



FURG

Dissertação de Mestrado

**MICROEXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO
DISPERSIVA EM FASE REVERSA COMBINADA
COM HR-CS GF AAS PARA A DETERMINAÇÃO
DE CROMO EM HIDRATANTE LABIAL**

Enilin de Mendonça de Azevedo

PPGQTA

**Rio Grande, RS - Brasil
2024**

Ficha Catalográfica

A994m Azevedo, Enilin de Mendonça de.

Microextração líquido-líquido dispersiva em fase reversa combinada com HR-CS GF AAS para a determinação de cromo em hidratante labial / Enilin de Mendonça de Azevedo. – 2024.
83 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Programa de Pós-Graduação em Química Tecnológica e Ambiental, Rio Grande/RS, 2024.

Orientador: Dr. Bruno Meira Soares.

1. RP-DLLME 2. HR-CS GF AAS 3. Hidratante labial 4. Cromo
I. Soares, Bruno Meira II. Título.

CDU 54:504

Catálogo na Fonte: Bibliotecário José Paulo dos Santos CRB 10/2344

Universidade Federal do Rio Grande - FURG
Escola de Química e Alimentos
Programa de Pós-Graduação em Química Tecnológica e
Ambiental

A comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação de Mestrado

Microextração líquido-líquido dispersiva em fase reversa combinada com
HR-CS GF AAS para a determinação de cromo em hidratante labial

Elaborada por

Enilin de Mendonça de Azevedo

Como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Química Tecnológica
e Ambiental

Comissão Examinadora

Documento assinado digitalmente
 **BRUNO MEIRA SOARES**
Data: 04/10/2024 17:59:42-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Bruno Meira Soares (FURG)
(Presidente-Orientador)

Documento assinado digitalmente
 **EDER LISANDRO DE MORAES FLORES**
Data: 18/10/2024 11:00:54-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Éder Lisandro de Moraes Flores (UTFPR)

Documento assinado digitalmente
 **JEAN LUCAS DE OLIVEIRA ARIAS**
Data: 18/10/2024 13:26:38-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Jean Lucas de Oliveira Arias (FURG)

Rio Grande, 04 de outubro de 2024.

MICROEXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO DISPERSIVA EM FASE REVERSA COMBINADA COM HR-CS GF AAS PARA A DETERMINAÇÃO DE CROMO EM HIDRATANTE LABIAL

por

ENILIN DE MENDONÇA DE AZEVEDO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química Tecnológica e Ambiental da Universidade Federal do Rio Grande (RS), como requisito parcial para obtenção do título de MESTRE EM QUÍMICA TECNOLÓGICA E AMBIENTAL.

PPGQTA

Rio Grande, RS - Brasil

2024

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por me conceder a força para não desistir nos momentos mais difíceis e pela saúde para continuar esta jornada.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química Tecnológica e Ambiental (PPGQTA) e ao corpo docente, pela oportunidade de participação no programa, pela transmissão de conhecimento e o desenvolvimento desse trabalho.

Ao meu orientador **Bruno Meira Soares**, minha sincera gratidão por seu apoio e compreensão ao longo desse período desafiador. Sua paciência incansável, incentivo constante e valiosos ensinamentos que foram cruciais para o meu desenvolvimento acadêmico e pessoal. Mesmo diante de adversidades como a pandemia do COVID-19, enchentes, períodos de licença maternidade e amamentação, meu orientador demonstrou uma notável flexibilidade e comprometimento em garantir que eu continuasse avançando em meus estudos. Agradeço por sua orientação sábia, pela capacidade de inspirar o melhor como ser humano e por ser um verdadeiro mentor, não apenas na esfera acadêmica, mas também como uma figura de apoio e compreensão. Foi um período desafiador, mas a presença e a liderança do meu orientador foram imprescindíveis e tornaram a jornada mais significativa e enriquecedora. Obrigado pelo seu exemplo e por tornar essa experiência de Mestrado ainda mais valiosa.

À minha mãe **Cláudia de Mendonça dos Santos**, obrigada por seu apoio inestimável durante o meu período de Mestrado. Sua generosidade ao ajudar a cuidar dos meus filhos enquanto me dedicava aos estudos foi verdadeiramente extraordinária. Seu amor, paciência e dedicação têm sido a âncora que me permitiu focar nas demandas acadêmicas com tranquilidade, sabendo que meus filhos estariam em mãos tão carinhosas. Obrigado, mãe, por ser minha maior apoiadora e por tornar possível a realização deste Mestrado enquanto continuo a construir meu caminho acadêmico. Sua presença e cuidado são verdadeiramente inestimáveis.

Ao meu pai **Enio Mendonça dos Santos**, obrigada por ser um verdadeiro incentivador e apoiador ao longo da minha jornada de Mestrado. Além disso, reconheço e agradeço o sacrifício que fez ao aceitar ficar longe da minha mãe em outro estado para que eu pudesse seguir meus estudos de forma mais dedicada. Essa demonstração de apoio incondicional e compreensão, reflete o seu comprometimento com o meu crescimento e sucesso. Seu exemplo de determinação e amor é uma inspiração constante, e sou profundamente grata por ter um pai incrível ao meu lado nesta jornada. Obrigado por ser meu conselheiro e, acima de tudo, por ser um pai excepcional.

Ao meu marido **Arthur de Azevedo Nora**, gostaria de expressar minha profunda gratidão por ser o alicerce sólido e o maior apoio ao longo desta jornada. Sua dedicação incansável, incentivo constante e presença como meu porto seguro fizeram toda a diferença. Em cada desafio acadêmico, em cada momento de dúvida, você esteve ao meu lado, oferecendo palavras de estímulo e demonstrando uma paciência admirável. Sua compreensão, amor incondicional e encorajamento foram fundamentais para que eu persistisse e alcançasse os meus objetivos no Mestrado. Agradeço por ser meu parceiro nesta jornada, compartilhando as alegrias e superando os obstáculos juntos. Sou imensamente grata por ter você como meu marido, confidente e maior apoiador. Obrigada por ser nosso porto seguro.

Aos meus filhos **Oliver de Mendonça de Azevedo Nora** e **Theo de Mendonça de Azevedo Nora**, expresso meu profundo agradecimento, mesmo sendo tão pequenos, por estarem ao meu lado durante este desafiador período de aspirações acadêmicas. Suas presenças constantes e alegrias contagiantes são fontes inesgotáveis de motivação e estímulo. Mesmo diante das complexidades e demandas do Mestrado, ver o brilho nos seus olhos, sorrisos e sentir o calor de seu apoio incondicional, tornou cada esforço digno e significativo. São vocês, meus pequenos, que me inspiram a buscar constantemente coisas melhores e a alcançar o meu melhor em todas as áreas da vida. Agradeço por serem minha maior motivação e por tornarem esta jornada não apenas um desafio acadêmico, mas também uma valiosa oportunidade de crescimento e aprendizado em família. Seu amor é a força que impulsiona meu caminho, e sou imensamente grata por cada momento compartilhado ao lado de vocês.

À minha colega de laboratório, a **Ana Cláudia B. Luckow**, obrigada pelo apoio e colaboração durante toda a minha jornada de Mestrado. Agradeço por compartilhar generosamente seus conhecimentos e experiências, proporcionando insights valiosos que enriqueceram significativamente minha pesquisa. Sua disposição em colaborar e no compartilhamento técnico, agradeço a troca constante de ideias e a amizade que desenvolvemos ao longo deste período foram aspectos essenciais que contribuíram para o meu crescimento acadêmico e pessoal. Este trabalho reflete não apenas meu esforço, mas também a sua valiosa colaboração.

Ao **Jean Lucas de Oliveira Arias** e à **Ananda Fagundes Guarda**, por terem participado da banca de qualificação e por suas contribuições valiosas. Suas sugestões pertinentes foram fundamentais para o aprimoramento deste trabalho, enriquecendo o conteúdo e a qualidade da minha dissertação.

Ao Professor **Éder Flores** por aceitar o convite para compor a banca de defesa. É uma honra poder tê-lo como avaliador.

Aos meus colegas do grupo **GEPAE**, Maiara Helena de Melo Malinowki, Lisliane Kickofel, Paloma Konzgen, Kaiane Quevedo Ribeiro, Ana Luísa Queiroz Silva Santos e Luanne Ramos, pela proatividade e apoio que tornaram esta etapa do Mestrado uma experiência enriquecedora. À dinâmica colaborativa e à proatividade demonstradas por cada membro do GEPAE foram cruciais para a troca de conhecimentos e o avanço conjunto de nossas pesquisas. Agradeço sinceramente pela disposição em compartilhar ideias, discutir conceitos e oferecer perspectivas inovadoras que contribuíram significativamente para o desenvolvimento dos nossos trabalhos.

Às minhas queridas avós, **Maria Marlene Mendonça** e **Nair Mendonça**, que, mesmo sem a oportunidade de cursar uma Graduação, sempre me incentivaram e foram exemplos inabaláveis de força e determinação.

Aos meus familiares e amigos, agradeço o amor incondicional, compreensão e encorajamento constantes. Vocês foram minha fonte de força nos momentos desafiadores, e compartilhar esse caminho com vocês tornou cada conquista ainda mais significativa.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	IX
LISTA DE TABELAS.....	XI
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	XII
RESUMO	XIV
ABSTRACT	XV
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	4
2.1 Objetivo geral.....	4
2.2 Objetivos específicos.....	4
3. REVISÃO DA LITERATURA	5
3.1 Cosméticos labiais	5
3.1.1 Hidratante labial	5
3.1.2 Metais em cosméticos.....	7
3.1.3 Cromo em cosméticos.....	8
3.2 Determinação elementar em cosméticos labiais.....	8
3.2.1 Técnicas analíticas de determinação	8
3.2.2 Métodos de preparo de amostra	9
3.3 Microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME)	24
3.4 Microextração líquido-líquido dispersiva em fase reversa (RP-DLLME)	25
3.5 Aplicações da RP-DLLME	26
3.5.1 Tipos de solventes dispersores.....	32
3.5.2 Tipos de solventes extratores	33
3.5.3 Aquecimento e solubilização da amostra.....	34
3.5.4 Amostras, analitos e técnicas de determinação.....	34
3.6 Química analítica verde e métrica AGREE.....	36
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	38
4.1 Instrumentação.....	38
4.2 Amostras e reagentes	38
4.3 Pré-tratamento das amostras.....	39
4.4 Avaliação dos parâmetros da RP-DLLME	40
4.5 Procedimento da RP-DLLME	40
4.6 Extração induzida por quebra de emulsão (EIEB)	41

4.7 Determinação de Cr por HR-CS GF AAS	41
4.8 Performance analítica	42
4.9 Análises estatísticas e softwares	43
4.10 Tratamento de resíduos	43
5. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	44
5.1 Estudos preliminares	44
5.1.1 Pré-tratamento da amostra	44
5.2 Avaliação dos parâmetros da RP-DLLME	45
5.2.1 Avaliação da necessidade de solubilização da amostra	45
5.2.2 Avaliação do tipo de solvente dispersor	47
5.2.3 Avaliação do tipo de solvente extrator	49
5.2.4 Avaliação do tipo de agitação	50
5.2.5 Planejamento fatorial fracionado 2^{5-1}	51
5.2.6 Avaliação do volume do solvente de solubilização	54
5.3 Avaliação das temperaturas de pirólise e atomização	55
5.4 Desempenho analítico	58
5.5 Aplicação da métrica AGREE	62
6. CONCLUSÕES	68
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Métodos de preparo de amostra empregados na determinação elementar em cosméticos labiais.....	10
Figura 2 - Procedimento da DLLME.	24
Figura 3 - Procedimento da RP-DLLME.	25
Figura 4 - Número de publicações utilizando RP-DLLME de 2010 a 2025.	26
Figura 5 - Publicações com a RP-DLLME na análise inorgânica por tipo de amostra.	35
Figura 6 - Publicações com a RP-DLLME na análise inorgânica por tipo de analito.	35
Figura 7 - Publicações com a RP-DLLME na análise inorgânica por tipo de técnica de determinação.	36
Figura 8: Amostras de hidratante labial antes (A) e após (B) o aquecimento	44
Figura 9 - Avaliação do tipo e volume de solvente de solubilização da amostra na extração de Cr em hidratante labial por RP-DLLME.....	45
Figura 10 - Avaliação do tipo de solvente dispersor na extração de Cr em hidratante labial por RP-DLLME.	47
Figura 11 - Efeito do solvente extrator na extração de Cr em hidratante labial por RP-DLLME.	49
Figura 12 - Efeito do tipo de agitação na extração de Cr em hidratante labial por RP-DLLME.	50
Figura 13 - Amostra de hidratante labial após dissolução em hexano e aquecimento em banho-maria nas temperaturas de (A) 60 °C e (B) 80 °C.	53
Figura 14 – Avaliação do volume de hexano para a solubilização da amostra na extração de Cr em hidratante labial por RP-DLLME.....	54
Figura 15 – Procedimento da RP-DLLME com as condições otimizadas.	55
Figura 16 – Curvas de pirólise obtidas por HR-CS GF AAS para soluções de referência e extratos da RP-DLLME na presença ou não de Pd como modificador químico.....	56
Figura 17 – Curvas de atomização obtidas por HR-CS GF AAS para soluções de referência e extratos da RP-DLLME na presença ou não de Pd como modificador químico.	57
Figura 18 - Espectro de absorção (obtido por HR-CS GF AAS) resolvido temporalmente na vizinhança da linha de absorção principal do Cr em 357,8687 nm, empregando 2300 °C de atomização	58

Figura 19 – Curva de calibração externa empregada na avaliação da linearidade e na quantificação.....	60
Figura 20 – Imagens das amostras de hidrante labial após a aplicação da RP-DLLME.	62
Figura 21 – Imagens das amostras de hidratante labial após a aplicação da EIEB..	62
Figura 22 – Pictogramas (software AGREE) com scores para os métodos proposto (RP-DLLME/HR-CS GF AAS (A), comparativo (EIEB/HR-CS GF AAS) (B) e convencional (C), ATZ et al., 2009.	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Ingredientes básicos do hidratante labial com cor.....	6
Tabela 2: Trabalhos com foco na determinação elementar em cosméticos labiais (2005 - 2023)	12
Tabela 3 - Revisão bibliográfica com emprego da RP-DLLME na análise inorgânica.	27
Tabela 4 - Variáveis e os níveis codificados avaliados no planejamento fatorial fracionado 2^{5-1}	40
Tabela 5 - Programa de temperatura empregado nas determinações de Cr por HR-CS GF AAS, após extração por RP-DLLME.....	42
Tabela 6 – Propriedades físicas dos solventes.	48
Tabela 7 - Matriz do planejamento fatorial fracionado 2^{5-1}	51
Tabela 8 - Análise dos efeitos do planejamento fatorial fracionado 2^{5-1}	52
Tabela 9 - Desempenho analítico do método proposto (RP-DLLME) e do método comparativo (EIEB), ambos com quantificação por HR-CS GF AAS.	59
Tabela 10 – Resultados para a determinação de Cr (ng g^{-1}) por HR-CS GF AAS em hidratantes labiais, após RP-DLLME e EIEB (resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão, $n = 3$).	61
Tabela 11- Comparativo entre os métodos proposto, comparativo e convencional com base nos princípios da GAC.	64

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

1. AAS, espectrometria de absorção atômica, do inglês *Atomic Absorption Spectrometry*
2. ABIHPEC, Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos
3. DCCR, Delineamento Composto Central Rotacional
4. DES, solvente eutético profundo, do inglês *Deep Eutectic Solvents*
5. DLLME, microextração líquido-líquido dispersiva, do inglês *Dispersive Liquid-Liquid Microextraction*
6. EIEB, extração induzida por quebra de emulsão, do inglês *Extraction Induced by Emulsion Breaking*
7. EDXRF, espectrometria de fluorescência de raios X por energia dispersiva, do inglês *energy dispersive X-ray fluorescence*
8. FAAS, espectrometria de absorção atômica com chama, do inglês *Flame Atomic Absorption Spectrometry*
9. GF AAS, espectrometria de absorção atômica com forno de grafite, do inglês *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*
10. HPPC, Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos
11. ICP-OES, espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado, do inglês *inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*
12. ICP-MS, espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado, do inglês *Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry*
13. LA-ICP-MS, espectrometria de massa com plasma acoplado indutivamente por ablação a laser, do inglês *Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*
14. LD, limite de detecção
15. LLE, extração líquido-líquido, do inglês *Liquid-Liquid Extraction*
16. LIBS, espectroscopia de emissão óptica por laser induzido, do inglês *Laser-Induced Breakdown Spectroscopy*
17. LQ, limite de quantificação
18. LS-AAS, espectrometria de absorção atômica com fonte linear, do inglês *Line Source-Atomic Absorption Spectrometry*
19. MIC, combustão iniciada por micro-ondas, do inglês *Microwave-Induced Combustion*
20. MAD, digestão por via úmida assistida por radiação micro-ondas, do inglês *Microwave-Assisted Digestion*
21. RP-DLLME, microextração líquido-líquido dispersiva em fase reversa, do inglês *Reverse-Phase-Dispersive Liquid-Liquid Microextraction*
22. RSD, desvio padrão relativo, do inglês *Relative Standard Deviation*

23. SFO-DLLME, microextração líquida-líquida dispersiva com solidificação da gota orgânica flutuante, do inglês *Solidification of Floating Organic Drop Dispersive Liquid-Liquid Microextraction*
24. SQT-FAAS, espectroscopia de absorção atômica com chama em tubo de quartzo, do inglês *Spectroscopy Quartz Tube-Flame Atomic Absorption Spectrometry*
25. UA-DLLME, Microextração Líquida-Líquida Dispersiva Assistida por Ultrassom, do inglês *Ultrasound-Assisted Dispersive Liquid-Liquid Microextraction*
26. XRD, espectrometria de difração de raios X, do inglês *X-Ray Diffraction Spectrometry*

RESUMO

Título: Microextração líquido-líquido dispersiva em fase reversa combinada com HR-CS GF AAS para a determinação de cromo em hidratante labial

Autora: Enilin de Mendonça de Azevedo

Orientador: Prof. Dr. Bruno Meira Soares

Neste estudo, foi desenvolvido, pela primeira vez, um método analítico empregando a microextração líquido-líquido dispersiva em fase reversa (RP-DLLME) para a extração e pré-concentração de cromo em hidratante labial para posterior determinação por espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua com atomização por forno de grafite (HR-CS GF AAS). Os principais parâmetros da RP-DLLME foram investigados e as condições selecionadas foram hexano (4 mL) como solvente de solubilização das amostras, aquecimento da amostra em banho-maria a 85 °C, n-propanol como solvente dispersor e HNO₃ 1% (v/v) como solvente extrator, na proporção 90:10 (% v/v), agitação em vórtex por 10 s e centrifugação a 4000 rpm por 5 min. As temperaturas de pirólise e atomização também foram cuidadosamente avaliadas e as condições selecionadas foram 1400 e 2300 °C, respectivamente, na presença de Pd 1000 mg L⁻¹, como modificador químico. O método se mostrou linear entre 3,7 e 20 µg L⁻¹ (curva de calibração externa) e os valores de LOD e LOQ foram 11 e 37 ng g⁻¹, respectivamente, com um fator de enriquecimento de 6,01. A exatidão foi avaliada a partir da comparação dos resultados com os obtidos pelo método de referência empregando a extração induzida por quebra de emulsão (EIEB) com posterior determinação por HR-CS GF AAS. As concordâncias estiveram entre 90 e 120%, com RSDs inferiores a 14%. As concentrações nas amostras avaliadas estiveram entre 66 e 372 ng g⁻¹. A aplicação da métrica AGREE revelou um score de 0,55, evidenciando que o método proposto se encontra alinhado com boa parte dos princípios da Química Analítica Verde (GAC). Portanto, o método proposto mostrou-se eficiente para a determinação de cromo em hidratantes labiais, oferecendo vantagens como rapidez, simplicidade, baixo custo, miniaturização, redução na geração de resíduos e segurança ao operador.

Palavras-chave: RP-DLLME, HR-CS GF AAS, hidratante labial e cromo.

ABSTRACT

Title: Reverse phase-dispersive liquid-liquid microextraction combined with HR-CS GF AAS for the determination of chromium in lip balm

Author: Enilin de Mendonça de Azevedo

Advisor: Prof. Dr. Bruno Meira Soares

In this study, an analytical method employing dispersive liquid-liquid microextraction in reverse phase (RP-DLLME) for the extraction and preconcentration of chromium in lip balm was developed for the first time, followed by determination using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry (HR-CS GF AAS). The main parameters of RP-DLLME were investigated, and the selected conditions were hexane (4 mL) as the sample solubilization solvent, heating the sample in a water bath at 85 °C, n-propanol as the disperser solvent, and 1% HNO₃ (v/v) as the extraction solvent, in a 90:10 ratio (% v/v), vortex stirring for 10 s, and centrifugation at 4000 rpm for 5 min. The pyrolysis and atomization temperatures were also carefully evaluated, and the selected conditions were 1400 and 2300 °C, respectively, in the presence of Pd 1000 mg L⁻¹ as a chemical modifier. The method showed linearity between 3.7 and 20 µg L⁻¹ (external calibration curve), and the LOD and LOQ values were 11 and 37 ng g⁻¹, respectively, with an enrichment factor of 6.01. Accuracy was assessed by comparing the results with those obtained using the reference method, employing extraction induced by emulsion breaking (EIEB) followed by HR-CS GF AAS determination. The agreements were between 90 and 120%, with RSDs below 14%. The concentrations in the evaluated samples ranged from 66 to 372 ng g⁻¹. The application of the AGREE metric revealed a score of 0.55, indicating that the proposed method aligns well with most of the Green Analytical Chemistry (GAC) principles. Therefore, the proposed method proved to be efficient for the determination of chromium in lip balms, offering advantages such as speed, simplicity, low cost, miniaturization, waste reduction, and operator safety.

Keywords: RP-DLLME, HR-CS GF AAS, lip balm, and chromium.

1. INTRODUÇÃO

Os cosméticos são produtos para uso externo, destinados à proteção ou embelezamento das diferentes partes do corpo, sendo amplamente consumidos por distintas classes sociais, por homens e mulheres. Os cosméticos são preparações constituídas por substâncias naturais ou sintéticas com diferentes composições, sendo utilizados em diversas partes do corpo humano e classificados conforme o grau de risco à saúde (ANVISA, 2005; DRAELOS, 2001).

Os cosméticos utilizados na boca podem conter em sua composição elementos potencialmente tóxicos, como Cd, Cr, Ni, Pb e Sb, os quais fazem parte dos pigmentos utilizados para adicionar cor ao produto ou na forma dos seus próprios óxidos. O uso diário desses cosméticos pode expor os consumidores a problemas de pele localizados e efeitos sistêmicos causados por contato dérmico ou absorção oral de alguns elementos químicos (MESKO *et al.*, 2020). Por serem utilizados próximos aos olhos e diretamente nos lábios, há a possibilidade de absorção e ingestão desses elementos, o que pode ocasionar danos à saúde. Portanto, a determinação de elementos tóxicos em cosméticos labiais é um desafio analítico devido à complexidade e à diversidade das matrizes, pois podem conter óxidos insolúveis e refratários na sua composição (MESKO *et al.*, 2020).

Elementos potencialmente tóxicos geralmente estão presentes em baixas concentrações nas amostras (na ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$ ou $\mu\text{g kg}^{-1}$). Entre as técnicas analíticas mais empregadas para a determinação elementar em cosméticos destacam-se a espectrometria de absorção atômica com chama (F AAS, do inglês *flame atomic absorption spectrometry*) e a espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS do inglês, *graphite furnace atomic absorption spectrometry*), as quais são técnicas bastante eficientes quando o objetivo é a determinação elementar. Entretanto, apresentam como principal desvantagem a capacidade monoelementar. A espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES, do inglês *inductively coupled plasma optical emission spectrometry*) e a espectrometria de massa com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS, do inglês *inductively coupled plasma-mass spectrometry*) são técnicas multielementares, pois permitem a determinação simultânea de diversos elementos na mesma análise, porém apresentam elevado custo de aquisição dos equipamentos, assim como de manutenção (MESKO *et al.*, 2020).

Como alternativa, a técnica de espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (HR-CS AAS, do inglês *high resolution-continuum source atomic absorption spectrometry*) tem ganhado destaque, pois permite a determinação de metais e não metais em diversos tipos de amostras, incluindo os cosméticos, além do monitoramento e controle de interferências espectrais, análise direta de amostras sólidas e a possibilidade de determinação simultânea de 2 ou mais elementos (desde que as suas linhas de absorção estejam na mesma janela espectral) empregando a atomização em forno de grafite e determinação sequencial de 2 ou mais elementos empregando a atomização por chama (BORGES *et al.*, 2005; WELZ, 2003).

O preparo de amostras é primordial em um método analítico para que as amostras possam ser introduzidas nos instrumentos com o mínimo de interferências causadas pela matriz. Para realizar a análise da amostra, é necessário convertê-la em uma forma compatível com o sistema de introdução de amostras do instrumento, a fim de permitir uma calibração simples e efetiva. Frequentemente, essa etapa é a mais laboriosa, além de ser a principal fonte de erros em uma análise química (KRUG, 2019). Na análise de cosméticos visando a determinação elementar, diferentes métodos de preparo de amostras têm sido reportados na literatura, como a decomposição por via úmida com aquecimento convencional (em sistema aberto) e a digestão assistida por micro-ondas (MAD). Na decomposição por via úmida, existe a possibilidade de contaminação e perda de elementos por volatilização, além de consumir bastante tempo durante a etapa de preparo. Já o emprego da MAD apresenta menor consumo de ácidos, não há perda de analitos (sistema fechado), redução da contaminação e menor geração de resíduos. Entretanto, a aquisição de um forno micro-ondas pode ser considerada inviável para muitos laboratórios, devido ao seu alto custo (KRUG, 2019).

Portanto, é importante que sejam desenvolvidos métodos analíticos alternativos capazes de realizar uma correta avaliação dos teores destes metais em cosméticos, visando um controle de qualidade mais simples e eficiente, com métodos menos morosos e que minimizem o consumo de reagentes e a geração de resíduos (GAŁUSZKA, MIGASZEWSKI E NAMIEŚNIK, 2013). Como alternativa, a microextração líquido-líquido dispersiva em fase reversa (RP-DLLME, do inglês *reverse phase-dispersive liquid-liquid microextraction*) consiste na extração dos analitos por partição em um sistema ternário de solventes, consistindo em uma fase

lipofílica (amostra), uma fase aquosa (solvente extrator) e um solvente dispersor que deve ser miscível em ambas as fases. O procedimento permite tanto a extração como a pré-concentração dos analitos (GODOY-CABALLERO *et al.*, 2013). A RP-DLLME é uma derivação da microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME, do inglês *dispersive liquid-liquid microextraction*), diferenciando-se apenas pela polaridade da amostra e do solvente extrator, pois na DLLME a amostra é aquosa e o solvente extrator uma substância apolar. No entanto, até o momento, existem poucos estudos na literatura que investigaram a RP-DLLME como método de preparo de amostras tanto para a extração de analitos orgânicos como inorgânicos e, até o momento, foi encontrado na literatura apenas um estudo investigando a RP-DLLME para a determinação de Cd e Pb em cosméticos utilizados na região da boca (batom e cremes) (SOROURADDIN *et al.*, 2022). Portanto, este trabalho visa, de forma inédita, o desenvolvimento de um método analítico empregando a RP-DLLME e a espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua com atomização em forno de grafite (HR-CS GF AAS, do inglês *high resolution-continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry*) para determinação de Cr em hidratante labial.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Desenvolver e otimizar uma metodologia analítica baseada na microextração líquido-líquido dispersiva em fase reversa (RP-DLLME), combinada com espectrometria de absorção atômica de alta resolução (HR-CS GF AAS), para a determinação precisa e eficiente de cromo em amostras de hidratante labial, assegurando a conformidade com os regulamentos sanitários e minimizando o impacto ambiental do processo.

2.2 Objetivos específicos

- Investigar a influência de diferentes solventes extratores e dispersores (como hexano, tolueno, n-propanol, entre outros) na eficiência da extração do cromo utilizando RP-DLLME.
- Avaliar o efeito de parâmetros operacionais, como volume de solvente, temperatura de aquecimento, e tempo de agitação, para otimizar o rendimento da extração e pré-concentração de cromo.
- Determinar as condições ideais de pirólise e atomização (temperatura e tempo) no forno de grafite durante a quantificação de cromo por HR-CS GF AAS.
- Validar a metodologia desenvolvida com base em parâmetros de mérito como fator de enriquecimento, limites de detecção e quantificação, exatidão e precisão dos resultados.
- Comparar os resultados obtidos pela técnica RP-DLLME/HR-CS GF AAS com os obtidos por métodos convencionais, como ICP-MS, para avaliação de desempenho e conformidade com normas regulatórias (ANVISA).
- Investigar o uso de modificadores químicos para eliminar interferências na volatilização dos analitos durante o processo de atomização.
- Avaliar o caráter verde da metodologia desenvolvida, com foco na minimização de resíduos tóxicos e no uso de menores volumes de solventes, alinhando-se aos princípios da Química Analítica Verde.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Cosméticos labiais

A utilização de produtos cosméticos é muito antiga, antecede a invenção da escrita e visa realçar a beleza, sendo as primeiras evidências encontradas no Egito (GAO *et al.*, 2015). É uma prática que sempre fez parte da vida humana, desde a pré-história até os dias de hoje (KUMAR, 2005). Ao longo do século XIX, principalmente no período pós-guerra, iniciou-se a produção em larga escala de produtos cosméticos (ANGONESE, 2010). Segundo a Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos (ABIHPEC), a indústria de cosméticos é extremamente importante para a economia de grande parte dos países, dentre os quais inclui o Brasil. Em janeiro de 2024, o Brasil foi o 4º maior consumidor do mundo de Produtos de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos (HPPC) e o 2º lugar no ranking global de países que mais lançam cosméticos anualmente (ABIHPEC, 2024).

