

DESENVOLVIMENTO DE UM MÉTODO DE MEFS COM CG-DIC PARA DETERMINAÇÃO DE 1,4 DIOXANA EM AMOSTRAS DE COSMÉTICOSFernando C. Silva^a, Cintia G. Faria, Geraldo M. Gabriel e Zenilda de L. Cardeal*

Departamento de Química/ICEx, Universidade Federal de Minas Gerais, CP 702, 31270-901 Belo Horizonte - MG

Recebido em 7/8/00; aceito em 19/2/01

SOILID-PHASE MICROEXTRACTION METHOD FOR THE DETERMINATION OF 1,4 DIOXANE IN COSMETICS. A headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) for the determination of 1,4 dioxane in cosmetics by gas chromatography is described. A manual SPME holder with 85 μm polyacrylate coating is utilized. The method is determined to have good resolution, satisfactory linearity (correlation coefficient $r=0.997$ for 0.20-10.00 mg Kg^{-1} range), a relative standard deviation of 6.3% and a detection limit of 5.00 $\mu\text{g Kg}^{-1}$. Some cosmetic products were analyzed.

Keywords: headspace solid-phase microextraction; 1,4 dioxane; cosmetic.

INTRODUÇÃO

Muitos cosméticos, como xampu, sabonete líquido, creme hidratante, protetor solar, etc. tem como principal ingrediente os surfactantes. Estes surfactantes são basicamente de dois tipos: surfactantes alquílicos de cadeia linear e surfactantes etoxilados.

Os surfactantes alquílicos de cadeia linear podem causar irritações na pele mesmo quando pequenas proporções (em torno de 2%) são usadas nos cosméticos¹.

Os surfactantes etoxilados são produzidos a partir da reação de álcoois de cadeia longa com óxido de etileno. Nesta reação, um sub-produto chamado 1,4 dioxana pode ser liberado². Quanto maior o grau de etoxilação maior a probabilidade de ocorrência de 1,4 dioxana. Ela pode ser removida dos compostos etoxilados através da adição de uma linha de vácuo no final do processo de polimerização.

Estudos de absorção cutânea³ demonstram que 1,4 dioxana tem grande permeabilidade na pele humana.

Esta substância é considerada como provável carcinogênica para o homem^{2,4,5}. Pois, estudos mostraram que ratos e macacos de ambos os sexos expostos a doses não tóxicas de 1,4 dioxana apresentaram um número estatisticamente significativo de tumores cancerígenos quando comparados com grupos controle de animais não expostos.

Por estas razões, é recomendável a validação de métodos confiáveis para a análise residual de 1,4 dioxana em cosméticos.

Existem vários métodos de análise residual de 1,4 dioxana por cromatografia gasosa. Alguns métodos⁶ utilizam técnicas clássicas de extração líquido-líquido, obtendo um baixo índice de recuperação (70-80%). Outros métodos^{7,8} utilizam extração por Headspace obtendo um bom índice de recuperação, mas com baixa repetibilidade (%S = 9) e alto limite de detecção (3 mg Kg^{-1}).

Uma técnica alternativa para análise de analitos voláteis é a Microextração por Fase Sólida (MEFS)^{9,10}. A MEFS é um método de extração e concentração pois, na primeira etapa, os analitos gasosos são liberados da solução e se concentram na superfície de uma fibra. Depois de um determinado tempo, na segunda etapa, a fibra é deslocada para o injetor de um cromatógrafo e os analitos são transferidos para uma coluna cromatográfica através de aquecimento. Na primeira etapa ocorre um processo de absorção, se a fibra é um filme líquido, ou de

adsorção para fibras de polímeros sólidos. A segunda etapa é o processo de dessorção. A possibilidade de escolha de diferentes tipos de fibra dão ao método uma alta seletividade. E a sorção em tempo pré-determinado aumenta a sensibilidade da técnica.

