infometrix Co, 2003).

Das 22 amostras analisadas, 16 delas foram usadas para construção de modelo de calibração multivariada e 6, para validação externa. Como os resultados foram obtidos em triplicata, um total de 48 espectros foi utilizado para construção do modelo e 18, para a validação externa.

Para verificar a adequação do modelo proposto, foram calculadas algumas Figuras de Mérito, usando-se o programa computacional *Matlab*<sup>®</sup> 6.5. Para a estimativa média do desvio padrão da flutuação do sinal analítico ( $\delta_x$ ), valor necessário para as equações 8 e 9 (ver item 1.5), foi considerado o ruído presente nos espectros após 25 keV, onde nenhum sinal analítico é observado.

---

---

## **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

---

---

Após a calcinação das amostras, as cinzas de pasta de dente apresentaram coloração de branca a cinza, indicando que toda a matéria orgânica foi eliminada. A variação de massa após a calcinação, relacionada principalmente à perda de água e de compostos orgânicos, foi de 68 a 88%. Esta variação deve-se ao fato de as amostras serem de marcas e composições diferentes, com apelos e propósitos variados.

Na Tabela 2, encontram-se os teores médios determinados de dióxido de titânio por FRX pelo método de parâmetros fundamentais a partir das cinzas e os valores ajustados em função da massa inicial das amostras de cremes dentais antes da calcinação.

**Tabela 2:** Concentrações médias (g/100 g) de dióxido de titânio nas cinzas e os valores ajustados em função da massa inicial dos cremes dentais (n = 3).

Amostras	Teores de TiO <sub>2</sub> nas Cinzas (g/100 g)	Teores de TiO <sub>2</sub> nas Pastas (g/100 g)
TP1	3,6 ± 0,1	0,87 ± 0,03
TP2	3,0 ± 0,1	0,71 ± 0,03
TP3	2,57 ± 0,07	0,66 ± 0,02
TP4	1,96 ± 0,01	0,503 ± 0,003
TP5	2,36 ± 0,01	0,445 ± 0,002
TP6	3,3 ± 0,1	0,41 ± 0,01
TP7	1,89 ± 0,03	0,385 ± 0,005
TP8	1,073 ± 0,007	0,345 ± 0,002
TP9	1,45 ± 0,01	0,353 ± 0,002
TP10	1,179 ± 0,008	0,336 ± 0,002
TP11	1,13 ± 0,06	0,24 ± 0,01
TP12	0,95 ± 0,02	0,222 ± 0,004
TP13	0,76 ± 0,02	0,171 ± 0,005
TP14	0,69 ± 0,04	0,143 ± 0,008
TP15	0,55 ± 0,01	0,129 ± 0,003
TP16	0,776 ± 0,009	0,102 ± 0,001
TP17	0,39 ± 0,01	0,081 ± 0,003
TP18	0,211 ± 0,003	0,049 ± 0,007
TP19	0,200 ± 0,009	0,047 ± 0,002
TP20	0,234 ± 0,009	0,054 ± 0,002
TP21	0,271 ± 0,009	0,052 ± 0,002
TP22	0,249 ± 0,002	0,045 ± 0,004

A exatidão do método foi avaliada por testes de recuperação. A sílica foi empregada como matriz, já que este óxido é o componente majoritário nas cinzas

analisadas, permitindo o preparo de padrões similares à composição das cinzas dos cremes dentais. Com isso, foi aplicado o método de Parâmetros Fundamentais e na Tabela 3, encontram-se os resultados dos testes de recuperação.

**Tabela 3:** Resultados dos testes de recuperação de  $\text{TiO}_2$  com diferentes concentrações em matriz de sílica (n = 3).

Concentração Padrão (g/100 g)	Concentração Estimada (g/100 g)	Recuperação (%)
0,25	$0,27 \pm 0,03$	108
0,50	$0,55 \pm 0,09$	110
1,00	$1,05 \pm 0,05$	105
2,00	$2,00 \pm 0,07$	100
3,00	$2,95 \pm 0,04$	98
3,50	$3,47 \pm 0,09$	99

Observa-se pelos resultados que os valores recuperados de dióxido de titânio em matriz de sílica pelo método de parâmetros fundamentais estão em torno de 100%, não havendo assim a necessidade da construção de uma curva analítica com padrão externo.

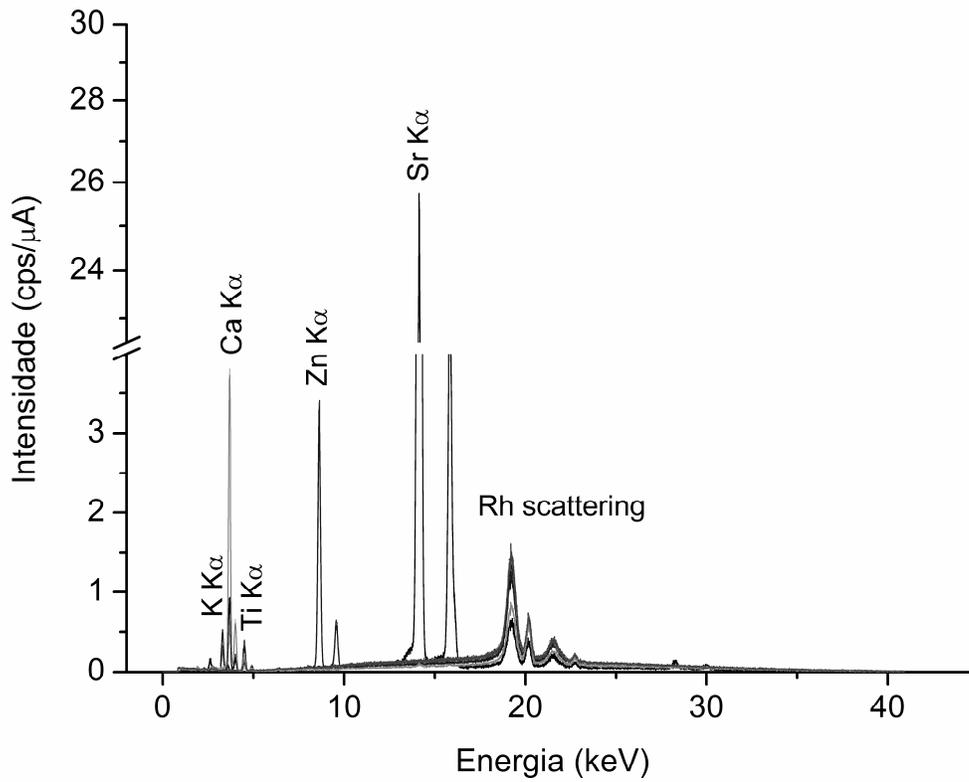
O método mostrou-se eficaz para quantificar  $\text{TiO}_2$ . As análises em cinzas é um método rápido e bem confiável na fluorescência de raios X, pois trata-se de matrizes simples, composta basicamente por óxidos. O método de parâmetros fundamentais é uma boa alternativa para contornar os problemas devidos à absorção, e permite, na maioria dos casos, minimizar significativamente as interferências devidas à intensificação da fluorescência. No entanto, o tempo gasto na etapa de preparo da amostra (calcinação) torna o método pouco viável para análises de rotina, o que justificaria a necessidade de desenvolvimento de um método a partir da análise direta nas amostras de pastas de dente.

A quantificação de elementos diretamente nas pastas de dente é difícil, pois as amostras são muito complexas sendo encontradas variações na densidade de cada produto, o que dificulta a construção de padrões. Os coeficientes de absorção para raios X precisariam ser semelhantes para todas as medidas, a fim de não quantificar erroneamente o analito nas amostras.

O uso do método de parâmetros fundamentais acaba ficando inviável para corrigir efeitos de matriz em pasta, uma vez que o método só ganha confiabilidade se os diversos parâmetros que fazem parte da expressão matemática são obtidos a partir de padrões adequados. No entanto, sua base de cálculo pode tornar-se muito complicada e imprecisa, principalmente em função da complexidade da matriz amostral que se deseja analisar. Por outro lado, os métodos quimiométricos baseiam-se na construção de modelos a partir de padrões de calibração. Ou seja, evitam-se cálculos de coeficientes teóricos, relacionados à matriz da amostra e às características geométricas e instrumentais, permitindo ao sistema obter modelos com maior habilidade de previsão. Além disso, outra grande vantagem destas metodologias em relação às convencionais é a possibilidade de quantificar espécies mesmo na presença de interferentes espectrais e efeitos interelementares, problemas comuns em análises por FRX.

#### 4.1. MODELO DE PLS PARA AMOSTRAS IRRADIADAS POR 100 SEGUNDOS

Para a construção dos modelos de calibração e validação de quantificação do teor de  $\text{TiO}_2$ , os espectros obtidos diretamente para as amostras na forma de pasta (Figura 11) foram submetidos a tratamento quimiométrico por PLS. Este método permitiu obter uma relação linear entre a matriz de dados X, composta pelas 2047 variáveis espectrais de cada uma das 16 amostras de creme dentais irradiadas diretamente por FRX, que compõem o conjunto de calibração, e a matriz Y, contendo as concentrações de dióxido de titânio de cada amostra, obtidas por parâmetros fundamentais das cinzas irradiadas (Tabela 2).

