

UNIVERSIDADE ANHANGUERA DE SÃO PAULO – UNIAN - SP
Curso de Pós-Graduação Stricto Sensu
Farmácia: Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos

RAFAEL TEMÍSTOCLES RIBEIRO

**Desenvolvimento e Validação de Análise de
Doseamento Simultâneo de Filtros Solares por
Espectrofotometria no Infravermelho**

SÃO PAULO

2014

MESTRADO PROFISSIONAL EM FARMÁCIA NA ÁREA
DE PRODUTOS NATURAIS E SINTÉTICOS BIOATIVOS

**Desenvolvimento e Validação de Análise de
Doseamento Simultâneo de Filtros Solares por
Espectrofotometria no Infravermelho**

Dissertação apresentada à
Universidade Anhanguera UNIAN de
São Paulo, como requisito para a
obtenção do título de Mestre em
Farmácia na Área de Produtos
Naturais e Sintéticos Bioativos.

Orientadora: Dra Regina M S Pereira

SÃO PAULO

2014

UNIVERSIDADE ANHANGUERA DE SÃO PAULO
Mestrado Profissional em
Farmácia Produtos Naturais e
Sintéticos Bioativos

Rafael Temistocles Ribeiro

Desenvolvimento e Validação de Análise de
Doseamento Simultâneo de Filtros Solares por
Espectrofotometria no Infravermelho

Aprovado em:

26 de fevereiro de 2018

Banca Examinadora:

M. Harris

1º Membro Titular Externo: Dra. Maria Inês N. de Camargo Harris

Roberta Alonso

2º Membro Titular Interno :Dra Roberta Caroline Alonso

Regina Mara Silva Pereira

Presidente Orientadora: Dra. Regina Mara Silva Pereira

Aos meus pais, Vanderlei e Estela, por me conduzirem até aqui.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente à minha orientadora Regina Mara, pelo incentivo, confiança, paciência, dedicação e eterno carinho.

Agradeço à minha família, meu pai Vanderlei e minha mãe Maria Estela e minha irmã Nendy, por tanta dedicação e cuidados dispensados durante toda minha vida; pelo apoio e incentivos inumeráveis, sem os quais seria impossível esta realização.

À minha companheira Beatriz, pelo seu carinho, incentivo e paciência na condução desse trabalho.

Aos professores doutores Cristina Eunice Okuyama, Claudete Justina Valduga, Luiz Carlos Marques, Márcia Regina Machado dos Santos, Maria Cristina Marcucci Ribeiro, Paulo Celso Pardi, Sérgio de Mendonça, Suzana Nogueira Diniz; pelo conhecimento técnico e pelas aulas ministradas com empenho e dedicação.

À professora Doutora Maria Inês N. C. Harris e ao Instituto Harris pelos conselhos, cooperação e auxílio, além das amostras cedidas para o desenvolvimento do trabalho.

Aos técnicos de laboratório Ivair e Cristina pela ajuda e empenho prestados.

Aos colegas de sala por partilharem experiência e força para a realização dos trabalhos.

Aos meus amigos por me proporcionarem maravilhosos momentos e distração, os quais me dão energia para seguir em frente.

A todo o grupo administrativo e docente da UNIBAN por tornarem possível a realização deste sonho.

E a Deus, o grande responsável por tudo isso: tudo o que sou, toda a força que tive, a saúde que tenho e as pessoas que colocou ao meu redor.

RESUMO

Os filtros solares são compostos que absorvem ou refletem a radiação ultravioleta e são utilizados em produtos, considerados cosméticos pela legislação brasileira. Este trabalho mostra o desenvolvimento e a validação de um método de avaliação de doseamento simultâneo de filtro solar por espectrofotometria na região do infravermelho médio. A espectrofotometria no infravermelho é uma técnica que se baseia nas vibrações das moléculas, fornecendo informações sobre a estrutura molecular, níveis de energia e ligações químicas e a validação é o ato documentado que atesta que qualquer procedimento, processo, equipamento, material, operação ou sistema realmente conduza os resultados verdadeiros. Por meio de estudos experimentais deve-se haver garantia de que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados. A RE no. 899 de 29 de maio de 2003 estabelece a definição dos parâmetros para a Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos.

Utilizando espectrôfotometro com transformada de Fourier para o refinamento dos dados e equipamento de Reflectância Total Atenuada, que possibilita a obtenção de espectros de forma não destrutiva das amostras, o método possibilita a análise de formulações contendo misturas binárias de filtros solares e foi validado por apresentar resultados condizentes com o esperado com base nos parâmetros validados da precisão, exatidão, linearidade e especificidade.

Palavras-chave: filtros solares, espectrofotometria infravermelha, validação de metodologia analítica.

ABSTRACT

Sunscreens are compounds that absorb or reflect UV radiation and are used in products, cosmetics considered by Brazilian law. This work presents the development and validation of an evaluation method for simultaneous determination of sunscreen by spectrophotometry in the mid-infrared region. The infrared spectroscopy is a technique that is based on the vibrations of the molecules, providing information on the molecular structure, energy levels and chemical bonds and Validation is the documented act stating that any procedure, process, equipment, material, or operating system actually drive the true results. Through experimental studies must be no assurance that the method meets the requirements of analytical applications, ensuring the reliability of the results. The RE n. 899 of 29 May 2003, establishes the definition of the parameters for the Validation of Analytical and Bioanalytical Methods.

Using Fourier transform spectrometer for the refinement of the data and Attenuated Total Reflectance equipment, which enables obtaining spectra of samples non-destructively, the method enables the analysis of formulations containing sunscreens and binary mixtures was validated by presenting results consistent with expectations based on the validated parameters of precision, accuracy, linearity and specificity.

Keywords: sunscreens, infrared spectrophotometry, validation of analytical methodology.

LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA – Agência de Vigilância Sanitária

ATR – Attenuated Total Reflectance (Refletância Total Atenuada)

CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

DEM – Dose Eritematosa Mínima

DNA – Ácido Desoxi Ribonucléico

EUA – Estados Unidos da América

FDA – Food and Drug Administration

FIR – Infravermelho distante

FPS – Fator de Proteção Solar

INCA – Instituto Nacional do Câncer

IV – Infravermelho

MERCOSUL – Mercado Comum do Sul

MIR – Mid Infrared (Infravermelho Médio)

MS – Ministério da Saúde

NIR – Near Infrared (Infravermelho próximo)

OCT – Octocrylene

OMC – Octyl Methoxycinnamate

OMS – Organização Mundial de Saúde

OS – Octyl Salicylate

RDC – Resolução da Diretoria Colegiada

RNA – Ácido Ribonucléico

SUS – Secretaria de Vigilância Sanitária

UV – Ultravioleta

UVA – Ultravioleta A

UVB – Ultravioleta B

UVC – Ultravioleta C

LISTA DE FIGURAS E GRÁFICOS

Figura 1 – Figura representativa das camadas da pele

Figura 2 – Estrutura molecular do Octyl Methoxycinnamate

Figura 3 – Estrutura molecular do Octyl Salicilate

Figura 4 – Estrutura molecular do Octocrylene

Figura 5 - Vibrações de estiramento e angulares de moleculares

Figura 6 – Figura representativa do acessório de ATR

Figura 7 – Espectro infravermelho do Octocrylene

Figura 8 – Espectro infravermelho do Octyl Methoxycinnamate

Figura 9 – Espectro infravermelho do Octyl Salicilate

Figura 10 – Espectro IV da sobreposição dos filtros OMC e OS

Figura 11 – Espectro IV da sobreposição dos filtros OS e OCT

Gráfico 1 – Curva de Calibração do filtro OMC (Formulação OS x OMC)

Gráfico 2 – Curva de Calibração do filtro OS (Formulação OS x OMC)

Gráfico 3 – Curva de Calibração do filtro OCT (Formulação OS x OCT)

Gráfico 4 – Curva de Calibração do filtro OS (Formulação OS x OCT)

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Filtros aprovados para uso pela ANVISA e sua concentração máxima permitida.

Quadro 2 – Preparo de amostras das curvas de calibração da formulação OS x OMC.

Quadro 3 – Preparo de amostras das curvas de calibração da formulação OS x OCT.

Quadro 4 – Preparo de amostras de ensaio de repetibilidade da formulação OS x OMC.

Quadro 5 – Preparo de amostras de ensaio de repetibilidade da formulação OS x OCT.

Quadro 6 – Preparo de amostras de ensaio de precisão intermediária da formulação OS x OMC.

Quadro 7 – Preparo de amostras de ensaio de precisão intermediária da formulação OS x OCT.

Quadro 8 – Preparo de amostras de ensaio de exatidão da formulação OS x OMC.

Quadro 9 – Preparo de amostras de ensaio de exatidão da formulação OS x OMC.

Quadro 10 – Relação Concentração x Absorbância do filtro (Formulação OS x OMC).

Quadro 11 – Relação Concentração x Absorbância do filtro (Formulação OS x OMC).

Quadro 12 – Relação Concentração x Absorbância do filtro (Formulação OS x OCT).

Quadro 13 – Relação Concentração x Absorbância do filtro (Formulação OS x OCT).

Quadro 14 – Dados de ensaio de repetibilidade da amostra A (Formulação OS x OMC).

Quadro 15 – Dados de ensaio de repetibilidade da amostra B (Formulação OS x OMC).

Quadro 16 – Dados de ensaio de repetibilidade da amostra C (Formulação OS x OMC).

Quadro 17 – Dados de ensaio de repetibilidade da amostra A (Formulação OS x OCT).

Quadro 18 – Dados de ensaio de repetibilidade da amostra B (Formulação OS x OCT).

Quadro 19 – Dados de ensaio de repetibilidade da amostra C (Formulação OS x OCT).

Quadro 20 – Dados de ensaio de precisão intermediária da amostra A (Formulação OS x OMC).

Quadro 21 – Dados de ensaio de precisão intermediária da amostra B (Formulação OS x OMC).

Quadro 22 – Dados de ensaio de precisão intermediária da amostra C (Formulação OS x OMC).

Quadro 23 – Dados de ensaio de precisão intermediária da amostra A (Formulação OS x OCT).

Quadro 24 – Dados de ensaio de precisão intermediária da amostra B (Formulação OS x OCT).

Quadro 25 – Dados de ensaio de precisão intermediária da amostra C (Formulação OS x OCT).

Quadro 26 – Resultados comparativo repetibilidade por precisão intermediária (OS x OMC).

Quadro 27 – Resultados comparativo repetibilidade por precisão intermediária (OS x OMC).

Quadro 28 – Resultados do ensaio de exatidão da amostra A (Formulação OS x OMC).

Quadro 29 – Resultados do ensaio de exatidão da amostra B (Formulação OS x OMC).

Quadro 30 – Resultados do ensaio de exatidão da amostra C (Formulação OS x OMC).

Quadro 31 – Resultados do ensaio de exatidão da amostra A (Formulação OS x OCT).

Quadro 32 – Resultados do ensaio de exatidão da amostra B (Formulação OS x OCT).

Quadro 33 – Resultados do ensaio de exatidão da amostra C (Formulação OS
x OCT).

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1	RADIAÇÃO SOLAR	18
2.2	FILTROS SOLARES	20
2.3	CLASSIFICAÇÃO DOS FILTROS SOLARES	23
2.4	FATOR DE PROTEÇÃO SOLAR	26
2.5	A LEGISLAÇÃO DE PROTETORES SOLARES	28
2.6	ESPECTROFOTOMETRIA NO INFRAVERMELHO	30
2.7	VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS	36
3	OBJETIVO	40
3.1	OBJETIVO GERAL	40
3.2	OBJETIVO ESPECÍFICO	40
4	JUSTIFICATIVA	41
5	EXPERIMENTAL	42
5.1	OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS	42
5.2	ESPECIFICIDADE	43
5.3	LINEARIDADE	45
5.3.1	Formulação Octyl Methoxycinnamate e Octyl Salicilate	45
5.3.2	Formulação Octocrylene e Octyl Salicilate	46
5.4	PRECISÃO	48
5.4.1	Repetibilidade	48
5.4.1.1	Formulação Octyl Methoxycinnamate e Octyl Salicilate	48
5.4.1.2	Formulação Octocrylene e Octyl Salicilate	49
5.4.2	Precisão Intermediária	49
5.4.2.1	Formulação Octyl Methoxycinnamate e Octyl Salicilate	49
5.4.2.2	Formulação Octocrylene e Octyl Salicilate	50
5.5	EXATIDÃO	51
5.5.1	Formulação Octyl Methoxycinnamate e Octyl Salicilate	51
5.5.2	Formulação Octocrylene e Octyl Salicilate	52
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
6.1	ESPECIFICIDADE	53
6.2	LINEARIDADE	54
6.2.1	Formulação Octyl Methoxycinnamate e Octyl Salicilate	54
6.2.2	Formulação Octocrylene e Octyl Salicilate	56
6.3	PRECISÃO	59
6.3.1	Repetibilidade	59
6.3.1.1	Formulação Octyl Methoxycinnamate e Octyl Salicilate	59
6.3.1.2	Formulação Octocrylene e Octyl Salicilate	60
6.3.2	Precisão Intermediária	61
6.3.2.1	Formulação Octyl Methoxycinnamate e Octyl Salicilate	61

6.3.2.2	Formulação Octocrylene e Octyl Salicilate	62
6.4	EXATIDÃO	64
6.4.1	Formulação Octyl Methoxycinnamate e Octyl Salicilate	64
6.4.2	Formulação Octocrylene e Octyl Salicilate	67
7	CONCLUSÕES	71
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	72

1 INTRODUÇÃO

A agressão do Sol à pele não se limita a queimadura solar, com cujas manifestações estamos bastante familiarizados (rubor, edema, formação de bolhas e desprendimento de pele); ela é na realidade acumulativa e irreversível sendo capaz de produzir alterações das fibras de colágeno e de elastina, perda de tecido adiposo subcutâneo e fotocarcinogênese. Estima-se que no ritmo atual cerca de um entre sete brasileiros desenvolverá câncer de pele e a tendência é aumentar aproximadamente 5% ao ano (CORRÊA, 2012).

Recentes descobertas nas áreas de fotoquímica e biologia resultaram em uma maior preocupação com a radiação solar. A destruição significativa da camada estratosférica de ozônio ocorre, principalmente, devido a algumas atividades do homem. A camada de ozônio é a proteção da Terra contra raios ultravioletas (UV), reduzindo os efeitos adversos dos raios UV ao ser humano incluindo queimadura solar, conjuntivite, câncer de pele, envelhecimento precoce, entre outros (RIBEIRO et al, 2004).

A proteção efetiva contra a radiação solar está disponível, comercialmente, na forma de formulações químicas conhecidas como filtros solares ou bloqueadores solares. O mercado desses produtos iniciou um verdadeiro crescimento a partir de 1978, quando o órgão regulador norte-americano, o Food and Drug Administration (FDA), classificou como fármaco os produtos contendo filtros solares e permitiu a propaganda de sua função na proteção contra as queimaduras solares, o envelhecimento precoce e o câncer de pele. Inicialmente, os filtros foram formulados para diminuir as queimaduras solares e, posteriormente, para proteção contra os efeitos crônicos da exposição solar, como o fotoenvelhecimento e o câncer de pele. Os produtos modernos apresentam proteção muito maior e agregam o conceito de “multifuncionalidade”, ou seja, além da proteção contra a queimadura solar, apresentam ação na prevenção do fotoenvelhecimento e do câncer de pele. Além disso, é desejável que apresentem resistência à água e ao suor, que tenham cosmética agradável facilitando a aderência do paciente, que

favoreçam a manutenção da hidratação da pele e que tenham ação contra radicais livres e proteção ao DNA celular (CORRÊA, 2012; MONTEIRO, 2010).

A eficácia de uma formulação de protetor solar é comumente determinada pela maior ou menor proteção proporcionada contra a queimadura solar, apresentada através de um índice conhecido como Fator de Proteção Solar (FPS). O FPS é classificado como a razão entre a quantidade de energia necessária para produzir eritema mínimo na pele protegida pelo filtro solar e a quantidade de energia que leva ao mesmo grau de eritema a pele não protegida (CORRÊA, 2012).

No Brasil, a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) dispõe na RDC 30 de junho de 2012, que os protetores solares são produtos cosméticos destinados a promover proteção contra a radiação solar, absorvendo, dispersando ou refletindo a radiação UV.

