



**UFSM**

**Dissertação de Mestrado**

**AVALIAÇÃO DE MÉTODOS DE PREPARO DE AMOSTRAS PARA A  
DETERMINAÇÃO DE HALOGÊNIO EM PLANTAS MEDICINAIS**

---

**Mariele Samuel do Nascimento**

**PPGQ**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2015**

# AVALIAÇÃO DE MÉTODOS DE PREPARO DE AMOSTRAS PARA A DETERMINAÇÃO DE HALOGÊNIO EM PLANTAS MEDICINAIS

---

por

**Mariele Samuel do Nascimento**

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

2015

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

**AVALIAÇÃO DE MÉTODOS DE PREPARO DE AMOSTRAS PARA A  
DETERMINAÇÃO DE HALOGÊNIO EM PLANTAS MEDICINAIS**

Elaborada por

**Mariele Samuel do Nascimento**

Como requisito parcial para a obtenção do grau de

**Mestre em Química**

**COMISSÃO EXAMINADORA:**

---

Prof. Dr. Érico Marlon de Moraes Flores – Orientador (UFSM-RS)

---

Prof. Dr.<sup>a</sup> Juliana Severo Fagundes Pereira (UFRGS-RS)

---

Prof. Dr. Rodrigo Cordeiro Bolzan (UFSM-RS)

Santa Maria, 21 de Julho de 2015

## Declaração

A pesquisa descrita nesta Dissertação foi totalmente elaborada por mim e as informações retiradas da literatura estão devidamente referenciadas. Esta dissertação (ou partes dela) não foi apresentada anteriormente para obtenção de qualquer outro grau.

---

Mariele Samuel do Nascimento

Dedico este trabalho aos  
meus pais, Teolina e Alceu e a minha irmã  
Queldian pelo carinho e apoio incondicional

“Daqui a cinco anos você estará bem  
próximo de ser a mesma pessoa que é hoje,  
exceto por duas coisas: os livros que ler e as  
pessoas de quem se aproximar”

Charles Jones

## AGRADECIMENTOS

---

Ao **Programa de Pós-Graduação em Química** da Universidade Federal de Santa Maria e ao **Laboratório de Análises Químicas Industriais e Ambientais (LAQIA)**, pela oportunidade de execução deste trabalho.

Ao **Prof. Dr. Érico Marlon de Moraes Flores**, pela orientação neste trabalho, pelo incentivo, pela amizade e pelo exemplo de dedicação profissional.

A **Prof. Dra. Paola de Azevedo Mello**, pela co-orientação, pela amizade, pelo exemplo profissional e pelas contribuições feitas durante o desenvolvimento deste trabalho.

A **Prof. Dra. Juliana Severo Fagundes Pereira** e ao **Prof. Dr. Rodrigo Cordeiro Bolzan**, pela participação da banca de defesa, pelas valiosas sugestões que contribuíram para o aperfeiçoamento deste trabalho.

Aos **Profs. Drs. Fábio Andrei Duarte, Cezar Augusto Bizzi e Valderi Luiz Dressler** pelas contribuições durante o desenvolvimento deste trabalho, bem como a amizade, convívio.

Ao **Dr. Matheus Augusto Nunes** pelas contribuições, pela disposição em sempre ajudar, assim como pela amizade e convívio.

A **Msc. Sandra Meinen da Cruz**, pela amizade, pelos ensinamentos, auxílio prestado e pela contribuição direta durante o desenvolvimento deste trabalho.

A **Ana Luiza Mendes** pela ajuda diária no desenvolvimento deste trabalho, assim como pela amizade e convívio.

Aos colegas e funcionários do **LAQIA/CEPETRO**, pelo convívio, amizade e colaboração. Em especial ao **Gabriel Toneto Druzian, Letícia Severo Fagundes Pereira, Sindy Raquel Krzyzaniak, Morgana Doneda e Rafael Francisco dos Santos** pela amizade e colaboração prestada na execução deste trabalho.

Aos funcionários da secretaria do PPGQ, **Ademir e Valéria**, pelo auxílio durante a execução deste trabalho.

A minha mãe **Teolina Colling**, ao meu pai **Alceu Samuel do Nascimento** e a minha irmã **Queldian Samuel do Nascimento**, pelo amor incondicional, pelo incentivo, e por acreditarem em mim, sempre.

## SUMÁRIO

---

<b>LISTA DE FIGURAS .....</b>	<b>X</b>
<b>LISTA DE TABELAS .....</b>	<b>XII</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS .....</b>	<b>XIV</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>XV</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>XVI</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>3</b>
2.1 Plantas: generalidades e composição química .....	4
2.2 Métodos de preparo de amostras para plantas .....	7
2.2.1 Decomposição por via úmida .....	10
2.2.2 Métodos de combustão .....	10
2.2.3 Métodos de combustão em sistemas abertos .....	11
2.2.3.1 Combustão por via seca .....	11
2.2.4 Métodos de combustão em sistemas fechados.....	12
2.2.4.1 Bomba de combustão.....	12
2.2.4.2 Combustão com frasco de Schöniger.....	13
2.2.4.3 Combustão iniciada por micro-ondas .....	15
2.2.5 Extração em meio alcalino .....	17
2.2.6 Piroidrólise.....	18
2.3 Técnicas analíticas utilizadas para determinação de halogênios .....	20
2.3.1 Titulometria.....	20
2.3.2 Potenciometria .....	22
2.3.3 Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado e espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado.....	23
2.3.4 Cromatografia de íons .....	24

2.3.5 Análise por ativação neutrônica .....	25
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>27</b>
3.1 Instrumentação.....	28
3.2 Reagentes .....	32
3.3 Amostras e CRM .....	33
3.3.1 Caracterização das amostras de plantas medicinais.....	34
3.3.1.1 Avaliação da concentração de halogênios em plantas após MIC .....	34
3.3.1.2 Determinação do teor de cinzas totais .....	35
3.3.1.3 Determinação do teor de cinzas insolúveis .....	35
3.4 Métodos de preparo de amostras avaliados para a posterior determinação de halogênios em amostras de plantas medicinais .....	36
3.4.1 Decomposição por MAWD .....	36
3.4.2 Extração alcalina assistida por radiação micro-ondas.....	37
3.4.3 Extração alcalina em sistema aberto com aquecimento convencional.....	38
3.5 Avaliação da recuperação de Br com o uso de KBr e CH <sub>3</sub> Br .....	39
<b>4. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS .....</b>	<b>42</b>
4.1 Determinação de halogênios após combustão iniciada por micro-ondas.....	43
4.2 Métodos de preparo de amostras avaliados para posterior determinação de halogênios em amostras de plantas medicinais .....	48
4.2.1 Decomposição por via úmida assistida por micro-ondas.....	48
4.2.2.1 Efeito da acidez residual e do teor de carbono residual na MAWD.....	49
4.2.2.2 Determinação de halogênios após decomposição por via úmida.....	51
4.2.3 Extração alcalina assistida por radiação micro-ondas.....	55
4.2.3.1 Determinação do teor de carbono .....	62
4.2.4 Extração alcalina em sistema aberto com aquecimento convencional .....	64
4.3 Avaliação da recuperação de Br com o uso de KBr e CH <sub>3</sub> Br .....	68
4.4 Limites de detecção para F, Cl, Br e I .....	70



<b>5. CONCLUSÕES .....</b>	<b>74</b>
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>76</b>
<b>ANEXO.....</b>	<b>86</b>
7. Decomposição por MAWD para posterior determinação de metais .....	86
7.1 Determinação de metais após decomposição assistida por micro-ondas .....	87

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b>	Frasco utilizado para a decomposição de amostras por MIC.....	16
<b>Figura 2.</b>	Sistema de piroidrólise (Adaptado de Antes, 2012 <sup>78</sup> ) .....	19
<b>Figura 3.</b>	A) Forno de micro-ondas comercial <i>Multiwave 3000</i> <sup>®</sup> . B) rotor equipado com 8 frascos de quartzo utilizado para a decomposição e extração das amostras. <sup>114</sup> .....	29
<b>Figura 4.</b>	Esquema geral dos diferentes parâmetros para os métodos de preparo avaliados.....	41
<b>Figura 5.</b>	Solução decomposta após MIC utilizando 500 mg de amostra de gengibre e NH <sub>4</sub> OH 100 mmol L <sup>-1</sup> como solução absorvedora.....	45
<b>Figura 6.</b>	Cromatograma obtido após a decomposição por MIC para a amostra de gengibre sobreposto a uma solução de referência (250 µg L <sup>-1</sup> ). Condições: 500 mg de amostra e NH <sub>4</sub> OH 100 mmol L <sup>-1</sup> .....	47
<b>Figura 7.</b>	Teor de carbono residual após decomposição por MAWD empregando 4,8 mL de HNO <sub>3</sub> e 1,2 mL de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> : (□) camomila (■) gengibre (■) quebra-pedra. Acidez residual após decomposição por MAWD: (□) camomila, (◆) gengibre e (●) quebra-pedra. 500 mg de amostra (n = 3). * 6 mL de HNO <sub>3</sub> e sem adição de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	50
<b>Figura 8.</b>	Aspecto das soluções resultantes após a decomposição das plantas medicinais (500 mg da amostra de gengibre) por MAWD. Exceto a solução A*, as demais foram feitas utilizando 4,8 mL de HNO <sub>3</sub> e 1,2 mL de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> : A) HNO <sub>3</sub> 1 mol L <sup>-1</sup> (6 mL de HNO <sub>3</sub> e sem adição de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) B) HNO <sub>3</sub> 1 mol L <sup>-1</sup> C) HNO <sub>3</sub> 4 mol L <sup>-1</sup> D) HNO <sub>3</sub> 7 mol L <sup>-1</sup> E) HNO <sub>3</sub> 14,4 mol L <sup>-1</sup> .....	51
<b>Figura 9.</b>	Resultados obtidos para Cl, nas amostras de camomila, gengibre e quebra-pedra após MAE (n = 3). (□) H <sub>2</sub> O, (■) NH <sub>4</sub> OH 0,11 mol L <sup>-1</sup> e (□) TMAH 0,11 mol L <sup>-1</sup> e (■) MIC (utilizando NH <sub>4</sub> OH 100 mmol L <sup>-1</sup> )....	58
<b>Figura 10.</b>	Resultados obtidos para Br, nas amostras de camomila, gengibre e quebra-pedra após MAE (n = 3). (□) H <sub>2</sub> O, (■) NH <sub>4</sub> OH 0,11 mol L <sup>-1</sup> e (□) TMAH 0,11 mol L <sup>-1</sup> e (■) MIC (utilizando NH <sub>4</sub> OH 100 mmol L <sup>-1</sup> )....	58
<b>Figura 11.</b>	Resultados obtidos para I, nas amostras de camomila, gengibre e quebra-pedra após MAE (n = 3). (□) H <sub>2</sub> O, (■) NH <sub>4</sub> OH 0,11 mol L <sup>-1</sup> e (□) TMAH 0,11 mol L <sup>-1</sup> e (■) MIC (utilizando NH <sub>4</sub> OH 100 mmol L <sup>-1</sup> )....	59

- Figura 12.** Cromatograma obtido após a extração por MAE para a amostra de gengibre sobreposto a uma solução padrão ( $250 \mu\text{g L}^{-1}$ ). Condições: 500 mg de amostra e  $\text{NH}_4\text{OH } 0,11 \text{ mol L}^{-1}$ ..... 61
- Figura 13.** Cromatograma obtido após verificação de interferências para fluoreto para a amostra de gengibre após MAE (—) extração gengibre (solução extratora  $\text{NH}_4\text{OH } 0,11 \text{ mol L}^{-1}$ ), (—) mistura de solução padrão de formiato, oxalato e acetato ( $500 \mu\text{g L}^{-1}$ ), (—) solução padrão ( $250 \mu\text{g L}^{-1}$ ), (—) solução padrão de formiato ( $500 \mu\text{g L}^{-1}$ ), (—) solução padrão de oxalato ( $500 \mu\text{g L}^{-1}$ ) e (—) solução padrão de acetato ( $500 \mu\text{g L}^{-1}$ )..... 62
- Figura 14.** Resultados obtidos para o teor de carbono nas amostras de gengibre após extração por MAE ( $n = 3$ ) utilizando: ( $\square$ )  $\text{H}_2\text{O}$ , ( $\blacksquare$ )  $\text{NH}_4\text{OH } 0,11 \text{ mol L}^{-1}$ , ( $\blacksquare$ ) TMAH  $0,11 \text{ mol L}^{-1}$ . Condição:  $240^\circ\text{C}$ , 5 min e 6 mL de solução extratora. Massa de amostra: 500 mg. ( $n = 3$ )..... 63
- Figura 15** Aspecto das soluções após extração por MAE da amostra de gengibre utilizando A)  $\text{H}_2\text{O}$  e B)  $\text{NH}_4\text{OH } 0,11 \text{ mol L}^{-1}$  e C) TMAH  $0,11 \text{ mol L}^{-1}$ . Condição:  $240^\circ\text{C}$ , 5 min e 6 mL de solução extratora. Massa de amostra: 500 mg ..... 67
- Figura 16** Resultados obtidos para o teor de carbono nas amostras de camomila, gengibre, quebra-pedra após AE. ( $\square$ )  $\text{H}_2\text{O}$ , ( $\blacksquare$ )  $\text{NH}_4\text{OH } 100 \text{ mmol L}^{-1}$  e ( $\blacksquare$ ) TMAH  $100 \text{ mmol L}^{-1}$ .....
- Figura 17** Aspecto das soluções obtidas após extração por MAE da amostra de gengibre utilizando A)  $\text{H}_2\text{O}$  e B)  $\text{NH}_4\text{OH } 0,11 \text{ mol L}^{-1}$  e C) TMAH  $0,11 \text{ mol L}^{-1}$ . Condição:  $120^\circ\text{C}$ , 20 min e 6 mL de solução extratora. Massa de amostra: 500 mg..... 67

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b>	Espécies de plantas utilizadas para fins medicinais, partes frequentemente usadas e suas respectivas finalidades.....	4
<b>Tabela 2.</b>	Métodos de preparo de amostras para determinação de F, Cl, Br e I..	8
<b>Tabela 3.</b>	Parâmetros operacionais para as determinações de Cl, Br, I e C por ICP-OES e ICP-MS.....	30
<b>Tabela 4.</b>	Amostras de plantas utilizadas para a determinação de F, Cl, Br e I por MIC.....	34
<b>Tabela 5.</b>	Programa de aquecimento do forno de micro-ondas utilizado para decomposição de plantas medicinais por MAWD.....	36
<b>Tabela 6.</b>	Condições experimentais avaliadas para a extração dos halogênios nas amostras de plantas por MAE.....	38
<b>Tabela 7.</b>	Resultados obtidos em ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) para F (ISE), Cl (ICP-OES), Br e I (ICP-MS), após a decomposição das amostras de plantas medicinais por MIC (média $\pm$ desvio padrão, n=3) .....	44
<b>Tabela 8.</b>	Resultados obtidos após a caracterização das amostras de camomila, gengibre e quebra-pedra quanto a determinação de cinzas totais, cinzas insolúveis e o teor de carbono e nitrogênio (média $\pm$ desvio padrão, n=3) .....	46
<b>Tabela 9.</b>	Resultados obtidos ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) para Cl (ICP-OES), Br e I (ICP-MS) (média $\pm$ desvio padrão, n=3) em CRMs de <i>Citrus leaves</i> e <i>Peach leaves</i> após decomposição por MIC utilizando $\text{NH}_4\text{OH}$ $100 \text{ mmol L}^{-1}$ , como solução absorvedora.....	47
<b>Tabela 10.</b>	Resultados obtidos para F (ISE), Cl (ICP-OES), Br e I (ICP-MS), (média $\pm$ desvio padrão, n=3) nas amostras de plantas medicinais após decomposição por MAWD utilizando 4,8 mL de $\text{HNO}_3$ 1, 4, 7 e $14,4 \text{ mol L}^{-1}$ com $\text{H}_2\text{O}_2$ e 6 mL de $\text{HNO}_3$ $1 \text{ mol L}^{-1}$ sem $\text{H}_2\text{O}_2$ .....	54
<b>Tabela 11.</b>	Resultados obtidos para F (ISE), Cl (ICP-OES), Br e I (ICP-MS), (média $\pm$ desvio padrão, n=3), na amostra de gengibre após extração por micro-ondas utilizando $\text{H}_2\text{O}$ , $\text{NH}_4\text{OH}$ $0,11 \text{ mol L}^{-1}$ e TMAH $0,11 \text{ mol L}^{-1}$ como solução extratora .....	56

<b>Tabela 12.</b>	Resultados dos CRMs <i>Citrus leaves</i> e <i>Peach leaves</i> , obtidos para Cl (ICP-OES), Br e I (ICP-MS), (média ± desvio padrão, n=3), após MAE utilizando H <sub>2</sub> O, NH <sub>4</sub> OH 0,11 mol L <sup>-1</sup> e TMAH 0,11 mol L <sup>-1</sup> , como solução extratora.....	60
<b>Tabela 13.</b>	Resultados obtidos para F (ISE), Cl (ICP-OES), Br e I (ICP-MS), (média ± desvio padrão, n=3), nas amostras de camomila, gengibre e quebra-pedra após extração alcalina em sistema aberto com aquecimento convencional (AE) utilizando H <sub>2</sub> O, NH <sub>4</sub> OH 0,11 mol L <sup>-1</sup> e TMAH 0,11 mol L <sup>-1</sup> como solução extratora.....	65
<b>Tabela 14.</b>	Valores obtidos para Br, após testes de recuperação por MIC, MAWD, MAE e AE utilizando padrões de KBr e CH <sub>3</sub> Br. Determinação de Br por ICP-MS.....	68
<b>Tabela 15.</b>	Limites de detecção obtidos por ISE, IC, ICP-OES e ICP-MS após a avaliação dos métodos de preparo de amostra de MIC, MAWD, MAE e AE.....	70
<b>Tabela 16.</b>	Comparação dos métodos de preparo de amostras investigados para posterior determinação de halogênios em amostras de plantas medicinais.....	71
<b>Tabela 17.</b>	Parâmetros operacionais para as determinações de metais por ICP-OES.....	87
<b>Tabela 18.</b>	Resultados obtidos para a determinação de metais (µg g <sup>-1</sup> ), após decomposição das amostras de camomila, gengibre e quebra-pedra por MAWD (média ± desvio padrão, n = 3).....	88

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

---

AE, extração alcalina, do inglês, *alkaline extraction*.

CRM, material de referência certificado, do inglês *certified reference material*.

DRC-ICP-MS, espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado com uso de cela dinâmica de reação, do inglês *inductively coupled plasma mass spectrometry using dynamic reaction cell*.

IC, cromatografia de íons, do inglês *ion chromatography*.

ICP OES, espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado, do inglês *inductively coupled plasma optical emission spectrometry*.

ICP-MS, espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado, do inglês *inductively coupled plasma mass spectrometry*.

ISE, eletrodo íon seletivo, do inglês *ion selective electrode*.

LOD, limite de detecção.

MAE, extração alcalina assistida por radiação micro-ondas, do inglês *microwave-assisted alkaline extraction*.

MAWD, digestão assistida por radiação micro-ondas, do inglês *microwave-assisted wet digestion*.

MIC, combustão iniciada por micro-ondas, do inglês *microwave-induced combustion*.

m/z, razão massa carga.

MW, micro-ondas, do inglês *microwave*.

NAA, análise por ativação neutrônica, do inglês *neutron activation analysis*.

OMS, Organização Mundial da Saúde.

PTFE, politetrafluoretileno, do inglês *polytetrafluorethylene*.

RCC, teor de carbono residual, do inglês *residual carbon content*.

RSD, desvio padrão relativo, do inglês *relative standard deviation*.

TMAH, hidróxido de tetrametilamônio, do inglês *tetramethylammonium hydroxide*.

USP, Farmacopeia Americana, do inglês *U.S pharmacopeia*.

XRF, fluorescência de raios X, do inglês *X-ray fluorescence*.

## RESUMO

---

Neste trabalho foram avaliados quatro métodos de preparo de amostras para a posterior determinação de halogênios (F, Cl, Br e I) em plantas medicinais. Os métodos de preparo avaliados foram: *i*) combustão iniciada por micro-ondas (MIC) *ii*) digestão por via úmida assistida por radiação micro-ondas (MAWD), *iii*) extração alcalina assistida por radiação micro-ondas (MAE) e *iv*) extração alcalina em sistema aberto com aquecimento convencional (AE). A determinação de F foi feita por eletrodo íon seletivo (ISE) e cromatografia de íons (IC). Cloro foi determinado por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES) e Br e I foram determinados por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS). Para a decomposição por MIC foi utilizada uma solução de  $\text{NH}_4\text{OH}$   $100 \text{ mmol L}^{-1}$  para a absorção dos analitos e posterior determinação de F, Cl, Br e I. A decomposição por MAWD foi feita utilizando  $4,8 \text{ mL}$  de  $\text{HNO}_3$   $1, 4, 7$  e  $14,4 \text{ mol L}^{-1}$  com  $1,2 \text{ mL}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Quando utilizada a solução de  $4,8 \text{ mL}$  de  $\text{HNO}_3$   $1 \text{ mol L}^{-1}$  e  $1,2 \text{ mL}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , os resultados obtidos para F, Cl, Br e I foram concordantes com os valores de referência (MIC) (teste *t* de Student com nível de confiança de 95%). Para a avaliação da MAE e AE foram utilizados  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NH}_4\text{OH}$   $0,11 \text{ mol L}^{-1}$  e TMAH  $0,11 \text{ mol L}^{-1}$  (hidróxido de tetrametilamônio) como soluções extratoras. Na MAE, além da avaliação da solução extratora, foram investigados a temperatura ( $90$  e  $240 \text{ }^\circ\text{C}$ ), tempo de aquecimento ( $5$  e  $20 \text{ min}$ ) e volume das soluções extratoras ( $6$  e  $10 \text{ mL}$ ). Entretanto, utilizando MAE e AE, ocorreram interferências na determinação de flúor por ISE e IC, devido ao alto teor de carbono em solução, impossibilitando sua quantificação. A exatidão empregando MIC e MAE foi avaliada através do uso de material de referência certificado (CRM). Utilizando o método por MIC foram observadas concordâncias entre  $90$  e  $97\%$  para Cl, Br e I. Após a avaliação dos métodos de preparo de amostras (MIC, MAWD, MAE e AE) foi feito um estudo em relação à recuperação de Br a partir da adição de soluções de concentrações conhecidas de KBr e  $\text{CH}_3\text{Br}$  tendo em vista que  $\text{CH}_3\text{Br}$  é um fumigante utilizado em práticas agrícolas para o controle de pragas. As recuperações de Br a partir da adição KBr foram superiores à  $91\%$  (MIC, MAWD, MAE e AE). Entretanto, as recuperações de Br a partir da adição de  $\text{CH}_3\text{Br}$  foram inferiores à  $22\%$  (MAE). Os limites de detecção (LODs) obtidos para todos os analitos foram inferiores a  $15 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$  (ISE) em todos os métodos de preparo e amostras avaliados.

## ABSTRACT

---

In this work, four sample preparation methods were evaluated for further determination of halogens (F, Cl, Br e I) in medicinal plants. The evaluated sample preparation methods were microwave-induced combustion (MIC), microwave-assisted wet digestion (MAWD), microwave-assisted alkaline extraction (MAE) and alkaline extraction in open system (AE). The determination of F was performed by potentiometry using ion selective electrode (ISE) and ion chromatography (IC). Chlorine was determined by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES) and Br and I were determined by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). In MIC, 100 mmol L<sup>-1</sup> NH<sub>4</sub>OH was used as absorbing solution. In MAWD solutions of HNO<sub>3</sub> (1, 4, 7 and 14.4 mol L<sup>-1</sup>) with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> were used for decomposition of samples. It was observed an agreement with reference values better than 95% when 1 mol L<sup>-1</sup> HNO<sub>3</sub> was used. The alkaline extraction (MAE and AE) was performed using H<sub>2</sub>O, 0.11 mol L<sup>-1</sup> NH<sub>4</sub>OH and 0.11 mol L<sup>-1</sup> TMAH. In MAE, the variables studied were: volume of extractor medium (6 and 10 mL), temperature (90 and 240 °C) and extraction time (5 and 20 min). MAE and AE showed interference for F determination by ISE and IC. The accuracy of MIC and MAE methods was evaluated using certified reference materials (CRM). In MIC, accuracy between 90 and 97% for Cl, Br and I was observed. Further evaluation of the sample preparation methods (MAWD, MAE and AE) was performed for recovery of Br by the addition as KBr and CH<sub>3</sub>Br, considering that methyl bromide is used as fumigant in agricultural practices and can be a contaminant of Br in plants. The recovery of Br using KBr was better than 91% (MIC, MAWD, MAE and AE). However, the recovery of Br using methyl bromide was lower than 22% (MAE). Limits of detection lower than 15 µg g<sup>-1</sup> (ISE) was obtained for all prepare methods evaluated.



# 1. INTRODUÇÃO

---

Em geral, a presença de halogênios em plantas pode estar relacionada a sua composição química, a absorção a partir dos solos ou, ainda, por contaminação proveniente de práticas agrícolas.<sup>1</sup> Dependendo da concentração de alguns halogênios em plantas medicinais, podem ocorrer problemas aos consumidores, dependendo da concentração, quando ingeridos. Segundo a Farmacopeia Americana (USP), com a prática de fumigação com brometo de metila (CH<sub>3</sub>Br) usada no controle de pragas, pode ocorrer a contaminação das plantas com Br. Em vista disso, existe a necessidade de um controle de qualidade rigoroso, para assegurar a qualidade do produto e garantir a saúde do consumidor, embora a Farmacopeia Americana tenha aumentado recentemente o limite de Br em plantas medicinais de 50 µg g<sup>-1</sup> para 125 µg g<sup>-1</sup>.<sup>2-4</sup>

Entre as técnicas mais utilizadas para a determinação de halogênios, cita-se a cromatografia de íons (IC), a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES), a espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) e a potenciometria com eletrodo íon seletivo (ISE). Entretanto, previamente à etapa de determinação, faz-se necessário o tratamento das amostras, geralmente com o objetivo de obter uma solução aquosa adequada às técnicas utilizadas para a determinação. Além disso, outros aspectos precisam ser observados para a escolha do método de preparo de amostra, tais como o uso de soluções diluídas, frequência analítica e massas elevadas de amostra. Porém, contemplar todos estes aspectos é difícil e, quando se visa a determinação de halogênios, a escolha do método de preparo de amostra torna-se um desafio devido aos riscos de contaminação e perdas pela formação de espécies voláteis.<sup>5,6</sup>

Entre os métodos mais utilizados para o preparo de plantas medicinais visando a determinação de halogênios, pode-se destacar a combustão por via seca em forno do tipo mufla, métodos de combustão em sistema fechado (bomba de combustão, frasco de Schöniger e combustão iniciada por micro-ondas - MIC), métodos de decomposição

---

<sup>1</sup> Kalra, Y. P., Handbook of Reference Methods for Plant Analysis 1998, pp. 1-10.

<sup>2</sup> Di Narda, F., *et al.*, *Analytica Chimica Acta* 436 (2001) 245-252.

<sup>3</sup> Yagi, K., *et al.*, *Science* 267 (1995) 1979-1981.

<sup>4</sup> Manö, S., *et al.*, *Science* 263 (1994) 1255-1257.

<sup>5</sup> Krug, F. J., Métodos de preparo de amostra: fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar, 2010, pp. 184-247.

<sup>6</sup> Flores, É. M. M., Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Determination, Elsevier, 2014, 77-142.

por via úmida utilizando ácidos concentrados, extração alcalina e piroidrólise.<sup>2,7-12</sup> Porém, alguns desse métodos podem não ser adequados para a determinação de halogênios, sobretudo, no que se refere à contaminação das amostras e às perdas de analitos devido a formação de compostos voláteis.<sup>7,13</sup>

Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar métodos de preparo de amostra para a posterior determinação de halogênios em plantas medicinais. Para tanto, foram avaliados os métodos de extração alcalina assistida por radiação micro-ondas (MAE), a digestão ácida assistida por radiação micro-ondas (MAWD) e a extração alcalina em sistema aberto com aquecimento convencional (AE). Além disso, em cada método de preparo de amostra avaliado, foram avaliadas as recuperações de Br, na forma de KBr e CH<sub>3</sub>Br, para verificar se estes compostos permanecem na amostra após a adição. Este estudo tem por finalidade avaliar a recuperação de Br adicionado na forma de um sal inorgânico (KBr) e na forma orgânica (CH<sub>3</sub>Br). Cabe salientar que o CH<sub>3</sub>Br é um fumigante utilizado em práticas agrícolas para o controle de pragas. Entretanto, o CH<sub>3</sub>Br também pode ser um contaminante de Br nas plantas. Posteriormente, foi determinado flúor por IC e ISE, cloro por ICP-OES e Br e I por ICP-MS. Desse modo, a exatidão dos métodos propostos foi avaliada através da comparação entre os resultados obtidos empregando os diferentes métodos desenvolvidos e através do emprego de material de referência certificado (CRM).

---

<sup>2</sup> Di Narda, F., *et al.*, *Analytica Chimica Acta* 436 (2001) 245-252.

<sup>7</sup> Knapp, G., *et al.*, *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* 362 (1998) 508-513.

<sup>8</sup> Cortés-Peña, M. A., *et al.*, *Waste Management & Research* 20 (2002) 302-307.

<sup>9</sup> Steyermark, A., *et al.*, *Microchemical Journal* 3 (1959) 523-527.

<sup>10</sup> Pereira, J. S. F., *et al.*, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 25 (2010) 1268-1274.

<sup>11</sup> Romaris-Hortas, V., *et al.*, *Talanta* 79 (2009) 947-952.

<sup>12</sup> Antes, F. G., *et al.*, *Atomic Spectroscopy* 29 (2008) 157-164.