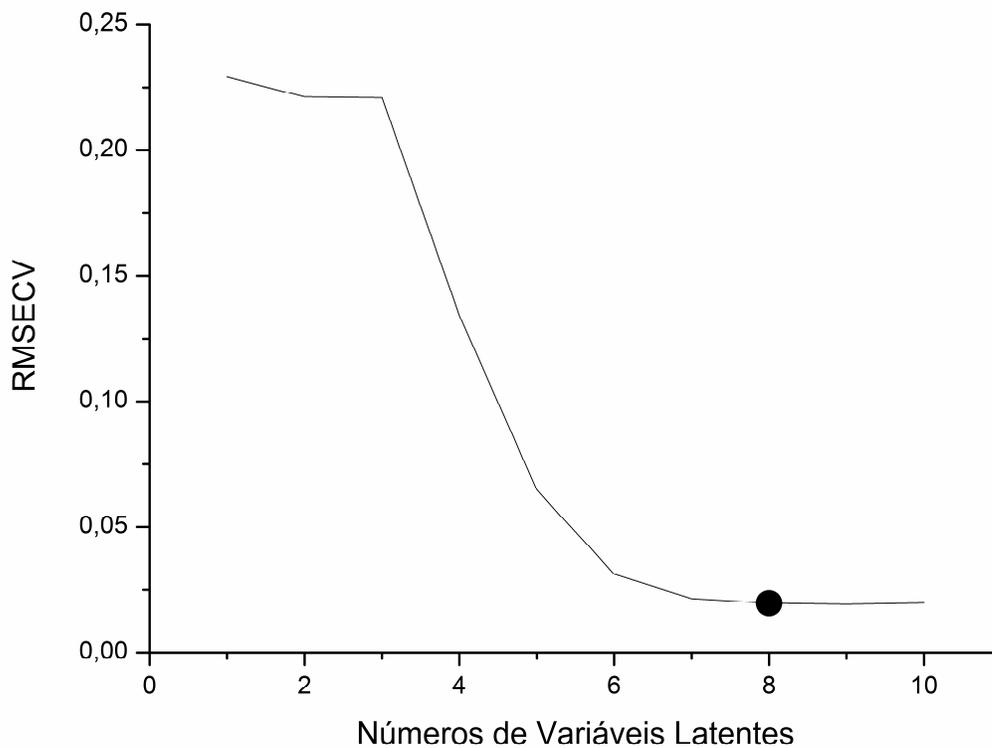


**Figura 11:** Espectros de raios X sobrepostos das 16 amostras de cremes dentais irradiadas diretamente, que compõem o conjunto de calibração.

No modelo construído, o único pré-processamento utilizado foi centrar os dados na média, que consiste em subtrair o elemento de cada coluna pelo valor médio dos elementos dessa coluna, obtendo-se como resultado uma matriz onde todas as colunas têm médias zero. A fim de minimizar a presença de ruídos, os espectros foram alisados pela média móvel, com janela de 15 pontos. A possibilidade de construção do modelo de calibração foi averiguada, analisando primeiramente os números de variáveis latentes e os erros da validação cruzada, no qual o erro mínimo de previsão é determinado, e posteriormente identificando os *outliers*.

A escolha do número de variáveis latentes foi baseada nos valores de RMSECV, que corresponde à raiz quadrada dos erros médios de calibração e é calculado para cada variável latente (VL), isto é, as novas variáveis resultantes das combinações realizadas pelas variáveis originais. A Figura 12 mostra o número de variáveis latentes

em função do RMSECV, onde nota-se que, a partir da oitava variável latente, os valores de RMSECV praticamente permanecem constantes. Essa constatação pode ser melhor visualizada na Tabela 4. O valor de RMSECV para a oitava variável latente é de 0,019 e não há diferença significativa de valores quando comparado com as variáveis 9 e 10, dessa mesma tabela. Portanto, foi considerado o valor de 8 para o número de variáveis latentes para a construção do modelo PLS, explicando 99,992% da variância acumulada. O uso de um número maior de variável latente levaria a inclusão de ruídos presentes nos espectros, o que certamente acarretaria a um sobreajuste no modelo. Por outro lado, com um número menor, poderia ocorrer a falta de informações necessárias para se obter um modelo com baixos erros de previsão.

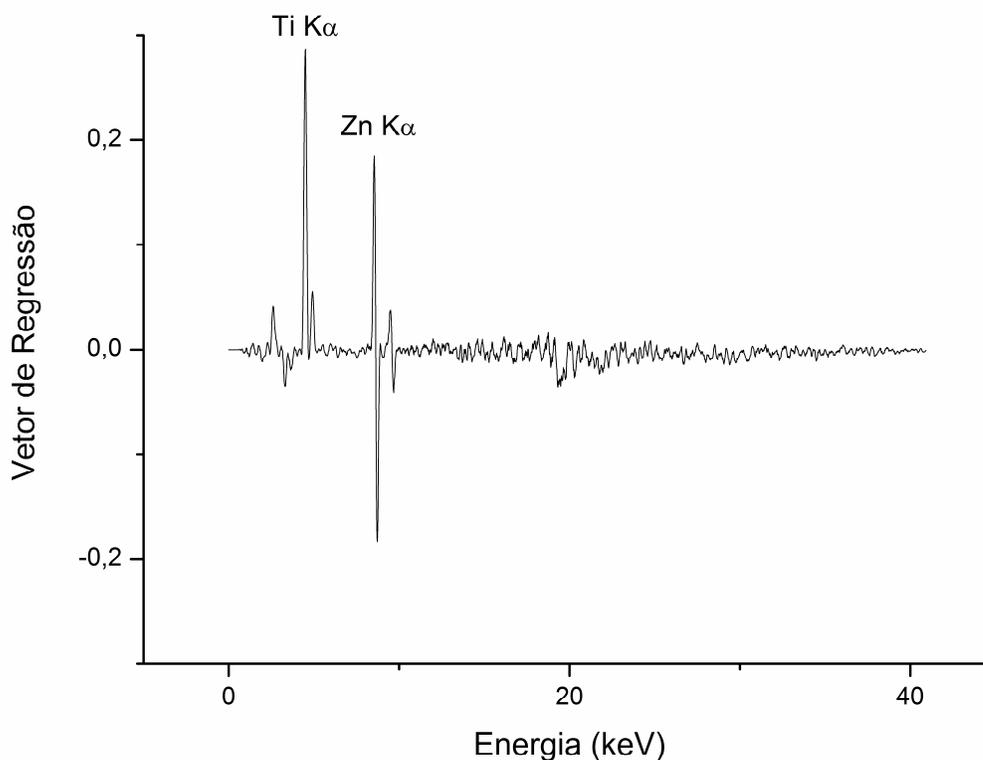


**Figura 12:** Número de variáveis latentes, em função do RMSECV.

**Tabela 4:** Valores de RMSECV para 10 variáveis latentes do modelo PLS.

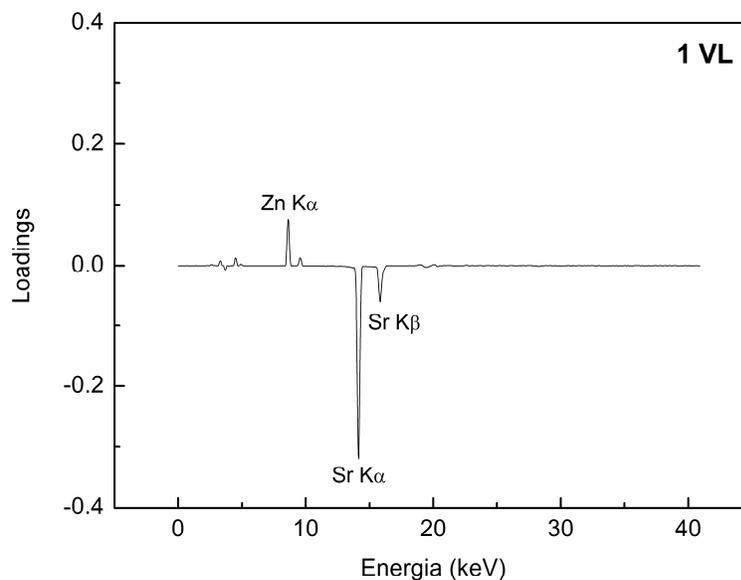
VL	RMSECV	Variância Acumulada em X (%)	Variância Acumulada em Y (%)
1	0,23	92,61	7,69
2	0,22	98,58	25,25
3	0,22	98,83	37,57
4	0,13	99,96	74,64
5	0,065	99,98	92,22
6	0,031	99,98	97,93
7	0,021	99,99	99,06
8	0,019	99,99	99,56
9	0,018	99,99	99,80
10	0,019	99,99	99,85

A Figura 13 mostra o gráfico do coeficiente de regressão do modelo PLS, no qual notam-se que as variáveis mais significativas para o modelo são aquelas que representam as linhas de emissão de titânio e zinco.



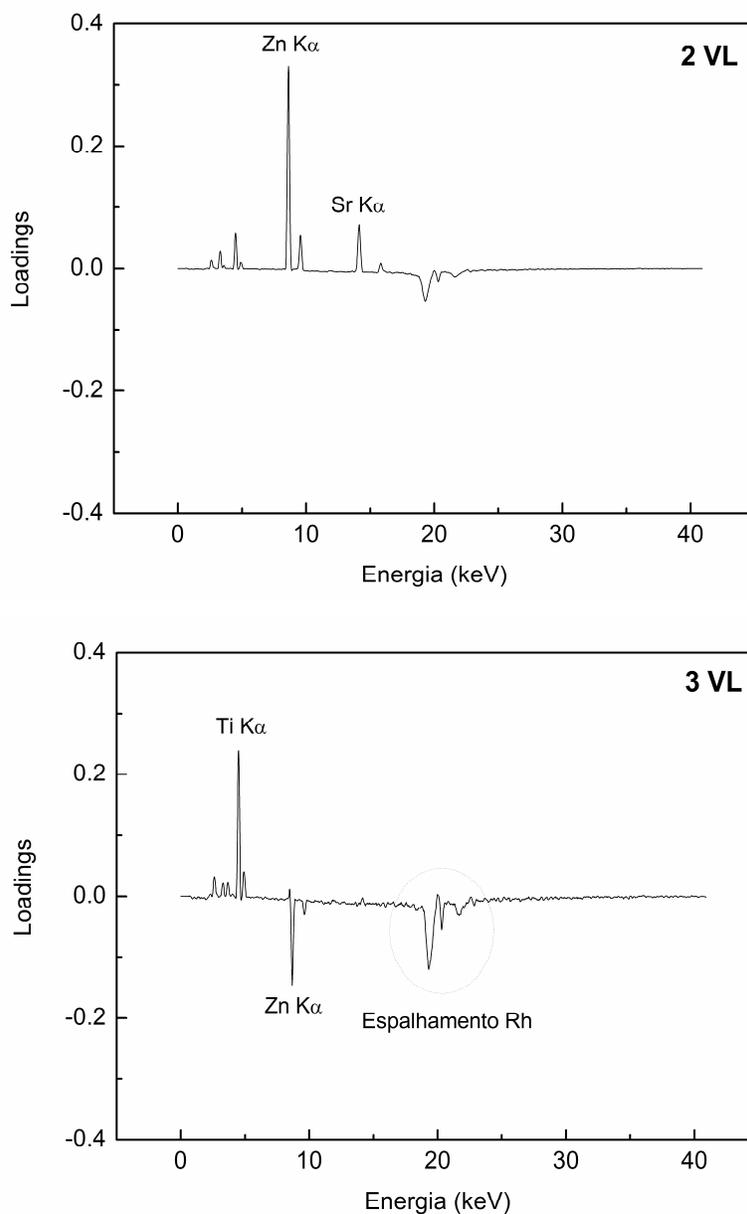
**Figura 13:** Gráfico do coeficiente de regressão para o modelo PLS a 100 s.