Para determinar a quantidade de uma substância em uma formulação ou para se determinar o teor de uma matéria prima, deve-se fazer a determinação quantitativa da substância presente em uma amostra. Sobre a quantificação de filtros solares em formulações, a literatura apresenta metodologias baseadas em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), entretanto tais métodos requerem maior tempo e atenção de analistas, além do uso de solventes e seus gastos. A ausência de metodologias em compêndios oficiais, como a Farmacopéia, colabora para o surgimento de novas metodologias desde que sejam validadas. O desenvolvimento de novas tecnologias voltadas para a produção e controle de qualidade de fármacos e cosméticos tem objetivado grande interesse em centros de ensino e pesquisa. O uso da espectroscopia no IV é uma técnica potencialmente rápida, fácil e principalmente, não destrutiva. Por esta razão existe um crescente interesse por parte da indústria farmacêutica por aplicações analíticas da espectroscopia no IV (CONCEIÇÃO, 2009; ZENI, 2005)

Utilizada na espectroscopia no IV, a técnica da reflexão total atenuada (ATR) baseia-se no fenômeno da reflexão total da radiação na interface de matérias com índices de refração diferentes. A técnica permite a obtenção de espectros com rapidez quando comparado ao modo clássico de obtenção de espectros de IV, sendo também uma técnica não destrutiva o que colabora com a justificativa do método utilizado no presente trabalho. A técnica é referida comumente na literatura como uma técnica empregada em análises de medicamentos, entretanto, não foram encontradas referências da sua aplicabilidade em formulações cosméticas (FILHO & POPPI, 2002; ZENI, 2005).

Devido ao aumento no número de novos sistemas e equipamentos para o controle de qualidade, a ANVISA buscou as aplicações utilizadas em outros países e criou resoluções a fim de regulamentar tais metodologias e equipamentos, referindo-se a validação de metodologias analíticas. A validação é, em si, o ato documentado que atesta que qualquer procedimento, processo, equipamento, material, operação ou sistema que conduza aos resultados verdadeiros. A RE N^o 899 de 23 de maio de 2003 dispõe sobre as características a serem consideradas durante a validação de procedimentos analíticos (CONCEIÇÃO, 2009; RIBEIRO, 2004)

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 RADIAÇÃO SOLAR

O Sol é essencial para a vida na Terra, sendo fonte de luz, calor e energia. Através de sua radiação eletromagnética promove efeitos benéficos, como a formação de vitamina D, a manutenção do metabolismo construtivo de cálcio e fósforo nos ossos e além de atuar terapeuticamente em algumas patologias cutâneas como a psoríase, o vitiligo e a icterícia neonatal, dentre outras (SILVA, 2007).

O Sol emite radiações com diversos comprimentos de ondas, entretanto, considerando a totalidade de energia emitida pelo sol, aproximadamente 93% é retida pela atmosfera e somente 7% atinge a Terra. As ondas de energia eletromagnéticas (raios, fótons), transmitidas pelo Sol através do espaço, variam em razão da longitude de onda (distância entre duas cristas de duas ondas sucessivas); da amplitude de onda (distância vertical entre a crista positiva e a negativa) e de frequência (número de vibrações por unidade de tempo). Todos os raios ou ondas viajam na velocidade da luz (300.000 Km/s), porém, naturalmente, a onda menor tem que suceder-se mais rapidamente que as maiores para percorrer a mesma distância no mesmo tempo, tornando-se, desta forma, mais energética. Os sentidos corporais dos seres humanos estão adaptados para perceber somente uma proporção muito pequena destes raios: a luz visível e o calor, sendo que a maioria das radiações somente pode ser detectada ou registrada por instrumentos mais delicados e sensíveis que os olhos e as terminações nervosas humanas (CORRÊA, 2012; SILVA, 2007).

O espectro solar terrestre compreende três zonas fundamentais: a luz visível, a ultravioleta (UV) e a infravermelha (IV). O espectro solar terrestre nos proporciona aproximadamente: 15% de UV; 60% de luz visível; 25% de infravermelha. Antes das radiações mais curtas (UV), encontram-se os raios-X, emitidas por substâncias radiativas e provenientes dos raios cósmicos. Após as radiações IV, encontram-se as chamadas ondas curtas (de ação calórica e

empregada em fisioterapia), as ondas hertzianas (rádio) e as ondas longas da telegrafia sem fio. Considerando que a energia das radiações é inversamente proporcional ao seu comprimento de onda, a região ultravioleta, quando comparada as regiões do infravermelho e do visível, possui o menor comprimento de onda, e, portanto dotados de forte energia (CORRÊA, 2012; SILVA, 2007).

As radiações IV superiores a 1000 nm são em grande parte absorvidas pelo vapor de água atmosférico e pelo gás carbônico. São capazes de atravessar a epiderme e serem absorvidos pela derme, onde sua energia transforma-se em calor, aumentando a temperatura da pele provocando vasodilatação (CORRÊA, 2012; SILVA, 2007).

Os raios visíveis, que se estendem entre 400 e 700 nm, possuem graus diversos de energia calórica, luminosa e química, porém atravessam facilmente a atmosfera onde sua energia é bastante reduzida pelas partículas de poeira e pela fumaça suspensa (CORRÊA, 2012; SILVA, 2007).

As radiações UV, extremamente energéticas, são suficientes para causar reações fotoquímicas, resultando em efeitos que podem afetar a pele de forma aguda ou crônica. Didaticamente são divididas em três partes: UVA (longas), UVB (medianas) e UVC (curtas). A radiação UVA, que corresponde à faixa de comprimento de onda equivalente a 315 a 400 nm, não produzem eritema, são pigmentógenas, responsáveis pela pigmentação imediata de curta duração (bronzado) e ainda caracterizam-se por uma fraca ação bactericida. A radiação UVB, que corresponde à faixa de comprimento de onda equivalente a 280 a 315 nm, são eritematógenas, porém, responsáveis pelo bronzeamento tardio e indireto. A radiação UVC, que corresponde a faixa de comprimento de onda equivalente a 100 a 280 nm, é absorvida pela atmosfera (CORRÊA, 2012; SILVA, 2007).

2.2 FILTROS SOLARES

O filtro solar é uma substância de uso tópico que tem a capacidade de refletir ou absorver as radiações UV que atingem a pele, minimizando assim os efeitos danosos dessas radiações sobre a mesma. Um fotoprotetor pode ser denominado como uma formulação contendo 2 ou mais filtros solares, porém existem atualmente formulações contendo apenas um filtro solar. Eles podem ser classificados também como fotoprotetor desde que forneça proteção necessária frente a radiação UV(SILVA, 2007).

Ao considerar a história dos fotoprotetores pode-se afirmar que os filtros solares foram introduzidos comercialmente em 1928, nos EUA, com o lançamento de uma emulsão contendo dois filtros químicos UVB, o *Salicilato de benzila* e o *Cinamato de benzila*. A partir de então, países como a França e Austrália também fizeram seus lançamentos, num mercado que na época poucos acreditavam ser tão promissor (CORRÊA, 2012).

Para oferecer a alta proteção necessária, os fotoprotetores modernos associam diferentes filtros em conjunto, numa só formulação. Dessa maneira, as concentrações individuais necessárias de cada filtro são reduzidas e, assim, diminuídas os eventuais efeitos adversos. Outro benefício da combinação é a ação sinérgica de alguns filtros, potencializando a ação fotoprotetora. Mais recentemente, a adição de ativos contra o fotodano nas formulações de filtros solares vem crescendo. Ativos como antioxidantes, reparadores celulares e moléculas com atividade anti-inflamatória vem sendo estudados na tentativa de reduzir o dano UV induzido. Por isso os novos filtros solares devem ter ação multifuncional. Não basta o filtro proteger contra a radiação UV do Sol, ele deve impedir o ressecamento e a desidratação da pele, proteger contra os radicais livres formados como subproduto do metabolismo celular, deve ter alto desempenho cosmética para aumentar a aderência do paciente e serem de amplo espectro. Um produto com fotoprotetor de ter ação hidratante se for indicado para pacientes de pele seca (MONTEIRO, 2010)

O conceito de novos fotoprotetores deve estar de acordo com as com as necessidades dos usuários e logo, atender as exigências do mercado. As necessidades dos usuários, que têm uma vida ativa e corrida, que não têm

tempo de usar vários produtos para proteger sua pele das agressões do meio ambiente, como sol do dia-a-dia, ressecamento, frio, vento, poluição, etc., mas que não querem deixar de proteger sua pele dos riscos causados pelo meio ambiente (MONTEIRO, 2010)

A legislação norte-americana classifica os protetores solares como medicamentos não prescritivos e relaciona 16 substâncias aprovadas como filtros UV permitidas para uso em fotoprotetores. No Brasil, a ANVISA define os protetores como produtos cosméticos grau 2 e apresenta a relação de filtros ultravioleta permitidos, contendo 38 ingredientes ativos. A quadro 1 apresenta alguns filtros permitidos no Brasil e a respectiva concentração máxima permitida pela ANVISA (CORREA, 2012).

Filtros	Concentração Máxima
Ácido P-aminobenzoico (PABA)	15%
Octyl Dimethyl PABA	8%
P-aminobenzoato etoxilato	10%
Isoamyl-p-methoxycinnamate	10%
Octyl Methoxycinnamate	10%
Cinoxate	3%
Homosalate	15%
Octyl Salicylate	5%
TEA-Salicylate	12%
Octocrylene	10%
Phenylbenzimidazole Sulfonic Acid	8%
4-Methylbenzylidene Camphor	4%
Benzylidene Camphor	6%
Camphor Benzallonium Methosulfate	6%
Benzophenone - 2	10%
Benzophenone - 3	10%
Benzophenone - 4 (acid)	10%
Benzophenone - 8	3%
Butylmethoxydibenzoylmethane	5%
Menthyl Anthranilate	5%
Drometrizole Trisiloxane	15%
Octyl Triazone	5%

Fonte: Adaptado de CORREA, 2012

O primeiro relato sobre a avaliação da eficácia dos protetores solares foi feito por Friedrich Ellinger em 1934. O autor realizava a determinação da Dose Eritematosa Mínima (DEM) na pele protegida e não protegida, utilizando ambos os antebraços e lâmpada de mercúrio e propunha um coeficiente de proteção que decrescia em valor na medida em que a proteção aumentava (SHALKA & REIS, 2011)

Os fotoprotetores são de venda livre, não necessitando de prescrição ou notificação médica. No entanto, a orientação profissional quanto ao uso correto e outras informações importantes referentes aos produtos fotoprotetores é escassa, cabendo aos usuários a responsabilidade pela escolha. Para garantir que estes produtos vão reproduzir os efeitos desejados, eles devem ser aplicados de maneira correta, por isso a orientação farmacêutica é muito importante. Assim, evidencia-se também a importância de orientações referentes ao uso nos dizeres de rotulagem dos produtos conforme a legislação vigente (CORRÊA, 2012; SILVA, 2007).

Estudos já realizados relatam que os filtros UV podem sofrer degradação quando expostos à radiação UV natural ou artificial através de reações de fotodegradação, comprometendo assim suas propriedades físicas e levando à formação de foto-produtos indesejáveis que se acumulam na pele humana. Como tal, sofrem também degradação através da luz solar quando são descarregados em ambiente aquático por intervenção da atividade humana, como o banho (CRISTA, 2012)

2.3 CLASSIFICAÇÃO DOS FILTROS SOLARES

Os filtros solares podem agir de duas maneiras distintas, seja absorvendo a radiação incidente ou refletindo a mesma, sendo classificados pela sua estrutura ou modo de ação. São denominados filtros inorgânicos (também denominados de filtros físicos) as substâncias que agem por refletir a radiação, pois formam uma barreira física que não permite a passagem da radiação. Entre esses protetores se destacam o dióxido de titânio e o óxido de zinco. Já os filtros orgânicos (também denominados de filtros químicos) são aqueles que possuem a característica de absorver a radiação incidente e transformar em outro tipo de energia como a infravermelha, por exemplo. No entanto, esta classificação apresenta um caráter comercial e muitos especialistas ditam a necessidade da classificação ser reavaliada. Os mesmos incitam que a classificação mais sensata é de que nos filtros inorgânicos tenham a presença de óxidos metálicos enquanto nos filtros orgânicos tenha a presença de compostos orgânicos. (RIBEIRO, 2004; FLOR et. al., 2007).

Os filtros inorgânicos apresentam relativa estabilidade, não reagem com os filtros orgânicos, e, geralmente, são mais seguros clinicamente. Deste modo, são considerados a primeira escolha para protetores solares destinados a pacientes com histórico de alergia e uso infantil. Entretanto, há alguns inconvenientes ao seu uso como a sua coloração opaca esbranquiçada sobre a pele após a sua aplicação e, logo, a sua transferência para as vestimentas. Estudos recentes apresentam versões micro-particuladas desses óxidos que representam um grande avanço, pois não deixam película perceptível sobre a pele. Entretanto, a alta polaridade destes produtos dificulta muitas vezes sua incorporação nas preparações protetoras. Tal situação agrava-se quando necessitamos preparar produtos com alto FPS, pois, além dessas dificuldades, deparamos com problemas relativos às quantidades máximas permitidas pela legislação (BALOGH et al., 2011; FLOR et. al., 2007).

Os filtros orgânicos são, em sua maioria, compostos aromáticos conjugados com grupos carboxílicos e possuem um grupo doador de elétrons como, por exemplo, uma amina ou metoxila na posição *orto* ou *para* do anel aromático. O mecanismo de ação desses filtros está ligado à absorção da

radiação UV e, logo, a excitação do orbital π HOMO (orbital molecular preenchido de mais alta energia) para o orbital π^* LUMO (orbital molecular vazio de mais baixa energia). Essas moléculas ao retornarem aos seus estados fundamentais, liberam o excesso de energia absorvida na forma de calor, por exemplo. (BALOGH et al., 2011; CORRÊA, 2012; FLOR et. al., 2007)

Essencialmente os filtros orgânicos são divididos em filtros UVA e UVB promovendo proteção a radiação correspondente, porém existem também os filtros que promovem proteção frente tanto a radiação UVA quanto UVB. Os filtros UVB são efetivos e podem filtrar 90% da radiação e são amplamente usados há décadas enquanto os filtros UVA e aqueles de amplo espectro são resultados de pesquisas recentes. Produtos diversos utilizam a combinação de diferentes filtros UVA/UVB com o objetivo de obtenção da proteção de amplo espectro (BALOGH et al., 2011).

Os filtros UVB absorvem cerca de 90% da radiação de comprimento de onda entre 290 a 320 nm. Os cinamatos são os filtros UVB mais populares na Europa e nos EUA, apresentam um potencial inferior de causar irritabilidade à pele e são pouco solúveis em água. Entretanto apresentam um menor tempo de proteção após a aplicação. O grupo dos cinamatos pode ser representado pelo Octyl Methoxycinnamate, sendo este considerado o filtro UVB mais potente capaz de absorver o comprimento de onda compreendido entre 270 a 328 nm. Vários produtos cosméticos como bases de maquiagens, batons e condicionadores sem enxague contêm o Octyl Methoxycinnamate. (BALOGH et al., 2011; PEREIRA, 2008).

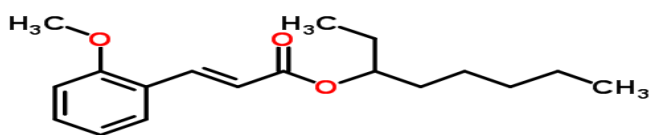


Figura 2 – Estrutura molecular do Octyl Methoxycinnamate – fonte:
<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.21377419.html?rid=805eacaa-d907-4371-bbbf-8c1b061686c5>

Dentre os filtros UVB existem os filtros pertencentes ao grupo dos salicilatos. São compostos aromáticos estáveis, seguros, insolúveis em água e apresentam tempo prolongado de proteção após aplicação, ou seja, baixa substantividade. Os salicilatos promovem proteção nos intervalos de comprimento de onda de 290 a 315 nm. Um exemplo desse grupo é o Octyl Salicylate (BALOGH et al., 2011).

