



**UFSM**

**Dissertação de Mestrado**

**EMPREGO DA ETV-ICP OES PARA A DETERMINAÇÃO DE  
IMPUREZAS INORGÂNICAS EM PRODUTOS FARMACÊUTICOS**

---

**Suelem Kaczala**

**PPGQ**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2013**

# EMPREGO DA ETV-ICP OES PARA A DETERMINAÇÃO DE IMPUREZAS INORGÂNICAS EM PRODUTOS FARMACÊUTICOS

---

por

**Suelem Kaczala**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química,  
**Área de Química Analítica**, da Universidade Federal de Santa Maria  
(RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em  
Química**

Santa Maria, RS, Brasil

2013

**Universidade Federal de Santa Maria  
Centro de Ciências Naturais e Exatas  
Departamento de Química  
Programa de Pós-Graduação em Química**

A Comissão Examinadora abaixo assinada aprova a Dissertação de Mestrado

**EMPREGO DAETV-ICP OES PARA A DETERMINAÇÃO DE  
IMPUREZAS INORGÂNICAS EM PRODUTOS FARMACÊUTICOS**

Elaborada por

**Suelem Kaczala**

Como requisito parcial para a obtenção do grau de  
**Mestre em Química**

**COMISSÃO EXAMINADORA:**

---

Prof. Dr. Valderi Luiz Dressler - Orientador (UFSM)

---

Prof. Dr. Cezar Augusto Bizzi (IFFarroupilha)

---

Prof. Dr. Fábio Andrei Duarte (FURG)

Santa Maria, 01 de março de 2013.



## AGRADECIMENTOS

---

Ao **Programa de Pós Graduação em Química** da Universidade Federal de Santa Maria e ao **Laboratório de Análises Químicas Industriais e Ambientais** pela possibilidade de execução deste trabalho.

Ao Prof. Dr. **Valderi Luiz Dressler**, pela oportunidade, orientação, transmissão de conhecimentos, amizade e pelo exemplo de dedicação profissional.

Ao Prof. Dr. **Cezar Augusto Bizzi**, pela participação como banca examinadora, pelas contribuições e atenção dispendida.

Ao Prof. Dr. **Fábio Andrei Duarte**, pela participação como banca examinadora e pelas sugestões para o aperfeiçoamento deste trabalho.

Ao Prof. **Adilson Ben da Costa** e **Ederson Luis Posselt** pelas contribuições durante o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Prof. Dr. **Érico Marlon de Moraes Flores**, Prof. Dr. **Edson Irineu Müller**, Prof. Dr. **José Neri Gottfried Paniz**, pelas oportunidades de aprendizado e contribuições.

Aos **colegas do LAQIA**, pelo apoio, amizade e colaboração na realização deste trabalho.

Ao **Ademir** e **Valéria**, da secretaria do PPGQ, pela atenção e auxílio dispensados.

E finalmente, agradeço aos meus pais **Benedito** e **Neiva** e ao meu irmão **Matheus** pelo constante incentivo, carinho e pela compreensão. Ao meu namorado **Fabiano**, pelo apoio, paciência e companheirismo demonstrados.

**SUMÁRIO**

---

<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>IX</b>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>XIII</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....</b>	<b>XV</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>XVII</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>XIX</b>
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>3</b>
2.1 IMPUREZAS EM PRODUTOS FARMACÊUTICOS .....	4
2.1.1 Metais e não metais como contaminantes em produtos farmacêuticos ...	4
2.2 MÉTODOS OFICIAIS PARA DETERMINAÇÃO DE METAIS PESADOS EM PRODUTOS FARMACÊUTICOS .....	6
2.2.1 Ensaio limite por formação de partículas sólidas de sulfetos .....	7
2.2.2 Determinação por espectrometria atômica e de massa .....	8
2.2.3 Procedimentos de preparo de amostra .....	9
2.3 FÁRMACOS TRICÍCLICOS.....	10
2.4 Vaporização eletrotérmica acoplada à espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado .....	14
2.4.1 Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado .....	15
2.4.2 Vaporização eletrotérmica.....	17
2.4.3 Determinação de metais e não metais em amostras inorgânicas empregando ETV .....	20
2.4.4 Determinação de metais e não metais em amostras orgânicas empregando ETV .....	22
<b>3 OBJETIVOS .....</b>	<b>24</b>
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>25</b>

4.1 INSTRUMENTAÇÃO .....	26
4.2 REAGENTES.....	27
4.3 MATERIAIS DIVERSOS .....	28
4.4 AMOSTRAS.....	29
4.5 DECOMPOSIÇÃO DAS AMOSTRAS.....	30
4.6 DETERMINAÇÃO DE METAIS E NÃO METAIS EM PRODUTOS FARMACÊUTICOS EMPREGANDO ETV-ICP OES .....	33
4.6.1 Avaliação dos parâmetros relacionados à vaporização eletrotérmica ....	33
4.6.1.1 Avaliação das temperaturas de pirólise e vaporização .....	34
4.6.1.2 Avaliação da massa de amostra .....	34
4.6.1.3 Avaliação da vazão do reagente CCl <sub>2</sub> F <sub>2</sub> .....	35
4.7 RESUMO DO MÉTODO DESENVOLVIDO PARA A DETERMINAÇÃO DE METAIS E NÃO METAIS EM PRODUTOS FARMACÊUTICOS POR ETV-ICP OES .....	35
<b>5 APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS .....</b>	<b>37</b>
5.1 AJUSTE DO SISTEMA ETV-ICP OES .....	38
5.1.1 Uso de modificador halogenado.....	38
5.1.1.1 Otimização da vazão de CCl <sub>2</sub> F <sub>2</sub> (Freon R12).....	41
5.1.2 Ajuste do programa de temperaturas do sistema ETV-ICP OES .....	43
5.1.2.1 Avaliação da temperatura de pirólise.....	44
5.1.2.2 Avaliação da temperatura de vaporização.....	46
5.1.2.3 Programa de aquecimento empregado no sistema ETV-ICP OES .....	48
5.2 AVALIAÇÃO DA MASSA DE AMOSTRA .....	48
5.3 AVALIAÇÃO DO USO DE MODIFICADORES .....	50
5.4 AVALIAÇÃO DO MÉTODO DE CALIBRAÇÃO EMPREGADO NA ETV-ICP OES .....	57

5.5 DETERMINAÇÃO DE METAIS E NÃO METAIS EM PRODUTOS FARMACÊUTICOS EMPREGANDO ETV-ICP OES .....	61
5.6 COMPARAÇÃO DOS RESULTADOS .....	64
<b>6 CONCLUSÕES.....</b>	<b>71</b>
<b>7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>73</b>



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b>	Sequência de etapas para preparo de amostra para posterior determinação de metais e não metais em produtos farmacêuticos. <i>Adaptado de Farmacopeia Brasileira, 5ª edição.</i> <sup>4</sup> ..... 10	10
<b>Figura 2.</b>	Estrutura molecular da carbamazepina. .... 12	12
<b>Figura 3.</b>	Estruturas moleculares dos cloridratos de (a) amitriptilina, (b) imipramina e (c) nortriptilina. .... 12	12
<b>Figura 4.</b>	Estrutura molecular do cloridrato de ciclobenzaprina. .... 13	13
<b>Figura 5.</b>	Estruturas moleculares do cloridrato de (a) prometazina, (b) fumarato de cetotifeno e (c) loratadina. .... 13	13
<b>Figura 6.</b>	Estrutura molecular do cloridrato de tetraciclina. .... 14	14
<b>Figura 7.</b>	Estrutura molecular da clozapina. .... 14	14
<b>Figura 8.</b>	Aspecto de uma amostra manipulada (a) cloridrato de ciclobenzaprina e das amostras comerciais (b) loratadina e (c) clozapina. .... 29	29
<b>Figura 9.</b>	Sistema ETV-ICP OES. 1: Abertura do forno para introdução da plataforma; 2: Gás carreador (Ar) + Modificador (CCl <sub>2</sub> F <sub>2</sub> ); 3: Plataforma contendo amostra sólida; 4: Forno de grafite; 5: Contatos de grafite para aquecimento do sistema; 6: <i>Bypass-gas</i> ; 7: Linha de transferência do ETV ao ICP OES; 8: Espectrômetro óptico (ICP OES); 9: Tocha ICP. .... 33	33
<b>Figura 10.</b>	Etapas para a determinação de metais e não metais em produtos farmacêuticos através do método proposto e as etapas envolvidas no método preconizado pela FB <sup>4</sup> ..... 36	36
<b>Figura 11.</b>	Perfis de sinais do Cu para mesma massa do elemento na (a) ausência e (b) presença de CCl <sub>2</sub> F <sub>2</sub> . .... 40	40
<b>Figura 12.</b>	Perfis de sinais do Mo para mesma massa do elemento na (a) ausência e (b) presença de CCl <sub>2</sub> F <sub>2</sub> . .... 40	40
<b>Figura 13.</b>	Efeito da vazão de CCl <sub>2</sub> F <sub>2</sub> para (a) As, Cd, Mn e Pb; (b) Cr, Cu, Mo, Ni e V; (c) Pd, Pt, Rh e Ru. Condições empregadas: 2,5 mg de cloridrato de amitriptilina com adição de 30 ng de cada elemento; temperatura de pirólise em 300 °C e temperatura de vaporização	

	em 1800 °C. Os valores representam a média e o desvio padrão de 3 determinações. ....	42
<b>Figura 14.</b>	Curvas de pirólise para As, Cd, Mo, Pb e V. Condições empregadas: 30 ng de cada elemento; temperatura de vaporização em 2000 °C; vazão de CCl <sub>2</sub> F <sub>2</sub> em 3 mL min <sup>-1</sup> . Os valores representam a média e o desvio padrão de 3 determinações. ....	45
<b>Figura 15.</b>	Curvas de pirólise para Cr, Cu, Mn, Ni e Ru. Condições empregadas: 30 ng de cada analito; temperatura de vaporização em 2000 °C, vazão de CCl <sub>2</sub> F <sub>2</sub> em 3 mL min <sup>-1</sup> . Os valores representam a média e o desvio padrão de 3 determinações. ....	45
<b>Figura 16.</b>	Curvas de pirólise para Pd, Pt e Rh. Condições empregadas: 30 ng de cada elemento; temperatura de vaporização em 2000 °C, vazão de CCl <sub>2</sub> F <sub>2</sub> em 3 mL min <sup>-1</sup> . Os valores representam a média e o desvio padrão de 3 determinações. ....	46
<b>Figura 17.</b>	Temperatura de vaporização do (a) As, Cd, Mo, Pb e V, (b) Cr, Cu, Mn, Ni e Ru e c) Rh, Pd, Pt. Condições empregadas: 30 ng de cada elemento; temperatura de pirólise em 350 °C. Os valores representam a média e o desvio padrão de 3 determinações. ....	47
<b>Figura 18.</b>	Efeito da massa de amostra sobre a intensidade dos sinais do (a) As, Cd, Mo e V (b) Cr, Cu, Mn, Ni e Pb e (c) Pd, Pt, Rh e Ru. Condições empregadas: 30 ng de cada elemento; temperatura de pirólise em 350 °C, temperatura de vaporização em 1600 °C, vazão de CCl <sub>2</sub> F <sub>2</sub> em 3 mL min <sup>-1</sup> . Os valores representam a média e o desvio padrão de 3 determinações. ....	49
<b>Figura 19.</b>	Efeito de (a) 100 ng e (b) 100 µg de ácido ascórbico sobre As, Cd, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru e V. Condições empregadas: 30 ng de cada elemento; temperatura de pirólise em 350 °C, temperatura de vaporização em 1600 °C, vazão de CCl <sub>2</sub> F <sub>2</sub> em 3 mL min <sup>-1</sup> . Os valores representam a média e o desvio padrão de 3 determinações. ....	52
<b>Figura 20.</b>	Efeito de (a) 100 ng e (b) 100 µg de ácido cítrico sobre As, Cd, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru e V. Condições empregadas: 30 ng de cada elemento; temperatura de pirólise em 350 °C,	

	temperatura de vaporização em 1600 °C, vazão de CCl <sub>2</sub> F <sub>2</sub> em 3 mL min <sup>-1</sup> . Os valores representam a média e o desvio padrão de 3 determinações. ....	53
<b>Figura 21.</b>	Efeito de (a) 100 ng e (b) 100 µg de EDTA sobre As, Cd, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru e V. Condições empregadas: 30 ng de cada elemento; temperatura de pirólise em 350 °C, temperatura de vaporização em 1600 °C, vazão de CCl <sub>2</sub> F <sub>2</sub> em 3 mL min <sup>-1</sup> . Os valores representam a média e o desvio padrão de 3 determinações. ....	54
<b>Figura 22.</b>	Efeito de (a) 100 ng e (b) 100 µg de ácido oxálico sobre As, Cd, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru e V. Condições empregadas: 30 ng de cada elemento; temperatura de pirólise em 350 °C, temperatura de vaporização em 1600 °C, vazão de CCl <sub>2</sub> F <sub>2</sub> em 3 mL min <sup>-1</sup> . Os valores representam a média e o desvio padrão de 3 determinações. ....	55
<b>Figura 23.</b>	Efeito de (a) 100 ng e (b) 100 µg de cloreto de sódio sobre As, Cd, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru e V. Condições empregadas: 30 ng de cada elemento; temperatura de pirólise em 350 °C, temperatura de vaporização em 1600 °C, vazão de CCl <sub>2</sub> F <sub>2</sub> em 3 mL min <sup>-1</sup> . Os valores representam a média e o desvio padrão de 3 determinações. ....	56
<b>Figura 24.</b>	Curvas de calibração obtidas para os elementos determinados por ETV-ICP OES. ....	60
<b>Figura 25.</b>	Resíduo da amostra cloridrato de prometazina após o ciclo de aquecimento (limpeza a 2400 °C) no vaporizador eletrotérmico. ....	64
<b>Figura 26.</b>	Aspecto dos fármacos (a) carbamazepina, (b) cloridrato de prometazina, (c) cloridrato de amitriptilina e (d) ciclobenzaprina após decomposição por via úmida em sistema fechado. ....	65
<b>Figura 27.</b>	Aspecto das soluções obtidos após decomposição por MIC dos fármacos (a) carbamazepina, (b) cloridrato de prometazina, (c) cloridrato de amitriptilina e (d) ciclobenzaprina. ....	65
<b>Figura 28.</b>	Resíduo da amostra cloridrato de prometazina após decomposição por MIC. ....	69

**Figura 29.** Decomposição de cloridrato de imipramina através de MIC com  
(a) 125 mg e (b) 80 mg de massa de amostra..... 70

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b>	Limites máximos permitidos de impurezas inorgânicas (metais e não metais) em produtos farmacêuticos. ( <i>Adaptado de Farmacopeia Brasileira, 5ª edição</i> ) <sup>4</sup> ..... 7	7
<b>Tabela 2.</b>	Parâmetros operacionais do ETV..... 26	26
<b>Tabela 3.</b>	Parâmetros operacionais do instrumento de ICP OES..... 27	27
<b>Tabela 4.</b>	Programa de aquecimento utilizado para a decomposição das amostras por via úmida. .... 30	30
<b>Tabela 5.</b>	Programa de aquecimento utilizado para a decomposição por combustão iniciada por microondas. .... 31	31
<b>Tabela 6.</b>	Parâmetros operacionais do instrumento de ICP-MS..... 31	31
<b>Tabela 7.</b>	Razões massa/carga monitoradas. .... 32	32
<b>Tabela 8.</b>	Avaliação do programa de tempo e temperatura utilizado na vaporização eletrotérmica..... 34	34
<b>Tabela 9.</b>	Programa de tempo e temperatura utilizado no vaporizador eletrotérmico..... 48	48
<b>Tabela 10.</b>	Massas (ng) utilizadas para a construção da curva de calibração dos elementos determinados por ETV-ICP OES..... 59	59
<b>Tabela 11.</b>	Parâmetros de mérito do método proposto para a determinação de metais e não metais em produtos farmacêuticos por ETV-ICP OES.... 59	59
<b>Tabela 12.</b>	Parâmetros de mérito do método proposto para a determinação de As, Cd, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru e V em produtos farmacêuticos tricíclicos por ETV-ICP OES..... 61	61
<b>Tabela 13.</b>	Resultados da análise de onze produtos farmacêuticos empregando ETV-ICP OES para 13 dos 16 elementos preconizados pela FB <sup>4</sup> . Valores em $\mu\text{g g}^{-1}$ . .... 63	63
<b>Tabela 14.</b>	Resultados da determinação dos 11 produtos farmacêuticos para 14 dos 16 elementos preconizados pela FB <sup>4</sup> . Resultados ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) correspondem às determinações feitas por ICP-MS após decomposição das amostras por MIC. .... 67	67
<b>Tabela 15.</b>	Parâmetros de mérito para a determinação de metais e não metais em produtos farmacêuticos utilizando ICP-MS após decomposição	

	da amostra por MIC.....	68
<b>Tabela 16.</b>	Comparação entre os limites máximos permitidos pela FB <sup>4</sup> e os LOQs obtidos na determinação de metais e não metais em produtos farmacêuticos utilizando o método proposto (ETV-ICP OES) e o método de comparação (MIC-ICP-MS). .....	68

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

---

1. AAS, espectrometria de absorção atômica, do inglês *Atomic absorption spectrometry*
2. ADT, antidepressivos tricíclicos
3. AES, espectrometria de emissão atômica, do inglês *Atomic emission spectrometry*
4. APDC, pirrolidina ditiocarbamato de amônio, do inglês *Ammonium pyrrolidinecarbodithioate*
5. AFS, espectrometria de fluorescência atômica, do inglês *Atomic fluorescence spectrometry*
6. BP, Farmacopeia Britânica, do inglês *British Pharmacopoeia*
7. Freon R12,  $\text{CCl}_2\text{F}_2$ , diclorodifluormetano
8. CRM, Material de referência certificado, do inglês *Certified reference material*
9. CV AAS, Espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio, do inglês *Cold vapor atomic absorption spectrometry*
10. EDTA, Ácido etilenodiaminotetracético, do inglês *Ethylenediamine tetraacetic acid*
11. EP, Farmacopeia europeia, do inglês *European Pharmacopoeia*
12. EMEA, Agência europeia de medicamentos, do inglês *European Medicines Agency*
13. ETV, vaporização eletrotérmica, do inglês *Electrothermal vaporization*
14. ETV-ICP OES, vaporização eletrotérmica acoplada à espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado, do inglês *Electrothermal vaporization- inductively coupled plasma optical emission spectrometry*
15. ETV-ICP-MS, vaporização eletrotérmica acoplada à espectrometria de massa acoplada à plasma indutivamente acoplado, do inglês *Electrothermal vaporization - inductively coupled plasma - mass spectrometry*
16. F AAS, espectrometria de absorção atômica com chama, do inglês *Flame atomic absorption spectrometry*
17. F AES, espectrometria de emissão atômica com chama, do inglês *Flame atomic emission spectrometry*
18. FB, Farmacopeia Brasileira

19. GF AAS, espectrometria de absorção atômica com atomização em forno de grafite, do inglês *Graphite furnace atomic absorption spectrometry*
20. HG AAS, espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos, do inglês *Hydride generation atomic absorption spectrometry*
21. ICP, plasma indutivamente acoplado, do inglês *Inductively coupled plasma*
22. IFA, insumos farmacêuticos ativos
23. ICP-MS, espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado, do inglês *Inductively coupled plasma – mass spectrometry*
24. ICP OES, espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado, do inglês *Inductively coupled plasma optical emission spectrometry*
25. K, Kelvin
26. LOD, limite de detecção, do inglês *limit of detection*
27. LOQ, limite de quantificação, do inglês *limit of quantification*
28. MIC, combustão iniciada por micro-ondas, do inglês *Microwave induced combustion*
29. NEB, nebulização pneumática, do inglês *pneumatic nebulization*
30. PTFE, politetrafluoretileno
31. RF, radiofrequência, do inglês *Radiofrequency*
32. SS-ETV-ICP-MS, do inglês *Slurry sampling electrothermal vaporization inductively coupled plasma optical emission spectrometry*
33. SS-ETV-ICP OES, do inglês *Slurry sampling electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry*
34. TXRF, fluorescência de raios-X por reflexão total, do inglês *Total reflectance X-ray fluorescence*
35. USN, nebulização ultrassônica, do inglês *Ultrasonic nebulizer*
36. USP, Farmacopeia Americana, do inglês *The United States Pharmacopeia*
37. WHO, Organização mundial da saúde, do inglês *World Health Organization*
38.  $\lambda$ , comprimento de onda
39.  $e^-$ , elétron
40.  $\mu$ , micro ou  $10^{-6}$
41.  $^{\circ}\text{C}$ , grau Celsius



## RESUMO

---

Neste trabalho foi estudada metodologia para a determinação de As, Cd, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru e V em produtos farmacêuticos, empregando a técnica de vaporização eletrotérmica acoplada à espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ETV-ICP OES). O método oficial preconizado pela Farmacopeia Brasileira, que emprega a espectrometria atômica para a determinação dos elementos supracitados, recomenda técnicas de decomposição de amostras a fim de obter a amostra sob a forma de solução para posterior análise. Entretanto, alguns produtos farmacêuticos, como os fármacos tricíclicos, são difíceis de serem decompostos por métodos convencionais de preparo de amostras, como a via úmida. No sentido de evitar esta etapa de preparo de amostra e os erros a ela agregados, a análise direta da amostra sólida foi proposta neste trabalho. O sistema de vaporização eletrotérmica consiste em vaporizar a amostra para introduzi-la no plasma, empregando, preferencialmente, um programa de aquecimento de forma a evitar a volatilização concomitante da matriz e analitos. A influência do modificador  $\text{CCl}_2\text{F}_2$ , como reagente auxiliar de vaporização de elementos, principalmente refratários e formadores de carbetos, foi avaliada, com vazão ideal de  $3,0 \text{ mL min}^{-1}$ . O efeito carreador e modificador do ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido etilenodiaminotetracético, ácido oxálico e cloreto de sódio também foram avaliados. Parâmetros como as temperaturas de pirólise e de vaporização foram ajustados a fim de obter um único programa de temperatura para a determinação multielementar no ICP OES. Temperaturas de  $350 \text{ }^\circ\text{C}$  e  $1600 \text{ }^\circ\text{C}$  foram consideradas adequadas para pirólise e vaporização, respectivamente. A massa de amostra também foi avaliada, sendo apropriado  $2,5 \text{ mg}$  para todos os produtos farmacêuticos. Na determinação de metais e não metais pelo método proposto foi encontrado  $5,5 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$  de Cr na amostra de cloridrato de ciclobenzaprina, enquanto para os demais elementos e amostras, as concentrações ficaram abaixo do limite de quantificação (LOQ). A exatidão foi avaliada empregando-se a combustão iniciada por micro-ondas (MIC) seguida de determinação por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado. O valor obtido para Cr na amostra cloridrato de ciclobenzaprina foi  $6,3 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ , o que representa uma concordância de 87%. A fim de verificar o desempenho do método proposto, foram feitos testes de recuperação,

através da adição de 16 ng de Cr (quantidade equivalente à encontrada em 2,5 mg de cloridrato de ciclobenzaprina), obtendo-se 91% de recuperação. O LOQ ( $10\sigma$ ,  $n = 10$ ) do método proposto variou entre  $0,12 \mu\text{g g}^{-1}$  (para Mn) e  $356 \mu\text{g g}^{-1}$  (para As), enquanto que o desvio padrão relativo ( $n = 3$ ) foi menor do que 10%. A frequência de determinação foi de 20 amostras  $\text{h}^{-1}$ . Considerando-se a dificuldade de decomposição dos fármacos tricíclicos e os LOQs obtidos, o método proposto pode ser considerado adequado para a determinação de Cr, Cu, Mn, Ni, Pd, Rh, Ru e V.

**ABSTRACT**

---

In this study a method for As, Cd, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru and V determination in pharmaceuticals products by electrothermal vaporization inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ETV-ICP OES) was developed. The Brazilian Pharmacopoeia (FB) recommends acid digestion of the sample before element determination by atomic spectrometry. However, some pharmaceuticals, such as tricyclic compounds, are difficult to be decomposed by conventional acid digestion. In order to avoid the step of sample digestion, direct solid sample analysis by ETV-ICP OES is proposed. Electrothermal vaporization consists in vaporizing the sample to be introduced in the plasma. The influence of  $\text{CCl}_2\text{F}_2$  as chemical modifier was investigated and  $3.0 \text{ mL min}^{-1}$  was considered the ideal flow rate. Modifier and carrier effect of ascorbic acid, citric acid, oxalic acid, ethylenediaminetetraacetic acid and sodium chloride was also evaluated. Vaporization and pyrolysis temperatures were adjusted in order to obtain a single temperature program for multielement determination by ETV-ICP OES. Hence, temperatures of  $350 \text{ }^\circ\text{C}$  and  $1600 \text{ }^\circ\text{C}$  were considered suitable for pyrolysis and vaporization, respectively. Sample mass was also evaluated and  $2.5 \text{ mg}$  was considered appropriate. By the proposed ETV-ICP OES method only Cr ( $5.5 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ ) was detected in cyclobenzaprine hydrochloride. Since there are not certified reference materials with similar matrix to the samples, accuracy was checked by comparison of results obtained by inductively coupled plasma mass spectrometry after microwave induced combustion. Agreement of 87% (by comparison with ICP-MS) and 91% (by analyte recovery) was obtained for Cr. The limit of quantification ( $10 \sigma$ ,  $n = 10$ ) of the proposed method was in the range of  $0.08 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$  for Mn and  $356 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$  for As, while the relative standard deviation ( $n = 3$ ) was lower than 10%. The frequency of determination was  $20 \text{ h}^{-1}$ . Considering the analytical characteristics the proposed method can be considered suitable for element determination in tricyclic pharmaceuticals.

# 1 INTRODUÇÃO

---

Produtos farmacêuticos são componentes fundamentais da medicina moderna e tradicional,<sup>1</sup> fazendo parte de nosso cotidiano e melhorando nossa qualidade de vida, pois são usados na prevenção e tratamento de muitas doenças.<sup>2</sup> Os requisitos mínimos necessários para que um medicamento seja utilizado são segurança, eficácia e qualidade dos mesmos.<sup>3</sup>

O controle da qualidade de insumos farmacêuticos ou de produtos acabados é preconizado por compêndios oficiais, como as Farmacopeias Brasileira (FB)<sup>4</sup>, Americana (USP)<sup>5</sup>, Europeia (EP)<sup>6</sup> e Britânica (BP)<sup>7</sup>, onde estão descritos diversos ensaios para a determinação de impurezas, incluindo um ensaio limite para determinação de metais.

