

## **USO DO L2- OXOTHIAZOLINE-4- ÁCIDO CARBOXÍLICO (OTZ 10) EM FORMULAÇÕES FOTOPROTETORAS**

*Ariane Batista de Souza<sup>1</sup>, Daniela Florencio Maluf<sup>2</sup>*

### **RESUMO**

Os filtros solares tem a finalidade de proteger a pele contra ações malélicas das radiações como, por exemplo, câncer de pele e fotoenvelhecimento. Devido ao avanço tecnológico na área da cosmetologia esses cosméticos recebem ativos cada vez mais eficazes para garantir esta proteção. O ativo L2-oxothiazoline-4-ácido carboxílico (OTZ 10) é um exemplo de uma nova tecnologia cosmética que pode ser adicionado em formulações fotoprotetoras. Este trabalho teve por objetivo analisar, através de uma revisão bibliográfica, os efeitos que o OTZ 10 pode apresentar em uma formulação fotoprotetora. Assim, verificou-se que seu uso é vantajoso devido suas características antioxidantes capazes de combater os radicais livres através da neutralização dos raios ultravioletas e infravermelhos estimulando a formação de pró-aurina e evitando o esgotamento dos antioxidantes naturais de defesa da pele.

*Palavras-chave:* L2-oxothiazoline-4-ácido carboxílico. Tecnologia cosmética. Fotoprotetor.

### **ABSTRACT**

Sunscreens is intended to protect the skin against harmful actions of radiations such as skin cancer and photoaging. Due to technological advancement in the field of cosmetology cosmetics receive these assets increasingly effective to ensure this protection. The L2-oxothiazoline-4-carboxylic acid is an example of a new cosmetic technology that can be added to photoprotective formulations. This study is aimed to analyze, through a literature review, the effects that the L2-oxothiazoline-4-carboxylic acid may present within a sunscreen formula. Thus, it was found that its usage is advantageous because of its antioxidant properties being able to fight free radicals by neutralizing the ultraviolet and infrared rays stimulating the formation of protaurina and avoiding depletion of natural antioxidant defense of the skin.

*Keywords:* L2-oxothiazoline-4-carboxylic acid. Cosmetic technology. Photoprotective.

### **1 INTRODUÇÃO**

Atualmente, os recursos cosméticos são de grande importância para garantir a saúde e a beleza da pele, sendo o fotoprotetor considerado um produto cosmético essencial na prevenção de patologias cutâneas e na garantia de uma pele bonita<sup>1</sup>.

A pele é um sistema de revestimento que apresenta múltiplas funções como proteção contra agressões físicas, químicas e biológicas, participação na produção de vitamina D, termorregulação e perda de água, secreção de feromônios, percepção, sensibilidade, defesa imunológica e proteção contra radiação ultravioleta<sup>2,3</sup>.

A principal fonte de radiação ultravioleta é a luz solar. A radiação UV atinge a pele desprotegida e com ação cumulativa provoca uma série de reações químicas desencadeantes do fotoenvelhecimento ou de forma mais grave, o câncer de pele<sup>4,5</sup>.

1 Acadêmico do curso de Tecnologia em Estética e Imagem Pessoal da Universidade Tuiuti do Paraná (Curitiba, PR).

2 Farmacêutica, Prof. Dra. Adjunta do curso de Tecnologia em Estética e Imagem Pessoal da Universidade Tuiuti do Paraná (Curitiba, PR).

Fotoprotetores são formulações cosméticas com a finalidade de evitar os malefícios da radiação UV. Devido ao conhecimento mais detalhado sobre os danos provocados pela radiação e ao desenvolvimento tecnológico, vários ativos têm sido adicionados a estas formulações, agindo de forma sinérgica, aumentando o espectro de FPS (fator de proteção solar), como é caso do OTZ 10<sup>2,6,7</sup>.

O presente trabalho de revisão de literatura tem por objetivo investigar a ação sinérgica do OTZ 10 quando adicionado a formulações fotoprotetoras.