Este trabalho propõe um método de microextração por fase sólida para determinação residual de 1,4 dioxana em cosméticos utilizando cromatografia gasosa (CG) de alta resolução com detector por ionização em chama. Foram otimizadas as condições de adsorção e dessorção do método, estabelecendo-se sua faixa linear, repetibilidade e limite de detecção.

PARTE EXPERIMENTAL**Reagentes e amostras**

Foi utilizada 1,4 dioxana de grau analítico (Aldrich, USA). Os cosméticos analisados foram adquiridos nos hipermercados e farmácias comerciais de Belo Horizonte. Para construção da curva de calibração e testes de adsorção, dessorção, repetibilidade e limite de detecção foi utilizado um xampu comercial que não continha 1,4 dioxana, isto é ele não foi feito a partir de surfactantes etoxilados, não continha álcoois de cadeia longa ou solventes do tipo PEG (polietileno glicol, etc.).

Microextração por Fase Sólida

Para todas as análises foram utilizados frascos de vidro hermeticamente vedados com septos de teflon (Supelco, USA).

O sistema de MEFS e as fibras utilizadas foram adquiridos da Supelco. Alguns tipos de fibras foram testadas, foi selecionada uma fibra de poliacrilato com 85 μm de espessura de fase. Esta fibra foi condicionada, de acordo com as recomendações do fabricante, através de aquecimento no injetor do CG a 280°C por três horas.

Para o estudo de otimização das condições de análise foi utilizado o seguinte procedimento: adicionava-se 2,0000 g de xampu padrão (isento de 1,4 dioxana) nos frascos de 6 mL mais a quantidade necessária de 1,4 dioxana para se obter a concentração desejada. O frasco era então vedado com lacres de alumínio e septos de borracha butílica faceados com Teflon (Supelco, USA).

A fibra de MEFS era inserida no topo do frasco a uma altura pré-determinada (Figura 1) permanecendo algum tempo em contato com a fase gasosa que está em equilíbrio com a amostra. Em seguida a fibra foi transferida para o injetor do cromatógrafo para dessorção térmica dos compostos extraídos.

^a Endereço permanente: Departamento de Química, Universidade Federal do Maranhão, 65080-040 São Luiz - MA

* e-mail: zenilda@dedalus.lcc.ufmg.br

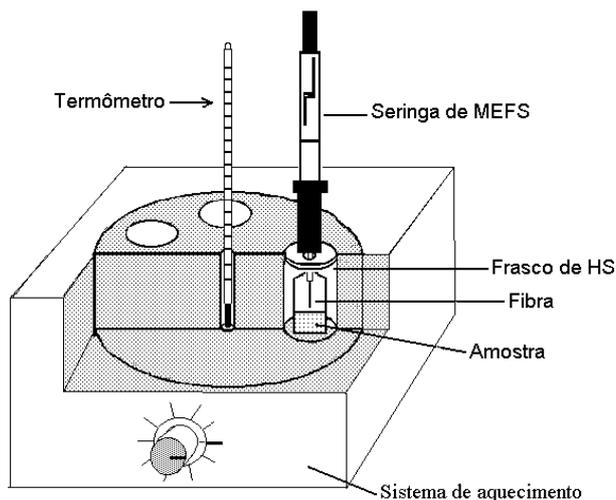


Figura 1. Sistema de aquecimento usado no método Headspace microextração por fase sólida.

A verificação da quantidade ideal de amostra para extração/dessorção foi feita pela adição de 250,0; 500,0; 1000,0 e 2000,0 μL de xampu contendo $3,0 \text{ mg Kg}^{-1}$ de 1,4 dioxana nos frascos de vidro. O tempo de dessorção era de 2 min e os frascos foram aquecidos a 60°C durante 10 min.

Os tempos de dessorção avaliados foram de 1, 2 e 3 minutos. Durante estes tempos a válvula do injetor era mantida fechada, no modo "splitless", sendo em seguida aberta, no modo "split", com razão de divisão de 1:30. Em todas as análises a fibra era mantida no injetor por 7 minutos.