A presença de impurezas inorgânicas em medicamentos é preocupante, pois além de serem tóxicos, alguns metais atuam como agentes catalisadores na degradação dos fármacos,<sup>8</sup> podendo formar subprodutos que podem ser prejudiciais à saúde humana, além de indicar manuseio e/ou armazenamento incorretos.<sup>9</sup> Além disso, a maioria dos metais presentes como contaminantes em medicamentos podem acumular no organismo, acarretando em malefícios à saúde, o que reforça a importância do controle de qualidade neste tipo de produto.<sup>10</sup>

A determinação de metais e não metais em medicamentos, geralmente, é realizada com a amostra sob a forma de solução aquosa. Entretanto, alguns medicamentos, como os fármacos tricíclicos, apresentam características químicas que dificultam a decomposição da amostra, necessária para transformá-los em solução aquosa.<sup>11</sup>

Cabe ressaltar que, dentre as classes de medicamentos existentes, os fármacos tricíclicos são empregados no tratamento de diversas enfermidades e muitas vezes são indicados como medicamentos de uso contínuo, tornando indispensável o seu controle de qualidade.<sup>12</sup>

Nesse sentido, a análise direta de sólidos é uma alternativa viável, pois ao permitir que a amostra seja introduzida, com pouco ou nenhum tratamento, diretamente no equipamento, elimina a etapa de decomposição, crítica para este tipo

---

de amostra. Dentre as técnicas de análise direta de sólidos, a vaporização eletrotérmica acoplada à espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ETV-ICP OES) destaca-se por unir a capacidade multielementar de análise e baixos limites de detecção (LODs), com as vantagens da análise direta de sólidos.

A técnica ETV-ICP OES é utilizada para a determinação de elementos nos mais diversos tipos de amostras, dentre elas biológicas, ambientais, materiais refratários e polímeros. Contudo, até o presente momento, não há relatos na literatura sobre o emprego da ETV-ICP OES para a determinação de quaisquer elementos em fármacos.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

---

*A revisão da literatura está dividida em três partes. Na primeira parte serão abordados os aspectos gerais sobre impurezas em produtos farmacêuticos, com ênfase em impurezas inorgânicas que abrangem os metais e os não metais, bem como os métodos para a sua determinação recomendados pelos compêndios oficiais. Na segunda parte serão abordados os aspectos relacionados aos fármacos tricíclicos. Na terceira parte serão discutidas as técnicas de vaporização eletrotérmica (ETV) e espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES), bem como as principais características do acoplamento ETV-ICP OES.*

## 2.1 IMPUREZAS EM PRODUTOS FARMACÊUTICOS

Qualquer componente não desejável presente em um insumo farmacêutico é considerado impureza.<sup>13</sup> Nos medicamentos, as impurezas podem ser divididas em impurezas orgânicas, inorgânicas e solventes residuais. As impurezas orgânicas podem surgir durante o processo de manufatura e/ou armazenamento do fármaco. Podem ser citados como exemplo desse grupo de impurezas os materiais de partida, co-produtos, intermediários, produtos de degradação, além dos reagentes utilizados para síntese do insumo farmacêutico.<sup>14</sup> Dentre as impurezas inorgânicas estão os sais inorgânicos, reagentes, ligantes, catalisadores e metais residuais.<sup>15,16</sup> Estes estão relacionados ao processo de manufatura e podem surgir através de várias fontes, como catalisadores e reagentes usados durante a síntese, equipamentos, embalagens, além do próprio ambiente.<sup>17</sup> Os solventes residuais podem ser líquidos orgânicos ou inorgânicos usados como veículos para preparação de soluções ou suspensões para síntese dos insumos farmacêuticos.<sup>15,16</sup>

### 2.1.1 Metais e não metais como contaminantes em produtos farmacêuticos

Os metais pesados podem ser definidos quimicamente como os elementos localizados nos grupos 3 a 16, entre os períodos 4 e 7 da tabela periódica.<sup>18</sup> A principal razão para a investigação de metais pesados em medicamentos é a dificuldade de eliminação desses elementos pelo organismo e os diversos malefícios que podem ser causados à saúde. Além disso, existe o aspecto cumulativo na cadeia alimentar e a persistência no meio ambiente, especialmente para Cd, Pb, Hg, Ni, entre outros.<sup>10</sup>

Devido à importância do assunto, nos últimos anos, muitos estudos sobre a determinação de metais em produtos farmacêuticos têm sido publicados.<sup>19-26</sup> Alguns autores reportaram concentrações além do limite máximo permitido pelas legislações vigentes em cada país. Neste sentido, Antosz *et al.*<sup>24</sup> empregaram a técnica de fluorescência de raios-X por reflexão total (TXRF) para avaliação de impurezas inorgânicas (Br, Cr, Cu, Fe, I, Ni e Pd) em 14 amostras de insumos farmacêuticos ativos (IFA), encontrando 14,7  $\mu\text{g g}^{-1}$  de Cr, 86,2  $\mu\text{g g}^{-1}$  de Cu e 665,7  $\mu\text{g g}^{-1}$  de Pd, enquanto a USP estabelece como limite máximo 2,5  $\mu\text{g g}^{-1}$  para Cr, 25  $\mu\text{g g}^{-1}$  para Cu e 1  $\mu\text{g g}^{-1}$  para Pd. Harris *et al.*<sup>27</sup> determinaram As, Cd, Cr, Hg e Pb em 334

amostras de fitoterápicos chineses, onde aproximadamente 20% das amostras superaram os limites máximos estabelecidos para Cd ( $0,3 \mu\text{g g}^{-1}$ ) e Cr ( $2 \mu\text{g g}^{-1}$ ). Ang e Lee<sup>28</sup> empregaram a espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio (CV AAS) na determinação de Hg em 100 amostras de fitoterápicos provenientes da Malásia. Os autores encontraram de 0,53 a  $2,35 \text{ mg L}^{-1}$  de Hg em 26% das amostras avaliadas. A legislação vigente na Malásia estabelece  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$  como concentração máxima de Hg. Orisakwe e Nduka<sup>29</sup> avaliaram a presença de Cd e Pb em 50 xaropes pediátricos provenientes da Nigéria e reportaram a presença de Cd em 60% das amostras analisadas, enquanto Pb foi encontrado em 98% das amostras analisadas. As concentrações máximas estabelecidas pela USP para Cd e Pb são  $0,25 \mu\text{g g}^{-1}$  e  $0,5 \mu\text{g g}^{-1}$ , respectivamente. Entretanto, concentrações de até  $1,08 \text{ mg L}^{-1}$  de Cd e  $2,45 \text{ mg L}^{-1}$  de Pb foram encontradas nas amostras. Wu *et al.*<sup>30</sup> determinaram Al, As, Cd, Cu, Cr, Hg, Mn, Ni e Pb em 69 produtos fitoterápicos empregando as técnicas de ICP OES e espectrometria de fluorescência atômica (AFS). Os autores verificaram que todos os produtos apresentaram concentrações de Pb inferiores ao limite máximo permitido. Entretanto, 2,9, 5,8, 5,8 e 8,7% das amostras superaram o limite estabelecido para As, Cd, Cu e Hg, respectivamente.

Outros estudos reportam concentrações de elementos abaixo do limite máximo permitido pelos compêndios adotados em cada país. Dressler *et al.*<sup>31</sup> avaliaram a qualidade de soluções de aminoácidos, glicose e lipídios, utilizados em soluções parenterais, através da determinação de As, Cd, Pb, Hg, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni e V empregando ICP-MS. Todos analitos apresentaram concentrações abaixo do limite máximo estabelecido pela FB<sup>4</sup>. Van Hoecke, Catry e Vanhaecke<sup>32</sup> determinaram 18 elementos em dois excipientes farmacêuticos orgânicos utilizando ICP-MS. Os autores encontraram todos os elementos em concentrações abaixo dos limites máximos permitidos pela Agência Europeia de Medicamentos (EMA) e pela USP. Nita *et al.*<sup>33</sup> investigaram a presença de Cd, Ni e Pb em seis excipientes farmacêuticos e Al, Ba, Cr, Ti e V em polietileno e polietileno tereftalato utilizados como embalagens para medicamentos. Os autores reportaram concentrações dos elementos avaliados dentro dos limites estabelecidos pela USP, EP e BP. Cassela *et al.*<sup>34</sup> determinaram Cu e Mn em antibióticos utilizando a espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS) com introdução de amostra sob a forma de suspensão. Os autores relataram a presença de 1,2 a  $5,3 \mu\text{g g}^{-1}$  de Cu e 0,91 a  $3,9 \mu\text{g g}^{-1}$  de Mn, concentrações consideradas inferiores aos limites máximos



preconizados para Cu e Mn ( $250 \mu\text{g g}^{-1}$ ) pela FB.<sup>4</sup> Kauffman *et al.*<sup>35</sup> determinaram Pb em 45 produtos e suplementos nutricionais empregando ICP-MS e não encontraram concentrações acima do limite estabelecido pela USP. Flores *et al.*<sup>36</sup> determinaram Cr em sulfato de bário empregado como medicamento, através da introdução direta de sólidos da técnica GF AAS. Por não haver disponibilidade de um material de referência certificado (CRM) da matriz analisada, optaram pela comparação dos resultados obtidos pelo método proposto com os resultados obtidos por ICP OES, após decomposição ácida da amostra. Concentrações de Cr entre  $0,45$  e  $1,06 \mu\text{g g}^{-1}$  foram reportadas pelos autores, enquanto o limite máximo preconizado pela FB<sup>4</sup> é  $25 \mu\text{g g}^{-1}$ .<sup>4</sup> Contudo, até o momento não foram encontrados estudos de determinação de metais e não metais utilizando a técnica de ETV-ICP OES em produtos farmacêuticos.

## 2.2 MÉTODOS OFICIAIS PARA DETERMINAÇÃO DE METAIS PESADOS EM PRODUTOS FARMACÊUTICOS

A determinação de metais e não metais em produtos farmacêuticos pode ser realizada através de ensaios analíticos, descritos nas farmacopeias ou demais compêndios oficiais e visam assegurar a qualidade da matéria prima e medicamento. As Farmacopeias Brasileira, Americana e Europeia em suas edições atuais (FB 5ª edição, USP 35 e EP 7.0, respectivamente) preconizam que o ensaio limite para metais pesados seja realizado pela determinação dos elementos contaminantes, divididos em duas classes:

- Classe 1: As, Cd, Hg e Pb
- Classe 2: Cr, Cu, Ir, Mn, Mo, Ni, Os, Pd, Pt, Rh, Ru e V

Cabe ressaltar que os elementos pertencentes à Classe 1 requerem valores máximos permitidos de concentração menores que os demais elementos, devido à elevada toxicidade apresentada. Ainda, como os elementos exibem diferentes biodisponibilidades de acordo com a forma farmacêutica em que se encontram, os limites máximos permitidos para os elementos contaminantes presentes em substâncias de uso parenteral são menores que os permitidos em substâncias de uso oral. Além disso, de acordo com a FB<sup>4</sup>, para os elementos irídio, ósmio, ródio e

rutênio não há valores declarados como concentrações máximas permitidas, apenas recomenda que o somatório das concentrações desses elementos seja inferior a  $10 \mu\text{g g}^{-1}$ . Na Tabela 1 estão mostradas as concentrações máximas permitidas para metais e não metais, preconizadas pela FB<sup>4</sup>.

**Tabela 1.** Limites máximos permitidos de impurezas inorgânicas (metais e não metais) em produtos farmacêuticos. (Adaptado de *Farmacopeia Brasileira, 5ª edição*)<sup>4</sup>

Classe	Elemento	Uso oral	Uso parenteral
		Limite máximo ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	Limite máximo ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )
1	Arsênio	1,5	0,15
	Cádmio	0,5	0,05
	Chumbo	1,0	0,1
	Mercúrio	1,5	0,15
2	Cromo	25	2,5
	Cobre	250	25
	Manganês	250	25
	Molibdênio	25	2,5
	Níquel	25	2,5
	Paládio	10	1,0
	Platina	10	1,0
	Vanádio	25	2,5
	Írídio		
	Ósmio	Somatório da concentração	Somatório da concentração
Ródio	não pode exceder 10	não pode exceder 10	
Rutênio			

O ensaio limite para metais pesados, recomendado pela FB<sup>4</sup>, deve ser efetuado através de dois métodos, os quais serão descritos a seguir.

### 2.2.1 Ensaio limite por formação de partículas sólidas de sulfetos

O ensaio limite por formação de partículas sólidas é um método baseado na reação dos elementos contaminantes com o íon sulfeto, gerado a partir da tioacetamida ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{NS}$ ). Os precipitados de sulfetos metálicos são comparados com uma solução padrão de sulfeto de chumbo.<sup>4</sup> Como a comparação é feita visualmente

entre as intensidades de cor dos sulfetos da amostra e do padrão de chumbo, este ensaio fornece uma avaliação subjetiva que está diretamente relacionada com a acuidade visual do analista e outros fatores como a luminosidade do ambiente. Além disso, este ensaio não permite que as concentrações dos elementos sejam determinadas individualmente, pois a amostra tem sua coloração proporcional à soma dos sulfetos precipitados dos elementos presentes. Desse modo, o ensaio pode resultar em uma avaliação errônea, pois não é possível concluir se a coloração dos sulfetos precipitados em uma amostra deve-se à presença de vários elementos em baixas concentrações (inferiores às concentrações estipuladas como tóxicas à saúde) ou a altas concentrações de elementos potencialmente prejudiciais à saúde. Por fim, como já foi reportado por Barin<sup>11</sup>, se a amostra contiver As, Bi, Cd, Cu, Mo, Sb e Sn em concentrações 125 vezes superiores ao padrão estabelecido, este ensaio não será adequado para detectar tais elementos, pois as colorações desenvolvidas são imperceptíveis ou menos intensas que a coloração referente ao padrão de sulfeto de chumbo. Dessa forma, apenas os elementos Ag e Pb apresentariam respostas satisfatórias frente à este teste. Portanto, o ensaio limite por formação de partículas sólidas não é apropriado e pode ser considerado, no máximo, como método semiquantitativo.

Apesar dessas limitações, o ensaio limite baseado na precipitação de sulfetos continua sendo um método para determinação de metais e não metais na FB<sup>4</sup> e EP<sup>6</sup>, juntamente com o método espectrométrico, descrito a seguir.

### **2.2.2 Determinação por espectrometria atômica e de massa**

A espectrometria atômica envolve princípios físicos que são empregados para a determinação de praticamente todos os elementos. Pode ser dividida basicamente em 1) espectrometria de absorção atômica (AAS), onde se inserem as técnicas de a) chama, b) geração de hidretos (HG AAS), c) geração de vapor frio, d) forno de grafite e 2) espectrometria de emissão atômica (AES), onde estão englobadas as técnicas de a) chama (F AES) e b) plasma indutivamente acoplado. Além dessas, a ICP-MS também é uma técnica espectrométrica indicada para a determinação de elementos em baixas concentrações, devido aos baixos LODs.<sup>37</sup>

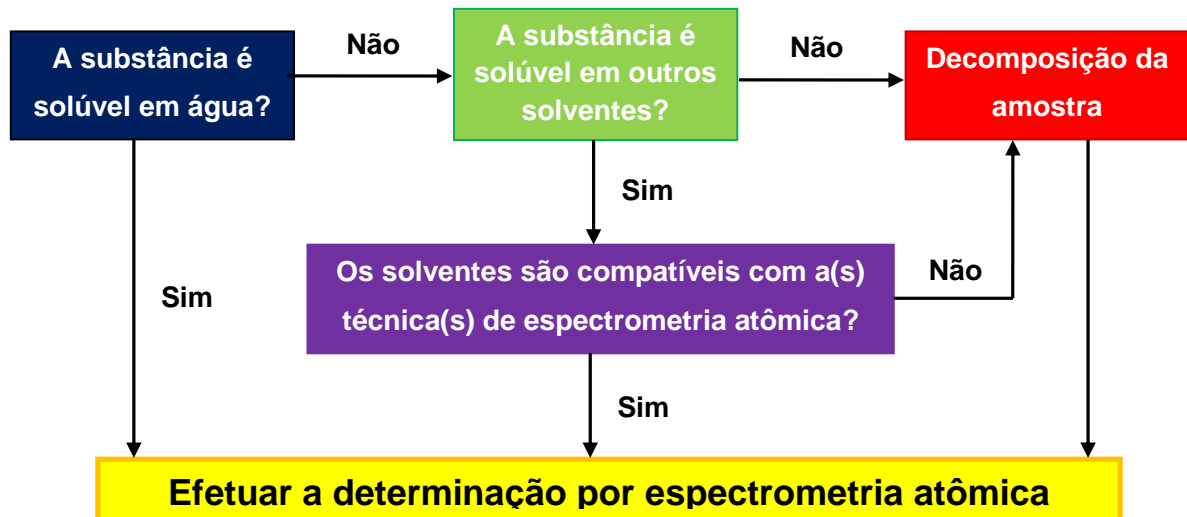
Todas as técnicas supracitadas foram recentemente recomendadas pela FB<sup>4</sup> para determinação de metais e não metais, pois possibilitam a quantificação individual e de baixas concentrações dos elementos contaminantes em produtos farmacêuticos. Além disso, estas técnicas não dependem tanto do analista, como no caso do ensaio limite.

A escolha da técnica a ser empregada na determinação de impurezas de produtos farmacêuticos depende de fatores como a disponibilidade da técnica e, principalmente, da concentração em que a impureza deve ser determinada no produto. Geralmente, estes elementos estão presentes em concentrações da ordem de  $\text{ng g}^{-1}$ , sendo que técnicas como a F AAS não são adequadas, pois permitem determinar elementos, geralmente a partir de  $\mu\text{g g}^{-1}$ .<sup>38</sup> Por outro lado, técnicas como ICP OES e ICP-MS são bastante atraentes, pois conseguem detectar elementos em concentrações tão baixas quanto  $\text{ng g}^{-1}$  e  $\text{pg g}^{-1}$ , respectivamente.<sup>38</sup> Além do baixo LOD, a ICP OES e ICP-MS também tem como vantagens a capacidade de análise multielementar, robustez e boa faixa linear de resposta.<sup>38</sup>

### 2.2.3 Procedimentos de preparo de amostra

De um modo geral, para submeter uma amostra sólida à análise elementar através das técnicas mencionadas acima, usualmente a amostra passa por uma etapa de pré-tratamento, conhecida como preparo de amostra. Nesta etapa, procedimentos de decomposição por via seca ou por via úmida convertem a amostra em uma solução contendo os elementos de interesse.<sup>39</sup>

Para os produtos farmacêuticos, a FB<sup>4</sup> sugere que os procedimentos de preparo da amostra sejam escolhidos através da sequência mostrada na Figura 1.



**Figura 1.** Sequência de etapas para preparo de amostra para posterior determinação de metais e não metais em produtos farmacêuticos. *Adaptado de Farmacopeia Brasileira, 5ª edição.*<sup>4</sup>

Portanto, se a substância a ser analisada for solúvel em água, basta solubilizá-la e efetuar a determinação por uma das técnicas de espectrometria atômica. No caso da substância não ser solúvel em água ou o solvente não ser compatível com a técnica escolhida, procede-se a decomposição da amostra.<sup>4</sup> Em caso de ineficiência da decomposição por via úmida em sistema fechado, para amostras orgânicas, pode-se proceder a decomposição por combustão iniciada por micro-ondas (MIC) em sistema pressurizado.<sup>4</sup> Porém, os métodos de decomposição sugeridos são relativamente morosos, requerem grande volume de reagentes e estão sujeitos a erros sistemáticos, como contaminação por reagentes ou perda de analito por volatilização.<sup>39</sup>

### 2.3 FÁRMACOS TRICÍCLICOS

Fármacos tricíclicos apresentam atividade farmacológica em diversas classes terapêuticas, como anticonvulsivantes, antidepressivos, anti-histamínicos, antipsicóticos, relaxantes musculares, etc. Alguns destes podem ser recomendados no tratamento crônico de diversas enfermidades, onde a ingestão do medicamento é diária. A denominação “tricíclico” está relacionada às estruturas químicas dos fármacos, constituídas por três anéis carbônicos condensados.

Como foi relatado por Barin,<sup>11</sup> os fármacos tricíclicos carbamazepina, cloridrato de amitriptilina e cloridrato de imipramina apresentaram grande dificuldade de decomposição devido à formação de material precipitado, ainda que um sistema fechado com condições severas de decomposição fossem empregadas ( $\text{HNO}_3$  14 mol  $\text{L}^{-1}$ , 35 bar de pressão e 220 °C). Desse modo, não há garantia de uma posterior determinação elementar confiável, uma vez que os analitos podem não estar completamente solubilizados. Após investigação acerca do precipitado formado, foi confirmado que as estruturas tricíclicas carbônicas dos medicamentos não foram decompostas, mas sim convertidas em compostos aromáticos estáveis através de uma reação de nitração.<sup>40</sup>

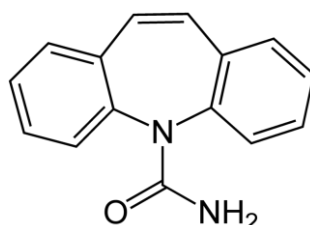
A partir dessas observações, dez produtos farmacêuticos encontrados na FB<sup>4</sup>, com exceção do cloridrato de nortriptilina e fumarato de cetotifeno, foram selecionados para o presente estudo e uma breve descrição de cada produto é apresentada a seguir. Cabe destacar que na representação da estrutura molecular, os produtos que se encontram na forma de sal (cloridrato), estão representados apenas pela estrutura de seu princípio ativo. Além disso, é válido salientar que os termos descritivos de solubilidade dos princípios ativos estão de acordo com a FB<sup>4</sup> em determinações feitas à 25 °C, com relação à 1 g do sólido em um número de mililitros de água (referente ao número de partes), conforme está mostrado na Tabela 2.

**Tabela 2.** Termos descritivos de solubilidade e seus respectivos significados. *Adaptado de Farmacopeia Brasileira, 5ª edição.*<sup>4</sup>

<b>Termo descritivo</b>	<b>Solvente</b>
Muito solúvel	Menos de 1 parte
Facilmente solúvel	De 1 a 10 partes
Solúvel	De 10 a 30 partes
Ligeiramente solúvel	De 30 a 100 partes
Pouco solúvel	De 100 a 1000 partes
Muito pouco solúvel	De 1000 a 10000 partes
Praticamente insolúvel ou insolúvel	Mais de 10000 partes

### Carbamazepina

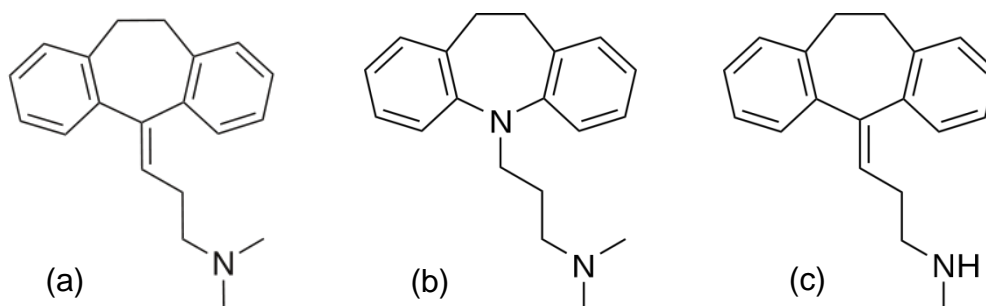
A carbamazepina apresenta propriedades terapêuticas como anticonvulsivante. Tem como fórmula molecular  $C_{15}H_{12}N_2O$  e é praticamente insolúvel em água.<sup>4</sup> Sua estrutura molecular está representada na Figura 2.



**Figura 2.** Estrutura molecular da carbamazepina.

### Cloridratos de amitriptilina, imipramina e nortriptilina

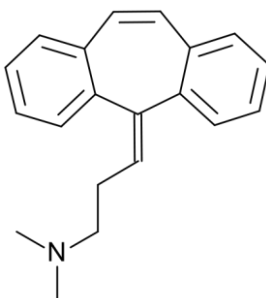
Os cloridratos de amitriptilina, imipramina e nortriptilina pertencem à classe dos antidepressivos e devido à sua estrutura química - composta de anéis benzênicos - são conhecidos como antidepressivos tricíclicos (ADTs). Dentre essa classificação, ainda há uma subdivisão entre dois grupos: aminas secundárias, onde a nortriptilina está inserida; e aminas terciárias, grupo ao qual pertencem a amitriptilina e imipramina.<sup>41</sup> Os cloridratos de amitriptilina e imipramina são facilmente solúveis em água; suas fórmulas moleculares são  $C_{20}H_{23}N \cdot HCl$  e  $C_{19}H_{24}N_2 \cdot HCl$ , respectivamente.<sup>4</sup> Já a fórmula molecular do cloridrato de nortriptilina é  $C_{19}H_{21}N \cdot HCl$ .<sup>4</sup> A estrutura química dos três cloridratos estão representadas na Figura 3.



**Figura 3.** Estruturas moleculares dos cloridratos de (a) amitriptilina, (b) imipramina e (c) nortriptilina.

### Cloridrato de ciclobenzaprina

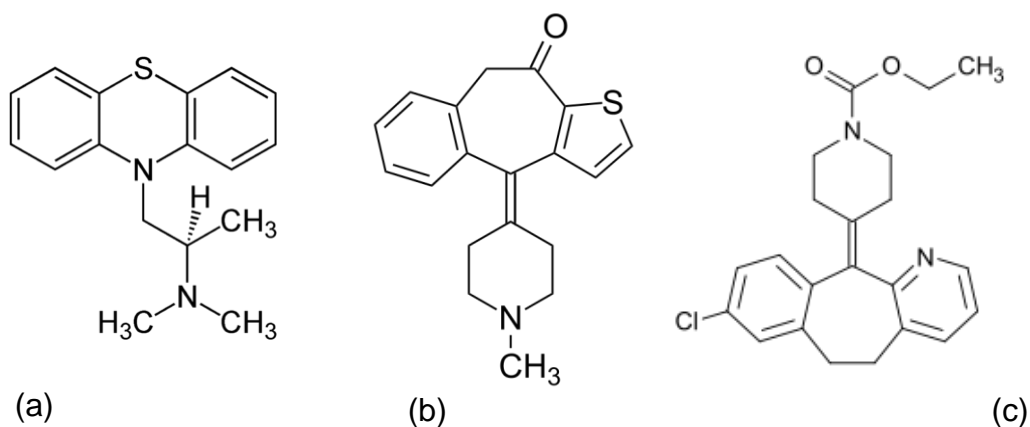
O cloridrato de ciclobenzaprina é utilizado como relaxante muscular. É facilmente solúvel em água e sua fórmula molecular é  $C_{20}H_{21}N \cdot HCl$ .<sup>4</sup> A estrutura molecular está demonstrada na Figura 4.



**Figura 4.** Estrutura molecular do cloridrato de ciclobenzaprina.

### Cloridrato de prometazina, Fumarato de cetotifeno e Loratadina

A classe terapêutica a qual o cloridrato de prometazina, fumarato de cetotifeno e a loratadina pertencem é a dos anti-histamínicos. Suas estruturas moleculares são  $C_{17}H_{20}N_2S \cdot HCl$ ,  $C_{19}H_{19}NOS$  e  $C_{22}H_{23}ClN_2O_2$ , respectivamente. Quanto à solubilidade em água, a prometazina é facilmente solúvel enquanto que a loratadina é insolúvel.<sup>4</sup> Na Figura 5 estão mostradas as estruturas do cloridrato de prometazina, fumarato de cetotifeno e loratadina.