Os cosméticos, incluindo os cosméticos labiais, são classificados pela ANVISA de acordo com o grau de risco em duas categorias principais, conforme estabelecido pela Resolução RDC nº 7, de 10 de fevereiro de 2015. Os produtos de grau 1 são aqueles com propriedades básicas, que não requerem comprovação de eficácia e possuem menor risco associado ao seu uso, como batons e brilhos labiais comuns. Já os produtos de grau 2, possuem indicações específicas e exigem comprovação de segurança e eficácia, devido ao maior potencial de risco em caso de uso inadequado, como protetores labiais com filtro solar ou produtos com ingredientes ativos. Essa classificação é essencial para determinar os requisitos regulatórios e as exigências de documentação para o registro desses produtos no Brasil (ANVISA, 2015).

3.1.1 Hidratante labial

Os hidratantes labiais são produtos cosméticos desenvolvidos e formulados especificamente para fornecer hidratação e proteção aos lábios, uma área da pele particularmente sensível a condições adversas. Os hidratantes labiais atuam na diminuição do ressecamento, rachaduras e desconforto labial, proporcionando uma aparência suave e saudável. A composição pode variar para atender a diferentes necessidades, incluindo a adição de antioxidantes, vitaminas, e até mesmo protetor

solar. Esses produtos desempenham um papel essencial nos cuidados com a pele, promovendo lábios macios, hidratados e protegidos (FERNANDES *et al.*, 2013; VASCONCELOS, 2022). Na Tabela 1, estão apresentados os ingredientes básicos de um hidratante labial.

Tabela 1 - Ingredientes básicos do hidratante labial com cor.

Insumos	Função	Concentração (%)
Óleos	Untuosidade, fluidez, molhabilidade, brilho, espalhabilidade e facilita a aplicação - Emolientes	20-80
Manteiga	Suavidade e aderência - Emolientes	5-15
Cera	Brilho e consistência - Agente de consistência	2-30
Antioxidante e proteção UV	Conservação e estabilidade	0,5-2
Corante, flavorizante e ativos*	Conferir cor desejada a formulação, mascarar o odor da base e outros.	0-10

Fonte: Adaptado de Vasconcelos (2022), Fernandes *et al.* (2013) e Mesko *et al.* (2020).

*A faixa de concentração de cada formulação é variável para cada tipo de hidratante labial.

Os hidratantes labiais e batons são formulações tópicas para aplicação labial que compartilham semelhanças em termos de forma e características, como sabor agradável, resistência a variações de temperatura, inocuidade, suavidade na aplicação, aderência e fácil remoção (FERNANDES *et al.*, 2013). No entanto, existem diferenças entre eles, especialmente em termos de funcionalidade, desde que enquanto o batom é usado para colorir os lábios, o hidratante labial ou *lipbalm* tem finalidade de reduzir o ressecamento, perda de água dos lábios, mantendo a sua hidratação e protegendo-os de fatores ambientais adversos. Outra diferença é que as formulações de batom geralmente apresentam um maior número de insumos em comparação com os hidratantes labiais. Na formulação de hidratantes labiais, é necessário equilibrar adequadamente as concentrações dos principais insumos, como óleos, ceras, manteigas e pigmentos, de modo a atingir propriedades desejadas. Uma maior proporção de ceras e pigmentos, confere maior durabilidade ao produto, enquanto a redução dessas substâncias resulta em uma textura mais suave. O hidratante labial deve proporcionar uma aplicação suave, evitando fricção e

ressecamento. Além disso, o contato com a formulação deve formar uma camada homogênea e protetora sobre a mucosa labial, oferecendo barreira eficaz contra fatores ambientais adversos, como radiação UV, desidratação e poluição. (GOUVEA, 2007; Kadu et al; 2013; FERNANDES *et al.*, 2013).

As matérias-primas utilizadas em produtos cosméticos são, normalmente, inofensivas para a saúde. Entretanto, algumas categorias possuem em sua composição elementos metálicos, sendo estes empregados para o bloqueio da radiação UV, classificadas como grau 2, além de conferir cor aos produtos, como no caso dos pigmentos inorgânicos (ANVISA, 2022; LEE *et al.*, 2010). Os corantes e pigmentos são os principais responsáveis pela presença de elementos metálicos em cosméticos. Os pigmentos inorgânicos podem conter óxidos metálicos, como o óxido de ferro, dióxido de titânio, pó de cobre, óxido ou hidrato de cromo, entre outros. Além de diversas cores, há também uma grande variedade de aparência da superfície do cosmético.

3.1.2 Metais em cosméticos

O monitoramento de metais em cosméticos labiais é crucial para garantir a segurança e conformidade regulatória dos produtos cosméticos, devido à possível presença de elementos potencialmente tóxicos em produtos destinados ao cuidado da pele e beleza. Elementos como Cd, Cr e Pb podem estar presentes em batons e outros cosméticos labiais representando riscos à saúde humana (MATOS, 2014; IWEGBUE *et al.*, 2016). A presença de elementos tóxicos em cosméticos depende da matéria-prima utilizada, tanto no processo de formulação, quanto na fabricação. Os elementos considerados potencialmente tóxicos, quando absorvidos pelo corpo humano, podem afetar processos bioquímicos específicos e limitar as funções de certas enzimas (KONIECKI *et al.*, 2011; VOLPE *et al.*, 2012; BOCCA *et al.*, 2014; PINTO *et al.*, 2018).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) estabelece que os componentes utilizados nas formulações de cosméticos para a área dos lábios devem atender às especificações de identidade e pureza rigorosas. Apenas corantes inorgânicos insolúveis em água são permitidos. No que se refere aos corantes orgânicos, a Resolução RDC nº 529, de 04 de agosto de 2021, proíbe a presença de qualquer concentração dos elementos químicos considerados tóxicos para humanos, como As, Be, Cd, Cr, Sb, Te e Ta (ANVISA, 2021). Além disso, a RDC nº 628, de 10

de março de 2022, regulamenta a utilização de corantes, estipulando que as impurezas não devem ultrapassar limites específicos: 3 ppm para As, 20 ppm para Pb e 100 ppm para Cromo e outros metais “pesados” (ANVISA, 2022).

3.1.3 Cromo em cosméticos

O cromo é um elemento químico que pode existir em diferentes valências, sendo as mais comuns o cromo trivalente, Cr (III), e o cromo hexavalente, Cr (VI). O estado de oxidação do Cr pode ter distintas implicações na toxicologia do elemento. A espécie Cr (VI) possui propriedades tóxicas e carcinogênicas comprovadas, já a espécie Cr (III) é essencial para a manutenção da taxa normal de glicose no organismo humano. A presença de cromo em cosméticos labiais pode ocorrer como resultado da contaminação durante a fabricação ou através de pigmentos utilizados nos produtos. A exposição diária e repetida a produtos labiais contendo Cr pode levar a efeitos adversos à saúde, incluindo irritação cutânea, alergias e até mesmo o aumento do risco de desenvolvimento de câncer (LIU *et al.*, 2013; MATOS, 2014; MESKO, *et al.*, 2020; ABED *et al.*, 2024).

A determinação de Cr em cosméticos labiais é crucial para garantir a conformidade com os padrões de segurança regulatórios. No Brasil, a ANVISA estabelece limites permitidos para a presença de Cr em cosméticos. A análise contribui para a proteção dos consumidores, garantindo que os produtos de beleza não representem riscos para a saúde quando usados conforme as instruções. Além disso, a pesquisa contínua sobre a presença de cromo em cosméticos auxilia na melhoria das práticas de fabricação e na formulação de produtos mais seguros e saudáveis para os consumidores (IWEGBUE *et al.*, 2016; MESKO *et al.*, 2020).

3.2 Determinação elementar em cosméticos labiais

3.2.1 Técnicas analíticas de determinação

Dentre as técnicas analíticas mais empregadas para a determinação elementar em cosméticos destacam-se a F AAS, GF AAS, ICP OES, ICP-MS, cromatografia de íons (IC, do inglês *ion chromatography*), a espectroscopia de emissão óptica induzida por laser (LIBS, do inglês *laser-induced breakdown spectroscopy*), a espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado com ablação por laser (LA-ICP-MS, do inglês *laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry*), a

espectrometria de difração de raios X (XRD, do inglês *X-ray diffraction spectrometry*) e a espectrometria de fluorescência de raios X por energia dispersiva (EDXRF, do inglês *energy dispersive X-ray fluorescence*) (MESKO *et al.*, 2020). As técnicas baseadas na espectrometria de absorção atômica são as mais populares para a determinação elementar em cosméticos. No entanto, a técnica de F AAS possui menor sensibilidade quando comparada com a GF AAS. As técnicas de ICP OES e ICP-MS destacam-se pela sua capacidade multielementar, mas utilizam de equipamentos de custo relativamente elevado. Já as técnicas de LIBS e LA-ICP-MS permitem análises diretas, as quais são promissoras e vantajosas. Entretanto, a escassez de material de referência certificado com composição semelhante à matriz das amostras e a falta de soluções de referência adequadas para a construção de curvas de calibração, dificultam as análises quantitativas.

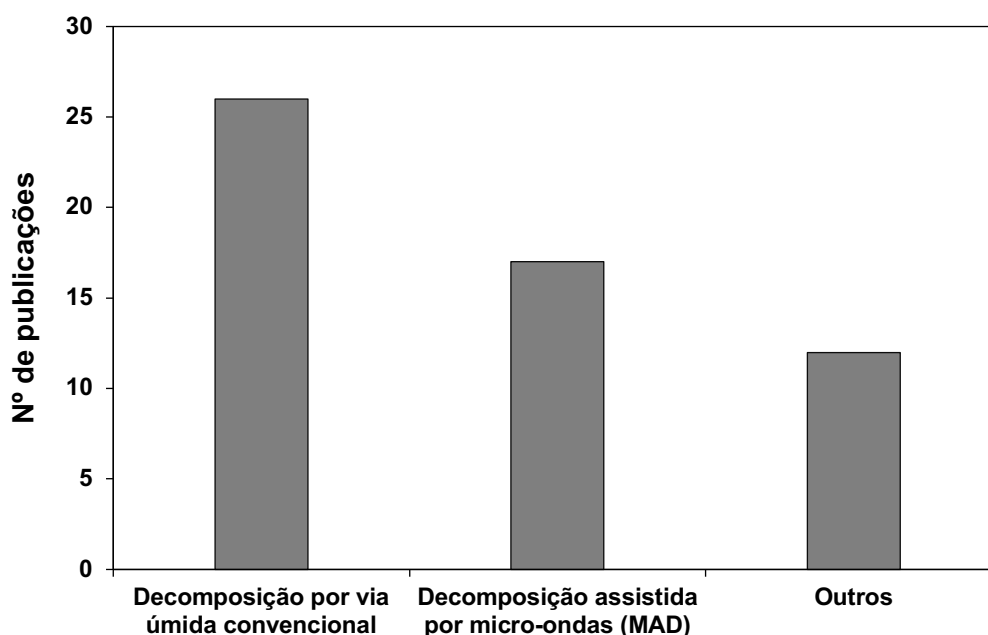
A HR-CS AAS é uma evolução da espectrometria de absorção atômica com fonte de linhas (LS-AAS, do inglês *line source-atomic absorption spectrometry*). Os instrumentos possuem um monocromador duplo de alta resolução, o qual é constituído por dois elementos dispersores em série, um prisma e uma rede de difração do tipo *Echelle*, com resolução de 2 pm por pixel em 200 nm. As principais vantagens do uso da fonte contínua única de radiação estão associadas à possibilidade de determinar mais de 67 elementos sem a troca de lâmpada, baixos LDs, uso de sistema de feixe duplo simultâneo capaz de corrigir flutuações de intensidade da lâmpada e na transmissão de radiação, sem prejuízo para a razão sinal/ruído do equipamento. Além disso, o equipamento de HR-CS AAS permite a análise direta de amostras sólidas (BORGES *et al.*, 2005; WELZ *et al.*, 2003). No entanto, a maioria das técnicas analíticas empregadas para a análise de cosméticos visando a determinação elementar exigem que as amostras sejam introduzidas nos instrumentos na forma de solução. Portanto, é de fundamental importância o desenvolvimento de métodos de preparo de amostras que sejam capazes de isolar os analitos e minimizar a presença de interferências na etapa de determinação.

3.2.2 Métodos de preparo de amostra

O preparo de amostra é uma etapa crítica de qualquer método analítico. O conhecimento prévio das propriedades da matriz e do analito permite escolher o método de preparo de amostra mais adequado. A análise elementar da maioria das matrizes orgânicas e inorgânicas requer a dissolução parcial ou total da amostra antes

da etapa de determinação instrumental. Nas amostras de cosméticos, uma das limitações para a determinação elementar é a complexidade da matriz, pois as amostras contêm um elevado teor orgânico e a presença dos elementos na forma de óxidos. Portanto, o emprego de um eficiente preparo de amostra é fundamental para determinar concentrações em níveis traço dos analitos em amostras cosméticas (KRUG, 2019; SOROURADDIN *et al.*, 2022). Na Figura 1, estão apresentados os métodos de preparo de amostra comumente empregados para a determinação elementar em cosméticos labiais e encontrados na literatura. Foram utilizadas as bases de dados "Google Scholar" e "Periódicos da CAPES" entre os anos de 2010 e 2023 com as palavras-chave "hidratante labial", "metais", "preparo de amostra" e "cosméticos labiais".

Figura 1 - Métodos de preparo de amostra empregados na determinação elementar em cosméticos labiais.



Os métodos de preparo de amostra mais empregados em amostras de cosméticos utilizados na região dos lábios para posterior determinação elementar envolvem predominantemente a decomposição ácida por via úmida com aquecimento em blocos digestores ou assistidos por radiação micro-ondas (VOLPE *et al.*, 2012; MESKO *et al.*, 2020). Além destes, a decomposição por via seca (em forno mufla), a combustão iniciada por micro-ondas (MIC), as dissoluções alcalinas, a formação de emulsão e a extração da fração orgânica também têm sido reportadas na literatura (MESKO *et al.*, 2020).

A decomposição por via úmida com aquecimento convencional compreende 58% das publicações encontradas na literatura e consiste no aquecimento da amostra na presença de ácidos inorgânicos concentrados como o HNO_3 , HCl , H_2SO_4 , HClO_4 , HF ou utilizando também H_2O_2 como auxiliar de oxidação. O aquecimento pode ser feito em chapas de aquecimento ou blocos digestores em frascos abertos (a forma mais comum) ou fechados, em que as amostras orgânicas oxidadas e os elementos são solubilizados na solução ácida na forma inorgânica, sendo compatível com diversas técnicas analíticas de determinação (IWEGBUE *et al.*, 2016; MESKO *et al.*, 2017). Como desvantagens das decomposições com aquecimento convencional, podem ser citados o alto consumo de reagentes, elevado tempo de análise, risco de contaminação e perdas de analito por volatilização.

Já a decomposição assistida por micro-ondas (MAD) compreende 30% das publicações e é um método de preparo de amostra bem consolidado, o qual consiste na utilização de ácidos inorgânicos (geralmente concentrados) na presença da radiação micro-ondas, uma radiação eletromagnética não-ionizante que provoca a agitação das espécies em solução através de dois mecanismos, a migração iônica e/ou a rotação de dipolo. As vantagens são o curto tempo necessário para realizar a decomposição da amostra, o baixo teor de carbono residual dos digeridos, a mínima contaminação e, especialmente, sem perda de elementos voláteis (em sistemas fechados) (MESKO, *et al.*, 2017; KRUG, 2019). Entretanto, a maioria dos procedimentos de digestão, exige a aquisição de equipamentos de custo relativamente elevado e uma alta experiência do operador (ambos no caso da MAD).

Neste contexto, novas alternativas de preparo de amostra têm sido propostas na literatura com o objetivo de desenvolver métodos mais simples, de baixo custo e que atendam aos princípios da Química Analítica Verde (GAC, do inglês *Green Analytical Chemistry*). Como alternativa, diversas modificações estão sendo empregadas no preparo de amostras, preconizadas pelos princípios da GAC, visando métodos mais simples, com número reduzido de amostras e etapas, com possibilidade de miniaturização, menor consumo de reagentes e energia, com a utilização de solventes menos agressivos ao meio ambiente, entre outros (GAŁUSZKA, MIGASZEWSKI & NAMIEŚNIK, 2013). Nessa abordagem, a RP-DLLME é uma alternativa interessante para o preparo de amostras, especialmente oleosas. Na Tabela 2, estão apresentados os trabalhos que foram encontrados na literatura para a determinação elementar em cosméticos labiais.

Tabela 2: Trabalhos com foco na determinação elementar em cosméticos labiais (2005 - 2023)

Elementos	Preparo de amostra	Preparo de amostra	Técnica de determinação	Limitação de detecção (LD)	Referência
Cd, Cr, Fe, Ni, Pb e Zn	Decomposição com aquecimento convencional	1000 mg de amostra, HNO ₃ ** 1 M, evaporação da mistura à secura, HClO ₄ ** (com reposição após secura). ** Não foram informados os volumes dos ácidos	F AAS	Não informado	Nnorom <i>et al.</i> , 2005
Pb	Decomposição com aquecimento convencional	200 mg de amostra, 4 mL de HNO ₃ , repouso por 4 h, 1 mL de H ₂ O ₂	GF AAS	0,25 µg g ⁻¹	Al-Saleh <i>et al.</i> , 2009
As, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ni e Pb	Decomposição assistida por micro-ondas	200 mg de amostra, 5 mL de HNO ₃ , 1 mL de HF, pré-digestão por 2 h, aquecimento, 2 mL de H ₂ O ₂ após o resfriamento, repouso por 1 h e novo aquecimento	CVG-AAS (Hg) F AAS (K e Na) GF AAS (As, Cd, Co, Cr, Cu, Ni e Pb) ICP-OES (Al, As, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Ni, Pb, Ti e Zn)	GF AAS (µg g ⁻¹) As: 0,32 Cd: 0,025 Co: 0,16 Cr: 0,10 Cu: 0,025 Ni: 0,12 Pb: 0,035 CVG-AAS Hg: 0,1 µg g ⁻¹	Atz <i>et al.</i> , 2009
Co, Cr e Ni	Digestão por via úmida assistida por radiação micro-ondas (MAWD)	200 - 400 mg de amostra, 6 mL de HNO ₃ , 2 mL de HF 40% e 2 mL de H ₂ O ₂ 30%	GF AAS	(µg g ⁻¹) Co: 0,2 Cr: 0,1 Ni: 0,1	Corazza <i>et al.</i> , 2009
Pb	Digestão por via úmida assistida por radiação micro-ondas (MAWD)	300 mg de amostra, 7 mL de HNO ₃ e 2 mL de HF, aquecimento, resfriamento, 30 mL de H ₃ BO ₃ 4%	ICP-MS	Pb: 0,04 µg g ⁻¹	Hepp <i>et al.</i> , 2009

As, Ba, Ca, Ce, Co, Cr, Cs, Eu, Fe, Hf, K, Na, Rb, Sb, Sc, Sm, Sn, Ta, Tb, Th, U, W, Yb e Zn	-	300 e 700 mg de amostra (sem preparo de amostra)	NAA	Não informado	Sneyers <i>et al.</i> , 2009
Pb	-	0,25 a 2,0 mg de amostra (sem preparo de amostra)	SS-HR-CS GF AAS	10,6 ng g ⁻¹	Gunduz <i>et al.</i> , 2009
Cd, Cr, Pb e Zn	Digestão ácida	1000 mg de amostra, adições repetidas de HNO ₃ e H ₂ O ₂	ICP-OES	Não informado	Gondal <i>et al.</i> , 2010
Cd, Cu, Fe, Ni, Pb e Zn	Digestão por via úmida assistida por radiação micro-ondas (MAWD)	200 mg de amostra, 7 mL de HNO ₃ e 3 mL de HF, adição de 2 mL de HCl (para determinação de Fe)	F AAS	-	Cha <i>et al.</i> , 2010
Cd, Cr, Pb e Zn	-	Aquecimento a 105 °C, remoção de água, congeladas e cortadas em pequenos pedaços circulares de 1 cm de diâmetro	LIBS	(mg g ⁻¹) Cd: 2,0 Cr: 2,3 Pb: 2,6 Zn: 1,73	Gondal <i>et al.</i> , 2010
Cd, Cr, Ni e Pb	Digestão ácida convencional	1000 mg de amostra, adição de HNO ₃ e H ₂ O ₂ , aquecimento a 100°C	F AAS	Não informado	Khalid <i>et al.</i> , 2013
Cd e Pb	Digestão ácida convencional	1000 mg de amostra, 5 mL de HNO ₃ , aquecimento a 80 °C, adição de 1 mL de H ₂ O ₂ ,	GF AAS	(ng g ⁻¹) Cd: 0,1 Pb: 0,1	Nourmoradi <i>et al.</i> , 2013
Cd, Cr, Hg, Ni e Pb	Digestão ácida convencional	200 mg de amostra, adição de 0,2 e 0,5 mL de H ₂ SO ₄	CVG-AAS (Hg) GF AAS	(mg L ⁻¹) Cd: 0,006 Cr: 0,01 Hg: 0,02 Ni: 0,18 Pb: 0,20	Orisakwe <i>et al.</i> , 2013
Mn e Pb	Calcinação/ mufla	1000 mg de amostra, aquecimento a 450 °C (obtenção das cinzas, solubilização com HNO ₃ diluído)	F AAS	(mg L ⁻¹) Pb: 1,0 Mn: 0,6	Tarigh <i>et al.</i> , 2013

Ag, Al, Ba, Bi, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb e Zn	Digestão por via úmida assistida por radiação micro-ondas (MAWD)	1000 mg de amostra, adição de HNO ₃ ** e HF** em sistema fechado. ** Não informado os volumes de ácidos.	ICP-MS	Não informado	Al-Qutob <i>et al.</i> , 2013
Pb	Digestão por via úmida assistida por radiação micro-ondas (MAWD)	250 mg de amostra, adição de 5 mL de HNO ₃ e 2 mL de HF, aquecimento a 170 °C e posteriormente a 190 °C.	HR-CS GF AAS	Não informado	Gunduz <i>et al.</i> , 2013
Pb	Digestão por via úmida assistida por radiação micro-ondas (MAWD)	200 mg de amostra, adição de 7 mL de HNO ₃ e 2 mL de HF, aquecimento a 130 °C, 200 °C e 180 °C, adição de 30 mL de H ₃ BO ₃ 4%.	ICP-MS	Não informado	Piccinini <i>et al.</i> , 2013
Pb	Dissolução Alcalina digestão por via úmida assistida por radiação micro-ondas (MAWD)	50 mg de amostra, aquecimento a 60 °C, adição de 460 mL de TMAH a 25%	GF AAS	0,20 µg g ⁻¹	Soares <i>et al.</i> , 2013
Hg	-	Pesagem de amostras e aquecimento a 800 °C	CVG-AFS	0,1 ng g ⁻¹	Liang <i>et al.</i> , 2013
Cd e Pb	Digestão ácida + M-SPE	M-SPE: adsorção: nanopartículas de Fe ₃ O ₄ ; modificador ligante: 2,6-diaminopiridina; eluição :HCL e Tiourea	FAAS	Cd: 0.089 µg L ⁻¹ Pb: 1,3 µg L ⁻¹	Ebrahimzadeh <i>et al.</i> , 2013
As, Cd, Co, Cr, Hg, Ni e Pb	Digestão ácida convencional	500 ± 100 mg de amostra, adição de 25 mL de HNO ₃ e HF (3:1) e 3 mL de HCl, aquecimento a 130 °C. Determinação de Hg: diluição de 4 mL dos digeridos com cloreto de bromo 5% para 40 mL	CVG-AFS (Hg) ICP-MS (As, Cd, Co, Cr, Ni e Pb)	(µg g ⁻¹) As: 0,048 Cd: 0,018 Cr: 0,052 Co: 0,0066 Hg: 0,0010 Ni: 0,032 Pb: 0,0084	Hepp <i>et al.</i> , 2014
Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Ni e Pb	Digestão ácida convencional	500 mg de amostra, adição de 2 mL de HNO ₃ e aquecimento a 130 °C	ICP-MS	(µg g ⁻¹) Cd: 0,0001 Co: 0,0002 Cr: 0,0007 Cu: 0,0001 Mn: 0,0009 Ni: 0,0005 Pb: 0,0003	Gao <i>et al.</i> , 2015

As, Cd, Hg e Pb	Digestão ácida convencional	1000 mg de amostra, adição de 15 mL de HNO ₃ , 5 mL de H ₂ O ₂ e 5 mL de HCl e aquecimento a 150 °C	CVG-AAS (Hg) F AAS (Cd and Pb) HG-AAS (As)	Não informado	Nasirudeen <i>et al.</i> , 2015
Pb	Digestão ácida convencional	400 mg de amostra, adição de 5 mL de HNO ₃ e 2 mL de H ₂ O ₂ , aquecimento, resfriamento e dissolução com 25mL de água ultrapura.	ICP-MS	0,02 µg g ⁻¹	Yilmazcan <i>et al.</i> , 2015
Pb	Digestão por via úmida assistida por radiação micro-ondas (MAWD) +DLLME	100 mg de amostra, adição de 7 mL de HNO ₃ 65% e 2 mL de HF 47%, aquecimento a 130°C e 200°C, resfriamento a 50°C, adição de 30 mL de solução aquosa de ácido bórico a 4%, aquecimento a 180 ° C. Microextração líquido-líquido dispersiva (injeção rápida de acetona (500 mL), 1-undecanol (30 mL) e ácido dietil ditiofosfórico na digestão), centrifugação, resfriamento, transferência do 1-undecanol solidificado para um frasco adequado e analisado.	GF AAS	0,1 ng g ⁻¹	Sharafi <i>et al.</i> , 2015
Cd, Cr e Pb	Digestão por via úmida assistida por radiação micro-ondas (MAWD)	400 mg de amostra, adição de 6 mL de HNO ₃ (69%), aquecimento a 130 °C e 200 °C, resfriamento, filtragem dos digeridos em água ultrapura até o volume de 50 mL.	ICP-OES	Cd: 0,06 µg g ⁻¹ Cr: 0,21 µg g ⁻¹ Pb: 0,63 µg g ⁻¹	Zakaria <i>et al.</i> , 2015
Pb	EIEB e digestão por via úmida assistida por radiação micro-ondas (MAWD)	Emulsão: 100 mg de amostra, adição de 0,5 mL de Triton X-100 a 10%, 0,05 mL de HNO ₃ e 5 mL de água, aquecimento a 85°C, resfriamento e mistura com soluções padrão de Pb e K ₃ Fe(CN) ₆ . MAWD: 500 mg de amostra, adição de 4 mL de HNO ₃ e 2 mL de HF, aquecimento a 200°C.	HG-ICP-MS	0,11 ng g ⁻¹ (EIEB)	Chen <i>et al.</i> , 2015

Ba, Bi, Br, Ca, Cu, Fe, K, Mn, Rb, Sr, Ti e Zn	-	As amostras foram aplicadas sobre filmes finos colocados em copos convencionais de XRF com diâmetro de 32 mm, simulando seu uso no rosto. Precisão não informada.	EDXRF	(mg g ⁻¹) Ba: 324 Bi: 10 Br: 9 - 64 Ca: 53 - 165 Cu: 20 Fe: 7 - 31 K: 53 - 226 Mn: 9 - 31 Rb: 61 Sr: 62 Ti: 25 - 83 Zn: 4 - 20	Melquiades <i>et al.</i> , 2015
Cd, Co, Cr, Cu, Ni e Pb	Digestão ácida convencional	250 mg de amostra, adição de 5 mL de HNO ₃ a 32%, 2 mL de 30% H ₂ O ₂ e 1 mL de 25% Triton X-100, aquecimento a 100°C por 180 min. As recuperações variaram de 80 a 111%.	GF AAS (Pb) ICP-OES (Cd, Co, Cr, Cu e Ni)	(µg g ⁻¹) Cd: 0,02 Co: 0,04 Cr: 0,02 Cu: 0,02 Ni: 0,07 Pb: 0,01	Batista <i>et al.</i> , 2016
Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb e Zn	Digestão ácida convencional	1000 mg de amostra, adição de 20 mL de HNO ₃ 65%, 10 mL de HCl e 5 mL de H ₂ O ₂ , aquecimento a 125°C por 2h.	F AAS	Cd: 0,23 Co: 0,05 Cr: 0,6 Cu: 0,08 Fe: 1,7 Mn: 0,1 Ni: 0,8 Pb: 0,1 Zn: 0,8	Iwegbue <i>et al.</i> , 2016
Cd, Pb e Zn	Digestão ácida convencional	2-3 g de amostra, adição de HNO ₃ 65% e 37% de HCl, (1:1,5, v/v), aquecimento a 60 e 80°C por 2h. Diluição com água duplamente destilada, filtragem até o volume de 50 mL.	PSA	Não informado	Kalicanin <i>et al.</i> , 2016