## 1.1. Radiação Solar

A principal fonte de radiação é a luz solar, a qual é composta de um espectro eletromagnético contínuo que possui radiações de comprimentos de ondas diferentes. Extremamente nociva às células a radiação ultravioleta C (100-290nm) é filtrada pela camada de ozônio, não chegando à superfície terrestre. Aproximadamente 95% da radiação ultravioleta (UV) que chega à superfície da terra são formadas por raios ultravioleta A (320 nm – 400 nm) e somente 5% por raios ultravioleta B (290 nm-320 nm). A radiação UVA apresenta poder de penetração maior que a UVB e chegam às camadas mais profundas da pele<sup>4,5,8</sup>.

De forma geral, a radiação UVA exerce ação direta sobre os vasos da derme, promove quebra das cadeias de DNA nas células epidérmicas e dependendo do tempo de exposição da pele ao sol juntamente com a espessura da pele, podem causar pigmentação imediata ou tardia, alteração das fibras colágenas o que contribui para o envelhecimento cutâneo, carcinogênese, fotossensibilização e fotoalergias<sup>2,5,9,10</sup>.

A radiação UVB possui pequena penetração na pele, mas é responsável pelos danos agudos, como por exemplo, as queimaduras e ação melanogênica, onde lesiona células da epiderme formando substâncias vasodiladoras, como prostaglandinas. Participa dos processos metabólicos da vitamina D, mas pode causar eritema, espessamento da epiderme, pigmentação tardia e até mesmo câncer de pele<sup>1,2,5,8,9,10,11</sup>.

Os comprimentos de ondas interagem sobre diferentes moléculas orgânicas da pele que determinarão reações fotoquímicas cujo efeito final está relacionado com a importância do papel biológico da molécula envolvida. A molécula que absorve radiações é conhecida como cromóforo, tais como: melanina, oxi-hemoglobina, tirosina, triptofano, histidina, carotenos, desidrocolesterol, DNA, RNA, ácido urocânico, queratina e outras proteínas da epiderme<sup>1,5</sup>.

O desidrocolesterol é uma molécula importante por utilizar a radiação absorvida para a síntese de vitamina D. Por outro lado, a absorção da radiação UV pelos cromóforos faz com que a molécula saia do seu estado de repouso e ao se tornar excitada reaja com moléculas do meio biológico, onde serão criados subprodutos, estas moléculas altamente reativas recebem o nome de radicais livres<sup>2,4,5,9</sup>.

O principal cromóforo da pele é o DNA o que faz ser um dos principais alvos da radiação UV. Ocorrem modificações da resposta imunológica da pele, concomitante à indução de mutações

celulares e o desenvolvimento de malignidades, além das alterações químicas e histológicas que a derme e epiderme sofrem, favorecendo o surgimento de rugas, ressecamento, aspereza e pigmentação irregular<sup>2,5,12</sup>.

## 1.2 Fotoenvelhecimento e câncer de pele

Existem dois tipos de envelhecimento que acometem a pele: o intrínseco e o extrínseco. O primeiro está ligado a fatores genéticos e do próprio processo cronológico. No entanto, fatores ambientais, como radiação solar, tabagismo, poluição caracterizam o envelhecimento extrínseco<sup>2,5,13</sup>.

Fotoenvelhecimento é o processo cumulativo da exposição solar, referente às alterações clínicas, histológicas e funcionais da pele refletindo em sua aparência. O fototipo cutâneo está intimamente ligado ao fotoenvelhecimento, levando em consideração que a luz solar é quem determina o fototipo de cada indivíduo. A classificação baseia-se na resposta da pele com formação de eritema decorrente da radiação ultravioleta, normalmente a classificação de Fitzpatrick é a mais utilizada, ela apresenta seis fototipos sendo os quatro primeiros do tipo caucasiano, enquanto os tipos V e VI são mestiços ou negroide. Portanto, quanto menor o fototipo maior será o grau de envelhecimento cutâneo precoce. Já os fototipos mais escuros, apresentarão menor grau de envelhecimento, porém, com maior probabilidade de hiperpigmentação<sup>1,2,5,14</sup>.

Do ponto de vista histológico, são várias as alterações causadas pela radiação ultravioleta que caracterizam o fotoenvelhecimento. Na derme, as fibras de colágeno e elastina são danificadas, ocorrendo deposições de material amorfo, no lugar de tecido conjuntivo. Na epiderme, ocorre afinamento na camada espinhosa e os queratinócitos já envelhecidos adquirem uma maior resistência a apoptose que os tornam susceptíveis às mutações no DNA. Ainda ocorre achatamento na função derme-epiderme e alteração na quantidade e distribuição de melanina na pele, além da produção de radicais livres. Clinicamente esses efeitos traduzem-se em aspereza da pele, telangectasia, hiperpigmentação, rugas e ceratoses actínicas, lentigo, entre outros<sup>2,5,13</sup>.