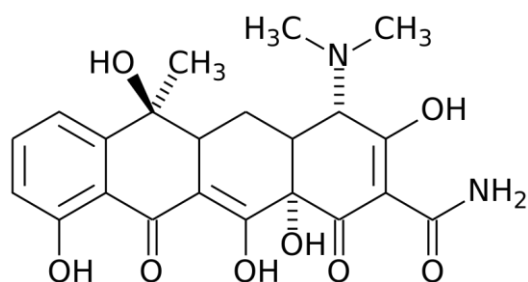


**Figura 5.** Estruturas moleculares do cloridrato de (a) prometazina, (b) fumarato de cetotifeno e (c) loratadina.



### Cloridrato de tetraciclina

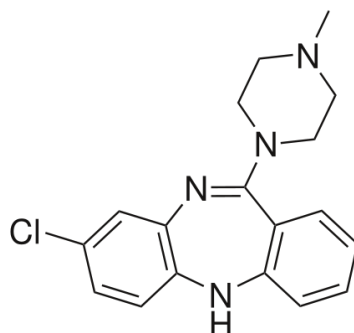
O cloridrato de tetraciclina pertence à classe dos antimicrobianos e é um dos medicamentos mais utilizados no combate a infecções bacterianas. Possui fórmula molecular  $C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot HCl$  e é solúvel em água.<sup>4</sup> Sua estrutura molecular está representada na Figura 6.



**Figura 6.** Estrutura molecular do cloridrato de tetraciclina.

### Clozapina

A clozapina pertence à classe terapêutica dos antipsicóticos. É praticamente insolúvel em água e tem como fórmula molecular  $C_{18}H_{19}ClN_4$ .<sup>4</sup> A Figura 7 representa a estrutura molecular da clozapina.



**Figura 7.** Estrutura molecular da clozapina.

## **2.4 Vaporização eletrotérmica acoplada à espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado**

Nos últimos anos pode-se observar que a tendência das análises químicas é a gradativa substituição dos métodos clássicos de análise pelos baseados em técnicas instrumentais. Isto se deve pelo fato de as técnicas instrumentais

alcançarem melhores LODs, permitindo a determinação elementar ou molecular em baixas concentrações. Além disso, pode-se observar que há um grande interesse na análise direta de sólidos, principalmente devido ao menor manuseio (pré-tratamento) da amostra.<sup>42</sup> O acoplamento de um sistema de introdução de amostras sólidas com técnicas multielementares e de determinação simultânea de analitos em baixas concentrações, como a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado, é bastante atrativo por diversas características, podendo-se destacar a redução do tempo total de análise e a obtenção de baixos LODs.<sup>43</sup>

#### **2.4.1 Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado**

O termo “plasma” foi introduzido por Langmuir em 1929 como denominação para o fenômeno de descargas elétricas ocorridas em gases.<sup>44</sup> Porém somente em 1964, o uso analítico do plasma indutivamente acoplado (ICP) como fonte de energia capaz de gerar e excitar átomos e íons livres a fim de realizar análises elementares, foi sugerido por dois grupos independentes de pesquisadores: Greenfield *et al.*<sup>45</sup> e Wendt e Fassel.<sup>46</sup> Nos anos seguintes, muitos autores relataram a viabilidade do acoplamento de um ICP à um espectrômetro de emissão óptica<sup>47-53</sup> e foi iniciada a fabricação de equipamentos de ICP OES comerciais. A partir da segunda metade da década de 70 foram instalados os primeiros espectrômetros no Brasil.<sup>44</sup> Desde então, muitos estudos têm sido realizados empregando a técnica de ICP OES.

As principais características atribuídas a esta técnica, que se tornou bem estabelecida para análises elementares em diversos tipos de amostras, são os baixos LODs, ampla faixa linear de resposta, alta precisão e a capacidade de determinação multielementar.<sup>54</sup>

Basicamente, um espectrômetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado pode ser dividido em duas partes: fonte de plasma e sistema óptico. O plasma é um gás parcialmente ionizado, eletricamente neutro e que apresenta elevada densidade de elétrons livres. O plasma é formado em uma tocha, constituída por três tubos concêntricos de quartzo, por onde são introduzidos os diferentes fluxos do gás, geralmente argônio (Ar), que irão formar o plasma. A

tocha é introduzida em uma bobina de indução, onde um campo eletromagnético de radiofrequência (RF) é aplicado (27 ou 40 MHz, com potência da ordem 1000 a 2000 W). O processo de formação do plasma é iniciado através de uma descarga elétrica, onde são formados alguns elétrons e íons livres. Estas espécies são submetidas ao campo eletromagnético proveniente de um gerador de radiofrequência (RF) que proporciona a formação do plasma, rico em elétrons e íons Ar. O processo de formação do plasma é consequência do choque dos elétrons com alta energia cinética com os átomos do gás, provocando a ionização e formando  $\text{Ar}^+ + \text{e}^-$ . Os elétrons produzidos são acelerados pelo campo eletromagnético e a energia cinética adquirida é transferida para outros átomos de Ar através de colisões e, desse modo, o processo continua em cascata, até o estabelecimento do equilíbrio da energia fornecida pelo gerador RF e a energia consumida para a manutenção do plasma.<sup>44</sup> O ambiente químico formado é eletricamente neutro e o plasma possui energia suficiente para atomizar e ionizar a maioria dos elementos, pois atinge temperaturas de até 10000 K. Após as etapas de atomização e/ou ionização, os elétrons desses átomos e íons absorvem energia suficiente e são promovidos a um nível mais energético, chamado estado excitado. Ao retornar para o estado fundamental, a energia absorvida é emitida sob a forma de radiação eletromagnética, com um comprimento de onda ( $\lambda$ ) característico para cada transição eletrônica do respectivo elemento. A radiação emitida pelo elemento é conduzida para um sistema óptico, composto de um conjunto de fendas, espelhos e sistema de dispersão arranjados de forma a selecionar apenas o comprimento de onda referente ao elemento de interesse. A radiação separada é direcionada para o detector, onde a mesma é convertida em sinal elétrico, a qual é posteriormente amplificada e sua intensidade medida. Por fim, a intensidade do sinal obtido pode ser relacionada com a concentração do elemento de interesse, através de uma curva de calibração, podendo-se quantificá-lo na amostra desconhecida.<sup>38</sup>

Dentre as técnicas de introdução de amostras em ICP, a nebulização pneumática (NEB) com nebulizadores concêntricos ou de fluxo cruzado (*cross flow*) e nebulização ultrassônica (USN) são amplamente utilizadas. Porém, a nebulização pneumática é, provavelmente, a mais usada, devido ao baixo custo, simplicidade e boa estabilidade apresentados. Entretanto, a NEB apresenta como desvantagem a baixa eficiência de introdução de amostra no ICP. Ao converter a amostra em aerossol, apenas as gotículas inferiores a 10  $\mu\text{m}$  conseguem alcançar o plasma,

reduzindo a eficiência de introdução para apenas 2% da amostra originalmente nebulizada.<sup>38</sup> Outra desvantagem da nebulização pneumática é que ao alcançar o plasma, as gotículas tornam o plasma “úmido”, exigindo uma grande energia do plasma apenas para ser dessolvatar a amostra, reduzindo a energia disponível para posterior volatilização, atomização, ionização e excitação dos elementos de interesse.<sup>54</sup> Além disso, amostras com alto teor de sólidos dissolvidos, como suspensões, por exemplo, provocam grandes dificuldades na nebulização.<sup>55</sup>

Apesar das muitas vantagens apresentadas pela técnica de ICP OES, possivelmente, sua maior inconveniência é a falta de um sistema de introdução de amostras considerado ideal, onde uma pequena quantidade de amostra (sólida, líquida ou gasosa) sem sofrer etapas de pré-tratamento é totalmente convertida em aerossol e é introduzida no ICP com eficiência de transporte de 100%.<sup>56</sup> Desse modo, surgiu a proposta da análise direta de sólidos e da vaporização eletrotérmica (ETV).

#### **2.4.2 Vaporização eletrotérmica**

O primeiro estudo realizado com a proposta de introdução de amostras sólidas em um forno utilizado como atomizador, empregando a espectrometria de absorção atômica, foi feito por L'vov em 1959. Porém, seu estudo de 1961 é que tornou o conceito de atomização eletrotérmica mais conhecido.<sup>57</sup> Até essa data, o arranjo de um atomizador eletrotérmico acoplado a espectrometria de absorção atômica, continha um eletrodo de carbono, onde a amostra era depositada e em seguida introduzida no forno. A aplicação de corrente elétrica no eletrodo resultava na atomização dos elementos na amostra, enquanto o forno apenas atuava como cela de aquecimento, levando à perda dos átomos por condensação. O revestimento do forno era constituído de tântalo ou tungstênio, porém logo foi substituído por grafite pirolítico. Então, em 1967, Massmann<sup>58</sup> descreveu um forno de grafite que não usava o eletrodo auxiliar para o aquecimento, ou seja, o tubo de grafite funcionava tanto como resistência para o aquecimento, como atomizador.<sup>38</sup> Atualmente, na vaporização eletrotérmica com detecção por emissão óptica, ao contrário da atomização eletrotérmica, o forno é empregado apenas para a produção

de um aerossol seco da amostra, o qual é introduzido no ICP, onde irão ocorrer os processos de atomização, ionização e excitação.<sup>42</sup>

A vaporização eletrotérmica tem como princípio o aquecimento, por diferentes etapas de temperatura e tempo, de uma amostra depositada em um filamento de Ta, Re ou W ou, mais comumente em uma plataforma de grafite contida em um forno, também de grafite. O forno é purgado com um gás inerte, geralmente Ar, para que o sistema não sofra reação de combustão. Caso a amostra a ser analisada seja uma solução, procede-se uma etapa de secagem ou dessolvatação, com temperatura ligeiramente acima do ponto de ebulição do solvente utilizado. A segunda etapa é a pirólise, onde a temperatura deve ser suficiente para destruir e eliminar ao máximo a matriz da amostra, sem vaporizar quaisquer dos analitos. No caso de determinação de analitos voláteis, a adição de modificadores de matriz pode ser necessária, pois o modificador reage com esses analitos formando um composto termicamente mais estável, evitando a perda desses analitos durante a pirólise. A próxima etapa é a vaporização, onde a temperatura é alta o suficiente para vaporizar os analitos. Nessa etapa pode haver a adição de alguns reagentes, como os halogenados, que são adicionados para evitar a formação de carbetos refratários e/ou tornar os analitos mais voláteis. Um gás de arraste (geralmente Ar) conduz o aerossol formado no ETV até o ICP através da linha de transferência, a qual une os dois dispositivos. Na fonte de plasma ocorrem os demais processos de atomização, ionização e excitação do aerossol formado. Por fim, é realizada uma etapa de limpeza, geralmente empregando temperaturas superiores a 2000 °C, com objetivo de eliminar possíveis resíduos de amostra que eventualmente permaneceram na plataforma. Para aumentar a velocidade da análise e melhorar a precisão, após o ciclo de aquecimento, o equipamento ETV é arrefecido à temperatura ambiente através de um sistema de circulação de mistura água e álcool etílico, a qual passa adequadamente através bloco que contém o forno, de forma à ajudar no controle da temperatura.<sup>38,42</sup>

As vantagens apresentadas pela ETV são, em sua maioria, consequências de uma técnica de análise de amostras sólidas: necessidade de pouca quantidade de amostra, diminuição drástica no consumo de reagentes e geração de resíduos, capacidade de análise de amostras contendo alto teor de sólidos dissolvidos ou solventes orgânicos,<sup>56</sup> redução dos riscos de perda de analito ou contaminação encontrados na etapa de preparo da amostra, minimização de interferências

causadas pela matriz da amostra<sup>42,43</sup> e a melhora na LOD da técnica, devido ao aumento da eficiência de transporte do analito até o plasma,<sup>59</sup> quando em comparação aos sistemas de introdução convencionais, como a NEB.<sup>60</sup> Porém, talvez a maior vantagem da vaporização eletrotérmica é a de não necessitar fazer a conversão das amostras sólidas em soluções aquosas por meio de procedimentos como: extração; fusão; calcinação ou decomposição, pois na etapa de preparo da amostra é despendido aproximadamente 70% do tempo da análise.<sup>39</sup> Além disso, a grande quantidade de reagentes consumidos, as perdas e/ou contaminação originadas durante a etapa de tratamento da amostra também são fatores que favorecem o uso da ETV.<sup>42</sup>

Entretanto, a técnica também apresenta algumas desvantagens, como a perda do analito através do processo de condensação que ocorre na linha de transferência do vapor até o ICP, que diminui a eficiência de transporte do analito.<sup>42</sup> Contudo, Hu *et al.*<sup>43</sup> reportaram que a eficiência de transporte do analito empregando-se a ETV pode alcançar até 80%, o que supera a eficiência alcançada com nebulizador pneumático (em torno de 2%).<sup>61</sup> Kántor,<sup>62</sup> em 1988, afirmou que a eficiência do transporte do analito é influenciada pela presença de outros componentes da amostra. Isso ocorre, pois o analito já vaporizado forma “agregados” com esses componentes, acarretando em um aumento do transporte do analito, que é fortemente dependente da matriz.

O tempo de análise individual da amostra também pode ser considerado uma desvantagem, pois enquanto uma determinação por ICP OES com NEB usualmente leva em torno de 10 a 30 segundos, a determinação com vaporização eletrotérmica demora de 2 a 3 minutos. A precisão de uma análise com vaporização eletrotérmica é de aproximadamente 5 a 10%, enquanto que para um equipamento de ICP OES com nebulização pneumática esse valor é de 1 a 3%. Outra dificuldade encontrada no uso da ETV é o perfil do sinal resultante, que por ser transiente necessita de *software* para conversão do mesmo em altura ou área.<sup>38</sup>

De um modo geral, a análise direta de amostras sólidas apresenta maiores dificuldades em relação à calibração. Na vaporização eletrotérmica, algumas técnicas de calibração são relatadas por autores que tentam superar tal dificuldade sem que haja perdas na sensibilidade ou redução na faixa linear de resposta do instrumento. A calibração externa empregando soluções de referência pode ser aplicada em alguns casos. O maior empecilho encontrado nesse caso é a diferença

entre as composições da matriz da amostra sólida e da solução de calibração, que implica em comportamentos distintos, principalmente, na eficiência do transporte do vapor da amostra até o plasma e na etapa de vaporização. Se o analito presente na amostra não sofre supressão ou aumento de intensidade do sinal em relação à resposta do analito na solução, a calibração externa é a melhor escolha para calibração. A mesma dificuldade em relação à calibração pode ser encontrada quando a amostra é introduzida sob a forma de suspensão e o tamanho de partícula não é adequado. Materiais de referência certificados podem ser utilizados para calibração quando a composição da matriz da amostra é conhecida e similar à do CRM. Se a amostra a ser analisada não é similar a nenhum CRM existente ou não há disponibilidade de uso, uma alternativa viável é a produção de materiais de calibração sintéticos. Outra técnica que pode ser empregada é a calibração através da adição de padrão. Apesar das diferenças de comportamento entre os elementos presentes na amostra sólida e na solução de referência, alguns autores<sup>63-66</sup> reportaram que, ao realizar uma etapa de secagem da solução de referência adicionada à plataforma de grafite previamente à adição da amostra, há a minimização dos efeitos ocorridos durante a vaporização e transporte. Ainda, quando a composição da amostra não é conhecida, esta técnica de calibração é considerada a mais adequada.<sup>42</sup>

Apesar das desvantagens apresentadas, a análise direta de sólidos é considerada uma alternativa viável devido, principalmente, ao fato de que muitas amostras se encontram naturalmente no estado sólido.<sup>56</sup> O acoplamento ETV-ICP OES reúne as vantagens de uma análise direta de sólidos, apresentadas pela vaporização eletrotérmica, com a capacidade multielementar e baixos LODs, provenientes da técnica de ICP OES. Desse modo, muitos estudos têm sido feitos empregando a vaporização eletrotérmica como meio de introdução de diversos tipos de amostras orgânicas e inorgânicas sob a forma de “vapor” na fonte de plasma.<sup>67-70</sup>

#### **2.4.3 Determinação de metais e não metais em amostras inorgânicas empregando ETV**

Hassler *et al.*<sup>71</sup> determinaram Al, As, Bi, Cd, Co, Cr, Fe, Mg, Mn, Ni, P, Pb, S, Sb, Se, Si, Sn, Te, Ti, Zn e Zr em cobre de alta pureza por ETV-ICP OES. A

influência de modificadores halogenados gasosos ( $\text{CCl}_2\text{F}_2$ ,  $\text{CHClF}_2$ ,  $\text{C}_2\text{H}_2\text{F}_4$  e  $\text{CHF}_3$ ) na etapa de vaporização foi avaliada e com a exceção de Se e Te, todos os demais elementos vaporizaram completamente. O método de calibração empregando soluções multielementares aquosas também foi avaliado e apenas para Ag, Mg e Ni não pôde ser empregado. A exatidão do método proposto foi verificada através da comparação com 8 CRMs de cobre. Os LOQs ficaram na faixa de 0,6 a 250  $\text{ng g}^{-1}$  para Zr e S, respectivamente.

Nitreto de boro, muito utilizado na indústria cosmética, foi avaliado por Krivan *et al.*,<sup>72</sup> que desenvolveram dois métodos empregando GF AAS e ETV-ICP OES para determinação de Al, Ca, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Si, Ti e Zr. Para ambos os métodos foram utilizadas soluções aquosas para a calibração. Com objetivo de melhorar a separação entre matriz e os analitos em ETV-ICP OES, o reagente  $\text{CCl}_2\text{F}_2$  foi adicionado ao Ar carreador. Os LODs para este método variaram entre 0,008 e 0,2  $\mu\text{g g}^{-1}$ . Avaliaram também as amostras após processo de decomposição, utilizando GF AAS e ETV-ICP OES, entretanto os LODs variaram de 0,01 a 2,8  $\mu\text{g g}^{-1}$  e de 0,06 a 1  $\mu\text{g g}^{-1}$ , respectivamente.

Curtius *et al.*<sup>73</sup> investigaram a ETV-ICP-MS para a determinação de As, Pb, Se e Sn em sedimentos sob a forma de suspensão. O forno utilizado na vaporização eletrotérmica foi tratado com Ru, que atuou como modificador permanente. Ainda, cloreto de sódio foi adicionado à suspensão para atuar como carreador. As temperaturas de pirólise e vaporização utilizadas foram 800° C e 2300° C, respectivamente. Diferentes CRMs foram usados para avaliar a exatidão do método proposto. O método de calibração externa foi utilizado e os LODs obtidos variaram de 0,05 a 0,3  $\mu\text{g g}^{-1}$  para Se e Pb, respectivamente.

As técnicas ETV-ICP OES e ETV-ICP-MS foram utilizadas por Hu, Jiang e Zhang<sup>74</sup> na determinação de Cr, La, Mo, Ti, Zr e V em material particulado atmosférico coletado por um filtro e introduzido no vaporizador sob a forma de suspensão. Fluoreto de polivinilideno foi usado como modificador químico. A temperatura de pirólise utilizada foi de 400°C, enquanto a de vaporização foi 2600° C. Os LODs para ETV-ICP OES variaram de 0,08 a 2,7  $\text{ng m}^{-3}$ , obtidos para Ti e V, respectivamente; enquanto para ETV-ICP-MS os LODs encontrados variaram de 0,005  $\text{ng m}^{-3}$  para La a 0,05  $\text{ng m}^{-3}$  para Ti.

Medel, Rodriguez e Gayón<sup>75</sup> determinaram Ba, Ce, Cr, Cu, Li, Mg, Mn, Pb, Rb, Sb, Sn, Sr, U, V e Zn em talco e quartzo e um CRM de quartzo, empregando a



técnica de vaporização eletrotérmica acoplada à espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado com introdução da amostra na forma de suspensão auxiliada por ultrassom (USS-ETV-ICP-MS). Devido ao forte efeito de matriz causado pelos minerais avaliados, o método de calibração por adição de padrão foi utilizada. Os LODs variaram entre 0,5 a 3,5 ng g<sup>-1</sup> para As e Ba, respectivamente. Os autores verificaram a exatidão do método comparando os resultados obtidos pelo método proposto com os obtidos por NEB após decomposição das amostras por via úmida assistida por micro-ondas. A concentração dos analitos variou de 0,2 µg g<sup>-1</sup> para Cr a 60 µg g<sup>-1</sup> para Ba.

#### **2.4.4 Determinação de metais e não metais em amostras orgânicas empregando ETV**

Jiang e Huang<sup>76</sup> empregaram o método de USS-ETV-ICP-MS para determinação de Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, Se, V e Zn em farinha de arroz e de trigo, além de dois CRMs com essas mesmas matrizes, introduzidos sob a forma de suspensão. O uso de 8-hidroxiquinolina-5-ácido sulfônico como modificador foi necessário para aumentar a volatilidade dos analitos e possibilitar o uso do método de calibração externa. Os autores reportaram LODs entre 0,6 e 16 ng g<sup>-1</sup>, respectivos a Cd e Zn. Dentre os elementos avaliados, os que apresentam maior preocupação em relação à saúde humana são Cd, Hg e Pb. Nas amostras, as concentrações encontradas para tais elementos foram 0,5, 0,05 e 0,2 µg g<sup>-1</sup>, respectivamente. Segundo os autores, estes valores estão de acordo com a legislação vigente na China, pois não ultrapassam os limites máximos estabelecidos.

Detcheva, Barth e Hassler<sup>77</sup> determinaram 17 elementos (Al, B, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, P, Pb, S, Sr, Ti, V e Zn) em cinco CRMs de plantas empregando ETV-ICP OES. Foram avaliadas diferentes técnicas de calibração (externa com padrões aquosos, com CRM de plantas e com padrões de grafite) e a influência dos modificadores gasosos halogenados CCl<sub>4</sub>, CHCl<sub>3</sub>, CCl<sub>2</sub>F<sub>2</sub> e também do C<sub>3</sub>H<sub>8</sub> adicionados ao gás carreador (Ar). Os autores reportaram que alguns parâmetros foram adequados de acordo com o comportamento similar entre os elementos. Para os elementos formadores de carbeto refratários (B, Ti e V), os resultados foram satisfatórios apenas na presença do modificador CCl<sub>2</sub>F<sub>2</sub>, enquanto para os analitos

Al, Cd, Cu, Fe, Mn e P, foram encontrados bons resultados na ausência do modificador. Os LODs obtidos variaram entre  $5 \text{ ng g}^{-1}$  para Co e Zn e  $250 \text{ ng g}^{-1}$  para Fe.

Polímeros fluorocarbonos foram avaliados por Resano *et al.*<sup>78</sup> através da introdução de amostras sólidas em ETV-ICP-MS. Os elementos determinados foram Cr, Cu, Fe, K, Mn, Pb e Zn. As temperaturas de pirólise e vaporização foram  $800 \text{ }^\circ\text{C}$  e  $2700 \text{ }^\circ\text{C}$ , respectivamente, e Pd foi utilizado como modificador químico e padrão interno. O método de calibração externa foi empregado e os LODs foram menores que  $0,5 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ . As concentrações determinadas variaram entre  $0,01 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$  de Pb até  $280 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$  de K.

Apesar das diversas aplicações encontradas para a determinação de impurezas em medicamentos envolvendo técnicas de espectrometria atômica<sup>19</sup> e de massa, como F AAS,<sup>29,79</sup> GF AAS,<sup>80,81</sup> ICP OES<sup>82-84</sup> e ICP-MS,<sup>8,20,21,31,85</sup> até o momento poucas aplicações têm sido feitas envolvendo a vaporização eletrotérmica aplicada em estudos com medicamentos. Recentemente, Jiang e Lin<sup>2</sup> empregaram a técnica USS-ETV-ICP-MS para determinação de Cd, Cr, Mo, Pb, Pd e Pt em três medicamentos anti-hipertensivos. Os modificadores pirrolidina ditiocarbamato de amônio (APDC) e 8-hidroxiquinolina foram utilizados para melhorar o sinal dos elementos. Todos elementos apresentaram LODs menores do que  $0,9 \text{ ng g}^{-1}$ . Dentre os resultados encontrados,  $2,4 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$  de Cr foi considerado preocupante, pois alguns compêndios oficiais como a USP não garantem segurança em quaisquer concentração no caso de ingestão desse elemento.<sup>5</sup> A exatidão do método, ao qual a introdução da amostra é feita sob a forma de suspensão, foi verificada através da comparação com os valores obtidos após determinação por ICP-MS das amostras decompostas.

Apesar das vantagens já mencionadas para a análise direta de sólidos com o acoplamento da espectrometria de emissão óptica e da extrema importância do controle da presença de metais e alguns não metais em produtos farmacêuticos, ainda não há relatos de determinação de elementos em fármacos empregando ETV-ICP OES.

### 3 OBJETIVOS

---

A segurança e eficácia de um tratamento empregando medicamentos estão estreitamente relacionadas com o rigor aplicado no processo de controle de qualidade dos insumos e produtos farmacêuticos.<sup>86</sup> O monitoramento de metais e não metais em produtos farmacêuticos é de extrema importância, pois alguns elementos são potencialmente tóxicos, enquanto outros podem diminuir a estabilidade ou até catalisar processos de decomposição do princípio ativo, formando subprodutos que podem causar malefícios à saúde.<sup>87</sup> Em vista disso, a FB<sup>4</sup> sugere o ensaio limite para a detecção de metais pesados, método bastante subjetivo e semiquantitativo que não possibilita a avaliação real da toxicidade do produto. Outro método preconizado pela FB<sup>4</sup> é a determinação por espectrometria atômica, método quantitativo e que permite a determinação individual dos elementos.<sup>38</sup> Entretanto, a necessidade de uma etapa prévia de preparo de amostras torna a análise morosa e sujeita à erros sistemáticos. Além disso, a estrutura tricíclica dos fármacos avaliados neste trabalho torna difícil a etapa de decomposição.<sup>11</sup>

Portanto, no presente trabalho, serão avaliados os dois procedimentos de decomposição preconizados pela FB<sup>4</sup> (decomposição por via úmida em sistema fechado e MIC) com posterior determinação dos analitos através da técnica de ICP-MS e propõe-se um novo método para a determinação de As, Cd, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru e V em dez produtos farmacêuticos tricíclicos (carbamazepina, cloridratos de amitriptilina, ciclobenzaprina, imipramina, nortriptilina, prometazina e tetraciclina, clozapina, fumarato de cetotifeno e loratadina) empregando-se a análise direta de sólidos através da técnica de ETV-ICP OES.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

---

*Neste capítulo são descritos a instrumentação, reagentes, materiais e amostras utilizadas para o desenvolvimento do presente trabalho. Também é descrito o sistema ETV-ICP OES e os parâmetros avaliados na sua otimização bem como os procedimentos empregados para validação e comparação de resultados.*

## 4.1 INSTRUMENTAÇÃO

A vaporização das amostras foi realizada utilizando-se um vaporizador eletrotérmico modelo ETV-4000c (Spectral Systems, Alemanha), cujo sistema é mostrado no item 4.6. O vaporizador consiste de um forno de grafite recoberto internamente com grafite pirolítico, onde uma plataforma de grafite contendo a amostra é inserida. O forno é aquecido de forma longitudinal, devido à alta corrente elétrica aplicada no mesmo. O sistema possui uma conexão entre o vaporizador e o ICP OES, por onde a amostra vaporizada é carregada por um fluxo de Ar. Cabe ressaltar que o revestimento de grafite pirolítico é necessário, pois reduz significativamente a difusão de elementos através da parede do forno e a oxidação da grafite.<sup>88</sup>

Um espectrômetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado Perkin Elmer Optima 4300 DV (Perkin Elmer, EUA) com configuração para vista axial e radial foi utilizado para os experimentos. O interfaceamento entre o ETV e o espectrômetro foi feito com tubo de politetrafluoretileno (PTFE) com 100 cm de comprimento e 0,6 cm de diâmetro interno. Para geração do plasma foi utilizado argônio (White Martins, Brasil) com pureza mínima de 99,996%. As condições operacionais para os equipamentos de ETV e ICP OES estão descritas nas Tabelas 2 e 3, respectivamente.