Cd	Digestão ácida convencional	1000 mg de amostra, adição de 8 mL de HNO ₃ (65%) e 2 mL de acetona. Repouso (24h), filtragem e centrifugação (4000 rpm – 30 min), separação (sólido e seco), adição do material seco a um copo com etanol absoluto, agitação a 1500 rpm (2h). Remoção do material sólido por centrifugação.	FS	0,276 µmol L ⁻¹	Khani <i>et al.</i> , 2016
Cd (II) e Ni (II)	Digestão ácida + DLLME	100 mg de amostra, adição de 10 mL de HNO ₃ 65% em uma placa a 100°C, resfriamento, adição de 10 mL de HNO ₃ 65% e 2 mL de H ₂ O ₂ , aquecimento até a secura novamente. Dissolução do resíduo em HNO ₃ (0,45%), filtragem e volume final de 10 mL. Microextração simultânea líquido-líquido dispersivo, aposição dos digeridos em tubo de ensaio de 25 mL com tampa de rosca e fundo cônico, adição de reagente quelante 2-metil5 - [(Z) -piridin-4-yldiazetil] quinolin-8-ol (0,28 mg) e uma mistura de 640 mL de etanol (solvente dispersor), 160 mL de CHCl ₃ (solvente extrator) e solução tampão NH ₃ / NH ₄ Cl (0,1 mol L ⁻¹ , pH 8). Mistura e agitação, centrifugação por 3 min a 4000 rpm (separação das fases). Remoção da fase aquosa, volume da fase orgânica de 50 mL.	F AAS	Cd(II): 0,25 µg L ⁻¹ Ni(II): 0,84 µg L ⁻¹	Saçmaci <i>et al.</i> , 2016
Cd, Cr, Cu, Mn, Ni e Pb	Calcinação/mufla	3,0 g de amostra, aquecimento a 550°C por 2h, solubilização de cinzas residuais com 5 mL de HNO ₃ (4,5%), evaporação próximo à secura, resfriamento, filtragem e diluição para 100 mL.	F AAS	(mg L ⁻¹) Cd: 0,01 Cr: 0,04 Cu: 0,04 Mn: 0,03 Ni: 0,05 Pb: 0,08	Sani <i>et al.</i> , 2016
Ag, As, Bi, Br, Cr, Cu, Hg, I, Mn, Mo, Ni, Pb, Sn, e V	-	Secagem das amostras a 105-350 °C (10 h), homogeneização (misturador), armazenamento, compressão em pellets (20 s - 7 ton.) em uma prensa hidráulica.	EDXRF	Não informado	Sögüt <i>et al.</i> , 2016

As e Hg	Digestão ácida e Extração de ácido	500 mg de amostra, adição de uma solução de HNO ₃ e HCl (1:3). Extração de ácido: 1000 mg de amostra e 50 mL de HCl 0,31% fervida por 15 min sob refluxo. Resfriamento, filtragem e diluição com 0,31% HCl para 50 mL.	CVG-AAS (Hg) HG-AAS (As)	As: 0,02 µg g ⁻¹ Hg: não informado	Jelic <i>et al.</i> , 2017
Cd, Cr, Cu, Ni e Pb	Digestão ácida convencional	2,0 g de amostra, dissolução com 6 mL de HNO ₃ 69% e 4 mL de HCl 37%, adição de 15 mL de HNO ₃ 4,5% à amostra digerida, filtragem e diluição com água deionizada. Evaporação a 70°C com cerca de 1 mL, frasco de polietileno e diluído com 25 mL de água deionizada.	FAAS	Não informado	Massadeh <i>et al.</i> , 2017
Cd, Cr, Ni e Pb	Digestão ácida convencional	1000 mg de amostra e 10 mL de HClO ₄ 70%. Aquecimento, digestão a 50 e 60°C (2h) com adição intermitente de HClO ₄ para evitar que a mistura seque. Resfriamento, adição de 10 mL de HNO ₃ . Digestão por mais 1 hora, resfriamento, transferência para frascos de 25 mL e completados para marcar com água destilada.	FAAS	Não informado	Igwo-Ezikpe <i>et al.</i> , 2017
Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb e Zn	Digestão por via úmida assistida por radiação micro-ondas (MAWD)	Secagem das amostras sólidas em estufa a 105°C, armazenamento em dessecadores. Pesagem de 3,5 g de cada amostra, aquecimento até 550 °C. Digestão com HNO ₃ 1M, evaporação quase até a secura resfriamento, filtragem e diluição até 100 mL.	F AAS	Não informado	Ullah <i>et al.</i> , 2017
Cd and Pb	Digestão por via úmida assistida por radiação micro-ondas (MAWD)	500 mg de amostra, adição de 6 mL de HNO ₃ 65% e 0,5 mL de HCl a 37%. Aquecimento por micro-ondas: 750 W para 10 min e 0 W por 20 min para resfriamento. As recuperações de Cd e Pb ficaram entre 95 e 103%.	ICP-MS	(ng g ⁻¹) Cd: 3 Pb: 77	Mesko <i>et al.</i> , 2017

Ag, As, Be, Cd, Ce, Co, Cr, Cu, Dy, Er, Eu, Gd, Ge, Hf, Hg, Ho, La, Li, Lu, Mn, Mo, Nb, Nd, Ni, Pb, Pr, Rb, Re, Se, Sb, Sm, Sn, Sr, Ta, Tb, Te, Tm, U, V, W, Yb, Zn e Zr	Digestão por via úmida assistida por radiação micro-ondas (MAWD)	300 mg de amostra, 7 mL de HNO ₃ e 2 mL de HF. Aquecimento a 130 °C por 3 min (rampa de 15 min) e 200 °C por 30 min (rampa de 15 min). Resfriamento, abaixo de 50 °C, adição de 30 mL de H ₃ BO ₃ a 4%, aquecimento a 170 °C por 10 min (rampa de 15 min). Resfriamento, ajuste do volume para 50 mL com água ultrapura.	ICP-MS	Ag: 0,001 µg g ⁻¹ As: 0,110 µg g ⁻¹ Be: 0,006 µg g ⁻¹ Cd: 0,001 µg g ⁻¹ Ce: 0,044 µg g ⁻¹ Co: 0,002 µg g ⁻¹ Cr: 0,102 µg g ⁻¹ Cu: 0,134 µg g ⁻¹ Dy: 0,002 µg g ⁻¹ Er: 0,0004 µg g ⁻¹ Eu: 0,0004 µg g ⁻¹ Gd: 0,005 µg g ⁻¹ Ge: 0,105 µg g ⁻¹ Hf: 0,0004 µg g ⁻¹ Hg: 0,032 µg g ⁻¹ Ho: 0,0004 µg g ⁻¹ La: 0,019 µg g ⁻¹ Li: 0,015 µg g ⁻¹ Lu: 0,0001 µg g ⁻¹ Mn: 0,026 µg g ⁻¹ Mo: 0,040 µg g ⁻¹ Nb: 0,004 µg g ⁻¹ Nd: 0,017 µg g ⁻¹ Ni: 0,139 µg g ⁻¹ Pb: 0,008 µg g ⁻¹ Pr: 0,006 µg g ⁻¹ Rb: 0,012 µg g ⁻¹ Re: 0,0001 µg g ⁻¹ Sb: 0,009 µg g ⁻¹ Se: 0,098 µg g ⁻¹ Sm: 0,007 µg g ⁻¹ Sn: 0,069 µg g ⁻¹ Sr: 0,014 µg g ⁻¹ Ta: 0,0003 µg g ⁻¹ Tb: 0,001 µg g ⁻¹ Te: 0,0001 µg g ⁻¹ Tl: 0,0002 µg g ⁻¹ Tm: 0,0001 µg g ⁻¹ U: 0,0003 µg g ⁻¹	Pinto <i>et al.</i> , 2018
--	--	--	--------	--	----------------------------

					V: 0,086 $\mu\text{g g}^{-1}$ W: 0,002 $\mu\text{g g}^{-1}$ Yb: 0,0003 $\mu\text{g g}^{-1}$ Zn: 0,151 $\mu\text{g g}^{-1}$ Zr: 0,008 $\mu\text{g g}^{-1}$
Cd	-	1,0 a 2,5 mg de amostra. Calibração realizada com soluções padrão aquosas. As recuperações variaram de 93 a 110%. Paládio utilizado como modificador químico. As temperaturas de pirólise e atomização foram 850 e 1600°C, respectivamente.	SS-HR-CS GF AAS	2,5 ng g ⁻¹	Tinas <i>et al.</i> , 2018
Pb, Cd, As e Hg	Digestão assistida por micro-ondas	Digestão de 0,3 g de amostra e 5 ml de HNO ₃ a 65%, selados e colocados em um suporte de vasos em um forno de micro-ondas, com o programa do forno ajustado. Oito vasos foram digeridos simultaneamente, transferidas para tubos Falcon e diluídas para 15 ml com água deionizada.	GF AAS DMA	Pb: 0,99 $\mu\text{g L}^{-1}$ Cd: 0,14 $\mu\text{g L}^{-1}$ As: 2,9 $\mu\text{g L}^{-1}$	Saadatzadeh <i>et al.</i> , 2019
Pb e Cd	Digestão convencional	HNO ₃ e ácido perclórico (3:1). Adição de hidróxido de sódio para liberação de amônia, filtragem em um balão volumétrico de 25 mL.	FAAS	Cd: 0,2287 mg kg ⁻¹	Asra <i>et al.</i> , 2019
Pb, Cd e As	Digestão ácida	Digestão de 0,5 g de cada amostra com 10 ml de água régia (3:1 HCl:HNO ₃). Aquecimento por trinta minutos, resfriamento à temperatura ambiente, diluição para 50 ml com água destilada e filtragem.	F AAS	Pb: 3,16 - 9,47 $\mu\text{g g}^{-1}$	Jihad <i>et al.</i> , 2020
Pb	Digestão ácida	HNO ₃ e H ₂ O ₂ .	F AAS	-	Hashim <i>et al.</i> , 2020

Cd	Digestão ácida assistida por radiação micro-ondas (MAWD)	mistura de HNO ₃ (65%) e H ₂ O ₂ (30%) na proporção de 2:1.	GF AAS	0,81 µg L ⁻¹ LQ: 0,28 µg L ⁻¹	Afridi <i>et al.</i> , 2021
Al, Cd e Pb	Digestão ácida	HNO ₃ 65%, aquecimento a 450 °C por 24 horas. Dissolução das cinzas resultantes em HNO ₃ a 1,5%	ICP OES	Al: 40 µg L ⁻¹ Cd: 3 µg L ⁻¹ Pb: 3 µg L ⁻¹	Torres <i>et al.</i> , 2021
Pb, Ni, Cr, Cd, As, Hg, Ti, Fe e Co	Digestão ácida convencional	0,15 g da amostra e 3,0 mL de HNO ₃	ICP-OES	As: 0,545 mg kg ⁻¹ Co: 0,027 mg kg ⁻¹ Cr: 0,031 mg kg ⁻¹ Cd: 0,061 mg kg ⁻¹ Hg: 0,09 mg kg ⁻¹ Ni: 0,012 mg kg ⁻¹ Pb: 0,129 mg kg ⁻¹ Ti: 0,186 mg kg ⁻¹ Zn: 0,047 mg kg ⁻¹	Al-mourae <i>et al.</i> , 2021
Ni e Co	Digestão ácida	Pré-tratamento: secagem (estufa a 80 °C por 12 horas), **HNO ₃ e HClO ₄ ** na proporção 2:1. 1 g das amostras secas, HNO ₃ evaporação até quase a secar e resfriamento. Repetição da etapa em ácido perclórico (HClO ₄) até a evolução de vapores brancos (indicando o fim do processo de digestão) antes de aquecer novamente até quase a secar. Dissolução de HNO ₃ 1 M, filtragem com papel de filtro e completado até a marca com água deionizada). **Não foram informados os volumes dos ácidos.	µPAD	Ni: 0,11 mg L ⁻¹ Co: 0,15 mg L ⁻¹	Abdulkareem <i>et al.</i> , 2022
Pb	Digestão ácida convencional	50 mg da amostra, adição de 3 mL de HNO ₃ purificado e 2,00 mL de H ₂ O ₂ . Bloco digestor por uma hora (1h) a 110 °C, resfriamento à temperatura ambiente. Segunda etapa, 3 mL de HNO ₃ purificado e 1 mL de H ₂ O ₂ , bloco digestor nas mesmas condições, resfriamento à temperatura ambiente e ajuste do volume final para 10 mL com água ultrapura.	GF AAS	-	De Paula Miranda <i>et al.</i> , 2022

Ag,Al,As,Ba, Cd,Co,Cr,Cu, Fe,Hg,Mn,Pb, Sb, Se, Sn, Sr, Tl,Zn	Digestão ácida assistida por radiação micro-ondas (MAWD)	0,5 g de amostra, 5 mL de HNO ₃ 65%. Programa: 120 °C por 5 horas. Diluição com 25 mL com água ultrapura Armazenagem a 4 °C.	ICP-MS	(x 10 ⁻⁵ mg/kg) Ag: 3,00 Al: 1,20 As: 0,69 Ba: 5,00 Cd: 6,00 Co: 1,00 Cr: 8,00 Cu: 6,00 Fe: 0,43 Hg: 0,7 Mn: 7,00 Pb: 4,00 Sb: 5,00 Se: 1,00 Sn: 0,57 Sr: 1,00 Tl: 80,0 Zn: 0,1	Shaaban <i>et al.</i> , 2022
Al,As,Cd,Co, Cr,Cu,Fe,Mn, Ni,Pb,Zn,	Digestão ácida assistida por radiação micro-ondas (MAWD)	Lip balm: 250 mg em 10 mL HNO ₃ Lipstick: 500mg 6 mL HNO ₃ , 0,5 mL HF	ICP-MS	(PPM) As: 4,52 ± 6,39 Cd: 0,24 ± 0,34 Co: 1,25 ± 1,77 Cr: 22,12 ± 31,23 Cu: 31,79 ± 44,89 Fe: 68523,48 ± 96906,62 Mn: 92,42 ± 130,7 Ni: 16,54 ± 23,37 Pb: 4.96 ± 7.01 Zn: 83,07 ± 117,47	Almukainzi <i>et al.</i> , 2022
Al, Cr, Fe, Ni, Cu, Zn	Solubilização ácida e Calcinação	Solubilização ácida: 0,5 g de amostra, 5 mL de HNO ₃ e 1 mL de HF. Diluição para 50,00 mL e armazenamento até a análise. Calcinação: 0,5 g de amostra transformadas em cinzas a 900 °C por 4 horas na mufla. Adição de 5,00 mL de HNO ₃ a 1 mL de HClO ₃ . Filtragem com papel de filtro.	ICP-MS	-	Inan <i>et al.</i> , 2023

Cr, Co, Ni, Cu, As, Pb, Hg e Cd	Digestão assistida por micro-ondas (MAWD)	Pré-tratamento: moagem (partículas finas passassem por uma malha de 0,5 mm) e mistura de cinco lotes. 0,5 g de pó da amostra, mistura de 8 ml de HNO ₃ 60% + 2 ml de HF 40%. O programa de digestão controlada por temperatura em duas etapas: (i) 900 ⁻¹ 800 W a 200 °C por 15 min e (ii) resfriamento por 15 min. Diluição para 50,0 ml com água deionizada ultrapura, rotulados.	ICP-MS	Cr: 0,002 mg kg ⁻¹ Co: 0,0008 mg kg ⁻¹ Ni: 0,002 mg kg ⁻¹ Cu: 0,002 mg kg ⁻¹ As: 0,007 mg kg ⁻¹ Cd: 0,004 mg kg ⁻¹ Pb: 0,0006 mg kg ⁻¹ Hg: 0,004 mg kg ⁻¹	Voica <i>et al.</i> , 2023
Zn (II), Cd (II) e Pb (II)	Digestão ácida convencional	0,5 g de amostra, 100 mL e 8 mL de ácido (1:3 HNO ₃ : HCl), 150 °C por 2 horas. Resfriamento à temperatura ambiente e filtradas com papel de filtro (diâmetro da malha de 125 mm). As soluções diluídas para 50 mL com água ultrapura. Transferência de 1 mL das soluções diluídas para a solução de eletrólito suporte (10 mL de solução tampão de acetato pH 4,5).	ICP-MS	Zn(II): 3,2 µg L ⁻¹ Cd(II): 0,21 µg L ⁻¹ Pb(II): 1,98 µg L ⁻¹	Dinçer <i>et al.</i> , 2023

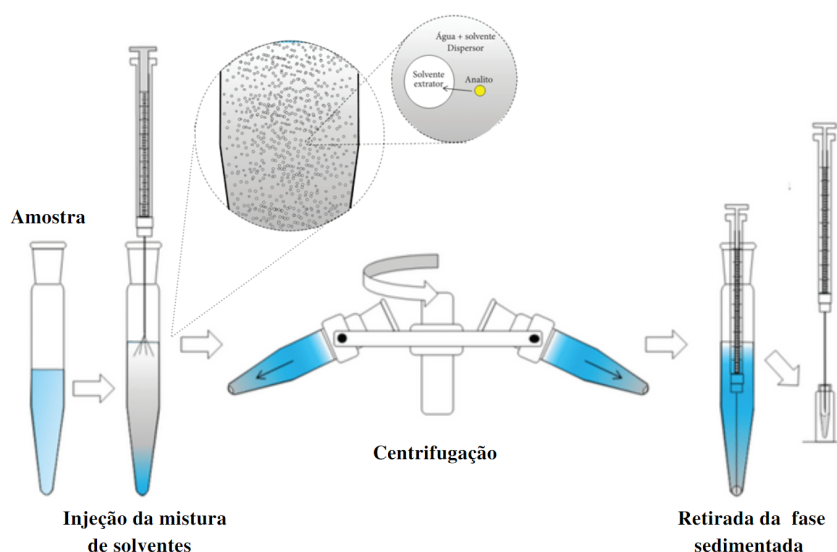
*cosméticos labiais (grupo compreendido por Batons, Hidratantes Labiais, protetores labiais, gloss labial, tintas labiais- ANVISA, RDC nº 7, de 10 de fevereiro de 2015)

3.3 Microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME)

A DLLME (Microextração Líquido-Líquido Dispersiva) é uma evolução da tradicional extração líquido-líquido (ELL), baseada no princípio de transferência de um soluto entre duas fases líquidas imiscíveis, geralmente uma fase aquosa e outra orgânica, utilizando o coeficiente de partição como base para a separação. A DLLME difere da ELL ao utilizar um volume muito pequeno de solvente extrator, disperso rapidamente na fase aquosa, aumentando a área de contato e acelerando o equilíbrio de partição do analito.

A DLLME foi proposta por Rezaee et al. (2006) e tem sido uma interessante alternativa para a extração e pré-concentração de analitos orgânicos e inorgânicos (SOROURADDIN et al., 2022). Consiste na rápida injeção (com auxílio de uma seringa) de uma mistura de um solvente extrator (imiscível na amostra aquosa) e um solvente dispersor (miscível nas fases aquosa e orgânica) diretamente em uma amostra aquosa. Em seguida, ocorre a formação de uma série de microgotas com elevada área superficial onde se dá a extração dos analitos para a fase orgânica. No entanto, normalmente, utilizam-se solventes clorados, álcoois de cadeia longa e líquidos iônicos, como solventes extratores na DLLME. Na Figura 2, está demonstrado um esquema representando a DLLME.

Figura 2 - Procedimento da DLLME.



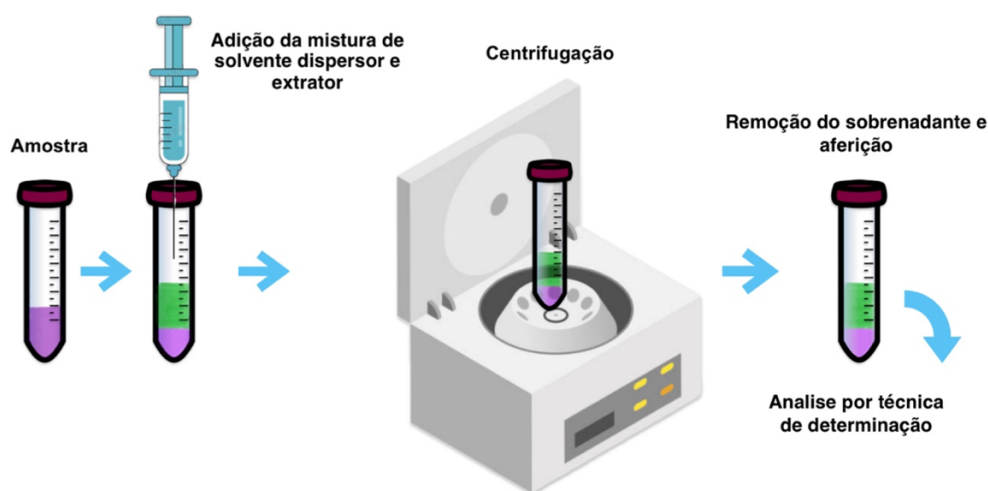
Fonte: Adaptado de (MARTINS *et al.*, 2012).

Desde então, surgiram algumas variações, como a SFO-DLLME, proposta por Leong e Huang em 2008, que utiliza solventes de baixo ponto de fusão solidificados após a extração, facilitando a separação. Em 2010, Hashemi *et al.* desenvolveram a RP-DLLME, adequada para compostos polares em soluções aquosas. Em 2011, Yan *et al.* empregaram a UA-DLLME, que incorpora ultrassom para melhorar a dispersão do solvente e aumentar a eficiência da extração.

3.4 Microextração líquido-líquido dispersiva em fase reversa (RP-DLLME)

A microextração líquido-líquido dispersiva em fase reversa (RP-DLLME) foi proposta por Hashemi *et al.* (2010), a qual distingue-se da DLLME pela fase orgânica não ser o solvente extrator, e sim a amostra. Consequentemente, o solvente extrator passa a ser a fase aquosa (GODOY-CABALLERO *et al.*, 2013; DELPINO, 2017). O emprego da RP-DLLME confere ao método elevados fatores de enriquecimento dos analitos, simplicidade e segurança no preparo de amostras, além da transferência dos analitos da matriz para uma fase aquosa usando baixos volumes de solventes extrator e dispersor. Como pode ser visualizado na Figura 3, os analitos presentes na fase orgânica são transferidos para a fase aquosa contendo uma mistura dos solventes extratores e dispersores, os quais formarão a fase sedimentada, após a etapa de centrifugação. Após, a fase sedimentada pode ser recolhida e analisada por uma técnica adequada (LÓPEZ-GARCIA *et al.*, 2015; DELPINO, 2017; KASCHNE *et al.*, 2020).

Figura 3 - Procedimento da RP-DLLME.



Fonte: Própria autora.

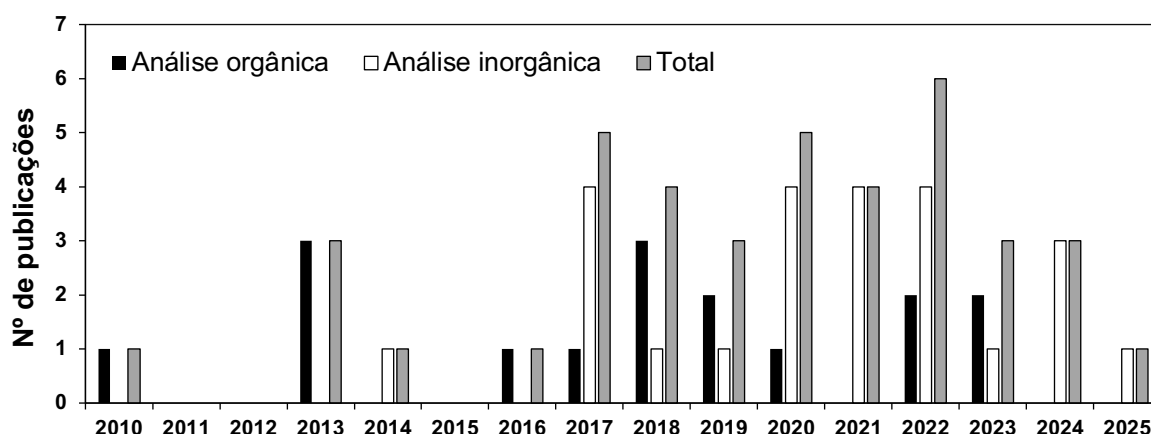
A utilização da RP-DLLME apresenta diversas vantagens em comparação com os métodos de preparo de amostras convencionais, como simplicidade, baixo custo,

baixo consumo de reagentes e menor toxicidade, menor geração de resíduos e rapidez (KALSCHNE, 2020). No entanto, o emprego do procedimento da RP-DLLME ainda é recente, principalmente, visando a determinação elementar (LOURENÇO, 2016; DA SILVA, 2017; JABERI *et al.*, 2023).

3.5 Aplicações da RP-DLLME

Neste trabalho, foi feita uma revisão utilizando as bases de dados "Scopus", "Google Scholar" e "Periódicos da CAPES" entre os anos de 2010 e 2023 com as palavras-chave "extração líquido-líquido dispersiva em fase reversa", "metais" e "compostos orgânicos". Na Figura 4, está apresentado o nº de publicações encontradas nesta revisão por ano.

Figura 4 - Número de publicações utilizando RP-DLLME de 2010 a 2025.



Um total de 36 artigos foram encontrados (16 com análise orgânica e 20 com análise inorgânica). Há uma maior concentração de publicações nos últimos anos (desde 2017). No entanto, com base nos trabalhos encontrados nesta revisão, ainda são poucos os estudos explorando o potencial da RP-DLLME. É importante destacar, que historicamente, a DLLME tem sido principalmente aplicada à extração de compostos orgânicos, o que não é observado na RP-DLLME, onde há um equilíbrio entre análise orgânica e inorgânica até o presente momento. No entanto, como o objetivo deste trabalho é a determinação elementar, focaremos a partir de agora a discussão em aplicações da RP-DLLME na análise inorgânica. Na Tabela 3, estão apresentados os estudos com informações detalhadas sobre aplicações da RP-DLLME visando a determinação elementar.

Tabela 3 - Revisão bibliográfica com emprego da RP-DLLME na análise inorgânica.