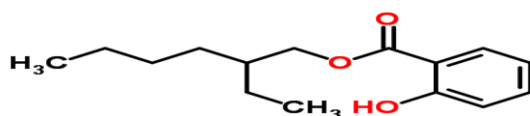


Figura 3 – Estrutura molecular do Octyl Methoxycinnamate – fonte:
<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.8061.html?rid=eb500dea-c32d-4d11-b0b0-4a4115307e81>

Entre os filtros solares que oferecem proteção tanto a radiação UVA quanto na UVB está o Octocrylene. No entanto seu uso é inadequado quando sozinho, pois é um protetor solar relativamente fraco, necessitando assim a combinação com outros filtros solares tanto para aumentar a sua eficácia quanto melhorar seu revestimento uniforme na pele (JUNIOR et al., 2012).

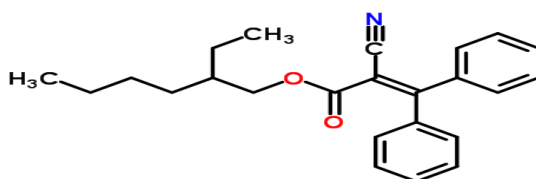


Figura 4 – Estrutura molecular do Octocrylene. Fonte:
<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.21165.html?rid=75a8a40b-81e0-45b6-8046-5d9f1e719e88>

2.4 FATOR DE PROTEÇÃO SOLAR

O Fator de Proteção Solar pode ser definido, conforme proposto pelo FDA, como sendo a razão numérica entre a Dose Mínima Eritematosa (DME) da pele protegida pelo fotoprotetor em questão, aplicado na quantidade de 2 mg/cm², e a Dose mínima Eritematosa da pele não protegida. De forma resumida podemos dizer, então, que FPS é uma indicação de quanto tempo um indivíduo pode permanecer exposto ao Sol sem que este apresente queimadura (CORRÊA, 2012; SCHALKA & REIS, 2011).

De acordo com a legislação vigente (RDC 237/02), a comprovação do FPS deve ser feita *in vivo*. No entanto, estes métodos são muito complexos para serem aplicados como rotina no controle e qualidade destes produtos, pois requerem 20 voluntários sadios e normais e, no mínimo, 3 dias de duração. Em contrapartida, os métodos *in vitro* possuem como vantagens a reprodutibilidade, a fácil metodologia e a rapidez na obtenção dos resultados, sendo recomendados para serem utilizados na fase de desenvolvimento de formulações e como rotina no controle de qualidade (BORGHETTI & KNORST, 2006).

Como alternativa existem metodologias desenvolvidas *in vitro*, que se baseiam nas propriedades absorptivas ou refletoras do filtro e que podem ser utilizadas para avaliar o FPS, durante o desenvolvimento de formulações, e para o controle de qualidade, lote a lote. Há também programas computacionais que simulam o FPS, que servem apenas como indicativos do FPS do produto antes de enviá-los para os testes *in vitro* e *in vivo* (BORGHETTI & KNORST, 2006; MONTEIRO, 2010).

A determinação do FPS de protetores solar é de fundamental importância tanto para o fabricante que deseja controlar rotineiramente a qualidade de seus produtos manufaturados, desenvolver e testar novas

formulações, como para o consumidor que na compra destes produtos têm o direito de receber informações objetivas, controladas e ter total confiança nas propriedades registradas no rótulo dos produtos. Também é de fundamental importância para o legislador responsável pela proteção do consumidor e que deve decidir em favor de um protocolo padrão em acordo com as particularidades nacionais (ALVES et al, 1991).

Durante as anos 70, o FDA reconheceu a necessidade de instituir um método capaz de quantificar a efetividade das preparações fotoprotetoras e foi proposto os procedimentos clínicos para medir o FPS que, a partir de então, passou a rotular toda preparação fotoprotetora. O valor máximo proposto naquele momento foi FPS 15 (CORRÊA, 2012).

Com o objetivo de oferecer maior grau de proteção às crianças o FDA, durante os anos 80, aceitou a proposta que aumentava o valor máximo do FPS para 30. Este valor prevalece até hoje. Os valores superiores não são regulamentados pela legislação americana. Estudos recentes mostram que uma variedade de protetores solares pode reduzir os efeitos carcinogênicos e imunossupressores da exposição solar excessiva sendo que novas perspectivas tecnológicas têm colaborado para que os fotoprotetores se tornem cada vez mais efetivos em sua ação (CORRÊA, 2012; MUNHOZ et al, 2012).

É importante destacar que o FPS refere-se a proteção contra as radiações UVB (eritematosas) sendo que a aplicação de um único filtro UVB condiciona a obtenção de fatores considerados baixos, sendo os produtos resultantes considerados “bronzeadores”. A necessidade de FPS mais altos determinou a necessidade de associações de filtros UVB ou a introdução de filtros UVA ou mesmo a presença dos bloqueadores solar, resultando então nos chamados “protetores solares”, cujo índice obtido situa-se na faixa de 15 a 30 (CORRÊA, 2012).

O FPS é ainda a principal informação acerca da eficácia fotoprotetora da um filtro solar, mas a sua interpretação não deve ser baseada somente no valor numérico em si, devendo-se também considerar a adequada forma de uso do produto, em termos de quantidade aplicada e regularidade na reaplicação. São vários os fatores que interferem no fator de proteção solar, dentre eles os

fatores humanos (tipo de pele, conteúdo de melanina, quantidade de pelo), os fatores ambientais (temperatura, umidade, intensidade da radiação, ângulo da radiação incidente) e os fatores referentes a tipo e composição do veículo (uniformidade do filme, espessura do filme, interação com os filtros) (CORRÊA, 2012; SCHALKA & REIS, 2011).

O maior desafio a ser atingido pela ciência é o estabelecimento de métodos confiáveis e reprodutíveis de avaliação de fotoprotetores na capacidade de proteção contra o câncer de pele, identificando ativos e produtos seguros e eficazes que reduzam os índices de prevalência e mortalidade das neoplasias cutâneas malignas. Novos métodos para avaliação de eficácia fotoprotetora têm sido descritos, mais recentemente, na literatura, como o teste do Cometa, que avalia a capacidade de proteção do DNA da célula, e o fator de proteção imune, quantificando a proteção contra a imunossupressão. (MONTEIRO, 2010).

2.6 A LEGISLAÇÃO DE PROTETORES SOLARES

Desde seu início, as legislações criadas para dar suporte legal à fabricação e comércio de cosméticos estabeleceram que fossem aceitas neste segmento de mercado apenas aquelas preparações que não fossem capazes de modificar ou alterar a atividade e funções normais da pele. Evidencia-se, desta forma, a estreita relação entre a origem da palavra cosméticos com aquilo que a legislação estabeleceu (CORRÊA, 2012).

No Brasil é o Ministério da Saúde que controla a fabricação e a importação de todos os produtos cosméticos e oferece a qualidade e a segurança necessária ao consumo humano. No Brasil, a resolução nº 4 de 2014, regulamenta e determina as normas de registro, etiquetas e embalagem, assim como a lista de categorias de produtos, as listas de substâncias proibidas e restritas, agentes corantes, conservantes aprovados e filtros de UV aprovados, juntamente com formulários para registro de produtos.

Segundo CORRÊA (2012), o Brasil adotou uma regulamentação para cosméticos harmonizada para a região e que muito se aproxima dos padrões

internacionais definindo da seguinte maneira: “Cosméticos, produtos de higiene e perfumes são preparações constituídas por substâncias naturais ou sintéticas, de uso externo nas diversas partes do corpo humano, pele, sistema capilar, unhas, lábios, órgãos genitais externos, dentes e membranas mucosas da cavidade oral, com o objetivo exclusivo ou principal de limpá-los, perfumá-los, alterar sua aparência e ou corrigir odores corporais e/ou protegê-los ou mantê-los em bom estado”.

As preparações cosméticas foram enquadradas em quatro categorias de produtos: preparações para higiene, perfumes, cosméticos e preparações para uso infantil. Estas receberam uma segunda classificação baseada no grau de risco que oferecem. São considerados produtos de grau 1 os produtos com risco mínimo à saúde como: sabões, xampus, cremes de barbear, loções após-barba, escovas dentais, fios dentais, cremes de beleza, *make-up*, batom, lápis para os lábios e delineadores, produtos para os olhos e perfumes. São considerados produtos de grau 2 os produtos que possuem risco potencial como: xampus anticaspa, cremes dentais anticárie e antiplaca, desodorantes íntimos, desodorantes de axilas, esfoliantes químicas para a pele, batons com proteção solar, filtros UV, loções bronzeadoras, depiladores, removedores químicos de manchas e produtos para crescimento de cabelos. Também fazem parte deste grupo todos os produtos de uso infantil. Os critérios para essa classificação foram definidos em função da finalidade de uso do produto, áreas do corpo abrangidas, modo de usar e cuidados a serem observados, quando de sua utilização (CORRÊA, 2012).

As normas para o registro de Preparações para Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes ou de alterações de registro estão definidas na Resolução nº 4 de 2014. Exige-se o registro do produto, perante a ANVISA, para produtos cosméticos de Grau 2 e apenas uma notificação para produtos cosméticos sejam do Grau 1. No caso de empresas estrangeiras, o registro ou a notificação devem ser requeridos pelo escritório local da empresa ou por seu agente. Apesar de ser exigida a mesma documentação para produtos de Grau 1 e 2, a notificação dos produtos de Grau 1 é muito mais rápida do que o registro dos produtos de Grau 2. O processo de registro dos produtos de Grau 2 deve completar-se dentro de 90 dias a contar da requisição do registro. O

processo de notificação, exigido para produtos de Grau 1, pode demorar até 30 dias.

A RDC nº 211 e RDC nº 343 de 2005, determinam que todas as empresas que queiram protocolar na ANVISA petição de registro e notificação referente a Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes o façam, obrigatoriamente, por meio do Sistema de Atendimento de Arrecadação Eletrônico. Esta resolução foi publicada considerando a necessidade de atualizar as normas e procedimentos constantes da Portaria 71, de 29 de maio de 1996, e com base na Lei nº 6360, de 23 de setembro de 1976, e seu Decreto nº 79.094, de 5 de janeiro de 1977.

O sistema de notificação de Produtos de Higiene, Cosméticos e Perfumes foi estabelecido por meio da RDC 211. A RDC 343 determina que todas as empresas que queiram protocolar na ANVISA petição de registro e notificação referente a Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes o façam, obrigatoriamente, por meio do sistema de atendimento e arrecadação online. Os produtos passíveis de notificação foram classificados na Resolução nº 79, de 28 de agosto de 2000, e suas atualizações, e também se encontram no Anexo II da referida resolução.

A RDC 48 de 2006 fornece listas de ingredientes proibidos ou restrições, conservantes aprovados, filtros UV e agentes corantes, e adota as Resoluções 110/94, 24/95, 4/99, 5/99, 6/99, 7/99, 8/99 e 36/99 do MERCOSUL e, de modo geral, segue a Diretiva de Cosméticos da União Européia.

2.6 ESPECTROFOTOMETRIA NO INFRAVERMELHO

A espectrofotometria no infravermelho é uma técnica que se baseia nas vibrações das moléculas, fornecendo informações sobre a estrutura molecular, níveis de energia e ligações químicas. Quando uma radiação incide sobre um material, os campos elétricos e magnéticos da radiação interagem com as moléculas ou íons provocando aumento da vibração ou estiramentos das ligações (SOUZA, 2005).

As vibrações moleculares podem ser classificadas em deformações axiais e deformações angulares (Figura 5). Uma vibração de deformação axial é um movimento rítmico ao longo do eixo da ligação que faz com que a distância interatômica aumente e diminua alternadamente. As vibrações de deformação angular correspondem a variações ritmadas de ligações que tem um átomo em comum ou o movimento de um grupo de átomos em relação ao resto da molécula sem que as posições relativas dos átomos do grupo se alterem. Assim, por exemplo, as vibrações de deformação angular envolvem alteração dos ângulos de ligação em relação a um conjunto arbitrário de coordenadas da molécula (SILVERSTEIN et al, 2005).

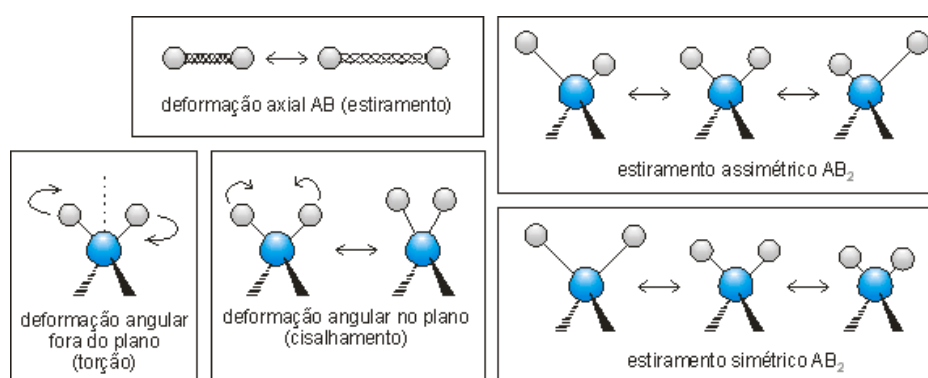


Figura 5: Vibrações de estiramento e angulares de moleculares. Quimica 2000, Wagner Xavier Costa, 1999

Somente as vibrações que levam à alteração rítmica do momento dipolo da molécula são observadas no IV convencional. O campo elétrico alternado, produzido pela mudança de distribuição de carga que acompanha a vibração, acopla a vibração molecular com o campo magnético oscilante da radiação eletromagnética, o que resulta em absorção da energia radiante (SILVERSTEIN et al, 2005)

A região espectral do infravermelho compreende a faixa de radiação com números de onda no intervalo de aproximadamente 12800 a 10 cm^{-1} . O espectro na região do infravermelho é usualmente dividido em 3 sub-regiões: infravermelho próximo (NIR), infravermelho médio (MIR) e infravermelho distante (FIR). A região do infravermelho médio compreende a faixa de 4000 - 400 cm^{-1} do espectro eletromagnético, onde os espectros apresentam picos bem definidos correspondentes às transições fundamentais. As bandas são

intensas e os picos possuem absorbâncias bastante altas, o que facilita a interpretação dos espectros. Embora o espectro de infravermelho seja característico da molécula como um todo, certos grupos funcionais dão origem a bandas em regiões do espectro específicas permitindo a identificação de grupos funcionais, como carboxila de ácidos, grupos aminos entre outros (SILVERSTEIN et al, 2005; VASCONCELOS, 2011).

A faixa espectral do infravermelho médio conhecida como região de “impressão digital” ou “fingerprint” ($1200-600\text{ cm}^{-1}$) é bastante útil para identificação de compostos, visto que pequenas diferenças na estrutura e na constituição das moléculas resultam em mudanças significativas no perfil e na distribuição dos picos de absorção. Deste modo é possível identificar, por exemplo, um composto orgânico comparando-se seu espectro com bancos de dados pré-existentes. Assim sendo, uma das importâncias do espectro infravermelho é fornecer a informação estrutural de uma molécula. As absorções de cada tipo de ligação são, em geral, encontradas apenas em certas pequenas regiões do infravermelho vibracional. Uma pequena faixa de absorção pode ser definida para cada tipo de ligação. Por exemplo, absorções na faixa $3000\text{ a }150\text{ cm}^{-1}$ são características de ligação C-H aromáticas ou alifáticas na molécula; uma absorção na faixa $1715\text{ a }100\text{ cm}^{-1}$ normalmente se deve à presença da ligação C=O (grupo carboxila) na molécula. Faixas específicas de absorção para outros grupos funcionais também é observado (PAVIA et al, 2012; VASCONCELOS, 2011).

A radiação infravermelha não é energética o suficiente para causar transições eletrônicas como outras regiões espectrais (ultravioleta, visível, raios-X) e a absorção dessa radiação é muito restrita às espécies que possuem pequenas diferenças de energia entre os vários estados rotacionais e vibracionais. A radiação infravermelha, ao incidir numa molécula, provoca a excitação dos modos vibracionais. Quando a energia radiante corresponde à diferença entre dois níveis energéticos vibracionais a absorção ocorre. Para que haja absorção ou emissão de radiação de um sistema no infravermelho é necessário que aconteça uma variação periódica do dipolo elétrico. Durante o movimento vibracional de uma molécula essa variação pode ocorrer. Quando essa oscilação entra em ressonância com a radiação incidente acontece a

absorção (ou emissão) no infravermelho. Moléculas homonucleares como O_2 , N_2 ou Cl_2 não sofrem variações efetivas no momento de dipolo durante a vibração e rotação e, conseqüentemente, não absorvem na região do infravermelho. Ao contrário, moléculas diatômicas heteronucleares (HCl, CO, entre outras) apresentam modos vibracionais de absorção ativos no infravermelho (SANTOS, 2007; SOUZA, 2005; VASCONCELOS, 2011).