<sup>13</sup> Mello, P., *et al.*, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 405 (2013) 7615-7642.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

---

*Neste capítulo será feita uma breve revisão da literatura na qual serão abordados os aspectos gerais sobre a determinação de F, Cl, Br e I, bem como a sua importância em plantas medicinais. Posteriormente, serão descritos os principais métodos de preparo de amostra utilizados para a posterior determinação de halogênios em diferentes matrizes. Ao final, serão apresentadas as principais técnicas analíticas utilizadas para determinação de halogênios.*

## 2.1 Plantas: generalidades e composição química

As plantas medicinais são utilizadas desde a antiguidade para o tratamento e prevenção de doenças e até hoje são importantes para o desenvolvimento e pesquisa de novos medicamentos, principalmente pela acessibilidade e baixo custo.<sup>14</sup> Entretanto, embora já existam há milhares de anos, foi apenas a partir de 1978 que o uso dessas plantas foi oficializado pela Organização Mundial da Saúde (OMS).<sup>15</sup> Deste modo, um controle rigoroso das plantas utilizadas para fins medicinais tornou-se importante para garantir a qualidade do produto e, sobretudo, a saúde dos usuários.<sup>16-19</sup>

As variedades das plantas são características do clima e do solo de cada região.<sup>20</sup> Estas plantas são fontes de compostos que podem ser utilizados para o combate de muitas doenças. Na Tabela 1 estão alguns exemplos de plantas que podem ser utilizadas para esta finalidade.

**Tabela 1.** Espécies de plantas utilizadas para fins medicinais, partes frequentemente usadas e suas respectivas finalidades.<sup>15,21</sup>

Nome científico	Nome popular	Parte usada	Usos
<i>Aescullus hippocastannun</i>	castanha da índia	folhas	anti-inflamatório
<i>Alloe vera</i>	babosa	folhas	cicatrizante
<i>Baccharis trimera</i>	carqueja	folhas	digestivo
<i>Matricaria chamomilla</i>	camomila	inflorescência	calmante
<i>Maytenus ilicifolia</i>	espinheira santa	folhas	analgésico
<i>Melissa officianalis</i>	melissa	folhas	calmante
<i>Mentha piperita</i>	hortelã	folhas	estimulante
<i>Peamus boldus</i>	boldo	folhas	digestivo
<i>Phyllanthus niruri</i>	quebra-pedra	folhas	tratamento renal
<i>Rhamnus purshiana</i>	cáscara sagrada	casca	estimulante
<i>Trigonella foenum-graecum</i>	feno grego	sementes	antianêmico
<i>Zinziber officianale</i>	gingibre	bulbo	emagrecedor

<sup>14</sup> Ahmad, I., et al., *Journal of Ethnopharmacology* 62 (1998) 183-193.

<sup>15</sup> ANVISA, Formulário de Fitoterápicos Farmacopeia Brasileira 2011, pp. 523

<sup>16</sup> Balunas, M. J., et al., *Life Sciences* 78 (2005) 431-441.

<sup>17</sup> Calixto, J. B., *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 33 (2000) 179-189.

<sup>18</sup> Desideri, D., et al., *Microchemical Journal* 98 (2011) 186-189.

<sup>19</sup> ANVISA, Farmacopeia Brasileira, 5ª ed., 2010, pp. 13-195.

<sup>20</sup> Müller, A. L. H., et al., *Journal of the Brazilian Chemical Society* 22 (2011) 1649-1655.

<sup>21</sup> Souza, C. D. d., et al., *Acta Botanica Brasílica* 20 (2006) 135-142.

Elementos como Al, B, Cl, Cu, I, Fe, N, P, K, Ca, Si e S podem ser absorvidos do solo por estarem presentes naturalmente, pela adição por meio de fertilizantes, pela atividade industrial e até mesmo sendo transportados pela água da chuva. Alguns elementos são essenciais para o desenvolvimento das plantas (P, Mg, S), enquanto que outros podem ser tóxicos (Cd, Cr, Hg), dependendo da concentração.<sup>1</sup>

Os halogênios, podem estar naturalmente presentes nas plantas e permanecem durante o processamento até o produto final. Desse modo, dependendo da concentração ingerida, esses elementos podem desencadear uma série de complicações ao organismo. O flúor, por exemplo, é responsável pela conservação da saúde bucal. Porém, em concentrações elevadas, pode causar a fluorose óssea (enfraquecimento dos ossos). Segundo estimativas da OMS, a ingestão recomendada de flúor deve ser entre 0,46 e 5,4 mg/dia dependendo do organismo (crianças ou adultos).<sup>13,22,23</sup>

O cloro geralmente está presente em concentrações elevadas em diversos tipos de produtos, principalmente em alimentos. O cloreto, associado ao sódio e ao potássio, atua na regulação da pressão osmótica, mantendo o balanço aquoso e também participa do controle do pH sanguíneo. Ainda, o cloro é um dos componentes do suco gástrico, o qual contribui para a boa digestão dos alimentos ingeridos. Entretanto, o consumo excessivo de cloro pode levar a inúmeras disfunções no organismo, como acidose metabólica, dor de cabeça e confusão mental.<sup>24</sup> Segundo a OMS, a quantidade diária recomendada é de 125 até 550 mg.<sup>25,26,23</sup> Cabe destacar também que, o uso de pesticidas organoclorados são alguns dos contaminantes mais frequentes devido a sua persistência, principalmente, no solo e na água. Além disso, muitos destes compostos são considerados carcinogênicos.<sup>27</sup>

---

<sup>1</sup> Kalra, Y. P., *Handbook of Reference Methods for Plant Analysis* 1998, pp. 1-10.

<sup>13</sup> Mello, P., *et al.*, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 405 (2013) 7615-7642.

<sup>22</sup> Ekambaram, M., *et al.*, *Journal of Clinical Pediatric Dentistry* 36 (2011) 111-122.

<sup>23</sup> World Health Organization, *A guide for Programme Managers*, 2007, pp 12.

<sup>24</sup> Fechetia, M., *et al.*, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 71-72 (2012) 98-101.

<sup>25</sup> Evans, R. B., *Lung* 183 (2005) 151-167.

<sup>26</sup> Blaustein, M. P., *et al.*, *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology* 302 (2012) H1031-1049.

<sup>27</sup> Wolff, M. S., *et al.*, *Environmental Research* 84 (2000) 151-161.

O iodo, por sua vez, é associado à síntese dos hormônios da tireoide (tiroxina e triiodotironina). Esses hormônios são essenciais para o controle do metabolismo celular, crescimento, desenvolvimento da estrutura corpórea e funções neurológicas.<sup>28-30</sup> Em alguns casos, pessoas que possuem deficiência de iodo, desenvolvem hipotireoidismo e o excesso de iodo no organismo pode causar hipertireoidismo.<sup>31</sup> Assim, de acordo com a OMS, a dose de iodo recomendada diariamente é de 90 a 250 µg.<sup>32</sup>

No caso do bromo, o mesmo não é considerado essencial para o organismo humano. Entretanto, a combinação desse elemento com a hemoglobina presente no sangue pode causar doenças hematológicas. Além disso, sua presença no organismo pode provocar a diminuição da quantidade de iodo nas glândulas da tireoide e mamas, causando deficiência de iodo principalmente em crianças.<sup>33,34</sup> Segundo alguns estudos, o bromo pode estar presente naturalmente em plantas medicinais<sup>11,35</sup> e o emprego de fumigação com CH<sub>3</sub>Br, usado como pesticida, pode aumentar a concentração desse no solo e, conseqüentemente, nas plantas.<sup>3,4,36</sup> Dessa forma, de acordo com a Farmacopeia Americana, o limite máximo de bromo em plantas medicinais foi fixado em 125 µg g<sup>-1</sup>.<sup>37</sup>

Portanto, em virtude da toxicidade e essencialidade citadas em relação aos halogênios, a determinação desses elementos em plantas medicinais torna-se importante.

---

<sup>28</sup> Hetzel, B. S., *et al.*, 2 - Iodine, W. Mertz (Ed.) Trace Elements in Human and Animal Nutrition, Academic Press, San Diego, 1986, pp. 139-208.

<sup>29</sup> Zimmermann, M. B., *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 22 (2008) 81-92.

<sup>30</sup> Verheesen, R. H., *et al.*, *Medical Hypotheses* 71 (2008) 645-648.

<sup>31</sup> Chow, C. C., *et al.*, *Clinical endocrinology* 34 (1991) 413-416

<sup>32</sup> Hulea, V., *et al.*, *Journal Catalysis*, 198 (2001) 179.

<sup>33</sup> Picoloto, R. S., *et al.*, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 107 (2015) 86-92.

<sup>34</sup> Lag, M., *et al.*, *Chemical Research in Toxicology* 4 (1991) 528-534.

<sup>11</sup> Romarís-Hortas, V., *et al.*, *Talanta* 79 (2009) 947-952.

<sup>35</sup> Birhanu, W. T., *et al.*, Application of Instrumental Neutron Activation Analysis (INAA) in the Analysis of Essential Elements in Six Endemic Ethiopian Medicinal Plants, 2014, pp 213-227.

<sup>3</sup> Yagi, K., *et al.*, *Science* 267 (1995) 1979-1981.

<sup>4</sup> Manó, S., *et al.*, *Science* 263 (1994) 1255-1257.

<sup>36</sup> Yassaa, N., *et al.*, *Environmental Chemistry* 6 (2009) 311-318

<sup>37</sup> U.S Pharmacopeial Convention. <http://www.usp.org/usp-nf/notices/general-chapter-articles-botanical-origin>; Acessado em: 03/06/2015.

## 2.2 Métodos de preparo de amostras para plantas

Os métodos de preparo de amostras têm por objetivo a conversão da amostra em uma solução aquosa para posterior análise. A etapa de preparo de amostra, além de ser dispendiosa, pode ser considerada a mais crítica da marcha analítica, uma vez que, nessa etapa, costumam ocorrer muitos erros sistemáticos.<sup>5,38,39</sup> Para a etapa de preparo, deve-se levar em consideração a natureza da amostra e dos analitos e a técnica analítica de determinação a ser utilizada. O método escolhido deve ser simples, eficiente, seletivo e rápido, sempre que possível.<sup>5,13</sup>

Além da necessidade do uso de reagentes e solventes de alta pureza, de capelas de fluxo laminar e de sistemas fechados, em um contexto mais específico, o preparo de amostra requer maior atenção quando se visa a determinação de halogênios, devido a maior facilidade de contaminação, especialmente para Cl, e a possibilidade de perdas pela formação de compostos voláteis.<sup>5,13,40</sup>

Para a determinação de flúor, cloro, bromo e iodo em medicamentos, as Farmacopeia Brasileira e a Farmacopeia Internacional recomendam o método de combustão em frasco de Schöniger com posterior determinação através da volumetria de precipitação.<sup>19,41</sup> Entretanto, o referido método é moroso e é necessário o uso de muitos reagentes. Desse modo, torna-se necessário o desenvolvimento de métodos de preparo de amostras que assegurem a recuperação completa dos halogênios presentes em plantas e que sejam compatíveis com as técnicas analíticas disponíveis para a determinação. Na Tabela 2, estão descritos alguns métodos de preparo de amostras encontrados na literatura, aplicados a plantas e matrizes similares.

<sup>5</sup> Krug, F. J., Métodos de preparo de amostra: fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar, 2010, pp. 184-247.

<sup>38</sup> Arruda, M. A. Z., Trends in Sample Preparation, 2006, pp 304-310.

<sup>39</sup> Arruda, M. A. Z., et al., *Química Nova* 20 (1997) 638-643.

<sup>13</sup> Mello, P., et al., *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 405 (2013) 7615-7642.

<sup>40</sup> Mesko, M. F., Dissertação de Mestrado, Programa de Pós Graduação em Química, Universidade Federal de Santa Maria, 2008, pp. 8.

<sup>19</sup> ANVISA, Farmacopeia Brasileira, 5ª ed., 2010, pp. 13-195.

<sup>41</sup> The International Pharmacopeia. Acessado em: 03/06/2015.

**Tabela 2.** Métodos de preparo de amostras para determinação de F, Cl, Br e I.

Amostra	Elemento	Método de preparo	Determinação	LOD	Referência
Algas	Br e I	MAE: extração de 0,25 g em contato com 10 mL de água e 10 mL de TMAH. Após o emprego de radiação micro-ondas, os extratos foram centrifugados durante 10 min a 3000 rpm. O resíduo sólido foi lavado e novamente centrifugado. O extrato foi aferido, filtrado para posterior determinação.	ICP-MS	< 24,6 ng g <sup>-1</sup>	11
Algas	Br e I	MAE: extração de 0,2 g de amostra com 10 mL de TMAH 10%. Após o aquecimento com radiação micro-ondas as amostras foram diluídas, filtradas e analisadas.	ICP-MS	< 50 ng mL <sup>-1</sup>	42
Algas	Br e I	AE: 0,1 g de amostra com 1 mL de TMAH e 5 mL de água. Os extratos foram centrifugados durante 10 min à 3000 rpm. O resíduo sólido foi lavado e novamente centrifugado. O extrato foi aferido, filtrado e posteriormente determinado.	ICP-MS	< 24,6 ng g <sup>-1</sup>	43
Alimentos	Br e I	AE: extração de 0,5 g de amostra seca e moída, 1 mL de TMAH 25% e 1 mL de H <sub>2</sub> O. A mistura foi colocada em um bloco de aquecimento e a temperatura entre 75 e 80 °C. Após resfriamento, foram diluídas até 10 mL com água. <sup>7</sup>	ICP-MS	< 0,03 µg g <sup>-1</sup>	44
Cogumelos	Br	MAWD: extração empregando HNO <sub>3</sub> e H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> . Após a digestão, o conteúdo foi centrifugado a 4000 rpm durante 5 minutos e posteriormente feita a determinação. Fusão alcalina: 0,1 a 0,2 g de amostra seca foi misturada com 0,3 a 0,6 g de Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> . A solução foi recolhida em um balão de 100 mL onde foi acidificada e posteriormente feita a determinação.	ICP-MS	10 µg L <sup>-1</sup>	2

<sup>11</sup> Romarís-Hortas, V., et al., *Talanta* 79 (2009) 947-952.

<sup>42</sup> Chen, J. H., et al., *Electrophoresis* 28 (2007) 4227-4232.

<sup>43</sup> Romarís-Hortas, V., et al., *Food Chemistry* 124 (2011) 1747-1752.

<sup>44</sup> Rose, M., et al., *Journal of environmental monitoring : JEM* 3 (2001) 361-365.

<sup>2</sup> Di Narda, F., et al., *Analytica Chimica Acta* 436 (2001) 245-252.



**Tabela 2.** Métodos de preparo de amostras para determinação de F, Cl, Br e I (continuação).

Amostra	Elemento	Método de preparo	Determinação	LOD ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	Referência
Plantas	F	MAWD: decomposição de 0,5 g de amostra com 7 mL de $\text{HNO}_3$ . Programa de aquecimento do forno de micro-ondas: 40 min e 30 min de resfriamento.	CS-MAS	0,16 $\text{mg L}^{-1}$	45
Plantas	Metais, Cl, Br	AE: extração de 0,5 g de amostra com 1,5 ml de TMAH 25%. Programa de aquecimento do forno de micro-ondas: 75 °C por 40 min e 60 min de resfriamento Análise direta feita com 25-35 mg de amostra embalada em bolsas de polietileno.	NAA	*NI	35,46-49
Plantas	Cl, Br e I	AE: extração de 0,1 g de amostra seca durante 12 h com uma solução de TMAH à 60 °C. O extrato foi centrifugado e analisado.	ICP-MS	< 1,5 $\text{mg L}^{-1}$	50
Tabaco	Cl e Br	MIC: Pellets de 100, 250 e 500 mg (foram utilizados 6 mL de solução absorvedora de $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ e água). MAE: extração de 500 mg de amostra foram adicionadas a 6 mL de água. O mesmo procedimento foi feito usando 100 $\text{mmol L}^{-1}$ $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ . Após o arrefecimento, as soluções resultantes do processo de extração foram diluídas com água até 20 mL e, em seguida, centrifugadas a 3000 rpm durante 10 min, antes da determinação.	ICP-OES	< 12 $\mu\text{g g}^{-1}$	20

CS-MAS: espectrometria de absorção molecular com vaporização eletrotérmica; EA: extração alcalina; ICP-MS: espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado; ICP-OES: espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado; MAE: extração alcalina assistida por micro-ondas; MAWD: digestão por via úmida assistida por micro-ondas; MIC: combustão iniciada por micro-ondas; NAA: análise por ativação neutrônica; \*NI: valor não informado.

<sup>45</sup> Mores, S., *et al.*, *Talanta* 85 (2011) 2681-2685.

<sup>35</sup> Birhanu, W. T., *et al.*, Application of Instrumental Neutron Activation Analysis (INAA) in the Analysis of Essential Elements in Six Endemic Ethiopian Medicinal Plants, 2014, pp 213-227.

<sup>46</sup> Abugassa, I., *et al.*, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 278 (2008) 559-563.

<sup>47</sup> Moreira, H. S., *et al.*, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 290 (2011) 615-621.

<sup>48</sup> Mosulishvili, L. M., *et al.*, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 30 (2002) 87-97.

<sup>49</sup> Wasim, M., *et al.*, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 292 (2012) 653-659.

<sup>50</sup> Tagami, K., *et al.*, *Analytica Chimica Acta* 570 (2006) 88-92.

<sup>20</sup> Müller, A. L. H., *et al.*, *Journal of the Brazilian Chemical Society* 22 (2011) 1649-1655.

### 2.2.1 Decomposição por via úmida

A decomposição utilizando ácidos minerais é comumente empregada no preparo de amostras para a determinação elementar, onde a matéria orgânica é oxidada e os analitos permanecem em solução.<sup>7,51</sup> O ácido mais utilizado é o ácido nítrico. No entanto, outros ácidos também podem ser utilizados, tais como HClO<sub>4</sub> e H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Além disso, misturas de ácido nítrico com ácido fluorídrico também podem ser utilizadas para amostras com alto teor de sílica.<sup>52</sup> Essas decomposições podem ser feitas utilizando-se sistemas abertos ou fechados, e podem envolver aquecimento convencional ou por micro-ondas.<sup>5</sup>

Embora os sistemas abertos proporcionem boa frequência analítica, custos relativamente menores e decomposições de maiores massas, estes são mais susceptíveis à contaminação e perdas de analitos voláteis, principalmente para a posterior determinação de halogênios.<sup>5</sup> Assim, para minimizar as desvantagens do uso de sistemas abertos, a decomposição da amostra pode ser feita em sistemas fechados.<sup>6</sup> Dessa forma, o tempo de decomposição e os volumes de ácido utilizados podem ser reduzidos, o que leva a menor contaminação e possíveis perdas por volatilização.<sup>5</sup> Embora a decomposição em sistema fechado possa ser realizada com aquecimento convencional, o uso da radiação micro-ondas é crescente.<sup>6,52-54</sup>

Entretanto, para a determinação de halogênios, alguns problemas podem ser observados quando é feita a decomposição por via úmida com uso de soluções ácidas. Nesse sentido, perdas de analitos podem ocorrer devido à formação de compostos voláteis, mesmo quando se utilizam sistemas fechados.<sup>5,7,13</sup>

### 2.2.2 Métodos de combustão

As reações de combustão se baseiam na ação do oxigênio como oxidante da matéria orgânica, normalmente empregando elevadas temperaturas. Após a

<sup>7</sup> Knapp, G., *et al.*, *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* 362 (1998) 508-513.

<sup>51</sup> Bizzi, C. A., *et al.*, *Analytical Methods* 2 (2010) 734-738.

<sup>52</sup> Flores, E. M. M., *et al.*, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 62 (2007) 1051-1064.

<sup>5</sup> Krug, F. J., *Métodos de preparo de amostra: fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar*, 2010, pp. 184-247.

<sup>6</sup> Flores, E. M. M., *Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Determination*, Elsevier, 2014, 77-142.

<sup>53</sup> Mello, P. A., *et al.*, *Analytica Chimica Acta* 746 (2012) 15-36.

<sup>54</sup> Neas, E. D., *et al.*, *Introduction to Microwave Sample Preparation - Theory and Practice*, 1988, pp. 7-32.

<sup>13</sup> Mello, P., *et al.*, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 405 (2013) 7615-7642.

combustão, CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O são obtidos como produtos principais da reação e os analitos devem ser absorvidos em uma solução apropriada.<sup>40,52,55</sup> A combustão em sistemas abertos envolve, geralmente, a oxidação da matéria orgânica com o auxílio do oxigênio disponível no ar atmosférico. O método mais utilizado é a decomposição por via seca utilizando forno do tipo mufla, mas os métodos de combustão de Wickbold e sistema dinâmico (Trace-O-Mat), também podem ser empregados.<sup>7</sup> Dentre esses métodos, em sistema fechado, destacam-se a bomba de combustão,<sup>56</sup> o frasco de Schöniger,<sup>9,57</sup> e a combustão iniciada por micro-ondas (MIC).<sup>10,33,58</sup> Em função das vantagens associadas aos sistemas fechados, principalmente para a determinação de halogênios, será dada maior ênfase a esses três últimos métodos nesta revisão.

### 2.2.3 Métodos de combustão em sistemas abertos

Os métodos de preparo de amostras envolvendo sistemas abertos compreendem, principalmente, a combustão por via seca e o sistema de Wickbold. Estes métodos serão discutidos brevemente a seguir.

#### 2.2.3.1 Combustão por via seca

O método de combustão por via seca baseia-se no aquecimento da amostra em fornos do tipo mufla. Neste procedimento, a amostra é adicionada em um cadinho, geralmente de porcelana, e aquecida em temperaturas na ordem de 450 a 500 °C. Dessa maneira, a fração orgânica da amostra é decomposta com o auxílio de O<sub>2</sub> atmosférico, resultando em um resíduo inorgânico não volátil e, geralmente, solúvel em ácido diluído.<sup>59</sup> O resíduo oriundo da queima pode ser constituído de óxidos de metais, além de fosfatos, silicatos, sulfatos não voláteis, entre outros componentes. Entretanto, a combustão por via seca em forno do tipo mufla, além de ser um sistema

<sup>40</sup> Mesko, M. F., Determinação de halogênios em carvão, coque petroquímico e alimentos após combustão iniciada por micro-ondas, Programa de Pós Graduação em Química, Universidade Federal de Santa Maria, 2008, pp. 8.

<sup>52</sup> Flores, E. M. M., *et al.*, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 62 (2007) 1051-1064.

<sup>55</sup> Sneddon, J., *et al.*, *Applied Spectroscopy Reviews* 41 (2006) 1-14.

<sup>7</sup> Knapp, G., *et al.*, *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* 362 (1998) 508-513.

<sup>56</sup> Souza, G. B., *et al.*, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 57 (2002) 2195-2201.

<sup>9</sup> Steyermark, A., *et al.*, *Microchemical Journal* 3 (1959) 523-527.

<sup>57</sup> Jain, A., *et al.*, *Talanta* 37 (1990) 595-598.

<sup>10</sup> Pereira, J. S. F., *et al.*, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 25 (2010) 1268-1274.

<sup>33</sup> Picoloto, R. S., *et al.*, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 107 (2015) 86-92.

<sup>58</sup> Pereira, J. S. F., *et al.*, *Microchemical Journal* 96 (2010) 4-11.

<sup>59</sup> Oliveira, A. P., *et al.*, *Fuel* 88 (2009) 764-766.

susceptível à contaminação, apresenta como desvantagem a possível perda dos analitos por volatilização. Dessa maneira, esse método de preparo pode não ser o mais indicado para a determinação de halogênios em baixa concentração. Para contornar essas limitações, outros métodos de preparo de amostras são relatados na literatura, como o sistema de Wickbold com chama hidrogênio-oxigênio.<sup>5</sup>

Em trabalho desenvolvido por Moxon *et al.*<sup>60</sup>, os autores desenvolveram um método simples de preparo de amostra para a determinação de iodo em amostras de alimentos por colorimetria. Neste procedimento, aproximadamente 1 g de mostra (não excedendo a 1 µg de iodo), é pesada em um cadinho. Após, é adicionado 1 mL de carbonato de potássio 30% m/v e 1 mL de solução de sulfato de zinco. O cadinho elevado até uma mufla e seco a 95 °C durante 12 h e, após, é calcinado a 550 °C por 1 h. O cadinho é retirado do forno e adicionado 1 mL de solução de sulfato de zinco. Repete-se o procedimento da calcinação. Posteriormente, a cinza, branca ou cinza, é recolhida em um frasco com 50 mL de água destilada. O frasco é centrifugado e o sobrenadante é recolhido para análise.<sup>60</sup>

## 2.2.4 Métodos de combustão em sistemas fechados

Os métodos de preparo de amostras envolvendo sistemas fechados compreendem, principalmente, a bomba de combustão e o frasco de Schöniger. Além disso, mais recentemente, a MIC vem sendo utilizada com sucesso para amostras de difícil decomposição e posterior determinação de metais, não metais e halogênios.<sup>9,56,57,61</sup>

### 2.2.4.1 Bomba de combustão

Sistemas envolvendo a bomba de combustão consistem no posicionamento da amostra em forma de um comprimido, em um recipiente de aço. A amostra fica em contato com dois eletrodos de platina para a subsequente etapa de ignição. Ao

<sup>5</sup> Krug, F. J., Métodos de preparo de amostra: fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar, 2010, pp. 184-247.

<sup>60</sup> Moxon, R. E. D., *et al.*, *Analyst* 105 (1980) 344-352.

<sup>9</sup> Steyermark, A., *et al.*, *Microchemical Journal* 3 (1959) 523-527.

<sup>56</sup> Souza, G. B., *et al.*, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 57 (2002) 2195-2201.

<sup>57</sup> Jain, A., *et al.*, *Talanta* 37 (1990) 595-598.

<sup>61</sup> Barbosa, J., *et al.*, *Food Anal. Methods* 6 (2013) 1065-1070.

recipiente, geralmente com volume total de 300 mL, são adicionados de 5 a 10 mL de uma solução adequada para absorção dos analitos. Posteriormente, o recipiente é fechado e pressurizado com O<sub>2</sub> (20 a 30 atm). A ignição é feita por contato elétrico entre os dois eletrodos e a amostra é completamente queimada em poucos minutos.<sup>5</sup>

Após a decomposição, a bomba de combustão é submersa, geralmente, em banho de gelo para acelerar o resfriamento. Após, o sistema é aberto e a solução obtida é recolhida e, posteriormente, analisada.<sup>5</sup> Em alguns casos, pode ser utilizado um reagente auxiliar para aumentar a eficiência de decomposição da amostra. Substâncias como álcoois, alcanos, óleos e parafina, geralmente são utilizadas com esta finalidade.<sup>8,62</sup>

No entanto, problemas de contaminações oriundas, principalmente, de partes metálicas constituintes da bomba de combustão podem ocorrer. Além disso, esse sistema apresenta baixa frequência analítica, onde apenas uma amostra pode ser decomposta por ciclo.<sup>63</sup>

A bomba de combustão pode ser utilizada como método de preparo de amostra para uma ampla variedade de matrizes, como amostras biológicas, compostos orgânicos e amostras botânicas. Especialmente para a determinação de halogênios, alguns trabalhos da literatura relatam a necessidade de uma espera de 10 a 30 min, para o alívio da pressão interna da bomba. Esse procedimento minimiza a perda dos analitos por volatilização.<sup>8,56,62,64,65</sup>

#### 2.2.4.2 Combustão com frasco de Schöniger

O método de combustão utilizando o frasco de oxigênio foi proposto originalmente em 1892, para macroanálise, por Hempel.<sup>66</sup> Entretanto, foi em 1955 que Schöniger promoveu algumas adaptações no método, para decomposição em micro escala de amostras orgânicas e biológicas.<sup>67</sup> O frasco de Schöniger pode ser utilizado

<sup>5</sup> Krug, F. J., Métodos de preparo de amostra: fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar, 2010, pp. 184-247.

<sup>8</sup> Cortés-Peña, M. A., *et al.*, *Waste Management & Research* 20 (2002) 302-307.

<sup>62</sup> Fung, Y. S., *et al.*, *Analytica Chimica Acta* 334 (1996) 51-56.

<sup>63</sup> Fabbri, D., *et al.*, *Chromatographia* 53 (2000) 119-121.

<sup>56</sup> Souza, G. B., *et al.*, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 57 (2002) 2195-2201

<sup>64</sup> Gustafsson, L., *et al.*, *Analytica Chimica Acta* 212 (1988) 133-143.

<sup>65</sup> Watanabe, N., *et al.*, *J Mater Cycles Waste Manag* 5 (2003) 0069-0076.

<sup>66</sup> Hempel, W., *Angewandte Chemie* 5 (1892) 389-393.