Os pesos expressam o quanto cada uma das variáveis contribui para a formação do modelo, sendo maior a influência da variável quanto maior for o valor positivo ou negativo do peso, para cada valor de energia. Conforme mostrado na Figura 14, para esse estudo, a primeira VL mostra a influência do pico  $K\alpha$  do elemento Sr. Embora esse elemento tenha sido identificado apenas na amostra TP16, ele contribuiu de forma importante para a abrangência do modelo.



**Figura 14:** Gráfico de pesos em função da energia para a primeira variável latente.

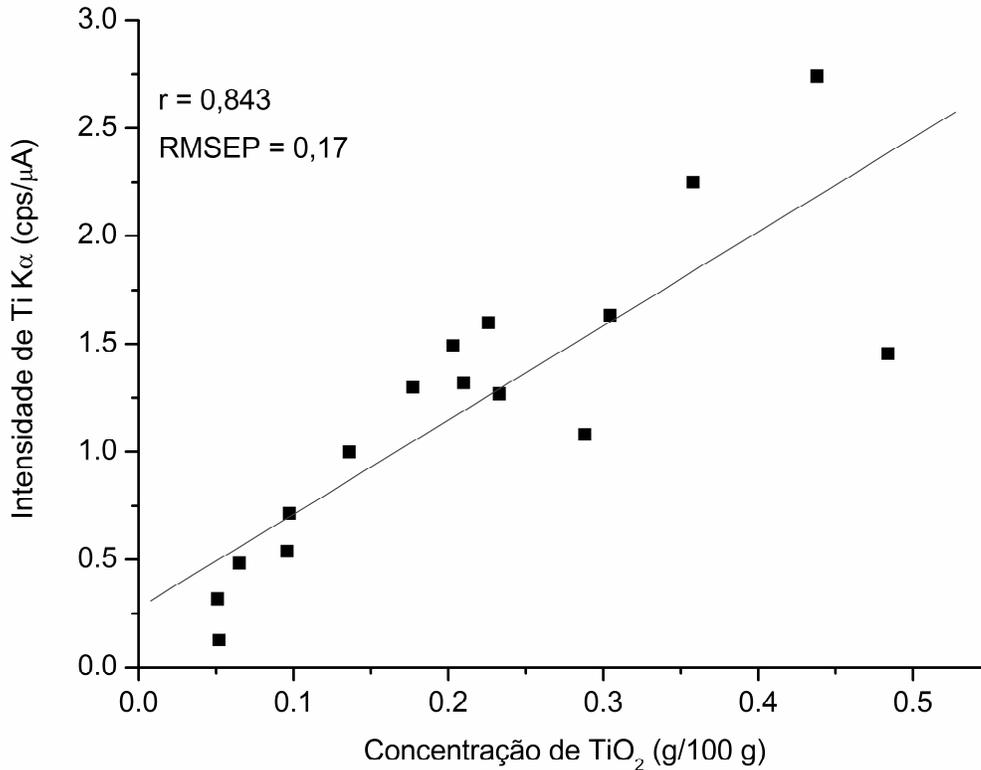
Na segunda VL, a região do pico  $K\alpha$  do Zn foi o de maior importância, sendo que o elemento está presente em várias das amostras. Na terceira VL, o pico  $K\alpha$  do Ti foi aquele que mais apresentou influência, mostrando que, para a construção do modelo multivariado diretamente nos cremes dentais, existe a necessidade de uma quantidade maior de informações do que apenas a intensidade do sinal de titânio. Isso se deve à interferência interelementos que altera o sinal do elemento de interesse (Figura 15).



**Figura 15:** Gráfico de pesos em função da energia, para a segunda e terceira variável latente (2 VL e 3 VL, respectivamente).

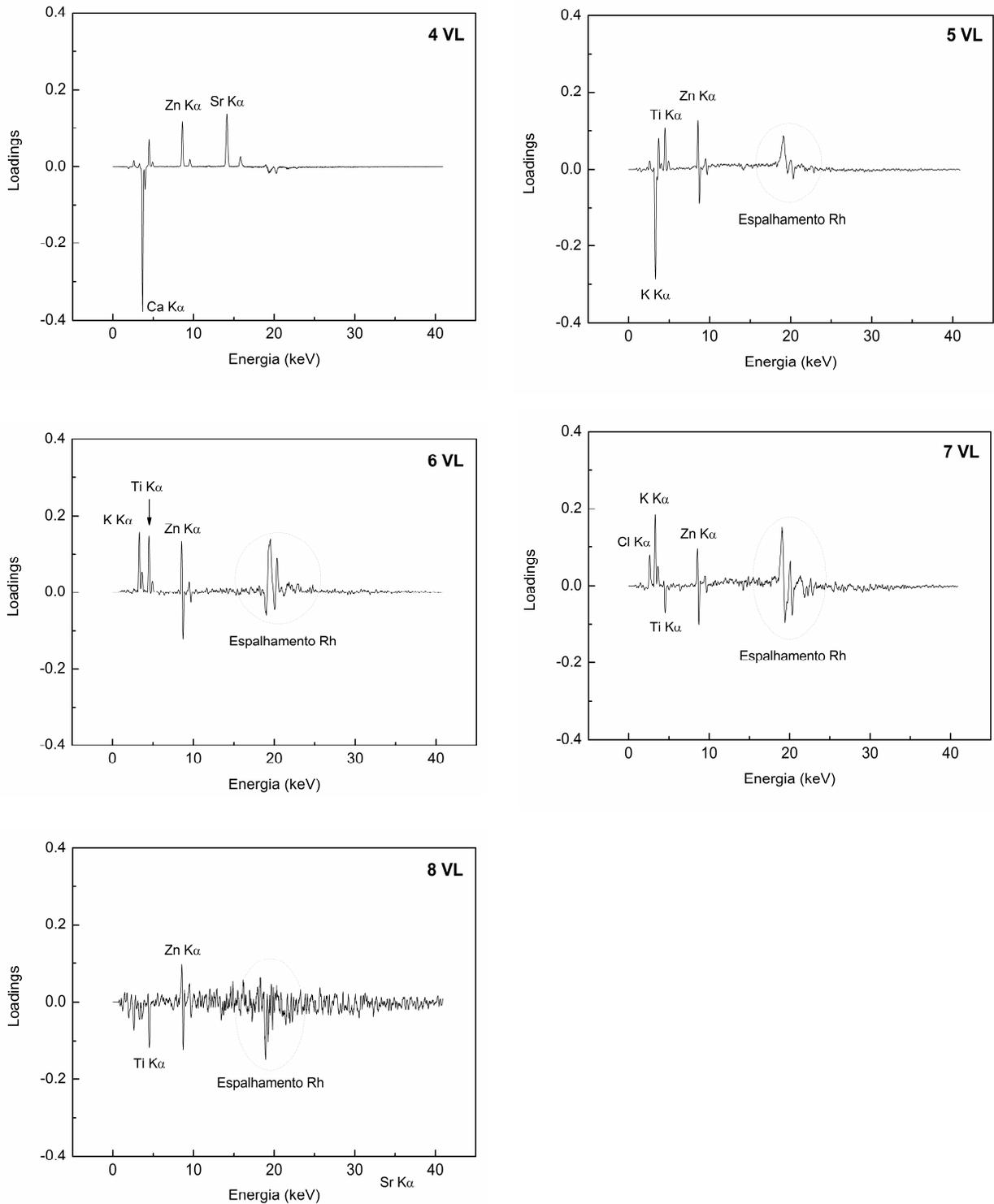
É inviável a construção de uma curva analítica convencional univariada, na qual a concentração é função direta da intensidade do sinal de um único analito, como mostra a Figura 16. Este resultado, demonstra a falta de linearidade da curva analítica devido ao efeito de matriz envolvido, o que impossibilitaria por exemplo método de adição de padrão. Para as médias das concentrações de TiO<sub>2</sub> das 16 amostras usadas para o

conjunto de calibração, obtendo coeficiente de regressão igual a 0,843 e RMSECV igual a 0,17.



**Figura 16:** Intensidade em função da concentração de titânio, após irradiação direta das pastas de dente (método univariado).

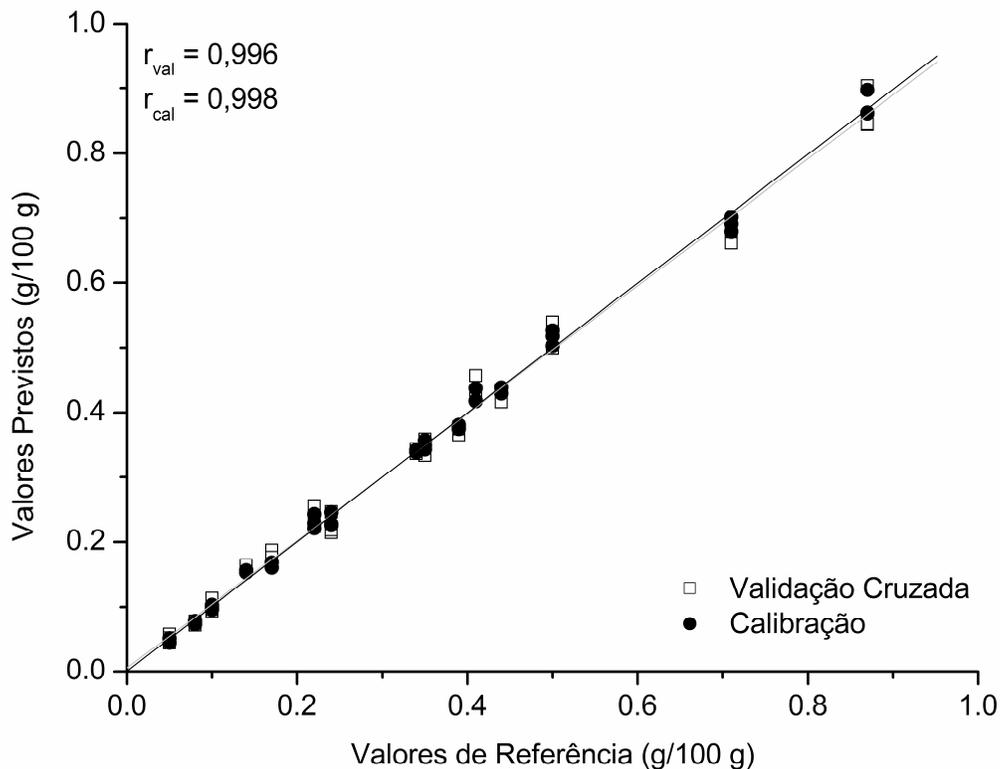
As variáveis latentes restantes permitem constatar a influência de outras regiões do espectro na construção do modelo, como sinais dos elementos Ca, K e a região de espalhamento de raios X, entre 19 e 22 keV (Figura 17). Portanto, para a construção do modelo a partir dos espectros de FRX obtidos diretamente nas pastas de dente, é necessário levar em consideração a variação na composição orgânica (manifestada pela ocorrência do espalhamento da fonte de ródio) e a presença de outros analitos, mesmo quando a espécie de interesse não se encontrar nesta faixa de energia.