**Tabela 2.** Parâmetros operacionais do ETV.

Parâmetros	Condições
Gás carreador (Ar), L min <sup>-1</sup>	0,140
Bypass (Ar), L min <sup>-1</sup>	0,400
Modificador químico (CCl <sub>2</sub> F <sub>2</sub> ), mL min <sup>-1</sup>	0,5 - 5,0
Massa de amostra, mg	0,1 - 7,5

**Tabela 3.** Parâmetros operacionais do instrumento de ICP OES.

ICP OES	
Parâmetros	Condições
Potência RF, W	1500
Vazão de Ar, L min <sup>-1</sup> : Principal	15
Auxiliar	0,2
Comprimento de onda, nm	As 188,979
	Cd 228,802
	Cr 283,563
	Cu 324,752
	Mn 257,610
	Mo 202,031
	Ni 341,476
	Pb 220,353
	Pd 340,458
	Pt 299,797
	Rh 343,489
	Ru 349,894
	V 310,230

## 4.2 REAGENTES

Para o preparo das soluções de referência contendo os elementos estudados, foi utilizada água previamente destilada e deionizada em coluna de troca iônica e posteriormente purificada em um sistema Milli-Q (Millipore, EUA), com resistividade mínima de 18,2 MΩ cm.

O ácido nítrico P.A. (65%, 1,4 kg L<sup>-1</sup> Merck, Alemanha) utilizado para a decomposição das amostras por via úmida em sistema fechado e como solução absorvedora na combustão das amostras foi bidestilado em sistema de destilação abaixo do seu ponto de ebulição em destilador de quartzo modelo duoPUR (Milestone, Itália).

As soluções de referência utilizadas foram preparadas a partir da diluição das soluções de referência multielementares SCP33MS 10 mg L<sup>-1</sup>, (SCP Science, Canadá) e CLMS-3 (10 mg L<sup>-1</sup>, Spex CertiPrep, EUA) em solução de HNO<sub>3</sub> 0,7 mol L<sup>-1</sup>.

Para a etapa de preparo da amostra através de MIC, uma solução  $6 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  foi preparada dissolvendo o seu respectivo sal (Merck, Brasil) em água e utilizada como iniciador de combustão. Ainda, para esta etapa, oxigênio de alta pureza (99,9991%, White Martins, Brasil) foi utilizado para pressurização dos frascos de decomposição.

Foram avaliados como modificadores químicos, gás  $\text{CCl}_2\text{F}_2$ , comercialmente conhecido como Freon R12, soluções aquosas de ácido ascórbico (ácido ascórbico PA, Belga Química, Brasil), cítrico (ácido cítrico anidro PA, Synth, Brasil), oxálico (ácido oxálico dihidratado PA, Nuclear, Brasil), Ácido etilenodiaminotetracético (EDTA, ACS, Reagen, Brasil) e Cloreto de sódio (NaCl, PA, Merck, Alemanha). Todas as soluções aquosas foram preparadas nas concentrações  $100 \text{ mg L}^{-1}$  e  $100 \text{ g L}^{-1}$ .

### 4.3 MATERIAIS DIVERSOS

Para os procedimentos de pesagem da amostra introduzida no vaporizador eletrotérmico, foi utilizada uma microbalança Sartorius (modelo M2P, Alemanha) com resolução de  $0,001 \text{ mg}$  e carga máxima de  $2 \text{ g}$ . As pesagens das amostras para a decomposição foram realizadas em balança digital Shimadzu (modelo AY 220, Japão) com resolução de  $0,0001 \text{ g}$  e capacidade de  $220 \text{ g}$ .

As amostras foram introduzidas no vaporizador eletrotérmico de forma manual, utilizando uma pinça fornecida pelo fabricante do sistema ETV. Os tubos e as plataformas utilizadas foram de grafite recoberto com grafite pirolítico, também adquiridos da Spectral System (Alemanha).

No procedimento de MIC, algumas das amostras utilizadas foram previamente moídas utilizando-se graal e pistilo de ágata e tamisadas em peneiras de 200 mesh ( $65 \mu\text{m}$ ). Os comprimidos das amostras foram feitos em prensa hidráulica Specac, modelo Manual Hydraulic Press (Specac, Inglaterra) com pressão máxima de 15 toneladas, com punção de  $13 \text{ mm}$  de espessura e corpo de aço de  $13 \text{ mm}$  de diâmetro. A prensagem da amostra foi feita à pressão de 5 toneladas por 30 segundos. Ainda para a MIC, papéis filtro (Schleicher & Schüll, nº 5891,  $90 \text{ mm}$  de diâmetro, Alemanha) foram previamente descontaminados através de lavagem (duas vezes) com  $\text{HNO}_3$  10% e (uma vez) com  $\text{H}_2\text{O}$  em banho de ultrassom

(Ultrasonic Cleaner 1440). Posteriormente foram secados em capela de fluxo laminar modelo CFLH 12 (Veco do Brasil, Brasil).

Para o armazenamento das soluções das amostras decompostas foram utilizados frascos de polipropileno (Sarstedt, Alemanha), com volume máximo de 50 mL.

Para a quantificação dos sinais obtidos para cada elemento, foi desenvolvido um *software* (Sisvap), pois o programa que converte as intensidades dos sinais obtidos pelo espectrômetro de emissão óptica em concentração, não processa sinais transientes. Desse modo, com o Sisvap, todas as intensidades de sinal obtidas foram convertidas em área e então calculadas as respectivas concentrações dos analitos.

#### 4.4 AMOSTRAS

As amostras dos produtos farmacêuticos foram adquiridas em farmácias de manipulação e farmácias comerciais locais. As amostras manipuladas foram submetidas à vaporização eletrotérmica e aos processos de decomposição de amostra sem sofrer etapas de pré-tratamento, pois os produtos já estavam na forma pulverizada. As amostras comerciais, adquiridas sob a forma de comprimido, foram submetidas a processos de moagem e tamisação enquanto para as amostras adquiridas em forma de cápsula, apenas a cápsula foi separada do conteúdo interno pulverizado. Na Figura 8 é mostrado o aspecto de amostras comerciais loratadina e clozapina e de uma amostra manipulada (cloridrato de ciclobenzaprina).



**Figura 8.** Aspecto de uma amostra manipulada (a) cloridrato de ciclobenzaprina e das amostras comerciais (b) loratadina e (c) clozapina.



#### 4.5 DECOMPOSIÇÃO DAS AMOSTRAS

A fim de comparar os resultados obtidos pelo método proposto, as amostras foram submetidas à decomposição através de dois métodos. O primeiro método avaliado foi a decomposição por via úmida em sistema fechado, onde o forno de micro-ondas modelo Speedwave four (Berghof, Alemanha) foi utilizado. O sistema é equipado com rotor com capacidade para doze frascos de TFM (PTFE quimicamente modificado) e opera com potência, temperatura e pressão máximas de 1450 W, 230 °C e 50 bar, respectivamente. O programa de aquecimento utilizado está mostrado na Tabela 4 e a massa média de amostra foi 250 mg. Ambos os parâmetros foram empregados de acordo com as recomendações do fabricante e com o trabalho desenvolvido por Barin.<sup>11</sup>

**Tabela 4.** Programa de aquecimento utilizado para a decomposição das amostras por via úmida.

Rampa, min	T, ° C	Tempo de permanência, min	P, bar
10	200	15	50
1	250	20	50
1	50	30	50

O segundo método utilizado foi a MIC, a qual foi feita em forno de micro-ondas modelo Multiwave 3000 (Anton Paar, Áustria). O sistema é equipado com um rotor com capacidade para oito frascos. O sistema opera com potência, temperatura e pressão máximas de 1400 W, 280 °C e 80 bar, respectivamente. Foram utilizados frascos de quartzo comerciais e os suportes de quartzo foram desenvolvidos no Laboratório de Hialotecnica da Universidade Federal de Santa Maria.<sup>11</sup> Na Tabela 5 está mostrado o programa de aquecimento utilizado pelo método de combustão. Cabe ressaltar que a massa de amostra empregada foi de aproximadamente 125 mg.

**Tabela 5.** Programa de aquecimento utilizado para a decomposição por combustão iniciada por microondas.

Rampa, min	Potência, W	Tempo de permanência, min	P,bar	Refrigeração, Fan
1,5	1400	3,5	20	1
0	0	20	20	2

Após os procedimentos adequados de preparo de amostra, as determinações por ICP-MS foram realizadas empregando-se um espectrômetro de massa com plasma PerkinElmer-SCIEX, (modelo Elan DRCII, Canadá) equipado com nebulizador concêntrico, câmara de nebulização ciclônica e tocha com tubo injetor de quartzo de 2 mm de diâmetro interno. Nas Tabelas 6 e 7 são mostrados os parâmetros operacionais utilizados e as razões massa/carga monitoradas, respectivamente.

**Tabela 6.** Parâmetros operacionais do instrumento de ICP-MS.

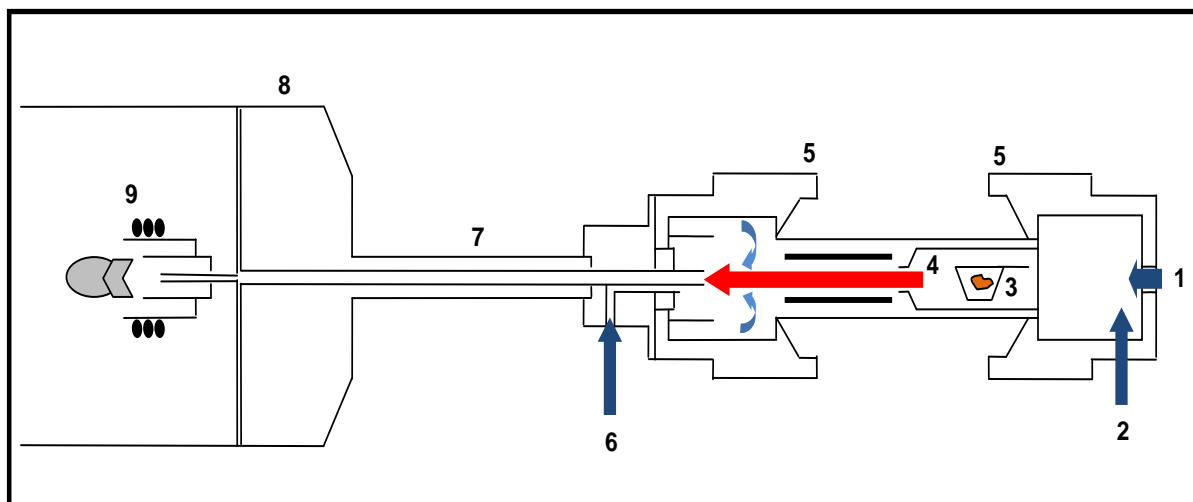
ICP-MS	
Parâmetros	Condições
Potência RF, W	1300
Vazão de Ar, L min <sup>-1</sup> Principal	15,00
Auxiliar	1,20
Nebulizador	1,04
Cone de amostragem e "Skimmer"	Pt
Resolução, u	0,7
Varreduras/leitura (Sweeps/reading)	5
Leituras/replicata	3
"Dwell time", ms	20
Replicatas	3
Lente iônica	Modo <i>Auto Lens</i>
Modo de medida	<i>Peak hopping</i>
Modo de operação do detector	<i>Dual</i>

**Tabela 7.** Razões massa/carga monitoradas.

<b>Elementos</b>	<b>massa/carga</b>
V	51
Cr	52 e 53
Mn	55
Ni	58 e 60
Cu	63 e 65
As	75
Mo	98
Ru	102 e 104
Rh	103
Pd	106 e 108
Cd	111
Ir	191 e 193
Pt	194 e 195
Pb	207 e 208

## 4.6 DETERMINAÇÃO DE METAIS E NÃO METAIS EM PRODUTOS FARMACÊUTICOS EMPREGANDO ETV-ICP OES

O sistema ETV-ICP OES utilizado no presente trabalho pode ser visualizado na Figura 9.



**Figura 9.** Sistema ETV-ICP OES. 1: Abertura do forno para introdução da plataforma; 2: Gás carreador (Ar) + Modificador ( $\text{CCl}_2\text{F}_2$ ); 3: Plataforma contendo amostra sólida; 4: Forno de grafite; 5: Contatos de grafite para aquecimento do sistema; 6: *Bypass-gas*; 7: Linha de transferência do ETV ao ICP OES; 8: Espectrômetro óptico (ICP OES); 9: Tocha ICP.

### 4.6.1 Avaliação dos parâmetros relacionados à vaporização eletrotérmica

Para o ajuste dos principais parâmetros relacionados à vaporização eletrotérmica utilizou-se duas soluções multielementares de referência de concentração  $5 \mu\text{g L}^{-1}$  para cada analito. A primeira solução continha As, Cd, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb e V em meio  $\text{HNO}_3$   $0,7 \text{ mol L}^{-1}$ , enquanto a segunda solução continha os analitos Pd, Pt, Rh e Ru, porém em meio  $\text{HCl}$   $1,2 \text{ mol L}^{-1}$  e  $\text{HNO}_3$   $0,14 \text{ mol L}^{-1}$ . Tendo-se em vista a obtenção de uma boa intensidade de sinal para todos os elementos, foram utilizados 30 ng de cada analito. Para tal,  $6 \mu\text{L}$  de cada solução foram transferidos para a plataforma e submetidos à evaporação em um sistema próprio para tal (*Drying Bank*, Spectral Systems). Posteriormente, a plataforma foi introduzida no vaporizador eletrotérmico e submetida a diferentes programas de aquecimento de acordo com os parâmetros avaliados, descritos à seguir.

#### 4.6.1.1 Avaliação das temperaturas de pirólise e vaporização

Inicialmente, os estudos das temperaturas de pirólise e vaporização foram feitos através da avaliação do comportamento dos elementos empregando-se somente as soluções multielementares. Entretanto, a fim de verificar a existência de efeitos de matriz dos medicamentos, tais estudos também foram realizados com a presença da amostra. Devido à baixa concentração dos elementos na amostra, foram adicionados 30 ng de cada elemento, procedendo como descrito no item 4.6.1. Para tal, aproximadamente 5 mg da amostra foram transferidas para a plataforma e então adicionou-se as soluções. Posteriormente, a plataforma foi secada no *drying bank*.

As temperaturas mais adequadas para as etapas de pirólise e de vaporização foram escolhidas como condição de compromisso para todos os analitos. Para a primeira, fixou-se a temperatura de vaporização em 2000 °C e variou-se a temperatura de pirólise de 300 a 800 °C. Para a avaliação da temperatura de vaporização, avaliou-se o intervalo entre 800 e 1600 °C enquanto a etapa de pirólise foi fixada em 350 °C. Para a etapa de limpeza, a temperatura foi fixada em 2400 °C, baseado no trabalho de Jiang.<sup>2</sup> Para ambas as etapas, a variação de temperatura foi feita a cada 100 °C. O programa utilizado na otimização das temperaturas do vaporizador eletrotérmico está mostrado na Tabela 8.

**Tabela 8.** Avaliação do programa de tempo e temperatura utilizado na vaporização eletrotérmica.

Etapa	Rampa, s	T, °C	Tempo de permanência, s
Pirólise	60	300-800	15
Vaporização	0	800-1600	20
Limpeza	10	2400	5

#### 4.6.1.2 Avaliação da massa de amostra

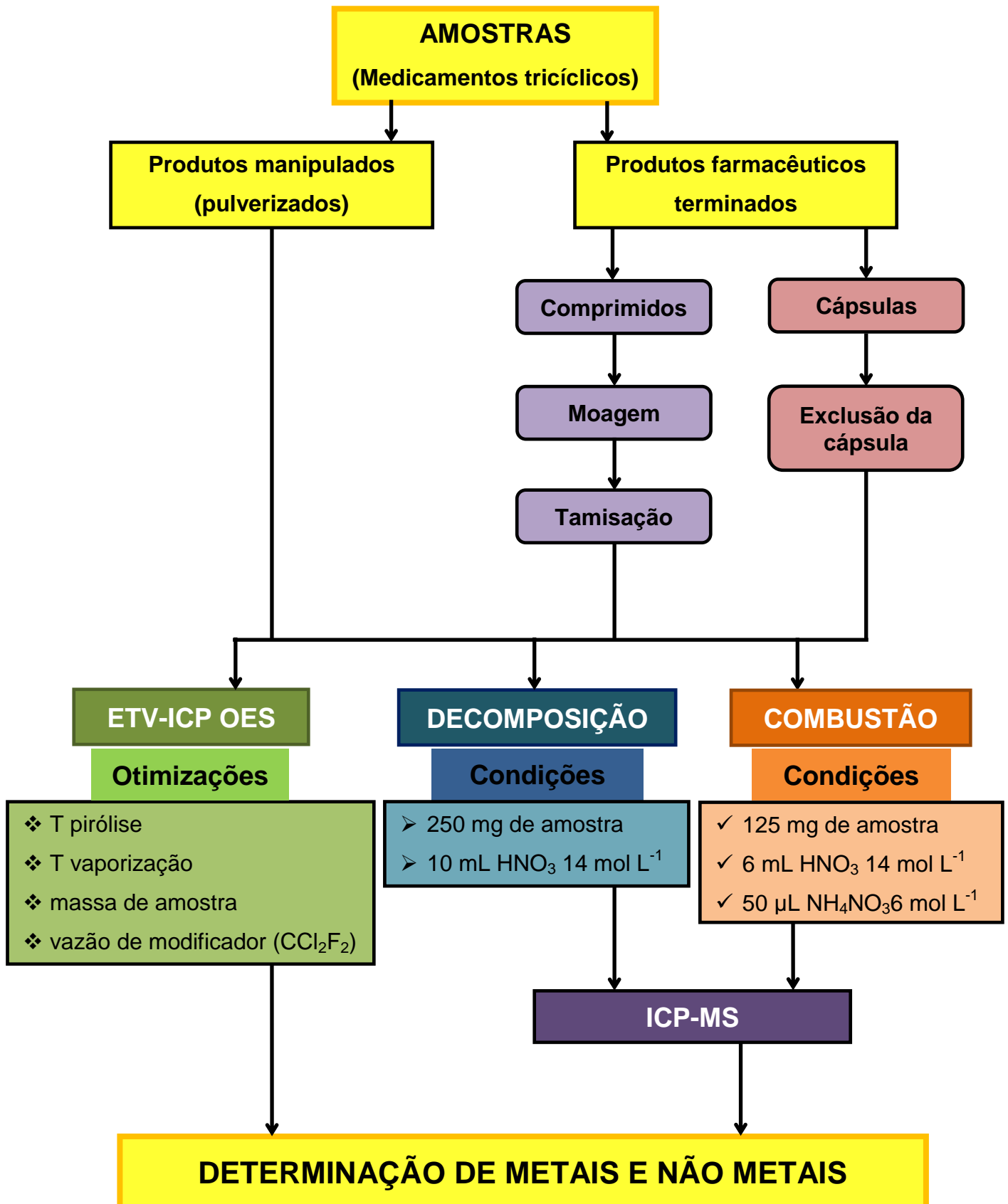
A quantidade máxima de amostra foi avaliada a partir de dois parâmetros: a limitação física imposta pelo tamanho da plataforma e a completa vaporização da amostra sem que o plasma extinguisse devido ao excesso de matriz (matéria orgânica). Desse modo, foram avaliadas massas de 0,5 a 10 mg de amostra.

#### 4.6.1.3 Avaliação da vazão do reagente $\text{CCl}_2\text{F}_2$

Para o estudo do efeito do  $\text{CCl}_2\text{F}_2$ , compararam-se as intensidades dos sinais dos elementos na presença e ausência do mesmo. Vazões crescentes de  $\text{CCl}_2\text{F}_2$  na faixa de 0,5 a 5,0 mL  $\text{min}^{-1}$  foram avaliadas. As intensidades dos sinais analíticos dos elementos são referentes apenas às soluções padrão, sem a presença de amostra.

### 4.7 RESUMO DO MÉTODO DESENVOLVIDO PARA A DETERMINAÇÃO DE METAIS E NÃO METAIS EM PRODUTOS FARMACÊUTICOS POR ETV-ICP OES

No fluxograma da Figura 10 estão mostradas as etapas para a determinação de metais e não metais em produtos farmacêuticos através do método proposto. Também estão mostradas as etapas do método oficial proposto pela FB<sup>4</sup>, que preconiza etapas de preparo de amostra previamente à determinação dos elementos.



**Figura 10.** Etapas para a determinação de metais e não metais em produtos farmacêuticos através do método proposto e as etapas envolvidas no método preconizado pela FB<sup>4</sup>.

## 5 APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

---

*Neste capítulo são apresentadas e discutidas as otimizações feitas no sistema ETV-ICP OES para a determinação de metais e não metais presentes como impurezas inorgânicas em produtos farmacêuticos, bem como os resultados obtidos e a comparação do método proposto com o preconizado na FB.*



## 5.1 AJUSTE DO SISTEMA ETV-ICP OES

As determinações realizadas no ICP OES foram feitas monitorando as linhas de emissão descritas na Tabela 3 do item 4.1, selecionadas em função da maior intensidade e menor possibilidade de interferências espectrais. O espectrômetro foi ajustado para condições de maior robustez, através dos parâmetros de potência de radiofrequência, ajustada em 1500 W, e as vazões dos gases principal e auxiliar, ajustadas em 15 e 0,2 L min<sup>-1</sup>, respectivamente. Estes ajustes foram feitos usando o sistema ETV, utilizando 2,5 mg de cloridrato de amitriptilina mais 30 ng de cada elemento.

Após o ajuste das condições do instrumento de ICP OES, foi avaliado o efeito do modificador CCl<sub>2</sub>F<sub>2</sub>, sua respectiva vazão, a vazão do gás carreador (Ar) e “*by-pass*”, as temperaturas e tempos de aquecimento do vaporizador eletrotérmico e a massa da amostra, como será discutido a seguir. Para as avaliações onde foi empregada amostra, entenda-se que a amostra em questão foi o cloridrato de amitriptilina, escolhida para representar as demais, ao passo que todas apresentam composição elementar semelhante. Cabe ressaltar que, devido à inexistência, até o momento, de publicações empregando ETV-ICP OES para determinação de metais e não metais em produtos farmacêuticos, este trabalho foi baseado em trabalhos que tenham avaliado amostras orgânicas no acoplamento supracitado.

### 5.1.1 Uso de modificador halogenado

Alguns elementos, principalmente os pertencentes aos grupos 4, 5 e 6 da tabela periódica (Ti, Zr, Hf, V, Nb, Ta, Cr, Mo e W), sob altas temperaturas, reagem com o carbono da grafite do forno, formando carbetos refratários. Os carbetos formados não vaporizam facilmente e alguns necessitam de temperaturas próximas a 3000 °C para serem vaporizados. Entretanto, o uso de uma temperatura tão alta quanto esta causaria a sublimação e, conseqüentemente, a degradação da grafite utilizada nos dispositivos de ETV.<sup>89</sup>

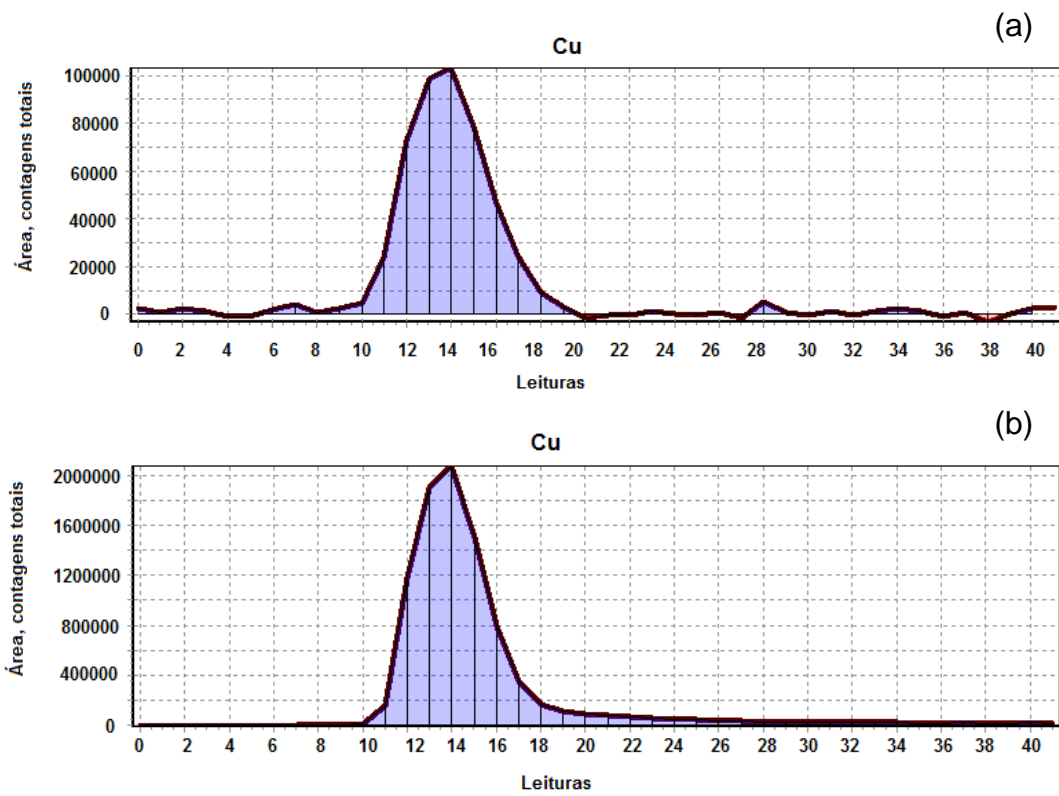
A adição de reagentes halogenados durante o ciclo de aquecimento do forno de grafite é comumente empregada a fim de converter os carbetos e óxidos de elementos refratários em seus respectivos haletos (geralmente fluorados e/ou

clorados). Os haletos formados possuem temperaturas de volatilização muito menores que os óxidos e carbetos, o que facilita a vaporização dos analitos.<sup>59</sup>

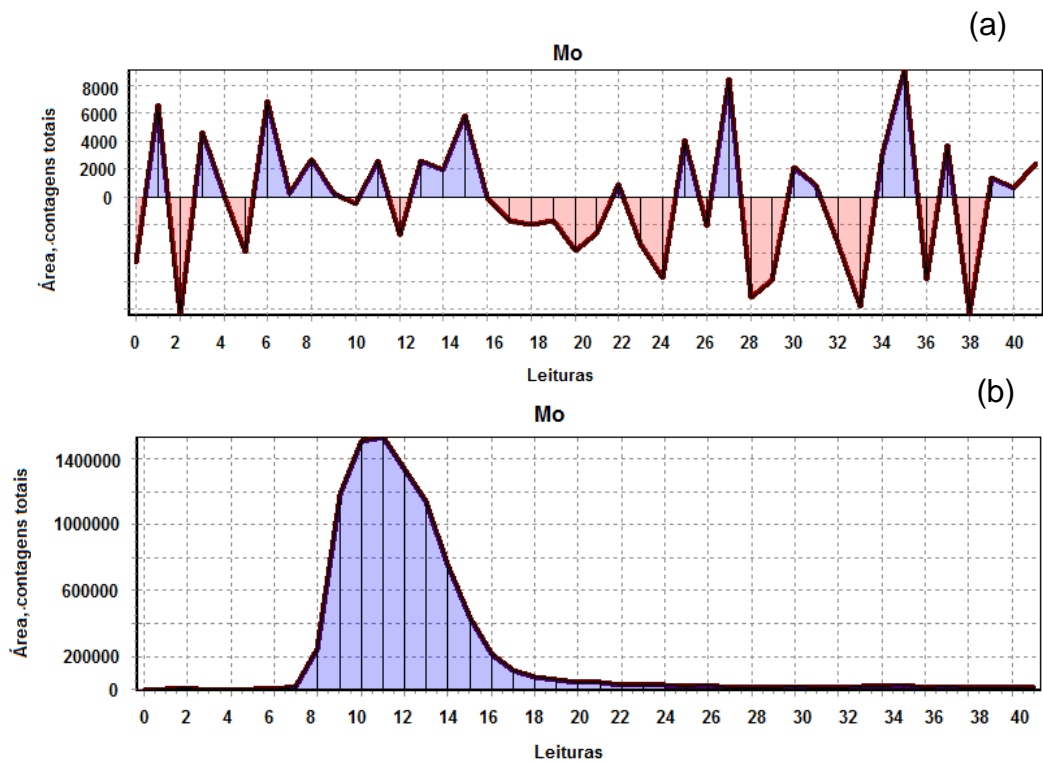
Os modificadores halogenados podem ser adicionados ao sistema sob a forma de gás ( $\text{CCl}_4$ ,  $\text{CHF}_3$ ,  $\text{CHCl}_3$  e  $\text{CCl}_2\text{F}_2$ ), de emulsão (politetrafluoretileno - PTFE) ou líquida ( $\text{HCl}$ ,  $\text{HF}$ ).<sup>90</sup> Sob altas temperaturas, ocorre a decomposição destas moléculas e a formação dos radicais  $\text{Cl}^*$  e  $\text{F}^*$ , que reagem com os analitos da amostra produzindo os respectivos cloretos e/ou fluoretos voláteis.<sup>91</sup> Outras vantagens apresentadas pelos modificadores halogenados são a eliminação do efeito de memória que pode ocorrer, principalmente para os elementos refratários, na ausência de modificador<sup>92</sup> e o prolongamento da vida útil dos tubos e plataformas de grafite, uma vez que as temperaturas de vaporização empregadas são menores que na ausência de modificador.