<sup>67</sup> Schöniger, W., *Mikrochim Acta* 43 (1955) 123-129.

para a decomposição de amostras botânicas, biológicas e carvão, possuindo uma ampla aplicabilidade para a determinação de halogênios.<sup>9,57,64,68</sup>

Neste método, geralmente, a amostra é envolvida no papel com baixo teor de cinzas. A amostra fica suspensa por um suporte de platina preso à tampa de um frasco fechado. Após o posicionamento da amostra no suporte, é feita a adição da solução absorvedora no interior do frasco e este é preenchido com oxigênio. Geralmente, o frasco utilizado é de formato cônico (semelhante a um erlenmeyer), com paredes resistentes e com tampa de vidro esmerilhado. O processo de ignição da amostra pode ser feito manualmente, por corrente elétrica ou radiação infravermelha. Após o término da combustão, o frasco pode ser agitado manualmente, promovendo a absorção dos analitos na solução absorvedora. Posteriormente, a solução é recolhida para a posterior determinação.<sup>5</sup>

A principal desvantagem desse método é relacionada à massa de amostra (geralmente 100 mg), podendo impossibilitar a determinação de alguns analitos presentes em baixas concentrações. Além do mais, pode ocorrer contaminação pelas partes metálicas do sistema, assim como pelo papel utilizado na etapa de ignição da amostra. Outro aspecto relevante, trata da baixa frequência analítica do método, que permite o manuseio de apenas uma amostra por vez. Entretanto, o método apresenta aparelhagem simples, é de baixo custo e promove a completa oxidação da matéria orgânica.<sup>5</sup>

O método de decomposição de Schöniger foi descrito por alguns autores para a decomposição de amostras botânicas, biológicas, carvão, entre outras.<sup>64,68,69</sup> Em trabalho desenvolvido por Geng *et al.*,<sup>68</sup> este método foi aplicado para amostras de carvão para posterior determinação de flúor. Para isto, água foi utilizada como solução absorvedora e a determinação foi feita por ISE. A exatidão do método foi avaliada a partir da comparação pelo método da piroidrólise e o uso de CRMs de carvão (NIST 1635, NIST 1632, BCR 040, BCR 460, GBW 11121, 11122, 11123). Os valores obtidos pela comparação com o uso da piroidrólise apresentaram concordância entre 95 e 105% e os CRMs apresentaram recuperações próximas a 99%.<sup>68</sup>

<sup>9</sup> Steyermark, A., *et al.*, *Microchemical Journal* 3 (1959) 523-527.

<sup>57</sup> Jain, A., *et al.*, *Talanta* 37 (1990) 595-598.

<sup>64</sup> Gustafsson, L., *et al.*, *Analytica Chimica Acta* 212 (1988) 133-143.

<sup>68</sup> Geng, W., *et al.*, *Fuel* 86 (2007) 715-721.

<sup>5</sup> Krug, F. J., *Métodos de preparo de amostra: fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar*, 2010, pp. 184-247.

<sup>69</sup> Ma, T. S., *et al.*, *Analytical Chemistry* 29 (1957) 140-142.

### 2.2.4.3 Combustão Iniciada por micro-ondas

Desenvolvido por Flores *et al.*<sup>70</sup> em 2004, o método de MIC pode ser considerado como uma tendência na área de preparo de amostras, sendo amplamente utilizado para amostras orgânicas e de difícil decomposição.<sup>6,13,40,52,70-72</sup> O primeiro trabalho usando este método foi desenvolvido por Barin,<sup>71</sup> para a determinação de metais e não-metals em produtos farmacêuticos, no qual a decomposição das amostras foi feita em um forno de micro-ondas doméstico com o uso de oxigênio líquido. Após, o sistema foi adaptado para um forno micro-ondas comercial, empregado para decomposição por MAWD.<sup>40</sup> Nesse sistema, um suporte de quartzo, contendo a amostra, é posicionado dentro do frasco de decomposição, também de quartzo. A amostra é prensada, geralmente, na forma de um comprimido e colocada sobre um papel filtro umedecido com uma solução de nitrato de amônio, utilizado como iniciador de combustão. A seguir, o frasco é fechado e pressurizado com oxigênio.

O frasco contendo a amostra é submetido à radiação micro-ondas que inicia a ignição da amostra. Após, uma etapa de refluxo é utilizada e os analitos são absorvidos na solução para a posterior determinação.<sup>5,40,70</sup> O frasco utilizado para a MIC pode ser observado na Figura 1.

<sup>70</sup> Flores, E. M. M., *et al.*, *Analytical Chemistry* 76 (2004) 3525-3529.

<sup>6</sup> Flores, E. M. M., *Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Determination*, Elsevier, 2014, 77-142.

<sup>13</sup> Mello, P., *et al.*, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 405 (2013) 7615-7642.

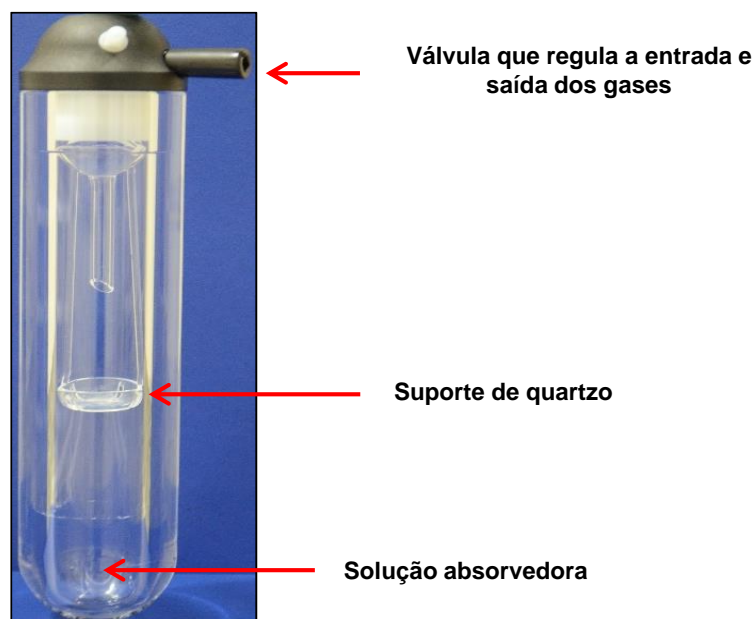
<sup>40</sup> Mesko, M. F., *Determinação de halogênios em carvão, coque petroquímico e alimentos após combustão iniciada por micro-ondas*, Programa de Pós Graduação em Química, Universidade Federal de Santa Maria, 2008, pp. 8.

<sup>52</sup> Flores, E. M. M., *et al.*, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 62 (2007) 1051-1064.

<sup>71</sup> Barin, J. S., *Determinação de metais e não metais em produtos farmacêuticos após decomposição em sistema fechado por combustão iniciada por micro-ondas*. Tese de doutorado, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Farmacêutica 2003.

<sup>72</sup> Moraes, D. P., *et al.*, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 62 (2007) 1065-1071.

<sup>5</sup> Krug, F. J., *Métodos de preparo de amostra: fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar*, 2010, pp. 184-247.



**Figura 1.** Frasco utilizado para a decomposição de amostras por MIC.

A combustão iniciada por micro-ondas combina as vantagens da decomposição por via úmida com aquecimento por micro-ondas com as vantagens da combustão em sistemas fechados (bomba de combustão e frasco de Schöniger). Dessa forma, a MIC é adequada para a posterior determinação de baixas concentrações de analitos, maior eficiência de digestão, obtenção de soluções compatíveis com os métodos de determinação, elevada frequência analítica (até 8 digestões simultâneas), uso de soluções diluídas e baixos teores de carbono residual (RCC). Essas características, tornam este método uma importante ferramenta para o preparo de amostras de plantas visando a posterior determinação de halogênios.<sup>5,20,70,73</sup>

<sup>5</sup> Krug, F. J., Métodos de preparo de amostra: fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar, 2010, pp. 184-247.

<sup>20</sup> Müller, A. L. H., et al., *Journal of the Brazilian Chemical Society* 22 (2011) 1649-1655.

<sup>70</sup> Flores, E. M. M., et al., *Analytical Chemistry* 76 (2004) 3525-3529.

<sup>73</sup> Muller, A. L. H., et al., *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 27 (2012) 1889-1894.



### 2.2.5 Extração em meio alcalino

Diversos procedimentos de extração têm sido desenvolvidos utilizando soluções alcalinas,<sup>74</sup> água,<sup>20,75</sup> solventes orgânicos<sup>76</sup> e até mesmo soluções ácidas.<sup>77</sup> Porém, uma seleção cuidadosa do solvente extrator torna-se importante, uma vez que é preciso reter o analito em solução.<sup>53</sup> Dessa forma, os extratores mais comuns para posterior determinação de halogênios são soluções de amônia, hidróxido de tetrametilamônio (TMAH), hidróxido de sódio e solução de amina terciária solúvel em água.<sup>11,13</sup>

Os métodos de extração possibilitam o uso de solventes diluídos, a utilização de quantidades elevadas de massa de amostra e o uso de temperaturas menores.<sup>13,50</sup> No entanto, estes métodos não eliminam a matriz o que, dependendo da técnica analítica empregada, pode gerar interferências na etapa de determinação devido aos maiores teores de carbono presente na solução.

Em trabalho desenvolvido por Romarís-Hortas *et al.*,<sup>43</sup> foi proposto o uso da extração em meio alcalino com aquecimento por radiação micro-ondas para a posterior determinação de bromo e iodo por ICP-MS em amostras de algas comestíveis. Neste trabalho, foram avaliados parâmetros como temperatura, volume de TMAH, tempo de aquecimento e tempo de aquecimento por micro-ondas. De acordo com os autores, a maior eficiência de extração foi observada com uso de 200 °C, 10 mL de solução de TMAH e aquecimento de 10 e 5 min, respectivamente. Para a avaliação da exatidão, foi utilizado um CRM de matriz biológica (NIES-09) e os valores obtidos foram concordantes com os resultados certificados (teste *t* de Student com nível de confiança de 95%) para ambos os elementos estudados. Além do mais, foi observado que o método da extração alcalina pode ser aplicado para vários tipos de amostras como de algas secas, comestíveis e enlatadas para posterior determinação de Br e I por ICP-MS.

<sup>74</sup> Mesko, M., *et al.*, *Anal Bioanal Chem* 398 (2010) 1125-1131.

<sup>20</sup> Müller, A. L. H., *et al.*, *Journal of the Brazilian Chemical Society* 22 (2011) 1649-1655.

<sup>75</sup> Cataldi, T. I., *et al.*, *Anal Bioanal Chem* 382 (2005) 134-141.

<sup>76</sup> Haldimann, M., *et al.*, *Analyst* 125 (2000) 1977-1982.

<sup>77</sup> Wheal, M. S., *et al.*, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 25 (2010) 1946-1952.

<sup>53</sup> Mello, P. A., *et al.*, *Analytica Chimica Acta* 746 (2012) 15-36.

<sup>11</sup> Romarís-Hortas, V., *et al.*, *Talanta* 79 (2009) 947-952.

<sup>13</sup> Mello, P., *et al.*, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 405 (2013) 7615-7642.

<sup>50</sup> Tagami, K., *et al.*, *Analytica Chimica Acta* 570 (2006) 88-92.

<sup>43</sup> Romarís-Hortas, V., *et al.*, *Food Chemistry* 124 (2011) 1747-1752.

### 2.2.6 Piroidrólise

A piroidrólise é um método de preparo de amostras geralmente empregado para matrizes inorgânicas para a posterior determinação de halogênios, boro e enxofre.<sup>5,78</sup> Além disso, pode ser utilizada para o preparo de amostras de combustíveis fósseis, nanotubos de carbono e coque de petróleo.<sup>12,78-80</sup> A instrumentação utilizada na piroidrólise é relativamente simples e pode ser facilmente construída em laboratório.<sup>81,82</sup>

Esse método baseia-se na hidrólise dos analitos em altas temperaturas (em torno de 1000 °C), na qual os elementos são volatilizados e, posteriormente, convertidos em seus respectivos ácidos inorgânicos, na presença de vapor de água. Os produtos formados são carregados por um gás até um condensador, sendo posteriormente absorvidos por uma solução adequada. O gás carreador utilizado pode ser ar comprimido, argônio e/ou oxigênio. Como solução absorvedora, podem ser utilizadas água ou soluções diluídas de carbonato ou hidróxido de amônio.<sup>5,83</sup> Na Figura 2 pode ser observado um esquema de um sistema de piroidrólise.

<sup>5</sup> Krug, F. J., Métodos de preparo de amostra: fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar, 2010, pp. 184-247.

<sup>78</sup> Antes, F. G., et al., *Microchemical Journal* 101 (2012) 54-58.

<sup>12</sup> Antes, F. G., et al., *Atomic Spectroscopy* 29 (2008) 157-164.

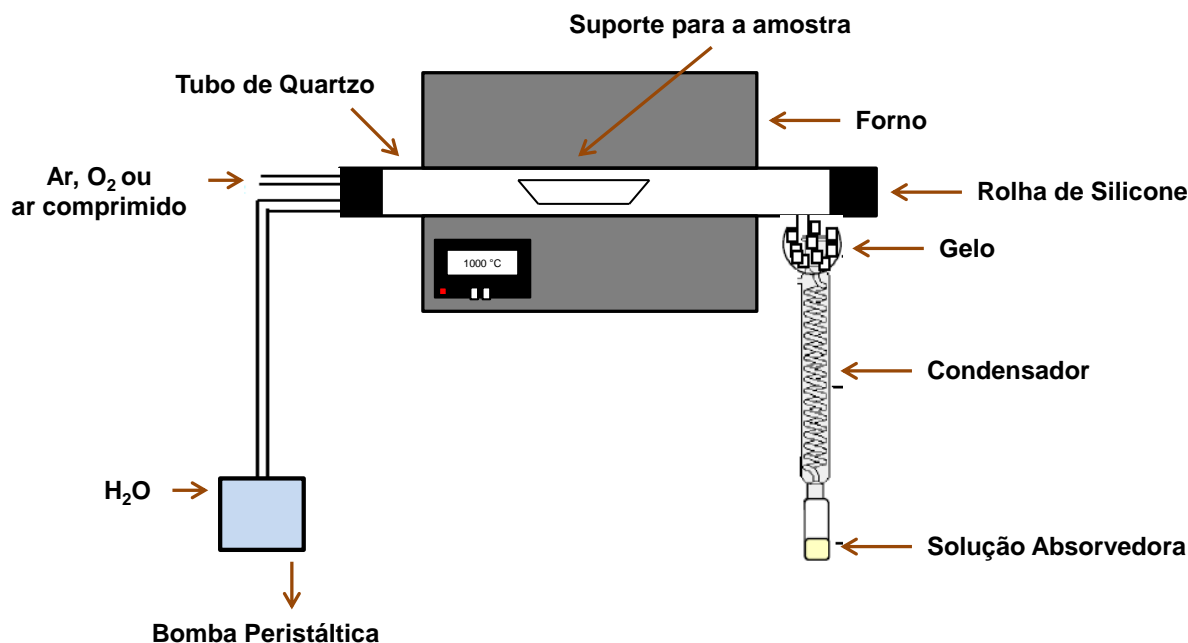
<sup>79</sup> Dressler, V. L., et al., *Analytica Chimica Acta* 466 (2002) 117-123.

<sup>80</sup> Peng, B., et al., *Fuel* 94 (2012) 629-631.

<sup>81</sup> Antes, F. G., et al., *Journal of the Brazilian Chemical Society* 23 (2012) 1193-1198.

<sup>82</sup> Taflik, T., et al., *Journal of the Brazilian Chemical Society* 23 (2012) 488-495.

<sup>83</sup> Antes, F. G., et al., *Química Nova* 33 (2010) 1130-1134.



**Figura 2.** Sistema de piroidrólise (Adaptado de Antes, 2012 <sup>78</sup>).

Embora sejam utilizadas temperaturas na faixa de 700 e 1400 °C, muitas vezes temperaturas em torno de 1000 °C são suficientes para a maioria das amostras.<sup>5</sup> Entretanto, a volatilização quantitativa do analito pode ser melhorada com a utilização de aceleradores de reação. O acelerador atua como um fundente, permitindo que, em temperaturas mais brandas, ocorra a liberação quantitativa dos analitos. Diversos compostos podem atuar como aceleradores de reação, dentre eles podem ser destacados SiO<sub>2</sub>, WO<sub>3</sub>, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> e, principalmente, V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Entretanto, cabe salientar que o uso do acelerador depende do tipo de matriz a ser decomposta e do tipo de analito a ser determinado.<sup>5,83</sup>

Geralmente, a piroidrólise é utilizada para matrizes de difícil decomposição. Em trabalho desenvolvido por Antes *et al.*,<sup>78</sup> a piroidrólise foi proposta para decomposição de nanotubos de carbono e posterior determinação de Br e I por ICP-MS. Neste trabalho foram investigadas várias condições operacionais, tais como gás de transporte, solução absorvedora (NH<sub>4</sub>OH 100 mmol L<sup>-1</sup>), tempo de aquecimento do reator (12,5 min), massa de amostra (500 mg) e o uso do auxiliar V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. A exatidão do método foi avaliada através do uso de CRM de matriz similar à amostra de

<sup>78</sup> Antes, F. G., *et al.*, *Microchemical Journal* 101 (2012) 54-58.

<sup>5</sup> Krug, F. J., *Métodos de preparo de amostra: fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar*, 2010, pp. 184-247.

<sup>83</sup> Antes, F. G., *et al.*, *Química Nova* 33 (2010) 1130-1134.

decomposição (NIST 1632c, carvão) e comparação após decomposição das amostras por MIC. A concordância obtida com o uso do CRM foi superior a 97% para Br. Em relação ao método de MIC, a concordância foi superior à 96% para Br e I. O LOD obtido para Br e I determinado por ICP-MS foi de 0,05 e 0,004  $\mu\text{g g}^{-1}$ , respectivamente.<sup>78</sup> Em outro trabalho, também desenvolvido por Antes *et al.*,<sup>12</sup> a piroidrólise foi proposta para amostras de coque de petróleo e posterior determinação de Cl por ICP-MS. Após otimização dos parâmetros operacionais, tais como solução absorvedora ( $\text{NH}_4\text{OH}$  50  $\text{mmol L}^{-1}$ ), tempo de aquecimento do reator (10 min), temperatura (750 °C) e o uso do auxiliar  $\text{V}_2\text{O}_5$ . A exatidão do método foi avaliada através do uso de CRM de matriz similar à amostra de decomposição (BCR 181, coque de carvão) e a concordância obtida foi superior a 95%. O LOD obtido para Cl foi de 3,9  $\mu\text{g g}^{-1}$ .

### 2.3 Técnicas analíticas utilizadas para determinação de halogênios.

Os halogênios podem ser determinados pelos métodos clássicos de análise, como a volumetria de precipitação, e por métodos instrumentais, como a análise por ativação neutrônica (NAA),<sup>46,84</sup> fluorescência de raios X (XRF),<sup>18</sup> potenciometria usando eletrodo íon-seletivo (ISE),<sup>85</sup> espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES),<sup>20,86</sup> espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS),<sup>11,87</sup> e cromatografia de íons (IC)<sup>88</sup>. A seguir, serão descritas as principais técnicas para a determinação de halogênios.

#### 2.3.1 Titulometria

As técnicas clássicas para a determinação de halogênios envolvendo a titulação permitem boa precisão e exatidão para amostras contendo os analitos em

<sup>78</sup> Antes, F. G., *et al.*, *Microchemical Journal* 101 (2012) 54-58.

<sup>12</sup> Antes, F. G., *et al.*, *Atomic Spectroscopy* 29 (2008) 157-164.

<sup>46</sup> Abugassa, I., *et al.*, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 278 (2008) 559-563.

<sup>84</sup> Chen, C. Y., *Food Chemistry* 84 (2004) 545-549.

<sup>18</sup> Desideri, D., *et al.*, *Microchemical Journal* 98 (2011) 186-189.

<sup>85</sup> Chen, C. Y., *Food Chemistry* 84 (2004) 545-549.

<sup>20</sup> Müller, A. L. H., *et al.*, *Journal of the Brazilian Chemical Society* 22 (2011) 1649-1655.

<sup>86</sup> Oliveira, A. A., *et al.*, *Química Nova* 35 (2012) 1299-1305.

<sup>11</sup> Romarís-Hortas, V., *et al.*, *Talanta* 79 (2009) 947-952.

<sup>87</sup> A. Fecher, P., *et al.*, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 13 (1998) 977-982.

<sup>88</sup> Itota, T., *et al.*, *Journal of Dentistry* 32 (2004) 117-122.

concentrações elevadas. Entretanto, estas técnicas possuem alguns inconvenientes, como por exemplo, a dificuldade de detecção do ponto final da titulação com o uso de indicadores, o tempo de execução elevado, a baixa sensibilidade e o elevado consumo de reagentes, gerando grande quantidade de resíduos. Com exceção do flúor, diferentes métodos de titulação com nitrato de prata para a determinação de Cl, Br e I podem ser utilizados, como o método de Mohr, Volhard e Fajans.<sup>89,90</sup>

O método de Mohr é o mais utilizado para a determinação de cloreto e brometo e está baseado na reação dos haleto com íons prata. Após o consumo do analito, o excesso de prata reage com o indicador adicionado (cromato de potássio), indicando o final da titulação pela formação do precipitado ( $\text{AgCrO}_4$ ) de cor avermelhada. Este método é susceptível a erros devido ao pH da solução, o qual deve estar entre 6,5 e 9,0, uma vez que, em soluções ácidas, pode ocorrer a conversão do dicromato a cromato, dando à solução uma coloração mais alaranjada, subestimando a concentração real do analito. Já em meio alcalino pode ocorrer a precipitação do hidróxido de prata. Sendo assim, ocorre a necessidade de um controle do pH para a obtenção de um resultado exato.<sup>89,90</sup>

A titulação empregando o método de Volhard baseia-se na adição de um excesso de solução padrão de  $\text{AgNO}_3$  à solução da amostra. Posteriormente, a prata residual (que não reagiu com o analito) é titulada com uma solução de tiocianato. O ponto final da titulação é detectado pela formação de um composto avermelhado pela reação do tiocianato com o Fe (III) utilizado como indicador. Este método pode ser aplicado para a determinação de cloreto, brometo e iodeto em soluções.<sup>89,90</sup>

No método de Fajans, o ponto de equivalência é indicado através da reação entre  $\text{AgNO}_3$  (titulante) e o haleto, presente na amostra, levando à formação de um precipitado de  $\text{AgCl}$ . Posteriormente, o pequeno excesso do titulante adicionado ao sistema reacional acarretará na reação do cátion  $\text{Ag}^+$  com o ânion do indicador de adsorção que é atraído eletrostaticamente para a superfície do precipitado formado. Como consequência, o precipitado mudará de cor indicando o ponto final da titulação. Neste método, o indicador comumente utilizado para a determinação de cloreto é a fluoresceína. Na determinação de brometo e iodeto os indicadores mais utilizados são a eosina, diclorotetraiodofluoresceína ou dimetiliodofluoresceína.<sup>89,90</sup>

<sup>89</sup> Vogel, A. I., *Análise Química Quantitativa*, LTC, 2002, pp. 462.

<sup>90</sup> Harris, D. C., *Análise Química Quantitativa* LTC, 2012, pp. 886.

Apesar de serem métodos clássicos para a determinação de halogênios, poucos são os trabalhos encontrados na literatura utilizando o método de Mohr, Volhard e Fajans para a determinação de halogênios em amostras de plantas medicinais. Em trabalhos desenvolvidos por Gilliam,<sup>91</sup> e Adriano et al.,<sup>92</sup> cloro foi extraído de amostras de plantas com ácido e posteriormente determinado por titulação.

### 2.3.2 Potenciometria

Os eletrodos íon seletivos são sensores eletroquímicos que possibilitam a determinação potenciométrica da atividade de uma espécie iônica. A potenciometria é bastante utilizada para determinação de F,<sup>81,88</sup> oferecendo limites de detecção satisfatórios, visto que as técnicas multielementares mais usadas atualmente (ICP-OES e ICP-MS), não são usualmente utilizadas para a determinação deste analito.<sup>40</sup> Além disso, a potenciometria também pode ser utilizada para determinação de Cl, Br e I.

Em amostras decompostas em um sistema de piroidrólise e por MIC, Antes et al.,<sup>83</sup> utilizaram o ISE para determinar flúor em amostras de combustíveis fósseis. Em outro trabalho, também desenvolvido por Antes et al.,<sup>81</sup> os autores utilizaram o ISE para determinar flúor em amostras de nanotubos de carbono após decomposição por piroidrólise.<sup>81</sup> Os autores comentaram que o flúor, sendo absorvido em água e soluções alcalinas, pode ser analisado diretamente por ISE. Em trabalho desenvolvido por Pereira et al.,<sup>10</sup> foi utilizada a MIC para a decomposição de amostras de nanotubos de carbono para a posterior determinação de Cl, Br e I por ICP-MS e F por IC. Entretanto, para comparação dos resultados obtidos, flúor também foi determinado por ISE e os valores obtidos apresentaram concordância superior a 95% entre IC e ISE.

<sup>91</sup> Gilliam, J. W., *Soil Science Society of America Proceedings* 35 (1971) 512-518.

<sup>92</sup> Adriano, D. C., et al., *Agronomy Journal* 65 (1973) 133-134.

<sup>81</sup> Antes, F. G., et al., *Journal of the Brazilian Chemical Society* 23 (2012) 1193-1198.

<sup>88</sup> Itota, T., et al., *Journal of Dentistry* 32 (2004) 117-122.

<sup>40</sup> Mesko, M. F., Tese de Doutorado, Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Santa Maria, 2008, pp. 8.

<sup>83</sup> Antes, F. G., et al., *Química Nova* 33 (2010) 1130-1134.

<sup>10</sup> Pereira, J. S. F., et al., *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 25 (2010) 1268-1274.

### 2.3.3 Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado e espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado

As técnicas de ICP-OES e ICP-MS são amplamente utilizadas para a determinação de metais,<sup>93</sup> não metais<sup>58</sup> e em menor escala, de halogênios<sup>50,73</sup> presentes em baixas concentrações em uma variedade de matrizes devido à capacidade multielementar, ampla faixa linear e baixos limites de detecção.

Os halogênios possuem elevada energia de ionização (17,14, 13,01, 11,84 e 10,45 eV para F, Cl, Br e I, respectivamente) e, conseqüentemente, taxa de ionização inferior, em plasma de Ar (16 eV), em comparação com outros elementos. No caso do flúor, a determinação somente é possível com o uso de espectrômetros de alta resolução.<sup>94</sup>

A técnica de ICP-OES não tem sido tão frequentemente aplicada para a determinação de halogênios, principalmente devido as linhas de emissão mais sensíveis destes elementos estarem situadas em comprimentos de onda abaixo de 190 nm (região do UV), sendo passíveis de interferências.<sup>94</sup> Nestas condições, a luz é absorvida por componentes do ar, tais como oxigênio e vapor de água que absorvem radiação em comprimentos de onda na região UV. Contudo, o desenvolvimento de sistemas evacuados e purgados permitem o uso dessa técnica para a determinação de halogênios de forma adequada. O sistema óptico dos espectrômetros é preenchido com um gás inerte, como o argônio ou nitrogênio, em uma pressão pouco acima da pressão atmosférica. Dessa maneira, o gás passa continuamente no sistema evacuado, removendo oxigênio, vapor de água e outros componentes que poderiam absorver a radiação eletromagnética na região ultravioleta. Assim, Cl, Br e I, podem ser determinados nestas condições.<sup>86,95-97</sup>

No caso de ICP-MS, durante a determinação de Cl, Br e I podem ocorrer diversas interferências vinculadas ao gás do plasma, à presença de ácidos, tampões e sais e também pela entrada de gases atmosféricos no plasma, como O<sub>2</sub> e N<sub>2</sub>. Assim,

<sup>93</sup> Mesko, M. F., *et al.*, *Microchemical Journal* 82 (2006) 183-188.

<sup>58</sup> Pereira, J. S. F., *et al.*, *Microchemical Journal* 96 (2010) 4-11.

<sup>50</sup> Tagami, K., *et al.*, *Analytica Chimica Acta* 570 (2006) 88-92.

<sup>73</sup> Muller, A. L. H., *et al.*, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 27 (2012) 1889-1894.

<sup>94</sup> Bu, X., *et al.*, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 18 (2003) 1443-1451.

<sup>86</sup> Oliveira, A. A., *et al.*, *Química Nova* 35 (2012) 1299-1305.

<sup>95</sup> Kregel-Rothensee, K., *et al.*, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 14 (1999) 699-702.

<sup>96</sup> Naozuka, J., *et al.*, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 18 (2003) 917-921.

<sup>97</sup> Hou, X., *et al.*, *Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometry*, Encyclopedia of Analytical Chemistry, John Wiley & Sons, Ltd, 2006.

geralmente é preciso considerar as possíveis interferências dos isótopos selecionados com a matriz e com os reagentes utilizados para o preparo da amostra. As principais interferências poliatômicas relatadas na literatura para os isótopos do F, Cl, Br e I são:  $^{19}\text{F}^+$  ( $^{38}\text{Ar}^{2+}$ ,  $^1\text{H}^{18}\text{O}^+$ ,  $^1\text{H}_2^{16}\text{O}^1\text{H}^+$ ),  $^{35}\text{Cl}^+$  ( $^{18}\text{O}^{16}\text{O}^1\text{H}^+$ ,  $^{34}\text{S}^1\text{H}$ ,  $^{23}\text{Na}^{12}\text{C}^+$ ,  $^{29}\text{Si}^{16}\text{O}^+$ ),  $^{37}\text{Cl}^+$  ( $^1\text{H}^{36}\text{Ar}^+$ ),  $^{79}\text{Br}^+$  ( $^{40}\text{Ar}^{38}\text{Ar}^1\text{H}^+$ ,  $^{63}\text{Cu}^{16}\text{O}^+$ ,  $^{78}\text{Se}^1\text{H}^+$ ) e  $^{81}\text{Br}^+$  ( $^{40}\text{Ar}^{40}\text{Ar}^1\text{H}^+$ ) e  $^{127}\text{I}^+$  ( $^{111}\text{Cd}^{16}\text{O}^+$ ,  $^{115}\text{In}^{12}\text{C}^+$ ,  $^{126}\text{Te}^1\text{H}^+$ ).<sup>50,94</sup> Atualmente, para a determinação de Cl, existem algumas ferramentas para corrigir e minimizar estas interferências, como as celas de colisão (CC) e de reação (DRC). Essas tecnologias utilizam-se de um gás, inerte ou não, que é adicionado entre a interface e o separador de massa. As espécies interferentes reagem ou colidem com o gás e através de um campo de radiofrequência, são eliminados, antes de entrarem no separador de massa.<sup>40,98</sup>

Além das interferências poliatômicas, também podem ocorrer alguns problemas quando utilizadas soluções ácidas. Os ácidos são responsáveis por algumas alterações nas propriedades físicas, como por exemplo, densidade, viscosidade, tensão superficial e volatilidade, podendo gerar compostos voláteis dos halogênios que permanecem no nebulizador causando o chamado efeito de memória. Entretanto, o uso de soluções alcalinas tende a minimizar estas interferências.<sup>94,99</sup>

O carbono residual contido nas soluções injetadas no ICP-OES e ICP-MS também pode causar interferências na etapa de determinação.<sup>10</sup> Dessa forma, é de grande importância que os métodos de preparo de amostra utilizados sejam adequados para a eliminação da matriz orgânica presente na amostra de forma eficiente, com baixos teores de carbono em solução.<sup>93</sup>

### 2.3.4 Cromatografia de íons

A cromatografia de íons é uma técnica adequada para a separação de ânions e cátions. A IC baseia-se na interação entre os íons de uma solução (fase móvel) e grupos poliméricos funcionais, geralmente  $\text{SO}_3^-$ ,  $\text{COO}^-$ ,  $\text{NH}_3^+$ ,  $\text{NR}_3^+$  (fase estacionária),

<sup>50</sup> Tagami, K., *et al.*, *Analytica Chimica Acta* 570 (2006) 88-92.