A radiação UV em excesso desencadeia um processo inflamatório na pele e as espécies reativas de oxigênio são as principais responsáveis por este efeito, pois promovem alteração em diversos receptores mediadores da inflamação. Estas alterações dos mediadores associados com a alteração da expressão dos genes podem promover o fotoenvelhecimento da pele e principalmente o câncer da pele<sup>12</sup>.

## 1.3 Fator de Proteção Solar

O fator de proteção solar, conhecido pela sigla FPS, é o principal indicador do grau de proteção que um filtro solar de uso tópico apresenta ao surgimento do eritema cutâneo<sup>2,14,15</sup>.

A classificação do FPS é definida pela relação da Dose Eritematosa Mínima (DEM), que consiste na menor quantidade de energia necessária para o desencadeamento do eritema, comparando áreas da pele protegida pelo produto e não protegida<sup>15,16</sup>.

O FPS é diretamente proporcional ao nível de proteção ao eritema, portanto, quanto maior o FPS, maior será a proteção da pele exposta. Desta forma, uma pele que apresenta vermelhidão após 10 minutos de exposição aos raios ultravioletas, quando utiliza um filtro solar com FPS 15 em exposição solar irá desenvolver eritema após 150 minutos<sup>11,14,16,17</sup>.

É possível potencializar o fator de proteção solar, sem a necessidade de aumentar a quantidade do filtro. O FPS desejado é obtido através de uma mistura equilibrada de filtros orgânicos e/ou inorgânicos e outros componentes da formulação que podem contribuir sinergicamente para o aumento do FPS. Uma das alternativas é a adição de substâncias que, isoladamente, não funcionam como filtro solar, mas associadas a esta categoria de produtos conseguem aumentar a performance do produto final quanto ao nível de proteção solar, consequentemente, o FPS<sup>6</sup>.

## 1.4 Fotoprotetores em cosméticos

Os cosméticos que apresentam em sua composição ativos fotoprotetores, apresentam eficácia na prevenção dos efeitos agudos da exposição solar, conseguindo minimizar os danos cumulativos como o fotoenvelhecimento cutâneo e a carcinogênese<sup>2,4,9</sup>.

Os ativos fotoprotetores são moléculas ou complexos moleculares que agem por absorver, refletir ou dispersar a radiação UV. A partir de seu mecanismo e estrutura química, o filtro pode ser classificado como físico (inorgânico) e químico (orgânico), podendo ser encontrados comercialmente nas formas de creme, loção, gel, pasta, pó e spray<sup>1,4,11</sup>.

## 1.5 Filtros Físicos

Os filtros inorgânicos são partículas de óxidos metálicos que através de mecanismo óptico são capazes de refletir ou dispersar a radiação incidente. São exemplos de filtros físicos, o óxido de zinco, dióxido de titânio, óxido de ferro, talco, calamina e caulim, esses componentes são chamados de barreira porque são capazes de formar uma barreira opaca, formando um filme de partículas sobre a pele<sup>2,4,15,18</sup>.

A principal vantagem do filtro inorgânico está relacionada à sua baixa permeação cutânea e sua elevada fotoestabilidade, conferindo maior segurança. Porém, apresenta como desvantagens a coloração opaca esbranquiçada sobre a pele após aplicação, além de favorecer a comedogênese<sup>4,15</sup>.

## 1.6 Filtros Químicos

São constituídos de moléculas capazes de absorver a radiação UV e transformá-la em energia. O filtro orgânico apresenta mecanismo de ação semelhante aos cromóforos da

pele, pois atua como um cromóforo exógeno. Ele faz uma molécula evoluir para um estado excitado após absorver um fóton de energia, logo, quando a molécula volta para o seu estado estável, não excitado, há energia sendo liberada, porém em comprimento de onda longo, podendo ser na forma de radiação infravermelha (calor) ou luz visível (fluorescência). Sua vantagem está ligada ao fato de formar um filme totalmente transparente após sua aplicação. Contudo podem apresentar relativa absorção sistêmica e causar possíveis reações alérgicas<sup>2,4,11,12,15,18</sup>.