**Figura 17:** Gráfico de pesos em função da energia da quarta até a oitava variável latente.

Em seguida, foram avaliados os erros da validação cruzada do conjunto de calibração para o modelo de PLS criado. As relações entre os valores previstos e os

valores de referência (determinados pelas análises das cinzas dos cremes dentais) estão apresentadas na Figura 18, onde também são apresentados os valores dos coeficientes de correlação da calibração ( $r_{cal}$ ) e da validação ( $r_{val}$ ). Comparando a Figura 16 (método multivariado) com a Figura 15 (método univariado), observa-se uma melhora muito significativa nas correlações entre as duas curvas.



**Figura 18:** Curvas de correlação entre os valores de referência e os valores previstos dos teores de  $TiO_2$  para calibração e validação interna, usando método multivariado.

Os coeficientes de correlação para a validação e calibração possuem valores muito próximos; além disso, na Tabela 5, são apresentadas as médias dos valores da previsão e os erros determinados para cada valor na validação cruzada, sendo que os erros de previsão não excedem 13 g/100 g. Um dos espectros de cada uma das replicatas TP5, TP13, TP14 e TP20, foram considerados como *outliers*, pois

apresentaram valores elevados de resíduo de Student, sendo assim excluídas do modelo.

**Tabela 5:** Valores e erros médios de previsão na validação interna dos teores de TiO<sub>2</sub> do modelo de PLS (n = 3).

Amostras	Valores de Referência (g/100 g)	Valores Previstos (g/100 g)	Erro (%)
TP1	0,870	0,865	1
TP2	0,710	0,679	4
TP4	0,503	0,522	4
TP5	0,445	0,426	4
TP6	0,409	0,435	6
TP7	0,385	0,373	3
TP9	0,353	0,346	2
TP10	0,336	0,340	1
TP11	0,242	0,227	6
TP12	0,222	0,238	7
TP13	0,171	0,182	6
TP14	0,143	0,162	13
TP16	0,102	0,101	1
TP17	0,0812	0,0748	8
TP20	0,0539	0,0509	6
TP21	0,0522	0,0470	10

A fim de avaliar parâmetros importantes do modelo, foram determinadas algumas figuras de mérito, cujos valores estão apresentados na Tabela 6. Os valores determinados permitem constatar que os limites de detecção (*LOD*) e quantificação (*LOQ*) estão abaixo do menor valor medido de dióxido de titânio nas amostras. O teste *t*, por sua vez, permitiu concluir que os erros sistemáticos presentes nos modelos são insignificantes, podendo ser desprezados, visto que o  $t_{bias}$  calculado foi inferior ao  $t_{tabelado}$  (2,31), com 95% de confiança. As capacidades de calibração (RMSEC, *Root Mean Square Error of Calibration*) e previsão por validação cruzada (RMSECV), do modelo foram de 0,012 e 0,019%, respectivamente.

**Tabela 6:** Figuras de mérito do modelo multivariado na análise de TiO<sub>2</sub> nas amostras de cremes dentais.

Figuras de Mérito	Parâmetros
RMSEC	0,012 <sup>a</sup>
RMSECV	0,019 <sup>a</sup>
LOD	0,013 <sup>a</sup>
LOQ	0,039 <sup>a</sup>
t <sub>bias</sub>	0,012*

<sup>a</sup>g/100 g;

\*t<sub>tabelado</sub> = 2,31 (95% de confiança).

As triplicatas das amostras TP3, TP8, TP15, TP18, TP19 e TP22 foram empregadas para validação externa, essas amostras foram escolhidas por representarem cada, uma marca diferente. Na tabela 7, são apresentados os valores médios previstos e os erros obtidos na validação externa. Cada amostra escolhida pertence a uma marca diferente de creme dental; assim, o modelo tornou-se capaz de prever diferentes concentrações TiO<sub>2</sub>, para variadas marcas comerciais de dentífricos.

**Tabela 7:** Valores e erros médios de previsão para validação externa dos teores de TiO<sub>2</sub>, usando o modelo de PLS (n = 3).

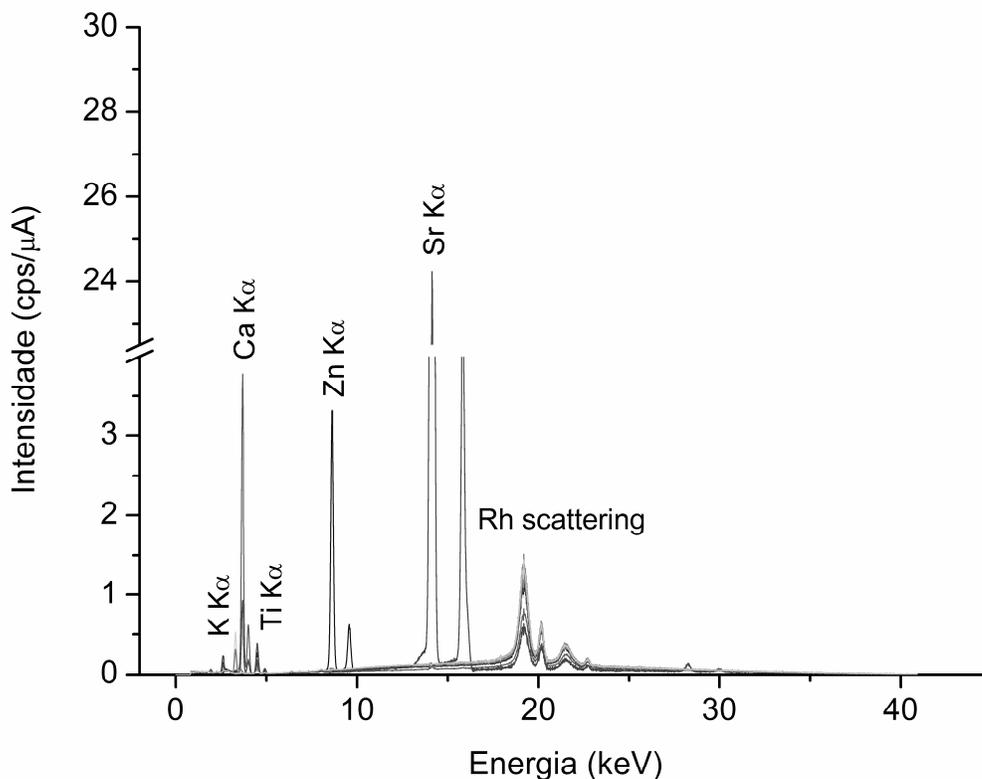
Amostras	Valores de Referência (g/100 g)	Valores Previstos (g/100 g)	Erro (%)
TP3	0,655	0,548	16
TP8	0,345	0,329	5
TP15	0,129	0,135	4
TP18	0,0496	0,0439	12
TP19	0,0474	0,0528	11
TP22	0,0408	0,0370	9

O valor máximo para o erro da validação externa foi de 16% para a amostra TP3, indicando que o método proposto é adequado para esse tipo de análise.

#### 4.2. MODELOS DE PLS PARA AMOSTRAS IRRADIADAS POR 700 SEGUNDOS

As mesmas amostras usadas e discutidas no item 3.1 também foram analisadas por FRX sobre 700 segundos de irradiação (Figura 19). Essa proposta teve como fim

avaliar a diferença no tempo de irradiação nos espectros e como o modelo de PLS foi influenciado com essa medida, pois um aumento no tempo de análise tem como consequência o aumento da razão sinal/ruído, o que teoricamente levaria a uma melhor interpretação dos dados.



**Figura 19:** Espectros de raios X sobrepostos das 16 amostras de cremes dentais irradiadas diretamente por 700 segundos, que compõem o conjunto de calibração.

Para a construção do modelo PLS desses dados, foi utilizada uma matriz de dados X, composta pelas 2047 variáveis espectrais de 16 amostras de creme dentais irradiadas diretamente por FRX e a matriz Y, contendo as concentrações de dióxido de titânio de cada amostra, obtidas por parâmetros fundamentais das cinzas irradiadas (Tabela 2).