<sup>94</sup> Bu, X., *et al.*, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 18 (2003) 1443-1451.

<sup>40</sup> Mesko, M. F., Determinação de halogênios em carvão, coque petroquímico e alimentos após combustão iniciada por micro-ondas, Programa de Pós Graduação em Química, Universidade Federal de Santa Maria, 2008, pp. 8.

<sup>98</sup> Akbar, M., *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*, 1998, pp. 964.

<sup>99</sup> Fernandez, A., *et al.*, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 9 (1994) 217-221.

<sup>10</sup> Pereira, J. S. F., *et al.*, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 25 (2010) 1268-1274.

<sup>93</sup> Mesko, M. F., *et al.*, *Microchemical Journal* 82 (2006) 183-188.



em uma coluna cromatográfica. A competição pela distribuição dos íons presentes na amostra entre a fase móvel e a fase estacionária e o tempo de interação do analito nestas fases promove a separação e eluição de cada íon.<sup>100,101</sup> Para minimizar as interferências causadas pelos eletrólitos presentes na fase móvel, o uso de supressão química pode ser empregado para converter as espécies iônicas em espécies não-iônicas, permitindo uma condutância, relativamente, baixa.<sup>101</sup> A cromatografia de íons é uma técnica que permite a determinação de todos os halogênios na mesma análise.

Alguns trabalhos na literatura relatam esta técnica para separação e quantificação de halogênios, utilizando diferentes métodos de decomposição, como por exemplo a piroidrólise, a MIC e a MAE (dependendo da amostra).<sup>73,80,102,103</sup> Um dos principais motivos é a compatibilidade das soluções absorvedoras com a fase móvel. Estas, por serem diluídas e pelo pH dessas soluções, o qual geralmente é neutro ou levemente alcalino.

### 2.3.5 Análise por ativação neutrônica

A NAA é uma técnica de análise elementar baseada na formação de radioisótopos, através de reações nucleares entre neutrons e os átomos dos isótopos dos elementos que constituem a amostra. Dessa maneira, é possível obter um espectro de emissão de radiação gama ( $\gamma$ ) dos radioisótopos formados, sendo possível identificar os elementos presentes na amostra e quantificá-los em função da taxa de emissão da radiação  $\gamma$  de cada radioisótopo.<sup>104</sup>

A NAA é uma técnica considerada absoluta, não destrutiva e fornece informações quantitativas e qualitativas de vários elementos metálicos e não metálicos, incluindo halogênios, em diferentes matrizes como por exemplo, cereais,<sup>105</sup>

<sup>100</sup> Claudia Eith, Práticas em cromatografia de íons, Metrohm, 2006, pp. 142.

<sup>101</sup> Saari-Nordhaus, R., et al., *Journal of Chromatography A* 956 (2002) 15-22.

<sup>73</sup> Muller, A. L. H., et al., *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 27 (2012) 1889-1894.

<sup>80</sup> Muller, A. L. H., et al., *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 27 (2012) 1889-1894.

<sup>102</sup> Müller, A. L. H., et al., *Analytical Letters* 45 (2012) 1004-1015.

<sup>103</sup> Pereira, J. S. F., et al., *Journal of Chromatography A* 1213 (2008) 249-252.

<sup>104</sup> Orvini, E., et al., *Microchemical Journal* 59 (1998) 160-172.

<sup>105</sup> Shinonaga, T., et al., *Science of The Total Environment* 267 (2001) 33-40.

algas,<sup>48</sup> solos,<sup>47,49</sup> e alimentos.<sup>106,107</sup> Para a determinação de halogênios em plantas medicinais, a NAA também tem sido usada, sendo encontrados trabalhos na literatura que datam a década de 60 até a atualidade.<sup>35,47,49,108-112</sup> Esta técnica possui alta sensibilidade e requer mínimo pré-tratamento da amostra, especialmente para sólidos. Entretanto, a NAA não é uma técnica comum a muitos laboratórios, pois necessita de um reator nuclear, exigindo profissionais altamente qualificados para trabalhar com radioatividade. Além disso, o custo do equipamento é elevado quando comparado com outros equipamentos utilizados para a determinação de halogênios, como por exemplo um cromatógrafo de íons.<sup>104,113</sup>

- 
- <sup>48</sup> Mosulishvili, L. M., *et al.*, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 30 (2002) 87-97.
- <sup>47</sup> Moreira, H. S., *et al.*, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 290 (2011) 615-621.
- <sup>49</sup> Wasim, M., *et al.*, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 292 (2012) 653-659.
- <sup>106</sup> Bhagat, P. R., *et al.*, *Talanta* 71 (2007) 1226-1232.
- <sup>107</sup> Hou, X., *et al.*, *Science of The Total Environment* 193 (1997) 161-167.
- <sup>35</sup> Birhanu, W. T., *et al.*, Application of Instrumental Neutron Activation Analysis (INAA) in the Analysis of Essential Elements in Six Endemic Ethiopian Medicinal Plants, 2014, pp 213-227.<sup>47</sup> Moreira, H. S., *et al.*, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 290 (2011) 615-621.
- <sup>108</sup> Naidu, G. R. K., *et al.*, *Applied Radiation and Isotopes* 50 (1999) 947-953.
- <sup>109</sup> Kumar, A., *et al.*, *Food Chemistry* 89 (2005) 441-448.
- <sup>110</sup> Saenko, G. N., *et al.*, *Marine Biology*. 47 (1978) 243-250.
- <sup>111</sup> Yamada, Y., *Talanta* 15 (1968) 1135-1141.
- <sup>112</sup> Choudhury, R. P., *et al.*, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 276 (2008) 85-93.
- <sup>104</sup> Orvini, E., *et al.*, *Microchemical Journal* 59 (1998) 160-172.
- <sup>113</sup> Moreda-Pineiro, A., *et al.*, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 26 (2011) 2107-2152.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

---

*Neste capítulo são descritos os equipamentos, reagentes e amostras, utilizados para o desenvolvimento deste trabalho, bem como os procedimentos empregados para o preparo e análise de plantas medicinais.*

*É apresentada, também, uma descrição detalhada dos métodos de preparo de amostras (MIC, MAWD, MAE e AE) para a posterior determinação de halogênios por IC, ISE, ICP-OES e ICP-MS. Além disso, é apresentada a descrição dos procedimentos utilizados para a avaliação da recuperação de Br com uso de KBr e CH<sub>3</sub>Br nos métodos propostos.*

### 3.1 Instrumentação

No presente trabalho, foram avaliados quatro métodos de preparo de amostras para o tratamento de plantas medicinais visando à determinação de F, Cl, Br e I. Os métodos de preparo avaliados foram: combustão iniciada por micro-ondas, digestão por via úmida assistida por radiação micro-ondas, extração alcalina assistida por radiação micro-ondas e extração alcalina em sistema aberto com aquecimento convencional. Cabe destacar que o método por combustão iniciada por micro-ondas, foi utilizado como método de referência para os demais métodos avaliados.

Para a decomposição das amostras por MIC e MAWD foi utilizado um forno de micro-ondas (*Multiwave 3000*<sup>®</sup> Microwave sample preparation system, Anton Paar, Áustria). Este mesmo aparelho também foi utilizado para o procedimento de extração alcalina (MAE). Esse sistema é equipado com um rotor com capacidade máxima de até 8 frascos de quartzo com volume interno de 80 mL. Este forno de micro-ondas possui condições máximas de temperatura, potência e pressão de 280 °C, 1400 W e 80 bar, respectivamente. Adicionalmente, possui sensores de temperatura e pressão, os quais permitem o controle destes parâmetros em tempo real durante a etapa de aquecimento. Em todos os procedimentos avaliados (MIC, MAWD e MAE) foram utilizados frascos de quartzo. Para o procedimento de decomposição por MIC foi utilizado um suporte de quartzo para a introdução da amostra no interior do frasco de decomposição. Estes suportes foram confeccionados no Laboratório de Hialotecnica da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). O forno de micro-ondas, assim como o rotor equipado com os frascos de quartzo, pode ser observado na Figura 3.

O procedimento de extração alcalina em sistema aberto com aquecimento convencional foi feito usando um bloco de aquecimento (modelo DK 42, Velp Scientífica, Itália) equipado com frascos de vidro com 1,8 e 24,4 cm de diâmetro e altura, respectivamente. Esse sistema possui ajuste e programação de temperatura.



**Figura 3.** A) Forno de micro-ondas comercial *Multiwave 3000*<sup>®</sup>. B) Rotor equipado com 8 frascos de quartzo utilizado para a decomposição e extração das amostras.<sup>114</sup>

Para a determinação de Cl e Br por ICP-OES foi utilizado um espectrômetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado com vista axial (modelo Cirus CCD, Spectro Analytical Instruments, Alemanha). O espectrômetro foi equipado com uma câmara de nebulização duplo passo (tipo *Scott*) e um nebulizador de fluxo cruzado (*cross flow*). Esse mesmo equipamento também foi utilizado para a determinação do teor de carbono nas soluções finais obtidas pelos diferentes métodos de preparo de amostra avaliados.

Para a determinação de Br e I foi utilizado um espectrômetro de massa com plasma indutivamente acoplado (modelo Elan<sup>®</sup> DRC II, Perkin Elmer SCIEX, EUA), equipado com um nebulizador pneumático (modelo TQ-30-A3, Meinhard, EUA) e câmara de nebulização ciclônica (Glass Expansion, Austrália). A otimização dos parâmetros instrumentais foi feita utilizando uma solução contendo  $1 \mu\text{g L}^{-1}$  de In e La e  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  de Ba. Desta forma, as intensidades dos sinais para  $^{111}\text{In}^+$ ,  $^{139}\text{La}^+$  e  $^{155}\text{LaO}^+$  e  $^{138}\text{Ba}^+$  e  $^{138}\text{Ba}^{++}$  foram monitoradas para verificação da sensibilidade do equipamento e formação de óxidos e íons de carga dupla. As condições operacionais utilizadas no equipamento de ICP-OES e ICP-MS estão mostradas na Tabela 3.

**Tabela 3.** Parâmetros operacionais para as determinações de Cl, Br, I e C por ICP-OES e ICP-MS.

Parâmetro	ICP-OES	ICP-MS
Potência do gerador de radiofrequência (W)	1550	1300
Vazão principal de argônio (L min <sup>-1</sup> )	12,0	15,0
Vazão auxiliar de argônio (L min <sup>-1</sup> )	1,0	1,2
Vazão de argônio do nebulizador (L min <sup>-1</sup> )	1,00	1,05
Cones (amostragem e skimmer)	-	Pt
Câmara de nebulização	Scott	Ciclônica
Nebulizador	Cross flow	Concêntrico
Isótopos (m/z)	-	<sup>79</sup> Br, <sup>127</sup> I, <sup>35</sup> Cl
Linhas de emissão, nm		
Cl	134,724	-
Br	154,065	-
I	183,038	-
C*	193,030	-
Y*	371,029	-
Replicatas	5	5

\*Determinação de carbono residual

Para a determinação de fluoreto, foi utilizado um potenciômetro digital (modelo 781 pH/Ion Meter, Metrohm, Suíça) equipado com um eletrodo íon seletivo para fluoreto (modelo 6.0502.150, Metrohm, Suíça) e com um eletrodo de referência de Ag/AgCl (modelo 6.0726.100, Metrohm, Suíça).

Fluoreto também foi determinado por cromatografia de íons utilizando um cromatógrafo equipado com detector de condutividade e um sistema de supressão química (modelo 850 Professional IC, Metrohm, Suíça). Foi utilizada uma coluna de troca iônica com grupos de amônio quaternário suportados em poli(álcool vinílico) com 250 x 4 mm de d. i. e 5 µm de diâmetro de partícula (modelo Metrosep A Supp 5, Metrohm). A vazão máxima da coluna é de 0,8 mL min<sup>-1</sup> e a determinação dos ânions deve ser feita em uma faixa de pH de 3 a 12. Uma pré-coluna do mesmo material de preenchimento da coluna de troca iônica também foi utilizada (modelo Metrosep A

supp 4/5 Guard, 5 X 4 mm de diâmetro, 5 µm de diâmetro de partícula, Metrohm). O cromatógrafo é equipado com um amostrador automático com capacidade de 112 amostras. Como fase móvel foi utilizada uma solução de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 3,2 mmol L<sup>-1</sup> e NaHCO<sub>3</sub> 1 mmol L<sup>-1</sup> com uma vazão de 0,7 mL min<sup>-1</sup>, sendo usada uma alça de amostragem de 100 µL.

Para o procedimento de determinação de cinzas foi utilizado um forno tipo mufla (modelo L0913, Jung®, Brasil), com capacidade de 9 L e que pode ser operado em uma temperatura máxima de 1200 °C. Este equipamento também possui sensores, os quais permitem o ajuste e o monitoramento da temperatura durante a etapa de aquecimento. Para a determinação de cinzas totais e cinzas insolúveis foram utilizados cadinhos de platina de 4 cm diâmetro interno e 1 mm de espessura, com capacidade de 50 mL. Para os demais procedimentos de aquecimento na determinação de cinzas também foi utilizado uma chapa de aquecimento (modelo MA 249, Marconi, Brasil).

Para a determinação de acidez nos digeridos, foi utilizado um titulador automático (modelo 836 Titrand Metrohm, Suíça), equipado com um eletrodo de referência de Ag/AgCl (modelo 6.0726.100, Metrohm, Suíça).

Um banho de ultrassom (modelo P 120 H, Elmasonic, Alemanha) com potência de 300 W e frequência de 37 kHz foi utilizado para a descontaminação do papel filtro utilizado na MIC.

Para a secagem dos reagentes sólidos utilizados no preparo das soluções foi utilizada uma estufa convencional com circulação de ar (modelo 400-5ND, nova ética, Brasil). As amostras de plantas foram cominuídas em um moinho de facas (modelo A 11 B S 32, IKA®, China). Os procedimentos de pesagem das amostras foram feitos em balança analítica digital com resolução de 0,0001 g e com capacidade de 220 g (modelo AY220, Shimadzu, Japão). Para a caracterização das amostras, quanto ao teor de carbono e nitrogênio foi utilizado um analisador elementar (modelo Flash EA 1112, Thermo Electron Corporation, Alemanha).

No procedimento de MIC, as amostras foram preparadas, na forma de comprimidos, em uma prensa hidráulica de aço por 1 min a 3 ton (modelo Hydraulic Press, Specac, Inglaterra).

Uma chapa de aquecimento (Velp Scientifica, Itália) foi utilizada para a descontaminação dos materiais utilizados nos procedimentos de MIC, MAWD, MAE e AE.

### 3.2 Reagentes

Neste trabalho, todos os reagentes utilizados foram de grau analítico. A água utilizada foi destilada e deionizada em uma coluna de troca iônica, purificada em um sistema Milli-Q® (Millipore, EUA) com resistividade final de 18,2 MΩ cm. Ácido nítrico P.A. (65% Merck, Alemanha) foi utilizado para a descontaminação dos materiais utilizados em todos os procedimentos.

As soluções de calibração para a determinação de Cl, Br e I por ICP-OES e ICP-MS foram preparadas em uma solução de NH<sub>4</sub>OH 10 mmol L<sup>-1</sup> (Merck). Os padrões utilizados para a calibração foram preparados a partir de soluções estoques de sais de NaCl, KBr e KI (Merck) em água. As concentrações utilizadas para a curva de calibração do ICP-OES e ICP-MS foram preparadas na faixa de 250 a 40000 µg L<sup>-1</sup> e de 0,1 a 10 µg L<sup>-1</sup>, respectivamente. As soluções de referência utilizadas para determinação de carbono por ICP-OES foram preparadas a partir da dissolução de ácido cítrico (Vetec, Brasil) em água. Foi feita a adição de ítrio (Spex, EUA) como padrão interno nas soluções de referência e amostras.

O plasma dos equipamentos de ICP-OES e ICP-MS foi gerado a partir de argônio de alta pureza (99,998%, White Martins, Brasil) sendo também utilizado como gás de nebulização e gás auxiliar.

A determinação de fluoreto por ISE foi feita na presença de solução tampão de ajuste da força iônica total (TAFIT).<sup>115</sup> Esta solução foi preparada através da dissolução de NaCl (Merck), ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA) (Merck) e ácido acético (Merck). Após, a solução teve seu pH ajustado a 5,5 com hidróxido de sódio P.A (Merck). A concentração utilizada para a curva de calibração do equipamento de ISE foi preparada a partir da dissolução do sal NaF (Merck) em água, na faixa de 250 e 10000 µg L<sup>-1</sup>.

Na decomposição por MIC foi utilizada uma solução NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> 6 mol L<sup>-1</sup>, preparada a partir da dissolução do reagente sólido (Merck) em água. Esta solução, juntamente com discos de papel filtro com baixo teor de cinzas (90 mm de diâmetro, nº 5891, Schleicher & Schüll, Alemanha), foi utilizada para auxiliar no processo de combustão. A pressurização dos frascos foi feita com oxigênio com pureza de 99,6%

<sup>115</sup> Frant, M., et al., *Analytical Chemistry* 40 (1968) 1169-1171.



(White Martins). A solução de  $\text{NH}_4\text{OH}$  utilizada como solução absorvedora, foi preparada a partir de uma solução de amônia 28-30% (Vetec) em  $\text{H}_2\text{O}$ .

No método de MAWD as soluções de  $\text{HNO}_3$  1, 4, 7 e 14,4 mol  $\text{L}^{-1}$  utilizadas na decomposição das amostras foram preparadas a partir de ácido nítrico P.A 65% (Merck). O ácido nítrico utilizado foi destilado em um sistema de sub-ebulição (modelo DuoPUR® 2.01E, Milestone, Itália). Em adição,  $\text{H}_2\text{O}_2$  30% (Merck) foi utilizado como auxiliar de decomposição.

No procedimento de MAE e AE, as soluções extratoras utilizadas foram preparadas a partir de solução de amônia (Merck) e hidróxido de tetrametilamônio (TMAH) (Merck) em água.

A determinação de acidez por titulação em meio aquoso foi feita utilizando uma solução de KOH (Merck) 0,1 mol  $\text{L}^{-1}$ . Essa solução foi preparada através da dissolução do reagente em água e foi padronizada com biftalato de potássio (Merck).

Para os métodos de preparo de amostra avaliados (MIC, MAWD, MAE e AE) foram feitos testes de recuperação de Br, utilizando uma solução de referência de KBr 1000 mg  $\text{L}^{-1}$  (Merck) e  $\text{CH}_3\text{Br}$  1000 mg  $\text{L}^{-1}$  em etanol (SPEX).

As soluções utilizadas para verificação de interferências no IC foram feitas a partir dos reagentes Acetato de Sódio (Vetec), Ácido Oxálico P.A (Vetec) e Ácido Fórmico P.A 88% (Reagen, Brasil).

### 3.3 Amostras e CRM

As amostras de plantas medicinais utilizadas neste trabalho foram adquiridas, livre de umidade, em uma farmácia local, na cidade de Santa Maria (Rio Grande do Sul). Previamente ao uso, as amostras foram cominuídas em moinho de facas (diâmetro < 1 mm) e armazenadas à temperatura ambiente. As plantas e suas respectivas partes utilizadas neste trabalho estão representados na Tabela 4.

**Tabela 4.** Amostras de plantas utilizadas para a determinação de F, Cl, Br e I por MIC.

Nome científico	Nome popular	Parte da planta utilizada
<i>Illicium verum</i>	anis estrelado	semente
<i>Chamomilla recutita</i>	camomila	inflorescência
<i>Rhamnus purshiana</i>	cáscara sagrada	folha
<i>Aesculus hippocastanum</i>	castanha da índia	folha
<i>Trigonella foenum-graecum</i>	feno grego	semente
<i>Zinziber officinale R.</i>	gengibre	caule
<i>Melissa officinalis L.</i>	melissa	folha
<i>Phyllanthus niruri L.</i>	quebra-Pedra	folha

Cabe destacar que, posteriormente a caracterização das plantas, a amostra de gengibre foi escolhida para a otimização do procedimento de MAE, por conter F, Cl, Br e I em sua composição em concentração possível de ser determinada pelas técnicas escolhidas. Para verificar a exatidão dos métodos de MIC e MAE, foram utilizados dois materiais de referência certificados (CRMs) de origem botânica (NIST 1572, *Citrus leaves* e NIST 1547, *Peach leaves*).

### 3.3.1 Caracterização das amostras de plantas medicinais

#### 3.3.1.1 Avaliação da concentração de halogênios em plantas após MIC

A decomposição por combustão iniciada por micro-ondas foi feita com base em trabalho descrito na literatura para a decomposição de soja e derivados, o qual foi feito utilizando solução alcalina.<sup>61</sup> No procedimento de MIC, aproximadamente 500 mg de amostra foram prensadas na forma de comprimidos. Posteriormente, a amostra foi posicionada sobre o suporte de quartzo, contendo um disco de papel umedecido com 50 µL de uma solução de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  6 mol L<sup>-1</sup>. Após esta etapa, o suporte de quartzo contendo a amostra foi inserido no interior do frasco de decomposição contendo 6 mL de uma solução de  $\text{NH}_4\text{OH}$  100 mmol L<sup>-1</sup>, usada como solução absorvedora. Os

<sup>61</sup> Barbosa, J., et al., *Food Analytical Methods* 6 (2013) 1065-1070.

frascos foram fechados, fixados no rotor e pressurizados com 20 bar de O<sub>2</sub>. O programa de aquecimento utilizado foi de: *i*) 1400 W por 5 min e *ii*) 0 W por 20 min para etapa de resfriamento. A etapa de refluxo foi utilizada em todos os ciclos de decomposição, visto que esta promove uma maior eficiência de absorção dos analitos nas soluções utilizadas.

Após o término do programa e resfriamento dos frascos, as paredes dos frascos e os suportes foram lavados com água e as soluções obtidas foram recolhidas em frascos de polipropileno e aferidas a 30 mL com água. Os frascos de quartzo utilizados na decomposição por MIC foram descontaminados através da adição de 6 mL de HNO<sub>3</sub> concentrado e aquecimento em forno de micro-ondas por 10 min a 1400 W e, posteriormente descontaminados, pela adição de 6 mL de H<sub>2</sub>O e aquecimento por radiação micro-ondas por 10 min a 1000 W.

### **3.3.1.2 Determinação do teor de cinzas totais**

A determinação de cinzas totais das amostras de plantas foi feita baseada em procedimentos descritos na Farmacopeia Brasileira.<sup>19</sup> Nesse procedimento, 3 g de amostra foram transferidos para cadinhos de platina para calcinação em um forno tipo mufla. O programa de aquecimento utilizado foi: *i*) 150 °C por 30 min, *ii*) 250 °C por 60 min e *iii*) 450 °C por 90 min.

Após a calcinação e o resfriamento dos cadinhos, foram pesados e o teor de cinzas foi determinado em relação à massa inicial de amostra.

### **3.3.1.3 Determinação do teor de cinzas insolúveis**

Neste procedimento, o resíduo obtido da determinação de cinzas totais foi fervido durante 25 min em uma solução HCl 7% (v/v). Após o tempo de fervura, o resíduo insolúvel em ácido foi recolhido em um papel filtro, isento de cinza, e lavado com água até que a remoção do filtrado fosse observada. O papel filtro contendo o resíduo foi transferido para um cadinho de platina e incinerado em um forno tipo mufla. O programa de aquecimento utilizado para a incineração do papel filtro contendo a amostra foi: *i*) 150 °C por 30 min, *ii*) 250 °C por 60 min e *iii*) 450 °C por 90 min.

<sup>19</sup> ANVISA, Farmacopeia Brasileira, 5ª ed., Brasília, 2010, pp. 13-195.

Após a calcinação, os cadinhos foram retirados da mufla e colocados diretamente em um dessecador, contendo sílica, para resfriamento. Quando resfriados, foram pesados e o percentual de cinzas insolúveis foi calculado em relação a massa do cadinho antes e após a incineração à massa inicial de cinzas pesada.

### 3.4 Métodos de preparo de amostras avaliados para a posterior determinação de halogênios em amostras de plantas medicinais

Neste trabalho, outros três métodos de preparo de amostras também foram investigados para a posterior determinação de halogênios em amostras de plantas medicinais. Os métodos avaliados foram: *i)* MAWD, *ii)* MAE e *iii)* AE. Cabe salientar que MIC, descrito anteriormente (ver item 3.3.1.1, *Materiais e Métodos*) foi utilizado como método de referência para os demais métodos avaliados. Os procedimentos utilizados para cada método serão descritos a seguir.

#### 3.4.1 Decomposição por MAWD

O procedimento de decomposição das amostras de plantas por via úmida foi feito seguindo as condições fornecidas pelo fabricante do forno de micro-ondas utilizado para decomposição de plantas. Aproximadamente, 500 mg de amostra foram pesados diretamente no interior dos frascos de quartzo e foi feita a adição de 4,8 mL de solução de HNO<sub>3</sub> e 1,2 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30%, foram adicionados sobre a amostra. As seguintes concentrações de ácido nítrico foram avaliadas: 1, 4, 7 e 14,4 mol L<sup>-1</sup>. Como teste adicional, também foi avaliada a recuperação dos halogênios utilizando HNO<sub>3</sub> 1 mol L<sup>-1</sup>, na ausência de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. O programa de aquecimento utilizado na decomposição por MAWD pode ser observado na Tabela 5.

**Tabela 5.** Programa de aquecimento do forno de micro-ondas utilizado para decomposição de plantas medicinais por MAWD.

Etapa	Potência, W	Rampa, min	Tempo de permanência, min	Nível da exaustão
1	600	10	35	1
2*	0	0	20	2

Taxa de aumento de pressão: 3 bar s<sup>-1</sup>, temperatura máxima 280 °C, pressão máxima 80 bar, \*etapa de resfriamento.

Após o término das etapas de aquecimento e resfriamento por micro-ondas, os frascos permaneceram em repouso à temperatura ambiente por 30 min e, em seguida as soluções obtidas foram recolhidas em frascos de polipropileno e aferidas a 25 mL com água. Os frascos de quartzo utilizados na decomposição por MAWD foram descontaminados através da adição de 6 mL de HNO<sub>3</sub> concentrado e aquecimento em forno de micro-ondas por 10 min a 1400 W e, posteriormente descontaminados, pela adição de 6 mL de H<sub>2</sub>O e aquecimento por radiação micro-ondas por 10 min a 1000 W.

### 3.4.2 Extração alcalina assistida por radiação micro-ondas

O método de extração de halogênios em plantas medicinais utilizando radiação micro-ondas foi feito baseado em trabalhos encontrados na literatura, que utilizam soluções de TMAH para extração de halogênios em amostras botânicas.<sup>11,42,43</sup> Para o procedimento de extração, foram utilizados 500 mg de amostra. As amostras foram transferidas para o interior dos frascos de quartzo juntamente com a solução extratora a ser utilizada. As soluções extratoras avaliadas foram H<sub>2</sub>O, TMAH 0,11 mol L<sup>-1</sup> e NH<sub>4</sub>OH 0,11 mol L<sup>-1</sup>.<sup>73</sup>

No procedimento de MAE foram avaliados os seguintes parâmetros: o volume de solução extratora (6 e 10 mL), a temperatura de aquecimento (90 e 240 °C) e o tempo de extração (5 e 20 min), totalizando 8 experimentos. As condições de cada experimento podem ser observadas na Tabela 6. O programa do forno de micro-ondas utilizado foi baseado na temperatura de decomposição do TMAH (90 °C) e em temperatura superior (240 °C).

<sup>11</sup> Romarís-Hortas, V., *et al.*, *Talanta* 79 (2009) 947-952.

<sup>42</sup> Chen, J. H., *et al.*, *Electrophoresis* 28 (2007) 4227-4232.

<sup>43</sup> Romarís-Hortas, V., *et al.*, *Food Chemistry* 124 (2011) 1747-1752.

<sup>73</sup> Muller, A. L. H., *et al.*, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 27 (2012) 1889-1894.

**Tabela 6.** Condições experimentais avaliadas para a extração dos halogênios nas amostras de plantas por MAE.

Experimento	Variáveis		
	Temperatura (°C)	Tempo (min)	Volume (mL)
1	90	5	6
2	240	5	6
3	90	20	6
4	240	20	6
5	90	5	10
6	240	5	10
7	90	20	10
8	240	20	10

Após o término do programa de aquecimento, as soluções resultantes foram recolhidas em frascos de polipropileno e aferidas a 25 mL com água. Os frascos de quartzo utilizados na extração por MAE foram descontaminados através da adição de 6 mL de HNO<sub>3</sub> concentrado e aquecimento em forno de micro-ondas por 10 min a 1400 W e, posteriormente, descontaminados, pela adição de 6 mL de H<sub>2</sub>O e aquecimento por radiação micro-ondas por 10 min a 1000 W.