Amostras	Elementos	RP-DLLME			Técnica de determinação	Limitação de detecção (LD)	Referências
		Detalhes	Tipo	Valores			
Óleos Comestíveis	Cd e Pb	Amostra	Bagaço de azeitona, girassol, milho, soja, abacate, noz, macadâmia, óleo de peixe, óleo de gergelim, óleo de amendoim e óleo de milho.	10 g	GF AAS	(ng kg ⁻¹) Cd: 0,6 Pb: 10	López-Garcia <i>et al.</i> , 2014
		Solvente dispersor	Isopropanol	300 µL [4:1 (v/v)]			
		Solvente extrator	HNO ₃ 3% (v/v)				
Biodiesel	Cu, Cr e Ni	Amostra	Biodiesel	3,5 g	GF AAS	(ng kg ⁻¹) Cu: 0,8 Cr: 2,0 Ni: 1,0	Takashima, 2017
		Solvente dispersor	Isopropanol	500 µL [4:1 (v/v)]			
		Solvente extrator	HNO ₃ 5% (v/v)				
Biodiesel	Ca, Mg, Na e K	Amostra	Canola, girassol, pinhão-mansó e jatropha	3 g	FAAS	(mg L ⁻¹) Ca: 0,0143 Mg: 0,0015 Na: 0,0008 K: 0,0009	Da Silva, 2017
		Solvente dispersor	Isopropanol	780 µg [3:1 (v/v)]			
		Solvente extrator	HNO ₃ 3% (v/v)				
Óleo diesel	Al, Cd, Fe, Mn, Ni e Zn	Amostra	Óleo diesel	8,5 g	ICP OES	(mg kg ⁻¹) Al: 0,0185 Cd: 0,0005 Cu: 0,0014 Fe: 0,0060 Mn: 0,0004 Ni: 0,0012 Zn: 0,0026	Delpino, 2017
		Solvente dispersor	Isopropanol 75%	1 mL			
		Solvente extrator	HNO ₃ 3% (v/v)				

Óleos vegetais	Zn	Amostra	Azeite	5 g	F AAS	25 µg kg ⁻¹	Santos, 2017
		Solvente dispersor	Propanol	1 mL (1:1)			
		Solvente extrator	HNO ₃ 1%				
Óleos vegetais	Fe, Mg e Zn	Amostra	Óleos vegetais	5 g	F AAS	(µg kg ⁻¹)	Dos Reis, 2018
		Solvente dispersor	Isopropanol	500 µL		Fe: 9	
		Solvente extrator	HNO ₃ 1%	500 µL		Mg: 2 Zn: 8	
Biodiesel	Ca, K, Mg e Na	Amostra	Biodiesel	10 g	F AAS	(µg kg ⁻¹)	Lourenço, 2019
		Solvente dispersor	Isopropanol e etanol	1 mL		Na: 0,04 K: 0,02 Ca: 0,05 Mg: 0,08	
		Solvente extrator	HNO ₃				
Gordura vegetal hidrogenada (VHF)	Ni	Amostra	VHF	5 g	F AAS e GF AAS	(µg kg ⁻¹)	KASCHNE <i>et al.</i> , 2020
		Solvente dispersor	Propanol	700 µL		FAAS: 40	
		Solvente extrator	HNO ₃ 2 mol L ⁻¹	300 µL		GF AAS: 0,41	
Óleo de Peixe	Cd, Fe, Mn, Ni, Pb e Zn	Amostra	Cápsulas de óleo de peixe	10 g	ICP OES	(µg kg ⁻¹)	KASCHNE <i>et al.</i> , 2020
		Solvente dispersor	Propanol	700 µL		Cd: 0,12 Fe: 0,59 Mn: 0,10 Ni: 0,11 Pb: 0,58 Zn: 0,42	
		Solvente extrator	HNO ₃ 2 mol L ⁻¹	300 µL			
Óleos	Cd e Zn	Amostra	Cápsulas de óleo de peixe, manteiga e margarina	2 g	F AAS	(µg L ⁻¹)	Sorouraddin <i>et al.</i> , 2020

		Solvente dispersor	Ácido glicólico e mandélico 2:1 (DES)	750 µL		Cd: 0,12 Zn: 0,18	
		Solvente extrator	HNO3 3% (v/v)	400 µL			
Peixe e Azeite	CD	Amostra	Xarope de óleo de peixe e azeite	3 g	SQT-FAAS	Cd: 0,74 µg kg ⁻¹ ₁	Özzeybek <i>et al.</i> , 2020
		Solvente dispersor	Isopropanol (1:4 v/v)	300 µL			
		Solvente extrator	Água	150 µL			
Gasolina	Ag, As, Ba, Cd, Cr, Hg, Mn, Mo, Ni, Pb e S	Amostra	Gasolina	5 g	ICP OES	Variou de 0,02 a 50 µg kg ⁻¹	Vidal <i>et al.</i> , 2021
		Solvente dispersor	-	-			
		Solvente extrator	HCl 8 mol L ⁻¹	115 µL			
Azeite	Sulfato, fosfato, nitrato, cloreto, fluoreto	Amostra	Azeite Virgem	4 mL	IC-CD	Variou de 0,005 a 0,015 mg L ⁻¹	Rezaeinejad <i>et al.</i> , 2021
		Solvente dispersor	Acetato de etila	1,3 mL			
		Solvente extrator	Água (pH 7,5)	120 µL			
Óleos para excipientes farmacêuticos	As, Cd, Hg, Pb, Co, Ni e V	Amostra	Óleos para excipientes farmacêuticos	5 g	ICP-MS	(mg kg ⁻¹) As: 0,014 Cd: 0,002 Hg: 0,001 Pb: 0,006 Co: 0,002 Ni: 0,012 V: 0,031	Andriolli, 2021
		Solvente dispersor	Propanol	2 mL			
		Solvente extrator	HNO ₃ 3 mol L ⁻¹ (As, Cd, Pb, Co, Ni e V) e HCl 6,0 mol L ⁻¹ (Hg)				
Banha de porco	Cd e Pb	Amostra	Banha de porco	5 g	F AAS	(mg kg ⁻¹) Cd: 0,02 Pb: 0,03	Carboni, 2021
		Solvente dispersor	Propanol	1 mL			
		Solvente extrator	HNO ₃	1 mL			

Óleo vegetal isolante	Fe e Cu	Amostra	Óleo isolante para transformadores elétricos (a partir de óleo de soja)	5 g	F AAS	(mg kg ⁻¹)	Tarsistro, 2022
		Solvente dispersor	Isopropanol	700 µL		Fe: 0,035 Cu: 0,019	
		Solvente extrator	HNO ₃	300 µL			
Cosméticos	Cd e Pb	Amostra	Batons e cremes	0,3 g	FAAS	(µg kg ⁻¹)	Sorouraddin <i>et al.</i> , 2022
		Solvente dispersor	Acetonitrila	1,75 mL		Pb: 3,2 Cd: 0,3	
		Solvente extrator	5% (v/v) de HNO ₃	225 µL			
Biodiesel	Fe	Amostra	1/2 óleo de soja e 1/2 sebo bovino	1 g	SisGARQ	0,007 mg kg ⁻¹	Nunes, 2022
		Solvente dispersor	Isopropanol 70%	1 mL			
		Solvente extrator	30% HNO ₃				
Óleos vegetais	Cd e Pb	Amostra	Azeitona, girassol e bagaço	1 g	ICP OES	(µg kg ⁻¹)	Shishov <i>et al.</i> , 2022
		Solvente dispersor	Mentol, ácido fórmico e água (DES)	500 µL		Pb: 0,01 Cd: 0,006	
		Solvente extrator	HNO ₃	5 mL			
Óleo de gergelim	Ca, K, Mg e Pb	Amostra	Óleo de gergelim virgem	2 mL	IC-CDD	(mg L ⁻¹)	Jaberi <i>et al.</i> , 2023
		Solvente dispersor	THF	1,2 mL		K: 0,007 Na: 0,001 Mg: 0,011 Pb: 0,008 Ca: 0,009	
		Solvente extrator	Água (pH 7)	150 µL			

Óleos comestíveis	Hg	Amostra	Óleos de peixe, girassol, soja, milho, canola e amendoim	5 g	CVG-ICP-MS	(ng g ⁻¹) Hg: 0,10	Andriolli <i>et al.</i> , 2024
		Solvente dispersor	n-propanol	0,5 mL			
		Solvente extrator	HCl	0,5 mL			
Derivado de petróleo	Ca, Cd, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Ni, Pb e Zn	Amostra	Óleo derivado de petróleo	5,0 g	ICP OES	(µg L ⁻¹)	Silva <i>et al.</i> , 2024
		Solvente dispersor	Isopropanol	1200 µL		Ca:2,64 Cd:0,57 Cu:9,93 Fe:3,61 K:35,88 Mg:0,85 Mn:0,19 Ni:0,93 Pb:4,75 Zn:0,31	
		Solvente extrator	3,75% HNO ₃	400 µL			
Óleo lubrificante	Cr, Cu, Mn, Mo e Ni	Amostra	Óleo lubrificante	5,9 g	MIP OES	(ng g ⁻¹)	Sáez, <i>et al.</i> , 2024
		Solvente dispersor	-			Cr: 21 Cu: 3 Mn: 34	
		Solvente extrator	HNO ₃	60 µL		Mo:45 Ni: 34	
Banha de porco	Cr, Fe, Mg, Mn, e Ni	Amostra	Banha de porco	5 g	FAAS	Não informado	Santos, <i>et al.</i> , 2025
		Solvente dispersor	isopropanol	600 µL			
		Solvente extrator	HNO ₃ + HCl	400 µL			

Para o desenvolvimento de um método eficiente utilizando a RP-DLLME, é necessário avaliar as condições experimentais que afetam a eficiência de extração dos analitos presentes em amostras oleosas. Os seguintes parâmetros são comumente avaliados: *i*) tipo de solvente dispersor; *ii*) tipo de solvente extrator; *iii*) proporção entre solvente dispersor e solvente extrator; *iv*) tipo e concentração do solvente extrator; *v*) volume total da solução extratora; *vi*) massa da amostra; *vii*) temperatura de aquecimento (se necessário); *viii*) tempo de centrifugação; *ix*) tipo de agitação e *x*) tempo de agitação. Portanto, os estudos com RP-DLLME envolvendo análise inorgânica serão apresentados a seguir considerando tipos de solvente dispersor e extrator empregados, a necessidade de solubilização e/ou aquecimento e os tipos de amostras, analitos e técnicas de determinações empregadas.

3.5.1 Tipos de solventes dispersores

O parâmetro fundamental para escolher o tipo de solvente dispersor é a sua solubilidade tanto na fase orgânica como na aquosa. Deve-se considerar um solvente dispersor que promova uma interação rápida e eficiente entre a amostra e o solvente extrator. A dispersão depende de propriedades como viscosidade e polaridade dos solventes, das soluções e das amostras, bem como do tipo de agitação. Os álcoois de cadeia curta como o isopropanol (LOURENÇO, *et al.*, 2019; LÓPEZ-GARCIA, VICENTE-MARTINEZ e HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, 2014; TAKASHIMA, 2017; SILVA, 2017; DELPINO, 2017; DOS REIS, 2018; ÖZZEYBEK *et al.*, 2020; TARSISTRO, 2022; NUNES, 2022) e propanol (SANTOS, 2017; KASCHNE *et al.*, 2020; ANDRIOLI, 2021; CARBONI, 2021) têm sido os solventes dispersores mais comumente utilizados na literatura para a determinação elementar em diferentes amostras. O acetato de etila (REZAEINEJAD *et al.*, 2021), acetonitrila (SOROURADDIN *et al.*, 2020) e tetrahidrofurano (THF) (JABERI, HASHEMI e RAHIMI, 2023) também tem sido empregados para a extração de metais a partir de óleo de oliva, cosméticos e óleo de gergelim, respectivamente. Outros tipos de solventes dispersores utilizados na RP-DLLME são os solventes eutéticos profundos (DES, do inglês *deep eutectic solvents*). Os DESs são frequentemente considerados um subtipo de líquidos iônicos (ILs, do inglês *ionic liquids*) devido às características compartilhadas, incluindo uma ampla faixa de temperatura de fusão, baixa volatilidade e toxicidade, além de alta capacidade de solvatação. Como exemplo, a determinação de Cd e Pb em cápsulas de óleo de

peixe, manteiga e margarina foi realizada empregando F AAS e RP-DLLME usando uma combinação de ácido glicólico e ácido mandélico na proporção molar de 2:1 como solvente dispersor (SOROURADDIN *et al.*, 2020).

3.5.2 Tipos de solventes extratores

A escolha do solvente de extração também é crucial, considerando sua densidade, capacidade de extrair os analitos e compatibilidade com a técnica analítica escolhida, além de impactar diretamente a eficiência e seletividade do processo de extração (MARTINS *et al.*, 2012). Ao extrair metais de amostras lipofílicas na RP-DLLME, o uso de solventes de extração aquosos predomina. Dada a alta solubilidade dos metais na forma de nitrato, soluções diluídas de HNO_3 (LOURENÇO, *et al.*, 2019; LÓPEZ-GARCIA, VICENTE-MARTINEZ e HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, 2014; TAKASHIMA, 2017; SILVA, 2017; DELPINO, 2017; KALSCHNE *et al.*, 2020) têm sido as mais utilizadas. Considerando os seguintes princípios da GAC: *i*) evitar a geração de um grande volume de resíduos analíticos e *ii*) eliminar ou substituir reagentes tóxicos, o uso de soluções aquosas de HNO_3 em concentrações entre 1 e 5% (v/v) na RP-DLLME representa um avanço no desenvolvimento de métodos de preparo de amostras para determinação elementar, uma vez que métodos convencionais, como decomposição por via úmida em sistema aberto e MAD, empregam ácidos concentrados em grandes volumes. Além disso, existe um avanço em comparação com a DLLME convencional, pois os solventes de extração comumente empregados são solventes clorados, como tetracloreto, clorobenzeno, diclorobenzeno, entre outros (SOARES *et al.*, 2013).

A proporção entre solventes dispersores e extratores adicionados à amostra durante a extração na RP-DLLME é outro parâmetro importante, pois um excesso ou falta de solventes pode levar a uma alteração na solubilidade do solvente extrator na amostra, afetando assim a eficiência da extração dos analitos. Proporções volumétricas (v/v) entre solventes dispersores e extratores de 4:1, 3:1, 2:1, 1:1 têm sido empregadas para a extração de analitos inorgânicos em óleo comestível (LÓPEZ-GARCIA, VICENTE-MARTINEZ e HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, 2014), biodiesel (TAKASHIMA, 2017), óleo de peixe e azeite de oliva (ÖZZEYBEK *et al.*, 2020), óleos vegetais (DOS REIS, 2018), respectivamente, entre outros.

3.5.3 Aquecimento e solubilização da amostra

A temperatura é considerada um parâmetro crítico na RP-DLLME, desempenhando um papel significativo no coeficiente de difusão, transferência de massa e taxa de extração dos analitos. Dos Reis (2018), empregou a RP-DLLME para a extração de Fe, Mg e Zn em óleos vegetais e submeteu 5 g da amostra a aquecimento a 95 °C por 10 min. Andriolli (2021), determinou As, Cd, Hg, Pb, Co, Ni e V em excipientes farmacêuticos oleosos usando a RP-DLLME e ICP-MS, com amostras aquecidas em banho-maria a 85 °C. Özzeybek *et al.* (2020), determinaram Cd em óleo de peixe e azeite de oliva usando a RP-DLLME e espectrometria de absorção atômica em chama com tubo de quartzo ranhurado (SQT-F AAS, do inglês *slotted quartz tube flame atomic absorption spectrometry*), com amostras aquecidas entre 60-70 °C por 4 min. Tarsistro (2022), determinou Cu e Fe em óleo vegetal isolante usando RP-DLLME e F AAS. As amostras foram aquecidas em banho-maria a 80 °C por 20 min.

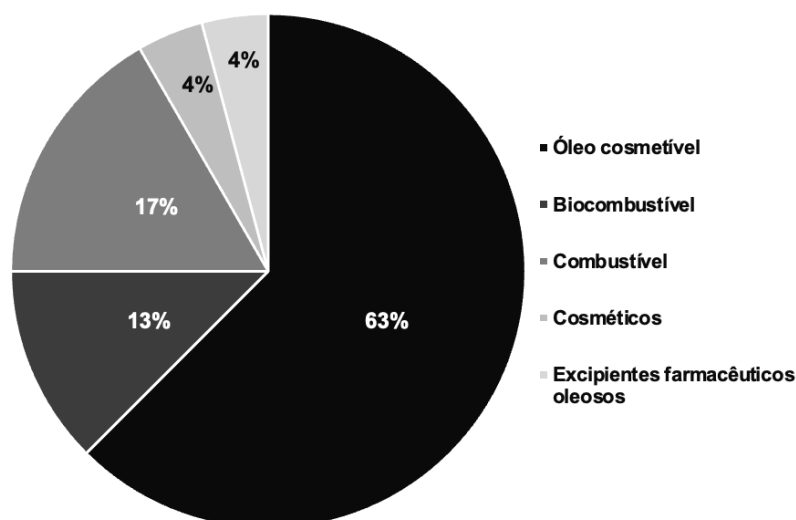
A depender da viscosidade da amostra, em alguns casos é necessário solubilizá-la em um solvente apolar para aumentar a partição do analito entre as fases. Rezaeinejad e Hashemi (2021), avaliaram a RP-DLLME para a extração de sulfato, fosfato, nitrato, cloreto e fluoreto em azeite de oliva e solubilizaram as amostras em uma proporção de 1:1 com ciclohexano, utilizando 5 mL de amostra. Kalschne *et al.* (2020), determinaram Ni em gordura vegetal hidrogenada usando a RP-DLLME e GF AAS, e as amostras (5 g) foram solubilizadas com 5 mL de xileno. Sorouraddin, Farajzadeh e Okhravi (2022), empregaram a RP-DLLME para a extração de Cd e Pb em cosméticos (batons e cremes) e 0,3 g da amostra foram solubilizados em 25 mL de tolueno. O uso da RP-DLLME, uma técnica miniaturizada, tem como objetivo eliminar vários aspectos negativos dos procedimentos convencionais de preparo de amostras, especialmente a substituição de reagentes tóxicos por soluções aquosas em menores quantidades, alinhando-se aos princípios da GAC. No entanto, em alguns casos, a solubilização da amostra torna-se indispensável para garantir a partição eficiente dos analitos.

3.5.4 Amostras, analitos e técnicas de determinação

Na Figura 5, está apresentado o percentual de publicações que utilizaram a RP-DLLME para cada tipo de amostra, com foco em análises inorgânicas. Nesta

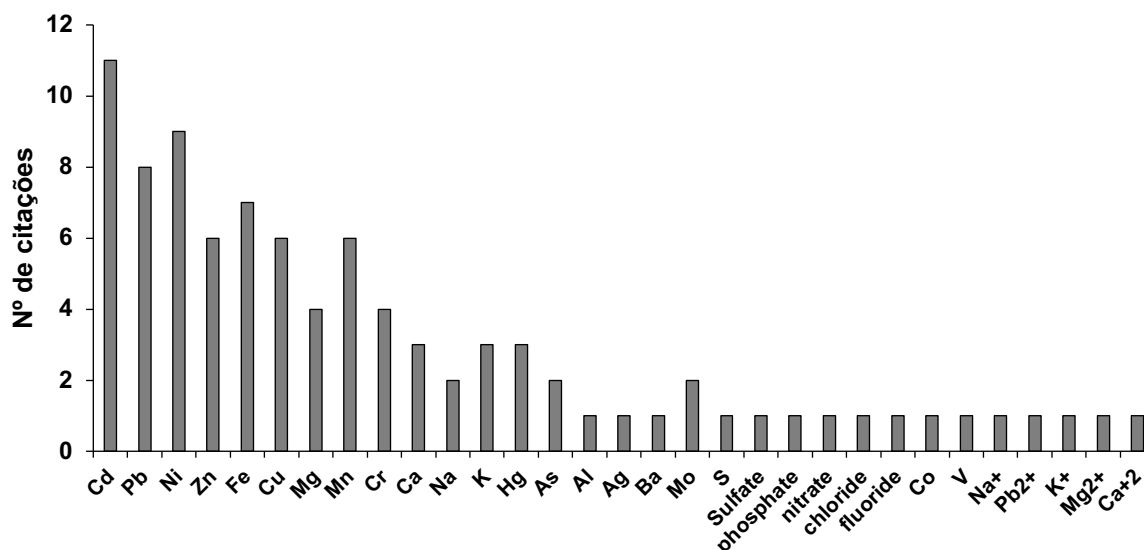
pesquisa, 65% dos estudos foram realizados em óleos comestíveis. Outros tipos de amostras investigadas incluem biodiesel (15%), combustíveis (10%), cosméticos (5%) e excipientes farmacêuticos (5%).

Figura 5 - Publicações com a RP-DLLME na análise inorgânica por tipo de amostra.



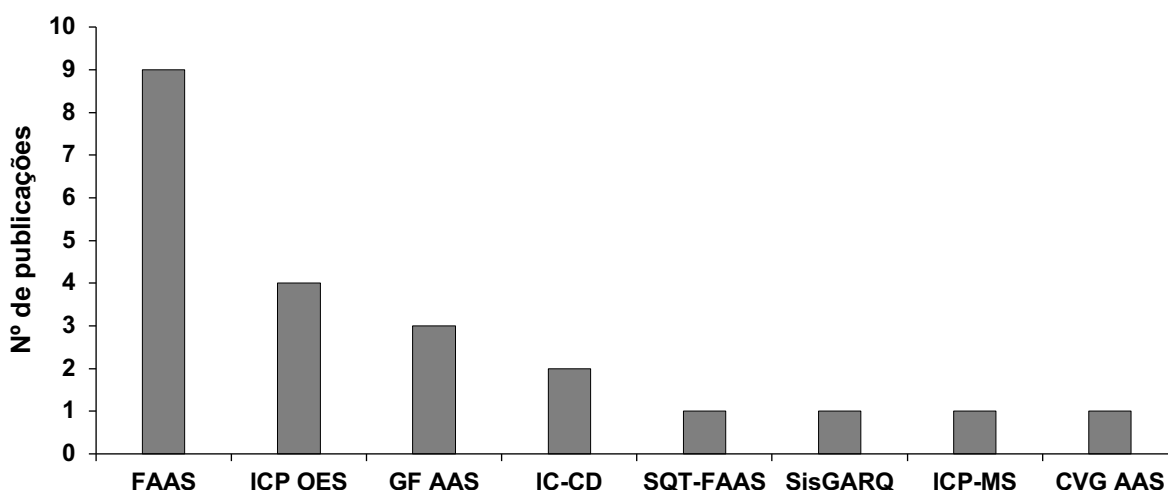
Na Figura 6, estão apresentados os elementos mais investigados na análise inorgânica utilizando RP-DLLME. São elementos tóxicos como Cd (14%) e Pb (11%), seguidos de elementos essenciais como Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni e Zn, sendo Fe, Ni e Zn proeminentes no número de publicações nesta revisão. Outros elementos como Ag, Al, As, Ba, Co, Cr, Hg, Mo, S e V, bem como os íons sulfato, fosfato, nitrato, cloreto e fluoreto, também foram investigados em menor número de publicações.

Figura 6 - Publicações com a RP-DLLME na análise inorgânica por tipo de analito.



Na Figura 7, estão mostradas as publicações que utilizaram a RP-DLLME e as técnicas analíticas empregadas para análise inorgânica. A F AAS é a técnica mais utilizada, seguida por ICP OES, GF AAS e cromatografia iônica com detector de condutividade (IC-CD, do inglês *ion chromatography conductivity detection*). A RP-DLLME pode ser adaptada para ser compatível com sistemas de introdução de amostras que requerem volumes pequenos (como GF AAS) e aqueles que requerem volumes maiores (como F AAS, ICP OES e ICP-MS), pois a fase sedimentada pode passar por diluição antes da etapa de determinação. No entanto, neste caso, a vantagem da pré-concentração não é alcançada, mas pode ser aplicada para analitos presentes em altas concentrações nas amostras.

Figura 7 - Publicações com a RP-DLLME na análise inorgânica por tipo de técnica de determinação.



3.6 Química analítica verde e métrica AGREE

A Química Analítica Verde (GAC) é uma abordagem que busca reduzir o impacto ambiental das análises químicas, promovendo práticas que minimizam o uso de reagentes tóxicos, a geração de resíduos e o consumo de energia, sem comprometer a qualidade dos resultados analíticos. Galuszka, Migaszewski e Namiński (2013) adaptaram os 12 Princípios da Química Verde, originalmente formulados para a Química Orgânica por Anastas e Warner (1998) para atender às necessidades específicas da Química Analítica. Esses princípios servem como diretrizes para o desenvolvimento de métodos analíticos mais sustentáveis, com foco

na segurança dos operadores e na eficiência dos processos laboratoriais, promovendo uma nova perspectiva para a execução de análises químicas sustentáveis (GALUSZKA et al., 2013).

Os 12 princípios da Química Analítica Verde, propostos incluem: a aplicação de técnicas analíticas diretas para evitar o tratamento da amostra (1); a utilização de amostras no menor tamanho e quantidade possíveis (2); a realização de análises *in situ* (3); a integração de processos analíticos e operações, promovendo economia de energia e uso reduzido de reagentes (4); a seleção de métodos automatizados e miniaturizados (5); a evitação de derivatizações que requerem reagentes adicionais e geram resíduos (6); a minimização da geração de grandes volumes de resíduos analíticos e a provisão do correto manejo desses resíduos (7); a preferência por métodos multianalitos em vez de métodos que analisam um analito por vez (8); a minimização do uso de energia elétrica (9); a preferência por reagentes provenientes de fontes renováveis (10); o descarte de reagentes perigosos (11); e o aumento da segurança dos operadores (12). Esses princípios visam reduzir os impactos ambientais dos processos analíticos e promover práticas mais sustentáveis e seguras nos laboratórios.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Instrumentação

As determinações de Cr foram realizadas em um espectrômetro de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (HR-CS AAS) modelo ContrAA 700 (Analytik Jena, Alemanha), equipado com atomizadores por forno de grafite e por chama. O espectrômetro foi operado com tubos de grafite revestidos com grafite pirolítico (Analytik Jena), com plataforma integrada e orifício para injeção de líquidos. Como fonte de radiação, foi utilizada uma lâmpada de arco curto de Xe (Analytik Jena), a qual permite a emissão de radiação dentro da faixa espectral entre 185 e 900 nm. O equipamento também conta com um duplo monocromador (Analytik Jena) de alta resolução, composto por um prisma para separação de ordens espectrais e uma grade do tipo *Echelle*. O sistema óptico permite obter uma resolução espectral de $\lambda/\Delta\lambda = 145000$, o que corresponde a uma banda espectral inferior a 2 pm por pixel em 200 nm. Também foram utilizadas uma balança analítica modelo AG220A (Gehaka, Japão), com resolução de 0,0001 g e carga máxima de 220 g, uma centrífuga modelo 80-2B (Daiki, Brasil), com capacidade para 12 tubos de 15 mL e velocidade máxima de 4000 rpm, agitador vórtex modelo K45-2810 (Kasvi, Brasil) e chapa de aquecimento modelo 752A (Fisaton, Brasil).

4.2 Amostras e reagentes

As amostras utilizadas para a avaliação e aplicação do método foram obtidas no mercado local da cidade de Rio Grande - RS, todas do mesmo lote. Para os estudos de avaliação da RP-DLLME foi utilizada a amostra de hidratante labial sabor cereja denominada de amostra A. Após o desenvolvimento e validação do método, este foi aplicado em diferentes amostras de hidratantes labiais denominadas de A (sabor amora - cor bordô intenso), B (sabor morango - vermelho), C (sabor amora - vermelho intenso) e D (morango - rosa claro).

As soluções aquosas foram preparadas utilizando água ultrapura obtida através de um sistema de purificação (resistividade 18,2 m cm) modelo Direct-Q UV3® (Millipore, EUA). Para o preparo das soluções de referência, foram feitas diluições adequadas a partir de soluções estoque de Cr 1000 mg L⁻¹ (SpecSol, Brasil), sendo

preparadas diariamente. O solvente utilizado na dissolução da amostra foi Hexano 95% (Sigma-Aldrich, EUA). As soluções de HNO_3 e HCl que foram avaliadas como solventes extratores foram preparadas a partir de HNO_3 65% (Merck, Alemanha) e HCl 37% (Merck), ambos destilados em um destilador de ácidos *sub-boiling* modelo DuoPUR (Milestone, Itália). Como solventes dispersores, foram avaliados o 1-propanol 99% (Sigma-Aldrich, Brasil), metanol 99,8% (Sigma-Aldrich), etanol absoluto 99,8% (Sigma-Aldrich), acetonitrila 99,8% (Sigma Aldrich) e acetona PA (CRQ, Brasil). Argônio 5.0 (99,999%) (White Martins, Brasil) foi utilizado nas determinações com forno de grafite. Como modificador químico, foi empregado o Pd (1000 mg L^{-1}) (Sigma-Aldrich) nas determinações por GF AAS. O Triton X-100 foi empregado no método comparativo.

4.3 Pré-tratamento das amostras

Seguindo abordagens similares utilizadas por autores como Voica *et al.* (2023), inicialmente foi realizada a etapa de preparação da amostra igualmente em todas as amostras em estudo, para posterior emprego da RP-DLLME e o preparo de emulsão como método comparativo. As amostras foram aquecidas até fusão completa, com o intuito de uniformizar a sua composição, garantindo que todos os componentes estivessem devidamente misturados e distribuídos de maneira homogênea. Cinco unidades de cada amostra de hidratante labial (amostra A, B, C e D), de mesmo lote e com a mesma validade, foram transferidas para um bquer previamente descontaminado e posteriormente submetidas a um banho-maria a 70°C , cuja temperatura foi ajustada e monitorada utilizando uma placa de aquecimento e um termômetro. A temperatura do banho-maria foi mantida constante para assegurar a fusão completa dos hidratantes labiais. Durante o processo de fusão, o conteúdo do bquer foi misturado continuamente com o auxílio de um bastão de vidro. A mistura contínua foi mantida até que todo o material estivesse completamente fundido e homogêneo. Em seguida, o bquer foi retirado do banho-maria e deixado em repouso à temperatura ambiente para resfriar e solidificar o material. Por fim, a amostra foi devidamente rotulada e armazenada em frascos de vidro.

4.4 Avaliação dos parâmetros da RP-DLLME

Inicialmente, foi feita a avaliação da necessidade de uma solubilização prévia da amostra e o tipo (tolueno e hexano) e volume (1 a 3 mL) de solvente de solubilização da amostra foram avaliados, sendo adicionados após a fusão da amostra, previamente pesada, em banho-maria a 70°C. A condição sem a adição de solvente também foi avaliada. Posteriormente, o tipo de solvente dispersor (acetona, acetonitrila, etanol, metanol e n-propanol), o tipo de solvente extrator (HNO₃ 5% e HCl 5%) e o tipo de agitação (manual, em vórtex e sem agitação) foram avaliados de forma univariada. Na sequência, foi empregado um planejamento fatorial fracionado 2⁵⁻¹, onde foram avaliadas a proporção entre solvente dispersor e extrator (90:10; 50:50 e 10:90, %(v/v)), a concentração de solvente extrator (1 a 7 mol L⁻¹), o tempo de agitação (10 a 60 s), a temperatura de solubilização da amostra (45 a 85 °C) e o tempo de centrifugação (5 a 15 min), conforme a Tabela 4. Por fim, foi avaliado novamente o volume do solvente de solubilização da amostra (1 a 5 mL), de forma univariada.