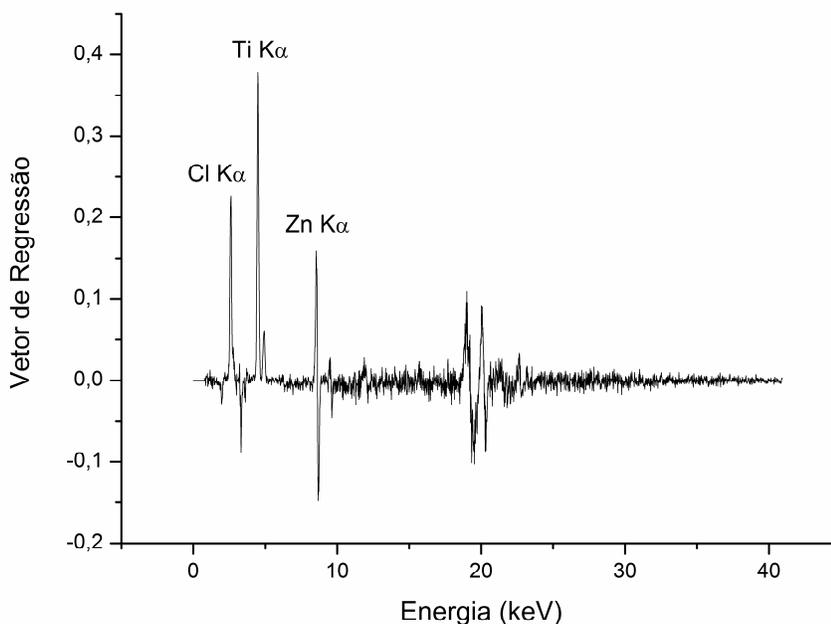
Os espectros de FRX foram então centrados na média e o algoritmo do PLS foi aplicado. O próximo passo foi avaliar os números de variáveis latentes a serem usados no PLS. A Tabela 8 apresenta os valores dos erros quadrados médios de validação

cruzada (RMSECV). O número de variáveis latentes usado foi novamente igual a 8, pois a partir da oitava variável, não há mudanças significativas nos valores de RMSECV.

**Tabela 8:** Valores de RMSECV das amostras irradiadas por 700 s.

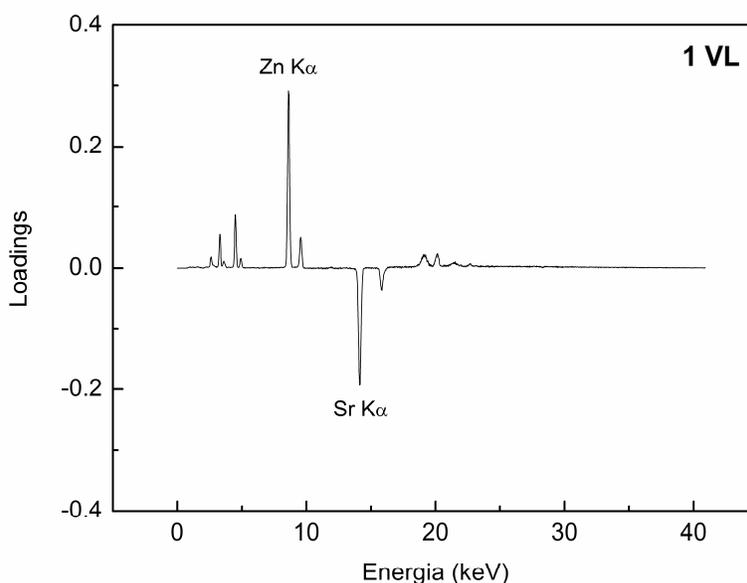
VL	RMSECV	Variância Acumulada em X (%)	Variância Acumulada em Y (%)
1	0,23	29,858	7,69
2	0,22	49,226	18,98
3	0,21	78,235	27,51
4	0,16	99,304	58,72
5	0,092	99,807	93,40
6	0,052	99,874	96,26
7	0,036	99,891	98,10
8	0,023	99,903	98,32
9	0,022	99,911	99,36
10	0,022	99,922	99,84

Na figura 20, é mostrado o coeficiente de regressão para o modelo a 700 s; as linhas de emissão do cloro, titânio e zinco são as mais significantes para o modelo.



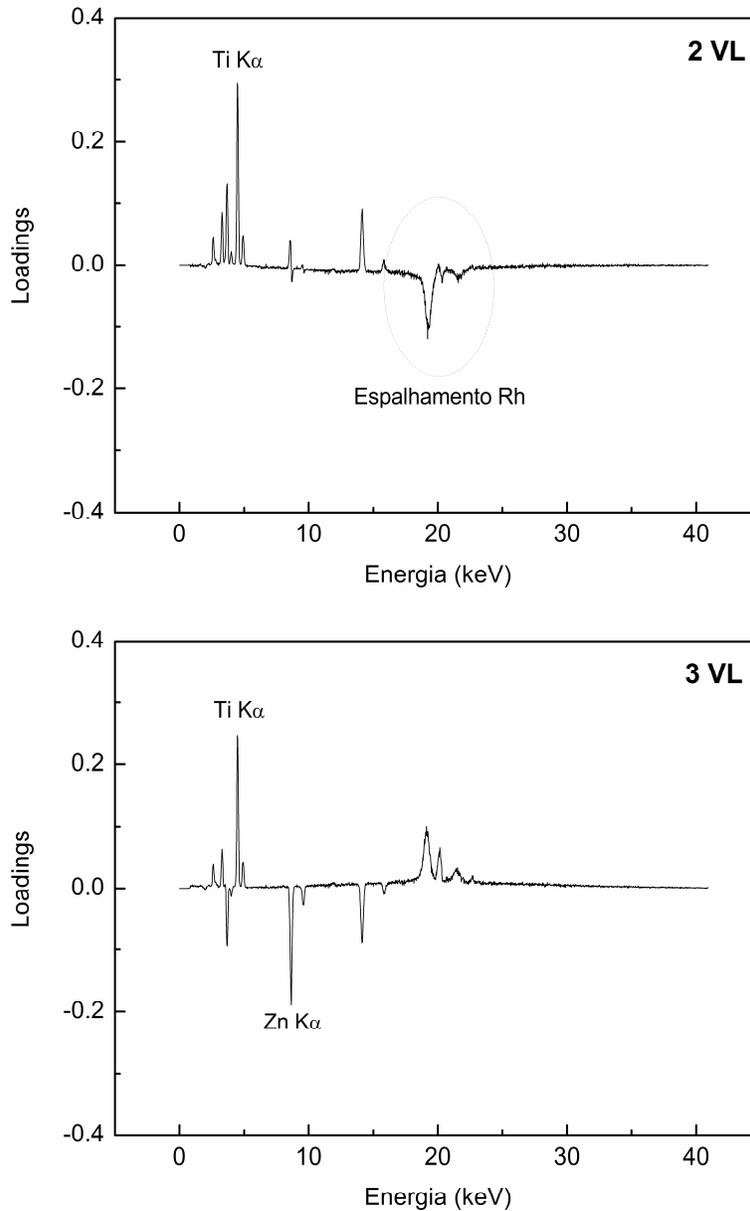
**Figura 20:** Gráfico do coeficiente de regressão para o modelo de PLS a 700 s.

Com o número de VL definido, os pesos puderam ser avaliados, mostrando o quanto cada uma das variáveis contribui para a formação do modelo, sendo maior a influência da variável quanto maior for o valor positivo ou negativo do peso para cada valor de energia. Na Figura 21, podemos analisar a alta influência dos picos Zn  $K\alpha$  e Sr  $K\alpha$  na primeira variável latente, explicando 29,8% da variância acumulada do modelo.



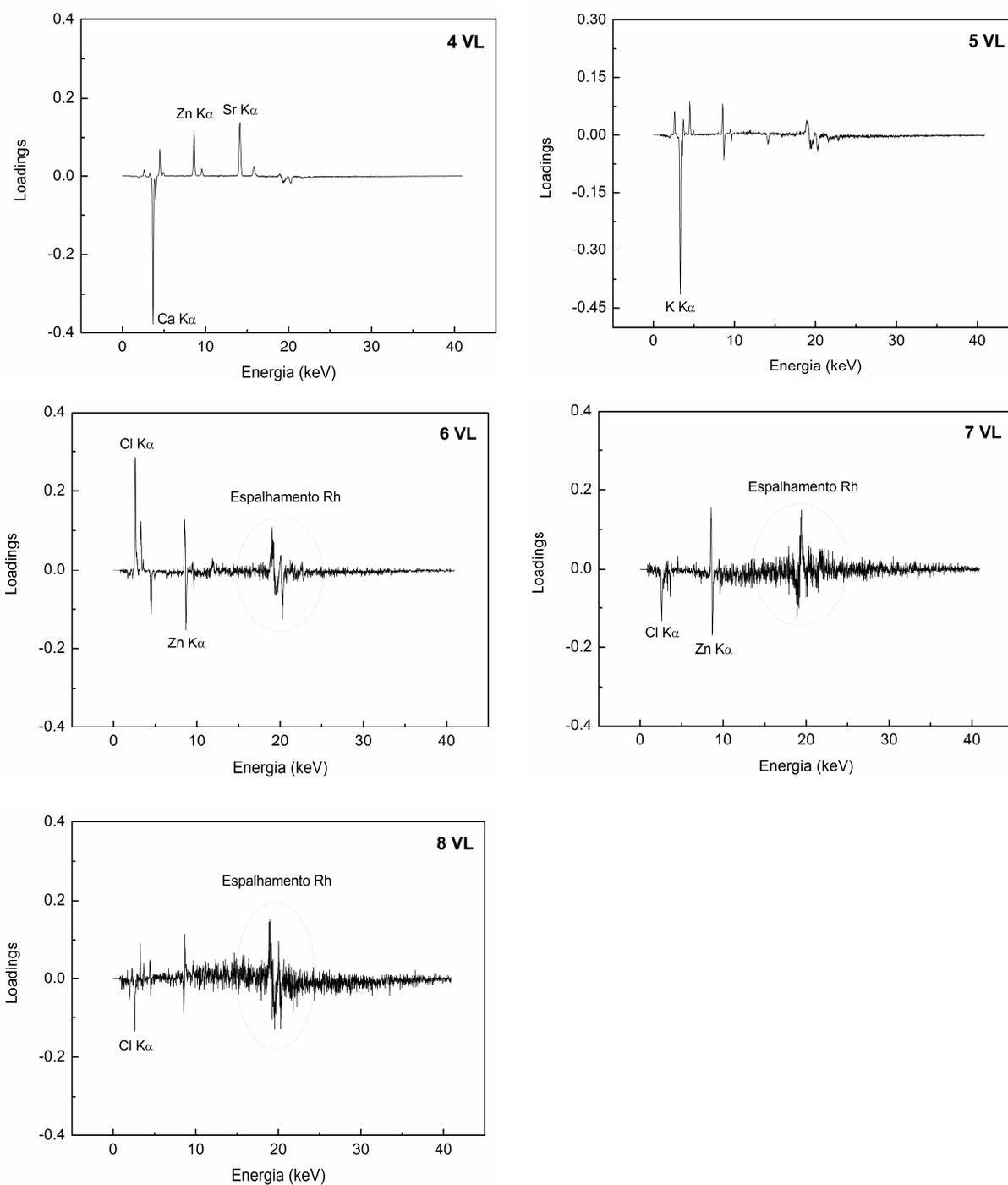
**Figura 21:** Gráfico de pesos em função da energia para a primeira variável latente.