### 3.4.3 Extração alcalina em sistema aberto com aquecimento convencional

O método de extração de halogênios de plantas medicinais foi investigado em sistema aberto utilizando H<sub>2</sub>O, TMAH 0,11 mol L<sup>-1</sup> e NH<sub>4</sub>OH 0,11 mol L<sup>-1</sup> como solução extratora. Para o procedimento de extração, aproximadamente 500 mg de amostra foram inseridos diretamente no interior dos frascos de vidro. Posteriormente, 6 mL da solução extratora foram adicionados sobre a amostra. A extração foi feita em bloco de aquecimento e o programa de aquecimento utilizado foi de 20 min a 120 °C.

Após o término do programa de aquecimento e o resfriamento dos frascos, as soluções resultantes foram recolhidas em frascos de polipropileno e aferidas a 35 mL

com água. Os frascos de vidro utilizados na extração por AE foram descontaminados através da adição de 6 mL de HNO<sub>3</sub> concentrado e aquecimento no bloco de aquecimento por 1 h a 120 °C. Após esta etapa, foi feita a descontaminação com adição de 6 mL de H<sub>2</sub>O e aquecimento por 1h.

### 3.5 Avaliação da recuperação de Br com o uso de KBr e CH<sub>3</sub>Br

Após a avaliação dos métodos de preparo de amostras (MIC, MAWD, MAE e AE) foi feito um estudo da recuperação de Br a partir da adição de KBr e CH<sub>3</sub>Br. Este estudo tem por finalidade avaliar a recuperação de Br adicionado na forma de um sal inorgânico (KBr) e na forma orgânica (CH<sub>3</sub>Br). Cabe salientar que os experimentos de recuperação de Br foram aplicados em todos os métodos de preparo de amostra avaliados (MIC, MAWD, MAE e AE). O CH<sub>3</sub>Br é um fumigante utilizado em práticas agrícolas, podendo ser um contaminante de Br em plantas. Para estes experimentos, foram utilizadas soluções de KBr 1000 mg L<sup>-1</sup> e CH<sub>3</sub>Br 1000 mg L<sup>-1</sup>.

Na avaliação da recuperação de Br no método da MIC, (procedimento descrito no item 3.3.1.1, *Materiais e Métodos*), soluções de referência de KBr e CH<sub>3</sub>Br 1000 mg L<sup>-1</sup>, foram adicionadas sobre a amostra, separadamente. A solução absorvedora avaliada foi NH<sub>4</sub>OH 100 e 250 mmol L<sup>-1</sup> (6 mL). Como teste adicional, foi avaliado o repouso das amostras antes da abertura da válvula de escape dos gases quando utilizado a solução absorvedora de NH<sub>4</sub>OH 100 mmol L<sup>-1</sup>. Nesta condição, após a retirada do rotor do forno de micro-ondas, o mesmo permaneceu em repouso durante 1 h.

Para a avaliação da recuperação de Br por MAWD, MAE e AE (procedimentos descritos nos itens 3.4.1, 3.4.2 e 3.4.3, *Materiais e Métodos*), soluções de referência de KBr e CH<sub>3</sub>Br 1000 mg L<sup>-1</sup> foram adicionadas sobre a amostra. Na decomposição por MAWD, foi utilizada 4,8 mL de uma solução de HNO<sub>3</sub> 1 mol L<sup>-1</sup> e 1,2 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30%. No método de MAE e AE, foi avaliada a recuperação de Br a partir da extração com H<sub>2</sub>O e soluções de NH<sub>4</sub>OH 0,11 mol L<sup>-1</sup> e TMAH 0,11 mol L<sup>-1</sup>.

### 3.6 Determinação do teor de carbono e acidez residual

O teor de carbono presente nas soluções obtidas por MIC, MAWD, MAE e AE foi determinado por ICP-OES. As amostras foram diluídas em HNO<sub>3</sub> 5% e uma

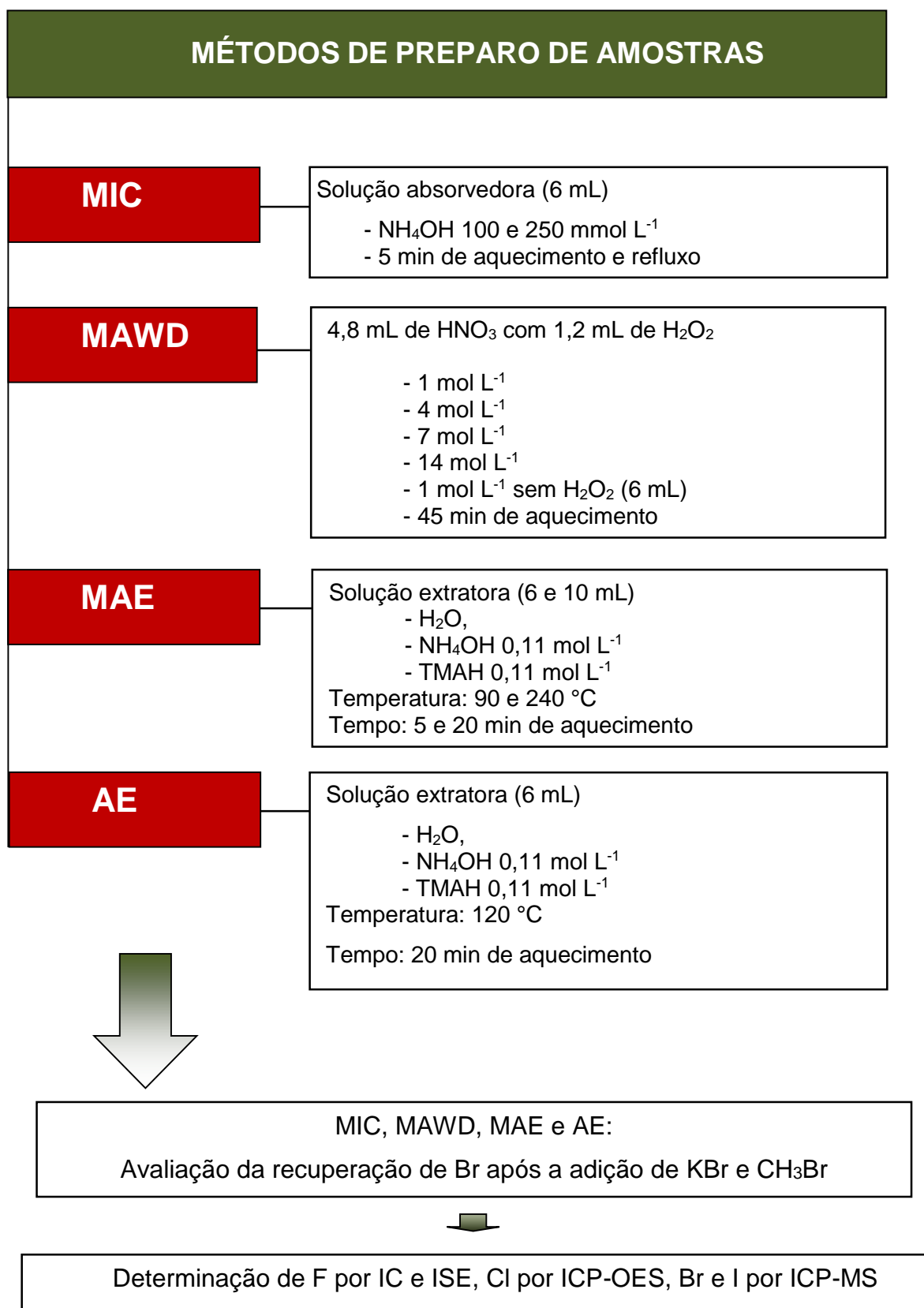
---

solução de Y foi adicionada como padrão interno. Previamente a etapa de determinação, as soluções foram purgadas com argônio para eliminação dos gases dissolvidos. Este procedimento foi efetuado por 2 min previamente a leitura dos padrões e das amostras.

Para a determinação da acidez das soluções obtidas após o método de MAWD, 100 mg da amostra foi diluída em água e titulada com uma solução de KOH 0,1 mol L<sup>-1</sup>.

Na Figura 4 é mostrado um esquema geral dos parâmetros que foram avaliados para os diferentes métodos de preparo de amostras.





**Figura 4.** Esquema geral dos diferentes parâmetros para os métodos de preparo de amostras avaliado.

## 4. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

---

*Neste capítulo são apresentados e discutidos os resultados obtidos por IC, ISE, ICP-OES e ICP-MS para F, Cl, Br e I após a avaliação de métodos de preparo de amostras para plantas medicinais (MIC, MAWD, MAE e AE). Em seguida, serão apresentados e discutidos os resultados obtidos para a recuperação de Br após a adição de KBr e CH<sub>3</sub>Br em todos os métodos de preparo de amostras avaliados.*

A caracterização das amostras de anis estrelado, camomila, cáscara sagrada, castanha da índia, feno grego, gengibre, melissa e quebra-pedra foi feita através da determinação dos halogênios (F, Cl, Br e I) por MIC. Posteriormente, foram escolhidas três plantas (camomila, gengibre e quebra-pedra) para a determinação do teor de cinzas totais e insolúveis, teor de carbono e nitrogênio e otimização dos demais métodos de preparo de amostras avaliados para a determinação de halogênios (MAWD, MAE e AE). Cabe destacar que a MIC, foi utilizada como referência para otimização dos demais métodos de preparo de amostras avaliados (MAWD, MAE e AE). Além disso, no procedimento de MIC, foi avaliada a exatidão do método a partir da decomposição de dois CRMs (NIST 1572, *Citrus leaves* e NIST 1547, *Peach leaves*).

#### 4.1 Determinação de halogênios após combustão iniciada por micro-ondas

A MIC é um método de preparo de amostras já estabelecido na literatura, sendo utilizado para a decomposição de uma infinidade de matrizes, muitas delas de difícil decomposição. Adicionalmente, neste método podem ser utilizadas soluções absorvedoras ácidas e alcalinas diluídas possibilitando a posterior etapa de determinação de metais, não metais e halogênios em baixas concentrações.<sup>6,20,53,73,102</sup> Cabe destacar que na maioria das decomposições feitas por MIC, o teor de carbono residual nas soluções resultantes é inferior a 1%, o que minimiza interferências na etapa de determinação quando as técnicas baseadas em plasma são utilizadas.

Primeiramente, foi avaliada a concentração de F, Cl, Br e I em oito amostras de plantas medicinais (anis estrelado, camomila, cáscara sagrada, castanha da índia, feno grego, gengibre, melissa e quebra-pedra). Esta avaliação foi feita baseando-se em um trabalho da literatura, o qual utilizou a MIC para posterior determinação de Cl, Br e I em amostras de soja e derivados.<sup>61</sup> Dessa maneira, foram utilizadas 500 mg de amostra e 6 mL de uma solução de  $\text{NH}_4\text{OH}$  100 mmol  $\text{L}^{-1}$ , para retenção dos analitos. O procedimento utilizado, assim como o programa de aquecimento, está descrito no

<sup>6</sup> Flores, E. M. M., *Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Determination*, Elsevier, 2014, 77-142.

<sup>20</sup> Müller, A. L. H., *et al.*, *Journal of the Brazilian Chemical Society* 22 (2011) 1649-1655.

<sup>53</sup> Mello, P. A., *et al.*, *Analytica Chimica Acta* 746 (2012) 15-36.

<sup>73</sup> Muller, A. L. H., *et al.*, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 27 (2012) 1889-1894.

<sup>102</sup> Müller, A. L. H., *et al.*, *Analytical Letters* 45 (2012) 1004-1015.

<sup>61</sup> Barbosa, J., *et al.*, *Food Anal. Methods* 6 (2013) 1065-1070.

item 3.3.1.1 (*Materiais e Métodos*). Após o término do programa de aquecimento, foi feita a determinação dos halogênios por ISE (F), ICP-OES (Cl) e ICP-MS (Br e I). Os resultados obtidos para F, Cl, Br e I, nas amostras de plantas medicinais podem ser observados na Tabela 7.

**Tabela 7.** Resultados obtidos em ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) para F (ISE), Cl (ICP-OES), Br e I (ICP-MS), após a decomposição das amostras de plantas medicinais por MIC (média  $\pm$  desvio padrão,  $n=3$ ).

Amostra	F	Cl	Br	I
Anis estrelado	< 15*	61,4 $\pm$ 0,1	0,694 $\pm$ 0,001	0,157 $\pm$ 0,008
Camomila	< 15*	6879 $\pm$ 52	30,6 $\pm$ 1,5	0,150 $\pm$ 0,030
Cáscara sagrada	< 15*	59,4 $\pm$ 1,0	0,170 $\pm$ 0,001	0,030 $\pm$ 0,001
Castanha da índia	< 15*	387 $\pm$ 4	2,28 $\pm$ 0,06	0,244 $\pm$ 0,003
Feno grego	< 15*	2038 $\pm$ 69	3,28 $\pm$ 0,09	0,003 $\pm$ 0,001
Gengibre	59,5 $\pm$ 1,2	419 $\pm$ 20	85,4 $\pm$ 5,5	4,30 $\pm$ 0,02
Melissa	< 15*	1328 $\pm$ 20	19,1 $\pm$ 0,5	0,048 $\pm$ 0,002
Quebra-Pedra	< 15*	2009 $\pm$ 92	42,7 $\pm$ 1,7	0,355 $\pm$ 0,05

\*Valores menores que LOD

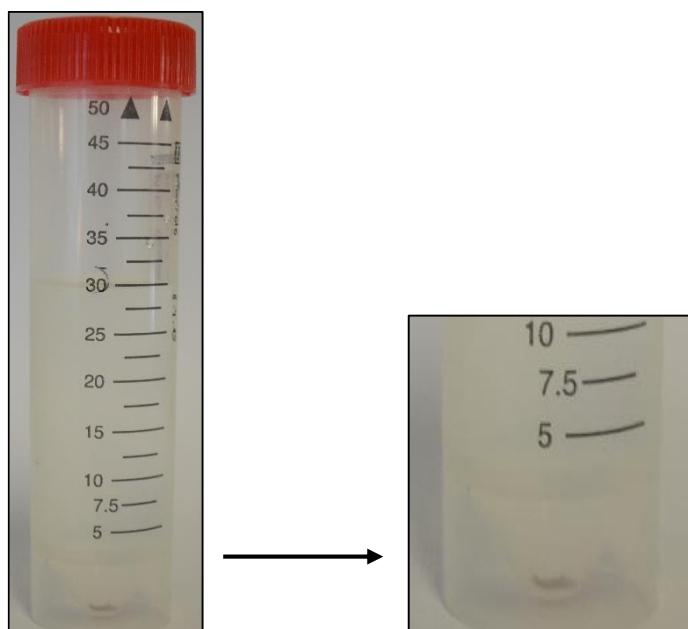
Para F, apenas a amostra de gengibre apresentou concentração ( $59,5 \pm 1,2 \mu\text{g g}^{-1}$ ), acima do LOD ( $> 15 \mu\text{g g}^{-1}$ ) empregando ISE. De acordo com os resultados obtidos após a decomposição das amostras por MIC, pode ser observado que a concentração de Cl é superior as concentrações dos demais halogênios em todas as amostras avaliadas. Para Br, as maiores concentrações obtidas foram para as amostras de camomila, gengibre e quebra-pedra ( $30,6 \pm 1,5$ ,  $85,4 \pm 5,5$  e  $42,7 \pm 1,7 \mu\text{g g}^{-1}$  respectivamente). Para I, a maior concentração obtida foi para a amostra de gengibre ( $4,30 \pm 0,02 \mu\text{g g}^{-1}$ ).

Em trabalho desenvolvido recentemente por Picoloto *et al.*,<sup>33</sup> foi avaliada a recuperação de Br e I em amostras de leite utilizando  $\text{NH}_4\text{OH}$  (10, 25, 50 e 100  $\text{mmol L}^{-1}$ ) e  $\text{H}_2\text{O}$  como solução absorvedora. Dessa maneira, os autores relatam que as

<sup>33</sup> Picoloto, R. S., *et al.*, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 107 (2015) 86-92.

recuperações obtidas com H<sub>2</sub>O e NH<sub>4</sub>OH (em todas as concentrações) foram superiores a 95%. Entretanto, após 15 dias de estocagem, perdas de I de aproximadamente 13%, foram observadas quando H<sub>2</sub>O e NH<sub>4</sub>OH 10 mmol L<sup>-1</sup> foram utilizadas como soluções absorvedoras. Dessa maneira, pode-se observar que o uso de soluções de NH<sub>4</sub>OH mais concentradas (> 10 mmol L<sup>-1</sup>), é importante para a retenção de halogênios em solução, principalmente para I.<sup>33</sup>

Após a decomposição por MIC, o aspecto da solução final obtida foi límpido, porém, foi observada uma pequena quantidade de resíduo sólido depositado no fundo do frasco (Figura 5).



**Figura 5.** Solução decomposta após MIC utilizando 500 mg de amostra de gengibre e NH<sub>4</sub>OH 100 mmol L<sup>-1</sup> como solução absorvedora.

Dessa forma, a partir dos resultados obtidos para F, Cl, Br e I e a presença de material em suspensão, foram escolhidas três amostras de plantas medicinais (camomila, gengibre e quebra-pedra) para posterior determinação do teor de cinzas totais e insolúveis, teor de carbono e nitrogênio e otimização dos demais métodos de preparo de amostras avaliados para a determinação de halogênios (MAWD, MAE e AE). A escolha das amostras de camomila, gengibre e quebra-pedra foi feita levando em consideração a concentração dos halogênios, sendo possível a determinação pelas técnicas disponíveis (IC, ISE, ICP-OES e ICP-MS).

<sup>33</sup> Picoloto, R. S., et al., *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 107 (2015) 86-92.

O procedimento para a determinação de cinzas totais e cinzas insolúveis, está descrito no item 3.3.1.2 e 3.3.1.3 (*Materiais e Métodos*). Os resultados obtidos após a caracterização de cinzas totais, cinzas insolúveis, teor de carbono e nitrogênio para as amostras de camomila, gengibre e quebra-pedra, podem ser observados na Tabela 8.

**Tabela 8.** Resultados obtidos após a caracterização das amostras de camomila, gengibre e quebra-pedra quanto a determinação de cinzas totais, cinzas insolúveis e o teor de carbono e nitrogênio (média  $\pm$  desvio padrão, n=3).

<b>Plantas</b>	<b>Cinzas Totais, %</b>	<b>Cinzas Insolúveis, %</b>	<b>Teor de carbono, %</b>	<b>Teor de nitrogênio, %</b>
Camomila	8,00 $\pm$ 0,11	0,452 $\pm$ 0,001	45,6 $\pm$ 0,2	2,60 $\pm$ 0,01
Gengibre	4,94 $\pm$ 0,10	0,905 $\pm$ 0,001	41,9 $\pm$ 0,3	1,71 $\pm$ 0,15
Quebra-pedra	11,2 $\pm$ 0,2	3,50 $\pm$ 0,01	43,2 $\pm$ 0,1	1,80 $\pm$ 0,01

De acordo com a Tabela 8, pode ser observado que o teor de cinzas totais foi de 8,00  $\pm$  0,11, 4,94  $\pm$  0,10 e 11,2  $\pm$  0,2 % e o teor de cinzas insolúveis foi de 0,452  $\pm$  0,001, 0,905  $\pm$  0,001 e 3,50  $\pm$  0,01% para camomila, gengibre e quebra-pedra, respectivamente. A diferença entre o teor de cinzas totais e o teor de cinzas insolúveis obtidos nas diferentes amostras pode estar relacionada às características dos solos de cada região. Possivelmente o resíduo obtido após a decomposição por MIC seja decorrente da presença de material inorgânico da amostra, caracterizado pela presença de cinzas. Este resíduo, durante a etapa de refluxo, pode ser transferido do suporte para a solução absorvedora. Para fins de caracterização da amostra, também foi determinado o teor de carbono e de nitrogênio, presentes em cada amostra. O teor de carbono das amostras foi entre 41,9% (Gengibre) e 45,6% (camomila) e o teor de nitrogênio presente foi entre 1,71% e 2,60% (para gengibre e camomila, respectivamente).

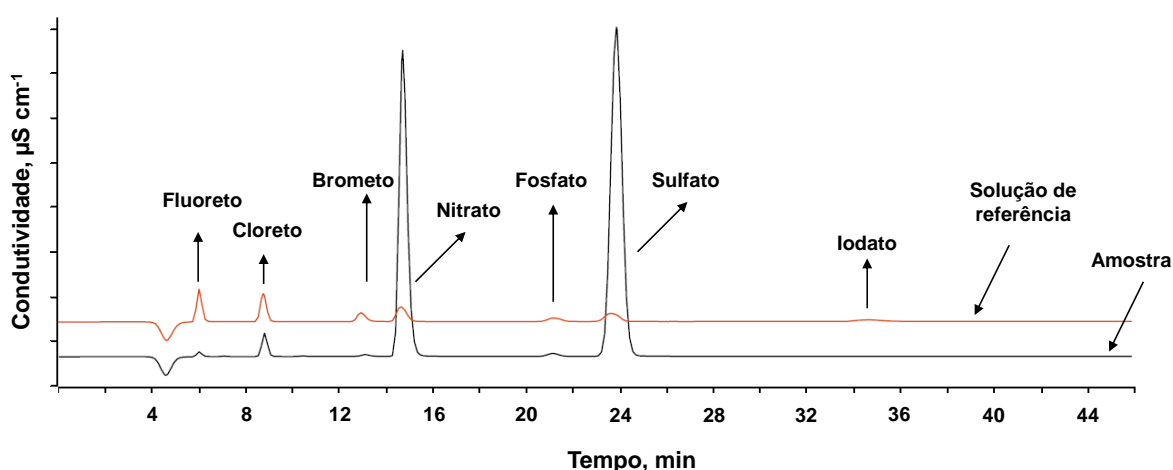
Para avaliar a exatidão do método de MIC, foram empregados dois CRMs de origem botânica (*Citrus leaves* e *Peach leaves*). Para tanto, foram utilizados 300 mg de CRM e uma solução de NH<sub>4</sub>OH 100 mmol L<sup>-1</sup>, como solução absorvedora. Os valores determinados e as concordâncias com os valores informados para Cl, Br e I estão mostrados na Tabela 9. Cabe salientar que os CRMs avaliados possuíam apenas a concentração informada dos analitos.

**Tabela 9.** Resultados obtidos ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) para Cl (ICP-OES), Br e I (ICP-MS) (média  $\pm$  desvio padrão,  $n=3$ ) em CRMs de *Citrus leaves* e *Peach leaves* após decomposição por MIC utilizando  $\text{NH}_4\text{OH}$   $100 \text{ mmol L}^{-1}$ , como solução absorvedora.

CRM	Analito	Concentração informada	Concentração encontrada	Concordância (%)
<i>Citrus leaves</i>	Cl	414	$381 \pm 3$	92,0
	Br	8,2	$7,42 \pm 0,10$	90,5
	I	1,84	$1,74 \pm 0,10$	94,5
<i>Peach leaves</i>	Cl	360	$352 \pm 13$	97,8
	Br	11	$10,5 \pm 0,6$	95,5
	I	0,3	$0,285 \pm 0,001$	95,0

De acordo com a Tabela 9, as concordâncias obtidas para os CRMs, utilizando o método de MIC, foram de 92 e 97% para Cl, 90 e 95% para Br e 94% e 95% para I, utilizando os CRMs de *Citrus leaves* e *Peach leaves*, respectivamente. Pode-se observar que foram obtidas boas concordâncias entre valor informado com os resultados obtidos para os CRMs utilizados.

Para fins de comparação, a determinação de fluoreto também foi feita por IC. O cromatograma obtido para a determinação de fluoreto em uma amostra de gengibre e de uma solução padrão de fluoreto ( $250 \mu\text{g L}^{-1}$ ), pode ser observado na Figura 6.



**Figura 6.** Cromatograma obtido após a decomposição por MIC para a amostra de gengibre sobreposto a uma solução de referência ( $250 \mu\text{g L}^{-1}$ ). Condições: 500 mg de amostra e  $\text{NH}_4\text{OH}$   $100 \text{ mmol L}^{-1}$ .

Após a decomposição da amostra de gengibre por MIC e a determinação de F por IC, o resultado obtido foi de  $62,4 \pm 1,2 \mu\text{g g}^{-1}$ . O resultado para flúor obtido por IC não apresentou diferença significativa quando comparado com o resultado obtido por ISE ( $59,5 \pm 1,2 \mu\text{g g}^{-1}$ ) (teste *t* de Student com nível de confiança de 95%). Como pode ser observado na Figura 6, quando utilizada a MIC como método de preparo de amostra, o fluoreto foi eficientemente eluído pela coluna cromatográfica, sem interferências. Isso pode ser associado com o baixo teor de carbono residual em solução após a decomposição (< 1%). Na determinação de halogênios e na utilização de técnicas cromatográficas, o baixo teor de carbono torna-se de grande importância, uma vez que altas concentrações de carbono em solução podem causar interferências na etapa de determinação destes analitos.

## **4.2 Métodos de preparo de amostras avaliados para posterior determinação de halogênios em amostras de plantas medicinais**

Neste trabalho, três métodos de preparo de amostras foram adicionalmente investigados para a posterior determinação de halogênios em amostras de plantas medicinais. Os métodos avaliados foram: *i*) MAWD, *ii*) MAE e *iii*) AE. A seguir, serão apresentados os resultados obtidos para cada método de preparo de amostra.

### **4.2.1 Decomposição por via úmida assistida por micro-ondas**

Geralmente, nos métodos de decomposição empregando via úmida utiliza-se um ácido oxidante para a eliminação da matéria orgânica da amostra. O uso de soluções ácidas pode causar interferências na etapa de determinação dos analitos. Em ICP-OES e ICP-MS, estas interferências geralmente estão associadas a alguns fatores, tais como, diminuição da taxa de aspiração resultante do aumento da viscosidade, mudança do tamanho das gotas durante a nebulização e mudança na estabilidade do plasma.

Neste trabalho, o método empregando MAWD foi avaliado para verificar a recuperação dos halogênios em meio ácido em amostras de plantas medicinais. Esse método, segundo a literatura, não pode ser aplicado para a determinação de halogênios, pois perdas destes podem estar relacionadas a formação de seus



respectivos ácidos voláteis.<sup>7,73,116</sup> Entretanto, o procedimento utilizado neste trabalho foi adaptado de um trabalho de Di Narda *et al.*,<sup>2</sup> onde foi feita a decomposição de cogumelos para posterior determinação de Br. Neste trabalho os autores utilizaram uma mistura de HNO<sub>3</sub> e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> para decomposição das amostras. Neste procedimento, 500 mg de amostra foram pesados e inseridos no interior dos frascos de quartzo. Após, foram adicionados 4,8 mL de HNO<sub>3</sub> com 1,2 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.<sup>2</sup> Também foi avaliada a concentração de HNO<sub>3</sub>, para a recuperação de halogênios. As concentrações de HNO<sub>3</sub> avaliadas foram 1, 4, 7 e 14,4 mol L<sup>-1</sup>. Adicionalmente, foi feito um teste utilizando HNO<sub>3</sub> 1 mol L<sup>-1</sup>, porém sem a adição de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Para este estudo, foram adicionados 6 mL de HNO<sub>3</sub> 1 mol L<sup>-1</sup> para a decomposição. O procedimento experimental, assim como o programa de aquecimento utilizado na MAWD, está descrito no item 3.4.1 (*Materiais e Métodos*).

#### 4.2.2.1 Efeito da acidez residual e do teor de carbono residual na MAWD

Previamente a etapa de determinação dos analitos, é importante levar em consideração o teor de acidez residual e carbono presente nas soluções após as decomposições por MAWD. Dessa forma, nas análises por ICP-OES e ICP-MS os efeitos provocados por elevadas concentrações de ácido nos digeridos são conhecidos por causar supressão na intensidade de sinal à medida que a concentração do ácido aumenta. Essa supressão de sinal está relacionada ao efeito do ácido na formação do aerossol, no processo de transporte e modificações na estabilidade do plasma.<sup>117</sup> Além disso, o efeito de supressão do HNO<sub>3</sub>, na técnica de ICP-MS, depende da razão m/z e do potencial de ionização dos elementos a serem determinados. O elevado teor de carbono residual, também pode causar interferências nas determinações por ISE, IC-OES e ICP-MS. Nas determinações por ICP-OES e ICP-MS, as interferências causadas pelo C podem ser espectrais e não espectrais. Na Figura 7 pode ser observado o teor de carbono residual, assim como a acidez residual obtida para as decomposições com 4,8 mL de HNO<sub>3</sub> 1, 4, 7 e 14,4 mol L<sup>-1</sup> com 1,2 mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30% e também sem H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, para as amostras de plantas avaliadas.