As frequências em que as moléculas vibram estão associadas aos estiramentos das ligações na molécula. A frequência em que a molécula vibra depende da massa de seus átomos e da força de suas ligações: uma molécula constituída de átomos leves unidos por ligações fortes tem frequência vibracional mais alta que uma constituída de átomos pesados unidos por ligações mais fracas. A primeira deverá absorver radiação de frequência mais alta que a última. Os átomos na molécula podem mover-se em relação aos demais átomos variando os comprimentos das ligações ou movendo-se em relação ao plano. As frequências em que as moléculas vibram são denominadas frequências normais de vibração. As frequências ativas no infravermelho são as frequências normais de vibração associadas à mudança do momento de dipolo da molécula. Os movimentos de vibrações e rotações associados à espectroscopia infravermelha que ocorrem nas moléculas são processos que podem ser representados em termos de quantidade discreta de níveis de energia. Quando uma molécula interage com a radiação, um fóton pode ser absorvido (SOUZA, 2005).

Assim, o espectro rotavibracional de uma molécula é medido usando-se um espectrômetro de infravermelho. O espectrômetro é constituído de um interferômetro de Michelson e um conjunto de espelhos responsáveis pela divisão dos feixes produzidos pela fonte. O interferômetro é responsável por separar os comprimentos de onda presente na radiação infravermelha em duas partes. Uma parte do feixe incide pelo espelho fixo e outra no espelho móvel. Quando estes feixes se recombina uma diferença de fase ocorrerá, devido à diferença de caminhos óticos percorridos, gerando interferência construtiva ou destrutiva. O funcionamento de um espectrômetro de IV é similar ao de outros espectrômetros. Radiações em comprimentos de onda específicos são geradas e essas radiações entram em contato com a amostra que, por sua

vez, irá interagir com a radiação incidente, gerando absorções em comprimentos de onda específicos, correspondente ao tipo de composto, ligações e interação existente na amostra. Para cada comprimento de onda haverá uma única posição do espelho móvel que produzirá, na recombinação dos feixes, a interferência construtiva (SOUZA, 2005; ZENI, 2005).

Um espectrômetro de infravermelho determina as posições e intensidades relativas de todas as absorções, ou picos, na região do infravermelho e os registra graficamente em uma folha de papel ou mesmo um monitor. Este gráfico de intensidade de absorção versus comprimento de onda (ou número de onda) é chamado espectro infravermelho do composto. Normalmente, os espectros no IV são registrados em transmitância versus número de onda (em cm^{-1}). Atualmente, softwares permitem o registro do sinal de maneiras distintas, como, por exemplo, absorbância versus comprimento de onda ou número de onda (PAVIA et al, 2012; ZENI, 2005).

A maioria dos espectrômetros de IV, até o início dos anos 80 era do tipo dispersivo, porém, este tipo de espectrômetro não é mais comumente utilizado. Os equipamentos sofreram uma drástica mudança a partir do surgimento e da utilização de espectrômetros com transformada de Fourier. Existem diversas vantagens quanto ao uso de espectrômetros com transformada de Fourier, dentre elas, a eletrônica atual permite a realização de várias varreduras (scans) diminuindo, assim, a razão sinal-ruído. Portanto, com a obtenção de espectros, podem-se realizar várias varreduras a fim de melhorar a razão-ruído (ZENI, 2005).

A espectrometria com transformações de Fourier, que se desenvolveu muito na última década, tem várias vantagens sobre os instrumentos de dispersão. Radiação contendo todos os comprimentos de onda de interesse é separada em dois feixes sendo que um permanece fixo enquanto o outro se move (espelho móvel). Fazendo-se variar as distâncias percorridas pelos dois feixes, obtêm-se uma sequência de interferências construtivas e destrutivas e, conseqüentemente, variações na intensidade de radiação recebida pelo detector, o chamado interferograma. Uma transformação de Fourier converte o interferograma assim obtido, que está no domínio de frequências. A

transformação de Fourier em posições sucessivas do espelho dá origem ao espectro completo de IV. A passagem da radiação por uma amostra submete-a a uma faixa de radiação que passe pela amostra dá origem ao espectro completo de IV (SILVERSTEIN, et al, 2005)

Em aparelhos com transformações de Fourier, não são usados monocromadores e assim a totalidade da faixa de radiação passa simultaneamente pela amostra com enorme ganho de tempo, permitindo resoluções extremamente altas. Além disso, como os dados sofrem conversão analógico-digital, os resultados são manipulados facilmente. O resultado de várias varreduras é combinado para diminuir o ruído, e espectros excelentes podem ser obtidos com muito pouca amostra (SILVERSTEIN et al, 2005)

Na década de 60 uma nova técnica fora desenvolvida para a obtenção de espectros de IV para compostos orgânicos, a Refletância Total Atenuada (ATR, do inglês Attenuated Total Reflectance). A espectroscopia com ATR é uma técnica não destrutiva que permite a obtenção de espectros de amostras como sólidos pouco solúveis, filmes, adesivos, pós entre outros. (ZENI, 2005).

O funcionamento simples do ATR permite a obtenção de espectros com rapidez, quando comparado ao modo clássico de obtenção de espectros de IV. O princípio deste tipo de espectroscopia baseia-se no fato de que quando um feixe de radiação, passando de um meio mais denso, transparente ao IV, para um meio menos denso é refletido. A fração do feixe incidente, que é refletida, aumenta conforme aumenta o ângulo de incidência e, quando excede um determinado ângulo crítico, a refletância é completa. No ponto de reflexão, o feixe é atenuado como se penetrasse uma pequena distância dentro da amostra (ZENI, 2005).

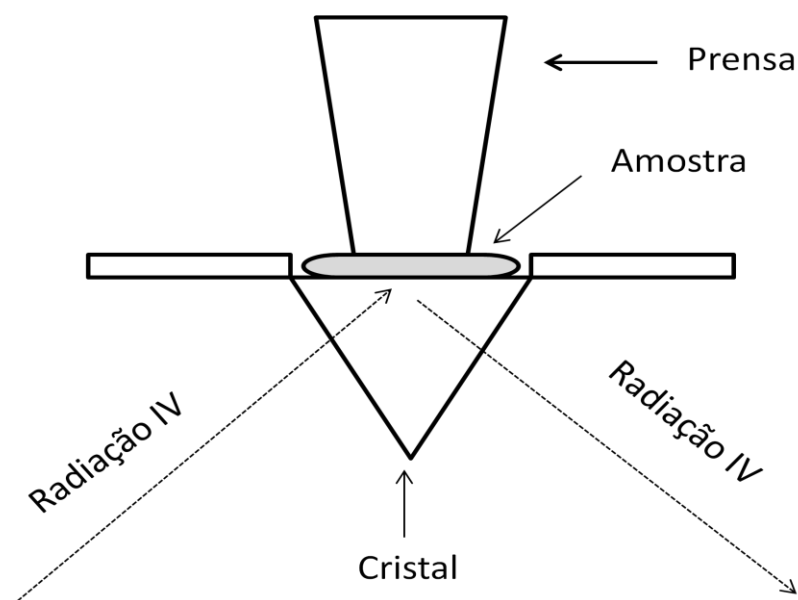


Figura 6 – Esquema do Acessório de ATR Fonte: Adaptado de ZENI, 2005

Com o uso deste acessório, não é necessária a confecção de pastilhas de brometo de potássio como nos sistemas convencionais. A técnica de ATR, que é utilizada para obtenção de espectros de IV simplifica, e muito, a obtenção de espectros, já que basta a simples colocação da amostra sólida sobre o dispositivo, não necessitando de maiores operações. Este dispositivo permite, em questão de poucos minutos, a obtenção de espectros com definição satisfatória (ZENI, 2005).

Quanto à interpretação dos espectros deve-se levar em conta a resolução adequada e intensidade razoável; o composto utilizado deve ser razoavelmente puro; o espectrofotômetro deve ser calibrado contra padrões, de forma a que as bandas sejam observadas nas frequências ou comprimentos de onda corretos; e o método de manipulação da amostra deve ser especificado (SILVERSTEIN et al, 2005)

2.7 VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS

A validação, segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2001), é o ato documentado que atesta que qualquer procedimento, processo, equipamento, material, operação ou sistema realmente conduza os resultados verdadeiros.

Por meio de estudos experimentais deve-se objetivar a garantia de que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados. Para tanto a validação analítica deve apresentar parâmetros como especificidade, linearidade, intervalo, precisão, exatidão, sensibilidade e limites de detecção e quantificação. A RE no. 899 de 29 de maio de 2003 estabelece a definição dos parâmetros para a Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos (RIBEIRO, 2004; AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILANCIA SANITARIA, 2003). Os parâmetros analisados são:

- **Especificidade:** Capacidade de determinar com exatidão somente a substância de interesse na presença de outros componentes tais como impurezas, produtos de degradação e outros componentes da amostra. Para tanto será comparado às amostras com os padrões dos produtos. A espectrofotometria infravermelha tem como característica a eliminação de bandas espectrais do denominado “background”.

- **Linearidade:** É a obtenção de resultados diretamente proporcionais às concentrações da substância. A aceitabilidade da linearidade é julgada pelo coeficiente de correlação (r) e este é expresso de acordo com a equação da reta obtida pela concentração do analito (coeficiente linear) pela absorvância (coeficiente angular). O critério mínimo aceitável do coeficiente de correlação deve ser próximo à unidade (0,98). As concentrações devem estar compreendidas entre 80 e 120% da concentração teórica do teste. No entanto, dado a ausência em compêndios oficiais de fotoprotetores e a complexidade de se obter diferentes concentrações por ativos diferentes, o parâmetro foi adaptado para a metodologia.

- **Precisão:** É a concordância entre os vários valores experimentais obtidos, quanto mais próximos entre si estiverem as medidas maior a precisão. A precisão deve ser considerada em três níveis: repetibilidade, reprodutibilidade e precisão intermediária. No entanto, o presente trabalho, apresenta os testes relativos a repetibilidade e a precisão intermediária. A precisão de um método analítico é normalmente expressa como uma estimativa do desvio padrão ou do desvio padrão relativo e não se admite valores superiores a 5%.

- **Repetibilidade:** concordância entre os resultados dentro de um curto período de tempo com o mesmo analista e mesma instrumentação. É verificada por, no mínimo nove determinações, contemplando o intervalo linear do método, ou seja, três concentrações, baixa, média e alta, com três réplicas cada ou mínimo de 6 determinações a 100% da concentração teste. No entanto, dado a ausência em compêndios oficiais de fotoprotetores e a complexidade de se obter diferentes concentrações por ativos diferentes, a metodologia foi adaptada para este parâmetro.

- **Precisão Intermediária:** concordância entre os resultados do mesmo laboratório, mas obtidos em dias diferentes, com analistas diferentes e/ou equipamentos diferentes. Para a determinação da precisão intermediária recomenda-se um mínimo de 2 dias diferentes com analistas diferentes. É verificada por, no mínimo nove determinações, contemplando o intervalo linear do método, ou seja, três concentrações, baixa, média e alta, com três réplicas cada ou mínimo de 6 determinações a 100% da concentração teste. No entanto, dado a ausência em compêndios oficiais de fotoprotetores e a complexidade de se obter diferentes concentrações por ativos diferentes, a metodologia também foi adaptada para este parâmetro.

- **Exatidão:** É a proximidade dos resultados obtidos em estudo em relação ao valor verdadeiro. É calculada como porcentagem de recuperação da quantidade conhecida do analito adicionado à amostra. A exatidão do método deve ser determinada após o estabelecimento da linearidade, do intervalo linear e da especificidade do mesmo. Verifica-se a partir de, no mínimo, nove determinações contemplando o intervalo linear do procedimento, ou seja, três concentrações com 3 réplicas cada. A exatidão é expressa como o desvio percentual das concentrações calculadas em relação às concentrações reais. No entanto, dado a ausência em compêndios oficiais de fotoprotetores e a complexidade de se obter diferentes concentrações por ativos diferentes, a metodologia foi adaptado também para este parâmetro.

O trabalho apresentado por RIBEIRO (2004), utiliza a metodologia de análise de teor de filtros solares através do equipamento de HPLC. O método possibilita a análise de formulações contendo um filtro solar ou mais. A análise

por HPLC foi validada por apresentar resultados reprodutíveis, sendo exata e precisa. Para os filtros solares estudados o parâmetro da exatidão obteve-se a faixa de recuperação de 96,7 a 100,9% (Octocrylene); 99,5 a 101,7% (Octyl Salicilate) e 99,0 a 101,7% (Octyl Methoxycinnamate). Para o parâmetro da precisão obteve-se a faixa de desvio padrão relativo de 1,19 a 1,31% (Octocrylene); 1,19% para o Octyl Salicilate e 0,72 a 2,47% (Octyl Methoxycinnamate). No entanto, é um método dispendioso, que necessita de um maior tempo de análise e utiliza grandes quantidades de solventes.

3 OBJETIVO

3.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver e validar metodologia analítica mais barata e menos poluente por doseamento simultâneo de filtros solares.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Este projeto consistiu no desenvolvimento e na validação da análise de identificação e quantificação de três (3) filtros solares, mais utilizados no mercado cosmético, (Octocrylene, Octyl Methoxycinnamate e Octyl Salicylate) através de metodologia de doseamento simultâneo. A análise foi realizada em Espectrofotometria no infravermelho médio com transformada de Fourier e equipamento de ATR.

4 JUSTIFICATIVA

O controle analítico dos protetores solares é necessário visto que o conteúdo de filtros UV no produto final está relacionado à sua eficácia de proteção solar, que é usualmente rotulada pelo Fator de Proteção Solar (FPS). O FPS mede o grau de proteção na pele que um produto oferece contra a radiação UV, indicando o tempo de exposição que a formulação oferece sem que a radiação solar desenvolva o eritema (HENRIQUES, 2008)

Usualmente a quantificação dos ativos nos protetores solar são realizados por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). Entretanto, a cromatografia líquida, apesar de ser uma técnica eficiente é necessário a utilização de solventes orgânicos e tempo de análise elevado. Sendo assim, a busca de métodos alternativos se faz necessário. Nesta dissertação foi desenvolvido um método analítico para doseamento simultâneo por espectrofotometria UV de ativos usados em formulações comerciais e a validação do método.

5 EXPERIMENTAL

O presente trabalho visa à análise da determinação simultânea de filtros solares e sua validação utilizando espectrofotometria no IV. Os parâmetros validados apresentados são a especificidade, a linearidade, a precisão (através dos ensaios de repetibilidade e precisão intermediária) e a exatidão do método.

Todos os espectros obtidos no trabalho foram realizados no espectrofotômetro IV (Modelo Nexus, Nicolet) com o auxílio do software OMNIC utilizando a sua ferramenta Automatic Line Base que permite minimizar os erros referentes a medida, corrigindo a intensidade dos sinais de refletância para linha base zero.

5.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

Foram obtidas amostras dos filtros solares cedidas pelo Instituto Harris para uso padrão. Os filtros selecionados foram: Octocrylene (OCT), Octyl Methoxycinnamate (OMC) e Octyl Salicylate (OS). O trabalho foi realizado manipulando amostras de acordo com as formulações encontradas comercialmente. Foram manipulados dois tipos de formulações; uma primeira contendo Octyl Methoxycinnamate e Octyl Salicylate e uma segunda contendo Octocrylene e Octyl Salicylate. As amostras foram analisadas no estado sólido, obtendo-se misturas oleosas, utilizando-se um porta amostra de ATR.

Foram cedidas também pelo Instituto Harris fórmulas manipuladas de protetores solares contendo os filtros solares em diferentes concentrações, formuladas com conservantes, emulsificantes e outros complementos para a estabilização e equivalência às fórmulas encontradas comercialmente. No trabalho denominaremos essas formulações como “formulações completas” para maior entendimento.