Na segunda VL, o pico  $K\alpha$  do Ti e o espalhamento recorrente da fonte de rádio, são os mais influentes para essa variável. A terceira VL é uma combinação entre os picos Ti  $K\alpha$  e Zn  $K\alpha$ , que influenciam positivamente e negativamente, respectivamente, nos pesos (Figura 22).



**Figura 22:** Gráfico de pesos em função da energia para a segunda e terceira variável latente, respectivamente.

As quarta, quinta e sexta variáveis latentes explicam a alta influência dos picos  $K\alpha$  referente aos elementos Ca e K e Cl. Por fim, nas VL's 7 e 8, observa-se a influência da matéria orgânica, que se apresenta como o espalhamento proveniente da fonte de raios X do equipamento (Figura 23).



**Figura 23:** Gráfico de pesos em função da energia da quarta até oitava variável latente.

É digno de nota aqui que, quando interpretamos os pesos desse novo modelo, eles são diferentes das amostras irradiadas a 100 s; basicamente fornecem a mesma

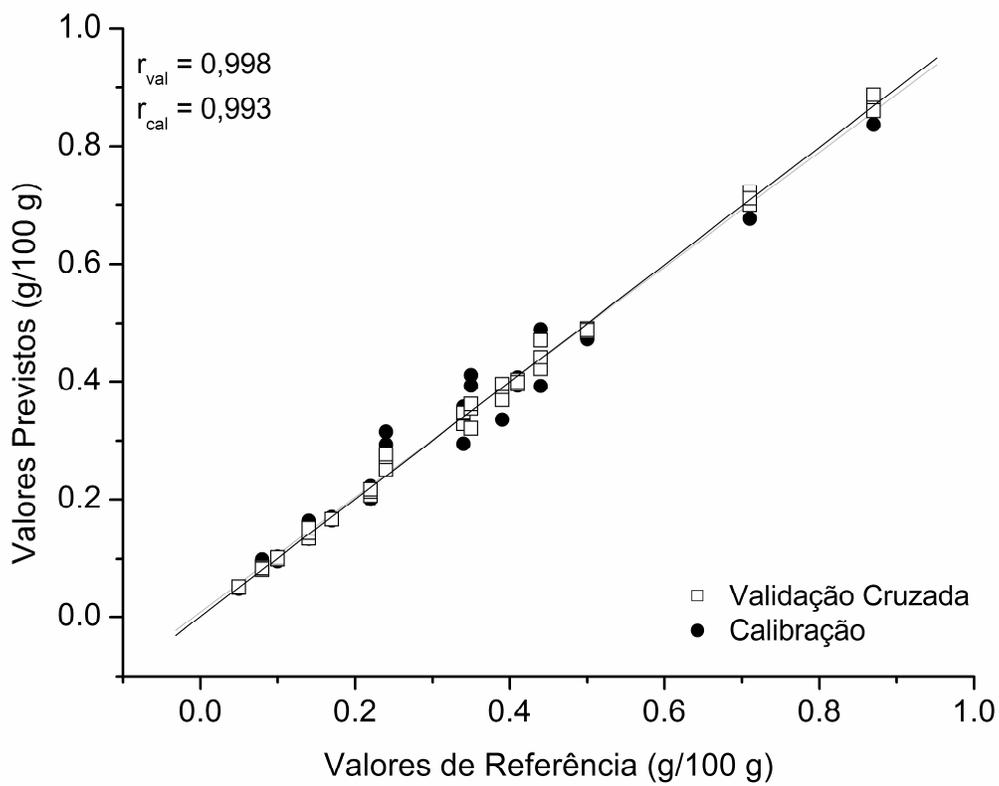
informação, mas, em variáveis latentes diferentes. Este fato indica que o aumento do tempo favorece significativamente o aumento da intensidade das linhas de emissões de elementos mais leves.

Em seguida, foram avaliados os erros de previsão da validação cruzada determinados pelo PLS. Os valores médios das triplicatas de cada amostra são mostrados na Tabela 9, sendo o maior erro encontrado de 21%, para a amostra TP21. Os espectros de cada uma das replicatas TP11 e TP21, foram considerados como *outliers* e excluídas do modelo, pois apresentaram valores elevados de resíduo de Student.

**Tabela 9:** Valores e erros médios de previsão na validação interna para teores de TiO<sub>2</sub> para as amostras irradiadas por 700 s (n = 3).

Amostras	Valores de Referência (g/100 g)	Valores Previstos (g/100 g)	Erro (%)
TP1	0,870	0,863	1
TP2	0,710	0,703	1
TP4	0,503	0,489	3
TP5	0,445	0,432	3
TP6	0,409	0,411	1
TP7	0,385	0,364	5
TP9	0,353	0,367	4
TP10	0,336	0,330	2
TP11	0,242	0,276	14
TP12	0,222	0,217	2
TP13	0,171	0,172	1
TP14	0,143	0,143	0
TP16	0,102	0,0993	3
TP17	0,0812	0,0917	13
TP20	0,0539	0,0518	4
TP21	0,0522	0,0412	21

Os coeficientes de regressão da calibração e validação para os valores previstos na calibração e na validação cruzada também foram calculados e são mostrados na Figura 24. Ambos os valores apresentam alto coeficiente de regressão indicando alta correlação.



**Figura 24:** Curvas de correlação entre os valores de referência e os valores previstos para os teores de  $TiO_2$  no modelo PLS, para calibração e validação interna das amostras irradiadas por 700 s.

Figuras de mérito foram calculadas para o modelo de PLS dos espectros irradiados a 700 s, e seus valores permitem constatar que os limites de detecção ( $LOD$ ) e quantificação ( $LOQ$ ) estão abaixo do menor valor determinado de  $TiO_2$  nas amostras (Tabela 10). O teste  $t$  prevê que erros sistemáticos no modelo são insignificantes, podendo ser desprezados, visto que o  $t_{bias}$  calculado foi inferior ao  $t_{tabelado}$  (2,31), com 95% de confiança. A capacidade de calibração (RMSEC) e os erros da validação cruzada (RMSECV) do modelo foi de 0,0064 e 0,023%, respectivamente.

**Tabela 10:** Figuras de mérito para o modelo PLS com as amostras irradiadas por 700 s.

Figuras de Mérito	Parâmetros
RMSEC	0,0062 <sup>a</sup>
RMSECV	0,023 <sup>a</sup>
LOD	0,012 <sup>a</sup>
LOQ	0,039 <sup>a</sup>
$t_{bias}$	0,033*

<sup>a</sup>g/100 g;

\* $t_{tabelado} = 2,31$  (95% de confiança).

As triplicatas das amostras TP3, TP8, TP15, TP18, TP19 e TP22 foram empregadas para validação externa. Na tabela 11, são apresentados os valores médios previstos e os erros obtidos na validação externa.

**Tabela 11:** Valores e erros médios de previsão para validação externa para os teores de TiO<sub>2</sub> usando o modelo de PLS, amostras irradiadas por 700 s (n = 3).

Amostras	Valores de Referência (g/100 g)	Valores Previstos (g/100 g)	Erro (%)
TP3	0,655	0,603	8
TP8	0,345	0,344	0
TP15	0,129	0,135	4
TP18	0,0496	0,0483	3
TP19	0,0474	0,0496	5
TP22	0,0408	0,0370	9

O maior erro encontrado foi para a amostra TP22 (9%), mostrando assim – e como já esperado – que o maior tempo de irradiação também foi capaz de prever amostras externas com baixos erros.

Como os dois modelos criados com tempos diferentes mostraram-se adequados para metodologia proposta, foi necessário verificar se existe diferença significativa entre os métodos, fazendo o teste t pareado. O valor encontrado, usando como dados as previsões externas dos dois modelos, foi de 0,754, valor menor que o valor de  $t_{tabelado}$ , a 95% de confiança, que é igual a 2,77; ou seja, não há diferença estatística significativa entre os métodos. Portanto o tempo de 100 s é mais adequado para o que foi proposto a ser feito, já que ele corresponde a 14% do tempo gasto para 700 s, o que traria vantagens comerciais em análises de rotina.

---

---

## **5. CONCLUSÃO**

---

---

O método proposto envolvendo espectros de FRX de pastas de dente e quimiometria baseou-se na determinação de teores de  $\text{TiO}_2$ , usando como valores de referência os obtidos pelo método de Parâmetros Fundamentais para cinzas das mesmas amostras. Ele foi capaz de prever o teor de dióxido de titânio em amostras externas com erros de até 16 g/100 g, para 100 s de irradiação. Dessa forma, pode-se afirmar que a proposta é eficaz para a determinação de teores de  $\text{TiO}_2$  em matrizes complexas como as pastas de dentes, de forma rápida e com o mínimo de preparo de amostra.

Na análise das cinzas dos cremes dentais para obtenção dos valores de referência, a amostra TP1 foi a que apresentou maior teor de  $\text{TiO}_2$  (0,87 g/100 g), mas a legislação não estabelece nenhum limite seguro para o uso desse pigmento em produtos de higiene bucal, embora seja de 1 g/100 g o valor máximo recomendado pela FDA para alimentos. Testes com padrões similares às cinzas foram feitos para avaliar a exatidão da metodologia de parâmetros fundamentais, apresentando recuperação em torno de 100%.

O uso de oito variáveis latentes para explicar a variância do modelo é justificado, pois há grande diferença na composição das amostras de cremes dentais, que atendem a fins específicos, como o combate ao tártaro ou o clareamento dental, por exemplo. Esse número de variáveis latentes possibilita análises diretas para diferentes marcas encontradas no comércio, sem que ocorra sobreajuste no modelo. Cabe ainda ressaltar, porém, que o método é eficaz apenas para as amostras que contenham dióxido de titânio em sua formulação, uma vez que amostras sem a presença do elemento (ou seja, teor igual a 0% de  $\text{TiO}_2$ ) não foram utilizadas na construção do modelo. Os modelos de PLS elaborados com 100 s e 700 s mostraram não ter diferença estatística significativa entre os métodos, com 95% de confiança.