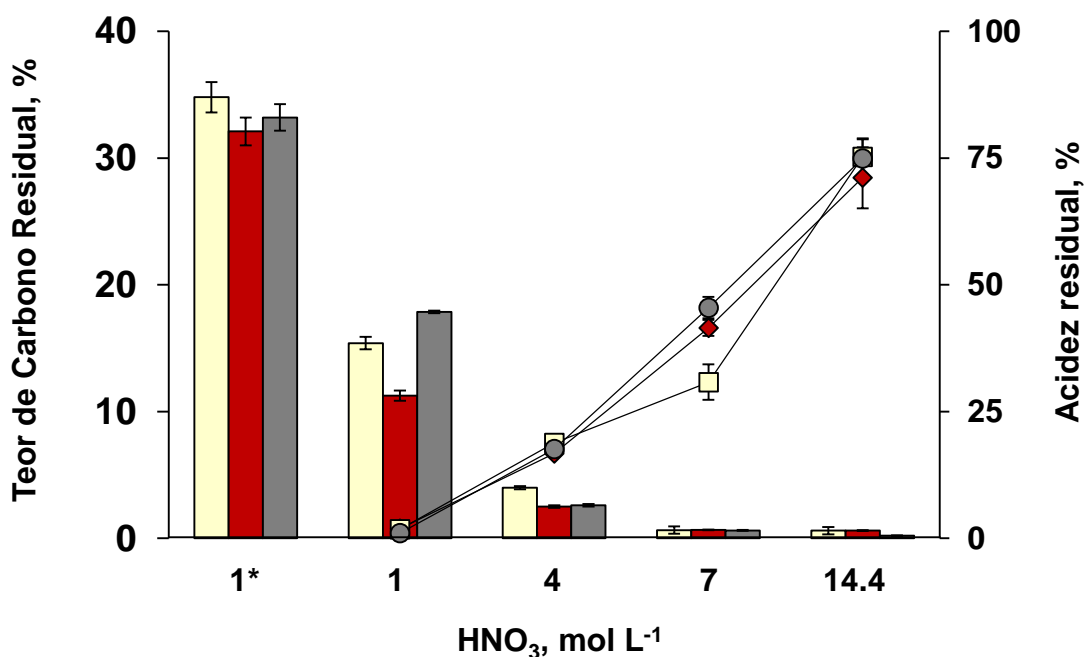
<sup>7</sup> Knapp, G., *et al.*, *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* 362 (1998) 508-513.

<sup>73</sup> Muller, A. L. H., *et al.*, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 27 (2012) 1889-1894.

<sup>116</sup> Gélinas, Y., *et al.*, *Analytical Chemistry* 70 (1998) 1021-1025.

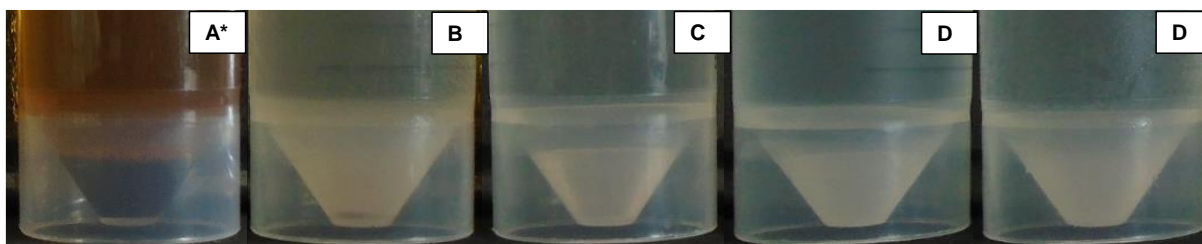
<sup>2</sup> Di Narda, F., *et al.*, *Analytica Chimica Acta* 436 (2001) 245-252.

<sup>117</sup> Todolí, J.-L., *et al.*, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 54 (1999) 895-929.



**Figura 7.** Teor de carbono residual após decomposição por MAWD empregando 4,8 mL de HNO<sub>3</sub> e 1,2 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: (□) camomila (■) gengibre (■) quebra-pedra. Acidez residual após decomposição por MAWD: (□) camomila, (◆) gengibre e (●) quebra-pedra. 500 mg de amostra (n = 3). \* 6 mL de HNO<sub>3</sub> e sem adição de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Conforme pode ser observado, o teor de carbono residual foi diminuindo com o aumento da concentração de HNO<sub>3</sub> (com adição de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, em todas as amostras de plantas avaliadas). Entretanto, quando utilizado HNO<sub>3</sub> sem H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, o teor de carbono foi superior a todos os experimentos feitos com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Isso justifica a importância do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> como agente auxiliar na decomposição de matrizes orgânicas. Além disso, os valores de acidez residual obtidos utilizando HNO<sub>3</sub> 1 mol L<sup>-1</sup> foram inferiores a 1% para todas as plantas avaliadas (Figura 7). Quando utilizado soluções de HNO<sub>3</sub> 4, 7 e 14,4 mol L<sup>-1</sup>, pode ser observado, como esperado, um aumento gradativo na acidez residual para camomila, gengibre e quebra-pedra. Para a amostra de gengibre, por exemplo, a diferença de acidez residual entre HNO<sub>3</sub> 7 e 14,4 mol L<sup>-1</sup> é superior à 20%. Cabe salientar que, a acidez após a decomposição utilizando HNO<sub>3</sub> 1 mol L<sup>-1</sup> sem H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, não foi determinada. Na Figura 8 pode ser observado o aspecto das soluções resultantes, quando utilizado 4,8 mL de HNO<sub>3</sub> 1, 4, 7 e 14,4 mol L<sup>-1</sup> com 1,2 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30% e 6 mL de HNO<sub>3</sub> 1 mol L<sup>-1</sup> sem H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>



**Figura 8.** Aspecto das soluções resultantes após a decomposição das plantas medicinais (500 mg da amostra de gengibre) por MAWD. Exceto a solução A\*, as demais foram feitas utilizando 4,8 mL de  $\text{HNO}_3$  e 1,2 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$ : A)  $\text{HNO}_3$  1 mol  $\text{L}^{-1}$  (6 mL de  $\text{HNO}_3$  e sem adição de  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) B)  $\text{HNO}_3$  1 mol  $\text{L}^{-1}$  C)  $\text{HNO}_3$  4 mol  $\text{L}^{-1}$  D)  $\text{HNO}_3$  7 mol  $\text{L}^{-1}$  E)  $\text{HNO}_3$  14,4 mol  $\text{L}^{-1}$ .

Na Figura 8 pode ser observado o aspecto visual das amostras (gengibre). Em A\*, a solução representa a ausência do uso de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , resultando em uma solução com cor marrom e sólido decantado, proveniente da decomposição parcial da amostra. Em B, utilizando 4,8 mL de  $\text{HNO}_3$  1 mol  $\text{L}^{-1}$  e 1,2 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  a solução apresenta leve coloração amarelada e material decantado. Entretanto, em C, D e E, a solução obtida utilizando 4,8 mL de  $\text{HNO}_3$  4,7 e 14,4 mol  $\text{L}^{-1}$  com 1,2 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , respectivamente, é translúcida e sem a presença de material em suspensão. Relacionando a Figura 7 e a Figura 8, pode ser observado que, como o esperado, quanto maior a concentração de ácido, mais translúcida é a solução e maior é a acidez residual. O  $\text{H}_2\text{O}_2$  pode atuar auxiliando na decomposição da matéria orgânica da amostra e, além disso, pode favorecer a regeneração de  $\text{HNO}_3$ , o qual promove uma decomposição mais eficiente da matriz.<sup>118</sup>

#### 4.2.2.2 Determinação de halogênios após decomposição por via úmida

Após a caracterização das soluções quanto ao teor de acidez residual e carbono, foi feita a determinação dos halogênios. Cabe salientar que o teor de acidez é um importante parâmetro a ser avaliado, uma vez que pode influenciar na quantificação final dos halogênios. É importante destacar que, para a determinação de F, Cl, Br e I, todas as soluções foram neutralizadas com uma solução de  $\text{NH}_4\text{OH}$  750 mmol  $\text{L}^{-1}$ , previamente à análise por ICP-OES e ICP-MS. Essa neutralização minimiza as interferências causadas pelo meio ácido em solução.

<sup>118</sup> Naidu, G. R. K., et al., *Applied Radiation and Isotopes* 50 (1999) 947-953.

A determinação de halogênios em meio ácido é incomum na literatura. Entretanto, Leppänen *et al.*, desenvolveram um processo de decomposição ácida utilizando  $\text{HNO}_3$  14,4 mol  $\text{L}^{-1}$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  30% e uma solução de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$ , a alta pressão para determinação de I e metais em amostras de leite com teste de recuperação de  $\text{NaIO}_4$  e iodofenol. Os autores relatam recuperações de 86 a 105% de recuperação para  $\text{NaIO}_4$  e iodofenol. Além disso, foi feito um estudo da recuperação de I utilizando  $\text{NaIO}_4$  e iodofenol com diferentes concentrações de  $\text{HNO}_3$  (1,9, 3,8, 7,6, 15,2 mol  $\text{L}^{-1}$ ). Os autores relatam recuperação de 106% utilizando 1,9 mol  $\text{L}^{-1}$  de  $\text{HNO}_3$ . Para as demais concentrações de  $\text{HNO}_3$  avaliadas (3,8, 7,6 e 15,2 mol  $\text{L}^{-1}$ ) os autores relatam recuperações inferiores a 20%.<sup>119</sup>

Neste trabalho, os resultados obtidos para F, Cl, Br e I na decomposição de camomila, gengibre e quebra-pedra, utilizando 4,8 mL de  $\text{HNO}_3$  1, 4, 7 e 14,4 mol  $\text{L}^{-1}$  com 1,2 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e 6 mL de  $\text{HNO}_3$  1 mol  $\text{L}^{-1}$  sem  $\text{H}_2\text{O}_2$ , podem ser observados na Tabela 10.

De acordo com a Tabela 10, pode se perceber que ocorreram perdas gradativas de F, Cl, Br e I quando utilizou-se 4,8 mL de  $\text{HNO}_3$  4, 7 e 14,4 mol  $\text{L}^{-1}$  com 1,2 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , para todas as plantas medicinais estudadas. Entretanto, as perdas dos halogênios são mais pronunciadas quando utilizado 4,8 mL de  $\text{HNO}_3$  14,4 mol  $\text{L}^{-1}$  com 1,2 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Esses resultados podem estar associados pela formação de seus respectivos ácidos (HF, HCl, HBr e HI), os quais são facilmente perdidos por volatilização.<sup>120</sup>

Quando utilizado 4,8 mL de  $\text{HNO}_3$  1 mol  $\text{L}^{-1}$  com 1,2 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , não foram observadas perdas de F, C, Br e I quando comparados com valores de referências (MIC) (teste *t* de Student com nível de confiança de 95%), para todas as plantas avaliadas. Cabe salientar que o pH final das soluções foi de aproximadamente 4, podendo não ocorrer perdas destes elementos na forma de compostos voláteis. Entretanto, quando utilizado  $\text{HNO}_3$  1 mol  $\text{L}^{-1}$  sem  $\text{H}_2\text{O}_2$ , foi observada interferência na determinação de F. Essa interferência pode ser justificada pela alta concentração de carbono em solução. Segundo o trabalho desenvolvido por Di Narda *et al.*,<sup>2</sup> o  $\text{H}_2\text{O}_2$  é utilizado, em menores proporções, para auxiliar na decomposição da matéria orgânica

<sup>119</sup> Leppänen, K., *et al.*, *Food Anal. Methods* 7 (2014) 1103-1108.

<sup>120</sup> Fecher, P. A., *et al.*, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 9 (1994) 1021-1027.

<sup>2</sup> Di Narda, F., *et al.*, *Analytica Chimica Acta* 436 (2001) 245-252.

da amostra. Dessa forma, a presença de  $\text{H}_2\text{O}_2$  na etapa de decomposição da amostra é importante na determinação de F utilizando  $\text{HNO}_3$   $1 \text{ mol L}^{-1}$ .

**Tabela 10.** Resultados obtidos para F (ISE), Cl (ICP-OES), Br e I (ICP-MS), (média  $\pm$  desvio padrão, n=3) nas amostras de plantas medicinais após decomposição por MAWD utilizando 4,8 mL de HNO<sub>3</sub> 1, 4, 7 e 14,4 mol L<sup>-1</sup> com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e 6 mL de HNO<sub>3</sub> 1 mol L<sup>-1</sup> sem H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

HNO <sub>3</sub> (mol L <sup>-1</sup> )	Amostra	Concentração ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )				pH
		F	Cl	Br	I	
<b>1 (com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)</b>	Camomila	<15*	6735 $\pm$ 58	28,6 $\pm$ 1,4	0,164 $\pm$ 0,001	4
	Gengibre	60,5 $\pm$ 3,2	423 $\pm$ 43	76,6 $\pm$ 2,1	3,82 $\pm$ 0,08	3
	Quebra-Pedra	<15*	1834 $\pm$ 102	41,8 $\pm$ 2,1	0,030 $\pm$ 0,003	4
<b>1 (sem H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)</b>	Camomila	<15*	6709 $\pm$ 178	29,4 $\pm$ 1,6	0,168 $\pm$ 0,03	4
	Gengibre	79,4 $\pm$ 4,5	430 $\pm$ 40	76,6 $\pm$ 5,3	3,82 $\pm$ 0,6	3
	Quebra-Pedra	<15*	1834 $\pm$ 150	42,4 $\pm$ 3,5	0,353 $\pm$ 0,05	4
<b>4 (com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)</b>	Camomila	<15*	5835 $\pm$ 30	26,8 $\pm$ 1,5	0,115 $\pm$ 0,006	<0,5
	Gengibre	50,5 $\pm$ 3,5	359 $\pm$ 18	58,9 $\pm$ 2	0,219 $\pm$ 0,008	1
	Quebra-Pedra	<15*	1759 $\pm$ 71	34,2 $\pm$ 2,1	0,238 $\pm$ 0,028	1
<b>7 (com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)</b>	Camomila	<15*	5678 $\pm$ 179	9,24 $\pm$ 0,20	0,102 $\pm$ 0,005	<0,5
	Gengibre	51,2 $\pm$ 5,8	350 $\pm$ 4	32,2 $\pm$ 4,5	1,15 $\pm$ 0,05	<0,5
	Quebra-Pedra	<15**	1746 $\pm$ 98	13,9 $\pm$ 0,6	0,080 $\pm$ 0,006	<0,5
<b>14,4 (com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)</b>	Camomila	<15*	2385 $\pm$ 11	9,63 $\pm$ 0,91	0,049 $\pm$ 0,004	<0,5
	Gengibre	<7,5*	123 $\pm$ 5	22,1 $\pm$ 4,3	1,24 $\pm$ 0,18	<0,5
	Quebra-Pedra	<15*	683 $\pm$ 112	11,2 $\pm$ 1,7	0,086 $\pm$ 0,003	<0,5
<b>Valor de referência (MIC)</b>	Camomila	< 15*	6879 $\pm$ 352	30,6 $\pm$ 1,5	0,150 $\pm$ 0,030	7
	Gengibre	59,5 $\pm$ 1,2	419 $\pm$ 20	85,4 $\pm$ 5,5	4,30 $\pm$ 0,02	8
	Quebra-Pedra	< 15*	2009 $\pm$ 92	42,7 $\pm$ 1,7	0,355 $\pm$ 0,005	7

\*Menor que o LD

### 4.2.3 Extração alcalina assistida por radiação micro-ondas

Com base em trabalhos previamente publicados na literatura, que indicam a extração de halogênios utilizando a energia micro-ondas e sistemas de extração convencional em sistema fechado, foram avaliadas as soluções extratoras  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NH}_4\text{OH}$  0,11 mol  $\text{L}^{-1}$  e TMAH 0,11 mol  $\text{L}^{-1}$ .<sup>11,42,50,44</sup> Além disso, variáveis, como temperatura, tempo e volume de solução extratora, também foram avaliadas para a execução dos experimentos. As variáveis totalizaram 8 experimentos por solução extratora. Os níveis superiores e inferiores para cada variável foram: 5 e 20 min, 90 e 240 °C e 6 e 10 mL de solução extratora. Para a determinação de halogênios aplicando a MAE, foi escolhida a amostra de gengibre para otimização do processo, devido esta amostra conter maiores concentrações de F, Cl, Br e I. A extração foi feita em um forno de micro-ondas em sistema fechado, utilizando massas de amostra de, aproximadamente, 500 mg. O procedimento, assim como o programa de aquecimento utilizado no forno de micro-ondas estão descritos no item 3.4.3 (*Materiais e Métodos*). Os resultados obtidos utilizando as soluções extratoras  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NH}_4\text{OH}$  0,11 mol  $\text{L}^{-1}$  e TMAH 0,11 mol  $\text{L}^{-1}$  podem ser observados na Tabela 11.

Utilizando  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NH}_4\text{OH}$  0,11 mol  $\text{L}^{-1}$  e TMAH 0,11 mol  $\text{L}^{-1}$  como soluções extratoras, a determinação de F por ISE apresentou interferências. Este resultado pode estar vinculado ao alto teor de carbono resultante em solução, que dificulta a determinação. Entretanto, os resultados obtidos para Cl e Br, como pode ser observado na Tabela 11, após a extração utilizando  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NH}_4\text{OH}$  0,11 mol  $\text{L}^{-1}$  e TMAH 0,11 mol  $\text{L}^{-1}$  não apresentaram diferença significativa entre si (ANOVA com nível de confiança de 95%), apresentando concordância superior a 95% em todas as condições de temperatura (90 e 240 °C), tempo (5 e 20 min) e volume de solução extratora (6 e 10 mL) avaliadas.

Em relação ao I, após a extração utilizando  $\text{H}_2\text{O}$  e  $\text{NH}_4\text{OH}$  como solução extratora, maiores perdas foram observadas, quando comparadas aos valores de referência (MIC). Utilizando TMAH como solução extratora, foram observados melhores resultados para I em todas as condições de temperatura (90 e 240 °C), tempo (5 e 20 min) e volume de solução extratora (6 e 10 mL), avaliadas. Os valores

<sup>11</sup> Romarís-Hortas, V., et al., *Talanta* 79 (2009) 947-952.

<sup>42</sup> Chen, J. H., et al., *Electrophoresis* 28 (2007) 4227-4232.

<sup>50</sup> Tagami, K., et al., *Analytica Chimica Acta* 570 (2006) 88-92.

<sup>44</sup> Rose, M., et al., *Journal of environmental monitoring: JEM* 3 (2001) 361-365.

obtidos para I estão de acordo com informações comumente encontradas na literatura, as quais relatam o uso de soluções alcalinas diluídas para a determinação de halogênios.<sup>11,87</sup> Geralmente o TMAH é utilizado em temperaturas amenas (em torno de 90 °C) para evitar sua decomposição. Entretanto, em temperaturas mais elevadas este reagente pode ser decomposto a uma amina terciária, a qual também pode ser utilizada para retenção de halogênios em solução.<sup>121</sup> Dessa maneira, pode-se concluir que utilizando a temperatura de 240 °C, 5 ou 20 min de aquecimento e 6 mL de solução extratora, foi possível a determinação de Cl, Br e I na amostra, sendo que os resultados não apresentaram diferença significativa quando comparados com os valores de referência (teste *t* de Student com nível de confiança de 95%). Cabe salientar que, embora tenha-se obtido bons resultados utilizando 5 e 20 min de aquecimento, 240 °C e 6 mL de solução extratora, o tempo de extração escolhido para otimização do procedimento foi de 5 min. Dessa forma, aumenta-se a rapidez do método proposto.

Após a otimização do tempo, temperatura e do volume de solução extratora, as melhores condições observadas (240 °C, 5 e 20 min e 6 mL) foram aplicadas para as demais amostras de plantas (camomila e quebra-pedra). Para esta avaliação, as soluções extratoras utilizadas foram H<sub>2</sub>O e NH<sub>4</sub>OH 0,11 mol L<sup>-1</sup> e TMAH 0,11 mol L<sup>-1</sup>. Os resultados obtidos para Cl, Br e I nas amostras de camomila, gengibre e quebra na condição otimizada, assim como a comparação com os valores de referência, podem ser observados nas Figuras 9, 10 e 11.

<sup>11</sup> Romarís-Hortas, V., *et al.*, *Talanta* 79 (2009) 947-952.

<sup>87</sup> A. Fecher, P., *et al.*, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 13 (1998) 977-982

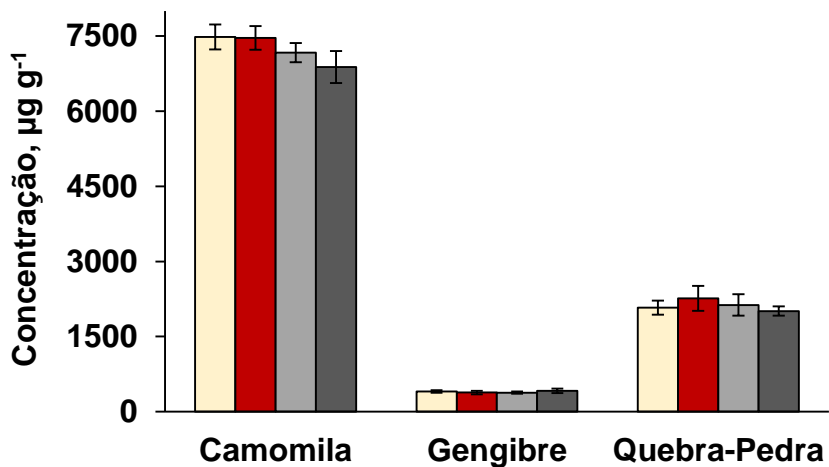
<sup>121</sup> Nóbrega, J. A., *et al.*, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 61 (2006) 465-495.



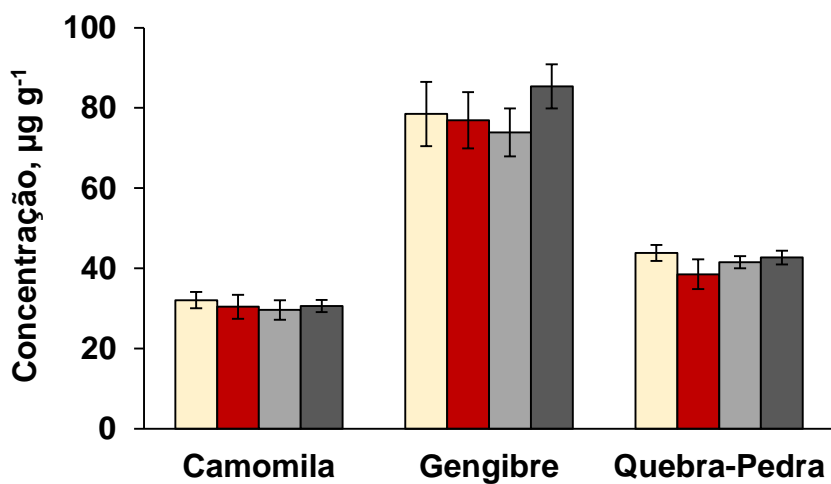
**Tabela 11.** Resultados obtidos para F (ISE), Cl (ICP-OES), Br e I (ICP-MS), (média  $\pm$  desvio padrão, n=3), na amostra de gengibre após extração por micro-ondas utilizando H<sub>2</sub>O, NH<sub>4</sub>OH 0,11 mol L<sup>-1</sup> e TMAH 0,11 mol L<sup>-1</sup> como solução extratora.

Experimentos*	H <sub>2</sub> O				NH <sub>4</sub> OH				TMAH			
	Cl	Br	I	pH final	Cl	Br	I	pH final	Cl	Br	I	pH final
1 <sup>a</sup>	460 $\pm$ 28	77,0 $\pm$ 4,2	1,14 $\pm$ 0,17	6	390 $\pm$ 15	82,8 $\pm$ 4,6	1,94 $\pm$ 0,42	9	382 $\pm$ 36	78,8 $\pm$ 7,4	2,35 $\pm$ 0,24	10
2 <sup>b</sup>	397 $\pm$ 15	78,8 $\pm$ 4,5	1,14 $\pm$ 0,30	6	388 $\pm$ 19	85,8 $\pm$ 8,9	2,63 $\pm$ 0,25	7	398 $\pm$ 12	77,3 $\pm$ 3,6	4,42 $\pm$ 0,14	8
3 <sup>c</sup>	400 $\pm$ 8	75 $\pm$ 5,1	1,11 $\pm$ 0,32	6	402 $\pm$ 13	79,8 $\pm$ 1,3	1,99 $\pm$ 0,12	8	395 $\pm$ 10	78,1 $\pm$ 4,1	2,55 $\pm$ 0,12	10
4 <sup>d</sup>	405 $\pm$ 25	78,5 $\pm$ 4,0	1,93 $\pm$ 0,16	4	308 $\pm$ 10	77,9 $\pm$ 4,5	3,57 $\pm$ 0,33	5	381 $\pm$ 20	73,9 $\pm$ 4,5	4,27 $\pm$ 0,10	5
5 <sup>e</sup>	426 $\pm$ 30	77,3 $\pm$ 4,4	1,11 $\pm$ 0,12	6	387 $\pm$ 19	77,1 $\pm$ 4,1	2,20 $\pm$ 0,18	9	394 $\pm$ 11	84,6 $\pm$ 3,7	3,55 $\pm$ 0,29	11
6 <sup>f</sup>	395 $\pm$ 15	76,3 $\pm$ 4,8	2,15 $\pm$ 0,24	6	394 $\pm$ 16	75,0 $\pm$ 4,3	2,86 $\pm$ 0,54	8	385 $\pm$ 15	77,8 $\pm$ 3,8	3,63 $\pm$ 0,17	9
7 <sup>g</sup>	417 $\pm$ 8	80,3 $\pm$ 2,3	1,24 $\pm$ 0,71	6	399 $\pm$ 16	79,9 $\pm$ 2,9	2,38 $\pm$ 0,58	9	399 $\pm$ 15	79,0 $\pm$ 1,4	3,36 $\pm$ 0,27	11
8 <sup>h</sup>	391 $\pm$ 16	78,1 $\pm$ 4,2	2,60 $\pm$ 0,12	4	411 $\pm$ 11	76,0 $\pm$ 5,9	3,81 $\pm$ 0,14	5	394 $\pm$ 30	79,5 $\pm$ 2,5	3,83 $\pm$ 0,70	5
<b>Valor de referência (MIC)</b>	419 $\pm$ 20	85,4 $\pm$ 5,5	4,30 $\pm$ 0,20									

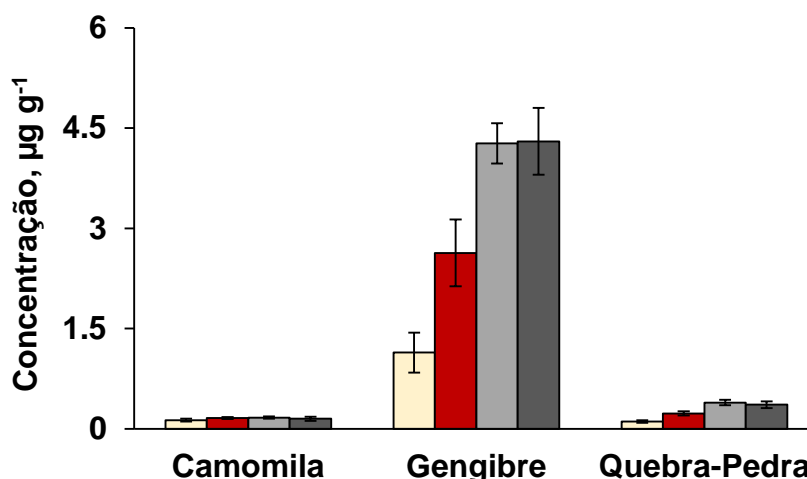
\*Condições experimentais: 1<sup>a</sup>: 90 °C, 5 min e 6 mL; 2<sup>b</sup>: 280 °C, 5 min e 6 mL; 3<sup>c</sup>: 90 °C, 20 min, 6 mL; 4<sup>d</sup>: 280 °C, 20 min e 6 mL; 5<sup>e</sup>: 90 °C, 5 min e 10 mL; 6<sup>f</sup>: 280 °C, 5 min 10 mL; 7<sup>g</sup>: 90 °C, 20 min, 10 mL; 8<sup>h</sup>: 280 °C, 20 min, 10 mL.



**Figura 9.** Resultados obtidos para Cl, nas amostras de camomila, gengibre e quebra-pedra após MAE ( $n = 3$ ). (□) H<sub>2</sub>O, (■) NH<sub>4</sub>OH 0,11 mol L<sup>-1</sup> e (□) TMAH 0,11 mol L<sup>-1</sup> e (■) MIC (utilizando NH<sub>4</sub>OH 100 mmol L<sup>-1</sup>).



**Figura 10.** Resultados obtidos para Br, nas amostras de camomila, gengibre e quebra-pedra após MAE ( $n = 3$ ). (□) H<sub>2</sub>O, (■) NH<sub>4</sub>OH 0,11 mol L<sup>-1</sup> e (□) TMAH 0,11 mol L<sup>-1</sup> e (■) MIC (utilizando NH<sub>4</sub>OH 100 mmol L<sup>-1</sup>).



**Figura 11.** Resultados obtidos para I, nas amostras de camomila, gengibre e quebra-pedra após MAE ( $n = 3$ ). (□) H<sub>2</sub>O, (■) NH<sub>4</sub>OH 0,11 mol L<sup>-1</sup> e (▒) TMAH 0,11 mol L<sup>-1</sup> e (■) MIC (utilizando NH<sub>4</sub>OH 100 mmol L<sup>-1</sup>).

De acordo com os resultados obtidos, não foram observadas diferenças significativas para Cl e Br, na condição otimizada, para todas as plantas avaliadas (teste  $t$  de Student com nível de confiança de 95%). Entretanto, como o esperado, para I, a melhor condição foi utilizando solução de TMAH 0,11 mol L<sup>-1</sup>.

Em trabalho desenvolvido por Romarís-Hortas *et al.*,<sup>43</sup> foi proposto o uso da extração em meio alcalino com aquecimento por radiação micro-ondas para a posterior determinação de bromo e iodo por ICP-MS em amostras de algas comestíveis. Neste trabalho, foram avaliados parâmetros como temperatura, volume de TMAH, tempo de aquecimento e tempo de aquecimento por micro-ondas. De acordo com os autores, a maior eficiência de extração foi observada com uso de 200 °C, 10 mL de solução de TMAH e aquecimento de 10 e 5 min, respectivamente. Para a avaliação da exatidão, foi utilizado um CRM de matriz biológica (NIES-09) e os valores obtidos foram concordantes com os resultados certificados (teste  $t$  de Student com nível de confiança de 95%) para ambos os elementos estudados. Além do mais, foi observado que o método da extração alcalina pode ser aplicado para vários tipos de amostras como de algas secas, comestíveis e enlatadas para posterior determinação de Br e I por ICP-MS.