A técnica de preparo das formulações completas inicia-se pelo processo de obtenção da base da emulsão. Foram manipuladas 3 fases principais: oleosa, aquosa e silicone. Na fase oleosa foram pesados e inseridos os seguintes ingredientes: Polawax (50 g), Tegosoft TN (45 g), Crodalan LA (40 g), Emullium 22 (20 g) e Propilparabeno (2 g). Eles foram misturados e aquecidos a 70⁰C sob agitação, sendo homogeneizados e mantidos sobre

mesma temperatura. Aqui na fase oleosa foram inseridos os filtros de acordo com as amostras e homogeneizados no meio.

Para a fase aquosa foram pesados e inseridos os seguintes ingredientes: água (741 g) e Metilparabeno (2 g). O Metilparabeno foi adicionado a água e aquecidos a 70⁰C sob agitação constante até completa dispersão e mantido aquecimento sobre a mesma temperatura.

Para a fase silicone foram pesados e inseridos os seguintes ingredientes: DC 245 (50 g) e DC 9045 (50 g). Os ingredientes foram misturados e homogeneizados sem aquecimento.

A seguir foram misturados a fase oleosa com a fase aquosa, aquecidas a 70⁰C sob agitação, homogeneizando até 40⁰C onde fora acrescida a fase de silicone e, logo, pulverizado cuidadosamente o aristoflex (base final), agitando até completa dispersão.

Para a análise do teor de filtros solares na formulação completa antes é necessário a quebra da emulsão, para se obter a fase oleosa isoladamente e assim poder realizar a análise. Foram realizados testes com clorofórmio e metanol, na proporção de 2:1 respectivamente, porém os resultados foram insatisfatórios. Novos estudos devem ser realizados para a devida quebra da emulsão e tornar análise viável.

5.2 ESPECIFICIDADE

As amostras foram inseridas no espectrofotômetro IV(Modelo Nexus, Nicolet), após realização de background, individualmente para se obter os espectros de cada amostra (filtro solar). Para uma melhor resolução dos picos foi alternado a varredura do método de transmitância para absorbância.

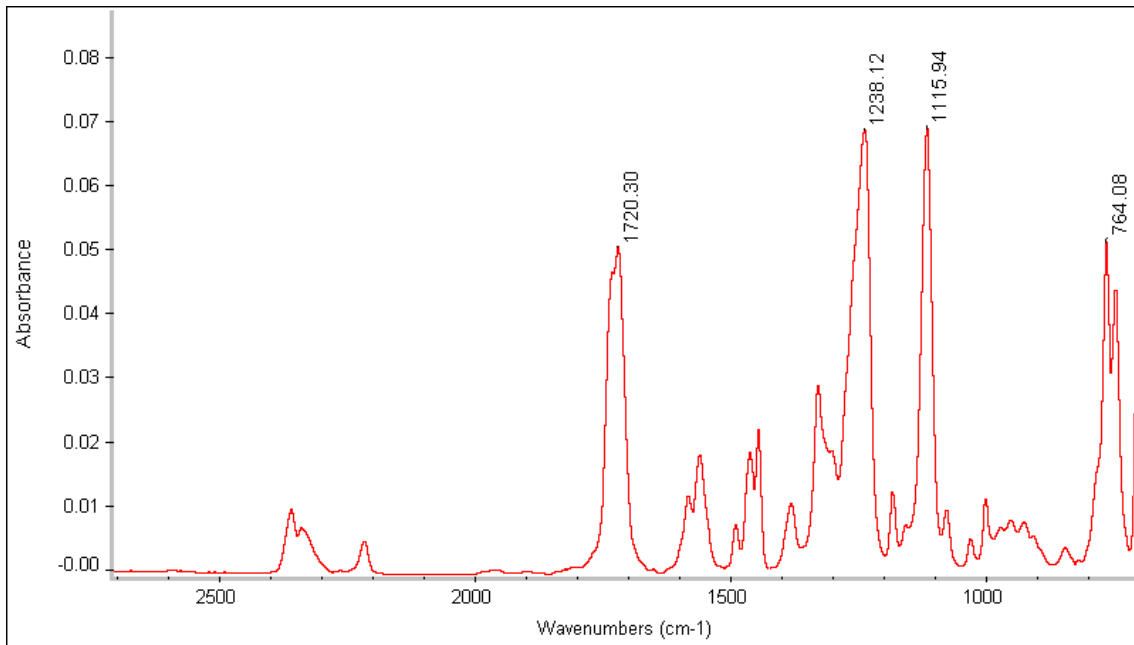


Figura 7 – Espectro IV em modo de absorbância do Octocrylene

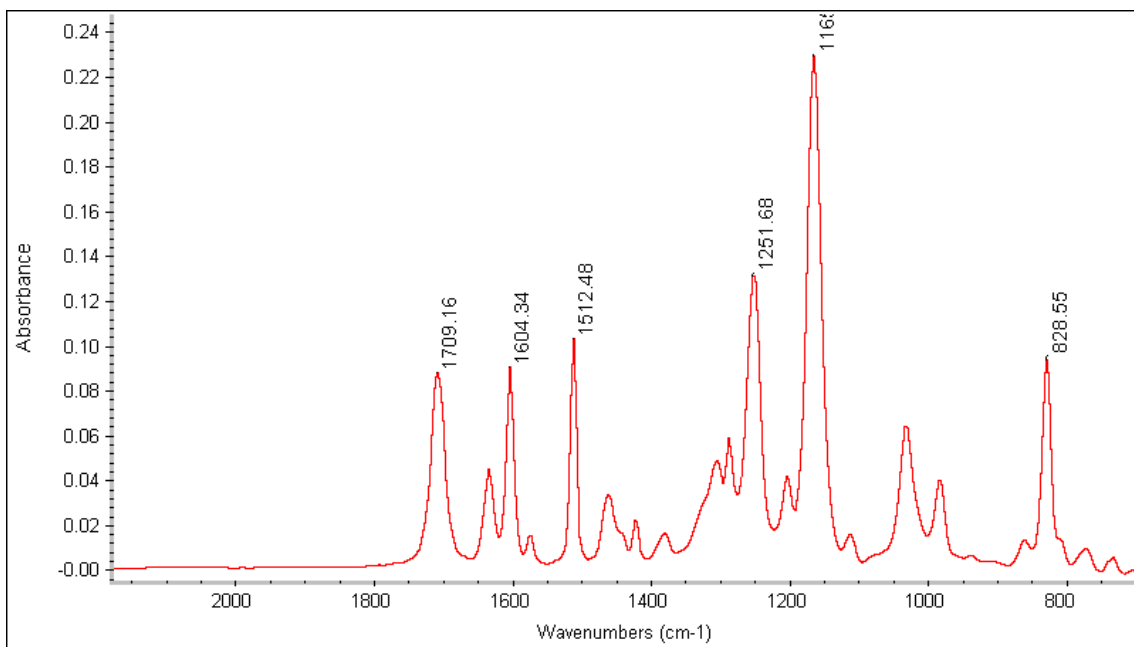


Figura 8 – Espectro IV em modo de absorbância do Octyl Methoxycinnamate

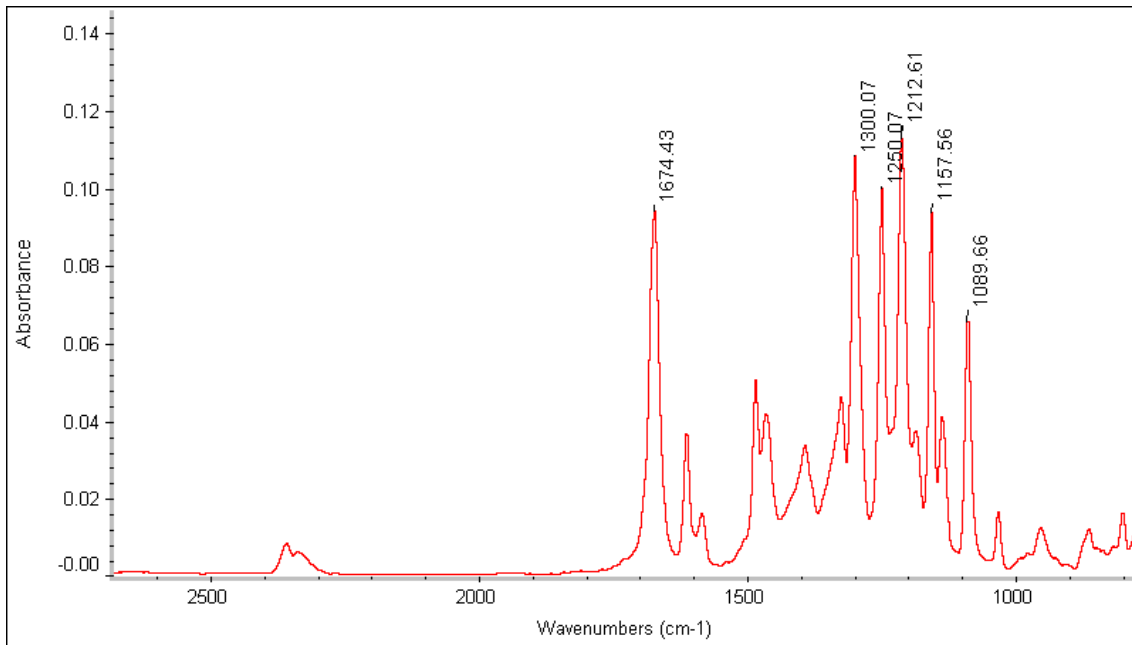


Figura 9 – Espectro IV em modo de absorbância do Octyl Salicilate

Obtidos os espectros dos filtros solares individualmente, estes foram sobrepostos para visualizar e selecionar os comprimentos de ondas (picos) de cada filtro que não sofria sobreposição dos demais.

5.3 LINEARIDADE

5.3.1 Formulação Octyl Methoxycinnamate e Octyl Salicylate

Para a avaliação do parâmetro de linearidade foram preparadas amostras de diferentes concentrações contendo os filtros OS e OMC de modo a se obter curva de calibração de cada componente. Para a curva de OS e OMC, foram preparadas 6 diferentes soluções de concentrações distintas de cada filtro como mostrado no quadro, considerando o peso (mg) de cada filtro e a sua totalidade na amostra.

Amostras	Gotas		Massa (mg)		
	OS	OMC	OS	OMC	Total
A	15	5	328,7	122,1	454,7
B	15	10	332,6	221,5	553,3
C	15	15	331,8	348,8	679,6
D	15	20	330,8	474,5	813
E	15	25	338,5	603,5	928,8
F	15	35	325,6	831,8	1.160,70

OS: Octyl Salicilate OMC: Octyl Methoxycinnamate
 Quadro 2 – Preparo de amostras das curvas de calibração OS x OMC

Em seguida as amostras foram lidas no espectrofotômetro originando seus respectivos espectros, obtendo assim a relação comprimento de onda x absorvância. O gráfico, a equação da reta e coeficiente de correlação (r) foram calculados e obtidos pela relação descrita comprimento de onda x absorvância.

Para a eliminação do ruído nas leituras, além da correção da linha base, foi determinado os valores de absorvância de um dos filtros solares a partir do espectro individual de um segundo filtro, a qual não deveria aparecer já que não existe o componente naquela amostra. No espectro do OMC foi determinada a absorvância referente ao OS e vice versa e, o valor obtido subtraído nas medidas das respectivas curvas de calibração.

5.3.2 Formulação Octocrylene e Octyl Salicilate

Para a curva de calibração do Octocrylene (OCT) o mesmo foi avaliado junto com a presença do filtro Octyl Salicilate (OS) para a verificação da curva simultaneamente. Os filtros foram inseridos, em quantidade diferenciadas, em 6 frascos diferentes como descrito no quadro 2, considerando o peso (em mg) de cada filtro e a sua totalidade na amostra.

Amostras	Gotas		Massa (mg)		
	OCT	OS	OCT	OS	Total
A	15	10	428,4	220,4	648,8
B	15	15	445,9	323,8	769,7
C	15	20	446,1	427,5	873,6
D	15	25	483,9	538,5	1.022,80
E	15	30	500	678,9	1.178,90
F	15	35	505,3	799,9	1.305,20

OS: Octyl Salicilate OMC: Octocrylene

Quadro 3 - Preparo de amostras das curvas de calibração OS x OCT

Em seguida as amostras foram lidas no espectrofotômetro originando seus respectivos espectros, obtendo assim a relação comprimento de onda x absorvância. O gráfico, a equação da reta e coeficiente de correlação (r) foram obtidos através da curva de calibração.

Para a eliminação do ruído nas leituras, além da correção da linha base, foi determinado os valores de absorvância de um dos filtros solares a partir do espectro individual de um segundo filtro, a qual não deveria aparecer já que não existe o componente naquela amostra. No espectro do OCT foi determinada a absorvância referente ao OS e vice versa e, o valor obtido subtraído nas medidas das respectivas curvas de calibração.

5.4 PRECISÃO

Para a comprovação da eficácia do parâmetro é observado o Coeficiente de variação obtido no ensaio de repetibilidade e de precisão intermediária. A proximidade dos resultados determinará o quão preciso é o método.

5.4.1 Repetibilidade

5.4.1.1 Formulação Octyl Methoxycinnamate e Octyl Salicilate

Para o seguinte parâmetro os filtros foram inseridos seguindo, em quantidade de gotas diferenciadas, em três diferentes frascos como no seguinte quadro abaixo, considerando o peso (em mg) de cada filtro e a sua totalidade na amostra (quadro 4).

Amostras	Gotas		Massa (mg)		
	OS	OMC	OS	OMC	Total
A	15	5	309,2	118,4	427,6
B	15	15	330	354,9	684,9
C	15	30	319,7	692,2	1.011,90

OS: Octyl Salicilate OMC: Octyl Methoxycinnamate

Quadro 4 – Preparo de amostras de ensaio de repetibilidade da formulação OS x OMC

Cada solução foi inserida no Espectrofotômetro no IV e obtidas cinco leituras (L1, L2,L3,L4 e L5) de cada solução. A partir dos valores das cinco leituras (obtidas com a eliminação do sinal do ruído e correção da linha base) foram calculados a média, o desvio padrão e o coeficiente de variação.

5.4.1.2 Formulação Octyl Salicilate e Octocrylene

Para o parâmetro repetibilidade os filtros foram pesados em quantidade diferentes para se obter três diferentes soluções (quadro 5), considerando o peso (em mg) de cada filtro e a sua totalidade na amostra.

Amostras	Gotas		Massa (mg)		
	OCT	OS	OCT	OS	Total
A	15	15	464,2	328,3	792,5
B	15	30	480,8	618,7	1.099,50
C	15	45	458,4	943,9	1.402,30

OS: Octyl Salicilate OCT: Octocrylene

Quadro 5 – Preparo de amostras de ensaio de repetibilidade da amostra da formulação OS x OCT

Para cada amostra foram obtidas cinco leituras. A partir dos valores das cinco leituras (obtidas com a eliminação do sinal do ruído e ajuste da linha base) foram calculados a média, o desvio padrão e o coeficiente de variação.

5.4.2 Precisão Intermediária

5.4.2.1 Formulação Octyl Methoxycinnamate e Octyl Salicilate

Para o parâmetro de precisão intermediária, o teste foi conduzido com outro analista e em dias diferentes da semana utilizando os mesmos equipamentos e método no parâmetro da repetibilidade. Os filtros foram inseridos seguindo, em quantidade de gotas diferenciadas, em três diferentes frascos como no seguinte quadro abaixo, considerando o peso (em mg) de cada filtro e a sua totalidade na amostra (quadro 6).

Amostras	Gotas		Massa (mg)		
	OS	OMC	OS	OMC	Total
A	15	5	366	129,2	495,2
B	15	15	360,2	252,4	612,6
C	15	30	360,4	819,6	1.180,0

OS: Octyl Salicilate OMC: Octyl Methoxycinnamate

Quadro 6 – Preparo de amostras de ensaio de precisão intermediária da formulação OS x OMC

Cada solução foi inserida no Espectrofotômetro no IV e obtidas cinco leituras (L1, L2,L3,L4 e L5) de cada solução. A partir dos valores das cinco leituras (obtidas com a eliminação do sinal do ruído e correção da linha base) foram calculados a média, o desvio padrão e o coeficiente de variação.

5.4.2.2 Formulação Octyl Salicilate e Octocrylene

O mesmo experimento foi realizado utilizando o teste de precisão intermediária da formulação OS e OCT sendo dois analistas em dias diferentes. Os filtros foram pesados em quantidade diferentes para se obter três diferentes soluções (quadro 7), considerando o peso (em mg) de cada filtro e a sua totalidade na amostra.