A fim de determinar os elementos preconizados pela FB<sup>4</sup>, que incluem alguns dos elementos formadores de carbetos refratários, o  $\text{CCl}_2\text{F}_2$  foi empregado como modificador no presente estudo. Dentre os demais modificadores que possuem apenas F ou Cl em sua composição, o uso de  $\text{CCl}_2\text{F}_2$  fornece um ambiente mais reativo. Além disso, por conter carbono, a decomposição do  $\text{CCl}_2\text{F}_2$  forma radicais que podem atuar como redutores para alguns tipos de elementos, facilitando a volatilização de óxidos que possuem alta temperatura de volatilização.<sup>93</sup> Outra característica do  $\text{CCl}_2\text{F}_2$  é a formação de pequenos agregados (*clusters*) com os analitos, o que acarreta em um aumento significativo na eficiência de transporte<sup>62,93,94</sup> e, conseqüentemente, em melhor LOD.<sup>91</sup>

Nas Figuras 11 e 12, respectivamente, estão mostrados os perfis dos sinais de Cu e Mo (intensidade x leituras) para uma mesma massa de cada elemento, na ausência e presença de  $\text{CCl}_2\text{F}_2$ .



**Figura 11.** Perfis de sinais do Cu para mesma massa do elemento na (a) ausência e (b) presença de  $\text{CCl}_2\text{F}_2$ .

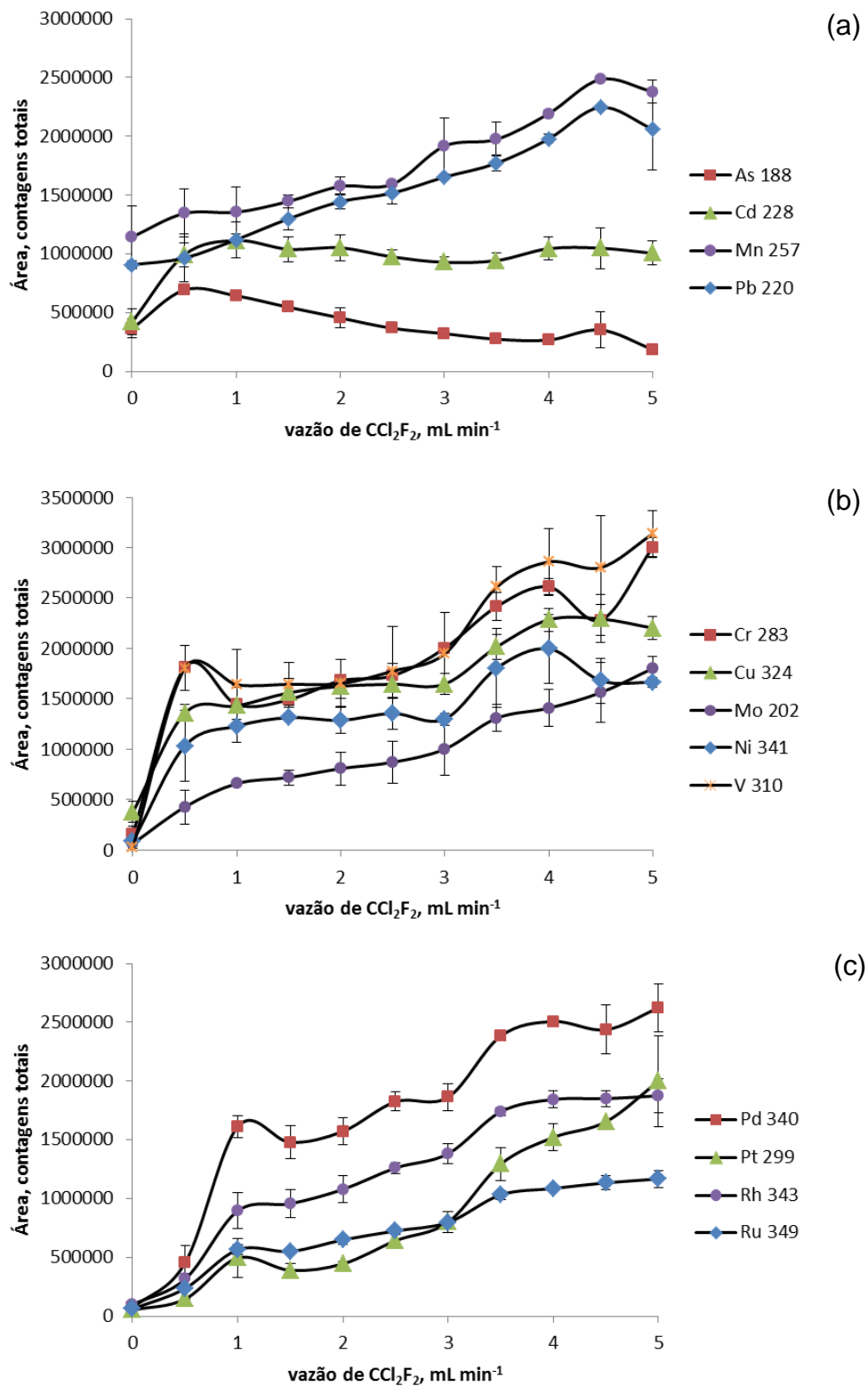


**Figura 12.** Perfis de sinais do Mo para mesma massa do elemento na (a) ausência e (b) presença de  $\text{CCl}_2\text{F}_2$ .

### 5.1.1.1 Otimização da vazão de $\text{CCl}_2\text{F}_2$ (Freon R12)

Segundo Detcheva, Barth e Hassler<sup>77</sup>, que avaliaram CRMs de plantas, a vazão de  $\text{CCl}_2\text{F}_2$  mais adequada para Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb, V, entre outros elementos foi de 2,1 a 2,5  $\text{mL min}^{-1}$ . Masson<sup>95</sup> também desenvolveu método para a determinação de Mn e demais analitos em plantas e reportou que 2,3  $\text{mL min}^{-1}$  de  $\text{CCl}_2\text{F}_2$  foi considerada a vazão mais adequada. Além disso, outros autores empregaram  $\text{CCl}_2\text{F}_2$  como modificador gasoso halogenado em vazões de 2,3  $\text{mL min}^{-1}$ ,<sup>72</sup> 3  $\text{mL min}^{-1}$ <sup>91</sup> e 6  $\text{mL min}^{-1}$ <sup>96</sup>. Desta forma, neste trabalho, foi avaliado o efeito do  $\text{CCl}_2\text{F}_2$ , o qual foi adicionado ao gás carreador, na faixa de 0,5 a 5,0  $\text{mL min}^{-1}$ . O efeito pode ser observado na Figura 13(a), (b), (c).

Como os demais parâmetros ainda não haviam sido estudados, utilizou-se 2,5 mg de cloridrato de amitriptilina com adição de 30 ng de cada analito em solução, baseando-se no estudo de Detcheva, Barth e Hassler<sup>77</sup> e as temperaturas de pirólise e vaporização foram fixadas em 300 e 1800 °C, respectivamente, baseadas no trabalho de Jiang e Lin,<sup>2</sup> no qual medicamentos foram avaliados.



**Figura 13.** Efeito da vazão de  $\text{CCl}_2\text{F}_2$  para (a) As, Cd, Mn e Pb; (b) Cr, Cu, Mo, Ni e V; (c) Pd, Pt, Rh e Ru. Condições empregadas: 2,5 mg de cloridrato de amitriptilina com adição de 30 ng de cada elemento; temperatura de pirólise em 300 °C e temperatura de vaporização em 1800 °C. Os valores representam a média e o desvio padrão de 3 determinações.

De acordo com a Figura 13, alguns dos elementos apresentaram perfis de intensidade de sinal semelhantes entre si e dessa forma foi possível agrupar os elementos em três grupos: a) As, Cd, Mn e Pb; b) Cr, Cu, Mo, Ni e V; c) Pd, Pt, Rh e Ru. O  $\text{CCl}_2\text{F}_2$  influencia na vaporização da maioria dos elementos, pois, com exceção do As, a intensidade do sinal aumenta para todos os elementos, independentemente da vazão de  $\text{CCl}_2\text{F}_2$  usada.

O  $\text{CCl}_2\text{F}_2$  exerceu menor influência sobre os elementos do grupo (a), possivelmente por serem naturalmente mais voláteis e conseguem ser vaporizados sem o auxílio do modificador. Para os elementos dos grupos (b) e (c), que possuem ponto de ebulição maior, o efeito é mais notável, pois quanto maior a vazão de  $\text{CCl}_2\text{F}_2$ , maiores as intensidades de sinal dos elementos. Além disso, segundo Kántor,<sup>62</sup> o aumento da eficiência da formação do aerossol do elemento está diretamente relacionado com o aumento da vazão do gás que passa pelo vaporizador eletrotérmico.

A fim de usar uma vazão única adequada para todos os elementos avaliados e com base em dados da literatura,<sup>71,72,77,95</sup> a vazão escolhida para os estudos posteriores foi  $3 \text{ mL min}^{-1}$ .

### 5.1.2 Ajuste do programa de temperaturas do sistema ETV-ICP OES

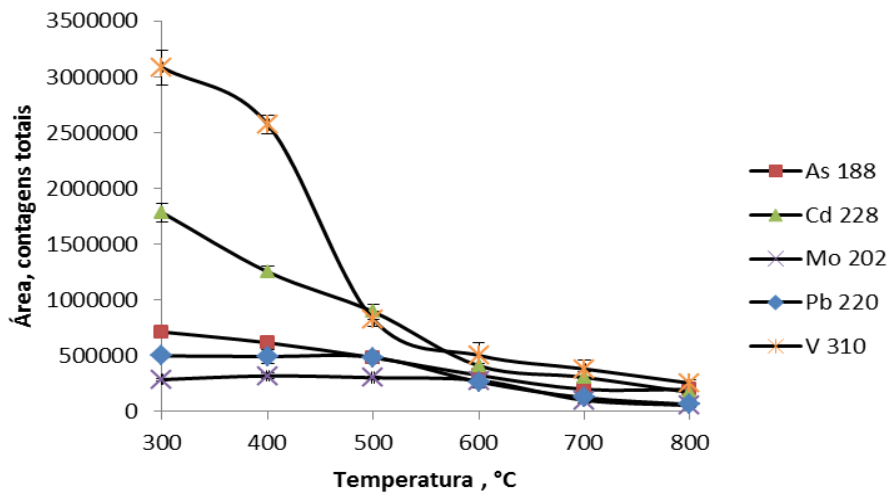
A avaliação das temperaturas de pirólise e vaporização foi feita somente na presença do modificador halogenado,  $\text{CCl}_2\text{F}_2$ , uma vez que na ausência do mesmo foi observado que o perfil do sinal é mais arrastado e a intensidade é menor para a maioria dos elementos, como pode ser observado nas Figuras 11 e 12. Além disso, o sinal não retorna a linha base para os elementos mais refratários, como o Cr e V. A avaliação foi feita utilizando-se 5 mg de amostra e adição de 30 ng de cada elemento. Entretanto, ao realizar a mesma avaliação das temperaturas sem a presença da amostra, foi observado que os perfis dos sinais dos elementos eram semelhantes aos perfis nos quais a amostra era empregada. Desse modo, as temperaturas de pirólise e vaporização foram avaliadas apenas com soluções multielementares. Cabe destacar que, antes da etapa de pirólise, foi adicionada uma etapa de  $200 \text{ }^\circ\text{C}$ , com o objetivo de reduzir o tempo total do programa do ETV. Além disso, o tempo entre a etapa de  $200 \text{ }^\circ\text{C}$  e a pirólise deve ser relativamente longo de

forma a eliminar ao máximo a matriz da amostra. Caso contrário, pode-se observar instabilidade ou até mesmo extinção do plasma. Além disso, para a etapa de limpeza foi utilizada a temperatura de 2400 °C.

#### **5.1.2.1 Avaliação da temperatura de pirólise**

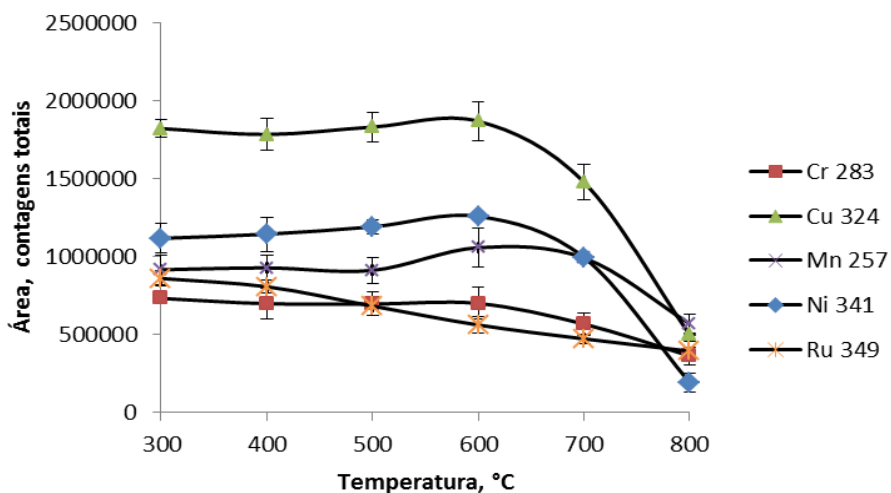
O programa de aquecimento empregado em ETV, usualmente, inicia com uma temperatura de pirólise, a qual objetiva a máxima remoção da matriz da amostra, sem a volatilização dos elementos. Ou seja, nessa etapa, ocorre o craqueamento das cadeias carbônicas que constituem a matriz orgânica das amostras e deste modo são minimizadas as possíveis interferências causadas pela mesma durante a etapa de determinação dos analitos. Para tal, foi fixada a temperatura de vaporização em 2000 °C e variou-se a pirólise entre 300 e 800 °C. Tais temperaturas foram avaliadas baseando-se no estudo de Jiang e Lin,<sup>2</sup> as quais foram estabelecidas como temperaturas de pirólise, 300 °C, e vaporização, 2400 °C, para amostras de produtos farmacêuticos. Cabe ressaltar que o tempo de permanência da amostra na etapa de pirólise foi o menor tempo suficiente para promover a remoção da matriz orgânica presente na amostra.

Como está mostrado nas Figuras 14, 15 e 16, foram observados comportamentos térmicos distintos entre os elementos, possivelmente devido às diferentes volatilidades dos haletos formados. Para elementos como As, Cd, Mo, Pb e V, a temperatura da etapa de pirólise não deve ser alta, pois como está mostrado na Figura 14, estes elementos são perdidos (volatilizados) a partir de temperaturas próximas de 400 °C, sendo que a temperaturas próximas a 600 °C são completamente perdidos.



**Figura 14.** Curvas de pirólise para As, Cd, Mo, Pb e V. Condições empregadas: 30 ng de cada elemento; temperatura de vaporização em 2000 °C; vazão de  $\text{CCl}_2\text{F}_2$  em  $3 \text{ mL min}^{-1}$ . Os valores representam a média e o desvio padrão de 3 determinações.

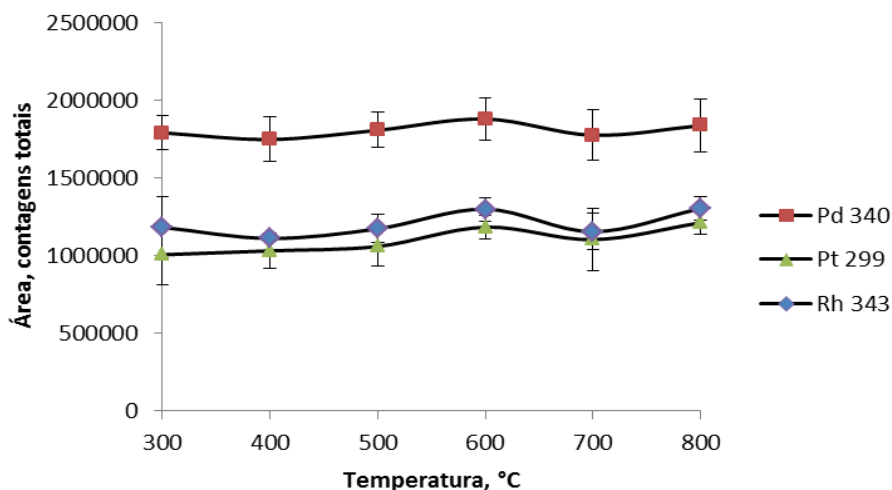
Para os elementos Cr, Cu, Mn, Ni e Ru, a temperatura máxima que não levou à perdas dos elementos na etapa de pirólise foi 600 °C. Como está mostrada na Figura 15, a partir desta temperatura começam a ocorrer perdas, sendo que a temperaturas próximas a 800 °C há perda total dos elementos.



**Figura 15.** Curvas de pirólise para Cr, Cu, Mn, Ni e Ru. Condições empregadas: 30 ng de cada analito; temperatura de vaporização em 2000 °C, vazão de  $\text{CCl}_2\text{F}_2$  em  $3 \text{ mL min}^{-1}$ . Os valores representam a média e o desvio padrão de 3 determinações.



Para elementos menos voláteis, como Pd, Pt e Rh, não ocorre vaporização dos respectivos haletos até 800 °C, como está mostrado na Figura 16. Isso permite uma temperatura de pirólise superior a tal temperatura.



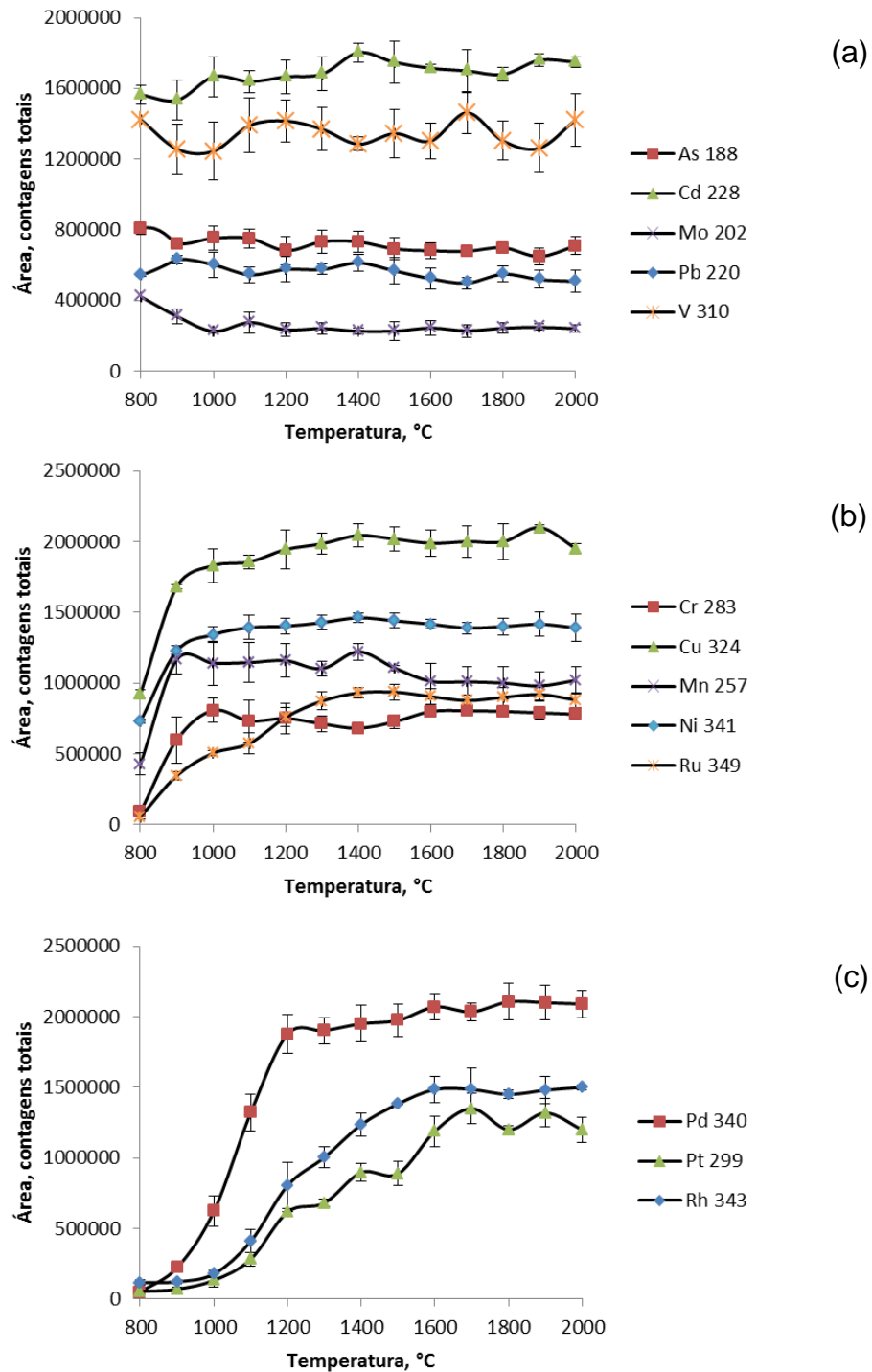
**Figura 16.** Curvas de pirólise para Pd, Pt e Rh. Condições empregadas: 30 ng de cada elemento; temperatura de vaporização em 2000 °C, vazão de  $\text{CCl}_2\text{F}_2$  em  $3 \text{ mL min}^{-1}$ . Os valores representam a média e o desvio padrão de 3 determinações.

De modo a utilizar apenas um programa de temperatura para a determinação dos treze elementos, a temperatura de pirólise foi limitada pela alta vaporização dos haletos dos elementos As, Cd, Mo, Pb e V, que requerem uma temperatura baixa nesta etapa. Assim, a temperatura de pirólise empregada foi 350 °C, suficiente para a eliminação da matriz da amostra e adequada para todos os elementos.

### 5.1.2.2 Avaliação da temperatura de vaporização

Na segunda etapa do programa de aquecimento utilizado em ETV, a temperatura empregada deve ser elevada de tal modo a alcançar a vaporização completa dos analitos. Para tanto, a etapa de pirólise foi fixada em 350 °C e a temperatura de vaporização foi avaliada no intervalo de 800 a 2000 °C, enquanto o tempo relativo à esta etapa foi ajustado de acordo com os sinais dos elementos. A fim de prolongar o tempo de vida útil dos tubos e plataformas de grafite, selecionou-se a menor temperatura suficiente para vaporização de todos analitos. Assim, a

temperatura considerada mais adequada para vaporização foi 1600 °C, como está mostrado na Figura 17.



**Figura 17.** Temperatura de vaporização do (a) As, Cd, Mo, Pb e V, (b) Cr, Cu, Mn, Ni e Ru e c) Rh, Pd, Pt. Condições empregadas: 30 ng de cada elemento; temperatura de pirólise em 350 °C. Os valores representam a média e o desvio padrão de 3 determinações.

### 5.1.2.3 Programa de aquecimento empregado no sistema ETV-ICP OES

Na Tabela 9 está mostrado o programa de tempo e temperatura utilizado no vaporizador eletrotérmico, a fim de determinar metais e não metais em produtos farmacêuticos.

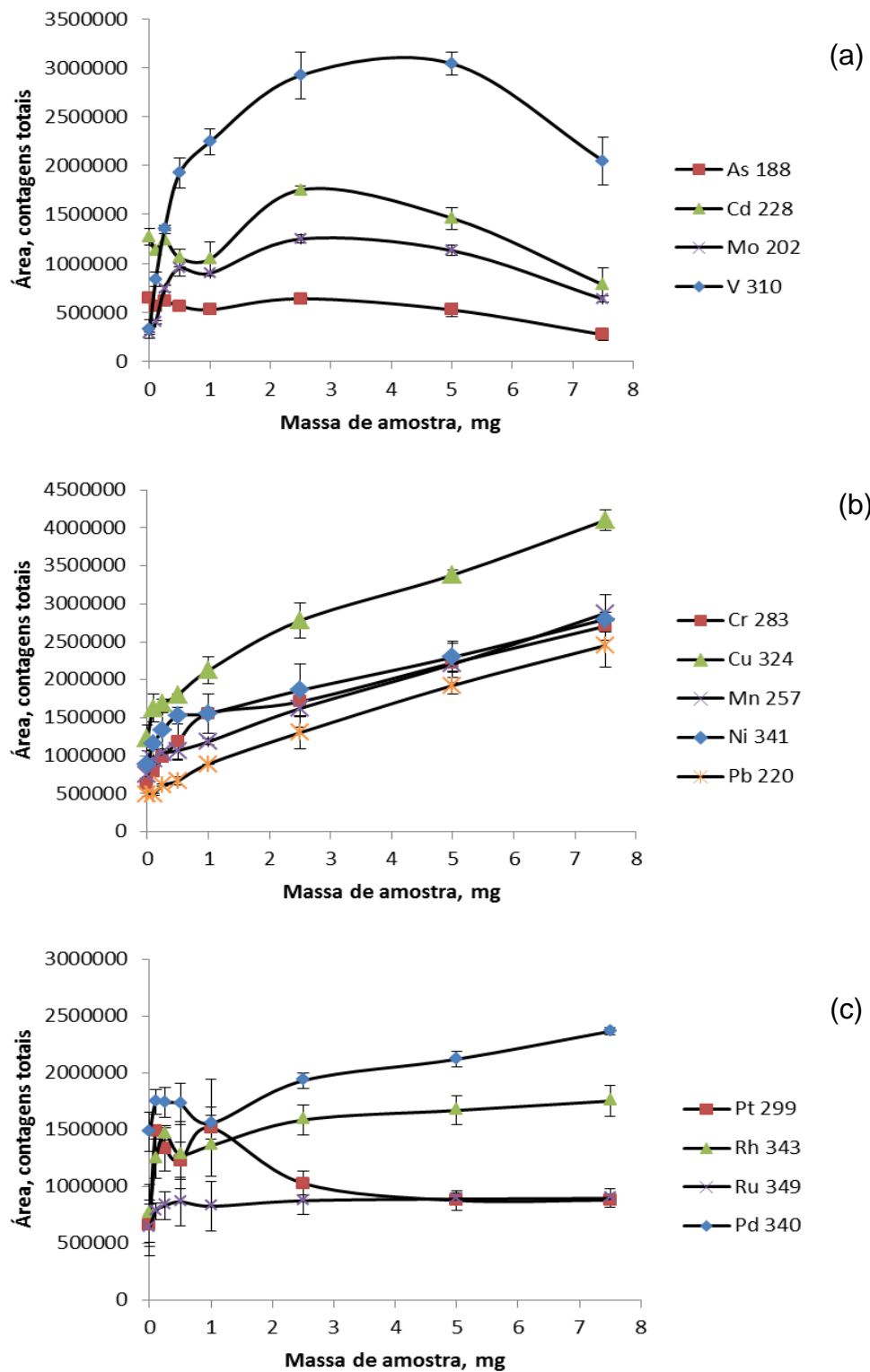
**Tabela 9.** Programa de tempo e temperatura utilizado no vaporizador eletrotérmico.