Tabela 4 - Variáveis e os níveis codificados avaliados no planejamento fatorial fracionado 2⁵⁻¹.

Variáveis	Níveis codificados		
	-1	0	+1
Proporção entre solvente dispersor e extrator, %(v/v)	90:10	50:50	10:90
Concentração de solvente dispersor, mol L ⁻¹	1	4	7
Tempo de agitação, s	10	35	60
Temperatura de solubilização da amostra, °C	45	65	85
Tempo de centrifugação, min	5	10	15

4.5 Procedimento da RP-DLLME

O procedimento geral da RP-DLLME consistiu, inicialmente, na pesagem de 50 mg da amostra em tubos de vidro de 15 mL com fundo cônico, os quais foram posteriormente aquecidos em banho-maria a 85 °C até a fusão completa da amostra. Em seguida, a amostra foi solubilizada em 4 mL de hexano e, novamente, colocada em banho-maria por 30 s. Após, com auxílio de uma micropipeta, foi adicionada a

mistura contendo os solventes extrator e dispersor na proporção 10:90 (v/v), nas mesmas proporções, 38 µL de HNO₃ 1 %(m/v) e 290 µL de n-propanol. Após a injeção da mistura de solventes na amostra, os tubos foram submetidos a agitação em vórtex por 10 segundos e a mistura foi centrifugada a 4000 rpm por 5 min para a separação das fases. Por fim, o sobrenadante foi descartado e a fase sedimentada foi transferida para tubos *Eppendorff* e aferida a 500 µL com HNO₃ 1 %(m/v). Por fim, o extrato foi analisado por HR-CS GF AAS.

4.6 Extração induzida por quebra de emulsão (EIEB)

Como método comparativo, o Cr foi extraído por extração induzida por quebra de emulsão (EIEB, do inglês *extraction induced by emulsion breaking*), em procedimento adaptado de Chen *et al.* (2015). O método comparativo consistiu em pesar 0,1 g de amostra em um tubo de PP. Em seguida, foram adicionados 500 µL de Triton X-100 a 10% m/v, 50 µL de HNO₃ e 5 mL de água ultrapura. A mistura foi aquecida por 30 min a 85 °C. Posteriormente, já a temperatura ambiente, a emulsão foi analisada por HR CS GF AAS.

4.7 Determinação de Cr por HR-CS GF AAS

Inicialmente, os tubos de grafite foram condicionados termicamente, utilizando o programa de formatação recomendado pelo fabricante. Os extratos obtidos por RP-DLLME e as soluções de referência foram pipetados manualmente sobre a plataforma integrada dos tubos de grafite. Durante a avaliação dos parâmetros da RP-DLLME, foi empregado o programa de temperatura do forno de grafite recomendado pelo fabricante. Após, as temperaturas de pirólise e atomização foram otimizadas, tanto para os extratos da RP-DLLME (na condição otimizada), como para as soluções de referência, na presença ou não de Pd 1000 mg L⁻¹ como modificador químico. O programa de temperatura empregado (após otimização) para as determinações de Cr por HR-CS GF AAS está descrito em detalhe na Tabela 5.

Tabela 5 - Programa de temperatura empregado nas determinações de Cr por HR-CS GF AAS, após extração por RP-DLLME.

Etapa	Temperatura (°C)	Rampa de aquecimento (°C s ⁻¹)	Tempo (s)	Fluxo de Ar (L min ⁻¹)
Secagem 1	90	6	20	2,0
Secagem 2	100	3	30	2,0
Secagem 3	130	5	12	2,0
Pirólise	1400	300	10	2,0
Auto-zero	1400	0	5	2,0
Atomização	2600	1500	4	-
Limpeza	2700	500	4	2,0

4.8 Performance analítica

Para avaliar a performance analítica do método proposto, foram avaliados os seguintes parâmetros: linearidade, precisão, exatidão, LOD e LOQ e sensibilidade. A linearidade foi avaliada utilizando curvas de calibração externa utilizando soluções de referência de Cr, considerando a faixa de concentração esperada nas amostras. A equação da reta, o coeficiente de determinação (R^2), e os valores de inclinação e intercepto foram obtidos para avaliar a linearidade do método. A precisão do método foi avaliada em termos de repetitividade através da aplicação do método proposto nas amostras ($n = 3$) analisadas neste estudo, utilizando como critério o desvio padrão relativo (RSD, do inglês *relative standard deviation*).

Para a avaliação da exatidão do método, foi empregado um método comparativo através da extração por EIEB e determinação de Cr por HR-CS GF AAS em todas as amostras analisadas neste estudo, a partir de uma adaptação do trabalho de Chen *et al.* (2015). Os resultados foram avaliados através do grau de concordância entre os resultados obtidos pelo método proposto e os resultados obtidos pelo método comparativo.

O limite de detecção (LOD, do inglês *limit of detection*) e o limite de quantificação (LOQ, do inglês *limit of quantification*) foram determinados com base na inclinação da curva de calibração e no desvio padrão das medições ($n = 10$) do branco analítico. O LOD reflete a menor quantidade de Cr que pode ser detectada, mas não

necessariamente quantificada, enquanto o LOQ é a menor concentração que pode ser quantificada com exatidão. Os valores de LOD e LOQ foram calculados a partir das Equações 1 e 2.

$$\text{LOD} = \frac{3 \times \sigma_{\text{branco}}}{a} \quad \text{Equação 1}$$

$$\text{LOQ} = \frac{10 \times \sigma_{\text{branco}}}{a} \quad \text{Equação 2}$$

Onde:

- σ_{branco} é o desvio padrão das medições dos brancos analíticos.
- a é a inclinação da curva de calibração.

4.9 Análises estatísticas e softwares

O tratamento de dados foi realizado com o auxílio do *software* Microsoft Excel 2010. Para os testes de comparação de médias foi utilizado o programa InStat GraphPad versão 3.10. Durante a otimização da RP-DLLME, foi utilizado o teste *t-student* para a comparação entre duas médias considerando um nível de significância de 95%. Para a comparação entre três ou mais médias, foi utilizada a análise de variância (ANOVA), optando-se pelo teste de múltiplas comparações de *Tukey-Kramer*, com nível de confiança de 95%. Durante a fase de otimização da RP-DLLME, também foi aplicada uma estratégia de otimização multivariada onde foi utilizado o *software* Statistica 7.

4.10 Tratamento de resíduos

Os resíduos gerados durante o desenvolvimento desse trabalho foram armazenados em frascos devidamente rotulados de acordo com as normas definidas pela Comissão de Resíduos da FURG, sendo posteriormente acondicionados em local adequado para posterior recolhimento pela Instituição e envio a uma empresa contratada com o objetivo de realizar o seu tratamento.

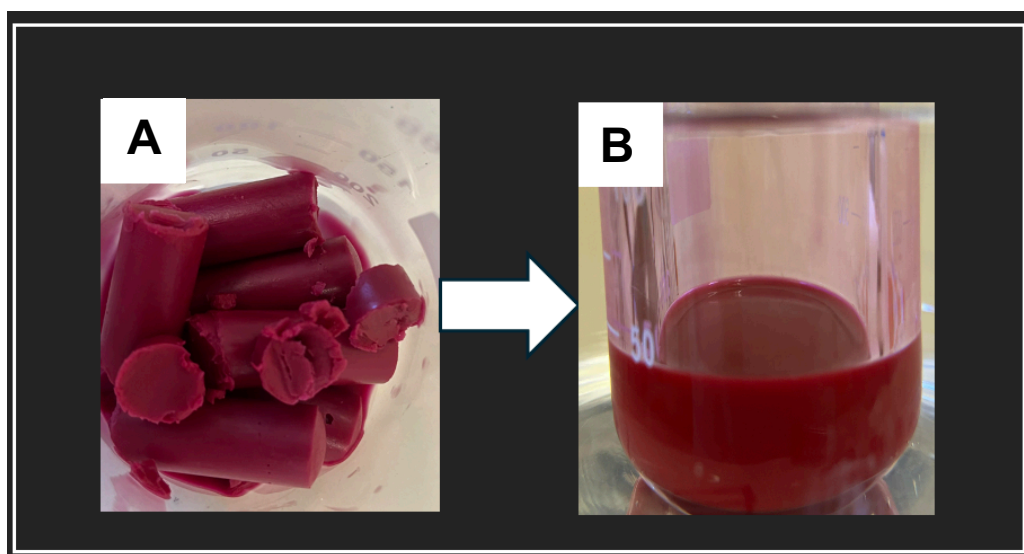
5. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

5.1 Estudos preliminares

5.1.1 Pré-tratamento da amostra

Para assegurar a homogeneidade das amostras e uma quantidade de amostras que fosse suficiente para o desenvolvimento do trabalho, foi empregada uma abordagem similar ao trabalho de Voica et al. (2023), onde cinco unidades de hidratante labial da marca A, todas do mesmo lote e com a mesma validade, foram misturadas e submetidas a um aquecimento em banho-maria, conforme descrito no item 3.3. Na Figura 8, está demonstrado o aspecto das amostras antes e depois do pré-tratamento.

Figura 8: Amostras de hidratante labial antes (A) e após (B) o aquecimento



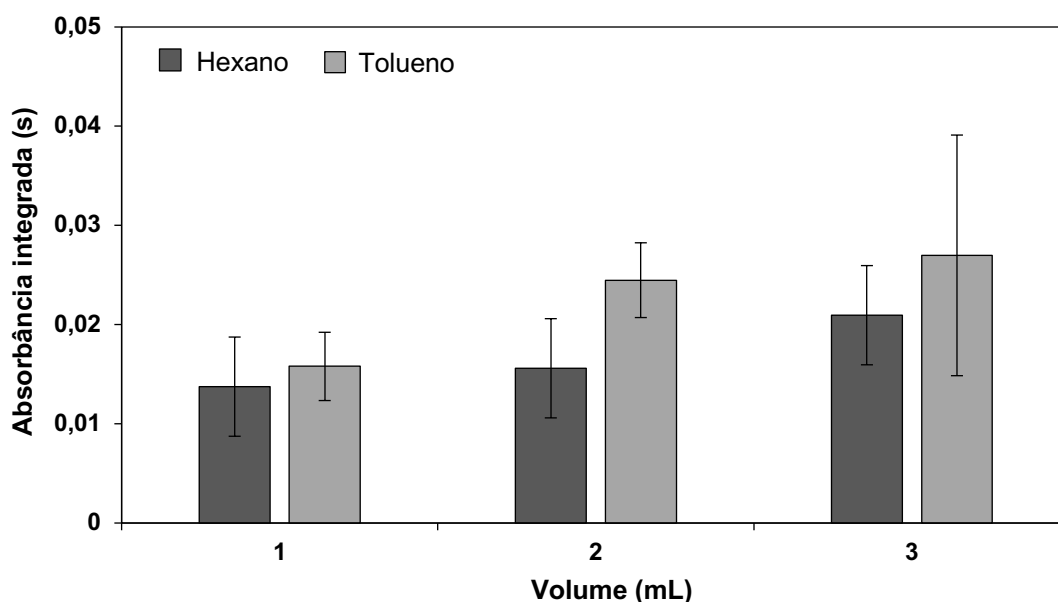
A temperatura foi mantida constante a 70 °C para assegurar a fusão completa da amostra conforme Fernandes *et al.* (2013). Durante o processo de fusão, as amostras foram submetidas a agitação constante, para garantir a distribuição uniforme dos componentes da matriz. Após, as amostras foram retiradas do banho-maria e deixadas em repouso à temperatura ambiente para resfriar e solidificar o material.

5.2 Avaliação dos parâmetros da RP-DLLME

5.2.1 Avaliação da necessidade de solubilização da amostra

Os experimentos preliminares foram adaptados a partir do estudo de Sorouraddin *et al.* (2022), o único trabalho semelhante encontrado na literatura, onde os autores aplicaram a RP-DLLME para a extração de Cd e Pb em batom e cremes. Os autores fizeram a dissolução de 0,3 g de amostra em 25 mL de tolueno, do qual 5 mL foram separados e empregados na RP-DLLME. Devido à elevada viscosidade da amostra de hidratante labial, foi avaliada a necessidade de adição de um solvente para uma solubilização inicial na RP-DLLME. Considerando que a escolha do solvente ideal para a dissolução da amostra depende da polaridade dos componentes da matriz e que hidratante labial é uma amostra bastante lipofílica, foram feitos testes iniciais com diferentes volumes de hexano, tolueno e sem a utilização de solvente. Os resultados empregando diferentes volumes de hexano e tolueno podem ser visualizados na Figura 9.

Figura 9 - Avaliação do tipo e volume de solvente de solubilização da amostra na extração de Cr em hidratante labial por RP-DLLME.



Condições: 50 mg de amostra, aquecimento em banho-maria a 70 °C até a fusão, adição do solvente de solubilização da amostra, aquecimento em banho-maria a 70 °C por 30 s, proporção de 90:10 (em %) entre solvente dispersor (290 µL de acetonitrila) e extrator (38 µL de HNO₃ 5%), agitação em vórtex por 60 s e centrifugação a 4000 rpm por 10 min. As barras de erro representam o desvio padrão (n = 3).

Priorizando os princípios da GAC, este estudo visou reduzir a quantidade de solvente utilizada na dissolução da amostra, assim como a massa de amostra. Para isso, foram utilizadas as mesmas proporções empregadas no trabalho de Sorouraddin *et al.* (2022), porém em quantidades reduzidas, sendo 50 mg de amostra, a qual foi solubilizada em 1, 2 e 3 mL de hexano e tolueno. A diminuição da massa de amostra está de acordo com o princípio 2 da GAC (*Tamanho e número mínimo de amostras são desejáveis*) (GAŁUSZKA, MIGASZEWSKI e NAMIEŚNIK, 2013).

Na realização da RP-DLLME sem a utilização de solvente, a execução do experimento tornou-se inviável devido às propriedades do hidratante labial. Apesar de apresentar diversas formulações, quando em formato de bastão, o hidratante labial assume um estado sólido à temperatura ambiente, pois sua composição geralmente é composta por ceras, óleos e outros componentes. Essa condição dificulta ou torna impossível a aplicação da RP-DLLME sem a presença de um solvente apropriado. A ausência de um solvente adequado em amostras com elevado teor de óleos e gorduras pode resultar em limitações na dissolução dos constituintes da matriz (KASCHNE *et al.*, 2020).

Após as avaliações com diferentes volumes dos solventes, observou-se que o maior valor de absorbância integrada foi obtido com tolueno e utilizando o maior volume (3 mL), sendo que houve diferença significativa ($p < 0,05$) na comparação com 2 mL. No entanto, o uso de 3 mL de tolueno apresentou um elevado RSD (44,95%). O emprego de 3 mL de hexano também apresentou maior valor de absorbância integrada, havendo também diferença significativa ($p < 0,05$) na comparação com 2 mL e com menor RSD (7,8%). Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre 3 mL de hexano e tolueno.

A dose letal 50 (LD50, do inglês *lethal dose 50*) é um indicador toxicológico que mede a quantidade de uma substância ou radiação necessária para matar 50% de um grupo de animais testados e é inversamente proporcional à toxicidade de uma substância. Portanto, quanto menor for o valor da LD50, maior será a toxicidade da substância, indicando que uma menor quantidade é necessária para produzir efeitos letais (CASARETT e DOULL'S, 2013). De acordo com a Agência para Substâncias Tóxicas e Registro de Doenças (ATSDR, do inglês *Agency for Toxic Substances and Disease Registry*) (2017), a LD50 oral do tolueno em ratos é de aproximadamente 5500-7400 mg kg⁻¹, confirmando sua toxicidade aguda em mamíferos (ATSDR, 2017). ATSDR (2024) e Thermo Fisher Scientific (2024), reportam que a LD50 do hexano em

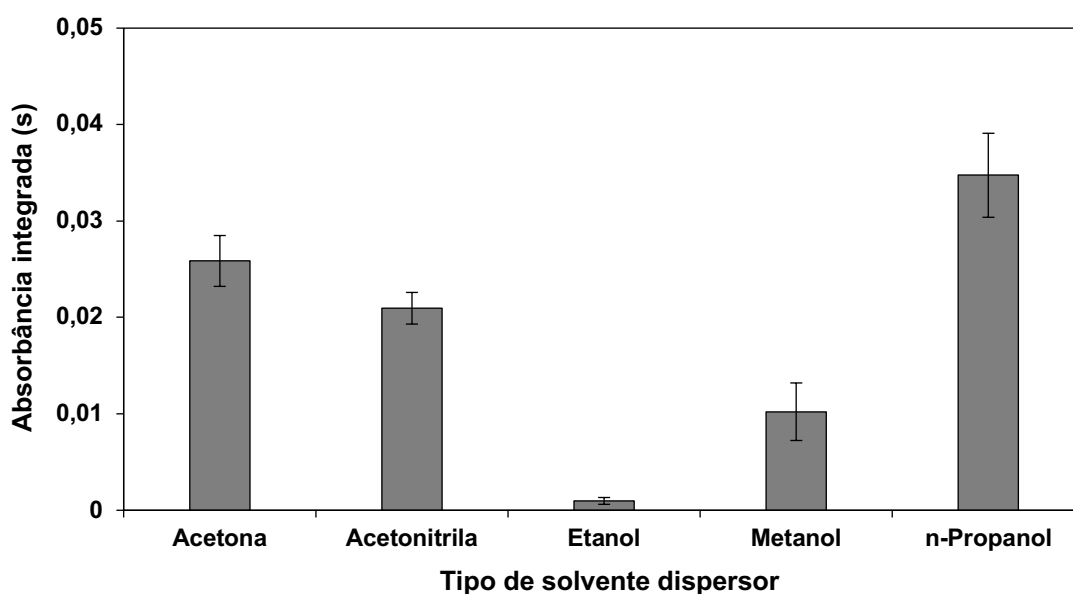
ratos é de aproximadamente 15000 mg kg^{-1} , indicando uma toxicidade aguda para essa substância. Portanto, em relação ao LD50, o tolueno pode ser considerado mais tóxico que o hexano.

Desta forma, considerando o elevado RSD do Tolueno quando foram empregados 3 mL e os princípios 11 (*Reagentes tóxicos devem ser eliminados ou substituídos*) e 12 (*A segurança do operador deve ser aumentada*) da GAC, o hexano foi escolhido para os próximos experimentos (GAŁUSZKA, MIGASZEWSKI e NAMIEŚNIK, 2013).

5.2.2 Avaliação do tipo de solvente dispersor

As propriedades do solvente dispersor desempenham um papel crucial na RP-DLLME, exercendo uma influência direta na dispersão do solvente extrator (em forma de gotículas) na amostra, promovendo uma maior área de contato e facilitando a extração dos analitos (MARTINS *et al.*, 2012). Neste estudo, foram avaliadas a acetona, acetonitrila, etanol, metanol e n-propanol como solventes dispersores, como pode ser visualizado na Figura 10.

Figura 10 - Avaliação do tipo de solvente dispersor na extração de Cr em hidratante labial por RP-DLLME.



Condições: 50 mg de amostra, aquecimento em banho-maria a 70°C até a fusão, 3 mL de hexano, aquecimento em banho-maria a 70°C por 30 s, proporção de 90:10 (em %) entre solvente dispersor (290 μL) e extrator (38 μL de HNO_3 5%), agitação em vórtex por 60 s e centrifugação a 4000 rpm por 10 min. As barras de erro representam o desvio padrão ($n = 3$).

Na Figura 10, é possível observar que o n-propanol foi o solvente dispersor que apresentou os maiores valores de absorbância integrada, sendo diferente, estatisticamente ($p < 0,05$), dos demais solventes. De acordo com a Tabela 6, o n-propanol é um dos solventes menos polares entre os avaliados, pois possui a menor constante dielétrica (20,1), o que sugere uma maior interação com a fase orgânica com relação à fase aquosa. O mesmo ocorre para a acetona, com valor de constante dielétrica (20,7) muito semelhante ao n-propanol e com a segunda maior absorbância integrada obtida. No entanto, na sequência, a acetonitrila apresentou o terceiro maior valor de absorbância integrada, mas com a maior constante dielétrica (37,5) entre os solventes dispersores avaliados. O etanol e o metanol com constantes dielétricas (24,3 e 32,6, respectivamente) intermediárias, apresentaram os piores resultados. Portanto, o n-propanol foi escolhido como solvente dispersor para os próximos experimentos.

Tabela 6 – Propriedades físicas dos solventes.

Substância	Viscosidade (mPa s)	Raio molecular (Å)	Constante dielétrica (ϵ)	Coefficiente de difusão ($10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$)
Hexano	0,294	2	1,89	3,71
n-Propanol	1,945	2	20,1	0,563
Acetona	0,316	2	20,7	3,45
Etanol	1,074	2	24,3	1,02
Metanol	0,545	1,5	32,6	2,67
Acetonitrila	0,341	2	37,5	3,2
Água	0,89	1	80,1	2,45

**Os coeficientes de difusão foram calculados utilizando a equação de Stokes-Einstein, considerando um meio de água a constante de Boltzmann ($1,38 \times 10^{-23} \text{ m}^2 \text{ kg s}^{-2} \text{ K}^{-1}$) e a temperatura de 25 °C.

Fonte: Adaptado de Maryott e Smith (1951); Bird (2002), Skoog 2017 e Atkins (2010).

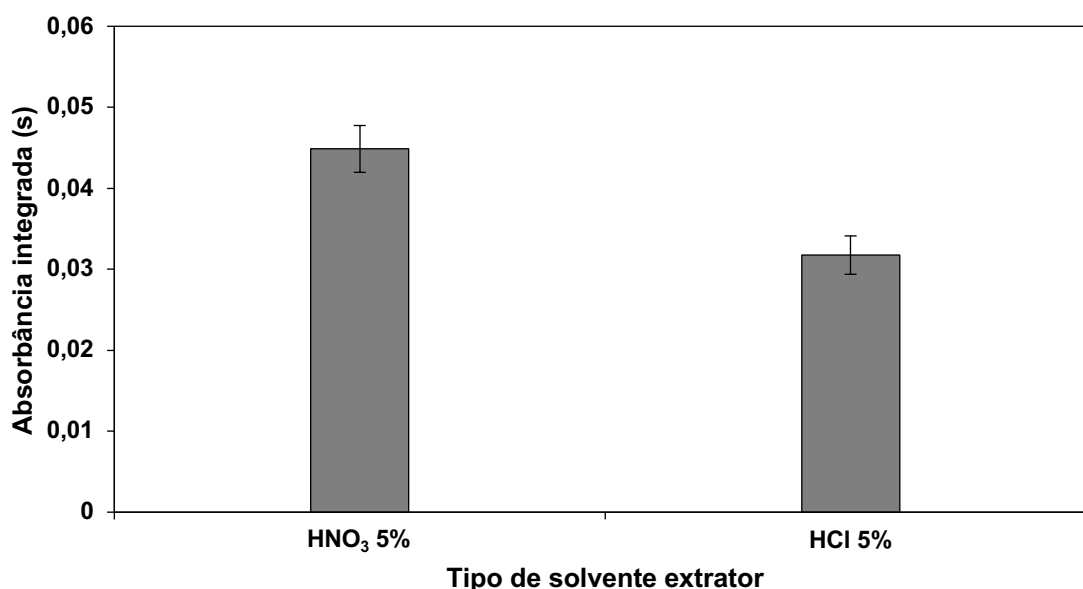
A partir da revisão realizada neste trabalho, foi verificado que entre os trabalhos que empregaram a RP-DLLME para a determinação elementar, 40% utilizaram o iso-propanol como solvente dispersor e 30% o n-propanol. KALSCHNE *et al.* (2020), determinaram Cd, Fe, Mn, Ni, Pb e Zn por ICP OES após extração por RP-DLLME em óleo de peixe e empregaram n-propanol como solvente dispersor. Santos (2017), utilizou n-propanol como dispersor na RP-DLLME para a extração de Zn em óleos vegetais com determinação por F AAS. Andriolli (2021), investigou a RP-DLLME para

o preparo de amostras de excipientes farmacêuticos visando a determinação de As, Cd, Hg, Pb, Co, Ni e V por ICP-MS e utilizou n-propanol como solvente dispersor.

5.2.3 Avaliação do tipo de solvente extrator

O solvente extrator também desempenha um papel fundamental na obtenção de resultados eficazes na RP-DLLME. O solvente escolhido deve ser imiscível na amostra e miscível no solvente dispersor, além de estabelecer uma interação significativa com o analito. Para a escolha do solvente extrator, foram avaliadas soluções de HCl 5% e HNO₃ 5%, como pode ser visualizado na Figura 11.

Figura 11 - Efeito do solvente extrator na extração de Cr em hidratante labial por RP-DLLME.



Condições: 50 mg de amostra, aquecimento em banho-maria a 70 °C até a fusão, 3 mL de hexano, aquecimento em banho-maria a 70 °C por 30 s, proporção 90:10 (em %) entre solvente dispersor (290 µL de n-propanol) e extrator (38 µL), agitação em vórtex por 60 s e centrifugação a 4000 rpm por 10 min. As barras de erro representam o desvio padrão (n = 3).

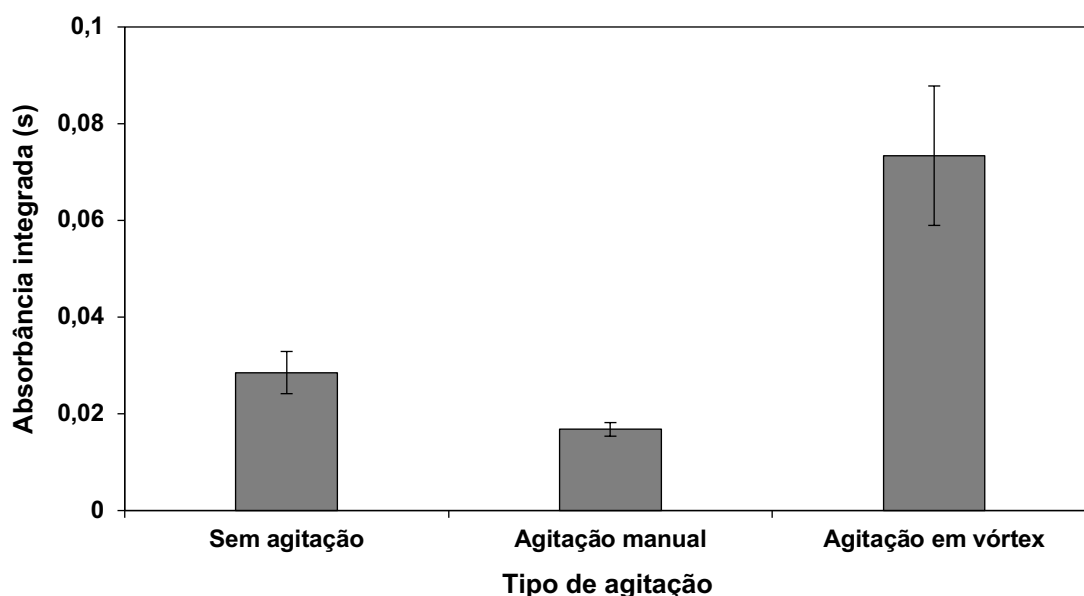
Na comparação entre HNO₃ 5% e HCl 5%, o primeiro apresentou maiores valores de absorbância integrada, sendo os valores diferentes estatisticamente ($p < 0,05$). O resultado corrobora com a revisão realizada neste estudo, onde 80% dos trabalhos utilizaram HNO₃ diluído como solvente extrator em aplicações visando a determinação elementar, 15% utilizaram apenas água ultrapura e 5% utilizaram HCl diluído. Takashima (2017), utilizou HNO₃ 5% como solvente extrator juntamente com

isopropanol como solvente dispersor na RP-DLLME para a extração de Cu, Cr e Ni em biodiesel com posterior determinação por GF AAS. Delpino (2017), determinou Al, Cd, Cu, Fe, Mn, Ni e Zn em óleo diesel por ICP OES e utilizou HNO_3 3% como solvente extrator e isopropanol 75% como solvente dispersor na RP-DLLME. Dos Reis (2018), avaliou o emprego da RP-DLLME para a extração de Fe, Mg e Zn em óleos vegetais e utilizou HNO_3 1% como solvente extrator e isopropanol como solvente dispersor com determinação por F AAS. Portanto, neste estudo, a solução de HNO_3 5% foi selecionada para os experimentos posteriores.

5.2.4 Avaliação do tipo de agitação

A agitação da mistura na RP-DLLME, após a adição da mistura dos solventes extrator e dispersor, tem sido investigada na literatura (SANTOS, 2017; DOS REIS, 2018; ANDRIOLI, 2021). Neste estudo, foram avaliadas a agitação manual, agitação em vórtex e sem agitação, conforme a Figura 12.

Figura 12 - Efeito do tipo de agitação na extração de Cr em hidratante labial por RP-DLLME.