## 1.7 Avanço tecnológico no uso de fotoprotetores

O primeiro filtro solar surgiu em 1928 nos Estados Unidos, sua formulação era uma emulsão com a presença do benzil salicilato e o benzil cinamato<sup>11,12,15</sup>.

Durante a Segunda Guerra Mundial devido à necessidade de proteção a fim de evitar queimaduras solares nos soldados norte-americanos que guerreavam em países tropicais, foi difundida a utilização do PABA (ácido p-aminobenzóico). Em 1943 o PABA foi patenteado como o primeiro filtro solar estabelecido. Porém, só na década de 70 que o protetor solar se populariza e, em 1979, os filtros UVA passaram a ser introduzidos em formulações, primeiramente o dióxido de titânio em 1989, e o óxido de zinco, em 1992<sup>4,15,16</sup>.

Desde então, o mercado cosmético lança a cada dia novas tecnologias cosméticas para combater o fotodano que tanto as radiações ultravioletas como a luz visível causam, incluindo câncer de pele, isto, com base no conhecimento das alterações moleculares sobre DNA, RNA, colágeno, elastina e demais proteínas<sup>2,12,16</sup>.

## 1.8 L2-oxothiazoline-4-ácido carboxílico (OTZ 10)

O L2-oxothiazoline-4-ácido carboxílico, conhecido comercialmente como OTZ 10 é um ativo inovador e se difere dos demais antioxidantes devido ao seu mecanismo de ação, sendo capaz de combater as espécies reativas (radicais livres) através da neutralização dos raios UV e infravermelhos (IRA) nas células, potencializando a ação dos filtros solares. A concentração usual pode variar de 0,5 a 2%<sup>7</sup>.

Os radicais livres, espécies reativas de: oxigênio (ROS), nitrogênio (RNS), lipídios (RCS) e demais espécies reativas, fazem parte do metabolismo humano. ROS e RNS tem papel na fagocitose, onde as espécies são produzidas para eliminar o agente agressor. Porém, quando estas espécies são produzidas em excesso o organismo conta com um sistema antioxidante, capaz de regularizar o nível de ROS e RNS<sup>12,19</sup>.

Caracteriza-se como estresse oxidativo o desequilíbrio entre o sistema pro-oxidante (agentes oxidantes) e antioxidante, onde se encontra agentes oxidantes em predomínio, o que resultará em danos teciduais<sup>19,20</sup>.

Estes radicais livres acarretam em envelhecimento cutâneo, causado por formação de rugas, perda de elasticidade, manchas senis em função da degradação do ácido hialurônico, dano causado ao DNA, inativação de enzimas e aumento da peroxidação lipídica. As radiações solares com infravermelho e ultravioleta não são fontes de energia fundamentalmente tóxicas, mas são capazes de provocar o estresse oxidativo e formação dos radicais livres<sup>7,20,21</sup>.

A glutatona é um tripeptídeo e possui um papel importante na defesa das células contra o estresse oxidativo, sendo um dos principais antioxidantes, formada pela taurina e cisteína. Desta forma o L2-oxothiazoline-4-ácido carboxílico torna-se um ativo interessante, pois tem ação estimulante para formação de pró-taurina e evita o esgotamento de antioxidante natural como vitamina E, vitamina C, isoflavonas, aumentando assim, os sistemas naturais de defesa da pele<sup>7,20,21,22,23</sup>.

## 2 METODOLOGIA

O presente trabalho constitui-se de uma revisão bibliográfica realizada entre julho de 2012 a maio de 2013. Para elaboração deste trabalho foram consultados artigos científicos através de busca em base de dados como Scielo, PubMed, bem como revistas e livros publicados entre os anos de 2002 a 2012 que abordaram temas relacionados a filtros solares.

## 3 DISCUSSÃO

O padrão de beleza que se manteve até o século XX era a pele branca, que diferenciava a nobreza da classe operária, significando status social. Nesta época iniciavam-se alguns estudos sobre os efeitos da radiação UV e, a partir da Revolução Industrial, o estigma de pele foi mudado e o bronzeado passou a ser sinônimo de beleza e saúde. Com o avanço em pesquisas sobre os efeitos da radiação solar, além da descoberta dos efeitos deletérios da radiação UV também foram encontradas formas de proteção<sup>16</sup>.