Amostras	Gotas		Massa (mg)		Total
	OCT	OS	OCT	OS	
A	15	15	554,5	380,9	935,4
B	15	30	493,3	726,3	1.219,6
C	15	45	734,8	943,9	1.929,6

OS: Octyl Salicilate OCT: Octocrylene

Quadro 7 – Preparo de amostras de ensaio de precisão intermediária da formulação OS x OCT

Para cada amostra foram obtidas cinco leituras. A partir dos valores das cinco leituras (obtidas com a eliminação do sinal do ruído e ajuste da linha base) foram calculados a média, o desvio padrão e o coeficiente de variação.

5.5 EXATIDÃO

Para a avaliação desse parâmetro foram utilizadas as amostras e medidas obtidas para a análise do parâmetro da repetibilidade (precisão). A exatidão de um método analítico é a proximidade dos resultados obtidos pelo método em estudo em relação ao valor verdadeiro.

5.5.1 Formulação Octyl Methoxycinnamate e Octyl Salicilate

Para a exatidão foram utilizados os dados descritos no quadro 8, considerando o peso em mg.

Amostras	Gotas		Massa (mg)		
	OS	OMC	OS	OMC	Total
A	15	5	309,2	118,4	427,6
B	15	15	330	354,9	684,9
C	15	30	319,7	692,2	1.011,90

OS: Octyl Salicilate OMC: Octyl Methoxycinnamate

Quadro 8 – Preparo de amostras de ensaio de exatidão da formulação OS x OMC

Para cada amostra foram obtidas cinco leituras. A partir dos valores das cinco leituras (corrigido o ruído e ajustando a linha base) foram obtidos os desvios padrão relativo e a exatidão utilizando as concentrações obtidas e as concentrações reais.

5.5.2 Formulação Octyl Salicilate e Octocrylene

Para a exatidão foram utilizados os dados descritos no quadro 9, considerando o peso em mg.

Amostras	Gotas		Massa (mg)		
	OCT	OS	OCT	OS	Total
A	15	15	464,2	328,3	792,5
B	15	30	480,8	618,7	1.099,50
C	15	45	458,4	943,9	1.402,30

OS: Octyl Salicilate OCT: Octocrylene

Quadro 9 – Preparo de amostras de ensaio de exatidão da formulação OS x OCT

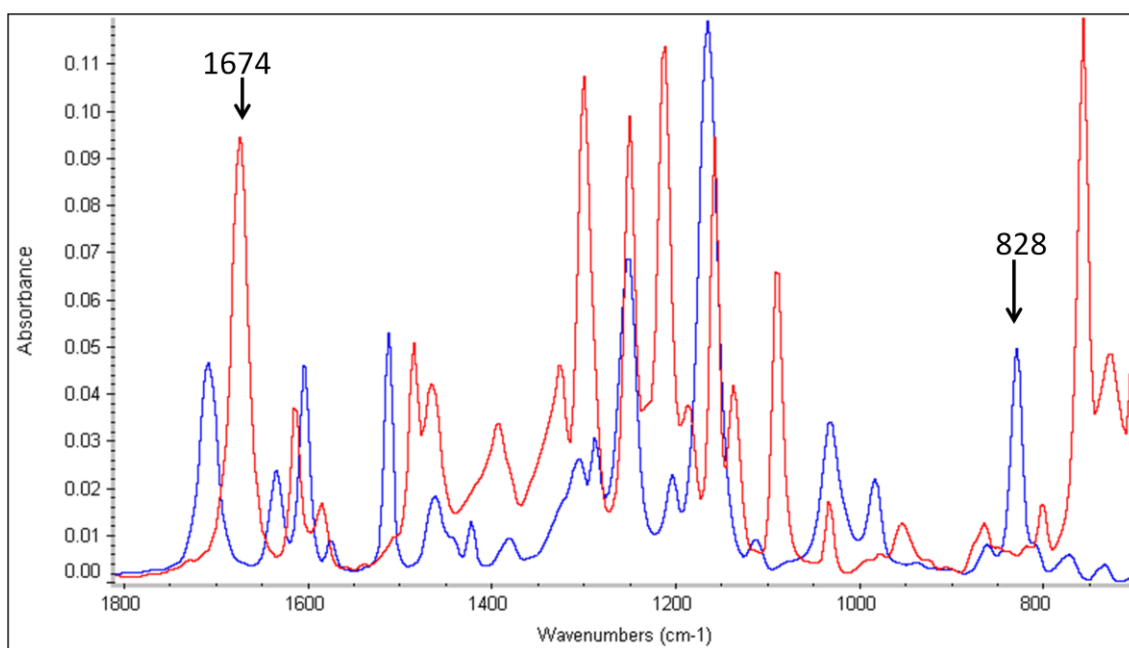
Para cada amostra foram obtidas cinco leituras. A partir dos valores das cinco leituras (corrigido o ruído e ajustando a linha base) foram obtidos os desvios padrão relativo e a exatidão utilizando as concentrações obtidas e as concentrações reais.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 ESPECIFICIDADE

Obtidos os espectros dos filtros solares individualmente, estes foram sobrepostos para visualizar e selecionar os comprimentos de ondas (picos) de cada filtro que não sofria interferência (sobreposição) dos demais.

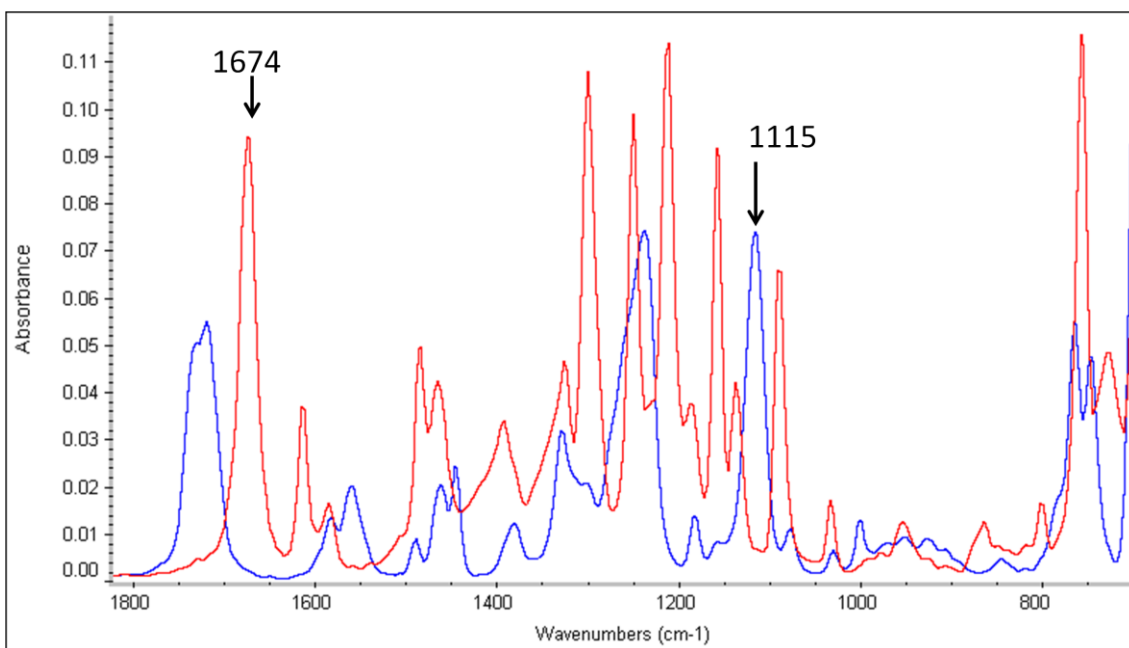
Para a formulação contendo os filtros OMC e OS, dada à sobreposição dos espectros, o comprimento de onda selecionado para a quantificação do Octyl Methoxycinnamate foi de 828 cm^{-1} . O comprimento de onda selecionado para a quantificação do Octyl Salicilate foi de 1674 cm^{-1} .



Legenda: - - - - OMC - - - - OS

Figura 10 – Espectro IV da sobreposição dos filtros OMC e OS.

Para a formulação contendo os filtros OCT e OS, dada a sobreposição dos espectros, o comprimento de onda selecionado para a quantificação do Octocrylene foi de 1115 cm^{-1} . O comprimento de onda selecionado para a quantificação do Octyl Salicilate foi de 1674 cm^{-1} .



Legenda: - - - - - OCT - - - - - OS

Figura 11 – Espectro IV da sobreposição dos filtros OCT e OS.

6.2 LINEARIDADE

6.2.1 Formulação Octyl Methoxycinnamate e Octyl Salicilate

Para a determinação do parâmetro da linearidade do OMC foram obtidos valores de absorvância respectivos às concentrações presentes nas amostras em 828 cm^{-1} . Os valores de absorvância obtidos foram calculados eliminando o ruído inerente. Os valores medidos estão descritos no quadro 10.

OMC	Concentração (%)	Absorbância (x 10 ⁻²)
A	26,85	2,6
B	40,03	4,005
C	51,32	5,164
D	58,36	5,529
E	64,98	6,03
F	71,66	6,65

OMC: Octyl Methoxycinnamate

Quadro 10 – Relação concentração x absorbância do filtro OMC (Formulação OS x OMC)

Dados os valores acima, foi construído o gráfico, a equação da reta e coeficiente de correlação (Gráfico 1)

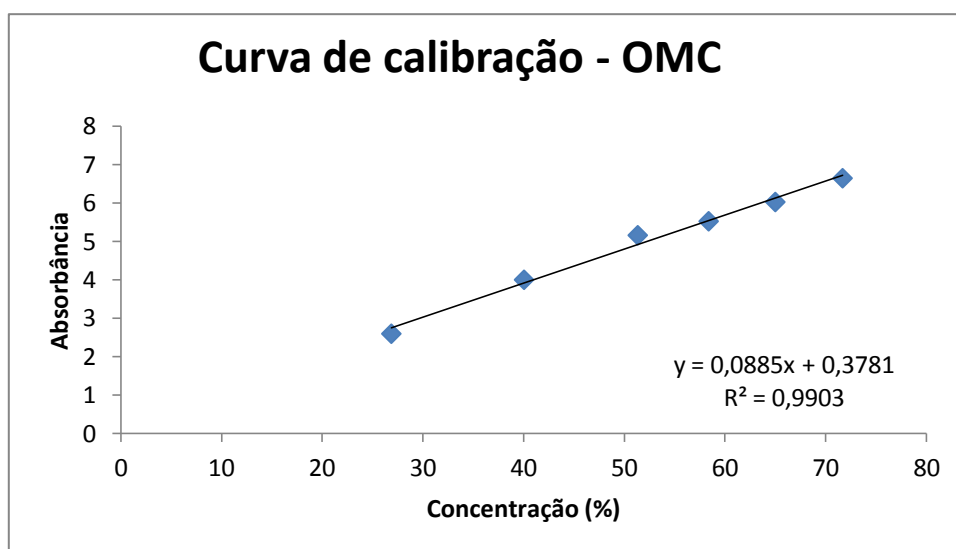


Gráfico 1 – Curva de calibração do Octyl Methoxycinnamate

Com a curva de calibração do OMC determinou-se o coeficiente de correlação de 0,9903 (raiz do valor de R^2) demonstrando a linearidade do método na faixa de trabalho, de acordo com a RDC 899, cujo critério mínimo de coeficiente de correlação é de 0,99.

Para a determinação da linearidade da análise do filtro OS foram obtidos valores de absorbância para cada concentração presente nas amostras em 1674 cm^{-1} . Os valores de absorbância obtidos foram calculados eliminando o ruído inerente. Os valores encontram-se no quadro 11.

OS	Concentração (%)	Absorbância (x 10 ⁻²)
F	28,34	2,953
E	35,02	3,916
D	41,64	4,568
C	48,68	5,254
B	59,97	6,105
A	73,15	7,307

OS: Octyl Salicilate

Quadro 11 – Relação concentração x absorbância do filtro OS (Formulação OS x OMC)

Dado os valores acima, foi construído o gráfico, a equação da reta e coeficiente de correlação (Gráfico 2)

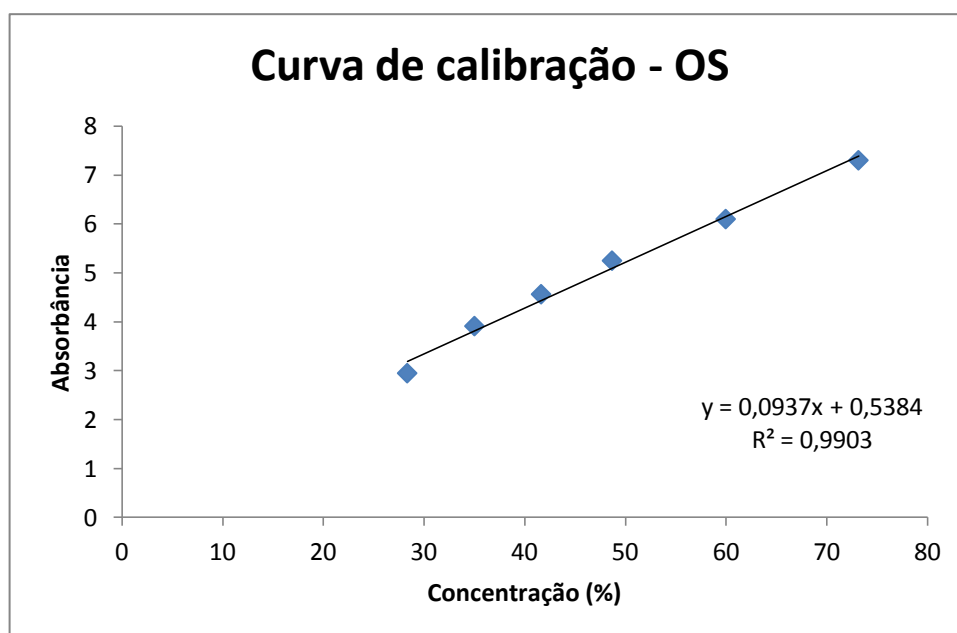


Gráfico 2 – Curva de calibração do Octyl Salicilate (Formulação OS x OMC)

Para a curva de calibração do OS obteve-se coeficiente de correlação de 0,9903 (raiz do valor de R^2) demonstrando a linearidade do método na faixa de trabalho, de acordo com a RDC 899.

6.2.2 Formulação Octocrylene e Octyl Salicilate

Para a determinação da linearidade do OCT foram obtidos valores de absorbância para cada uma das concentrações presentes nas amostras em 1115 cm^{-1} . Os valores de absorbância obtidos foram calculados eliminando o ruído inerente. Os valores encontram-se no quadro 12.

OCT	Concentração (%)	Absorbância (x 10 ⁻²)
F	38,72	2,404
E	42,41	2,69
D	47,31	2,911
C	51,07	3,284
B	57,93	3,672
A	66,03	4,429

OS: Octocrylene

Quadro 12 – Relação concentração x absorbância do filtro OCT (Formulação OS x OCT)

Dados os valores acima, foi construído o gráfico, a equação da reta e coeficiente de correlação (Gráfico 3)

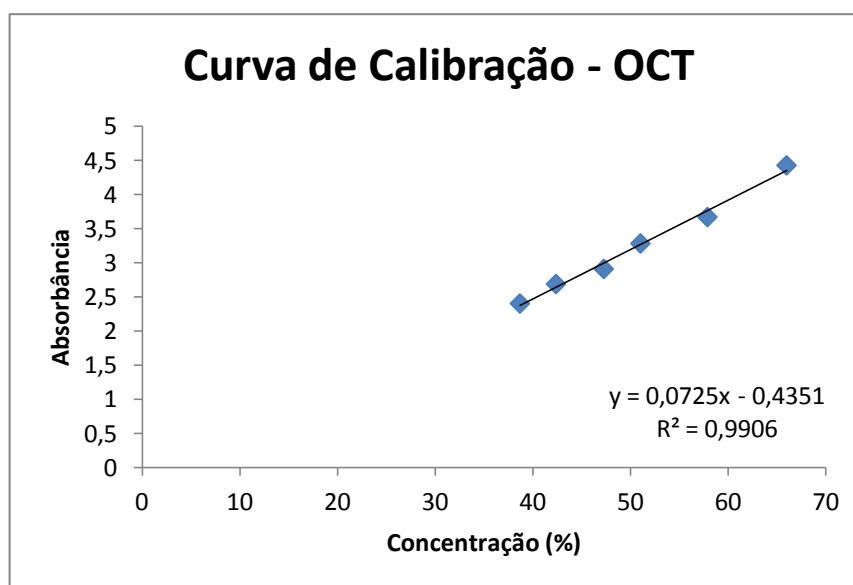


Gráfico 3 – Curva de calibração do Octocrylene (Formulação OS x OCT)

Com a curva de calibração do Octocrylene obteve-se coeficiente de correlação de 0,9906 (raiz do valor de R^2) demonstrando a linearidade do método na faixa de trabalho e de acordo com a RDC 899 cujo critério mínimo de coeficiente de correlação é de 0,99.