Para o estudo de adsorção, o volume de amostra no frasco era de $1000,0 \mu\text{L}$ e o tempo de dessorção de 2 min.

Condições Cromatográficas

Foi utilizado um cromatógrafo a gás modelo Shimadzu GC-17A com um programa de integração CLASS-CR10. O injetor sem divisão de fluxo ("splitless") foi mantido a 220°C . O detector por ionização em chama foi mantido a 240°C . O gás de arraste era o hidrogênio com uma vazão de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$.

As análises foram feitas com uma coluna de metil-silicone SBP-1 (Supelco, USA) de $30 \text{ m} \times 0,25 \text{ mm d.i.} \times 0,25 \mu\text{m}$ de fase. Foi utilizada a seguinte programação de temperatura no forno: 50°C por 4 min seguida de rampa de aquecimento de 5°C/min até 70°C com patamar de 1 min, mais rampa de 20°C/min até 150°C com patamar de 3 min, e rampa de 20°C/min até 240°C com patamar final de 3 min.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Otimização do processo MEFS

O princípio fundamental da MEFS é a partição dos analitos entre a amostra e a cobertura (polímero) da fibra. Uma vez alcançado o equilíbrio a quantidade de analito extraída é diretamente proporcional a sua concentração na amostra e independente de acréscimos no tempo de extração. A equação abaixo descreve esta condição de equilíbrio:

$$n = \frac{K v_f v_s c_o}{K v_f + v_s} \quad (1)$$

onde, n é a quantidade de analito extraído pela fase polimérica; V_f e V_s são os volumes do polímero e da amostra respectivamente e C_o é a concentração inicial do analito na amostra.

Devido a alta afinidade dos polímeros pelos compostos

orgânicos, os valores de K_{fs} para os analitos são relativamente altos mostrando que a MEFS tem um grande efeito de concentração e portanto permitindo detecção com alta sensibilidade.

Quando se utiliza grandes volumes de amostras ($V_s > KV_f$), a quantidade do analito extraído pelo filme não é mais dependente do volume da amostra V_s e a equação 1 se transforma na seguinte relação:

$$n = K V_f C_o \quad (2)$$

Desta forma, foram estudadas as melhores condições para o volume de amostra dentro do frasco. A Figura 2 mostra que o volume de $1000,0 \mu\text{L}$ de amostra no frasco apresenta o melhor resultado. Este volume correspondia a cerca de 1,8 g de xampu, então para facilitar o manuseio dos cosméticos foi escolhida a utilização de 2,0000 g nos frascos de 6 mL.

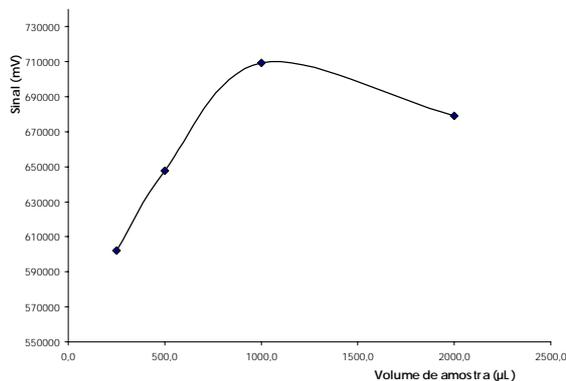


Figura 2. Estudo da eficiência da extração com a variação de volume no frasco HS. Condições descritas na parte experimental do texto.

A Figura 3 apresenta os resultados obtidos com a variação do tempo de dessorção, foi escolhido o tempo de 2 min e para evitar efeito de memória a fibra de MEFS foi mantida por mais cinco minutos no injetor do CG, no modo split.