Condições: 50 mg de amostra, aquecimento em banho-maria a 70 °C até a fusão, 3 mL de hexano, aquecimento em banho-maria a 70 °C por 30 s, proporção 90:10 (em %) entre solvente dispersor (290 µL de n-propanol) e extrator (38 µL de HNO_3 5%), agitação por 60 s ou sem agitação e centrifugação a 4000 rpm por 10 min. As barras de erro representam o desvio padrão (n = 3).

A agitação em vórtex foi a condição que apresentou os maiores valores de absorbância integrada em comparação com a agitação manual e sem agitação. A

agitação por vórtex, demonstrou ser especialmente eficiente na dispersão das microgotas na amostra. Essa dispersão uniforme contribuiu para uma extração mais quantitativa dos analitos, melhorando a eficiência do processo de microextração. Portanto, a agitação em vórtex foi selecionada para os próximos experimentos.

5.2.5 Planejamento fatorial fracionado 2^{5-1}

Para a avaliação das demais variáveis da RP-DLLME, foi realizado um planejamento fatorial fracionado 2^{5-1} , avaliando a proporção entre o solvente dispersor e extrator (em %(v/v)), a concentração de solvente extrator (em %(m/v)), o tempo de agitação (em s), a temperatura de extração (em °C) e o tempo de centrifugação (em min), de acordo com a matriz apresentada na Tabela 7.

Tabela 7 - Matriz do planejamento fatorial fracionado 2^{5-1} .

Tratamento	Proporção entre dispersor e extrator, %(v/v)	Concentração de solvente extrator, %(m/v)	Tempo de agitação, s	Temperatura de extração, °C	Tempo de centrifugação, min	Absorbância integrada, s
1	-1 (90:10)	-1 (1)	-1 (10)	-1 (45)	+1 (15)	0,01807
2	+1 (10:90)	-1 (1)	-1 (10)	-1 (45)	-1 (5)	0,00344
3	-1 (90:10)	+1 (7)	-1 (10)	-1 (45)	-1 (5)	0,00576
4	+1 (10:90)	+1 (7)	-1 (10)	-1 (45)	+1 (15)	0
5	-1 (90:10)	-1 (1)	+1 (60)	-1 (45)	-1 (5)	0,02672
6	+1 (10:90)	-1 (1)	+1 (60)	-1 (45)	+1 (15)	0,00477
7	-1 (90:10)	+1 (7)	+1 (60)	-1 (45)	+1 (15)	0,00499
8	+1 (10:90)	+1 (7)	+1 (60)	-1 (45)	-1 (5)	0
9	-1 (90:10)	-1 (1)	-1 (10)	+1 (85)	-1 (5)	0,03746
10	+1 (10:90)	-1 (1)	-1 (10)	+1 (85)	+1 (15)	0,01037
11	-1 (90:10)	+1 (7)	-1 (10)	+1 (85)	+1 (15)	0,01747
12	+1 (10:90)	+1 (7)	-1 (10)	+1 (85)	-1 (5)	0,00801
13	-1 (90:10)	-1 (1)	+1 (60)	+1 (85)	+1 (15)	0,01357
14	+1 (10:90)	-1 (1)	+1 (60)	+1 (85)	-1 (5)	0,02788
15	-1(90:10)	+1 (7)	+1 (60)	+1 (85)	-1 (5)	0,02559
16	+1 (10:90)	+1 (7)	+1 (60)	+1 (85)	+1 (15)	0,00773
17	0 (50:50)	0 (4)	0 (35)	0 (65)	0 (10)	0,02228
18	0 (50:50)	0 (4)	0 (35)	0 (65)	0 (10)	0,01108
19	0 (50:50)	0 (4)	0 (35)	0 (65)	0 (10)	0,01255

É importante salientar, que cada experimento foi realizado juntamente com o branco analítico com a condição experimental correspondente, para efeito de

subtração da absorbância integrada de Cr. Os tratamentos 4 e 8 forneceram valores de absorbância integrada negativos com a subtração do branco analítico. Portanto, para efeito de construção da matriz, foi considerado o valor “zero” em absorbância integrada para estes tratamentos. Também é importante destacar, que os valores de absorbância integrada sofreram uma aparente diminuição com relação aos valores dos experimentos anteriores. Isso ocorreu devido a mudança no tubo de grafite utilizado, pois nos experimentos anteriores foi utilizado um tubo de grafite pirolítico com plataforma integrada e os novos experimentos foram realizados com um tubo de grafite pirolítico de parede, o que explica a diminuição natural da sensibilidade da técnica. Na Tabela 8, está apresentada a análise dos efeitos do planejamento fatorial fracionado 2^{5-1} .

Tabela 8 - Análise dos efeitos do planejamento fatorial fracionado 2^{5-1} .

Variável	Efeito	Erro padrão	p-valor
Proporção entre dispersor e extrator, %(v/v)	-0,010933	0,003102	0,003731
Concentração de solvente extrator, %(v/v)	-0,009092	0,003102	0,011681
Tempo de agitação, s	0,001334	0,003102	0,674078
Temperatura de extração, °C	0,010541	0,003102	0,004754
Tempo de centrifugação, min	-0,007236	0,003102	0,036367

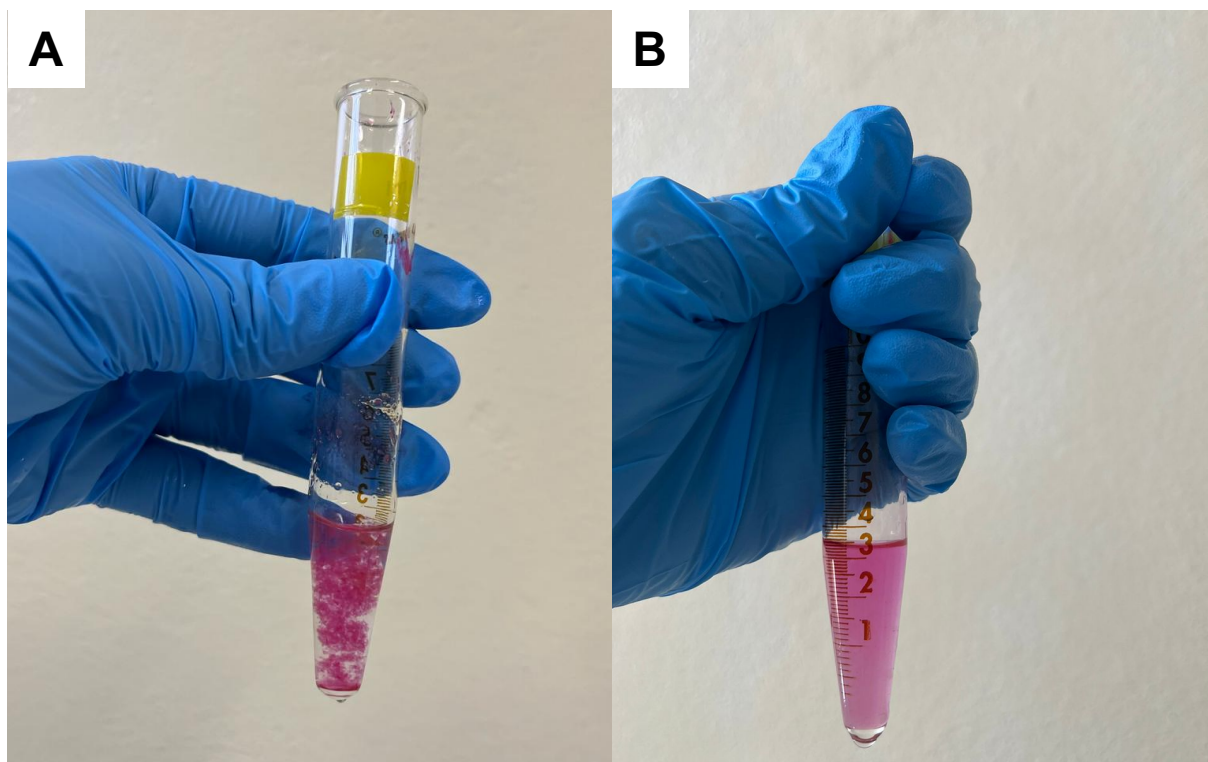
A partir da análise dos efeitos, observa-se que apenas o tempo de agitação não foi significativo ($p > 0,05$), ou seja, quando o tempo variou de 10 a 60 s de agitação em vórtex, não houve diferença significativa na variação dos valores de absorbância integrada. Portanto, considerando o princípio 9 (*O uso de energia deve ser minimizado*) da GAC, 10 s de agitação em vórtex foi selecionado para os próximos experimentos (GAŁUSZKA, MIGASZEWSKI e NAMIEŚNIK, 2013).

A variável proporção entre dispersor e extrator apresentou efeito negativo e significativo ($p < 0,05$), o que significa que ao passar de 90:10 para 10:90 ocorreu uma diminuição em 0,0109 s (unidades de absorbância integrada), indicando que é importante manter uma maior proporção de solvente dispersor do que extrator na mistura. Portanto, a proporção 90:10 foi selecionada para os próximos experimentos.

A temperatura de extração é a temperatura da mistura (amostra + hexano) no momento da adição dos solventes extrator e dispersor. Na análise dos efeitos, foi observado um efeito positivo e significativo ($p < 0,05$) quando a temperatura passou

de 45 para 85 °C, indicando que ocorreu um aumento de 0,010541 s (unidades de absorvância) com o aumento da temperatura. Também é importante salientar, que em temperaturas inferiores a 70 °C, não ocorre uma eficiente dissolução da matriz em hexano, como demonstrado na Figura 13.

Figura 13 - Amostra de hidratante labial após dissolução em hexano e aquecimento em banho-maria nas temperaturas de (A) 60 °C e (B) 80 °C.



Na Figura 13a, é possível observar a presença de partículas oriundas da matriz não dissolvidas em hexano na temperatura de 60 °C, o que não ocorre na temperatura de 80 °C (Figura 13b). Qualquer que seja o decréscimo na temperatura de extração no momento da adição dos solventes dispersor e extrator pode influenciar negativamente no processo de extração. Portanto, para garantir que não houvesse variação da temperatura no momento da adição dos solventes, a amostra passou por 2 momentos de aquecimento: *i*) inicialmente, a amostra foi aquecida na temperatura de interesse até a fusão completa e *ii*) foram adicionados 3 mL de hexano e a amostra foi novamente submetida a aquecimento em banho-maria durante 30 s na temperatura de interesse. Em seguida, a amostra foi retirada rapidamente do banho-maria e a mistura de solventes dispersor e extrator foi imediatamente introduzida na amostra com o objetivo de minimizar qualquer variação na temperatura de extração.

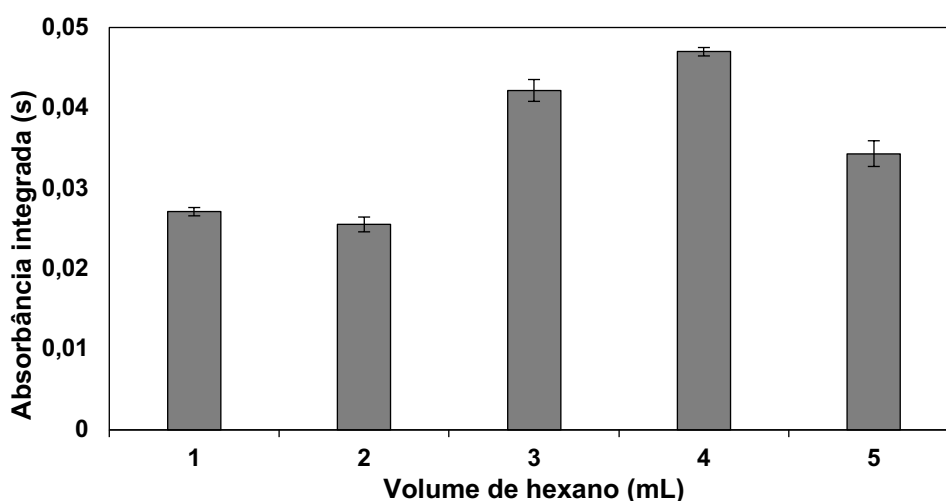
Considerando as características já mencionadas, a temperatura de 85 °C foi selecionada para os próximos experimentos.

A concentração de solvente extrator mostrou um efeito negativo e significativo ($p < 0,05$), indicando que ao passar de 1 para 7%, ocorreu uma diminuição de 0,00909 s (unidades de absorbância integrada). Portanto, dentro da faixa de concentração avaliada, foi selecionada a concentração de 1% com o objetivo de diminuir a concentração de HNO_3 , de acordo com o princípio 12 (*A segurança do operador deve ser aumentada*) da GAC. Já o tempo de centrifugação apresentou um efeito negativo e significativo ($p < 0,05$), indicando que a absorbância integrada diminuiu de 0,007236 s (unidades de absorbância integrada) ao passar de 5 para 15 min. Portanto, o tempo de centrifugação de 5 min foi selecionado para os próximos experimentos, visando diminuir o tempo do procedimento de preparo de amostras, considerando o princípio 9 (*O uso de energia deve ser minimizado*) da GAC (GAŁUSZKA, MIGASZEWSKI e NAMIEŚNIK, 2013). As condições selecionadas podem ser representadas pelo tratamento 9 (Tabela 7) da matriz do planejamento fatorial fracionado, o qual apresentou os maiores valores de absorbância integrada (0,03746 s).

5.2.6 Avaliação do volume do solvente de solubilização

Observando os trabalhos da literatura em que também foram utilizados solventes para a diluição inicial da amostra na RP-DLLME, verificou-se que foram utilizados de 2 a 5 mL. Nesse contexto, foi realizada uma nova avaliação do volume de hexano, variando de 1 a 5 mL como solvente de solubilização, de acordo com a Figura 14.

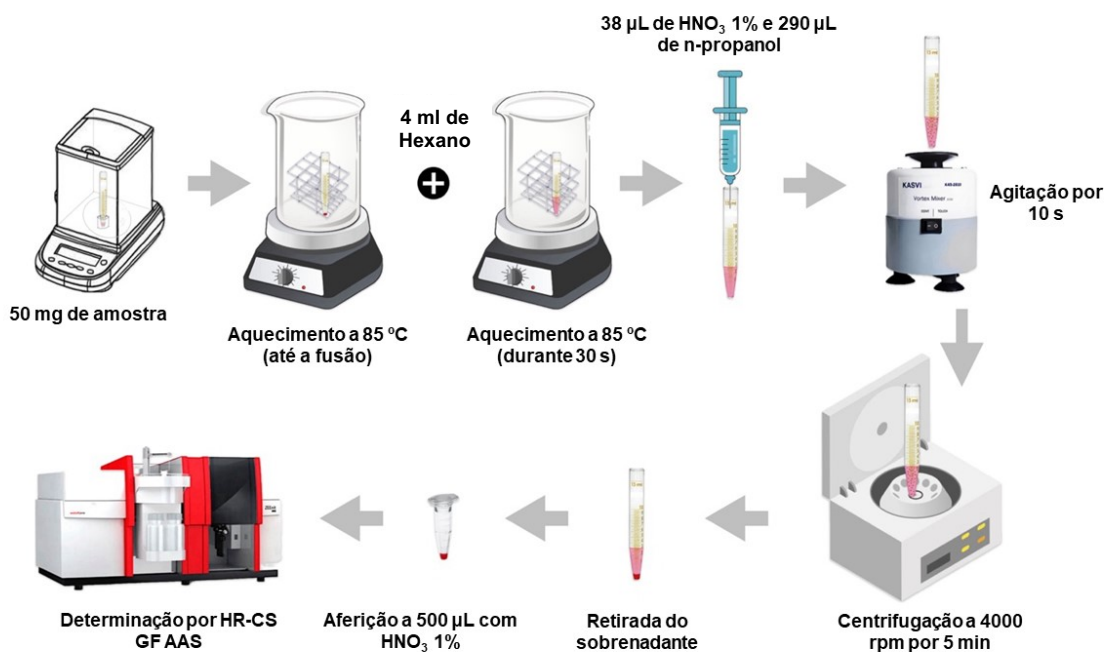
Figura 14 – Avaliação do volume de hexano para a solubilização da amostra na extração de Cr em hidratante labial por RP-DLLME.



Condições: 50 mg de amostra, aquecimento em banho-maria a 85 °C até a fusão, adição de hexano, aquecimento em banho-maria por 85 °C por 30 s, agitação em vórtex por 60 s, proporção 90:10 (em %) entre solvente dispersor (290 µL de n-propanol) e extrator (38 µL de HNO₃ 5%), agitação em vórtex por 60 s e centrifugação a 4000 rpm por 10 min. As barras de erro representam o desvio padrão (n = 3).

O emprego de 4 mL de hexano gerou o maior valor de absorbância integrada em relação aos demais volumes. Santos (2017), descreveu que de acordo com os princípios da RP-DLLME, a amostra deve ser solúvel em solventes orgânicos, para que o analito consiga migrar à fase aquosa. Dessa forma, sugere-se que os volumes menores podem não ser suficientes para solubilizar de maneira eficiente todos os componentes da matriz, enquanto volumes maiores (5 mL) podem diluir excessivamente a amostra, resultando em menores valores de absorbância integrada. Na Figura 15, está demonstrado um esquema com a RP-DLLME otimizada.

Figura 15 – Procedimento da RP-DLLME com as condições otimizadas.

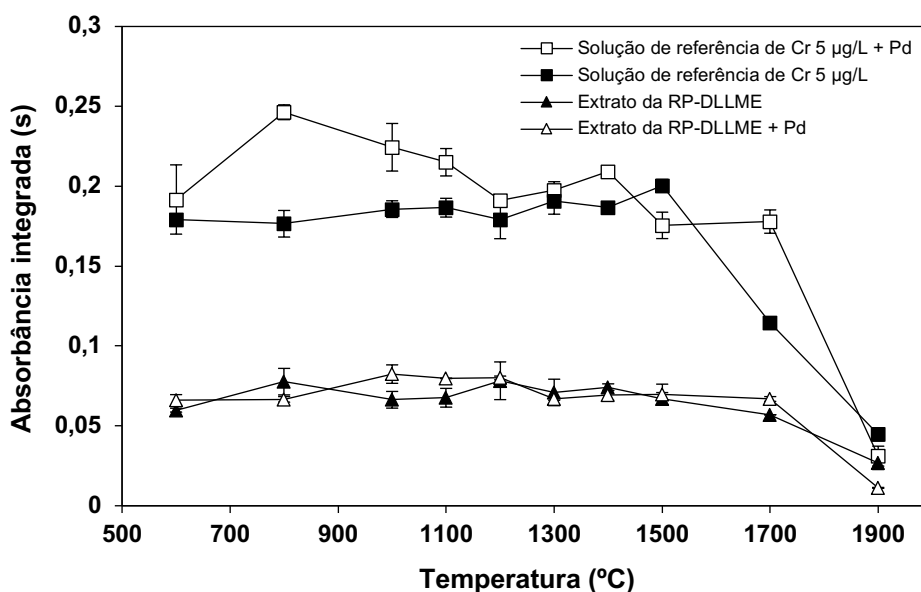


5.3 Avaliação das temperaturas de pirólise e atomização

A avaliação das temperaturas de pirólise e atomização na técnica de GF AAS é fundamental para entender o comportamento térmico dos analitos e dos componentes da matriz durante a atomização. A presença de concomitantes na matriz pode influenciar significativamente as etapas de pirólise e atomização causando

interferências espectrais. Assim, após a otimização da RP-DLLME, foram avaliadas as temperaturas de pirólise e atomização com e sem a utilização de Pd como modificador químico, tanto para a amostra, como para as soluções de referência. Na Figura 16, está representada a curva de pirólise.

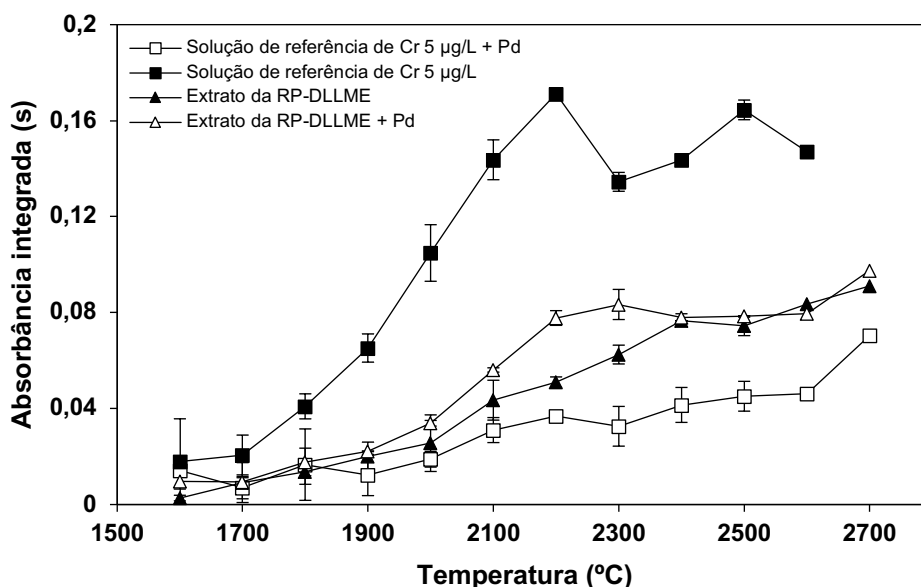
Figura 16 – Curvas de pirólise obtidas por HR-CS GF AAS para soluções de referência e extratos da RP-DLLME na presença ou não de Pd como modificador químico.



Condições: As medições dos sinais foram feitas por HR-CS GF AAS utilizando a linha de absorção principal do Cr em 357,8687 nm e monitorando o pixel central (CP) ± 1 . Os sinais foram obtidos a partir de 20 μL de uma solução de referência de Cr 5 $\mu\text{g L}^{-1}$ ou 20 μL de extrato da RP-DLLME, ambos na presença ou não de 5 μL de Pd (NO_3)₂ 1000 mg L^{-1} . A temperatura de atomização foi fixada em 2300 °C.

As curvas de pirólise foram avaliadas na faixa de 600 a 1900 °C, utilizando soluções de referência de Cr e os extratos da RP-DLLME (após otimização), na presença ou não de Pd como modificador químico. Nos extratos da RP-DLLME, a presença de Pd forneceu uma ligeira estabilidade térmica (até 1700 °C) na comparação com a condição sem Pd. Na análise das soluções de referência, a curva com modificador também apresentou uma estabilidade térmica até 1700 °C, enquanto na curva sem Pd é possível observar um decaimento nos valores de absorbância integrada a partir de 1500 °C. Com a estabilização do analito proporcionada pelo Pd, tanto para os extratos da RP-DLLME como para as soluções de referência, 1400 °C foi selecionada como temperatura de pirólise para os próximos experimentos.

Figura 17 – Curvas de atomização obtidas por HR-CS GF AAS para soluções de referência e extratos da RP-DLLME na presença ou não de Pd como modificador químico.

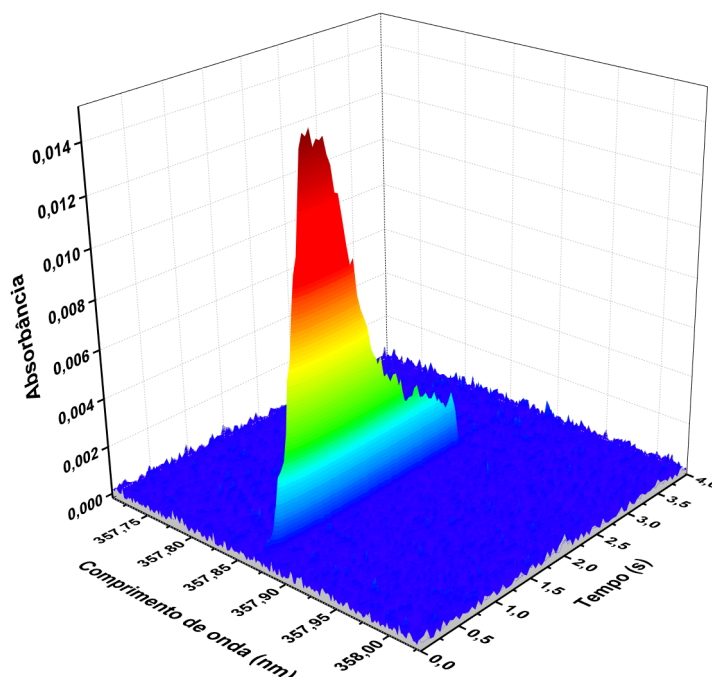


Condições: As medições dos sinais foram feitas por HR-CS GF AAS utilizando a linha de absorção principal do Cr em 357,8687 nm e monitorando o pixel central (CP) ± 1 . Os sinais foram obtidos a partir de 20 μL de uma solução de referência de Cr 5 $\mu\text{g L}^{-1}$ ou 20 μL de extrato da RP-DLLME, ambos na presença ou não de 5 μL de Pd (NO_3)₂ 1000 mg L^{-1} . A temperatura de pirólise foi fixada em 1400 °C.

Nas curvas de atomização (Figura 17), observa-se que nas soluções de referência, o maior valor de absorbância integrada foi obtido a 2200 °C, sem modificador. Entretanto, os valores de absorbância não se mostraram estáveis em valores superiores de temperatura de atomização. Com a adição do modificador, embora a sensibilidade tenha sido consideravelmente diminuída para a solução, obteve-se uma maior estabilidade térmica na faixa de 2200 a 2600 °C. Um comportamento semelhante foi observado para os extratos da RP-DLLME na presença de modificador, com uma estabilidade térmica na mesma faixa de temperatura (2200 a 2600 °C), o que não ocorreu sem a presença de Pd, pois abaixo de 2400 °C de atomização, observou-se a diminuição das absorbâncias integradas. Portanto, a condição de temperatura de atomização de 2300 °C com modificador, foi a menor temperatura dentro de faixa de estabilidade térmica, tanto para os extratos da RP-DLLME como para a solução de referência. Entretanto, ao utilizar modificador na temperatura de 2700 °C, foram obtidos os maiores valores de absorbância integrada. Na Figura 18, está apresentado um espectro obtido por HR-CS GF AAS

para a amostra de hidratante labial, após extração por RP-DLLME e com modificador, na temperatura de 2300 °C.

Figura 18 - Espectro de absorção (obtido por HR-CS GF AAS) resolvido temporalmente na vizinhança da linha de absorção principal do Cr em 357,8687 nm, empregando 2300 °C de atomização



Condições: 20 μ L de extrato da RP-DLLME e 5 μ L de Pd 1000 mg L⁻¹. A temperatura de pirólise foi fixada em 1400 °C.

Na Figura 18, está demonstrado o espectro de absorção resolvido temporalmente na vizinhança da linha principal do Cr em 357,8687 nm, empregando 2300 °C de atomização, onde não se observa a formação do fundo estruturado na janela espectral monitorada. Portanto, a temperatura de atomização de 2300 °C, utilizando Pd como modificador químico, foi selecionada para os experimentos posteriores.

5.4 Desempenho analítico

Através da Resolução RDC nº 166 de 24 de julho de 2017, a ANVISA estabelece os critérios para validação de métodos analíticos aplicáveis a medicamentos, produtos farmacêuticos e cosméticos (ANVISA, 2017). Além disso, o INMETRO (Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia) através da orientação DOQ-CGCRE-008, revisada em julho de 2020, também estabelece diretrizes para a validação de métodos, incluindo métodos utilizados em laboratórios

de análises químicas (INMETRO, 2020). Portanto, neste trabalho foram avaliadas as figuras de mérito linearidade, limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ), exatidão e precisão. Na Tabela 9, estão apresentados os resultados obtidos na avaliação do desempenho analítico dos métodos.

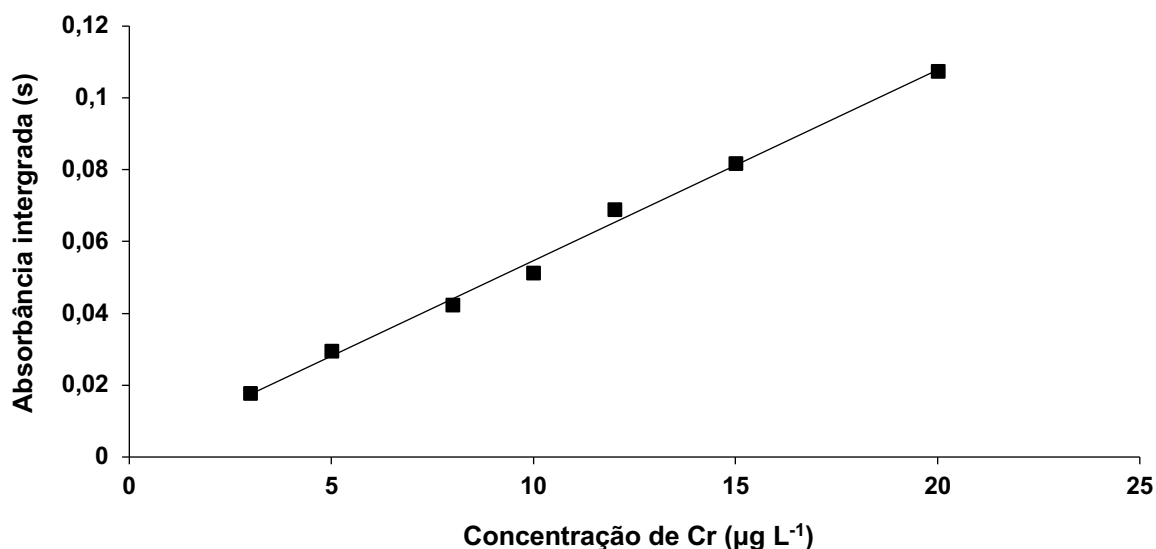
Tabela 9 - Desempenho analítico do método proposto (RP-DLLME) e do método comparativo (EIEB), ambos com quantificação por HR-CS GF AAS.