Etapa	Rampa, s	T, °C	Tempo de permanência, s
Secagem	5	200	10
Pirólise	60	350	15
Vaporização	0	1600	20
Limpeza	10	2400	5

## 5.2 AVALIAÇÃO DA MASSA DE AMOSTRA

Na Figura 18 está mostrada a influência da massa de amostra inserida no sistema ETV sobre a intensidade de sinal dos elementos. Para tal, massas crescentes de amostra com adição de 30 ng de cada elemento foram avaliadas. Cabe destacar que a faixa de massas avaliadas foi limitada por fatores como a dificuldade de pesagem de massa muito pequenas (<0,1 mg), a capacidade da plataforma de grafite (<10 mg) e o excesso de matriz da amostra, a qual leva à instabilidade e/ou a extinção do plasma.

Foram observados comportamentos distintos de acordo com as características de cada grupo de analitos. Na Figura 18 pode ser observado que a matriz da amostra exerce efeitos sobre todos os elementos, mas de forma diferenciada. É importante destacar que para muitos elementos, o efeito mais pronunciado já é observado para massas de até aproximadamente 0,5 mg de amostra. O aumento da intensidade do sinal pode ser decorrente do efeito do transporte dos analitos ser melhor na presença da matriz da amostra. Porém, a supressão da intensidade do sinal de vários elementos para massas de amostra mais elevadas pode ser devido a efeitos no plasma, como o maior gasto de energia. Consequentemente, menos energia está disponível para os processos de excitação dos elementos. Além disso, pode ocorrer o deslocamento da região ótima de observação da emissão dos elementos no plasma.



**Figura 18.** Efeito da massa de amostra sobre a intensidade dos sinais do (a) As, Cd, Mo e V (b) Cr, Cu, Mn, Ni e Pb e (c) Pd, Pt, Rh e Ru. Condições empregadas: 30 ng de cada elemento; temperatura de pirólise em 350 °C, temperatura de vaporização em 1600 °C, vazão de  $\text{CCl}_2\text{F}_2$  em  $3 \text{ mL min}^{-1}$ . Os valores representam a média e o desvio padrão de 3 determinações.

Tendo-se em vista estabelecer condições de compromisso para determinação de todos elementos, foi estabelecido o uso de massas de amostra de no máximo 2,5 mg.

### 5.3 AVALIAÇÃO DO USO DE MODIFICADORES

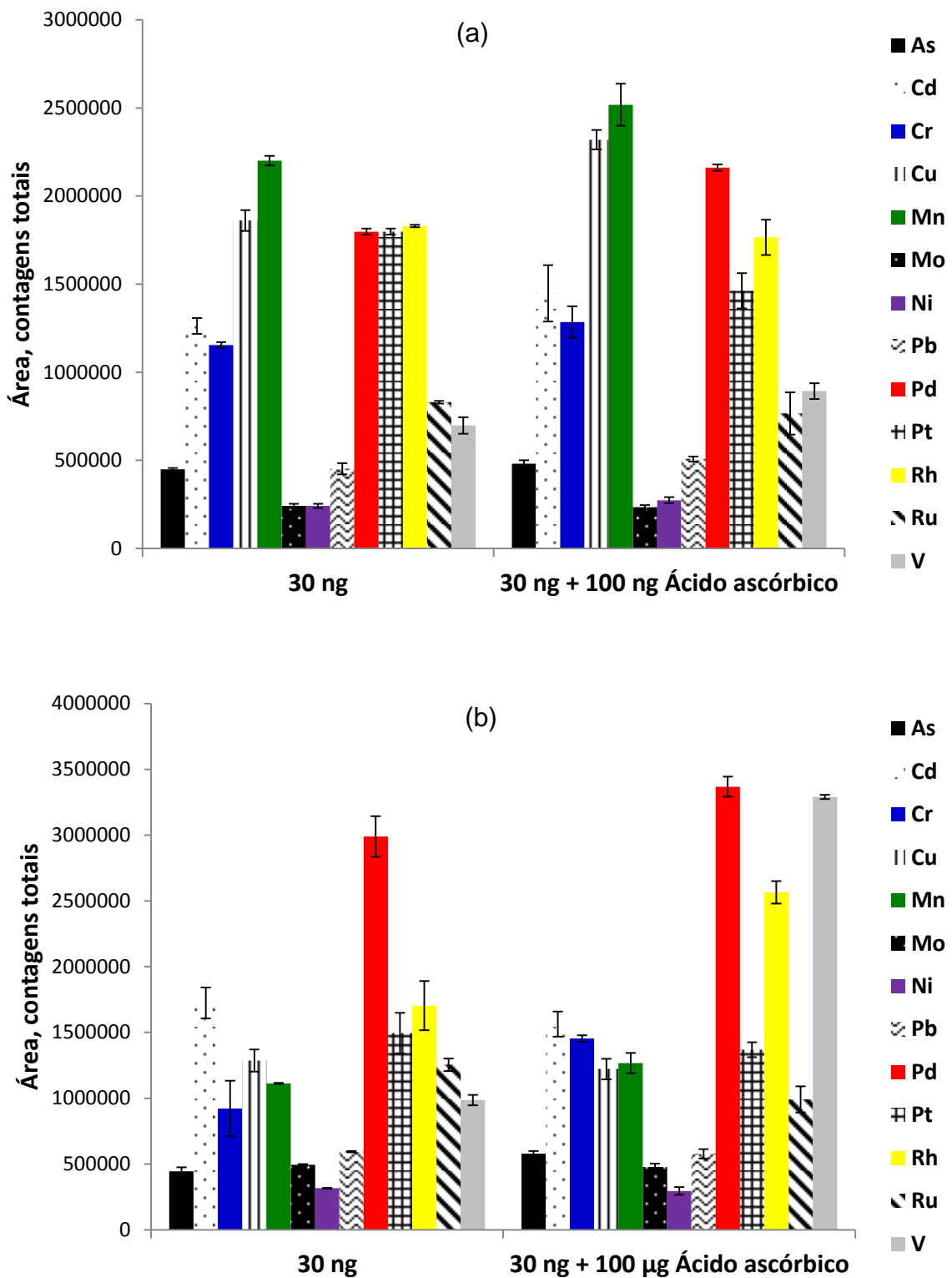
Idealmente, o analito deve ser vaporizado à uma temperatura distinta (superior ou inferior) da temperatura de vaporização da matriz, buscando assim a completa separação entre o sinal do analito e possíveis interferências causadas pela matriz. Uma alternativa para situações onde o analito e a matriz vaporizam à mesma temperatura é a utilização de modificadores químicos.<sup>97</sup> O emprego de modificadores provoca uma mudança nos comportamentos termoquímicos do analito e matriz. Os modificadores orgânicos, por exemplo, podem promover a vaporização dos analitos previamente à vaporização da matriz da amostra, assim melhorando a separação espaço-temporal entre o analito e a matriz, o que pode levar à redução de interferência causados pela matriz na determinação dos elementos.<sup>98,99</sup>

Os modificadores também podem auxiliar no transporte do elemento, pois ocorre formação de pequenos agregados que carregam o elemento até o plasma, minimizando a perda por condensação nas paredes do equipamento e na linha de transferência.<sup>62</sup> O cloreto de sódio, por exemplo, atua, principalmente, como carreador físico e foi empregado em diversos estudos,<sup>73,100,101</sup> bem como o ácido etilenodiaminotetracético (EDTA -  $C_{10}H_{16}N_2O_8$ ).<sup>98,102,103</sup> Ácidos orgânicos como o ácido ascórbico ( $C_6H_8O_6$ ),<sup>104-107</sup> ácido cítrico ( $C_6H_8O_7$ ),<sup>108-110</sup> e ácido oxálico ( $C_2H_2O_4$ ),<sup>111-113</sup> sofrem pirólise à altas temperaturas, o que resulta na liberação de várias partículas de carbono que também atuam como carreadores de vapor do analito.<sup>114</sup>

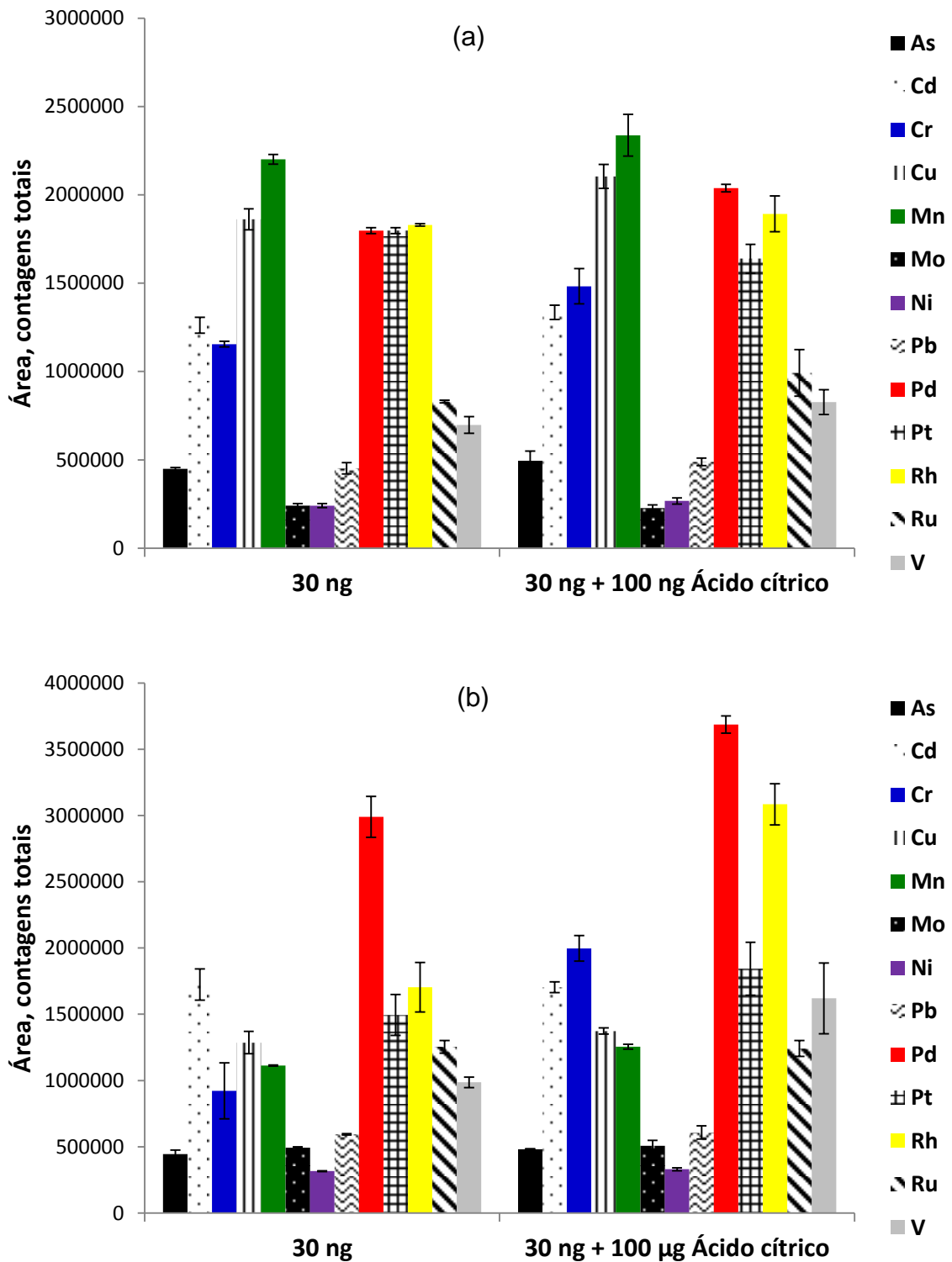
Além do  $CCl_2F_2$ , tendo-se em vista a diferença entre a intensidade do sinal observado para os elementos contidos na solução de referência, na ausência e na presença da amostra, foi estudada a influência de diferentes quantidades de ácido ascórbico, cítrico, oxálico, EDTA e NaCl sobre o sinal dos elementos.

Segundo Ediger e Beres,<sup>114</sup> o emprego de modificadores em quantidades de 100 a 10000 vezes à massa do elemento presente na amostra, resulta em um aumento de sensibilidade de duas a cinco vezes. Com base nesse estudo foram

avaliadas diferentes massas dos modificadores, entre 100 ng e 100 µg. Nas Figuras 19, 20, 21, 22 e 23 estão mostradas as influências dos modificadores avaliados.

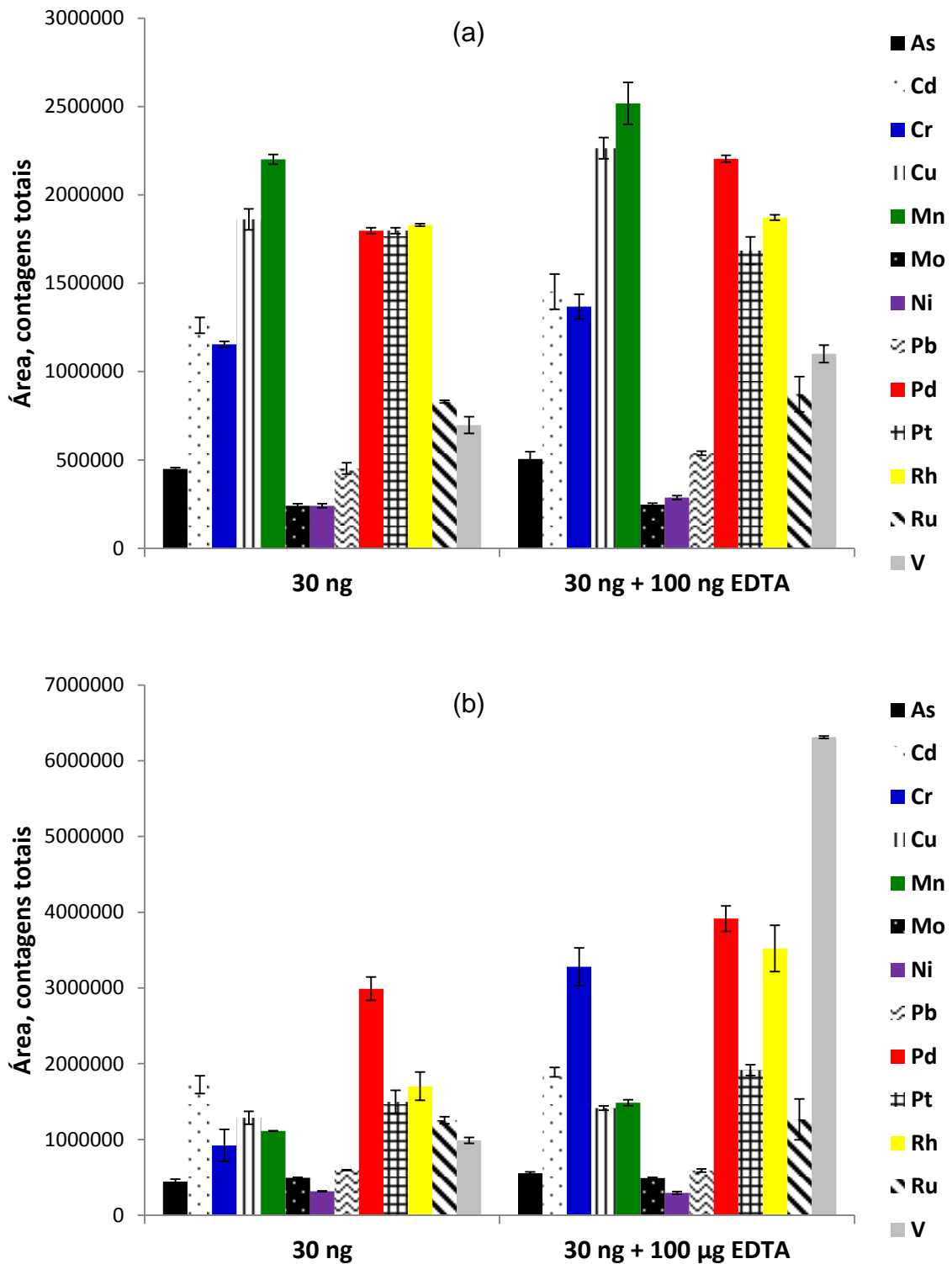


**Figura 19.** Efeito de (a) 100 ng e (b) 100 µg de ácido ascórbico sobre As, Cd, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru e V. Condições empregadas: 30 ng de cada elemento; temperatura de pirólise em 350 °C, temperatura de vaporização em 1600 °C, vazão de  $\text{CCl}_2\text{F}_2$  em  $3 \text{ mL min}^{-1}$ . Os valores representam a média e o desvio padrão de 3 determinações.

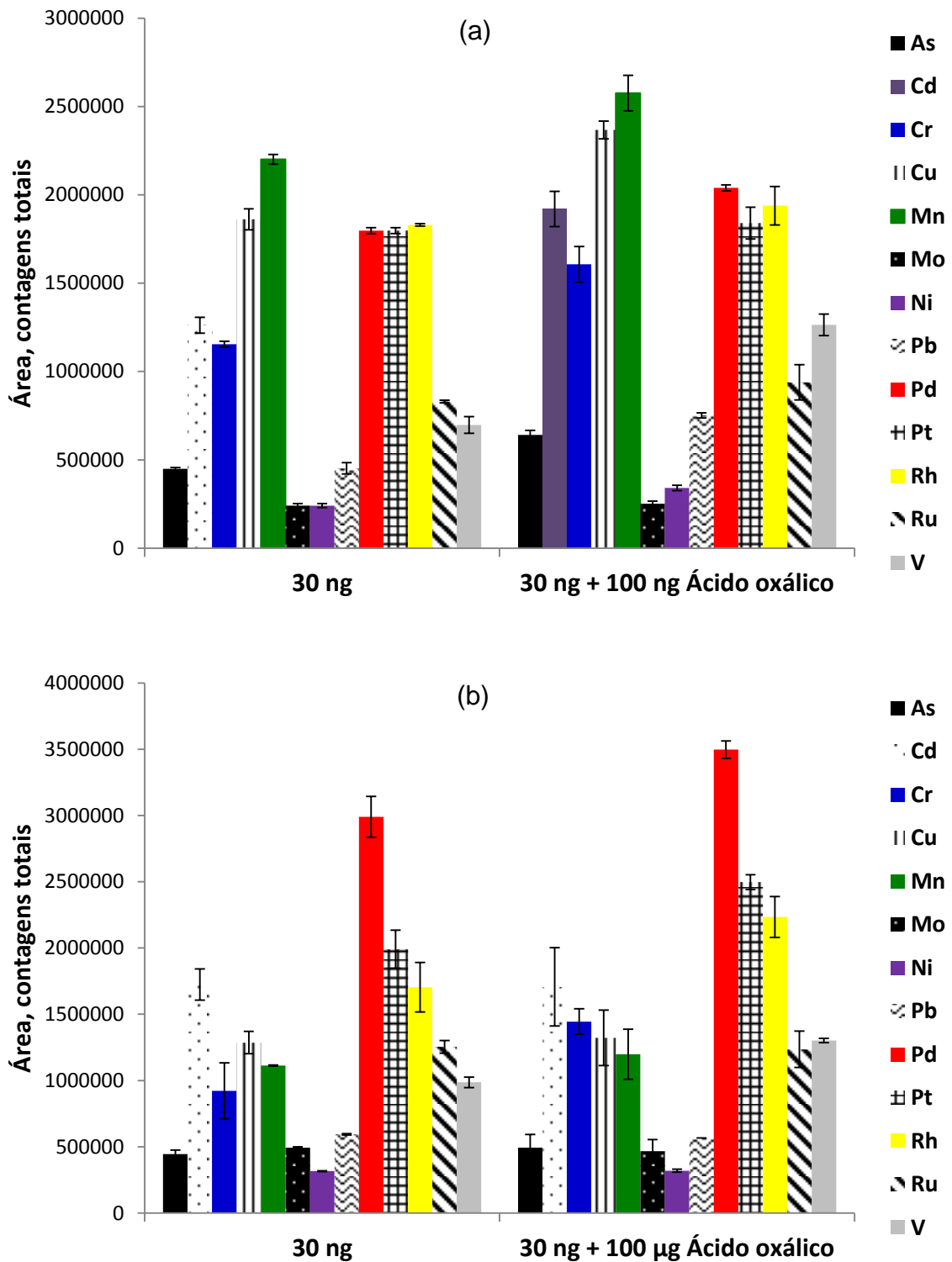


**Figura 20.** Efeito de (a) 100 ng e (b) 100 µg de ácido cítrico sobre As, Cd, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru e V. Condições empregadas: 30 ng de cada elemento; temperatura de pirólise em 350 °C, temperatura de vaporização em 1600 °C, vazão de  $\text{CCl}_2\text{F}_2$  em  $3 \text{ mL min}^{-1}$ . Os valores representam a média e o desvio padrão de 3 determinações.

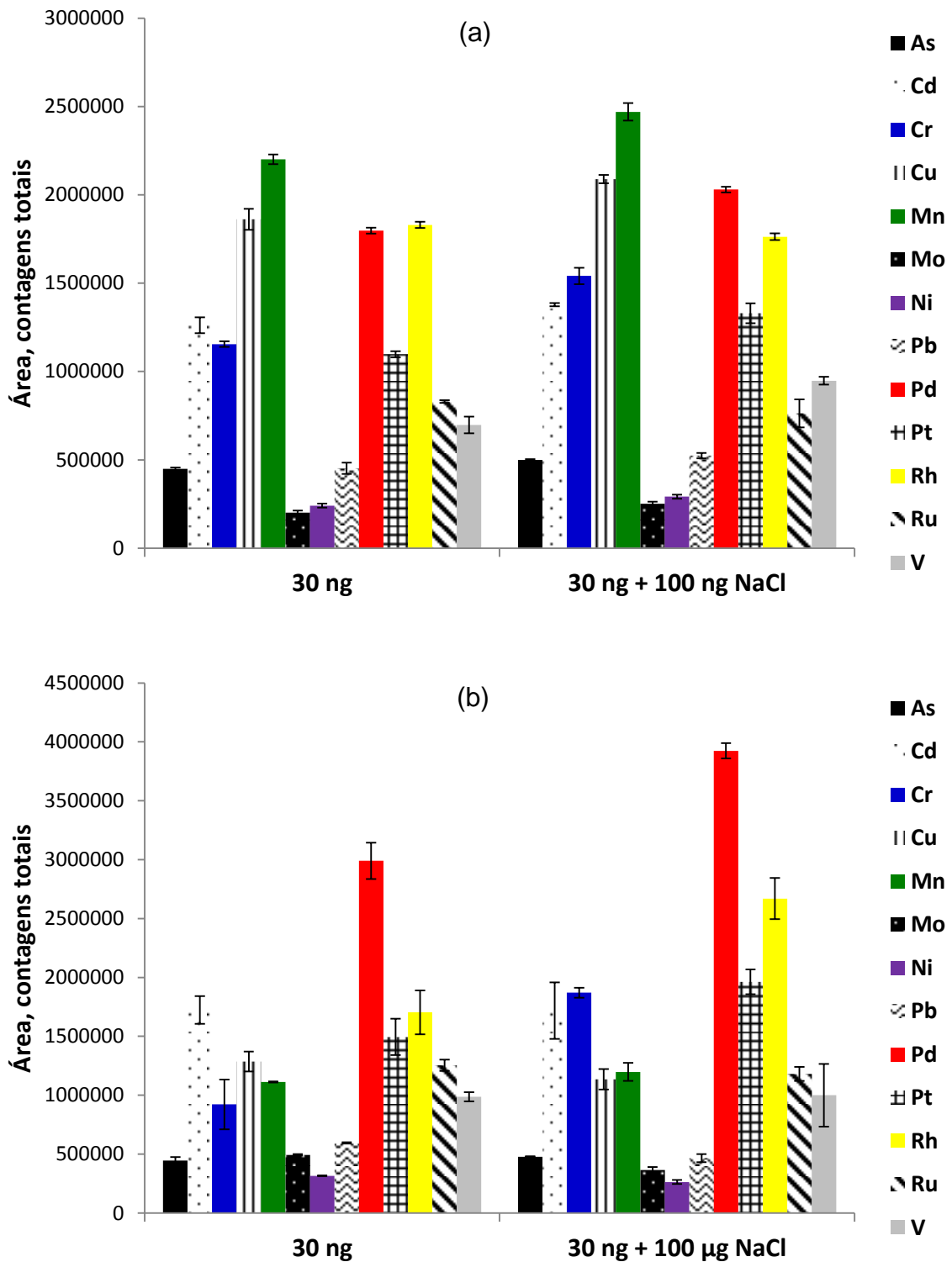




**Figura 21.** Efeito de (a) 100 ng e (b) 100 µg de EDTA sobre As, Cd, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru e V. Condições empregadas: 30 ng de cada elemento; temperatura de pirólise em 350 °C, temperatura de vaporização em 1600 °C, vazão de  $\text{CCl}_2\text{F}_2$  em  $3 \text{ mL min}^{-1}$ . Os valores representam a média e o desvio padrão de 3 determinações.



**Figura 22.** Efeito de (a) 100 ng e (b) 100 µg de ácido oxálico sobre As, Cd, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru e V. Condições empregadas: 30 ng de cada elemento; temperatura de pirólise em 350 °C, temperatura de vaporização em 1600 °C, vazão de  $\text{CCl}_2\text{F}_2$  em  $3 \text{ mL min}^{-1}$ . Os valores representam a média e o desvio padrão de 3 determinações.