Para a determinação da linearidade do filtro Octyl Salicylate (OS) foram obtidos valores de absorbância respectivos às concentrações presentes nas amostras utilizando o comprimento de onda de 1674 cm^{-1} . Os valores de absorbância obtidos foram calculados eliminando o ruído inerente. Os valores encontram-se no quadro 13.

OS	Concentração (%)	Absorbância (x 10 ⁻²)
A	33,97	3,88
B	42,07	4,784
C	48,93	5,385
D	52,69	5,6
E	57,59	6,085
F	61,28	6,318

OS: Octyl Salicilate

Quadro 13 – Relação concentração x absorbância do filtro OS (Formulação OS x OCT)

Dados os valores acima, foi construído o gráfico, a equação da reta e coeficiente de correlação (Gráfico 4)

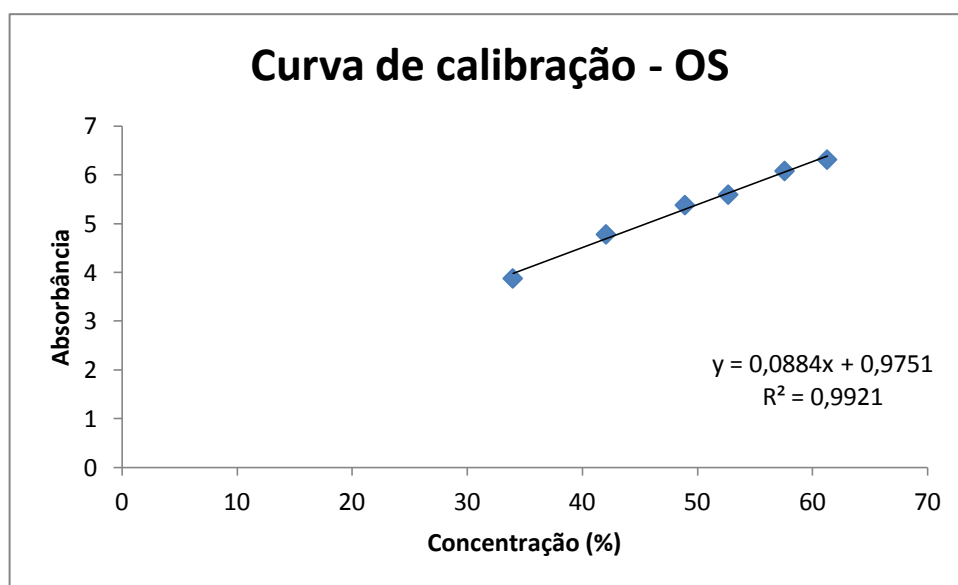


Gráfico 4 – Curva de calibração do Octyl Salicilate (Formulação OS x OCT)

Com a curva de calibração do Octyl Salicilate obteve-se coeficiente de correlação de 0,9921 (raiz do valor de R^2) demonstrando a linearidade do método na faixa de trabalho e de acordo com a RDC 899 cujo critério mínimo de coeficiente de correlação é de 0,99.

6.3 PRECISÃO

6.3.1 Repetibilidade

6.3.1.1 Formulação Octyl Methoxycinnamate e Octyl Salicilate

O teste de repetibilidade foi realizado para três amostras onde cada amostra obteve cinco leituras. Foram calculados a média, o desvio padrão e o coeficiente de variação. Os dados da amostra A são descritos no quadro 14.

Filtro	L1	L2	L3	L4	L5	Média	DVP	CV (%)
OMC	2,957	2,991	2,961	2,888	2,94	2,947	0,038	1,29
OS	7,139	7,083	7,082	7,096	7,062	7,092	0,029	0,41

L: Leituras DVP: Desvio Padrão CV: Coeficiente de Variação
Quadro 14 – Dados de ensaio de repetibilidade da amostra A (Formulação OS x OMC)

Visto que, de acordo com a RDC 899, não se admite valores superiores a 5% para o coeficiente de variação, a amostra A está dentro do estabelecido pela presente resolução comprovando a precisão da metodologia.

Os dados da amostra B são descritos no quadro 15.

Filtro	L1	L2	L3	L4	L5	Média	DVP	CV (%)
OMC	4,842	4,709	4,901	5,006	5,052	4,902	0,136	2,78
OS	4,881	4,891	4,892	4,885	4,909	4,892	0,011	0,22

L: Leituras DVP: Desvio Padrão CV: Coeficiente de Variação
Quadro 15 – Dados de ensaio de repetibilidade da amostra B (Formulação OS x OMC)

De acordo com o quadro 15, amostra B também está dentro do estabelecido pela presente resolução comprovando a precisão da metodologia.

Os dados da amostra C são descritos no quadro 16.

Filtro	L1	L2	L3	L4	L5	Média	DVP	CV (%)
OMC	6,768	6,7	6,854	6,784	6,596	6,740	0,098	1,45
OS	3,447	3,468	3,495	3,485	3,454	3,470	0,020	0,58

L: Leituras DVP: Desvio Padrão CV: Coeficiente de Variação
Quadro 16 – Dados de ensaio de repetibilidade da amostra C (Formulação OS x OMC)

A amostra C também está dentro do estabelecido pela presente resolução comprovando a precisão da metodologia.

6.3.1.2 Formulação Octocrylene e Octyl Salicilate

O teste de repetibilidade foi realizado para três amostras onde cada amostra obteve cinco leituras. Foram calculados a média, o desvio padrão e o coeficiente de variação. Os dados da amostra A são descritos no quadro 17.

Filtro	L1	L2	L3	L4	L5	Média	DVP	CV (%)
OS	4,74	4,702	4,745	4,712	4,698	4,719	0,022	0,46
OCT	3,899	3,829	3,863	3,847	3,787	3,845	0,041	1,08

L: Leituras DVP: Desvio Padrão CV: Coeficiente de Variação
Quadro 17 – Dados de ensaio de repetibilidade da amostra A (Formulação OS x OCT)

Visto que, de acordo com a RDC 899, não se admite valores superiores a 5% para o coeficiente de variação, a amostra A está dentro do estabelecido pela presente resolução comprovando a precisão da metodologia.

Os dados da amostra B são descritos no quadro 18.

Filtro	L1	L2	L3	L4	L5	Média	DVP	CV (%)
OS	6,039	6,046	6,045	6,061	6,072	6,053	0,014	0,22
OCT	2,906	2,939	2,924	2,933	2,935	2,927	0,013	0,45

L: Leituras DVP: Desvio Padrão CV: Coeficiente de Variação
Quadro 18 – Dados de ensaio de repetibilidade da amostra B (Formulação OS x OCT)

De acordo com o quadro 18, amostra B também está dentro do estabelecido pela presente resolução comprovando a precisão da metodologia.

Os dados da amostra C são descritos no quadro 19.

Filtro	L1	L2	L3	L4	L5	Média	DVP	CV (%)
OS	6,039	6,046	6,045	6,061	6,072	6,053	0,014	0,23
OCT	2,906	2,939	2,924	2,933	2,935	2,927	0,013	0,47

L: Leituras DVP: Desvio Padrão CV: Coeficiente de Variação
Quadro 19 – Dados de ensaio de repetibilidade da amostra C (Formulação OS x OCT)

A amostra C também está dentro do estabelecido pela presente resolução comprovando a precisão da metodologia.

6.3.2 Precisão Intermediária

6.3.2.1 Formulação Octyl Methoxycinnamate e Octyl Salicilate

O teste de precisão intermediária foi realizado para três amostras onde cada amostra obteve cinco leituras. Foram calculados a média, o desvio padrão e o coeficiente de variação. Os dados da amostra A são descritos no quadro 20.

Amostra A

Filtro	L1	L2	L3	L4	L5	Média	DVP	CV (%)
OMC	2,95	2,743	2,73	2,846	2,92	2,838	0,100	3,52
OS	7,54	7,048	7,18	7,5	7,56	7,366	0,235	3,20

L: Leituras DVP: Desvio Padrão CV: Coeficiente de Variação

Quadro 20 – Dados de ensaio de precisão intermediária da amostra A (Formulação OS x OMC)

Visto que, de acordo com a RDC 899, não se admite valores superiores a 5% para o coeficiente de variação, a amostra A está dentro do estabelecido pela presente resolução comprovando a precisão da metodologia.

Os dados da amostra B são descritos no quadro 21.

Amostra B

Filtro	L1	L2	L3	L4	L5	Média	DVP	CV (%)
OMC	4,93	4,989	5,12	4,983	5,07	5,018	0,076	1,51
OS	6,39	6,385	6,41	6,405	6,43	6,404	0,018	0,28

L: Leituras DVP: Desvio Padrão CV: Coeficiente de Variação

Quadro 21 – Dados de ensaio de precisão intermediária da amostra B (Formulação OS x OMC)

De acordo com o quadro 21, amostra B também está dentro do estabelecido pela presente resolução comprovando a precisão da metodologia.

Os dados da amostra C são descritos no quadro 22.

Amostra C

Filtro	L1	L2	L3	L4	L5	Média	DVP	CV (%)
OMC	7,45	7,334	7,09	7,276	7,13	7,256	0,148	2,04
OS	3,51	3,528	3,48	3,513	3,51	3,508	0,017	0,50

L: Leituras DVP: Desvio Padrão CV: Coeficiente de Variação

Quadro 22 – Dados de ensaio de precisão intermediária da amostra C (Formulação OS x OMC)

A amostra C também está dentro do estabelecido pela presente resolução comprovando a precisão da metodologia.

6.3.2.2 Formulação Octocrylene e Octyl Salicilate

O teste de precisão intermediária foi realizado para três amostras onde cada amostra obteve cinco leituras. Foram calculados a média, o desvio padrão e o coeficiente de variação. Os dados da amostra A são descritos no quadro 23.

Amostra A

Filtro	L1	L2	L3	L4	L5	Média	DVP	CV (%)
OS	5,319	5,354	5,345	5,32	5,343	5,336	0,016	0,30
OCT	3,158	3,179	3,14	3,15	3,148	3,155	0,015	0,47

L: Leituras DVP: Desvio Padrão CV: Coeficiente de Variação

Quadro 23 – Dados de ensaio de precisão intermediária da amostra A (Formulação OS x OCT)

Visto que, de acordo com a RDC 899, não se admite valores superiores a 5% para o coeficiente de variação, a amostra A está dentro do estabelecido pela presente resolução comprovando a precisão da metodologia.

Os dados da amostra B são descritos no quadro 24.

Amostra B

Filtro	L1	L2	L3	L4	L5	Média	DVP	CV (%)
OS	6,049	6,07	6,073	6,07	6,088	6,070	0,014	0,23
OCT	2,481	2,46	2,485	2,48	2,477	2,477	0,010	0,39

L: Leituras DVP: Desvio Padrão CV: Coeficiente de Variação

Quadro 24 – Dados de ensaio de precisão intermediária da amostra B (Formulação OS x OCT)

De acordo com o quadro 24, amostra B também está dentro do estabelecido pela presente resolução comprovando a precisão da metodologia.

Os dados da amostra C são descritos no quadro 25.

Amostra C

Filtro	L1	L2	L3	L4	L5	Média	DVP	CV (%)
OS	7,779	7,798	7,844	7,82	7,894	7,827	0,045	0,57
OCT	2,333	2,359	2,301	2,322	2,3	2,323	0,025	1,06

L: Leituras DVP: Desvio Padrão CV: Coeficiente de Variação

Quadro 25 – Dados de ensaio de precisão intermediária da amostra C (Formulação OS x OCT)

A amostra C também está dentro do estabelecido pela presente resolução comprovando a precisão da metodologia.

Com os resultados obtidos no ensaio de repetibilidade e precisão intermediária da formulação OMC x OS obteve-se o quadro abaixo (26):

Amostras	Ensaio Repetibilidade		Ensaio Precisão Intermediária	
	Filtro	CV %	Filtro	CV %
A	OMC	1,29	OMC	0,46
	OS	0,41	OMC	1,08
B	OMC	2,78	OMC	0,22
	OS	0,22	OMC	0,45
C	OMC	1,45	OMC	0,23
	OS	0,58	OMC	0,47

Quadro 26 – Resultado comparativo Repetibilidade por Precisão Intermediária (OMC x OS)

O quadro confirma a precisão do método visto o comparativo entre os ensaios onde o Coeficiente de Variação não excede a 5% preconizado.

O quadro 27 descreve os resultados obtidos no ensaio de repetibilidade e precisão intermediária da formulação OS x OCT. Assim como na outra formulação o comparativo entre os resultados comprova a precisão do método visto o não excedente de 5% de coeficiente de variação.

Amostras	Ensaio Repetibilidade		Ensaio Precisão Intermediária	
	Filtro	CV %	Filtro	CV %
A	OS	3,52	OS	0,3
	OCT	3,2	OCT	0,47
B	OS	1,51	OS	0,23
	OCT	0,28	OCT	0,39
C	OS	2,04	OS	0,57
	OCT	0,5	OCT	1,06

Quadro 27 – Resultado comparativo Repetibilidade por Precisão Intermediária (OS x OCT)

O trabalho desenvolvido por RIBEIRO (2004), analisa 11 formulações de concentrações diferentes apresentando de 3 a 4 filtros solares em cada formulação. Para o filtro OCT foram realizadas duas formulações onde o coeficiente de variação foi de 1,19 a 1,31%. Para o OS foi realizada apenas uma formulação obtendo 1,19% de coeficiente de variação. Para o OCT foram manipuladas 5 formulações obtendo de 0,72 a 2,47% de coeficiente de variação. Visto que não há a descrição da precisão intermediária. Os resultados obtidos no presente trabalho apresentam uma adequada precisão quanto comparado a metodologia por HPLC.

6.4 EXATIDÃO

Para a avaliação desse parâmetro foram utilizadas as amostras utilizadas no parâmetro da repetibilidade (precisão). A exatidão de um método analítico é a proximidade dos resultados obtidos pelo método em estudo em relação ao valor verdadeiro.

6.4.1 Formulação Octyl Methoxycinnamate e Octyl Salicilate

A partir dos dados de absorvância em cada uma das leituras foram calculadas as denominadas Concentrações Obtidas. Os valores de absorvância foram inseridos na equação da reta obtida no parâmetro da linearidade. A exemplo temos:

Amostra A, leitura 1 obteve-se valor de absorvância de 2,957 quanto ao comprimento de onda do OMC de 828 cm⁻¹

Equação da reta da linearidade do OMC: $y = 0,0885x + 0,3781$

Aplicando os dados na fórmula temos:

$$2,957 = 0,0885x + 0,3781$$

$$2,957 - 0,3781 = 0,0885x$$

$$2,5789/0,0885 = x$$

X= 29,14% Valor da Concentração obtida

Para a concentração real dos filtros nas amostras foram verificados os pesos correspondes e sua totalidade. A exemplo temos:

Amostra A, inserido 5 gotas de OMC e 15 gotas de OC, obtendo massa de 118,4 g para o OMC e 309,2 g para OS.

$$\text{Totalidade: } 118,4 + 309,2 = 427,6$$

$$427,6 - 100\%$$

$$118,4 - X\%$$

$$11840,0/ 427,6 = X\%$$

X= 27,69% Valor da Concentração Real

Apartir dos dados de Concentração Obtida e Concentração Real foram calculados o erro relativo e a exatidão do amostra:

$$\text{Erro relativo} = \{(29,14 - 27,69)/ 27,69\} \times 100$$

$$\text{Erro relativo} = 5,23\%$$

$$\text{Exatidão} = (29,14/27,69) \times 100$$

$$\text{Exatidão} = 105,23\%$$

De acordo com as fórmulas foram calculados os valores de concentração obtida, concentração real, o erro relativo e a exatidão para cada leitura e para amostra da formulação OMC x OS.