<sup>43</sup> Romarís-Hortas, V., *et al.*, *Food Chemistry* 124 (2011) 1747-1752.

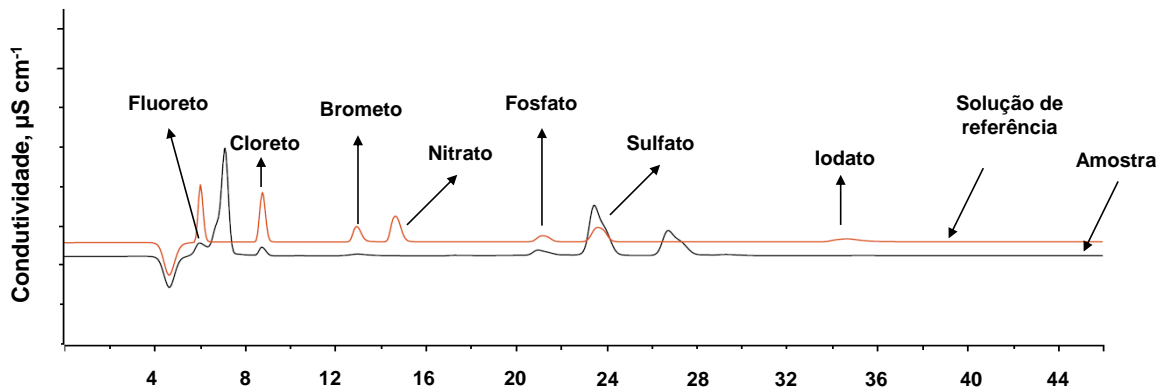
No presente trabalho, após a avaliação da MAE e comparação com valores de referência, também foram utilizados dois CRMs de origem botânica (NIST 1572, *Citrus leaves* e NIST 1547, *Peach leaves*) para verificação da exatidão do método. Na Tabela 12, podem ser observados os valores obtidos para os CRMs, utilizando a condição otimizada (240 °C, 5 min e 6 mL de solução extratora) para as três soluções extratoras avaliadas neste estudo.

**Tabela 12.** Resultados dos CRMs *Citrus leaves* e *Peach leaves*, obtidos para Cl (ICP-OES), Br e I (ICP-MS), (média  $\pm$  desvio padrão, n=3), após MAE utilizando H<sub>2</sub>O, NH<sub>4</sub>OH 0,11 mol L<sup>-1</sup> e TMAH 0,11 mol L<sup>-1</sup>, como solução extratora.

CRM	Analito	Valor informado ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	Valor obtido ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )		
			H <sub>2</sub> O	NH <sub>4</sub> OH	TMAH
<i>Citrus leaves</i>	Cl	414	319 $\pm$ 24	380 $\pm$ 26	395 $\pm$ 18
	Br	8,2	6,58 $\pm$ 0,84	6,91 $\pm$ 0,81	7,82 $\pm$ 0,62
	I	1,84	1,60 $\pm$ 0,10	1,62 $\pm$ 0,14	1,84 $\pm$ 0,10
<i>Peach leaves</i>	Cl	360	280 $\pm$ 26	293 $\pm$ 35	352 $\pm$ 13
	Br	11	8,92 $\pm$ 1,14	9,64 $\pm$ 0,77	11,6 $\pm$ 0,5
	I	0,3	0,220 $\pm$ 0,020	0,252 $\pm$ 0,003	0,350 $\pm$ 0,001

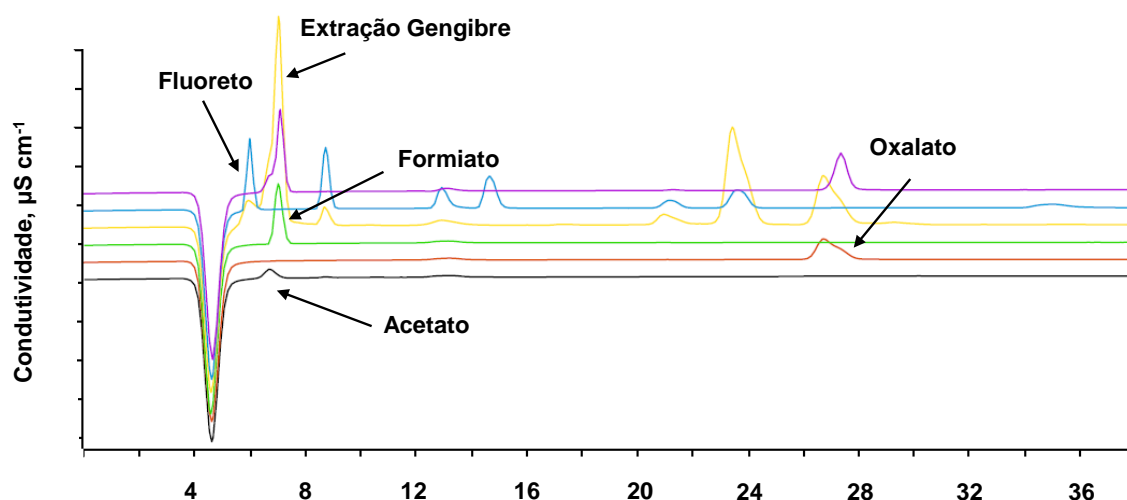
De acordo com os resultados obtidos para Cl, Br e I após a extração por MAE dos CRMs (*Citrus leaves* e *Peach leaves*), pode se observar que quando foi utilizada H<sub>2</sub>O como solução extratora, as concordâncias obtidas ficaram entre 77,5 e 87% (para Cl e I, respectivamente). Quando utilizada a solução extratora de NH<sub>4</sub>OH 0,11 mol L<sup>-1</sup>, as concordâncias ficaram entre 84,0 e 91,8% (para I e Cl, respectivamente). Entretanto, quando utilizada a solução extratora de TMAH foram obtidas concordâncias entre 95,4 e 116% (para Cl e I, respectivamente).

Tendo em vista as interferências durante a determinação de fluoreto por ISE após as extrações por MAE, o íon fluoreto também foi determinado por IC. O cromatograma obtido para a determinação de fluoreto em uma amostra de gengibre e de uma solução padrão de fluoreto, pode ser observado na Figura 12.



**Figura 12.** Cromatograma obtido após a extração por MAE para a amostra de gengibre sobreposto a uma solução padrão ( $250 \mu\text{g L}^{-1}$ ). Condições: 500 mg de amostra e  $\text{NH}_4\text{OH } 0,11 \text{ mol L}^{-1}$ .

Como pode ser observado na Figura 12, quando utilizada a MAE, o fluoreto apresentou interferências quando eluído na coluna cromatográfica. Pode ser verificado que o sinal do íon fluoreto não apresentou boa definição, não retornando a linha base e o resultado obtido foi de aproximadamente 2 vezes quando comparado com os valores de referência (MIC). A falta de definição do sinal ocorreu devido a outro sinal, com tempo de retenção muito próximo ao íon fluoreto. A fim de identificar as possíveis interferências relacionadas a íons que possuem tempo de retenção próximos ao fluoreto, foram feitos alguns testes utilizando soluções de acetado e formiato  $500 \mu\text{g L}^{-1}$ . Também foi feita a verificação do tempo de retenção de oxalato ( $500 \mu\text{g L}^{-1}$ ) a fim de identificar o sinal obtido no tempo de, aproximadamente, 27 min. Os resultados obtidos podem ser observados na Figura 13.

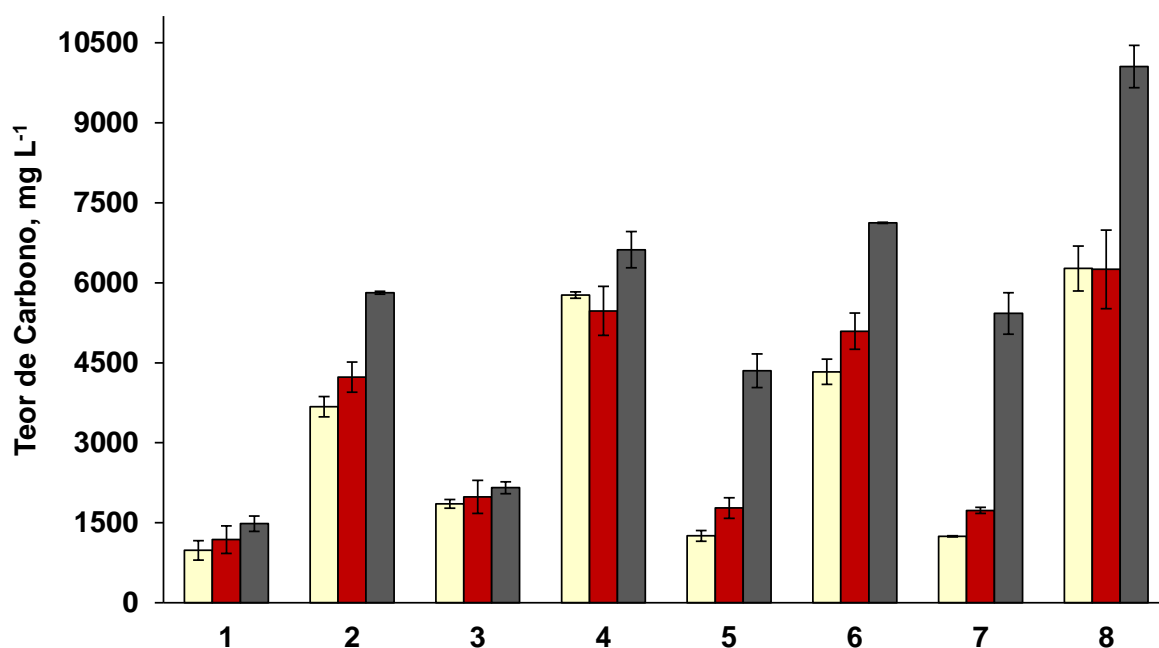


**Figura 13.** Cromatograma obtido após verificação de interferências para fluoreto para a amostra de gengibre após MAE (—) extração gengibre (solução extratora  $\text{NH}_4\text{OH}$   $0,11 \text{ mol L}^{-1}$ ), (—) mistura de solução padrão de formiato, oxalato e acetato ( $500 \mu\text{g L}^{-1}$ ), (—) solução padrão ( $250 \mu\text{g L}^{-1}$ ), (—) solução padrão de formiato ( $500 \mu\text{g L}^{-1}$ ), (—) solução padrão de oxalato ( $500 \mu\text{g L}^{-1}$ ) e (—) solução padrão de acetato ( $500 \mu\text{g L}^{-1}$ ).

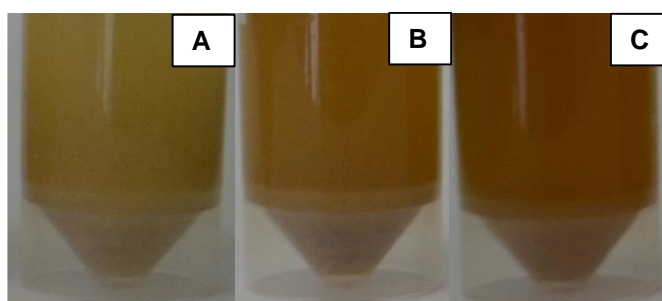
É possível associar as interferências para fluoreto após a MAE a outros ânions que possuem tempos de retenção muito próximo ao do fluoreto (acetato e formiato, por exemplo), provenientes principalmente devido ao alto teor de carbono presente nas soluções após a extração (Figura 13). Cabe salientar que as demais soluções extratoras utilizadas também apresentaram interferência durante a etapa de determinação.

#### 4.2.3.1 Determinação do teor de carbono

Na Figura 14 estão representados os valores de teor de carbono obtidos nos digeridos finais após a MAE. Na Figura 15 pode ser observado o aspecto das soluções resultantes após extração por MAE, utilizando  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NH}_4\text{OH}$   $0,11 \text{ mol L}^{-1}$  e TMAH  $0,11 \text{ mol L}^{-1}$ .



**Figura 14.** Resultados obtidos para o teor de carbono nas amostras de gengibre após extração por MAE utilizando: (□) H<sub>2</sub>O, (■) NH<sub>4</sub>OH 0,11 mol L<sup>-1</sup>, (■) TMAH 0,11 mol L<sup>-1</sup>. Condição: 240 °C, 5 min e 6 mL de solução extratora. Massa de amostra: 500 mg (n = 3).



**Figura 15.** Aspecto das soluções após MAE da amostra de gengibre utilizando A) H<sub>2</sub>O e B) NH<sub>4</sub>OH 0,11 mol L<sup>-1</sup> e C) TMAH 0,11 mol L<sup>-1</sup>. Condição: 240 °C, 5 min e 6 mL de solução extratora. Massa de amostra: 500 mg.

Pode ser observado na Figura 14 que, após a extração, ocorre a transferência de carbono da matriz para a solução em todas as soluções extratoras avaliadas. Entretanto, quando é utilizada a solução de TMAH 0,11 mol L<sup>-1</sup>, o teor de carbono em solução é maior em todas as condições quando comparado com H<sub>2</sub>O e solução de NH<sub>4</sub>OH 0,11 mol L<sup>-1</sup>. Esse resultado pode ser associado ao composto, que possui carbono em sua estrutura (C<sub>4</sub>H<sub>13</sub>NO) e, conseqüentemente, permanecendo em

solução, aumenta a concentração no extrato final. Além disso, por ser uma base forte, o TMAH, em temperaturas na faixa de 250 a 300 °C, também pode provocar cisão de algumas moléculas orgânicas (amidas e ésteres), podendo solubilizar compostos orgânicos da matriz na solução.<sup>121</sup> Também pode ser observado que utilizando maior tempo, temperatura e volume, o teor de carbono também aumenta, devido a dissolução na amostra na solução extratora.

Pode se observar na Figura 15, o aspecto visual das soluções e a presença de material particulado em suspensão após a extração por MAE ( $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NH}_4\text{OH}$  0,11 mol  $\text{L}^{-1}$  e TMAH 0,11 mol  $\text{L}^{-1}$ ). É possível observar que a coloração da solução aumenta no sentido de A até C, ou seja, a solução C possui coloração mais intensa que a solução B, e esta possui coloração maior que a solução A. Isso pode ser explicado, pelo poder de extração e/ou solubilização de compostos orgânicos presentes nas amostras de plantas. Cabe salientar que o TMAH não é apenas um agente extrator seletivo para halogênios, podendo ser utilizado como extrator para metais e compostos orgânicos.<sup>121</sup>

#### 4.2.4 Extração alcalina em sistema aberto com aquecimento convencional

A extração de halogênios em plantas medicinais foi investigada em sistema aberto utilizando  $\text{H}_2\text{O}$  e soluções de TMAH 0,11 mol  $\text{L}^{-1}$  e  $\text{NH}_4\text{OH}$  0,11 mol  $\text{L}^{-1}$  como solução extratora. Para o procedimento, foram utilizadas, aproximadamente, 500 mg de amostra e 6 mL de solução extratora. O procedimento, assim como o programa de aquecimento estão descritos no item 3.4.3 (*Materiais e Métodos*). Os resultados obtidos para Cl, Br, I, foram comparados com valores de referência (MIC), podem ser observados na Tabela 13.

<sup>121</sup> Nóbrega, J. A., et al., *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 61 (2006) 465-495.



**Tabela 13.** Resultados obtidos para F (ISE), Cl (ICP-OES), Br e I (ICP-MS), (média  $\pm$  desvio padrão, n=3), nas amostras de camomila, gengibre e quebra-pedra após extração alcalina em sistema aberto com aquecimento convencional (AE) utilizando H<sub>2</sub>O, NH<sub>4</sub>OH 0,11 mol L<sup>-1</sup> e TMAH 0,11 mol L<sup>-1</sup> como solução extratora.

Amostra	Solução extratora	Concentração em $\mu\text{g g}^{-1}$			
		F	Cl	Br	I
Camomila	H <sub>2</sub> O	ND*	7041 $\pm$ 113	27,0 $\pm$ 1,5	0,064 $\pm$ 0,011
	NH <sub>4</sub> OH	ND*	6989 $\pm$ 43	29,6 $\pm$ 1,3	0,095 $\pm$ 0,008
	TMAH	ND*	6950 $\pm$ 78	28,8 $\pm$ 2,1	0,110 $\pm$ 0,014
Gengibre	H <sub>2</sub> O	ND*	416 $\pm$ 4	74,7 $\pm$ 2,8	1,17 $\pm$ 0,01
	NH <sub>4</sub> OH	ND*	411 $\pm$ 15	79,4 $\pm$ 4,4	1,95 $\pm$ 0,07
	TMAH	ND*	415 $\pm$ 42	76,5 $\pm$ 7,4	0,274 $\pm$ 0,013
Quebra-pedra	H <sub>2</sub> O	ND*	2079 $\pm$ 17	40,7 $\pm$ 1,0	1,17 $\pm$ 0,01
	NH <sub>4</sub> OH	ND*	2056 $\pm$ 207	41,8 $\pm$ 3,3	1,95 $\pm$ 0,07
	TMAH	ND*	2035 $\pm$ 114	41,4 $\pm$ 0,4	0,274 $\pm$ 0,013
<b>Valor de referência (MIC)</b>	NH <sub>4</sub> OH	59,5 $\pm$ 1,2	419 $\pm$ 20	85,4 $\pm$ 5,5	4,30 $\pm$ 0,20

\*ND: Não determinado

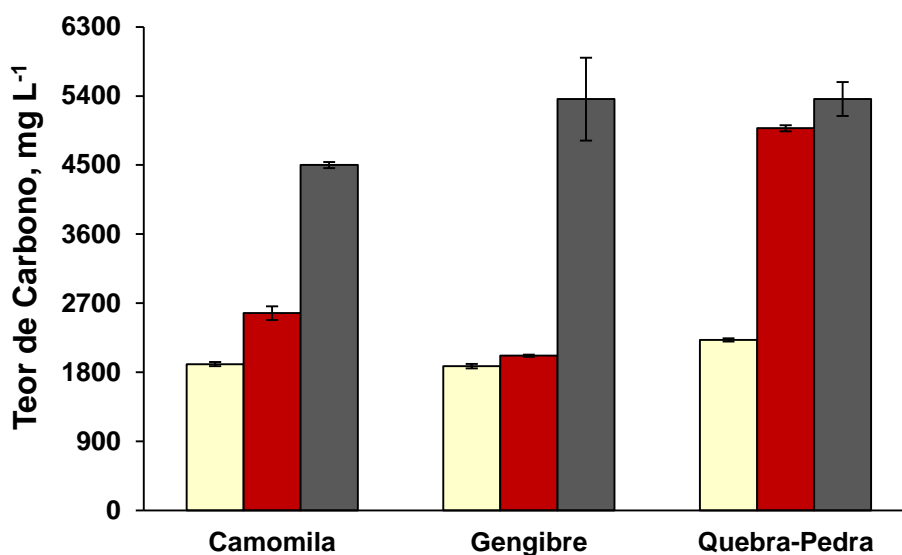
De acordo com os resultados obtidos para Cl e Br na AE utilizando H<sub>2</sub>O, NH<sub>4</sub>OH 0,11 mol L<sup>-1</sup> e TMAH 0,11 mol L<sup>-1</sup>, pode ser observado que não ocorreram perdas destes elementos, quando comparados aos valores de referência obtidos por MIC (Tabela 13). Esses resultados contrariam algumas afirmações encontradas na literatura, as quais relatam a perda de halogênios quando utilizados sistemas abertos, no método de preparo de amostra. Isso pode ocorrer devido a lixiviação dos analitos para a solução extratora, e devido a temperatura não ser suficientemente alta (120 °C), estes permanecem na forma de sais solúveis como BrO<sub>3</sub><sup>-</sup> e ClO<sub>3</sub><sup>-</sup> não ocorrendo a volatilização. Além disso, as concordâncias obtidas para Cl e Br, podem ser associadas com a altura do frasco de vidro utilizado na extração. Estes frascos possuem 1,8 e 24,4 cm de diâmetro e altura, respectivamente e, quando Cl e Br são volatilizados, encontram uma região mais fria, em função do gradiente de temperatura, permanecendo no frasco e voltando até a solução extratora. Entretanto, quando utilizado o sistema aberto para a determinação de I, podem ser observadas perdas significativas deste elemento, mesmo quando é levado em consideração o gradiente de temperatura do frasco da extração.

Em trabalho desenvolvido por Tagami *et al.*<sup>50</sup> foi avaliado o uso da extração alcalina mediante aquecimento convencional em sistema fechado para a recuperação de Cl, Br e I em amostras de plantas e posterior determinação por ICP-MS. As amostras foram deixadas submersas em uma de solução de TMAH por aproximadamente 12 horas, a 60 °C. Posteriormente, a solução resultante foi transferida para um frasco de polipropileno e o mesmo foi aferido a 50 mL com água. Após, a solução contendo a amostra foi centrifugada por 10 min à 3000 rpm e o sobrenadante foi utilizado para a determinação dos halogênios por ICP-MS. Para avaliação da exatidão do método, foram empregados cinco CRMs de matrizes biológicas e botânicas (NIST 1515, NIST 1568a, NIST 8418, NIST 8433 e NIST 8436), e os valores obtidos foram concordantes com os resultados certificados (teste *t* de Student com nível de confiança de 95%) para os elementos estudados. As amostras de plantas também foram analisadas por NAA e apresentaram RSDs de aproximadamente 9% (para Br), maiores do que aqueles obtidos pelo método de extração em meio alcalino.

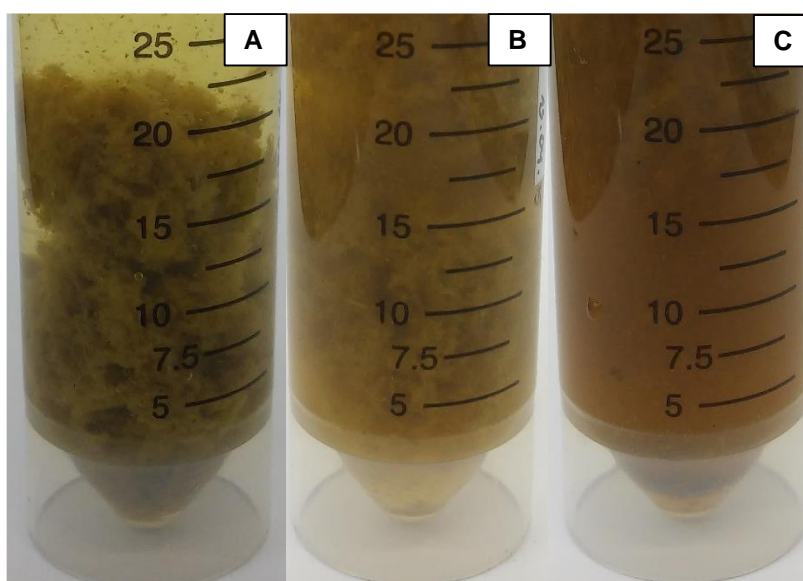
---

<sup>50</sup> Tagami, K., *et al.*, *Analytica Chimica Acta* 570 (2006) 88-92.

Assim como na MAE, não foi possível a determinação de flúor na extração por AE, devido ao alto teor de carbono resultante nos extratos finais. Na Figura 16, é possível observar os resultados obtidos para o teor de carbono e na Figura 17 o aspecto das soluções para as amostras de plantas por AE.



**Figura 16.** Resultados obtidos para o teor de carbono nas amostras de camomila, gengibre, quebra-pedra após AE. (□) H<sub>2</sub>O, (■) NH<sub>4</sub>OH 100 mmol L<sup>-1</sup> e (■) TMAH 100 mmol L<sup>-1</sup>.



**Figura 17.** Aspecto das soluções obtidas após extração por MAE da amostra de gengibre utilizando A) H<sub>2</sub>O e B) NH<sub>4</sub>OH 0,11 mol L<sup>-1</sup> e C) TMAH 0,11 mol L<sup>-1</sup>. Condição: 120 °C, 20 min e 6 mL de solução extratora. Massa de amostra: 500 mg.

De acordo com os resultados mostrados na Figura 16, o teor de carbono é maior utilizando TMAH como solução extratora, e decresce com a utilização de  $\text{NH}_4\text{OH}$  e  $\text{H}_2\text{O}$ . Quando é utilizada a solução de TMAH  $0,11 \text{ mol L}^{-1}$ , o teor de carbono em solução é maior quando comparado com  $\text{H}_2\text{O}$  e solução de  $\text{NH}_4\text{OH}$   $0,11 \text{ mol L}^{-1}$ . Esse resultado, da mesma maneira como foi descrito na MAE, pode ser associado ao composto, que possui carbono em sua estrutura ( $\text{C}_4\text{H}_{13}\text{NO}$ ) e, conseqüentemente, permanecendo em solução, aumenta a concentração na solução final do extrato. Além disso, por ser uma base forte, o TMAH, em temperaturas na faixa de 250 a 300 °C, também pode provocar cisão de algumas moléculas orgânicas (amidas e ésteres), podendo solubilizar compostos orgânicos da matriz na solução.<sup>121</sup>

Pode se observar na Figura 17, o aspecto visual das soluções e a presença de material particulado em suspensão após a extração por AE utilizando  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NH}_4\text{OH}$   $0,11 \text{ mol L}^{-1}$  e TMAH  $0,11 \text{ mol L}^{-1}$  como soluções extratoras. É possível observar que a coloração da solução aumenta no sentido de A até C, ou seja, a solução C possui coloração mais intensa que a solução B, e esta possui coloração maior que a solução A. Isso pode ser explicado, pelo poder de extração e/ou solubilização de compostos orgânicos presentes nas amostras de plantas das soluções extratoras avaliadas.

### 4.3 Avaliação da recuperação de Br com o uso de KBr e $\text{CH}_3\text{Br}$

Após a avaliação dos métodos de preparo de amostras (MIC, MAWD, MAE e AE) foi feito um estudo da recuperação de Br a partir do uso de soluções de referência de KBr e  $\text{CH}_3\text{Br}$ . Este estudo tem por finalidade avaliar a recuperação de Br adicionado na forma de um sal inorgânico (KBr) e na forma orgânica ( $\text{CH}_3\text{Br}$ ). Para estes experimentos, foram utilizadas soluções de KBr  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  e  $\text{CH}_3\text{Br}$   $1000 \text{ mg L}^{-1}$ . Os procedimentos empregados para MIC, MAWD, MAE e AE, estão descritos nos itens 3.3.1.1, 3.4.1, 3.4.2 e 3.4.3 (*Materiais e Métodos*), respectivamente. As recuperações obtidas para Br após a adição de KBr e  $\text{CH}_3\text{Br}$  podem ser observadas na Tabela 14.

<sup>121</sup> Nóbrega, J. A., et al., *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 61 (2006) 465-495.

**Tabela 14.** Valores obtidos para Br, após testes de recuperação por MIC, MAWD, MAE e AE utilizando padrões de KBr e CH<sub>3</sub>Br. Determinação de Br por ICP-MS.

Método de Preparo	Solução	Recuperação de Br após adição de KBr (%)	Recuperação de Br após adição de CH <sub>3</sub> Br (%)
MIC	NH <sub>4</sub> OH 100 mmol L <sup>-1</sup>	97 ± 5	< 5
	NH <sub>4</sub> OH 250 mmol L <sup>-1</sup>	93 ± 4	< 5
	NH <sub>4</sub> OH* 100 mmol L <sup>-1</sup>	95 ± 5	< 5
MAWD	HNO <sub>3</sub> 1 mol L <sup>-1</sup>	91 ± 8	16 ± 3
MAE	H <sub>2</sub> O	91 ± 6	19 ± 3
	NH <sub>4</sub> OH 0,11 mol L <sup>-1</sup>	96 ± 5	22 ± 4
	TMAH 0,11 mol L <sup>-1</sup>	94 ± 7	16 ± 2
AE	H <sub>2</sub> O	101 ± 4	< 5
	NH <sub>4</sub> OH 0,11 mol L <sup>-1</sup>	105 ± 5	< 5
	TMAH 0,11 mol L <sup>-1</sup>	97 ± 4	< 5

\*1 h de espera antes da abertura dos frascos

Os valores obtidos para as recuperações de Br a partir da adição de KBr são superiores à 91% para todos os métodos de preparo de amostra avaliados (MIC, MAWD, MAE e AE) e em todas as condições avaliadas (concentração de solução absorvedora, tipo de solução extratora e tempo de espera na MIC).

Os resultados obtidos na recuperação de Br a partir da adição da solução de referência de CH<sub>3</sub>Br no método de MIC utilizando NH<sub>4</sub>OH 100 mmol L<sup>-1</sup> foi inferior a 5%. Dessa maneira, como teste adicional, a MIC foi feita utilizando uma solução de NH<sub>4</sub>OH 250 mmol L<sup>-1</sup> para verificar se a concentração da solução absorvedora apresentava influência na recuperação do Br. Além disso, outro teste foi feito utilizando NH<sub>4</sub>OH 100 mmol L<sup>-1</sup>, onde os frascos foram deixados em repouso durante 1 h, após o procedimento, para avaliar a recuperação do Br em função do tempo de abertura dos frascos. Entretanto, em ambos os testes, a recuperação de Br foi inferior a 5%. Na MAWD e MAE, a recuperação de Br, a partir da adição da solução de referência de CH<sub>3</sub>Br, foi inferior a 22% (MAE) em todas as soluções avaliadas. A recuperação de Br após a adição da solução de referência de CH<sub>3</sub>Br na AE, também

foi inferior a 5%, em todas as soluções extratoras avaliadas. Dessa maneira, independentemente do método de preparo de amostra utilizado, não foi possível recuperações significativas para Br a partir da adição de  $\text{CH}_3\text{Br}$ . Esta baixa recuperação de Br, pode estar associada a alta volatilidade desse composto (ponto de ebulição de aproximadamente 4 °C), sendo este perdido mesmo em sistema fechado.