**Figura 23.** Efeito de (a) 100 ng e (b) 100 µg de cloreto de sódio sobre As, Cd, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru e V. Condições empregadas: 30 ng de cada elemento; temperatura de pirólise em 350 °C, temperatura de vaporização em 1600 °C, vazão de  $\text{CCl}_2\text{F}_2$  em  $3 \text{ mL min}^{-1}$ . Os valores representam a média e o desvio padrão de 3 determinações.

Como pode ser observado nas Figuras 19 a 23 que, com algumas exceções, a presença de 100 ng ou 100 µg dos modificadores avaliados não melhorou a intensidade dos sinais dos analitos. Provavelmente, a presença do  $\text{CCl}_2\text{F}_2$ , mascara o efeito dos demais modificadores, bem como o efeito carreador destes modificadores não foi maior do que o efeito carreador do próprio  $\text{CCl}_2\text{F}_2$ . Desse modo, optou-se por não utilizar estes modificadores.

#### **5.4 AVALIAÇÃO DO MÉTODO DE CALIBRAÇÃO EMPREGADO NA ETV-ICP OES**

A possibilidade da completa remoção da matriz da amostra através da etapa de pirólise reduz eficazmente os efeitos de aumento ou supressão de intensidade de sinal do elemento, causados pela matriz. Conseqüentemente, a calibração externa com o uso de soluções de referência aquosas poderá ser empregada para determinações utilizando ETV. Entretanto, em alguns casos, tais efeitos podem persistir mesmo ao utilizar pirólise para eliminar ao máximo a matriz da amostra. Assim, o uso de padrão interno ou da adição de padrão é uma alternativa viável para calibração.<sup>90</sup> Contudo, ainda que o comportamento das amostras analisadas sugiram a presença de interferências causadas, possivelmente, pela matriz e que nenhum dos modificadores avaliados tenham levado à compensação adequada dos efeitos de matriz encontrados, neste trabalho foi empregado o método de calibração externa com soluções de referência aquosas para quantificação dos elementos.

Uma “solução estoque” de diferentes concentrações para cada elemento foi preparada, de acordo com a sensibilidade obtida para cada elemento no espectrômetro óptico. Para a construção da curva de calibração foram pipetados volumes crescentes desta solução (0,5; 1,0; 2,5; 5,0; 10; 25 µL) sob a plataforma, de forma que a massa dos elementos estivesse na faixa de 0,1 a 250 ng para Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pd, Rh, Ru e V e de 27,5 a 6250 ng para As, Mo, Pb e Pt. Para o branco, foram usadas as plataformas submetidas ao programa de aquecimento do vaporizador eletrotérmico com adição de 5 µL de  $\text{HNO}_3$  0,7 mol L<sup>-1</sup>, sem adição de quaisquer reagentes. Os perfis dos sinais resultantes de ambos os brancos foi apenas ruído. A fim de evitar o consumo de reagente e principalmente devido à

maior praticidade, escolheu-se o uso da plataforma vazia. Na Tabela 10 estão mostradas as massas de cada elemento usadas na curva de calibração.

Curvas de calibração com boa linearidade foram obtidas para todos os analitos, como está mostrado na Figura 24. Os coeficientes de correlação linear ( $r^2$ ) foram superiores a 0,993. O desvio padrão relativo foi inferior a 10% ( $n = 3$ ), relativo ao Mo, cujo valor foi o maior entre os elementos estudados, e ao ponto de curva de calibração onde 5  $\mu\text{L}$  de solução de referência foram adicionados. Os LODs e LOQs foram calculados com base nos critérios  $3\sigma$  e  $10\sigma$ , respectivamente. O  $\sigma$  corresponde ao desvio padrão de 10 medições dos analitos com as plataformas vazias. Na Tabela 11 estão mostrados os parâmetros de mérito RSD, LOD e LOQ para o método proposto.

O limite de quantificação relativo para o método proposto ficou na faixa de 0,1  $\mu\text{g g}^{-1}$  para Mn e 356  $\mu\text{g g}^{-1}$  para As, estimado considerando o critério  $10\sigma$  (para 10 medições consecutivas da plataforma de grafite contendo 2,5 mg de amostra).

Na Tabela 12 estão resumidas as condições otimizadas para a determinação de As, Cd, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru e V em produtos farmacêuticos empregando a ETV-ICP OES.

**Tabela 10.** Massas (ng) utilizadas para a construção da curva de calibração dos elementos determinados por ETV-ICP OES.

Volume da solução (µL)	As	Cd	Cr	Cu	Mn	Mo	Ni	Pb	Pd	Pt	Rh	Ru	V
0,75	185*	1,5*	1,5*	0,4*	0,15*	41*	3*	41	3,7*	78	3,7	3,7	7,4*
1,2	300*	2,4	2,4*	0,6	0,24*	66*	4,8*	66	6*	126	6	6	12*
2,5	625*	5	5*	1,25	0,5	137,5*	10	137,5	12,5*	262,5	12,5	12,5	25
5,0	1250	10	10	2,5	1	275*	20	275	25	525	25	25	50
10	2500	20	20	5	2	550	40	550	50	1050	50	50	100
25	6250	50	50	12,5	5	1375	100	1375	125	2625	125	125	250

\*Valores abaixo do limite de quantificação.

**Tabela 11.** Parâmetros de mérito do método proposto para a determinação de metais e não metais em produtos farmacêuticos por ETV-ICP OES.

	As	Cd	Cr	Cu	Mn	Mo	Ni	Pb	Pd	Pt	Rh	Ru	V
RSD, %	3,7	6,7	7,7	5,3	3,4	10	4,8	5,7	7,5	8,9	5,8	3,5	5,1
LOD, ng	267	0,5	1,7	0,1	0,1	114	2,1	6,3	4,9	18	0,2	0,5	6,2
LOD, µg g <sup>-1</sup>	107	0,2	0,7	0,04	0,04	46	0,85	2,5	2,0	7,2	0,08	0,2	2,5
LOQ, ng	890	1,8	5,5	0,4	0,3	380	7,1	21	16	62	0,8	1,7	21
LOQ, µg g <sup>-1</sup>	356	0,7	2,2	0,6	0,12	152	2,8	8,4	6,4	25	0,3	0,7	8,4

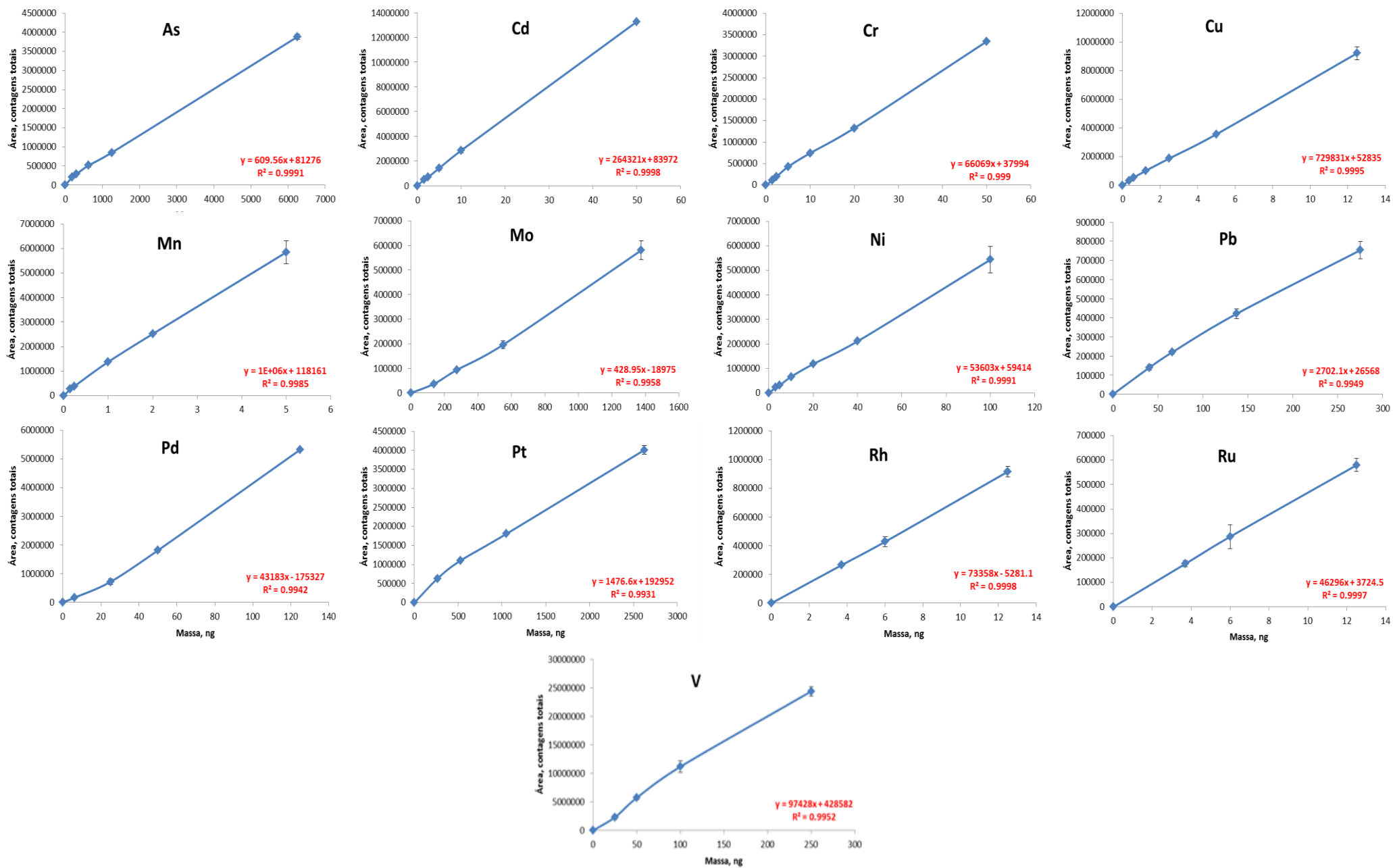


Figura 24. Curvas de calibração obtidas para os elementos determinados por ETV-ICP OES.

**Tabela 12.** Parâmetros de mérito do método proposto para a determinação de As, Cd, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru e V em produtos farmacêuticos tricíclicos por ETV-ICP OES.

Parâmetro	Condições
Vazão de $\text{CCl}_2\text{F}_2$ , $\text{mL min}^{-1}$	3,0
Temperatura de pirólise, °C	350
Temperatura de vaporização, °C	1600
Temperatura de limpeza, °C	2400
Massa de amostra, mg	2,5
Frequência de determinação, $\text{h}^{-1}$	20

## 5.5 DETERMINAÇÃO DE METAIS E NÃO METAIS EM PRODUTOS FARMACÊUTICOS EMPREGANDO ETV-ICP OES

Para a quantificação dos elementos, foram introduzidos no vaporizador eletrotérmico 2,5 mg de cada amostra. Algumas das amostras foram previamente preparadas conforme descrito no item 4.4, para que todas as amostras, comerciais e manipuladas, fossem analisadas em condições semelhantes. Na Tabela 13 estão mostrados os resultados encontrados nos 11 produtos farmacêuticos para os 13 elementos avaliados pelo método ETV-ICP OES.

Entre os 11 produtos farmacêuticos analisados, apenas na amostra cloridrato de ciclobenzaprina foi detectado Cr, cuja concentração foi de  $5,5 \pm 0,4 \mu\text{g g}^{-1}$ . Entretanto, o resultado obtido após a decomposição por MIC e determinação por ICP-MS, como será apresentado no item 5.7, foi  $6,31 \pm 0,12 \mu\text{g g}^{-1}$  de Cr, representando 87% de concordância. Também foi realizado um teste de recuperação do analito a fim de verificar o desempenho do método proposto através da adição de 16 ng de Cr, quantidade equivalente à encontrada em 2,5 mg de amostra. Foi obtido  $35 \pm 2 \text{ ng}$  de Cr, o que representa 91% de recuperação. Cabe ressaltar que a concentração de Cr encontrada no medicamento está dentro dos limites estabelecidos pela FB.<sup>4</sup>

Uma dificuldade ao utilizar a vaporização eletrotérmica foi encontrada para a amostra cloridrato de prometazina, onde sobrou resíduo na plataforma de grafite, mesmo após aplicação de temperaturas de até 2400 °C no vaporizador eletrotérmico, como está mostrado na Figura 25. Por ser um produto adquirido



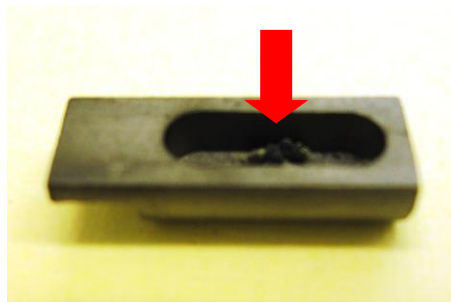
comercialmente, sabe-se que há sílica no excipiente do medicamento, o que justifica a presença de resíduos na plataforma após o ciclo de aquecimento, uma vez que a sílica não vaporiza totalmente nas temperaturas usadas no método proposto, mesmo na presença de  $\text{CCl}_2\text{F}_2$ .

**Tabela 13.** Resultados da análise de onze produtos farmacêuticos empregando ETV-ICP OES para 13 dos 16 elementos preconizados pela FB<sup>4</sup>. Valores em  $\mu\text{g g}^{-1}$ .

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
<b>As</b>	< 356	< 356	< 356	< 356	< 356	< 356	< 356	< 356	< 356	< 356	< 356
<b>Cd</b>	< 0,7	< 0,7	< 0,7	< 0,7	< 0,7	< 0,7	< 0,7	< 0,7	< 0,7	< 0,7	< 0,7
<b>Cr</b>	< 2,2	< 2,2	5,5±0,4	< 2,2	< 2,2	< 2,2	< 2,2	< 2,2	< 2,2	< 2,2	< 2,2
<b>Cu</b>	< 0,2	< 0,2	< 0,2	< 0,2	< 0,2	< 0,2	< 0,2	< 0,2	< 0,2	< 0,2	< 0,2
<b>Mn</b>	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1
<b>Mo</b>	< 152	< 152	< 152	< 152	< 152	< 152	< 152	< 152	< 152	< 152	< 152
<b>Ni</b>	< 2,8	< 2,8	< 2,8	< 2,8	< 2,8	< 2,8	< 2,8	< 2,8	< 2,8	< 2,8	< 2,8
<b>Pb</b>	< 8,4	< 8,4	< 8,4	< 8,4	< 8,4	< 8,4	< 8,4	< 8,4	< 8,4	< 8,4	< 8,4
<b>Pd</b>	< 6,4	< 6,4	< 6,4	< 6,4	< 6,4	< 6,4	< 6,4	< 6,4	< 6,4	< 6,4	< 6,4
<b>Pt</b>	< 25	< 25	< 25	< 25	< 25	< 25	< 25	< 25	< 25	< 25	< 25
<b>Rh</b>	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3
<b>Ru</b>	< 0,7	< 0,7	< 0,7	< 0,7	< 0,7	< 0,7	< 0,7	< 0,7	< 0,7	< 0,7	< 0,7
<b>V</b>	< 8,4	< 8,4	< 8,4	< 8,4	< 8,4	< 8,4	< 8,4	< 8,4	< 8,4	< 8,4	< 8,4

### Amostras

**1:** Carbamazepina; **2:** Cloridrato de amitriptilina; **3:** Cloridrato de ciclobenzaprina; **4:** Cloridrato de imipramina; **5:** Cloridrato de nortriptilina; **6:** Cloridrato de prometazina; **7:** Cloridrato de tetraciclina; **8:** Clozapina; **9:** Fumarato de cetotifeno; **10 e 11:** Loratadina.



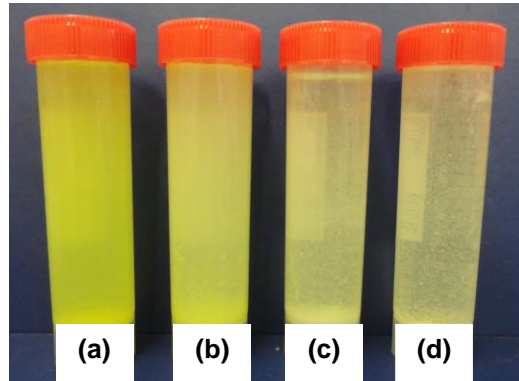
**Figura 25.** Resíduo da amostra cloridrato de prometazina após o ciclo de aquecimento (limpeza a 2400 °C) no vaporizador eletrotérmico.

Apesar de estarem incluídos no grupo de elementos que têm sua determinação preconizada pela FB<sup>4</sup> como parte do controle de qualidade em produtos farmacêuticos, irídio e ósmio não puderam ser determinados empregando o método proposto devido principalmente à baixa sensibilidade apresentada pelos elementos. Mercúrio também não pôde ser determinado, pois sendo um elemento naturalmente muito volátil (ponto de ebulição 356 °C), impediria o uso de um único programa de temperaturas para análise multielementar. Para a determinação de Hg, o programa de vaporização eletrotérmica deve conter uma temperatura de pirólise relativamente baixa (~180 °C) para que o elemento não vaporizasse antes da etapa própria para tal.<sup>105</sup> Entretanto, como foi discutido no item 5.1.2.1, devido a matriz da amostra estudada, é necessário o emprego de temperaturas mais elevadas que 180 °C (~350 °C) para a etapa de pirólise. Também, a presença de CCl<sub>2</sub>F<sub>2</sub> como auxiliar de vaporização, discutida no item 5.1.1, dispensável para o Hg, é necessária para os demais elementos, principalmente para os que possuem elevados pontos de ebulição.

## 5.6 COMPARAÇÃO DOS RESULTADOS

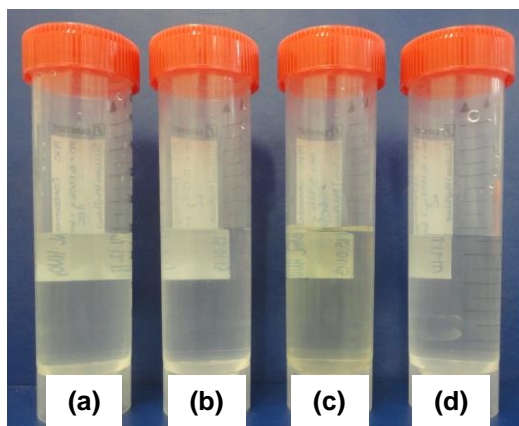
Como não há CRM de matriz semelhante à das amostras, os resultados obtidos pelo método proposto foram comparados com os obtidos pela técnica de ICP-MS. Para tal, as amostras sofreram prévia etapa de decomposição, a fim de transformar a amostra sólida em solução, através de métodos de digestão por via úmida em sistema fechado e combustão iniciada por micro-ondas (como descrito no item 2.2.3). Contudo, como esperado para a maioria das amostras, a decomposição

através de digestão não foi eficiente, devido ao alto teor de carbono residual remanescente. Na Figura 26 estão mostrados alguns exemplos de produtos farmacêuticos cuja decomposição foi ineficiente.



**Figura 26.** Aspecto dos fármacos (a) carbamazepina, (b) cloridrato de prometazina, (c) cloridrato de amitriptilina e (d) ciclobenzaprina após decomposição por via úmida em sistema fechado.

A ineficiência do procedimento de preparo de amostras utilizado não permite uma posterior determinação confiável e, desse modo, a FB<sup>4</sup> recomenda que o método de preparo de amostras a ser usado seja a MIC. Desse modo, foram realizadas as decomposições empregando MIC, como descrito no item 4.5, para os 11 produtos farmacêuticos analisados neste trabalho, resultando em boas decomposições, o que está de acordo com dados da literatura.<sup>11</sup> Na Figura 27 estão mostrados, como ilustração, soluções obtidas após decomposição de amostras empregando MIC.



**Figura 27.** Aspecto das soluções obtidos após decomposição por MIC dos fármacos (a) carbamazepina, (b) cloridrato de prometazina, (c) cloridrato de amitriptilina e (d) ciclobenzaprina.

Desse modo, a determinação dos metais e não metais preconizados pela FB<sup>4</sup> foi realizada apenas nas amostras decompostas por MIC. Na Tabela 14 estão mostrados os resultados obtidos nos 11 produtos, para 14 dos 16 elementos preconizados. Cabe destacar que, os elementos Hg e Os não foram determinados devido à necessidade do uso de técnicas específicas para sua determinação (como geração de vapor),<sup>37</sup> o que comprometeria a condição de um único método para análise multielementar.

As curvas de calibração obtidas por ICP-MS apresentaram boa linearidade para todos os analitos e coeficientes de correlação linear ( $r^2$ ) superiores a 0,9999. O desvio padrão relativo foi inferior a 4,6% ( $n = 3$ ) relativo ao elemento Mo na concentração de  $2,5 \mu\text{g L}^{-1}$ . Na Tabela 15 estão mostrados os parâmetros de mérito RSD, LOD e LOQ para o método de comparação utilizado (MIC e ICP-MS). Cabe ressaltar que os LODs e LOQs foram calculados com base nos critérios  $3\sigma$  e  $10\sigma$ , respectivamente, sendo que  $\sigma$  corresponde ao desvio padrão de 10 medições consecutivas do branco.

Para melhor compreensão das vantagens e desvantagens do método proposto, na Tabela 16 estão mostrados os valores máximos permitidos para os elementos preconizados pela FB<sup>4</sup>, os LOQs obtidos pelo método ETV-ICP OES, bem como os LOQs obtidos através do método comparativo utilizando preparo de amostra por MIC e determinação por ICP-MS. Cabe ressaltar que a determinação de Ni por ETV-ICP OES apresentou o mesmo LOQ que o método comparativo MIC e ICP-MS. Além disso, os LOQs relativos aos elementos Cu e Mn foram aproximadamente 10 vezes melhores para o método proposto frente ao método de comparação.

**Tabela 14.** Resultados da determinação dos 11 produtos farmacêuticos para 14 dos 16 elementos preconizados pela FB<sup>4</sup>. Resultados ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) correspondem às determinações feitas por ICP-MS após decomposição das amostras por MIC.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
<sup>51</sup> V	< 2,1	< 2,1	< 2,1	< 2,1	< 2,1	< 2,1	< 2,1	< 2,1	< 2,1	< 2,1	< 2,1
<sup>52</sup> Cr	< 0,9	1,74±0,05	6,31±0,12	< 0,9	1,74±0,49	1,62±0,41	1,69±0,11	1,10±0,05	1,91±0,53	1,30±0,18	1,93±0,08
<sup>55</sup> Mn	< 1,1	< 1,1	< 1,1	< 1,1	< 1,1	< 1,1	< 1,1	< 1,1	< 1,1	< 1,1	< 1,1
<sup>60</sup> Ni	< 2,8	< 2,8	< 2,8	< 2,8	< 2,8	< 2,8	< 2,8	< 2,8	< 2,8	< 2,8	< 2,8
<sup>63</sup> Cu	< 2,3	< 2,3	< 2,3	< 2,3	< 2,3	< 2,3	< 2,3	< 2,3	< 2,3	< 2,3	< 2,3
<sup>75</sup> As	< 0,9	< 0,9	< 0,9	< 0,9	< 0,9	< 0,9	< 0,9	< 0,9	< 0,9	< 0,9	< 0,9
<sup>98</sup> Mo	< 2,6	< 2,6	< 2,6	< 2,6	< 2,6	< 2,6	< 2,6	< 2,6	< 2,6	< 2,6	< 2,6
<sup>102</sup> Ru	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
<sup>103</sup> Rh	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
<sup>106</sup> Pd	< 0,003	< 0,003	< 0,003	< 0,003	< 0,003	< 0,003	< 0,003	< 0,003	< 0,003	< 0,003	< 0,003
<sup>111</sup> Cd	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,23±0,20	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
<sup>191</sup> Ir	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
<sup>194</sup> Pt	< 0,006	< 0,006	< 0,006	< 0,006	< 0,006	< 0,006	< 0,006	< 0,006	< 0,006	< 0,006	< 0,006
<sup>207</sup> Pb	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5

### Amostras

**1:** Carbamazepina; **2:** Cloridrato de amitriptilina; **3:** Cloridrato de ciclobenzaprina; **4:** Cloridrato de imipramina; **5:** Cloridrato de nortriptilina; **6:** Cloridrato de prometazina; **7:** Cloridrato de tetraciclina; **8:** Clozapina; **9:** Fumarato de cetotifeno; **10 e 11:** Loratadina.

**Tabela 15.** Parâmetros de mérito para a determinação de metais e não metais em produtos farmacêuticos utilizando ICP-MS após decomposição da amostra por MIC.

	<sup>51</sup> V	<sup>52</sup> Cr	<sup>55</sup> Mn	<sup>60</sup> Ni	<sup>63</sup> Cu	<sup>75</sup> As	<sup>98</sup> Mo	<sup>102</sup> Ru	<sup>103</sup> Rh	<sup>106</sup> Pd	<sup>111</sup> Cd	<sup>191</sup> Ir	<sup>194</sup> Pt	<sup>207</sup> Pb
<b>RSD, n=3, %</b>	4,1	3,5	1,7	3,5	2,6	0,7	4,6	1,0	2,5	3,7	1,7	2,0	1,9	2,9
<b>LOD, µg g<sup>-1</sup></b>	1,0	0,4	0,4	1,1	0,9	0,4	0,9	0,001	0,001	0,002	0,005	0,002	0,002	0,2
<b>LOQ, µg g<sup>-1</sup></b>	2,1	0,9	1,1	2,8	2,3	0,9	2,6	0,001	0,001	0,003	0,01	0,003	0,006	0,5

**Tabela 16.** Comparação entre os limites máximos permitidos pela FB<sup>4</sup> e os LOQs obtidos na determinação de metais e não metais em produtos farmacêuticos utilizando o método proposto (ETV-ICP OES) e o método de comparação (MIC-ICP-MS).

	As	Cd	Cr	Cu	Mn	Mo	Ni	Pb	Pd	Pt	Rh	Ru	V
<b>Limites máximos, FB<sup>4</sup>, µg g<sup>-1</sup></b>	1,5	0,5	25	250	250	25	25	1,0	10	10	Σ<10	Σ<10	25
<b>ETV-ICP OES, LOQ, µg g<sup>-1</sup></b>	356	0,7	2,2	0,2	0,1	152	2,8	8,4	6,4	25	0,3	0,7	8,4
<b>MIC-ICP-MS, LOQ, µg g<sup>-1</sup></b>	0,9	0,01	0,9	2,3	1,1	2,6	2,8	0,5	0,003	0,006	0,001	0,001	2,1

Foram encontradas algumas dificuldades na aplicação da MIC seguida da determinação por ICP-MS. A amostra cloridrato de prometazina, como discutido no item 5.6, apresentou formação de resíduo após o programa de aquecimento da vaporização eletrotérmica, possivelmente devido à presença de sílica no excipiente do produto. Ao utilizar a MIC como método de decomposição para essa mesma amostra, foi observada novamente a formação de resíduo, como está mostrado na Figura 28.

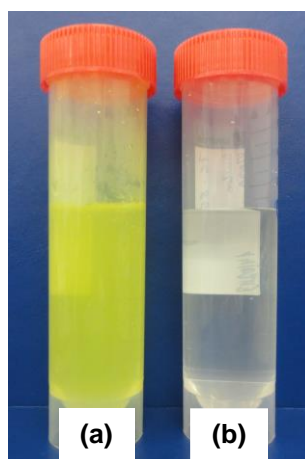


**Figura 28.** Resíduo da amostra cloridrato de prometazina após decomposição por MIC.

Apesar de não terem sido encontradas altas concentrações dos elementos de interesse nesta amostra (com exceção do Cr), não se pode garantir de que não haja presença de impurezas no resíduo encontrado. Porém, não foi feita avaliação para confirmar se há ou não elementos de interesse presentes neste resíduo.