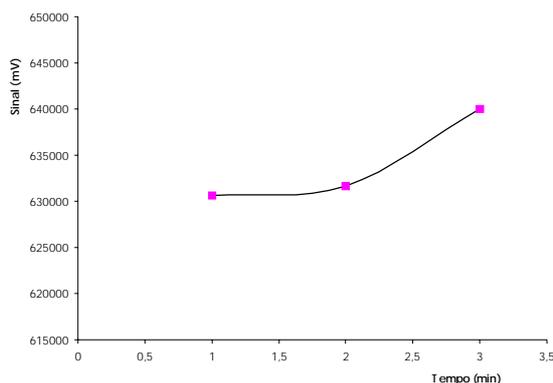


Figura 3. Efeito da variação de tempo de dessorção de uma solução de 1,4 dioxana $2,0 \text{ mg Kg}^{-1}$, demais condições na parte experimental do texto.

No modo utilizado, MEFS headspace, três fases estão envolvidas: a amostra, a fase headspace e o filme polimérico da fibra que são mantidos em um sistema fechado a uma dada temperatura. Então, o rendimento da extração depende do equilíbrio dos analitos entre estas três fases e neste sistema os coeficientes de partição dos analitos são diretamente dependentes da temperatura. Quanto maior a temperatura mais os analitos são transferidos da amostra se concentrando no headspace o que favorece

a extração. Por outro lado o aumento da temperatura reduz os coeficientes de partição dos analitos entre o filme polimérico e a fase headspace, já que o processo de adsorção dos analitos no filme da fibra é exotérmico e favorecido com o uso de temperaturas baixas.

A temperatura e o tempo de aquecimento (extração/adsorção) foram estudados. Os resultados são apresentados nas Figuras 4 e 5. Foram selecionadas as condições: aquecimento de 70°C por 30 minutos, pois temperaturas maiores não favorecem o processo exotérmico e foi atingido o patamar da eficiência de extração.

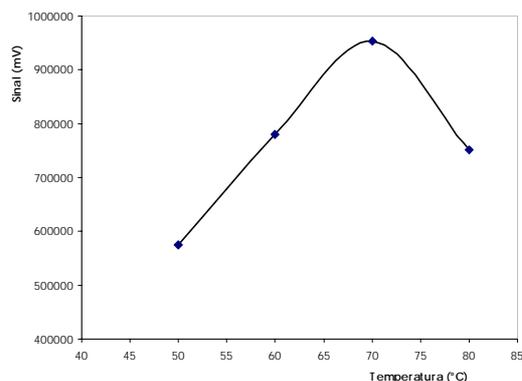


Figura 4. Avaliação da temperatura de extração/adsorção de 1,4 dioxana em 20 min de extração.

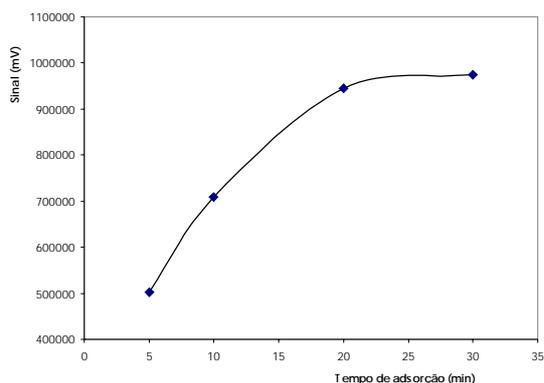


Figura 5. Estudo do tempo de extração/adsorção de uma solução de 1,4 dioxana 2,0 mg Kg⁻¹ a uma temperatura de 70°C.

Método CG-MEFS

A seletividade do procedimento está demonstrada na figura 6 que é o cromatograma de uma solução padrão de 1,4 dioxana em xampu. Há uma completa separação entre a 1,4 dioxana e todos os demais componentes voláteis detectados no xampu. Todos os cosméticos analisados apresentaram perfil cromatográfico semelhante com ausência de picos no início da análise ($t_r < 10$ min) e concentração de picos em torno de 20 min.