Os cálculos das figuras de mérito confirmaram a ausência de erros aleatórios pelo teste t a 95% de confiança e, LOD e LOQ abaixo do menor valor encontrado de dióxido de titânio nas amostras.

---

---

## **6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

---

---

- [1] Jenkins, R.; **X-Ray Spectrometry**. New York: Wiley-Interscience, 1999.
- [2] Xavier, A. M.; Lima, A. G.; Vigna, C. R. M.; Verbi, F. M.; Bortoleto, G. G.; Goraieb, K.; Collins, C. H.; Bueno, M. I. M. S.; Marcos da História da Radioatividade e Tendências Atuais. **Química Nova**. 30 (1): 83 – 91, 2007.
- [3] Martins, R. A.; A Descoberta dos Raios X: O Primeiro Comunicado de Röntgen. **Revista Brasileira de Ensino de Física**. 20 (4): 373 – 391, 1998.
- [4] Segré, E.; **Dos Raios X aos Quarks – Físicos Modernos e Suas Descobertas**. Brasília: Ed. UnB, 1980.
- [5] Corish, J.; Rosenblatt, G. M.; Name and Symbol of The Element with Atomic Number 111. **Pure and Applied Chemistry** 76 (12): 2101 – 2103, 2004.
- [6] Inczédy, J.; Lengyel, T.; Ure, A. M.; **Compendium of Analytical Nomenclature: Definitive Rules**. International Union of Pure and Applied Chemistry, 3ª edição, 1998.
- [7] Jenkins, R.; De Vries, J. L.; **Practical X-Ray Spectrometry**. Hong Kong: Springer-Verlag New York INC, 2ª edição, 1970.
- [8] Skoog, D. A.; Leary, J. J.; **Principles of Instrumental Analysis**. Philadelphia: Saunders, 1992.
- [9] Chakraborti, S.; Verification of the Rayleigh Scattering Cross Section. **American Journal of Physics**. 75 (9): 824 – 826, 2007.
- [10] Gysel, M. V.; Lemberge, P.; Espen, P. V.; Description of Compton Peaks in Energy-Dispersive X-Ray Fluorescence Spectra. **X-Ray Spectrometric**. 32(2): 139 – 147, 2003.
- [11] Mizuno, Y.; Ohmura, Y.; Theory of X-Ray Raman Scattering. **Journal of Physical Society Japan**. 22(2): 445 – 449, 1967.
- [12] Rayleigh Scattering. **IUPAC Compendium of Chemical Terminology**, 2ª edição, 1997. Disponível em: <http://old.iupac.org/goldbook/R05160.pdf>. Acessado última vez em dezembro de 2010.
- [13] Compton Effect. **IUPAC Compendium of Chemical Terminology**, 2ª edição, 1997. Disponível em: <http://old.iupac.org/goldbook/C01218.pdf>. Acessado última vez em dezembro de 2010.
- [14] Bertin, E. P.; **Principles and Practice of X-Ray Spectrometric Analysis**. New York: Editora Plenum Press, 1970.

- [15] Teixeira, L. G. S.; Rocha, R. B. S.; Sobrinho, E. V.; Guimarães, P. R. B.; Pontes, L. A. M.; Teixeira, J. S. R.; Simultaneous Determination of Copper and Iron in Automotive Gasoline by X-Ray Fluorescence After Pre-Concentration on Cellulose Paper. **Talanta**. 72(3): 1073 – 1076, 2007.
- [16] Pataca, L. C. M.; Bortoleto, G. G.; Bueno, M. I. M. S.; Determinação de Arsênio em Águas Contaminadas Usando Fluorescência de Raios X por Energia Dispersiva. **Química Nova**. 28(4): 579 – 582, 2005.
- [17] Joseph, D.; Sharma, I. G.; Elemental Analysis of Cu-Ni and Nd-Al Alloys and Nickel and Iron Powders by Energy Dispersive X-ray Fluorescence (EDXRF) Technique. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**. 240(1): 353 – 356, 1999.
- [18] Williams, R. P.; van Riessen, A.; Determination of the Reactive Component of Fly Ashes for Geopolymer Production Using XRF and XRD. **Fuel**. 2010, *In Press*.
- [19] Cevika, U.; Ergenb, E.; Budakc, G.; Karabulutc, A.; Tirasoglu, E.; Apaydina, G.; Elemental Analysis of Akçaabat Tobacco and its Ash by EDXRF Spectrometry.
- [20] Roldán, C.; Coll, J.; Ferrero, J.; EDXRF Analysis of Blue Pigments Used in Valencian Ceramics From the 14th Century to Modern Times. **Journal of Cultural Heritage**. 7(2): 134 – 138, 2006.
- [21] Markarian, J.; Putting it to the Test - Polymer Analysis in the Laboratory. **Polymer Analysis**. 9(3): 22 – 25, 2007.
- [22] Farquharson, M. J.; Geraki, K.; The Use of Combined Trace Element XRF and EDXRD Data as a Histopathology Tool Using a Multivariate Analysis Approach in Characterising Breast Tissue. **X-Ray Spectrometry** 33 (5): 240 – 245, 2004.
- [23] Schmidt, F.; Bueno, M. I. M. S.; Poppi, R. J. Aplicação de Alguns Modelos Quimiométricos à Espectroscopia de Fluorescência de Raios X de Energia Dispersiva. **Química Nova**. 25 (6): 949 – 956, 2002.
- [24] Bode, P.; Bueno, M. I. M. S.; Bortoleto, G. G.; Hoffmann, G.; Van Den Inghc, T. S. G. A. M.; Rothuizen, J.; Neutron Activation Analysis and X-ray Rayleigh and Raman Scattering of Hair and Nail Clippings as Noninvasive Bioindicators for Cu Liver Status in Labrador Retrievers. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**. 390 (6): 1653 – 1658, 2008.

- [25] Calza, C.; Anjos, M. J.; Bueno, M. I. M. S.; Souza, S. M.; Brancaglion Jr, A.; Lima, T. A.; Lopes, R. T.; XRF Applications in Archaeometry: Analysis of Marajoara Pubic Covers and Pigments From the Sarcophagus Cartonage of an Egyptian Mummy. **X-Ray Spectrometry**. 36(5): 348 – 354, 2007.
- [26] Terra, J.; Antunes, A. M.; Prado, M. A.; Bueno, M. I. M. S.; Um Método Verde, Rápido e Simples para Determinar o Valor Energético de Farinhas e Cereais Matinais. **Química Nova**. 33 (5): 1098 – 1103, 2010.
- [27] Queralt, I.; Ovejero, M.; Carvalho, M. L.; Marques, A. F.; Llabrés, J. M.; Quantitative Determination of Essential and Trace Element Content of Medicinal Plants and Their Infusions by XRF and ICP Techniques. **X-Ray Spectrometry**. 34(3): 213 – 217, 2005.
- [28] Da-Col, J.; Bueno, M. I. M. S.; Emprego da Fluorescência de Raios X por Dispersão de Energia para Mapeamento de Troncos de Árvores em Campinas, São Paulo. **Química Nova**. 32(9): 2407 – 2411, 2009.
- [29] Nagata, N.; Bueno, M. I. M. S.; Métodos Matemáticos para Correção de Interferências Espectrais e Efeitos Interelementos na Análise Quantitativa por Fluorescência de Raios X. **Química Nova**. 24(4): 531 – 539, 2001.
- [30] Jenkins, R.; Buhrke, V. E.; Smith, D. K.; **Preparation of Specimens for X-Ray Fluorescence and X-Ray Diffraction Analysis**. New York: Wiley-VCH, 1998.
- [31] Birks, L. S.; **X-Ray Spectrochemical Analysis**. New York: Interscience Publishers, 1969.
- [32] Pavlinsky, G. V.; Dukhanin, A. Yu.; Baranov, E. O.; Portnoy, A. Yu.; Theory of the Implementation of the Fundamental Parameter Method for the X-ray Fluorescence Determination of Low-Atomic-Number Elements. **Journal of Analytical Chemistry**. 61(7): 654 – 661, 2006.
- [33] X-Ray Fluorescence Analysis Utilizing the Fundamental Parameter Method for the Determination of the Elemental Composition in Plant Samples. **Analytica Chimica Acta**. 307 (1): 117 – 126, 1995.
- [34] Sherman, J.; The Theoretical Derivation of Fluorescent X-Ray Intensities From Mixtures. **Spectrochimica Acta**. 7: 283.
- [35] Shiraiwa, T.; Fujino, N.; Theoretical Calculation of Fluorescent X-Ray Intensities in Fluorescent X-Ray Spectrochemical Analysis. **Japanese Journal of Applied Physics**. 5(10):886 – 899, 1966.

- [36] Kataoka, Y.; Standardless X-Ray Fluorescence Spectrometry (Fundamental Parameter Method Using Sensitivity Library). **The Rigaku Journal**. 6(1): 33 – 40, 1989.
- [37] Criss, J. W.; Birks, L. S.; Calculation Methods for Fluorescent X-Ray Spectrometry - Empirical Coefficients vs. Fundamental Parameters. **Analytical Chemistry**. 40(7): 1080 – 1086, 1968.
- [38] Birks, L. S.; Unusual Matrix Effects in Fluorescent X-Ray Spectrometry. **Analytical Chemistry**. 34(8): 943 – 945, 1962.
- [39] Sitko, R.; Zawisza B.; Maria Czajab, M.; Fundamental Parameters Method for Determination of Rare Earth Elements in Apatites by Wavelength-Dispersive X-Ray Fluorescence Spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**. 20 (8): 741 – 745, 2005.
- [40] Szalóki, I.; Lewis, D. G.; Bennett, C. A.; Kilic, A.; Application of The Fundamental Parameter Method to the *In vivo* X-Ray Fluorescence Analysis of Pt. **Physics in Medicine and Biology**. 44(5): 1245 – 1255, 1999.
- [41] Mantler, M.; Kawahara, N.; How Accurate are Modern Fundamental Parameter Methods? **The Rigaku Journal**. 21(2): 17 – 25, 2004.
- [42] Sitko, R.; Correction of Matrix Effects Via Scattered Radiation in X-Ray Fluorescence Analysis of Samples Collected on Membrane Filters. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**. 21(10): 1062–1067, 2006.
- [43] Netol, B. de B.; Scarminioll, S. S.; Bruns, R. E.; 25 Anos de Quimiometria no Brasil. **Química Nova**. 29(6): 1401 – 1406, 2006.
- [44] 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**. 39(3): 167 – 175, 2010.
- [45] Freitas R. P.; Calza, C.; Lima, T. A.; Rabelloc, A.; Lopesa, R. T.; EDXRF and Multivariate Statistical Analysis of Fragments from Marajoara Ceramics. **X-Ray Spectrometry**. 39(5): 307 – 310, 2010.
- [46] Goraieb, K.; Alexandria, 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**. 595(1-2): 170 – 175, 2007.