Outra dificuldade encontrada foi a massa de amostra utilizada na MIC. Na combustão das amostras foram utilizadas massas próximas a 125 mg, a fim de alcançar melhores LODs, como está descrito no item 4.5. Entretanto, para o cloridrato de imipramina, foi observada que a decomposição não foi completa ao utilizar esta quantidade. Portanto, a massa da amostra foi reduzida para 80 mg, onde foi observada completa decomposição da amostra por MIC. Porém, com prejuízo no LOQ. Na Figura 29 são comparadas as soluções resultantes da decomposição utilizando as duas massas de amostra.





**Figura 29.** Decomposição de cloridrato de imipramina através de MIC com (a) 125 mg e (b) 80 mg de massa de amostra.

## 6 CONCLUSÕES

---

Conforme os objetivos propostos neste trabalho, a determinação de metais e não metais presentes sob a forma de impurezas inorgânicas em produtos farmacêuticos foi avaliada através da utilização de dois procedimentos de decomposição de amostra – digestão por via úmida e MIC – seguida de determinação por ICP-MS, além da ETV-ICP OES, método proposto neste estudo.

A determinação de As, Cd, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru e V por ETV-ICP OES foi adequada, tendo-se em vista a dificuldade apresentada principalmente pelos fármacos tricíclicos ao utilizar os métodos convencionais, como a via úmida, na etapa de decomposição. Os elementos Ir e Os não puderam ser determinados devido à baixa sensibilidade na técnica ETV-ICP OES. Ósmio é um elemento de difícil determinação mesmo por NEB-ICP OES, sendo para tal recomendado o uso de procedimentos especiais, como a geração de vapor de tetróxido de ósmio.<sup>37</sup> Mercúrio também não pôde ser incluído no método proposto, pois suas características térmicas impedem a utilização de um único programa de temperaturas no vaporizador eletrotérmico para os elementos e amostras analisados neste estudo.

O método proposto pode ser considerado simples, pois dispensa a etapa de preparo da amostra, onde ocorre a maioria dos erros sistemáticos de uma análise, como contaminação e perda de elementos. O tempo de análise requerido pelo método é relativamente curto (tempo do programa de aquecimento e arrefecimento do forno é de cerca de 3 minutos) o que também é uma vantagem frente a métodos que utilizam a etapa de preparo de amostras.

Os parâmetros de mérito do método proposto, como precisão e exatidão, podem ser considerados bons tratando-se de uma técnica de análise direta de sólidos. O desvio padrão relativo foi inferior a 10% ( $n = 3$ ) e o teste de recuperação realizado para Cr resultou em 91% de recuperação. Cabe ressaltar que o Cr foi o único elemento cuja concentração presente em uma das amostras pôde ser quantificada. Contudo, a concentração encontrada para cloridrato de ciclobenzaprina (5,5 e 6,3  $\mu\text{g g}^{-1}$ , obtidos por ETV-ICP OES e MIC seguida de determinação por ICP-

MS, respectivamente) está abaixo do limite máximo preconizado pela FB<sup>4</sup>, de 25 µg g<sup>-1</sup>.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

1. World Health Organization, WHO, <http://www.who.int/en>, acessado em 07/10/2012.
2. Jiang, S.J., Lin, M.L., Determination of trace Cr, Mo, Pd, Cd, Pt and Pb in drug tablets by ultrasonic slurry sampling electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.* 9 (2011) 1813-1818.
3. BRASIL, Ministério da Saúde, Secretaria de Políticas de Saúde, Departamento de atenção básica, Política nacional de medicamentos, 2001.
4. BRASIL, Farmacopeia Brasileira, 5ª Ed, volume 1 e 2, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2010.
5. United States Pharmacopeial Convention, USP, United States Pharmacopoeia 35 – National Formulary 30, EUA, 2012.
6. European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare, EDQM, European Pharmacopoeia 7<sup>th</sup> ed., França, 2010.
7. British Pharmacopoeia Commission medicines and healthcare products regulatory agency, MHRA, British Pharmacopoeia, Inglaterra, 2012.
8. Wang, T., Wu, J., Hartman, R., Jia, X., Egan, R.S., A multi-element ICP-MS survey method as an alternative to the heavy metals limit test for pharmaceutical materials, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 23 (2000) 867–890.
9. Kelkó-Lévai, A., Varga, I., Zih-Perényi, K., Lásztity, A., Determination of trace elements in pharmaceutical substances by graphite furnace atomic absorption spectrometry and total reflection X-ray fluorescence after flow injection ion-exchange preconcentration, *Spectrochim. Acta B* 54 (1999) 827-833.
10. Pascalicchio, A., Contaminação por metais pesados: Saúde pública e medicina ortomolecular, Ed. Annablume, São Paulo, Brasil, 2002.
11. Barin, J.S., Desenvolvimento de procedimentos alternativos de preparo e de determinação de metais pesados em fármacos tricíclicos, Tese de doutorado, PPGQ, Universidade Federal de Santa Maria, 2007. 111 p.

12. Forlenza, O.V., Antidepressivos tricíclicos no tratamento farmacológico dos transtornos depressivos em idosos, *Rev. Psiquiatr. Clin.* 26 (1999) 172-178.
13. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, ANVISA, <http://portal.anvisa.gov.br>, acessado em 07/10/2012.
14. Smith, R. J., Webb, M. L., *Analysis of drug impurities*, Blackwell Publishing, UK, 2007.
15. Food and Drug Administration, FDA, *Guidance for industry - Q3A Impurities in new drug substances*, 2008. 14 p.
16. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, ANVISA, *Regulamento técnico para registro de insumos farmacêuticos ativos*, 2008.
17. European Medicines Agency, EMEA, *Guideline on the specification limits for residues of metal catalysts or metal reagents*, 2008. 34 p.
18. Hawkes, S.J., What is "Heavy Metal"? *J. Chem. Educ.* 74 (1997) 1374.
19. Lewen, N., The use of atomic spectroscopy in the pharmaceutical industry for the determination of trace elements in pharmaceuticals, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 55 (2011) 653-661.
20. Lewen, N., Mathew, S., Schenkenberger, M., Raglione, T., A rapid ICP-MS screen for heavy metals in pharmaceutical compounds, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 35 (2004) 739-752.
21. Rao, R.N., Talluri, M.V.N.K., An overview of recent applications of inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) in determination of inorganic impurities in drugs and pharmaceuticals, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 43 (2007) 1-13.
22. Huang, J., Hu, X., Zhang, J., Li, K., Yan, Y., Xu, X., The application of inductively coupled plasma mass spectrometry in pharmaceutical and biomedical analysis, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 40 (2006) 227-234.
23. Rao, R.N., Nagaraju, V., An overview of the recent trends in development of HPLC methods for determination of impurities in drugs, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 33 (2003) 335-377.
24. Antosz, F.J., Xiang, Y., Diaz, A.R., Jensen, A.J., The use of total reflectance X-ray fluorescence (TXRF) for the determination of metals in the pharmaceutical industry, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 62 (2012) 17-22.

25. Nam, K.H., Isensee, R., Infantino, G., Putyera, K., Wang, W., Microwave-induced combustion for ICP-MS: A generic approach to trace elemental analyses of pharmaceutical products, *Spectroscopy* 26-4 (2011) 36-41.
26. Cassap, M., Using ICP-MS and ICP-OES to measure trace elemental impurities in pharmaceuticals in compliance with proposed pharmacopeia chapters, *Spectroscopy* 26-3 (2011) 26-30.
27. Harris, E.S.J., Cao, S., Littlefield, B.A., Craycroft, J.A., Scholten, R., Kaptchuk, T., Fu, Y., Wang, W., Liu, Y., Chen, H., Zhao, Z., Clardy, J., Woolf, A.D., Eisenberg, D.M., Heavy metal and pesticide content in commonly prescribed individual raw Chinese Herbal Medicines, *Sci. Total Environ.* 409 (2011) 4297-4305.
28. Ang, H.H., Lee, K.L., Contamination of mercury in tongkat Ali hitam herbal preparations, *Food Chem. Toxicol.* 44 (2006) 1245-1250.
29. Orisakwe, O.E., Nduka, J.K., Lead and cadmium levels of commonly administered pediatric syrups in Nigeria: A public health concern?, *Sci. Total Environ.* 407 (2009) 5993-5996.
30. Wu, J., Tan, Y., Wang, Y., Xu, R., Toxic metal contamination in *Artemisia annua* L. herbal preparations from different commercial sources in China, *J. Nat. Med.* 65 (2011) 656-661.
31. Dressler, V.L., Antes, F.G., Mesko, M.F., Barin, J.S., Moreira, C.M., Flores, E.M.M., Development of multi-elemental method for quality control of parenteral component solutions using ICP-MS, *Microchem. J.* 98 (2011) 144-149.
32. Van Hoecke, K., Catry, C., Vanhaecke, F., Optimization of sample preparation and a quadrupole ICP-MS measurement protocol for the determination of elemental impurities in pharmaceutical substances in compliance with USP guidelines, *J. Anal. At. Spectrom.* 27 (2012) 1909-1919.
33. Nita, S., Rughinis, R., Rusu, N., Balas, R., ICP-MS computer controlled determination of some trace elements in pharmaceutical containers and substances, *Rev. Chim.* 60-4 (2009) 382-386.
34. Cassella, R.J., Paula, C.E.R., Caldas, L.F.S., Brum, D.M., Development of an ultrasonic slurry sampling method for the determination of Cu and Mn in antibiotic tablets by electrothermal atomic absorption spectrometry, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 66 (2012) 197-203.

35. Kauffman, J.F., Westenberger, B.J., Robertson, J.D., Guthrie, J., Jacobs, A., Cummins, S.K., Lead in pharmaceutical products and dietary supplements, *Regul. Toxiol. Pharmacol.* 48 (2007) 128-134.
36. Flores, E.M.M., Bolzan, R.C., Rodrigues, L.F., Mattos, J.C.P., Dressler, V.L., Chromium determination in pharmaceutical grade barium sulfate by solid sampling electrothermal atomic absorption spectrometry with Zeeman-effect background correction, *Talanta* 74 (2007) 119-124.
37. Houk, R.S., Jarvis, K.E., Gray, A.L., Handbook of inductively coupled plasma mass spectrometry, 1<sup>st</sup> ed., Blackie & Son Ltd, EUA, 1992. 380p.
38. Ebdon, L., Evans, E.H., Fisher, A., Hill, S.J., An introduction to analytical atomic spectrometry, John Wiley & Sons, Inglaterra, 1998.
39. Krug, F.J., Métodos de preparo de amostras; fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar, 1<sup>a</sup> Ed., Piracicaba, 2008. 340 p.
40. Flores, E.M.M., Barin, J.S., Mesko, M.F., Knapp, G., Sample preparation techniques based on combustion reactions in closed vessels – A brief overview and recent applications, *Spectrochim. Acta B* 62 (2007) 1051-1064.
41. Moreno, R.A., Moreno, D.H. e Soares, M.B.M., Psicofarmacologia de antidepressivos, *Rev. Bras. Psiquiatr.* 21 (1999) 24-40.
42. Kurfürst, U., Solid sample analysis; direct and slurry sampling using GF-AAS and ETV-ICP, Springer, Alemanha, 1998. 419 p.
43. Hu, B., Li, S., Xiang, G., He, M., Jiang, Z., Recent progress in electrothermal vaporization - inductively coupled plasma atomic emission spectrometry and inductively coupled plasma mass spectrometry, *Appl. Spectrosc. Rev.* 42 (2007) 203-234.
44. Giné, M.F., Espectrometria de emissão atômica, 1<sup>a</sup> Ed., Piracicaba, CPG-CENA-USP, 1998. 143p.
45. Greenfield, S., Jones, I., Berry, C.T., High-pressure plasmas as spectroscopic emission sources, *Analyst* 89 (1964) 713-720.
46. Wendt, R.H., Fassel, V.A., Induction-coupled plasma spectrometric excitation source, *Anal. Chem.* 37 (1965) 920-922.
47. Truitt, D., Robinson, J.W., Spectroscopic studies of radio-frequency induced plasma; Part I Development and characterization of equipment, *Anal. Chim. Acta* 49 (1970) 401-415.

48. Britske, M.E., Borisov, V.M., Sukach, Y.S., Electrodeless high-frequency discharge with axial aerosol flow as a light source for spectral analysis, *Ind. Lab.* 33 (1967) 301-&.
49. Hoare, C., Mostyn, R.A., Emission spectrometry of solutions and powders with a high-frequency plasma source, *Anal. Chem.* 39 (1967) 1153-1155.
50. Fassel, V.A, Dickinson, G.W., Continuous ultrasonic nebulization and spectrographic analysis of molten metals, *Anal. Chem.* 40 (1968) 247-249.
51. Dickinson, G.W., Fassel, V.A., Emission spectrometric detection of the elements at the nanogram per milliliter level using induction coupled plasma excitation, *Anal. Chem.* 41 (1969) 1021-1024.
52. Barnett, W.B., Fassel, V.A., Kniseley, R.N., An experimental study of internal standardization in analytical emission spectroscopy, *Spectrochim. Acta B* 25 (1969) 139-161.
53. Boumans, P.W.J.M, de Boer, F.J., Studies of flame and plasma torch emission for simultaneous multi element analysis, *Spectrochim. Acta B* 27 (1972) 391-414.
54. Dean, J.R., Practical inductively coupled plasma spectroscopy, John Wiley & Sons, Inglaterra, 2005. 184 p.
55. Matusiewicz, H., Thermal vaporization for inductively coupled plasma optical emission spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.* 1 (1986) 171-184.
56. Ren, J.M., Direct solid sample analysis by electrothermal vaporization inductively coupled plasma atomic emission spectrometry and mass spectrometry, Tese de doutorado, McGill University, Montreal-Canadá, 1994.
57. L'vov, B.V., The analytical use of atomic absorption spectra, *Spectrochim. Acta* 17 (1961) 761-770.
58. Massmann, H., Atomic absorption and atomic fluorescence in graphite cell, *Appl. Spectrosc.* 21 (1967). 381-&.
59. Friese, K.C., Wätjen, U, Grobecker, K.H., Analyte transport efficiencies in electrothermal vaporization for inductively coupled plasma mass spectrometry, *Fresenius J. Anal. Chem.* 370 (2001) 843–849.
60. Lajunen, L.H.J., Perämäki, P., Spectrochemical analysis by atomic absorption and emission, 2<sup>nd</sup> ed., The Royal Society of Chemistry, Inglaterra, 2004. 347 p.



61. Park, C.J., Van Loon, J.C., Arrowsmith, P., French, J.B., Design and optimization of an electrothermal vaporizer for use in plasma source-mass spectrometry, *Can. J. Spectrosc.* 32 (1987) 29-36.
62. Kántor, T., Interpreting some analytical characteristics of thermal dispersion methods used for sample introduction in atomic spectrometry, *Spectrochim. Acta B* 43 (1988) 1299-1320.
63. Moens, L., Verrept, P., Boonen, S., Vanhaecke, F., Dams, R., Solid sampling electrothermal vaporization for sample introduction in inductively coupled plasma atomic emission spectrometry and inductively coupled plasma mass spectrometry, *Spectrochim. Acta B* 50 (1995) 463-475.
64. Kántor, T., Sample introduction with graphite furnace electrothermal vaporization into an inductively coupled plasma: effects of streaming conditions and gaseous phase additives, *Spectrochim. Acta B* 55 (2000) 431-448.
65. Bernhardt, J., Buchkamp, T., Hermann, G., Lasnitschka, G., Sample transport efficiency with electrothermal vaporization and electrostatic deposition technique in multielement solid sample analysis of plant and cereal materials, *Spectrochim. Acta B* 55 (2000) 449-460.
66. Boonen, S., Verrept, P., Moens, L. J., Dams, R.F.J., Use of the simplified generalized standard additions method for calibration in solid sampling electrothermal vaporization inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.* 8 (1993) 711-714.
67. Duester, L., Rakcheev, D., Bayer, J.V., Abraham, P.M., Dabrunz, A., Schulz, R., Schaumann, G.E., A robust, particle size independent, method for quantifying metal(loid oxide) nanoparticles and their agglomerates in complex environmental matrices by electrothermal vaporisation coupled to ICP-MS, *J. Anal. At. Spectrom.* 26 (2011) 450-455.
68. Masson, P., Direct phosphorus determination on solid plant samples by electrothermal vaporization-inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.* 26 (2011) 1290-1293.
69. Beauchemin, D., Asfaw, A., Wibetoe, G., Solid sampling electrothermal vaporization inductively coupled plasma optical emission spectrometry for discrimination of automotive paint samples in forensic analysis, *J. Anal. At. Spectrom.* 27 (2012) 1928-1934.

70. Detcheva, A., Hassler, J., Georgieva, R., Feasibility of ETV-ICP OES for characterization of archaeological glasses, *Analyt. Lett.* 45 (2012) 603-612.
71. Hassler, J., Barth, P., Richter, S., Matschat, R., Determination of trace elements in high-purity copper by ETV-ICP OES using halocarbons as chemical modifiers, *J. Anal. At. Spectrom.* 26 (2011) 2404-2418.
72. Barth, P., Hassler, J., Kudrik, I., Krivan, V., Determination of trace impurities in boron nitride by graphite furnace atomic absorption spectrometry and electrothermal vaporization inductively coupled plasma optical emission spectrometry using solid sampling, *Spectrochim. Acta B* 62 (2007) 924–932.
73. Curtius, A.J., Dias, L.F., Saint’Pierre, T.D., Maia, S.M., da Silva, M.A.M., Frescura, V.L.A., Welz, B., Determination of arsenic, lead, selenium and tin in sediments by slurry sampling electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry using Ru as permanent modifier and NaCl as a carrier, *Spectrochim. Acta B*. 57 (2002) 2003-2015.
74. Hu, B., Zhang, Y., Jiang, Z., Determination of refractory elements in atmospheric particulates using slurry sampling electrothermal vaporization inductively coupled plasma optical emission spectrometry and inductively coupled plasma mass spectrometry with polyvinylidene fluoride as chemical modifier, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 20 (2006) 2091-2098.
75. Rodríguez, P.F., Marchante-Gayón, J.M., Sanz-Medel, A., Elemental analysis of silicon based by ultrasonic slurry sampling electrothermal vaporization ICP-MS, *Talanta* 68 (2006) 869-875.
76. Jiang, S.J, Huang, S.Y., 8-Hydroxyquinoline-5-sulfonic acid as the modifier for the determination of trace elements in cereals by slurry sampling electrothermal vaporization ICP-MS, *Anal. Methods* 2 (2010) 1310-1315.
77. Detcheva, A., Barth, P., Hassler, J., Calibration possibilities and modifier use in ETV ICP OES determination of trace and minor elements in plant materials, *Anal. Bioanal. Chem.* 394 (2009) 1485-1495.
78. Resano, M., Aramendí, M., Devos, W., Vanhaecke, F., Direct multi-element analysis of a fluorocarbon polymer via solid sampling-electrothermal vaporization-inductively coupled plasma mass spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.* 21 (2006) 891-898.
79. Sugisawa, K., Kaneko, T., Sago, T., Sato, T., Rapid quantitative analysis of magnesium stearate in pharmaceutical powders and solid dosage forms by

- atomic absorption: method development and application in product manufacturing, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 49 (2009) 858-861.
80. Resano, M., Garcia-Ruiz, E., Crespo, C., Vanhaecke, F., Belarra, M.A., Solid sampling-graphite furnace atomic absorption spectrometry for palladium determination at trace and ultratrace levels, *J. Anal. At. Spectrom.* 18 (2003) 1477-1484.
81. Wang, T., Walden, S., Egan, R., Development and validation of a general non-digestive method for the determination of palladium in bulk pharmaceutical chemicals and their synthetic intermediates by graphite furnace atomic absorption spectroscopy, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 15 (1997) 593-599.
82. Wang, T., Ge, Z., Wu, J., Li, B., Liang, A., Determination of tungsten in bulk drug substance and intermediates by ICP-AES and ICP-MS, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 19 (1999) 937-943.
83. Tu, Q., Wang, T., Antonucci, V., High-efficiency sample preparation with dimethylformamide for multi-element determination in pharmaceutical materials by ICP-AES, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 52 (2010) 311-315.
84. Zachariadis, G.A., Michos, C.E., Development of a slurry introduction method for multi-element analysis of antibiotics by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry using various types of spray chamber and nebulizer configurations, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 43 (2007) 951-958.
85. Krejcova, A., Ludvikova, I., Cernohorsky, T., Pouzar, W., Elemental analysis of nutritional preparations by inductively coupled plasma mass and optical emission spectrometry, *Food Chem.* 132 (2012) 588-596.
86. Görög, S., The importance and the challenges of impurity profiling in modern pharmaceutical analysis, *Trac.-Trends.Anal. Chem.* 25 (2006) 755-757.
87. Zachariadis, G., Sahanidou, E., Analytical performance of a fast multi-element method for titanium and trace elements determination in cosmetics and pharmaceuticals by ICP-AES, *Cent. Eur. J. Chem* 9 (2011) 213-217.
88. Majidi, V., Smith, R.G., Xu, N., McMahon, M.W., Bossio, R., Review: Electrothermal vaporization, part 2: surface chemistry, *Spectrochim. Acta B* 55 (2000) 1787-1822.

89. Matousek, J.P., Satumba, R.T., Halogen assisted electrothermal volatilization for sample introduction into an inductively coupled plasma, *Spectrochim. Acta B* 44 (1989) 1005-1020.
90. Resano, M., Vanhaecke, F., Loos-Vollebregt, M.T.C., Electrothermal vaporization for sample introduction in atomic absorption, atomic emission and plasma mass spectrometry – a critical review with focus on solid sampling and slurry analysis, *J. Anal. At. Spectrom.* 23 (2008) 1450-1475.
91. Krivan, V., Schäffer, U., Multielement analysis of graphite and silicon carbide by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry using solid sampling and electrothermal vaporization, *Anal. chem.* 71 (1999) 849-854.
92. Hu, B., Jiang, Z., Qin, Y., Zeng, Y., Fluorination with polytetrafluoroethylene slurry in electrothermal vaporization-inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry, *Anal. Chim. Acta* 319 (1996) 255-264.
93. Ren, J.M., Salin, E.D., Direct solid sample analysis using furnace vaporization with Freon modification and inductively coupled plasma atomic emission spectrometry - I. Vaporization of oxides and carbides, *Spectrochim. Acta B* 49 (1994) 555-566.
94. Kántor, T., Maestre, S., Loos-Vollebregt, M.T.C., Studies on transport phenomena in electrothermal vaporization sample introduction applied to inductively coupled plasma for optical emission and mass spectrometry, *Spectrochim. Acta B* 60 (2005) 1323-1333.
95. Masson, P., Direct determination of major elements in solid plant materials by electrothermal vaporization inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, *Talanta* 71 (2007) 1399–1404.
96. Broekaert, J.A.C., Amberger, M.A., Direct multielement determination of trace elements in boron carbide powders by slurry sampling ETV-ICP-OES, *J. Anal. At. Spectrom.* 25 (2010) 1308-1315.
97. Belarra, M.A., Direct solid sampling with electrothermal vaporization/atomization: what for and how?, *Trac.-Trends. Anal. Chem.* 21 (2002) 828-839.
98. Lu, H.H., Jiang, S.J., Organic acids as the modifier to determine Zn, Cd, Tl and Pb in soil by slurry sampling electrothermal vaporization inductively coupled plasma-mass spectrometry, *Anal. Chim. Acta* 429 (2001) 247-255.

99. Tsalev, D.L., Slaveykova, V.I., Chemical modification in electrothermal atomic absorption spectrometry. Organization and classification of data by multivariate methods, *J. Anal. At. Spectrom.* 7 (1992) 147-153.
100. Pinto, F.G., Lepri, F.G., Saint’Pierre, T.D., da Silva, J.B.B., Costa, L.M., Curtius, A.J., Direct determination of Dy, Sm, Eu, Tm, and Yb in geological samples by slurry electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry, *Anal. Lett.* 43 (2010) 949-959.
101. Hughes, D.M., Chakrabarti, C.I., Goltz, D.M., Grégoire, D.C., Sturgeon, R.E., Byrne, J.P., Seawater as a multi-component physical carrier for ETV-ICP-MS, *Spectrochim. Acta B* 50 (1995) 425-440.
102. Machackova, L., Zemberyova, M., The selection of a chemical modifier for vanadium determination in various types of natural waters by electrothermal atomic absorption spectrometry, *Int. J. Environ. An. Ch.* 92 (2012) 405-416.
103. Liao, H.C., Jiang, S.J., EDTA as the modifier for the determination of Cd, Hg and Pb in fish by slurry sampling electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.* 14 (1999) 1583-1588.
104. Sun, H.L., Shiue, C.C., Tsai, S.J.J., Ascorbic acid as effective chemical modifier for Co determination in nickel-based alloys by electrothermal atomic absorption spectrometry with longitudinal Zeeman background correction, *J. Anal. At. Spectrom.* 16 (2001) 838-841.
105. Li, P.C., Jiang, S.J., Electrothermal vaporization inductively coupled plasma - mass spectrometry for the determination of Cr, Cu, Cd, Hg and Pb in rice flour, *Anal. Chim. Acta* 495 (2003) 143-150.
106. Ho, C.Y., Jiang, S.J., Electrothermal vaporization inductively coupled plasma – mass spectrometry for determination of vanadium and chromium in soils, *Spectrochim. Acta B* 58 (2003) 63-70.
107. Ho, C.Y., Jiang, S.J., Determination of Cr, Zn, Cd and Pb in milk powder by slurry sampling electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.* 17 (2002) 688-692.
108. Hsiao, P.K., Jiang, S.J., Sahayamb, A.C., Determination of trace elements in silicon powder using slurry sampling electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.* 26 (2011) 586-592.

109. Kalantzis, V.P., Rousis, N.I., Pasiás, I.N., Thomaidis, N.S., Piperaki, E.A., Evaluation of different modifiers for the determination of arsenic in leachate samples from sanitary landfills by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry, *Anal. Lett.* 45 (2012) 592-602.
110. Dogan, C.E., Ortner, H.M., Determination of lead in spiked seawater samples by electrothermal atomic absorption spectrometry using chemical modifiers, *Instrum. Sci. Technol.* 36 (2008) 267-278.
111. Husakova, L. Sramkova, J., Cernohorsky, T., Barinova, M., Direct determination of Cd and Pb in human urine by GFAAS with deuterium-lamp background correction using different chemical modifiers, *Chem. Anal.* 52 (2007) 579-596.
112. Volynskii, A.B., Chemical modifiers in modern electrothermal atomic absorption spectrometry, *J. Anal. Chem.* 58 (2003) 905-921.
113. Volynskii, A.B., Ignatova, S.N., Determination of Cd, Co, Mn, Cu, Ni and Cr in concentrated solutions of calcium chloride by electrothermal atomic absorption spectrometry, *J. Anal. Chem.* 56 (2001) 1015-1019.
114. Ediger, R.D., Beres, S.A., The role of chemical modifiers in analyte transport loss interferences with electrothermal vaporization ICP-mass spectrometry, *Spectrochim. Acta B* 47 (1992) 907-922.