Os dados do quadro abaixo são da amostra A.

Amostra A	Leituras	Absorbância	C(%) obtida	C(%) real	Erro Relativo	Exatidão (%)
OMC	1	2,957	29,14	27,69	5,23	105,23
	2	2,991	29,67	27,69	7,15	107,15
	3	2,961	29,33	27,69	5,92	105,92
	4	2,888	28,50	27,69	2,93	102,93
	5	2,94	29,09	27,69	5,06	105,06
OS	1	7,139	70,40	72,31	-2,64	97,36
	2	7,083	69,81	72,31	-3,46	96,54
	3	7,082	69,80	72,31	-3,47	96,53
	4	7,096	69,95	72,31	-3,27	96,73
	5	7,062	69,59	72,31	-3,77	96,23

C: Concentração

Quadro 28: Resultados do ensaio de Exatidão da amostra A (Formulação OS x OMC)

A exatidão da amostra A pode ser comprovada pela recuperação do método. O valor de recuperação está entre a faixa de 96,23 a 97,36% para o filtro Octyl Salicilate. O valor de recuperação para o filtro Octyl Methoxycinnamato está entre a faixa de 102,93 a 107,15%. Esses resultados comprovam que o método é eficaz no parâmetro da exatidão não excedendo a valores 10%.

Os dados da amostra B estão no quadro 27.

Amostra B	Leituras	Absorbância	C(%) obtida	C(%) real	Erro Relativo	Exatidão (%)
OMC	1	4,842	50,70	51,82	-2,15	97,85
	2	4,709	49,19	51,82	-5,07	94,93
	3	4,901	51,38	51,82	-0,86	99,14
	4	5,006	52,57	51,82	1,44	101,44
	5	5,052	53,09	51,82	2,45	102,45
OS	1	4,881	46,38	48,18	-3,73	96,27
	2	4,891	46,49	48,18	-3,51	96,49
	3	4,892	46,50	48,18	-3,49	96,51
	4	4,885	46,43	48,18	-3,64	96,36
	5	4,909	46,68	48,18	-3,11	96,89

C: Concentração

Quadro 29: Resultados do ensaio de Exatidão da amostra B (Formulação Os x OMC)

O valor de recuperação está entre a faixa de 96,27 a 96,89% para o filtro Octyl Salicilate. O valor de recuperação para o filtro Octyl Methoxycinnamato está entre a faixa de 94,93 a 102,45%. Esses resultados comprovam que o método é eficaz no parâmetro da exatidão não excedendo a valores 10% superiores ou inferiores.

Os dados da amostra C estão no quadro 28.

Amostra C	Leituras	Absorbância	C(%) obtida	C(%) real	Erro Relativo	Exatidão (%)
OMC	1	6,768	72,59	68,41	6,11	106,11
	2	6,7	71,82	68,41	4,98	104,98
	3	6,854	73,57	68,41	7,54	107,54
	4	6,784	72,77	68,41	6,38	106,38
	5	6,596	70,64	68,41	3,25	103,25
OS	1	3,447	31,13	31,59	-1,46	98,54
	2	3,468	31,35	31,59	-0,76	99,24
	3	3,495	31,64	31,59	0,15	100,15
	4	3,485	31,53	31,59	-0,18	99,82
	5	3,454	31,20	31,59	-1,23	98,77

C: Concentração

Quadro 30: Resultados do ensaio de Exatidão da amostra C (Formulação OS x OMC)

O valor de recuperação está entre a faixa de 98,54 a 100,15% para o filtro Octyl Salicilate. O valor de recuperação para o filtro Octyl Methoxycinnamato está entre a faixa de 103,25 a 107,54%. Esses resultados comprovam que o método é eficaz no parâmetro da exatidão não excedendo a valores 10% superiores ou inferiores.

6.4.2 Formulação Octocrylene e Octyl Salicilate

A partir dos dados de absorvância em cada uma das leituras foram calculadas as denominadas Concentrações Obtidas. Foram calculados também os valores da concentração real, o erro relativo e a exatidão. Os dados do quadro abaixo são da amostra A.

Amostra A	Leituras	Absorbância	C(%) obtida	C(%) real	Erro Relativo	Exatidão (%)
OCT	1	5,999	63,85	58,58	9,00	109,00
	2	5,829	61,92	58,58	5,70	105,70
	3	5,863	62,31	58,58	6,36	106,36
	4	5,847	62,13	58,58	6,05	106,05
	5	5,787	61,44	58,58	4,89	104,89
OS	1	4,74	44,88	41,42	8,36	108,36
	2	4,702	44,48	41,42	7,38	107,38
	3	4,745	44,94	41,42	8,49	108,49
	4	4,712	44,59	41,42	7,64	107,64
	5	4,698	44,44	41,42	7,28	107,28
C: Concentração						

Quadro 31: Resultados do ensaio de Exatidão da amostra A (Formulação OS x OCT)

A exatidão da amostra A pode ser comprovada pela recuperação do método. O valor de recuperação está entre a faixa de 104,89 a 109% para o filtro Octocrylene. O valor de recuperação para o filtro Octyl Salicilate está entre a faixa de 107,28 a 108,49%. Esses resultados comprovam que o método é eficaz no parâmetro da exatidão não excedendo a valores 10%.

Os dados da amostra B estão no quadro 30.

Amostra B	Leituras	Absorbância	C(%) obtida	C(%) real	Erro Relativo	Exatidão (%)
OCT	1	4,906	51,43	47,73	7,76	107,76
	2	4,939	51,81	47,73	8,54	108,54
	3	4,924	51,64	47,73	8,18	108,18
	4	4,933	51,74	47,73	8,40	108,40
	5	4,935	51,76	47,73	8,45	108,45
OS	1	5,039	48,06	52,27	-8,05	91,95
	2	5,046	48,14	52,27	-7,90	92,10
	3	5,045	48,13	52,27	-7,92	92,08
	4	5,061	48,30	52,27	-7,60	92,40
	5	5,072	48,41	52,27	-7,38	92,62

C: Concentração

Quadro 32: Resultados do ensaio de Exatidão da amostra B (Formulação OS x OCT)

O valor de recuperação está entre a faixa de 107,76 a 108,54% para o filtro Octocrylene. O valor de recuperação para o filtro Octyl Salicilate está entre a faixa de 91,95 a 92,62%. Esses resultados comprovam que o método é eficaz

no parâmetro da exatidão não excedendo a valores 10% superiores ou inferiores.

Os dados da amostra C estão no quadro 31.

Amostra C	Leituras	Absorbância	C(%) obtida	C(%) real	Erro Relativo	Exatidão (%)
OCT	1	3,168	31,68	32,69	-3,08	96,92
	2	3,218	32,25	32,69	-1,35	98,65
	3	3,159	31,58	32,69	-3,40	96,60
	4	3,19	31,93	32,69	-2,32	97,68
	5	3,108	31,00	32,69	-5,17	94,83
OS	1	7,404	73,22	67,31	8,79	108,79
	2	7,422	73,41	67,31	9,07	109,07
	3	7,385	73,02	67,31	8,49	108,49
	4	7,389	73,06	67,31	8,55	108,55
	5	7,378	72,95	67,31	8,37	108,37

C: Concentração

Quadro 33: Resultados do ensaio de Exatidão da amostra C (Formulação OS x OCT)

O valor de recuperação está entre a faixa de 94,83 a 98,65% para o filtro Octocrylene. O valor de recuperação para o filtro Octyl Salicilate está entre a faixa de 108,37 a 109,07%. Esses resultados comprovam que o método é eficaz no parâmetro da exatidão não excedendo a valores 10% superiores ou inferiores.

No trabalho desenvolvido por RIBEIRO (2004), foram manipulados 11 formulações de concentrações diferentes de filtros solares, utilizando diferentes filtros solares em cada formulação. Para o OCT foi desenvolvido duas formulações obtendo exatidão de 99,91 a 103,8%, respectivamente. Para o OS foi desenvolvido uma formulação obtendo exatidão de 107,72%. Para o OMC foram desenvolvidos cinco formulações obtendo de 96,65 a 103,45% de exatidão.

Os resultados obtidos no presente trabalho apresentam uma relativa exatidão, visto que não excedem o limite aceitável de 10%, mas tiveram uma maior variância quanto a método por HPLC. Para o OCT, no método IV, obteve-se variação na exatidão de 94,83 até 109 % enquanto no método por HPLC foi de 99,91 a 103,8. Para o OS, no método IV, obteve-se variação na exatidão de 91,95 a 108,79 % enquanto a variação no método por HPLC foi de

107,72 %. Para o OMC, no método IV, obteve-se variação na exatidão de 94,93 a 107,54 % enquanto a variação no método por HPLC foi de 96,65 a 103,45 %. Entretanto, um maior refinamento (quimiométrico) pode tornar os resultados mais condizentes com os valores obtidos pela técnica de HPLC.

7 CONCLUSÕES

O método é linear e foi possível determinar a concentração esperada dos filtros solares adicionados nas amostras analisadas, dentro de um intervalo de concentração especificado. O método demonstrou também ser preciso, por ensaios de repetibilidade e precisão intermediária, e apresentou uma adequada taxa de exatidão. No entanto, novos estudos devem ser realizados na presença dos filtros com os veículos presentes em formulação fotoprotetoras comerciais.

O método mostrou ser tão eficaz quanto o método por HPLC, descrito na literatura, quanto à especificidade, linearidade, precisão e exatidão. É uma técnica que não necessita a utilização de solventes orgânicos em elevada quantidade, sendo portanto, menos poluente e mais barata.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). **Decreto nº 3.029, de 16 de Abril de 1999**. Aprova o Regulamento da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, e dá outras providências.
2. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). **Resolução n 237, de 22 de agosto de 2002**. Aprovar o Regulamento Técnico Sobre Protetores Solares em Cosméticos.
3. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). **Resolução n 30, de 1 de julho de 2012**. Aprova o Regulamento Técnico Mercosul sobre Protetores Solares em Cosméticos e dá outras providências.
4. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). **Resolução n 899, de 29 de maio de 2003**. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos.
5. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). **Resolução RDC nº 79, de 28 de agosto de 2000**. Definição e Classificação de Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes e outros com abrangência neste contexto.
6. ALVES, L.M.; AEGERTER, M.A.; HATA, K. **Determinação In Vitro do Fator de Proteção Solar (FPS) de Moderadores Solares**. Anais Brasileiros de Dermatologia. V 66. N 6. **1991**
7. BALOGH, T.S.; VELASCO, M.V.R.; PEDRIALI, C.A.; KANEKO, T.M.; BABY, A.R. **Proteção à Radiação Ultravioleta: Recursos Disponíveis na Atualidade em Fotoproteção**. Anais de Dermatologia. V 86. N 4. **2011**
8. BORGHETTI, G.S.; KNORST, M.T.; **Desenvolvimento e Avaliação da Estabilidade Física de Loções O/A Contendo Filtros Solares**. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. V 42. N 4. **2006**

9. CONCEIÇÃO, V.G.B. **Análise Quantitativa de Paracetamol pro Espectroscopia Raman Dispersiva**. Dissertação de Mestrado. Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento. Universidade do Vale do Paraíba. São José dos Campos, SP. **2009**
10. CORRÊA, M. A. **Cosmetologia Ciência e Técnica**. 1 edição. Editora Medfarma. **2012**
11. CRISTA, D.M.A. **Degradação dos filtros UV 4-terc-butil-4`-metoxidibenzoilmetano e -etilhexil-4-metoxicinamato em águas cloradas**. Dissertação de Mestrado. Departamento de Química e Bioquímica. Faculdade de Ciências da Universidade do Porto. **Set/2012**
12. FILHO, P.A.C; POPPI, R.J. **Aplicação de Algoritmos Genéticos na Seleção de Variáveis em Espectroscopia no Infravermelho Médio, Determinação Simultânea de Glicose, Maltose e Frutose**. Instituto de Química. Universidade Estadual de Campinas. Revista Química Nova. Vol 25. N1. Pgs 46-52. **2002**
13. FLOR, J.; DAVOLOS, M.R.; CORREA, M.A. **Protetores Solares**. Química Nova. Vol 30. N1. 153-158. Instituto de Química – Universidade Estadual Paulista. Araraquara, Brasil. **2007**
14. HENRIQUES, B.G. **Desenvolvimento e Avaliação de Preparações Lipossomais Contendo Filtros Solares Sólidos UVA/UVB**. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal do Rio de Janeiro. 174pg. Rio de Janeiro. **2008**
15. JUNIOR, J.B.G.; ARAUJO, T.A.; TRINDADE, M.A.G.; FERREIRA, V.S. **Electroanalytical Determination of the Sunscreen Agent Octocrylene**. International Journal of Cosmetic Science. N 34. 91-96. **2012**
16. LÉPORI, L.R. **Miniatlas : a pele**. São Paulo: Soriak, **2002**.

17. MONTEIRO, E.O. **Filtros Solares e Fotoproteção**. Departamento de Dermatologia da UNIFESP. RBM Especial Dermatologia e Cosmiatria. V 67. **Out/2010**
18. MUNHOZ, V.M.; LONNI, A.S.G.; MELLO, J.C.P.; LOPES, G.C. **Avaliação do Fator de Proteção Solar em Fotoprotetores Acrescidos com Extratos da Flora Brasileira Ricos em Substâncias Fenólicas**. Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada. 33(2). 225-232. **2012**
19. PAVIA, D.L.; LAMPMAN, G.M.; KRIZ, G.S.; VYVYAN, J.R. **Introdução à Espectroscopia**. Tradução da 4 edição americana. Cengage Learning. **2010**
20. PEREIRA, G.G. **Obtenção de Nanoemulsões O/A à Base de Óleo de Semente de Uva e Oliva Aditivadas de Metoxicinamato de Octila e Estudo do Potencial Antioxidante e Fotoprotetor das Emulsões**. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo. 138pg. São Paulo. **2008**
21. RIBEIRO, R.P. **Desenvolvimento e Validação da Metodologia de Análise do Teor de Filtros Solares e Determinação do FPS *in vitro* em Formulações Fotoprotetoras Comerciais**. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas. Universidade do Rio de Janeiro. 104pg. Rio de Janeiro. **2004**
22. SANTOS, M.F.P. **Desenvolvimento e Validação de Métodos de Espectroscopia no Infravermelho Próximo e Médio para Caracterização de Lamas de ETAR para Uso Agrícola**. Dissertação de Mestrado. Instituto Superior Técnico. Universidade Técnica de Lisboa. **2007**
23. SCHALKA, S.; REIS, V.M.S.; **Fator de Proteção Solar: Significado e Controvérsias**. Anais Brasileiros de Dermatologia. 86 (3). 507-515. **2011**

24. SILVA, C.F. **Testes Para Avaliação do Fator de Proteção Solar de Produtos Cosméticos Fotoprotetores.** Trabalho de Conclusão de Curso. Centro Universitário das Faculdades Metropolitanas Unidas. São Paulo **2007**
25. SOUZA, N.R. **Avaliação da formação de piromorfita em solos contaminados com Pb através de espectroscopia no infravermelho.** Dissertação de Mestrado. Programa de Pós Graduação em Ciências dos Materiais. Universidade Estadual Paulista. São Paulo. **2005**
26. SILVERSTEIN, R.M; WEBSTER, F.X.; KIEMLE, D.J. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos.** 7 edição. Editora LTC. **2005**
27. TEIXEIRA, S.M.M.C.G. **Veiculação de filtros solares utilizados na fotoproteção.** Dissertação de Mestrado. Departamento de Química e Bioquímica. Faculdade de Ciências da Universidade do Porto. **2012**
28. VASCONCELOS, F.V.C; **Uso da região espectral de sobretons para determinação do teor de biodiesel e classificação de misturas diesel/biodiesel adulteradas com óleo vegetal.** Dissertação de Mestrado. Programa de Pós Graduação em Química. Universidade Federal da Paraíba. Paraíba. **04/2011**
29. ZENI, D.; **Uso Determinação de Cloridrato de Propranolol em Medicamentos por Espectroscopia no IV com Calibração Multivariada.** Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria, RS **2005**
30. ZUNINO, M.M.B.; MARCHIORO, H.Z.; CASTRO, C.C.S.; **Avaliação do Padrão de Uso de Protetor Solar em Pacientes com Vitiligo.** Surgical Cosmetic Dermatology. 2(4). 265-271. **2010**