Atualmente os raios solares são entendidos como benéficos e importantes, principalmente por causa da síntese de vitamina D e o processo de calcificação dos ossos.

Contudo, também são conhecidos os efeitos nocivos da radiação, onde o padrão de pele bronzeada é questionado. O aumento das campanhas educacionais e informativas sobre o fotoenvelhecimento e o câncer de pele, tem feito com que uma parcela maior da população associe o uso rotineiro de filtro solar a não somente uma atitude estética preventiva contra o fotoenvelhecimento, mas bem como uma atitude saudável de prevenção ao câncer de pele e outras desordens<sup>16</sup>.

Conscientes dos riscos que a exposição à radiação ultravioleta pode causar, os consumidores têm procurado por uma formulação que além de proteção à radiação, tragam benefícios para pele, são os chamados fotoprotetores ideais. Esta busca dos consumidores desperta nas indústrias um

interesse crescente na descoberta de novas moléculas e formulações fotoprotetoras. Muitas dessas indústrias, além de ativos fotoprotetores, estão introduzindo compostos que atuam sinergicamente na pele, como por exemplo, os antioxidantes, buscando uma otimização da ação fotoprotetora<sup>12,16</sup>.

Os antioxidantes são substâncias capazes de diminuir ou bloquear as oxidações, podendo evitar a formação de radicais livres, sequestrando-os ou reparando os danos gerados por eles. O L2-oxothiazoline-4-ácido carboxílico é um exemplo de uma nova tecnologia que pode ser inserida em cosméticos para proteger as células do estresse oxidativo e evitar o esgotamento de antioxidantes naturais da pele, prevenindo assim o fotoenvelhecimento e potencializando a ação de fotoprotetores<sup>4,7,12</sup>.

Outra vantagem que torna a inclusão do OTZ 10 na formulação cosmética válida, relaciona-se à aplicação de um filtro solar. A quantidade de protetor solar aplicado é importante para uma efetiva proteção, onde muitas pesquisas indicam que as pessoas aplicam apenas um terço da quantidade necessária. Além da aplicação, recomenda-se a reaplicação do produto a cada duas ou três horas e em casos de sudoreses profundas e após o contato com a água, devem ser reaplicados. Deve-se ainda ser lembrado que o clima como, por exemplo, frio, calor ou vento não afetam a intensidade da radiação. O fator de proteção de um filtro solar também pode ser afetado pelo veículo utilizado, pois uma boa espalhabilidade e aplicabilidade sobre a pele auxiliam ou não a formar um filme uniforme e homogêneo. Portanto, nestes casos, quando a radiação entrar em contato com a pele, o OTZ 10 será capaz de neutralizá-la, evitando danos, principalmente para o DNA celular<sup>1,5,7,16</sup>.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O fotoprotetor atenuando os efeitos da radiação UV, torna-se um cosmético de uso necessário seja pela prevenção do câncer de pele, ou como medida profilática contra o fotoenvelhecimento. Observa-se o avanço tecnológico das matérias primas ao longo dos anos, para tornar a formulação mais eficaz, capazes de proporcionar alta proteção UV e trazer benefícios para pele. Sendo assim, cita-se o L2-oxothiazoline-4-ácido carboxílico, como uma nova tecnologia a ser adicionada em formulações cosméticas destinadas a fotoproteção devido seu poder altamente antioxidante e pela ação sinérgica aumentando o efeito do produto final.

É atribuição do profissional tecnólogo em estética orientar a escolha e o uso consciente de um protetor solar podendo também atuar, junto à indústria cosmeceutica, durante o desenvolvimento de novas formulações fotoprotetoras visando contribuir com a melhoria do produto e assim favorecendo a adesão pela população para o seu uso cotidiano.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, P.C.H.W.P; FÁTIMA, A. **Glutathione e enzimas relacionadas: papel biológico e importância em processos patológicos**. Rev. Química Nova. Vol. 31, n. 5, 1170-1179, 2008.

AZULAY, Rubem David. **Dermatologia**. 5 ed., ver. e atual. – [Reimpr.] – Rio de Janeiro: Guanabara Koogam, 2011.