Parâmetros	Valores	
	RP-DLLME	EIEB
Curva de calibração	$0,0053x + 0,002$	$0,0052x + 0,0026$
Faixa de calibração, $\mu\text{g L}^{-1}$	3,7 a 20,0	1,6 a 20,0
Coeficiente de determinação (R^2)	0,9948	0,9955
Massa característica (m_0), pg	8,0	7,5
Limite de detecção do método (LOD), ng g^{-1}	11	27
Limite de quantificação do método (LOQ), ng g^{-1}	37	89
Desvio padrão relativo (RSD), %	<14	<16
Concordância*, %	90 - 120	-
Fator de enriquecimento	6,01	-

*Concordância entre o valor obtido pelo método proposto e o método de referência.

A linearidade foi avaliada através de uma curva de calibração externa (Figura 19), utilizando uma faixa de calibração entre 3,7 (LOQ instrumental) e 20 $\mu\text{g L}^{-1}$, onde neste intervalo o método foi linear apresentando um valor de R^2 de 0,994. A faixa de calibração foi selecionada considerando uma faixa que compreendesse os valores de absorbância integrada obtidos para os extratos da RP-DLLME nas amostras analisadas. A massa característica (m_0), foi calculada considerando a massa (em pg) média obtida para cada ponto da curva de calibração e proporcional a 0,0044 s (unidades de absorbância integrada), resultando em um valor de m_0 de 7,5 pg. De acordo com Welz *et al.* (2005), o valor informado para a linha principal do Cr em 357,8687 nm é de 4 pg.

Figura 19 – Curva de calibração externa empregada na avaliação da linearidade e na quantificação.



Os valores de LOD e LOQ foram determinados como descrito no item 3.8, sendo 11 e 37 ng g⁻¹, respectivamente. Na comparação com os valores (27 e 89 ng g⁻¹, respectivamente) obtidos pelo método comparativo (EIEB/HR-CS GF AAS), os valores obtidos pelo método proposto (RP-DLLME/HR-CS GF AAS) foram inferiores. Este efeito pode ser explicado pela pré-concentração do Cr na RP-DLLME, pois mesmo empregando uma massa de amostra (50 mg) inferior à do método comparativo (100 mg), o LOD e LOQ foram inferiores. O fator de enriquecimento da RP-DLLME foi calculado considerando a concentração de Cr determinada no extrato (após pré-concentração) dividida pela concentração de Cr determinada na amostra diluída em hexano (antes da pré-concentração), obtendo um fator de 6,01. Os valores de LOD e LOQ obtidos são compatíveis com as exigências para análises cosméticas (ANVISA), além de serem adequados para a detecção/quantificação do Cr nas amostras analisadas neste estudo. Na Tabela 10, estão apresentados os resultados de quantificação de Cr para ambos os métodos nas amostras analisadas.

Tabela 10 – Resultados para a determinação de Cr (ng g^{-1}) por HR-CS GF AAS em hidratantes labiais, após RP-DLLME e EIEB (resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão, $n = 3$).

Amostras	RP-DLLME	EIEB
A	$170 \pm 15,5$	$190 \pm 13,9$
B	$101 \pm 14,1$	$92 \pm 7,7$
C	372 ± 23	309 ± 35
D	$66 \pm 1,74$	< 89

Os códigos das amostras significam: Amostra A (Sabor amora - cor bordô intenso); B (Sabor morango - cor vermelho); C (Sabor amora - cor vermelho intenso) e D (Sabor morango - cor rosa claro).

Para a avaliação da exatidão e precisão, o método proposto foi aplicado na amostra empregada na otimização da RP-DLLME (Amostra A) e em outras 3 amostras (B, C e D), onde os resultados foram comparados com os obtidos pelo método comparativo, um método adaptado do trabalho de Chen *et al.* (2015), os quais realizaram a determinação de Pb por ICP-MS em batom empregando a EIEB. No entanto, neste trabalho, a quantificação foi feita por HR-CS GF AAS para o método de referência. Nas Figuras 20 e 21, é possível visualizar o aspecto das amostras após a aplicação da RP-DLLME (Figura 20) e EIEB (Figura 21). As concentrações de Cr determinadas pelo método proposto estiveram entre 66 e 372 ng g^{-1} , com RSDs inferiores a 14%. Na comparação com o método de referência, foram obtidas concordâncias entre 90 e 120%, sendo que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os resultados. No entanto, não foi possível determinar Cr na amostra D pelo método comparativo, pois a concentração de Cr esteve abaixo do LOQ (89 ng g^{-1}), mostrando que o método proposto é adequado para a quantificação em todas as amostras analisadas.

Figura 20 – Imagens das amostras de hidratante labial após a aplicação da RP-DLLME.

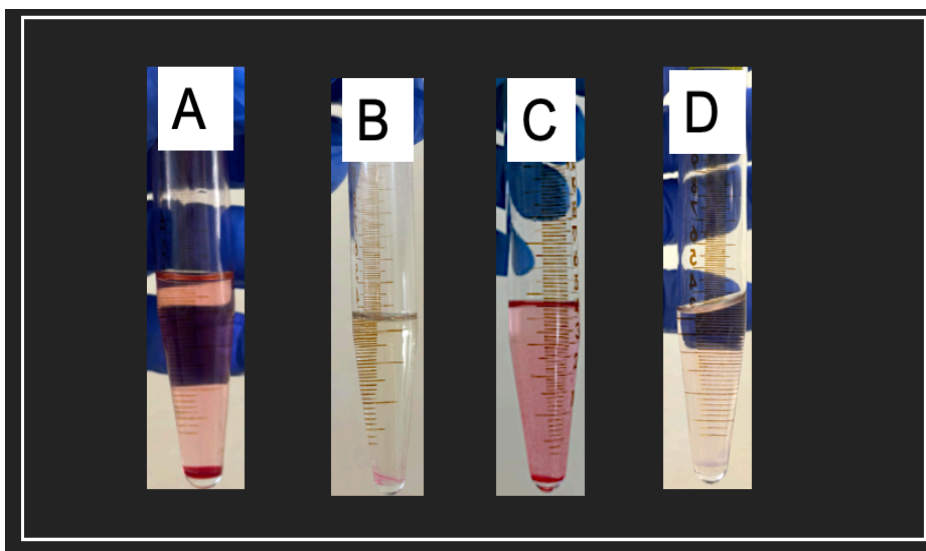
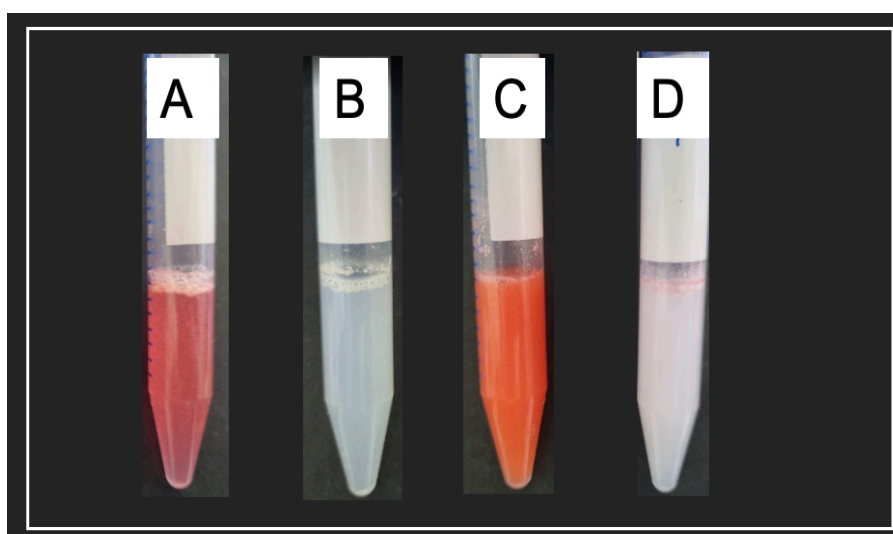


Figura 21 – Imagens das amostras de hidratante labial após a aplicação da EIEB.



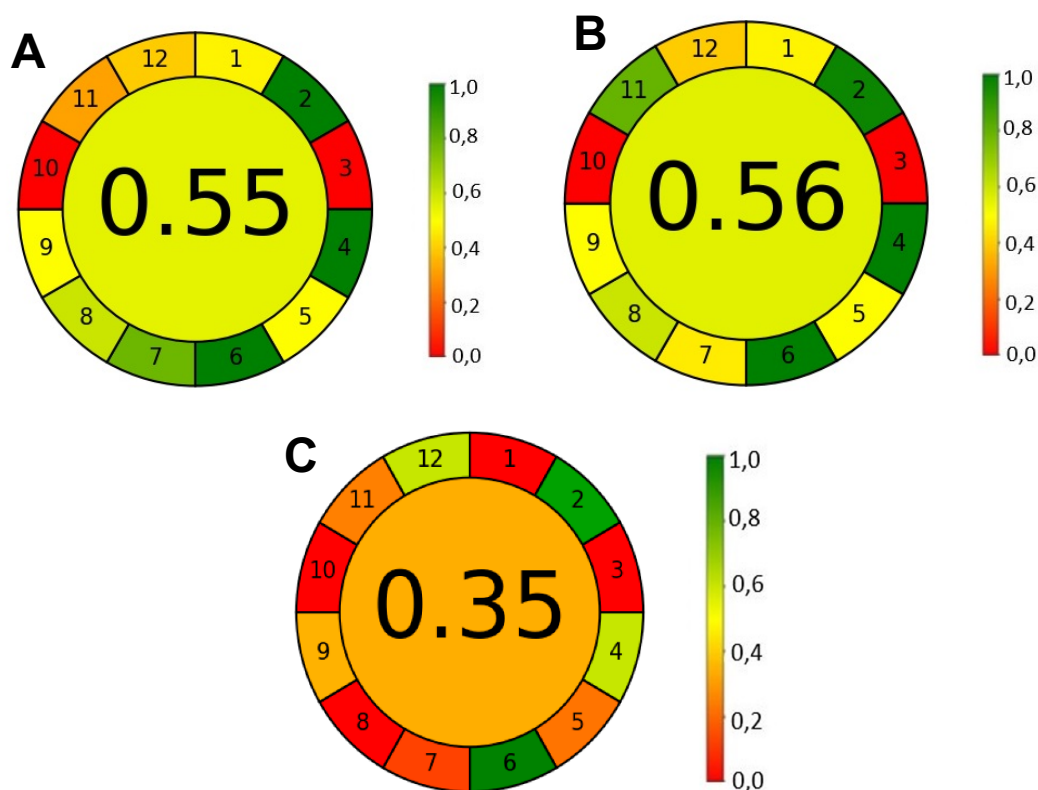
Considerando os limites estabelecidos na Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 628 de 2022 da ANVISA, que regulamenta a presença de substâncias e corantes permitidos em produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes, onde os corantes não devem conter impurezas acima de 100 ppm para metais pesados, incluindo o Cr, as concentrações analisadas estiveram abaixo deste valor.

5.5 Aplicação da métrica AGREE

Os métodos empregados neste trabalho foram avaliados quanto ao seu caráter verde pelo *software* AGREE (*Analytical Greenness*), uma ferramenta que permite

avaliar métodos analíticos através de um score relacionado ao atendimento dos 12 princípios da GAC. Na Figura 22, estão apresentados os pictogramas obtidos para os métodos proposto, comparativo e convencional, empregados neste estudo.

Figura 22 – Pictogramas (software AGREE) com scores para os métodos proposto (RP-DLLME/HR-CS GF AAS (A), comparativo (EIEB/HR-CS GF AAS) (B) e convencional (C), ATZ *et al.*, 2009.



A calculadora AGREE produz um score variando de 0 a 1, a qual gera uma representação visual na forma de um pictograma dividido em 12 seções. Cada seção é classificada por cores em uma escala verde-amarelo-vermelho, indicando o desempenho de cada princípio da GAC, sendo a pontuação final exibida no centro do pictograma (PENA-PEREIRA, WOJNOWSKI e TOBISZEWSKI, 2020). O resultado da análise realizada pelo *software* AGREE, o qual gerou scores de 0,55, 0,56 e 0,35 para os métodos proposto, comparativo e convencional, respectivamente, sugere que os dois primeiros apresentam uma boa conformidade com os princípios da GAC. Estes scores, situados próximos à metade da escala, indicam que os dois métodos possuem características sustentáveis e eficientes do ponto de vista ambiental, embora ainda existam oportunidades para melhorias. Entretanto, o método convencional apresentou score mais baixo pelos motivos expostos na Tabela 11, que apresenta um comparativo entre os três métodos com base nos princípios da GAC.

Tabela 11- Comparativo entre os métodos proposto, comparativo e convencional com base nos princípios da GAC.

Princípio da GAC	Método proposto	Método comparativo	Método convencional
Princípio 1: Análise direta	Possui etapa de preparo e análise em batelada (nº reduzido de etapas)	Possui etapa de preparo e análise em batelada (nº reduzido de etapas)	Possui etapa de preparo e análise em batelada (nº reduzido de etapas)
Princípio 2: Tamanho mínimo de amostra	50 mg de amostra	100 mg de amostra	200 mg de amostra
Princípio 3: Medições <i>in situ</i>	Medições em laboratório	Medições em laboratório	Medições em laboratório
Princípio 4: Integração de processos analíticos	4 ou mais etapas	3 ou menos etapas	4 ou mais etapas
Princípio 5: Métodos automatizados e miniaturizados	Manual e miniaturizado	Manual e miniaturizado	Manual e automatizado
Princípio 6: Derivatização deve ser evitada	Sem etapa de derivatização	Sem etapa de derivatização	Sem etapa de derivatização
Princípio 7: Geração de grandes volumes de resíduos deve ser evitada	4 mL de hexano + 290 µL de n-propanol + 38 µL de HNO ₃ 1%; total: ~4,5 mL/amostra	500 µL de Triton X-100 10% + 50 µL de HNO ₃ + 5 mL de H ₂ O; total: ~5,55 mL/amostra	5 mL de HNO ₃ e 1 mL de HF. + 2 mL de H ₂ O ₂ ; total: 8 mL/ amostra
Princípio 8: Métodos multianalitos	Análise monoelementar	Análise monoelementar	Análise monoelementar
Princípio 9: Minimização do uso de energia	Chapa de aquecimento (~20 minutos) + emprego da HR-CS GF AAS (0,1 – 1,5 kWh)	Chapa de aquecimento (30 min) + emprego da HR-CS GF AAS (0,1 – 1,5 kWh)	Forno de Micro-ondas (2 horas- rampa com 6 etapas)

Princípio 10: Reagentes obtidos de fontes renováveis	Não se aplica	Não se aplica	Não se aplica
Princípio 11: Reagentes tóxicos devem ser eliminados ou substituídos	~4,5 mL/amostra de reagentes tóxicos	~0,55 mL/amostra de reagentes tóxicos	8 mL/ amostra de reagentes tóxicos
Princípio 12: Segurança do operador	Reagentes tóxicos para a vida aquática, inflamáveis, oxidantes e corrosivos	Reagentes tóxicos para a vida aquática, oxidantes e corrosivos	Reagentes tóxicos para a vida aquática, inflamáveis, oxidantes e corrosivos

Parâmetros baseados no trabalho de Pena-Pereira, Wojnowski e Tobiszewski (2020).

Os métodos proposto e comparativo possuem vantagens e desvantagens quando os princípios da GAC são aplicados. O método proposto possui vantagens como: *i*) o uso de menor massa de amostra (50 mg), quando comparado ao método comparativo (100 mg), o que está associado ao princípio 2 e *ii*) geração de uma menor quantidade de resíduos (~4,5 mL/amostra) em comparação com o método comparativo (~5,5 mL/amostra), associado ao princípio 7. Já o método comparativo se destaca por: *i*) apresentar menos etapas (3 ou menos, incluindo a formação da emulsão, aquecimento e etapa de quantificação) em comparação com o método proposto (4 ou mais, incluindo aquecimento, extração, centrifugação, agitação e quantificação), associado ao princípio 4 e *ii*) empregar um menor volume (~0,55 mL/amostra) de reagentes tóxicos em comparação com o método proposto (~4,5 mL/amostra), associado ao princípio 11.

Nas demais comparações, os métodos apresentam características muito semelhantes, pois possuem algum tipo de etapa de preparo de amostras, quantificação monoelementar e o emprego da atomização por forno de grafite que, do ponto de vista da GAC, é uma desvantagem pelo elevado consumo de energia. No entanto, é uma técnica essencial para a detecção de níveis traço como as concentrações de Cr em hidratantes labiais. No que diz respeito ao consumo de energia, os métodos proposto e comparativo são equivalentes, ao passo que o método convencional apresentou maior consumo de energia. Da mesma forma, os métodos A e B não são automatizados e não realizam medições *in situ*, além de possuírem a característica do emprego de microvolumes de reagentes, tornando o processo miniaturizado, e não demandarem etapa de derivatização, ao contrário do método convencional que utiliza volumes maiores (mL). No geral, a geração de resíduos é relativamente baixa para o método proposto e para o método comparativo. Em contrapartida, o método convencional gera maior quantidade de resíduos. Um ponto negativo para o método proposto é o uso de hexano como solvente de solubilização da amostra. No entanto, como já descrito anteriormente, a RP-DLLME permite uma pré-concentração levando a LODs e LOQs inferiores aos do método proposto e adequados para a detecção/quantificação de Cr nas amostras.

Adicionalmente, o método proposto se apresenta como uma alternativa aos métodos convencionais que empregam decomposição ácida em sistemas abertos ou fechados com aquecimento convencional ou com auxílio da radiação micro-ondas. Como demonstrado na Figura 1, os métodos de preparo de amostras supracitados

são os mais empregados para a análise de cosméticos labiais. No entanto, geralmente utilizam elevados volumes de ácidos concentrados como HF, HCl, HClO₄ em etapas morosas e complexas. Em alguns casos, os métodos demandam adições intermitentes de ácido para evitar a secagem da mistura. Adicionalmente, sistemas abertos podem causar a perda de analitos por volatilização e sistemas fechados com aquecimento por radiação micro-ondas demandam a aquisição de instrumentação de custo e manutenção relativamente elevada.

Portanto, o emprego de vidrarias e equipamentos comuns (chapa de aquecimento, centrífuga, agitador vórtex etc.) em laboratórios tornam a RP-DLLME bastante promissora e viável economicamente para a análise de cosméticos labiais e qualquer amostra lipofílica visando a determinação elementar, além de ser uma alternativa mais rápida e segura em comparação com os métodos de preparo de amostras tradicionais. No que diz respeito à sua aplicação para a determinação de Cr, na Figura 6 é possível visualizar que foram encontrados na revisão deste estudo apenas 2 trabalhos que investigaram a RP-DLLME como método de preparo de amostras para a extração de Cr em biodiesel (TAKASHIMA, 2017) e gasolina (VIDAL *et al.*, 2021), evidenciando o ineditismo desta proposta para a área de preparo de amostras e espectrometria atômica.

6. CONCLUSÕES

O emprego da RP-DLLME foi investigado, pela primeira vez, para a extração e pré-concentração de Cr em amostras de hidratante labial visando a posterior determinação por HR-CS GF AAS. Os principais parâmetros da RP-DLLME foram avaliados e as condições selecionadas foram hexano (4 mL) como solvente de solubilização das amostras, aquecimento da amostra a 85 °C, n-propanol como solvente dispersor e HNO₃ 1% (v/v) como solvente extrator, na proporção 90:10 (% v/v), agitação em vórtex por 10 s e centrifugação a 4000 rpm por 5 min. As temperaturas de pirólise e atomização também foram investigadas e as condições selecionadas foram 1400 e 2300 °C, respectivamente, na presença de Pd como modificador químico. O método se mostrou linear entre 3,7 e 20 µg L⁻¹ e os valores de LOD e LOQ foram 11 e 37 ng g⁻¹, respectivamente, com um fator de enriquecimento de 6,01. As concordâncias com o método comparativo (EIEB/HR-CS GF AAS) estiveram entre 90 e 120%, com RSDs inferiores a 14%.

A proposta é interessante do ponto de vista da Química Analítica Verde (GAC), pois visa o emprego de soluções aquosas diluídas, menor geração de resíduos, quantidades miniaturizadas, rapidez, simplicidade e viabilidade econômica quando comparada a métodos tradicionais da literatura. Adicionalmente, o método proposto apresentou uma interessante capacidade de detecção/quantificação de Cr, considerando as baixas concentrações de Cr em amostras de hidratante labial.

A proposta de pesquisa, além de inovadora, foi bastante desafiadora, pois o hidratante labial é uma amostra de difícil dissolução e o Cr encontra-se, possivelmente, na forma de óxido nas amostras, tornando o processo de extração bastante complexo. Por fim, destaca-se a importância do desenvolvimento deste estudo, o qual contribuiu para o estabelecimento de um novo método analítico para o controle de qualidade de cosméticos labiais, um produto amplamente consumido pela população brasileira e mundial.

7.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIHPEC - Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos. *Panorama do setor de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos*. São Paulo, 2024.

ABDULKAREEM, E. A.; ABDULSATTAR, J. O. Determination of nickel and cobalt in cosmetic products marketed in Iraq using spectrophotometric and microfluidic paper-based analytical device (μ PADs) platform. *Baghdad Science Journal*, v. 19, n. 6, p. 1286-1296, 2022.

ABED, M. S.; MOOSA, A. A.; ALZUHAIRI, M. A. Heavy metals in cosmetics and tattoos: a review of historical background, health impact, and regulatory limits. *Journal of Hazardous Materials Advances*, v. 13, 100390, fev. 2024.

AFRIDI, H. I.; BHATTI, M.; TALPUR, F. N.; KAZI, T. G.; BAIG, J. A.; CHANIHOON, G. Q.; RAHOOJO, A. Cadmium concentration in different brands of cosmetic and their effect on the skin of female dermatitis cosmetic users. *Journal of the Chemical Society of Pakistan*, v. 44, n. 5, p. 419-426, 2021.

AL-MOURAEE, A. A.; ZAINY, F. M. A. Heavy metal determination in lipstick products using inductively coupled plasma (ICP). *Journal of Pharmaceutical Research International*, v. 33, n. 44A, p. 265-277, 2021.

ALMUKAINZI, M.; ALOTAIBI, L.; ABDULWAHAB, A.; ALBUKHARY, N.; EL MAHDY, A. M. Quality and safety investigation of commonly used topical cosmetic preparations. *Scientific Reports*, [s.l.], v. 12, n. 1, p. 1-9, 2022.

AL-QUTOB, M. A.; ALATRASH, H. M.; ABOL-OLA, S. Determination of different heavy metals concentrations in cosmetics purchased from the Palestinian markets by ICP/MS. *AES Bioflux*, v. 5, p. 287-293, 2013.

AL-SALEH, I.; AL-ENAZI, S.; SHINWARI, N. Assessment of lead in cosmetic products. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, v. 54, p. 105-113, 2009.

ANASTAS, Paul T.; WARNER, John C. *Green Chemistry: Theory and Practice*. Oxford: Oxford University Press, 1998.

ANDRIOLLI, C. F. Desenvolvimento de método utilizando a microextração líquido-líquido dispersiva em fase reversa para determinação de As, Cd, Hg, Pb, Co, Ni e V em excipientes farmacêuticos oleosos. Dissertação (Mestrado em Química) — Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2021.

ANDRIOLLI, C. R.; HENN, A. S.; FLORES, E. M. M.; FLORES, E. L. M.; PICOLOTO, Rochele S. Mercury determination in edible oils – A combination of Reversed-Phase Dispersive Liquid-Liquid Microextraction and CVG-ICP-MS. *Research Square*, 26 set. 2024.

ANGONESE, R.; MACHADO-DA-SILVA, C. L. PRESSÕES AMBIENTAIS E CONTEXTO DE REFERÊNCIA DE ORGANIZAÇÕES: A INDÚSTRIA BRASILEIRA DE COSMÉTICOS. *Perspectivas Contemporâneas*, 2010.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da diretoria colegiada RDC nº 211, de julho de 2005.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da diretoria colegiada RDC nº 7, de fevereiro de 2015.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da diretoria colegiada RDC nº 166, de julho de 2017.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da diretoria colegiada RDC nº 529, de 4 de agosto de 2021.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da diretoria colegiada RDC nº 752, de 19 de setembro de 2022.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da diretoria colegiada RDC nº 628, de 10 de março de 2022.

ASRA, R.; RUSDI; YANDRA, R. B.; NESSA. Determination of heavy metal contaminations of lead and cadmium in selected lipstick products sold in Padang City using atomic absorption spectrophotometry. *Indonesian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, v. 2, n. 1, p. 1-7, 2019.

ATKINS, P.; De PAULA, J. *Physical Chemistry*. 8th ed. Oxford: Oxford University Press, 2006.

ATSDR - Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological Profile for Toluene. Atlanta, GA: US. Department of Health and Human Services, Public Health Service, 2017.

ATSDR - Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological Profile for n-Hexane. Draft for Public Comment. Atlanta: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, 2024.

ATZ, V. L.; POZEBON, D. Graphite furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS) methodology for trace element determination in eye shadow and lipstick. *Atomic Spectroscopy*, v. 30, p. 82-91, 2009.

BARBOSA, K. C. Identificação de metais em cosméticos: uma revisão bibliográfica dos últimos sete anos. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química) — Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Paraná, 2022.

BATISTA, A. A. S.; PEREIRA-FILHO, E. R. Chemometric evaluation of Cd, Co, Cr, Cu, Ni (inductively coupled plasma optical emission spectrometry) and Pb (graphite furnace atomic absorption spectrometry) concentrations in lipstick samples intended to be used by adults and children. *Talanta*, v. 150, p. 206-212, 2016.

BIRD, R. B.; STEWART, W. E.; LIGHTFOOT, E. N. *Transport Phenomena*. 2nd ed. John Wiley & Sons, 2002.

BIRD, R. B.; STEWART, W. R.; LIGHTFOOT, E. N. *Fenômenos de Transporte*. LTC, 2004.

BOCCA, B.; FORTE, G.; PINO, A.; ALIMONTI, A. Heavy metals in powder-based cosmetics quantified by ICP-MS: an approach for estimating measurement uncertainty. *Analytical Methods*, v. 5, p. 402-408, 2013.

BOLZAN, C. M.; CALDAS, S. S.; SOARES, B. M.; PRIMEL, E. G. Dispersive Liquid-Liquid Microextraction for the Preconcentration of Multiple Classes of Pesticides in Water. *Analytical Letters*, v. 48, p. 2754-2772, 2015.

BONADEO, I. *Cosmetica Ciencia y Tecnología*. Madrid: Ciencia SA, 1982.

BORGES, D. L. G; CURTIUS, A. J; WELZ, B; HEITMANN, U. Fundamentos da espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua. *Revista Analytica*, n. 18, p. 58-62, 2005.

CARBONI, N. A. Desenvolvimento de método analítico empregando RP-DLLME no preparo de amostras de banha suína para posterior determinação de Cd e Pb por FAAS. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química) — Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Paraná, 2021.

CHA, N.-R.; LEE, J.-K.; LEE, Y.-R.; JEONG, H.-J.; KIM, H.-K.; LEE, S.-Y. Determination of iron, copper, zinc, lead, nickel and cadmium in cosmetic matrices by flame atomic absorption spectroscopy. *Analytical Letters*, v. 43, p. 259-268, 2010.

CHEN, Wei-Ni; JIANG, Shih-Jen; CHEN, Yen-Ling; SAHAYAM, A. C. Determination of Pb in lipsticks by flow injection chemical vapor generation isotope dilution inductively coupled plasma mass spectrometry. *Microchemical Journal*, v. 119, p. 128-132, 2015.

CORAZZA, M.; BALDO, F.; PAGNONI, A.; MISCIOSCIA, R. A.; VIRGILI, A. Measurement of nickel, cobalt and chromium in toy make-up by atomic absorption spectroscopy. *Acta Dermato-Venereologica*, v. 89, p. 130-133, 2009.

DA SILVA, K. R. N. Avaliação da Microextração Líquido-Líquido Dispersiva Reversa como Estratégia para o Preparo de Amostra de Biodiesel para Determinação de Ca, Mg, Na e K por Espectrometria Atômica. Dissertação (Mestrado em Química) — Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2017.

DANESHVAR, T. G.; SHEMIRANI, F. Magnetic multi-wall carbon nanotube nanocomposite as an adsorbent for preconcentration and determination of lead (II) and manganese (II) in various matrices. *Talanta*, v. 115, p. 744-750, 2013.