- [47] Wold, S.; Sjöström, M.; Eriksson, L.; PLS-Regression: A Basic Tool of Chemometrics. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**. 58(2): 109 – 130, 2001.
- [48] Valderrama, P.; Avaliação de Figuras de Mérito em Calibração Multivariada na Determinação de Parametros de Controle de Qualidade em Indústria Alcooleira por Espectros de Infravermelho Próximo. **Dissertação de Mestrado**. Instituto de Química, Unicamp, Brasil, 2005.
- [49] Martens, H.; Naes, T.; **Multivariate Calibration**. Wiley: New York, 1996.
- [50] Ferreira, M. M. C.; Antunes, A. M.; Melgo, M. S.; Volpe, P. L. O.; Quimiometria I: Calibração Multivariada, Um Tutorial. **Química Nova**. 22(5): 724 – 731, 1999.
- [51] Faber, N. M.; Estimating the Uncertainty in Estimates of Root Mean Square Error of Prediction: Application to Determining the Size of an Adequate Test Set in Multivariate Calibration. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**. 49(1): 79 – 89, 1999.
- [52] De Oliveira, L.; Antunes, A. M.; Bueno, M. I. M. S.; Direct Chromium Speciation Using X-Ray Spectrometry and Chemometrics. **X-Ray Spectrometry**. 39(4): 279 – 284, 2010.
- [53] Custo, G.; Boeykens, S.; Cicerone, D.; Vázquez, C.; Combining XRF Analysis and Chemometric Tools for a Preliminary Classification of Argentine Soils. **X-Ray Spectrometry**. 31(2): 132 – 135, 2002.
- [54] Alexandre, T. L.; Bueno, M. I. M. S.; Classification of Some Species, Genera and Families of Plants by X-Ray Spectrometry. **X-Ray Spectrometry**. 35(4): 257 – 260, 2006.
- [55] Sena, M. M.; Freitas, C. B.; Silva, L. C.; Pérez, C. N.; de Paula, Y. O.; Determinação Espectrofotométrica Simultânea de Paracetamol e Ibuprofeno em Formulações Farmacêuticas Usando Calibração Multivariada. **Química Nova**. 30(1): 75 – 79, 2007.
- [56] Valderrama, P.; Braga, J. W. B.; Poppi, R. J.; Variable Selection, Outlier Detection, and Figures of Merit Estimation in a Partial Least-Squares Regression Multivariate Calibration Model. A Case Study for the Determination of Quality Parameters in the Alcohol Industry by Near-Infrared Spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 55(21): 8331 – 8338, 2007.
- [57] Accuracy. **IUPAC Compendium of Chemical Terminology**, 2º edição, 1997. Disponível em: <http://old.iupac.org/goldbook/A00060.pdf>. Acessado última vez

em fevereiro de 2010

- [58] Braga, J. W. B.; Poppi, R. J.; Validação de Modelos de Calibração Multivariada: Uma Aplicação na Determinação de Pureza Polimórfica de Carbamazepina por Espectroscopia no Infravermelho Próximo. **Química Nova**. 27(6): 1004 – 1011, 2004.
- [59] Valderrama, P. Braga, J. W. B.; Poppi, R. J.; Estado da Arte de Figuras de Mérito em Calibração Multivariada. **Química Nova**. 32(5): 1278 – 1287, 2009.
- [60] Currie, L. A.; Nomenclature in Evaluation of Analytical Methods Including Detection and Quantification Capabilities (IUPAC Recommendations 1995). **Analytica Chimica Acta**. 391(2): 105 – 126, 1999.
- [61] Oliveira, L.; Potencialidades do Uso da Espectrometria de Raios X Aliada a Quiometria na Análise das Substâncias Restritas Pela Diretiva Européia 2002/95/EC – ROHS. **Dissertação de Mestrado**. Instituto de Química, Unicamp, Brasil, 2008.
- [62] Foulk, M. E.; Pickering, E.; A History of Dentifrices. **Journal of the American Pharmaceutical Association**. 24(11): 975 – 981, 1935.
- [63] Silva, R. R.; Ferreira, G. A. L.; Baptista, J. A.; Diniz, F. V.; A Química e a Conservação dos Dentes. **Química Nova na Escola**. 13: 3 – 8, 2001
- [64] Procedimento Geral do Programa de Análise de Produtos do Inmetro. Disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/consumidor/produtos/pastaDente.asp>. Acessado pela última vez em dezembro de 2010.
- [65] Lara, E. H. G.; Panzarei, H.; Ogasawara, M. S.; Del Ciampo, J.O.; Moraes, J. T.; Avaliação Laboratorial dos Dentifrícios Comerciais. **Revista da Associação Brasileira de Odontologia**. 4(30): 176 – 183, 1996.
- [66] Storehagen, S.; Dentifrices and Mouthwashes Ingredients and Their Use. **Dissertação de Mestrado**. Faculdade de Odontologia, Universidade de Oslo, Noruega, 2003.
- [67] The History of Teeth Cleaning. Disponível em: <http://www.bbc.co.uk/dna/h2g2/A2818686>. Acessado pela última vez em dezembro de 2010.
- [68] Agência Nacional de Vigilância Sanitária; **Formulário Nacional – Farmacopéia Brasileira**. Brasília: ANVISA, 2005.

- [69] Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução RDC nº 79, de 28 de agosto de 2000.
- [70] Frazer, L.; Titanium Dioxide: Enviromental White Knight ? **Environmental Health Perspectives**. 109(4): A174 – A177, 2001.
- [71] Chen, X.; Mao, S. S.; Titanium Dioxide Nanomaterials: Synthesis, Properties, Modifications, and Applications. **ChemInform**. 38(41), 2007.
- [72] Melquiades, F. L.; Ferreira, D. D.; Appoloni, C. R.; Lopes, F.; Lonnic, A. G.; Oliveira, F. M.; Duarte, J. C.; Titanium Dioxide Determination in Sunscreen by Energy Dispersive X-Ray Fluorescence Methodology. **Analytica Chimica Acta**. 613(2): 135 – 143, 2008.
- [73] McCormick, J. R.; Zhao, B.; Rykov, S. A.; Wang, H.; Chen, J. G.; Thermal Stability of Flame-Synthesized Anatase TiO<sub>2</sub> Nanoparticles. **The Journal of Physical Chemistry B**. 108(45): 17398 – 17402, 2004.
- [74] Karuppuchamy, S.; Nonomura, K.; Yoshida, T.; Sugiura, T.; Minoura, H.; Cathodic Electrodeposition of Oxide Semiconductor Thin Films and Their Application to Dye-Sensitized Solar Cells. **Solid State Ionics**. 151(1-4): 19 – 27, 2002.
- [75] Majcena, N.; Riusb, F. X.; Zupanc, J.; Linear and Non-Linear Multivariate Analysis in The Quality Control of Industrial Titanium Dioxide White Pigment. **Analytica Chimica Acta**. 348(1-3): 87 – 100, 1997.
- [76] European Commission database with information on cosmetic ingredients. Disponível em: <http://ec.europa.eu/consumers/cosmetics/cosing>. Acessado pela última vez em dezembro de 2010.
- [77] **IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans**; “Carbon black, titanium dioxide and non-asbestiform talc”, IARC, Lyon (France), 93, 2006.
- [78] Huang, S.; Chueh, P. J.; Lin, Y.; Shih, T.; Chuang, S.; Disturbed Mitotic Progression and Genome Segregation are Involved in Cell Transformation Mediated by Nano-TiO<sub>2</sub> Long-Term Exposure. **Toxicology and Applied Pharmacology**. 241 (2) 182 – 194, 2009.
- [79] Trouiller, B.; Reliene, R.; Westbrook, A.; Solaimani, P.; Schiestl, R. H.; Titanium Dioxide Nanoparticles Induce DNA Damage and Genetic Instability *In vivo* in Mice. **Cancer Research**. 68(22): 8784 – 8789, 2009.

- [80] Ghosh, M.; Bandyopadhyay, M.; Mukherjee, A.; Genotoxicity of Titanium Dioxide (TiO<sub>2</sub>) Nanoparticles at Two Trophic Levels: Plant and Human Lymphocytes. **Chemosphere**. 2010, *In Press*.
- [81] Colvin, V. L.; The Potential Environmental Impact of Engineered Nanomaterials. **Nature Biotechnology**. 21(10): 1166 – 1170, 2003.
- [82] Oberdörster, G.; Stone, V.; Donaldson, K.; Toxicology of Nanoparticles: A Historical Perspective. **Nanotoxicology**. 1(1): 2 – 25, 2007.
- [83] ANVISA, Resolução - CNNPA nº 44, de 1977, novembro, 25 of 1977. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/44\\_77.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/44_77.htm). Acessado pela última vez em dezembro, 2010.
- [84] Summary of Color Additives for Use in United States in Foods, Drugs, Cosmetics, and Medical Devices. Disponível em: <http://www.fda.gov/ForIndustry/ColorAdditives/ColorAdditiveInventories>. Acessado pela última vez em dezembro de 2010.
- [85] Colquitt, P. J.; Do Powered Toothbrushes Contaminate Toothpaste With Metals? **The Science of the Total Environment**. 289(1-3): 25 – 32, 2002.
- [86] Oha, C.; Yoona, S.; Kima, E.; Hanb, J.; Chunga, H.; Jeongb, H.; Non-Destructive Determination of TiO<sub>2</sub> Concentration in Cream Formulation Using Raman Spectroscopy. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. 53(3): 762 – 766, 2010.