A linearidade do método foi determinada com a construção de uma curva de calibração nas concentrações de 0,20; 1,00; 2,00; 5,00 e 10,00 mg Kg⁻¹. Cada nível de concentração foi analisado em triplicata. O coeficiente de correlação r é de 0,997 e a equação que representa a correlação linear entre os pontos é: $y = 23061x + 6782,8$. Um estudo estatístico com um programa de análise de variância (tabela1) mostra que não há evidências de falta de ajuste da curva pois o valor de F obtido (1888,77) é muito maior que o valor de F tabelado ($F_{1,13} = 4,67$) no nível de confiança de 95%.

A repetibilidade foi determinada pela análise de sete soluções

Tabela 1. Análise de Variância.

Fonte	gL	Soma Quadrática	Média Quadrática	test F
Regressão	1	1,05x10 ¹¹	1,05x10 ¹¹	1888,77
Resíduos	13	7232776688,4	55636745,26	p=0,0001
Total	14	1,06x10 ¹¹		

1,00 mg Kg⁻¹ de 1,4 dioxana em xampu. O desvio padrão relativo foi de 6,3%. Como as injeções são feitas manualmente pode se considerar que o método tem uma boa precisão.

O limite de detecção, calculado a partir da relação sinal-ruído igual a três, foi de 5,0 µg Kg⁻¹ conferindo uma boa sensibilidade ao método.

Análise de cosméticos

A aplicação do método desenvolvido foi verificada através da análise de diferentes amostras de cosméticos. Foram avaliados 20 tipos de xampus, 4 tipos de sabão líquido, 6 tipos de cremes, 4 tipos de protetores solar e 2 desodorantes.

Das amostras analisadas, um xampu apresentava um teor de 1,4 dioxana de 3,99 mg Kg⁻¹, em um segundo xampu encontrou-se valor menor que 0,2 mg Kg⁻¹ de 1,4 dioxana e em um creme o teor era de 0,70 mg Kg⁻¹. Não foi detectada 1,4 dioxana nas demais amostras de cosméticos analisadas, mas a viabilidade do método foi claramente demonstrada.

CONCLUSÃO

Foi desenvolvido um método de microextração por fase sólida para determinação de 1,4 dioxana em cosméticos usando cromatografia gasosa de alta resolução com detector por ionização em chama. O processo de otimização mostrou que esta metodologia é seletiva e sensível. Ela apresenta uma boa repetibilidade e é linear na faixa de interesse. A análise de diferentes amostras comerciais demonstrou a viabilidade do método para análise de 1,4 dioxana residual em cosméticos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq, FAPEMIG e CAPES pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

1. U.S. Environmental Protection Agency: *Integrated Risk Information System on 1,4-Dioxane*; Office of Health and Environmental Assessment; Cincinnati, OH. 1993.
2. Birkel, T.J.; Warner, T.F.; *J. Assoc. off. Anal. Chem.* **1979**, *62*, 931.
3. U. S. Food and Drug Administration: *Cosmetic Ingredient Review*; Office of Cosmetics Fact Sheet, Washington, DC. 2000.
4. International Agency for Research on Cancer: *IARC Monography 11*; World Health Organization, Lyon. 1978.
5. Stoner, G. D.; Conram, P. B.; Greiser, E. A.; Stober, J.; Morgan, M.; Pereira, M. A.; *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **1986**, *82*, 19.
6. Black, D. B.; Lawrence, R. C.; Lovering E. G.; Watson, J. R.; *J. Assoc. off. Anal. Chem.* **1983**, *66*, 180.
7. Rastogi, S. C.; *Chromatographia* **1990**, *29*, 441.
8. Wala-Jerzykiewicz, A.; Szymanowski, J.; *Chem. Anal.* **1996**, *41*, 253.
9. Pawlisyn, J.; *Solid Phase Microextraction-Theory and Practice*; Wiley-VCH, New York 1997.
10. Boy-Boland, A. A.; Pawlisyn, J.; *Anal. Chem.* **1996**, *68*, 1521.