BALOGH, T. S. et al. **Proteção à radiação ultravioleta: recursos disponíveis na atualidade em fotoproteção.** Anais Brasileiros de Dermatologia, São Paulo, 2010.

CABRAL, Lorena Dias da Silva; PEREIRA, Samara de Oliveira; PARTATA, Anette Kelsei. **Filtros solares e fotoprotetores mais utilizados nas formulações no Brasil.** Revista Científica do ITPAC, Araguaína, v.4, n.3, pub. 4, Julho 2011.

CASTILHO, Ivan Gagliardi; LEITE, Rubens Marcelo Souza; SOUSA, Maria Aparecida Alves. **Fotoexposição e fatores de risco para câncer da pele: uma avaliação de hábitos e conhecimentos entre estudantes universitários.** Anais Brasileiros de Dermatologia. Distrito Federal, 2010; 85(2):173-8.

CRIADO, P. R. et al. **Topical photoprotection in childhood and adolescence.** Jornal de Pediatria, Rio de Janeiro, 88(3):203-10., 2012.

Exsymol Sam; Biotec dermacosméticos. **OTZ 10.** Disponível em: <<http://www.ativosdermatologicos.com.br/site/otz.pdf>>. Acesso em: 20 agosto de 2012.

GASTELL, P. L. P; ALEJO, J. L. P. **Métodos para medir el daño oxidativo.** Ver. Cubana Med Milit. 29(3):192-8.

GUARATINI, Thais. et al. **Fotoprotetores derivados de produtos naturais: perspectivas de mercado e interações entre o setor produtivo e centros de pesquisa.** Revista Química Nova. Vol. 32, nº 3,717-721. São Paulo, 2009.

GUIRRO, E.; GUIRRO, R. **Fisioterapia dermatofuncional.** 3 ed. São Paulo: Manole, 2004.

Khury, E. Filtros solares e Fotoprotetores. In:

MAIO, M. **Tratado de medicina estética.** 2 ed. São Paulo: Roca, 2011.

MILESI, S.S. et al. **Fatores determinantes da eficácia de fotoprotetores.** Caderno de Farmácia. Porto Alegre, v. 18, nº2, p. 81-87, 2002.

MONTAGNER, Suelen; COSTA, Adilson. **Bases biomoleculares do fotoenvelhecimento.** Anais Brasileiros de Dermatologia. São Paulo, 84(3):263-9., 2009.

OJOE, Evelyn. **Inovação em fotoproteção II.** Revista Pharmaceutical Compounding. Vol. 6 nº 6. Nov-Dec, 2004.

PUERTA, C. et al. **Taurine and glucose metabolism: a review.** Nutr. Hosp. 2010; 25(6):910-919.

PURIM, Kátia Sheyla Malta; LEITE, Neiva. **Fotoproteção e exercício físico.** Rev. Bras. Med. Esporte – vol. 16, nº3. Curitiba, 2010.

RIBEIRO, Cláudio. **Cosmetologia aplicada a Dermoestética.** Ed. Pharmabooks. São Paulo, 2006.

SCHALKA, Sergio; REIS, Vitor Manoel Silva dos. **Fator de proteção solar: significado e controvérsias.** Anais Brasileiros de Dermatologia. São Paulo, 86(3):507-15., 2011.

SEBASTIÃO, Sampaio A. P; RIVITI, Evandro A. **Dermatologia.** 3 ed. rev. e ampl. São Paulo: artes médicas, 2007.

SILVA, W. J. M; FERRARI, C.K.B. **Metabolismo mitocondrial, radicais livres e envelhecimento.** Ver. Bras. Geriatr. Gerontol., Rio de Janeiro, 2011; 14(3):441-451.

SOUZA, T. M. et al. **Avaliação da atividade fotoprotetora de *Achillea millefolium* L.** Revista Brasileira de Farmacognosia. São Paulo, 15 (1): 36-38, Jan/Mar, 2005.

TEIXEIRA, Gabriel Gontijo. et al. **Fotoproteção.** Surgical e Cosmetic Dermatology, vol. 1, num 4, PP, 186-192. Minas Gerais, 2009.

VASCONCELOS, S. M. L. et al. **Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação.** Revista Química Nova, vol. 30, n.5, 1323-1338, 2007.