DELPINO, I. S. Determinação de contaminantes em óleo diesel por ICP-OES empregando a microextração líquido-líquido dispersiva em fase reversa. Dissertação (Mestrado em Química) — Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Paraná, 2017.

DENAVARRE, M. G. *The Chemistry and Manufacture of Cosmetics*. 2nd ed., v. 3. Orlando: Continental Press, 1975.

DE PAULA MIRANDA, F. M.; ALMEIDA VIEIRA, M. de L.; REZENDE, P. S. Determination of lead and evaluation of microbial contamination in eye shadows

and lipsticks samples. *Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde*, v. 26, n. 1, p. 87-96, 2022.

DİNÇER, Reyhan; KARABİBEROĞLU, Şükriye Ulubay; DURSUN, Zekerya. Simultaneous electrochemical determination of trace zinc (II), cadmium (II) and lead (II) in lipsticks using a novel electrode covered with bismuth/over-oxidized poly (xylenol blue) film. *Microchemical Journal*, v. 189, 108548, 2023.

DIUZHEVA, A.; FERNÁNDEZ, E.; VIDAL, L.; ANDRUCH, V.; CANALS, A. Vitamin E determination in edible oils by reversed-phase dispersive liquid-liquid microextraction and screen-printed carbon electrodes. *Advances in Sample Preparation*, v. 1, 100005, 2022.

DOS REIS, P. K. Microextração líquido-líquido dispersiva em fase reversa assistida por vórtex para determinação de Fe, Mg e Zn em óleos vegetais por espectrometria de absorção atômica. Dissertação (Mestrado em Química) — Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Paraná, 2018.

DRAELOS, Z. D. *Cosméticos em Dermatologia*. Porto Alegre: Artes Médicas, v. 1, 2001.

EBRAHIMZADECH, H.; MOAZZEN, E.; AMINI, M. M.; SADEGHI, O. Pyridine-2,6-diamine-functionalized Fe₃O₄ nanoparticles as a novel sorbent for determination of lead and cadmium ions in cosmetic samples. *International Journal of Cosmetic Science*, v. 35, p. 176-182, 2013.

FERNANDES, A. R.; DARIO, M. F.; DE OLIVEIRA PINTO, C. A. S.; KANEKO, T. M.; BABY, A. R.; VELASCO, M. V. R. Stability evaluation of organic lip balm. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 49, n. 2, p. 293-301, 2013.

FERNÁNDEZ, E.; VIDAL, L.; CANALS, A. Rapid determination of hydrophilic phenols in olive oil by vortex-assisted reversed-phase dispersive liquid-liquid microextraction and screen-printed carbon electrodes. *Talanta*, v. 181, p. 44-51, 2018.

GĄŁUSZKA, A.; MIGASZEWSKI, Z.; NAMIEŚNIK, J. The 12 principles of green analytical chemistry and the SIGNIFICANCE mnemonic of green analytical practices. *Trends in Analytical Chemistry*, v. 50, p. 78-84, 2013.

GAO, P.; LIU, S.; ZHANG, Z.; MENG, P.; LIN, N.; LU, B.; CUI, F.; FENG, Y.; XING, B. Health impact of bioaccessible metal in lip cosmetics to female college students and career women, northeast of China. *Environmental Pollution*, v. 197, p. 214-220, 2015.

GODOY-CABALLERO, M. P.; ACEDO-VALENZUELA, M. I.; GALEANO-DÍAZ, T. New reversed phase dispersive liquid-liquid microextraction method for the determination of phenolic compounds in virgin olive oil by rapid resolution liquid chromatography with ultraviolet-visible and mass spectrometry detection. *Journal of Chromatography A*, v. 1313, p. 291-301, 2013.

GONDAL, M. A.; SEDDIGI, Z. S.; NASR, M. M.; GONDAL, B. Spectroscopic detection of health hazardous contaminants in lipstick using laser induced

breakdown spectroscopy. *Journal of Hazardous Materials*, v. 175, p. 726-732, 2010.

GOUVEA, M. C. B. L. F. Evolução na formulação de batons. *Cosmetics and Toiletries* (Portuguese edition), v. 19, n. 2, p. 72-75, 2007.

GUNDUZ, S.; AKMAN, S. Investigation of lead contents in lipsticks by solid sampling high resolution continuum source electrothermal atomic absorption spectrometry. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, v. 65, p. 34-37, 2013.

HASHEMI, P.; RAEISI, F.; GHIASVAND, A. R.; RAHIMI, A. Reversed-phase dispersive liquid-liquid microextraction with central composite design optimization for preconcentration and HPLC determination of oleuropein. *Talanta*, v. 80, p. 1926-1931, 2010.

HASHEMI, P.; SERENJEH, F. N.; GHIASVAND, A. R. Reversed-phase dispersive liquid-liquid microextraction with multivariate optimization for sensitive HPLC determination of tyrosol and hydroxytyrosol in olive oil. *Journal of the Japan Society for Analytical Chemistry*, v. 27, p. 943-947, 2011.

HASHIM, A. M.; ABD-ALAMEER, A. M.; RASHED, A. H. Crophotometric determination of heavy metal (lead) in cosmetics (lipsticks) in commercial markets. *Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology*, v. 14, n. 4, p. 2406-2412, 2020.

HEPP, N. M.; MINDAK, W. R.; GASPER, J. W.; THOMPSON, C. B.; BARROWS, J. N. Survey of cosmetics for arsenic, cadmium, chromium, cobalt, lead, mercury, and nickel content. *Journal of Cosmetic Science*, v. 65, p. 125-145, 2014.

HEPP, N. M.; MINDAK, W. R.; CHENG, J. Determination of total lead in lipstick: development and validation of a microwave-assisted digestion, inductively coupled plasma-mass spectrometric method. *Journal of Cosmetic Science*, v. 60, p. 405-414, 2009.

HEYDARI, R.; BAZVAND, M. R. D. Ultrasound-assisted matrix solid-phase dispersion coupled with reversed-phase dispersive liquid-liquid microextraction for determination of vitamin C in various matrices. *Food Analytical Methods*, v. 12, p. 1949-1956, 2019.

IGWO-EZIKPE, M. N.; OLASORE, H. S. A.; OSUALA, F. I.; OBIDI, O. F.; AYANSHINA, O. A.; SOTINALA, O. T. Heavy metals and polycyclic aromatic hydrocarbons in some facial makeup cosmetics commonly used in Lagos, Nigeria. *Biokemistri*, v. 29, p. 110-125, 2017.

INAN, G. G. D; ŞEREN, G. Determination of some trace elements in some lipstick products by inductive coupled plasma-mass spectrometry. *Cumhuriyet Science Journal*, v. 44, n. 3, p. 516-521, 2023. DOI: 10.17776/csj.1263223.

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia. *DOQ-CGCRE-008 – Orientações sobre validação de métodos analíticos*. Revisão 4. Rio de Janeiro: Inmetro, 2018.

IWEGBUE, C. M. A.; BASSEY, F. I.; OBI, G.; TESI, G. O.; MARTINCIGH, B. S. Concentrations and exposure risks of some metals in facial cosmetics in Nigeria. *Toxicology Reports*, v. 3, p. 464-472, 2016.

JABERI, M.; HASHEMI, P.; RAHIMI, A. Reversed-phase dispersive liquid-liquid microextraction for sensitive ion chromatographic determination of metal cations in sesame oil. *Food Analytical Methods*, v. 16, p. 1646-1654, 2023.

JELIC, D.; ANTUNOVIC, V.; DERMANOVIC, M. Arsenic and mercury content determination in commercial cosmetics products by atomic absorption spectroscopy. *Quality of Life Research*, v. 8, p. 23-26, 2017.

JIHAD, R. M.; HUSSIN, N. S. N. Determination of some heavy metals in selected cosmetic products sold at Iraqi markets. *Systematic Reviews in Pharmacy*, v. 11, p. 1632-1635, 2020.

KADU, M.; VISHWASRAO, S.; SINGH, S. Review on Natural Lip Balm. *International Journal of Research in Cosmetic Science*, v. 1, n. 1, 2014.

KALICANIN, B.; VELIMIROVIC, D. A study of the possible harmful effects of cosmetic beauty products on human health. *Biological Trace Element Research*, v. 170, p. 476-484, 2016.

KALSCHNE, D. L.; CANAN, C.; BEATO, M. O.; LEITE, O. D.; FLORES, E. L. M. A new and feasible analytical method using reversed-phase dispersive liquid-liquid microextraction (RP-DLLME) for further determination of Nickel in hydrogenated vegetable fat. *Talanta*, v. 208, 120409, 2020.

KALSCHNE, D. L.; CANAN, C.; BARIN, J.; PICOLATO, R. S.; LEITE, O. D.; FLORES, E. L. M. Reversed-phase dispersive liquid-liquid microextraction (RP-DLLME) as a green sample preparation method for multielement determination in fish oil by ICP-OES. *Food Analytical Methods*, v. 13, p. 230-237, 2020.

KHALID, A.; HUSSAIN BUKHARI, I.; RIAZ, M.; REHMAN, G.; AIN, Q.; HUSSAIN BOKHARI, T.; RASOOL, N.; ZUBAIR, M.; MUNIR, S. Determination of lead, cadmium, chromium, and nickel in different brands of lipsticks. *International Journal of Biopharmaceutics and Applied Sciences*, v. 2, p. 1003-1009, 2013.

KHANI, R.; GHIAMATI, E.; BOROUJERDI, R.; REZAEIFARD, A.; ZARYABI, M. H. A new and highly selective turn-on fluorescent sensor with fast response time for the monitoring of cadmium ions in cosmetic and health product samples. *Spectrochimica Acta Part A*, v. 163, p. 120-126, 2016.

KLAASSEN, C. D. (Ed.). Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons. 8. ed. New York: McGraw-Hill Education, 2013.

KONIECKI, D.; WANG, R.; MOODY, R. P.; ZHU, J. Phthalates in cosmetic and personal care products: concentrations and possible dermal exposure. *Environmental Research*, v. 111, n. 3, p. 329-336, 2011.

KRUG, F. J.; ROCHA, F. R. P. *Métodos de preparo de amostras para análise elementar*. 2. ed. São Paulo: Editora SBQ, 2019.

KUMAR, S. Exploratory analysis of global cosmetic industry: major players, technology and market trends. *Technovation*, v. 25, n. 11, p. 1263-1272, 2005.

LIANG, L.; GILKESON, J.; SWAIN, E.; BENNETT, E.; LI, M.; DENG, M.; PANG, P. A pilot survey of mercury in drugs, cosmetics, and household products using reliable analytical methods. *Journal of Clinical Dermatology and Skin Analysis*, v. 3, p. 256-262, 2013.

SNEYERS, L. V. L.; VERMAERCKE, P.; BRUGGEMAN, M. Trace element determination in beauty products by k_0 -instrumental neutron activation analysis. *Radiochimica Acta*, v. 100, p. 687-698, 2009.

LARA-TORRES, S.; FIGUEIREDO, D.; PAZ, S.; GUTIÉRREZ, A. J.; RUBIO, C.; GONZÁLEZ-WELLER, D.; REVERT, C.; HARDISSON, A. Determination and risk assessment of toxic metals in lipsticks from Europe and China. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, v. 67, 126792, 2021.

LEONG, M.-I.; HUANG, S.-D. Dispersive liquid-liquid microextraction method based on solidification of floating organic drop combined with gas chromatography with electron-capture or mass spectrometry detection. *Journal of Chromatography A*, v. 1211, n. 1-2, p. 8-12, 21, 2008.

LI, G.; ROW, K. H. Utilization of deep eutectic solvents in dispersive liquid-liquid micro-extraction. *Trends in Analytical Chemistry*, v. 120, 115651, 2019.

LIU, S.; XIE, Q.; CHEN, J.; SUN, J.; HE, H.; ZHANG, X. Development and comparison of two dispersive liquid-liquid microextraction techniques coupled to high-performance liquid chromatography for the rapid analysis of bisphenol A in edible oils. *Journal of Chromatography A*, v. 1259, p. 16-23, 2013.

LIU, S. A. Concentrations and Potential Health Risks of Metals in Lip Products. *Environmental Health Perspectives*, v. 121, p. 705-710, 2013.

LÓPEZ-GARCIA, I.; VICENTE-MARTÍNEZ, Y.; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, M. Determination of cadmium and lead in edible oils by electrothermal atomic absorption spectrometry after reverse dispersive liquid-liquid microextraction. *Talanta*, v. 124, p. 106-110, 2014.

LOURENÇO, E. C.; EYNG, E.; BITTENCOURT, P. R. S.; DUARTE, F. A.; PICOLOTO, R. S.; FLORES, E. L. M. A simple, rapid, and low-cost reversed-phase dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of Na, K, Ca, and Mg in biodiesel. *Talanta*, v. 199, p. 1-7, 2019.

MANDLATE, J. S.; SOARES, B. M.; SEEGER, T. S.; VECCHIA, P. D.; MELLO, P. A.; FLORES, E. M. M.; DUARTE, F. A. Determination of cadmium and lead at sub-pt level in soft drinks: An efficient combination between dispersive liquid-liquid microextraction and graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Food Chemistry*, v. 221, p. 907-912, 2017.

MARTINS, M. L.; PRIMEL, E. G.; BARBOSA, S. C.; PRESTES, O. D.; ADAIME, M. B.; ZANELLA, R. Dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME): fundamentals and applications. *Scientific Chromatography*, v. 4, p. 35-51, 2012.

MARYOTT, A. A.; SMITH, H. E. R. Table of dielectric constants of pure liquids. *National Bureau of Standards Circular*, v. 514, p. 5-11, 1951.

MASSADEH, A. M.; EL-KHATEEB, M. Y.; IBRAHIM, S. M. Evaluation of Cd, Cr, Cu, Ni, and Pb in selected cosmetic products from Jordanian, Sudanese, and Syrian markets. *Public Health*, v. 149, p. 130-137, 2017.

MATOS, S. P. Desenvolvimento de métodos para determinação de cádmio, chumbo e cromo em cosméticos por espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por laser. 2014. Dissertação (Mestrado em Química – Ciência e Tecnologia da Sustentabilidade) – Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 2014.

MELQUIADES, F.; PARREIRA, P.; ENDO, L. Y.; SANTOS, G.; MENEZES, L. W. Portable EDXRF for quality assurance of cosmetics. *Cosmetics*, v. 2, p. 277-285, 2015.

MESKO, M. F.; NOVO, D. L. R.; COSTA, V. C.; HENN, A. S.; FLORES, E. M. M. Toxic and potentially toxic elements determination in cosmetics used for make-up: A critical review. *Analytica Chimica Acta*, v. 1098, p. 1-26, 2020.

MESKO, M. F.; PEREIRA, J. S. F.; MORAES, D. P.; BARIN, J. S.; MELLO, P. A.; PANIZ, J. N. G.; KORN, M. G. A.; FLORES, E. M. M. Focused microwave-induced combustion: A new technique for sample digestion. *Analytical Chemistry*, v. 82, p. 2155-2160, 2010.

MESKO, M. F.; ROSA NOVO, D. L.; RONDAN, F. S.; PEREIRA, R. M.; COSTA, V. C. Sample preparation of lipstick for further Cd and Pb determination by ICP-MS: is the use of complexing acids really necessary? *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, v. 32, p. 1780-1788, 2017.

NASIRUDEEN, M. B.; AMAECHI, A. U. Spectrophotometric determination of heavy metals in cosmetics sourced from Kaduna Metropolis, Nigeria. *Scientific World Journal*, v. 10, p. 1-5, 2015.

NNOROM, I. C.; IGWE, J. C.; G., O.-N. C. Trace metal contents of facial (make-up) cosmetics commonly used in Nigeria. *African Journal of Biotechnology*, v. 4, p. 1133-1138, 2005.

NOURMORADI, H.; FOROGHI, M.; FARHADKHANI, M.; DASTJERDI, M. V. Assessment of lead and cadmium levels in frequently used cosmetic products in Iran. *Journal of Environmental and Public Health*, v. 2013, p. 1-5, 2013.

NUNES, K. C. Detecção de ferro em amostras de biodiesel por imagem digital. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química) — Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Paraná, 2022.

ORESTE, E. Q.; DE SOUZA, A. O.; PEREIRA, C. C.; LISBOA, M. T.; CIDADE, M. J. A.; VIEIRA, M. A.; CADORE, S. Evaluation of Sample Preparation Methods for the Determination of Ca, Cu, Fe, K, and Na in Milk Powder Samples by ICP-OES. *Food Analytical Methods*, v. 9, p. 777-784, 2016.

ORISAKWE, O. E.; OTARAKU, J. O. Metal concentrations in cosmetics commonly used in Nigeria. *Scientific World Journal*, v. 2013, p. 1-7, 2013.

ÖZZEYBEK, G.; SAHIN, I.; ERARPAT, S.; BAKIRDERE, S. Reverse phase dispersive liquid–liquid microextraction coupled to slotted T quartz tube flame atomic absorption spectrometry as a new analytical strategy for trace determination of cadmium in fish and olive oil samples. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 90, 103486, 2020.

PENA-PEREIRA, F.; WOJNOWSKI, W.; TOBISZEWSKI, M. AGREE—Analytical GREENness Metric Approach and Software. *Analytical Chemistry*, v. 92, n. 14, p. 10076-10082, 15 jun. 2020.

PERMATANANDA, P. A. N. K.; UDIYANI, D. P. C.; PANDIT, I. G. S. Lip Balm Formulation Based on Balinese Grape Seed Oil (*Vitis vinifera* L. Var Alphonso Lavallee). *International Journal of Current Science Research and Review*, v. 4, n. 7, 2021.

PICCININI, P.; PIECHA, M.; TORRENT, S. F. European survey on the content of lead in lip products. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 76, p. 225-233, 2013.

PINTO, E.; PAIVA, K.; CARVALHIDO, A.; ALMEIDA, A. Elemental impurities in lipsticks: results from a survey of the Portuguese and Brazilian markets. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, v. 95, p. 307-313, 2018.

PRIMEL, E. G.; CALDAS, S. S.; MARUBE, L. C.; ESCARRONE, A. L. V. An overview of advances in dispersive liquid-liquid microextraction for the extraction of pesticides and emerging contaminants from environmental samples. *Trends in Environmental Analytical Chemistry*, v. 14, p. 1-18, 2017.

RAŽIĆ, S.; BAKIĆ, T.; TOPIĆ, A.; LUKIĆ, J.; ONJIA, A. Deep Eutectic Solvent Based Reversed-Phase Dispersive Liquid–Liquid Microextraction and High-Performance Liquid Chromatography for the Determination of Free Tryptophan in Cold-Pressed Oils. *Molecules*, v. 28, p. 2395, 2023.

REZAEI, M.; ASSADI, Y.; HOSSEINI, M. M.; AGHAEI, E.; AHMADI, F.; BERIJANI, S. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction. *Journal of Chromatography A*, v. 1116, p. 1-9, 2006.

REZAEI, M.; YAMINI, Y.; FARAJANI, M. Evolution of dispersive liquid–liquid microextraction method. *Journal of Chromatography A*, v. 1217, p. 2342-2357, 2010.

REZAEINEJAD, S.; HASHEMI, P. Rapid and Sensitive Quantitation of Inorganic Anions in Olive Oil by Coupling Reversed-Phase Dispersive Liquid-Liquid Microextraction and Ion Chromatography. *Food Analytical Methods*, v. 14, p. 2461-2468, 2021.

RIGANO, L.; MONTOLI, M. Strategy for the Development of a New Lipstick Formula. *Cosmetics*, v. 8, p. 105, 2021.

SAADATZADEH, A.; AFZALAN, S.; ZADEHDABAGH, R.; TISHEZAN, L.; NAJAFI, N.; SEYEDTABIB, M.; et al. Determination of heavy metals (lead, cadmium, arsenic, and mercury) in authorized and unauthorized cosmetics. *Toxicological & Environmental Chemistry*, v. 101, n. 3, p. 207-211, 2019.

SÁEZ, C.; STOITSOV, D.; AGUIRRE, M. Á.; KMETOV, V.; COSCOLLÀ, C.; CANALS, A. Wear metal determination in lubricating oils by reversed-phase dispersive liquid-liquid microextraction and microwave induced plasma optical emission spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, v. 39, p. 370-377, 2024.

SAÇMACI, S.; SAÇMACI, M. A new chelating reagent: its synthesis/characterization and application for the determination of Cd (II) and Ni (II) in various food and make-up product samples by FAAS using simultaneous microextraction sampling. *Journal of AOAC International*, v. 99, p. 1058-1065, 2016.

SANI, A.; GAYA, M. B.; ABUBAKAR, F. A. Determination of some heavy metals in selected cosmetic products sold in Kano Metropolis, Nigeria. *Toxicology Reports*, v. 3, p. 866-869, 2016.

SANTOS, M. C. Microextração líquido-líquido dispersiva em fase reversa para determinação de zinco em óleos vegetais por espectrometria de absorção atômica. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química) — Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Paraná, 2017.

SARAFRAZ-YAZDI, A.; AMIRI, A. Liquid-phase microextraction. *Trends in Analytical Chemistry*, v. 29, n. 1, p. 1-14, 2010.

SHAABAN, H.; ISSA, S. Y.; AHMAD, R.; MOSTAFA, A.; REFAI, S.; ALKHARRAA, N.; ALBAQSHI, B. T.; HUSSIEN, D.; ALQARNI, A. M. Investigation on the elemental profiles of lip cosmetic products: concentrations, distribution and assessment of potential carcinogenic and non-carcinogenic human health risk for consumer safety. *Saudi Pharmaceutical Journal*, v. 30, n. 6, p. 779-792, 2022.

SHARAFI, K.; FATTAHI, N.; PIRSAHEB, M.; YARMOHAMADI, H.; FAZLZADEH, M. D. Trace determination of lead in lipsticks and hair dyes using microwave-assisted dispersive liquid-liquid microextraction and graphite furnace atomic absorption spectrometry. *International Journal of Cosmetic Science*, v. 37, p. 489-495, 2015.

SHISHOV, A.; VOLODINA, N.; SEMENOVA, E.; NAVOLOTSKAYA, D.; ERMAKOV, S.; BULATOV, A. Reversed-phase dispersive liquid-liquid microextraction based on decomposition of deep eutectic solvent for the determination of lead and cadmium in vegetable oil. *Food Chemistry*, v. 373, 131456, 2022.

SILVA, K. R. N.; PEREIRA, H. S.; NASCIMENTO, V. A.; RAPOSO JR., J. L. A greener sample preparation procedure using reverse-phase dispersive liquid-liquid microextraction for multielement determination of inorganic species in petroleum-derived samples. *Fuel*, v. 359, 130336, 2024.

SANTOS, M. P. O.; CARBONI, N. A.; FLORES, E. L. M.; CANAN, C.; LEITE, O. D.; DRUNKLER, D. A. Metals in pork lard: Determination by RP DLLME and FAAS, and risk estimation of daily intake. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 137, parte A, 106860, 2025.

SOARES, B. M.; PEREIRA, E. R.; MACIEL, J. V.; VIEIRA, A. A.; DUARTE, F. A. Assessment of dispersive liquid-liquid microextraction for the simultaneous extraction, preconcentration, and derivatization of Hg^{2+} and CH_3Hg^+ for further determination by GC-MS. *Journal of Separation Science*, v. 36, p. 3411-3418, 2013.

SOARES, B. M.; VIEIRA, A. A.; LEMÕES, J. S.; SANTOS, C. M. M.; MESKO, M. F.; PRIMEL, E. G.; MONTES D'OCA, M. G.; DUARTE, F. A. Investigation of major and trace element distribution in the extraction-transesterification process of fatty acid methyl esters from microalgae *Chlorella sp.* *Bioresource Technology*, v. 110, p. 730-734, 2012.

SÖGÜT, Ö. H.; REYHANLIOĞLU, M.; EZER, M.; BALTAS, H. Elemental compositions of some cosmetic products marketed in Turkey. *Fresenius Environmental Bulletin*, v. 25, p. 1068-1077, 2016.

SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE, C. B. *Química Orgânica*, v. 1, 9. ed., Rio de Janeiro: LTC, 2009.

SOROURADDIN, S. M.; FARAJZADEH, M. A.; PINOU, R.; OKHRAVI, T. Development of a reversed-phase dispersive liquid-liquid microextraction method for the extraction and preconcentration of lead and cadmium ions in some cosmetic products. *Chemical Papers*, v. 76, p. 2085-2092, 2022.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, Stanley R. *Fundamentals of Analytical Chemistry*, 9. ed. Boston: Cengage Learning, 2017.

TAKASHIMA, G. M. S. Microextração líquido-líquido dispersiva em fase reversa para a determinação de cobre, cromo e níquel em biodiesel por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica. Dissertação (Mestrado em Química) — Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2017.

TARIGH, G. D.r; SHEMIRANI, F. Magnetic multi-wall carbon nanotube nanocomposite as an adsorbent for preconcentration and determination of lead (II) and manganese (II) in various matrices. *Talanta*, v. 115, p. 744-750, 2013.

TARSISTRO, I. B. Microextração líquido-líquido dispersiva em fase reversa para determinação de Fe e Cu em óleo vegetal isolante. Dissertação (Mestrado em Química) — Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Paraná, 2022.

THERMO FISHER SCIENTIFIC. Safety Data Sheet: Hexanes, mixed isomers. Cat No. L13233. CAS N° 92112-69-1. Revision number 4. Revision date: 25 mar 2024. Creation date: 15 jun. 2009.

TINAS, H.; OZBEK, N.; AKMAN, S. Method development for the determination of cadmium in lipsticks directly by solid sampling high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Microchemical Journal*, v. 138, p. 316-320, 2018.

ULLAH, H.; NOREEN, S.; FOZIA, A.; REHMAN, A.; WASEEM, A.; ZUBAIR, S.; ADNAN, M.; AHMAD, I. Comparative study of heavy metals content in cosmetic products of different countries marketed in Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan. *Arabian Journal of Chemistry*, v. 10, p. 10-18, 2017.

VASCONCELOS, C. A. Desenvolvimento de pré-formulações cosméticas labiais e veganas. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) — Universidade Federal do Ceará, Ceará, 2022.

VIDAL, E. M.; LORENZETTI, A. S.; ALVAREZ, M. B.; DOMINI, C.; AGUIRRE, A. A.; VIDA, L.; CANALS, A. Reversed-phase dispersive liquid-liquid microextraction for elemental analysis in gasoline by inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, v. 36, p. 2338-2345, 2021.

VOLPE, M. G.; NAZZARO, M.; COPPOLA, R.; RAPUANO, F.; AQUINO, R. P. Determination and assessments of selected heavy metals in eye shadow cosmetics from China, Italy, and USA. *Microchemical Journal*, v. 101, p. 65-69, 2012.

VOICA, C.; IORDACHE, A. M.; ROBA, C.; NECHITA, C. Determination of toxic elements in facial cosmetics from the Romanian market and their health risk assessment. *Analytical Letters*, v. 56, n. 2, p. 244-256, 2023.

WANG, M. L.; VIVEKANAND, P. A.; YU, M. C. Hydrolysis of 4-methoxyphenylacetic acid butyl ester under liquid-liquid biphasic phase transfer condition and their kinetics. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, v. 43, p. 207-214, 2012.

WEGBUE, C. M. A.; BASSEY, F. I.; OBI, G.; TESI, G. O.; MARTINCIGH, B. S. Concentrations and exposure risks of some metals in facial cosmetics in Nigeria. *Toxicology Reports*, v. 3, p. 464-472, 2016.

WELZ, B.; BECKER-ROSS, H.; HEITAMANN, U.; VALE, M. G. R. High-resolution continuum-source atomic absorption spectrometry – What can we expect? *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 14, n. 2, p. 220-229, 2003.

WELZ, B.; SPERLING, Michael. *Atomic Absorption Spectrometry*. 3. ed. Weinheim: Wiley-VCH, 2005.

XIE, Q.; SUN, D.; XIA, M.; LU, H.; SHI, H.; HOU, B.; LI, D. Phase transfer catalyst-assisted reversed-phase dispersive liquid-liquid microextraction for the rapid determination of organic acids in Fischer-Tropsch oil products. *Fuel*, v. 275, 117882, 2020.

YAN, H.; WANG, H.; QIN, X.; LIU, B.; DU, J. Ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction for determination of fluoroquinolones in pharmaceutical wastewater. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 54, n. 1, p. 53-57, 2011.

YAVIR, K.; KONIECZNA, K.; MARCINKOWSKI, L.; KLOSKOWSKI, A. Ionic liquids in the microextraction techniques: The influence of ILs structure and properties. *Trends in Analytical Chemistry*, v. 130, 115994, 2020.

YILMAZCAN, O. U.; ERDEMİR, B.; IZGI, B.; OZER, E. T.; GUCER, S. Lead fractionation analysis in lipstick samples by inductively coupled plasma-mass spectrometry. *Spectroscopy Letters*, v. 48, p. 290-295, 2015.

ZAKARIA, A.; HO, Y. B. Heavy metals contamination in lipsticks and their associated health risks to lipstick consumers. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, v. 73, p. 191-195, 2015.