#### 4.4 Limites de detecção para F, Cl, Br e I

Com a utilização das técnicas de ISE, IC, ICP-OES e ICP-MS, para a determinação de halogênios, foram obtidos limites de detecção relativamente baixos para os métodos de preparo de amostra avaliados (MIC, MAWD, MAE e AE). Os LODs obtidos para estas técnicas podem ser observados na Tabela 15.

**Tabela 15.** Limites de detecção obtidos por ISE, IC, ICP-OES e ICP-MS após a avaliação dos métodos de preparo de amostra de MIC, MAWD, MAE e AE.

Halogênio	Limite de detecção ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )				Técnica de determinação
	MIC	MAWD	MAE	AE	
F	15	15	ND	ND	ISE
	0,37	ND	ND	ND	IC
Cl	3,63	18,1	33,9	45,4	ICP-OES
Br	0,03	ND	ND	ND	ICP-OES
	0,01	0,03	0,07	0,08	ICP-MS
I	0,01	0,03	0,02	0,06	ICP-MS

Como pode ser observado na Tabela 15, os LODs obtidos para F, Cl, Br e I utilizando a MIC foram menores quando comparados aos demais métodos de preparo de amostras (MAWD, MAE e AE). Para Br, o LOD obtido por ICP-MS é menor quando comparado à determinação feita por ICP-OES para o método de MIC, pois a técnica de ICP-MS possibilita a determinação elementar em menores concentrações. Considerando que os halogênios, em plantas medicinais, estão presentes em baixas

concentrações, a obtenção de menores LODs é um aspecto importante a ser considerado.

#### 4.5 COMPARAÇÃO DOS MÉTODOS DE PREPARO DE AMOSTRAS

Neste trabalho, quatro métodos de preparo de amostras foram investigados para amostras de plantas medicinais e posterior determinação de halogênios por IC (F), ISE (F), ICP-OES (Cl) e ICP-MS (Br e I). Cabe ressaltar que a MIC foi utilizada como método de referência para os demais métodos avaliados (MAWD, MAE e AE). Para cada método de preparo foram feitas otimizações das condições, em relação a concentração de ácido (MAWD), tipo de solução extratora (MAE e AE), temperatura e tempo de aquecimento (MAE e AE), entre outras. Conforme mencionado anteriormente, durante no desenvolvimento destes métodos buscou-se simplicidade, rapidez, uso reduzido de reagentes, alta frequência analítica e, principalmente, soluções compatíveis às técnicas analíticas disponíveis para a determinação de halogênios. Durante o decorrer da avaliação, foi observado que alguns métodos de preparo (MAE e AE) não foram adequados para a determinação de todos os halogênios devido à alta presença de carbono em solução. O método de MAE não permitiu a análise quantitativa de F e o método de AE, apesar de ser relativamente simples, permitir elevada frequência analítica e possibilitar o uso de soluções diluídas, não apresentou recuperações para I. Por outro lado, os métodos de MIC e MAWD (utilizando  $\text{HNO}_3$  1 mol  $\text{L}^{-1}$ ) foram adequados para a quantificação de todos os halogênios. Na Tabela 16 é possível observar a comparação entre os métodos de preparo de amostras investigados para a posterior determinação de halogênios em amostras de plantas medicinais.

**Tabela 16.** Comparação dos métodos de preparo de amostras investigados para posterior determinação de halogênios em amostras de plantas medicinais

Parâmetro	Método de preparo de amostra			
	MIC	MAWD	MAE	AE
Massa máxima de amostra, g	0,5	0,5	0,5	0,5
Solução utilizada	6 mL de NH <sub>4</sub> OH	4,8 mL de HNO <sub>3</sub> e 1,2 mL de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	6 e 10 mL de: H <sub>2</sub> O NH <sub>4</sub> OH 100 mmol L <sup>-1</sup> TMAH 100 mmol L <sup>-1</sup>	6 e 10 mL de: H <sub>2</sub> O NH <sub>4</sub> OH 100 mmol L <sup>-1</sup> TMAH 100 mmol L <sup>-1</sup>
pH final	NH <sub>4</sub> OH: 7	HNO <sub>3</sub> (mol L <sup>-1</sup> ): 1: 4 4: 0 7: 0 14: 0	H <sub>2</sub> O: 6 NH <sub>4</sub> OH: 9 TMAH: 11	H <sub>2</sub> O: 5 NH <sub>4</sub> OH: 6 TMAH: 7
Acidez residual, %	-	1 a 74	-	-
Teor de Carbono em solução, mg de C/100 mg de amostra	<1	0,6 a 34,8	6,5 a 69,9	23,9 a 29,9
Tempo de decomposição/digestão, min	25	65	25 e 4011	20
Frequência analítica	8	8	8	44
Limite de detecção, µg g <sup>-1</sup>	F	0,37	15	ND*
	Cl	3,63	18,1	33,9
	Br	0,03	ND	ND
	I	0,01	0,03	0,02

ND\*: Não determinado



Pode ser observado que a massa de amostra é um importante parâmetro quando se visa à determinação de halogênios em baixa concentração, garantindo baixos LODs. O método empregando MIC apresentou os melhores LODs quando comparado aos métodos com o uso de MAWD, MAE e AE. Embora o sistema empregando AE permita maior frequência analítica (44 amostras), este não permite a determinação de F e I devido ao alto teor de carbono em solução (F) e formação de compostos voláteis (I).

As soluções utilizadas foram escolhidas em relação às características de cada método de preparo de amostra. Na MIC foi utilizada a solução de  $\text{NH}_4\text{OH}$  100  $\text{mmol L}^{-1}$ , devido à retenção de halogênios em meio alcalino. Devido à completa combustão da amostra, conseqüentemente, no método da MIC, as soluções resultantes apresentam baixo teor de carbono (< 1%), favorecendo a compatibilidade com as técnicas analíticas disponíveis para a determinação desses analitos. Na digestão empregando a MAWD foram utilizadas soluções de  $\text{HNO}_3$  (1, 4, 7 e 14,4  $\text{mol L}^{-1}$ ) combinadas com a adição de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Entretanto, no caso de emprego de soluções com maior concentração de  $\text{HNO}_3$  (4, 7 e 14,4  $\text{mol L}^{-1}$ ) foi necessária a neutralização previamente à etapa de determinação, uma vez que o meio ácido pode causar interferências na etapa de determinação. Porém, quando utilizado  $\text{HNO}_3$  1  $\text{mol L}^{-1}$ , foi necessária uma diluição maior para evitar interferências devido à alta concentração de carbono em solução. Na MAE e AE foram utilizados  $\text{H}_2\text{O}$  e soluções alcalinas ( $\text{NH}_4\text{OH}$  e TMAH) para a extração dos analitos e, da mesma forma que para a MAWD utilizando 1  $\text{mol L}^{-1}$ , foi necessária maior diluição da amostra. Cabe destacar que na extração não ocorre a destruição da matéria orgânica, apenas a transferência do analito da matriz para a solução extratora.

Desta forma, no presente trabalho, diversos métodos de preparo de amostras foram avaliados para plantas medicinais e posterior determinação de halogênios, o que facilita a escolha do método adequado de acordo com a disponibilidade dos equipamentos do laboratório, tempo para análises e limites de detecção desejados.

## 5. CONCLUSÕES

---

Neste trabalho foram avaliados quatro métodos de preparo de amostras para posterior determinação de halogênios em amostras de plantas medicinais: *i*) combustão iniciada por micro-ondas, *ii*) decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas, *iii*) extração alcalina assistida por radiação micro-ondas e *vi*) extração alcalina utilizando sistema aberto com aquecimento convencional. Posteriormente, foi feito um estudo em relação à recuperação de Br a partir da adição concentrações conhecidas de KBr e CH<sub>3</sub>Br em cada um dos métodos de preparo de amostras estudados. Este estudo teve por finalidade avaliar a recuperação de Br adicionado na forma de um sal inorgânico (KBr) e na forma orgânica (CH<sub>3</sub>Br).

Dessa maneira, após a avaliação dos métodos de preparo de amostras e avaliação da recuperação de Br, pode-se concluir que:

- O método de decomposição por combustão iniciada por micro-ondas permitiu a determinação de todos os halogênios (F, Cl, Br e I), pelas técnicas disponíveis (ISE, IC, ICP-OES e ICP-MS). A MIC também apresentou teores de C inferiores à 1 mg/g de amostra, minimizando interferências na etapa de determinação dos halogênios. Após os ensaios de recuperação de Br utilizando solução de referência de KBr, foram obtidas recuperações superiores à  $91 \pm 6\%$ .
- No método da MAWD, utilizando HNO<sub>3</sub> 14,4 mol L<sup>-1</sup>, ocorrem maiores perdas para F, Cl, Br e I. No entanto, para Br e I foram observadas perdas gradativas utilizando HNO<sub>3</sub> 4, 7 e 14,4 mol L<sup>-1</sup>, respectivamente, quando comparados com os valores obtidos utilizando HNO<sub>3</sub> 1 mol L<sup>-1</sup> (amostra de gengibre). Cabe salientar que utilizando HNO<sub>3</sub> 1 mol L<sup>-1</sup> com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e sem H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, não foram encontradas diferenças significativas quando comparado com valores de referência (MIC). Os digeridos utilizando HNO<sub>3</sub> 1 mol L<sup>-1</sup> (sem H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), apresentaram alto teor de carbono em solução. A acidez residual, quando utilizados HNO<sub>3</sub> 4, 7 e 14 mol L<sup>-1</sup> foi superior à  $16,7 \pm 1,6\%$  (camomila). Após os ensaios de recuperação de Br, utilizando solução de KBr, foram obtidos valores superiores à  $91 \pm 8\%$ .
- O método de extração alcalina assistida por radiação micro-ondas não apresentou diferença significativa para Cl e Br quando utilizadas diferentes soluções extratoras (H<sub>2</sub>O, NH<sub>4</sub>OH 0,11 mol L<sup>-1</sup> e TMAH 0,11 mol L<sup>-1</sup>). Entretanto, maiores recuperações

de I foram obtidas utilizando a solução de TMAH. O método apresentou interferência na determinação de F pelas técnicas de ISE e IC devido à alta concentração de carbono em solução. Os ensaios de recuperação de Br a partir da adição de KBr foram superiores a  $91 \pm 6\%$ .

- O método de extração alcalina em sistema aberto com aquecimento convencional utilizando  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NH}_4\text{OH}$   $0,11 \text{ mol L}^{-1}$  e TMAH  $0,11 \text{ mol L}^{-1}$  como soluções extratoras, não apresentou perdas de Cl e Br, quando comparados aos valores de referência (MIC). Entretanto, quando utilizado o sistema aberto para a determinação de I, perdas foram observadas, possivelmente pela formação de compostos voláteis. O método também apresentou interferência na determinação de F nas técnicas de ISE e IC devido a alta concentração de carbono em solução. Após os ensaios de recuperação de Br, utilizando solução de KBr, foram obtidos valores superiores à  $97 \pm 4\%$ . Os métodos de preparo avaliados trazem como vantagem o uso de baixo consumo de reagentes, baixo risco de contaminação, baixo tempo de processamento e baixos limites de detecção.

Entretanto, as recuperações de Br usado na forma orgânica ( $\text{CH}_3\text{Br}$ ), foram inferiores a 22%, em todos os métodos de preparo de amostras investigados. O Br adicionado na forma orgânica foi perdido em todos os métodos de preparo de amostras avaliados (mesmo em sistema fechado), possivelmente pela alta volatilidade do composto (ponto de ebulição de  $4 \text{ }^\circ\text{C}$ ).

Desta forma, o método de MAWD utilizando  $\text{HNO}_3$   $1 \text{ mol L}^{-1}$  e  $\text{H}_2\text{O}_2$  foi considerado adequado para a decomposição das amostras e posterior determinação de F, Cl, Br e I. Além disso, os resultados obtidos após a decomposição foi concordante com os valores encontrados a partir do método de referência (MIC). Em vista da aplicabilidade dos métodos de preparo de amostras avaliados (MIC, MAWD, MAE e AE), a escolha por cada um destes irá depender de alguns fatores como por exemplo, o analito a ser determinado, instrumentação disponível em laboratório, frequência analítica e faixa de concentração dos analitos presentes na amostra.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

1. Kalra, Y. P., Handbook of Reference Methods for Plant Analysis United States of America, 1998, pp. 1-10.
2. Di Narda, F., Toniolo, R., Bontempelli, G., Improved microwave digestion procedure for inductively coupled plasma mass spectrometric determinations of inorganic bromide residues in foodstuffs fumigated with methyl bromide, *Analytica Chimica Acta* 436 (2001) 245-252.
3. Yagi, K., Williams, J., Wang, N.-Y., Cicerone, R. J., Atmospheric Methyl Bromide (CH<sub>3</sub>Br) from Agricultural Soil Fumigations, *Science* 267 (1995) 1979-1981.
4. Manö, S., Andreae, M. O., Emission of Methyl Bromide from Biomass Burning, *Science* 263 (1994) 1255-1257.
5. Krug, F. J., Métodos de preparo de amostras: fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar, Piracicaba, 2010, pp. 184-247.
6. Flores, É. M. M., Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Determination, Elsevier, Amsterdam, 2014, 77-172.
7. Knapp, G., Maichin, B., Fecher, P., Hasse, S., Schramel, P., Iodine determination in biological materials. Options for sample preparation and final determination, *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* 362 (1998) 508-513.
8. Cortés-Peña, M. A., Pérez-Arribas, L. V., León-González, M. E., Polo-Díez, L. M., Determination of chlorine and bromine in automotive shredder residues by oxygen bomb and ion chromatography, *Waste Management & Research* 20 (2002) 302-307.
9. Steyermark, A., Kaup, R. R., Petras, D. A., Bass, E. A., Microdetermination of fluorine in organic compounds following a modified Schöniger combustion, *Microchemical Journal* 3 (1959) 523-527.
10. Pereira, J. S. F., Antes, F. G., Diehl, L. O., Knorr, C. L., Mortari, S. R., Dressler, V. L., Flores, E. M. M., Microwave-induced combustion of carbon nanotubes for further halogen determination, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 25 (2010) 1268-1274.
11. Romarís-Hortas, V., Moreda-Piñeiro, A., Bermejo-Barrera, P., Microwave assisted extraction of iodine and bromine from edible seaweed for inductively coupled plasma-mass spectrometry determination, *Talanta* 79 (2009) 947-952.

12. Antes, F. G., Duarte, F. A., Paniz, J. N. G., Santos, M. D. P., Guimaraes, R. C. L., Flores, E. M. M., Dressler, V. L., Chlorine Determination in Petroleum coke using pyrohydrolysis and DRC-ICP-MS, *Atomic Spectroscopy* 29 (2008) 157-164.
13. Mello, P., Barin, J., Duarte, F., Bizzi, C., Diehl, L., Muller, E., Flores, E. M. M., Analytical methods for the determination of halogens in bioanalytical sciences: a review, *Analytical Bioanalytical Chemistry* 405 (2013) 7615-7642.
14. Ahmad, I., Mehmood, Z., Mohammad, F., Screening of some Indian medicinal plants for their antimicrobial properties, *Journal of Ethnopharmacology* 62 (1998) 183-193.
15. ANVISA, Formulário de Fitoterápicos Farmacopeia Brasileira Brasília, 2011, pp. 523.
16. Balunas, M. J., Kinghorn, A. D., Drug discovery from medicinal plants, *Life Sciences* 78 (2005) 431-441.
17. Calixto, J. B., Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents), *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 33 (2000) 179-189.
18. Desideri, D., Meli, M. A., Roselli, C., Feduzi, L., Polarized X ray fluorescence spectrometer (EDPXRF) for the determination of essential and non essential elements in tea, *Microchemical Journal* 98 (2011) 186-189.
19. ANVISA, Farmacopeia Brasileira, 5ª ed., Brasília, 2010, pp. 13-195.
20. Müller, A. L. H., Bizzi, C. A., Pereira, J. S. F., Mesko, M. F., Moraes, D. P., Flores, E. M. M., Muller, E. I., Bromine and chlorine determination in cigarette tobacco using microwave-induced combustion and inductively coupled plasma optical emission spectrometry, *Journal of the Brazilian Chemical Society* 22 (2011) 1649-1655.
21. Souza, C. D., Felfili, J. M., Uso de plantas medicinais na região de Alto Paraíso de Goiás, GO, Brasil, *Acta Botanica Brasilica* 20 (2006) 135-142.
22. Ekambaram, M., Itthagarun, A., King, N. M., Ingestion of fluoride from dentifrices by young children and fluorosis of the teeth - A Literature Review, *Journal of Clinical Pediatric Dentistry* 36 (2011) 111-122.
23. World Health Organization, A guide for programme managers. M., 2007, pp 12.
24. Fechetia, M., Tognon, A. L., Veiga, M. A. M. S., Determination of chlorine in food samples via the AlCl molecule using high-resolution continuum source molecular absorption spectrometry in a graphite furnace, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 71-72 (2012) 98-101.
25. Evans, R. B., Chlorine: state of the art, *Lung* 183 (2005) 151-167.
26. Blaustein, M. P., Leenen, F. H., Chen, L., Golovina, V. A., Hamlyn, J. M., Pallone, T. L., Van Huysse, J. W., Zhang, J., Wier, W. G., How NaCl raises blood pressure: a new paradigm for the pathogenesis of salt-dependent hypertension, *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology* 302 (2012) 1031-1049.

27. Wolff, M. S., Berkowitz, G. S., Brower, S., Senie, R., Bleiweiss, I. J., Tartter, P., Pace, B., Roy, N., Wallenstein, S., Weston, A., Organochlorine exposures and breast cancer risk in New York city women, *Environmental Research* 84 (2000) 151-161.
28. Hetzel, B. S., Maberly, G. F., Iodine, W. Mertz. Trace elements in human and animal nutrition, Academic Press, San Diego, 1986, pp. 139-208.
29. Zimmermann, M. B., Iodine requirements and the risks and benefits of correcting iodine deficiency in populations, *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 22 (2008) 81-92.
30. Verheesen, R. H., Schweitzer, C. M., Iodine deficiency, more than cretinism and goiter, *Medical Hypotheses* 71 (2008) 645-648.
31. Chow, C. C., Phillips, D. I., Lazarus, J. H., Parkes, A. B., Effect of low dose iodide supplementation on thyroid function in potentially susceptible subjects: are dietary iodide levels in Britain acceptable?, *Clinical endocrinology* 34 (1991) 413-416.
32. Hulea, V., Fajula, F., Bousquet, J., *Journal of Catalysis*. 198 (2001) 179.
33. Picoloto, R. S., Doneda, M., Flores, E. L. M., Mesko, M. F., Flores, E. M. M., Mello, P. A., Simultaneous determination of bromine and iodine in milk powder for adult and infant nutrition by plasma based techniques after digestion using microwave-induced combustion, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 107 (2015) 86-92.
34. Lag, M., Soderlund, E. J., Omichinski, J. G., Brunborg, G., Holme, J. A., Dahl, J. E., Nelson, S. D., Dybing, E., Effect of bromine and chlorine positioning in the induction of renal and testicular toxicity by halogenated propanes, *Chemical research in toxicology* 4 (1991) 528-534.
35. Birhanu, W. T., Chaueby, A. K., Teklemariam, T. T., Dewu, B. B. M., Funtua, I. I., Application of instrumental neutron activation analysis (INAA) in the analysis of essential elements in six endemic Ethiopian medicinal plants, (2014) 213-227.
36. Yassaa, N., Wishkerman, A., Keppler, F., Williams, J., Fast determination of methyl chloride and methyl bromide emissions from dried plant matter and soil samples using HS-SPME and GC-MS: method and first results, *Environmental Chemistry* 6 (2009) 311-318.
37. U.S Pharmacopeial Convention. <http://www.usp.org/usp-nf/notices/general-chapter-articles-botanical-origin>; Acessado em: 03/06/2015.
38. Arruda, M. A. Z., Trends in Sample Preparation, Nova Science Publishers, New York, 2006, pp. 8.
39. Arruda, M. A. Z., Santelli, R. E., Mecanização no preparo de amostras por microondas: o estado da arte, *Química Nova* 20 (1997) 638-643.

40. Mesko, M. F., Determinação de halogênios em carvão, coque petroquímico e alimentos após combustão iniciada por micro-ondas, Programa de Pós Graduação em Química, Universidade Federal de Santa Maria, 2008, pp. 8.
41. The International Pharmacopeia. Acessado em: 03/06/2015.
42. Chen, J. H., Wang, K. E., Jiang, S. J., Determination of iodine and bromine compounds in foodstuffs by CE-inductively coupled plasma MS, *Electrophoresis* 28 (2007) 4227-4232.
43. Romarís-Hortas, V., García-Sartal, C., Barciela-Alonso, M. d. C., Domínguez-González, R., Moreda-Piñeiro, A., Bermejo-Barrera, P., Bioavailability study using an in-vitro method of iodine and bromine in edible seaweed, *Food Chemistry* 124 (2011) 1747-1752.
44. Rose, M., Miller, P., Baxter, M., Appleton, G., Crews, H., Croasdale, M., Bromine and iodine in 1997 UK total diet study samples, *Journal of environmental monitoring* (2001) 361-365.
45. Mores, S., Monteiro, G. C., Santos Fda, S., Carasek, E., Welz, B., Determination of fluorine in tea using high-resolution molecular absorption spectrometry with electrothermal vaporization of the calcium mono-fluoride, *Talanta* 85 (2011) 2681-2685.
46. Abugassa, I., Bashir, A., Doubali, K., Etwir, R., Abu-Enawel, M., Abugassa, S., Characterization of trace elements in medicinal herbs by instrumental neutron activation analysis, *Journal Radioanalytical Nuclear Chemistry* 278 (2008) 559-563.
47. Moreira, H. S., Vasconcellos, M. B. A., Alves, E. R., Santos, F. M., Saiki, M., Elemental composition of herbal medicines sold over-the-counter in São Paulo city, Brazil, *Journal Radioanalytical Nuclear Chemistry* 290 (2011) 615-621.
48. Mosulishvili, L. M., Kirkesali, E. I., Belokobylsky, A. I., Khizanishvili, A. I., Frontasyeva, M. V., Pavlov, S. S., Gundorina, S. F., Experimental substantiation of the possibility of developing selenium- and iodine-containing pharmaceuticals based on blue-green algae *Spirulina platensis*, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 30 (2002) 87-97.
49. Wasim, M., Daud, M., Arif, M., ul-Islam, R., Iqbal, S., Anwar, Y., Characterisation of some exotic fruits (*Morus nigra*, *Morus alba*, *Salvadora persica* and *Carissa opaca*) used as herbal medicines by neutron activation analysis and estimation of their nutritional value, *Journal Radioanalytical Nuclear Chemistry* 292 (2012) 653-659.
50. Tagami, K., Uchida, S., Hirai, I., Tsukada, H., Takeda, H., Determination of chlorine, bromine and iodine in plant samples by inductively coupled plasma-mass spectrometry after leaching with tetramethyl ammonium hydroxide under a mild temperature condition, *Analytica Chimica Acta* 570 (2006) 88-92.

51. Bizzi, C. A., Flores, E. M. M., Picoloto, R. S., Barin, J. S., Nobrega, J., Microwave-assisted digestion in closed vessels: effect of pressurization with oxygen on digestion process with diluted nitric acid, *Analytical Methods* 2 (2010) 734-738.
52. 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, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 62 (2007) 1051-1064.
53. Mello, P. A., Pereira, J. S. F., Mesko, M. F., Barin, J. S., Flores, E. M. M., Sample preparation methods for subsequent determination of metals and non-metals in crude oil—A review, *Analytica Chimica Acta* 746 (2012) 15-36.
54. Neas, E. D., Collins, M. J., Kingston, H. M., L. B. J., Introduction to Microwave Sample Preparation - Theory and Practice, 1988, pp. 7-32.
55. Sneddon, J., Hardaway, C., Bobbadi, K. K., Reddy, A. K., Sample Preparation of Solid Samples for Metal Determination by Atomic Spectroscopy—An Overview and Selected Recent Applications, *Applied Spectroscopy Reviews* 41 (2006) 1-14.
56. Souza, G. B., Carrilho, E. N. V. M., Oliveira, C. V., Nogueira, A. R. A., Nóbrega, J. A., Oxygen bomb combustion of biological samples for inductively coupled plasma optical emission spectrometry, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 57 (2002) 2195-2201.
57. Jain, A., Verma, A., Verma, K. K., Determination of bromine in organic compounds by high-performance liquid chromatography, *Talanta* 37 (1990) 595-598.
58. Pereira, J. S. F., Moraes, D. P., Antes, F. G., Diehl, L. O., Santos, M. F. P., Guimarães, R. C. L., Fonseca, T. C. O., Dressler, V. L., Flores, E. M. M., Determination of metals and metalloids in light and heavy crude oil by ICP-MS after digestion by microwave-induced combustion, *Microchemical Journal* 96 (2010) 4-11.
59. Oliveira, A. P., Villa, R. D., Antunes, K. C. P., de Magalhães, A., Silva, E. C., Determination of sodium in biodiesel by flame atomic emission spectrometry using dry decomposition for the sample preparation, *Fuel* 88 (2009) 764-766.
60. Moxon, R. E. D., Dixon, E. J., Semi-automatic method for the determination of total iodine in food, *Analyst* 105 (1980) 344-352.
61. Barbosa, J., Santos, C., dos Santos Bispo, L., Lyra, F., David, J., Korn, M., Flores, E., Bromine, chlorine and iodine determination in soybean and its products by ICP-MS after digestion using microwave-induced combustion, *Food Analytical Methods* 6 (2013) 1065-1070.
62. Fung, Y. S., Dao, K. L., Elemental analysis of chemical wastes by oxygen bomb combustion-ion chromatography, *Analytica Chimica Acta* 334 (1996) 51-56.



63. Fabbri, D., Locatelli, C., Tarabusi, S., A new procedure, based on combustion to sulphate and ion chromatography for the analysis of elemental sulphur in sediments, *Chromatographia* 53 (2000) 119-121.
64. Gustafsson, L., Njenga, L. W., Determination of total fluorine in vegetables and plants by open-flame ashing and microdiffusion: Comparison with furnace ashing and oxygen-flask combustion, *Analytica Chimica Acta* 212 (1988) 133-143.
65. Watanabe, N., Tanikawa, N., Oikawa, T., Inoue, S., Fukuyama, J., Improved quartz furnace method for chlorine and sulfur determination in municipal solid waste, *Journal Material Cycles Waste Management* 5 (2003) 0069-0076.
66. Hempel, W., Über die Bestimmung des Heizwerthes von Brennmaterialien im Calorimeter, *Angewandte Chemie* 5 (1892) 389-393.
67. Schöniger, W., Eine mikroanalytische Schnellbestimmung von Halogen in organischen Substanzen, *Mikrochimica Acta* 43 (1955) 123-129.
68. Geng, W., Nakajima, T., Takanashi, H., Ohki, A., Determination of total fluorine in coal by use of oxygen flask combustion method with catalyst, *Fuel* 86 (2007) 715-721.
69. Ma, T. S., Gwirtsman, J., Microdetermination of Fluorine in Organic Compounds, *Analytical Chemistry* 29 (1957) 140-142.
70. Flores, E. M. M., Barin, J. S., Paniz, J. N. G., Medeiros, J. A., Knapp, G., Microwave-Assisted Sample Combustion: A Technique for Sample Preparation in Trace Element Determination, *Analytical Chemistry* 76 (2004) 3525-3529.
71. Barin, J. S., Determinação de metais e não metais em produtos farmacêuticos após decomposição em sistema fechado por combustão iniciada por microondas, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal de Santa Maria, 2003.
72. Moraes, D. P., Mesko, M. F., Mello, P. A., Paniz, J. N. G., Dressler, V. L., Knapp, G., Flores, E. M. M., Application of microwave induced combustion in closed vessels for carbon black-containing elastomers decomposition, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 62 (2007) 1065-1071.
73. Muller, A. L. H., Mello, P. A., Mesko, M. F., Duarte, F. A., Dressler, V. L., Muller, E. I., Flores, E. M. M., Bromine and iodine determination in active pharmaceutical ingredients by ICP-MS, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 27 (2012) 1889-1894.
74. Mesko, M., Mello, P., Bizzi, C., Dressler, V., Knapp, G., Flores, E. M. M., Iodine determination in food by inductively coupled plasma mass spectrometry after digestion by microwave-induced combustion, *Analytical Bioanalytical Chemistry* 398 (2010) 1125-1131.

75. Cataldi, T. I., Rubino, A., Ciriello, R., Sensitive quantification of iodide by ion-exchange chromatography with electrochemical detection at a modified platinum electrode, *Analytical Bioanalytical Chemistry* 382 (2005) 134-141.
76. Haldimann, M., Eastgate, A., Zimmerli, B., Improved measurement of iodine in food samples using inductively coupled plasma isotope dilution mass spectrometry, *Analyst* 125 (2000) 1977-1982.
77. Wheal, M. S., Palmer, L. T., Chloride analysis of botanical samples by ICP-OES, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 25 (2010) 1946-1952.
78. Antes, F. G., Pereira, J. S. F., Enders, M. S. P., Moreira, C. M. M., Müller, E. I., Flores, E. M. M., Dressler, V. L., Pyrohydrolysis of carbon nanotubes for Br and I determination by ICP-MS, *Microchemical Journal* 101 (2012) 54-58.
79. Dressler, V. L., Pozebon, D., Flores, E., Paniz, J. N. G., Flores, E. M. M., Potentiometric determination of fluoride in geological and biological samples following pyrohydrolytic decomposition, *Analytica Chimica Acta* 466 (2002) 117-123.
80. Peng, B., Wu, D., Lai, J., Xiao, H., Li, P., Simultaneous determination of halogens (F, Cl, Br, and I) in coal using pyrohydrolysis combined with ion chromatography, *Fuel* 94 (2012) 629-631.
81. Antes, F. G., Pereira, J. S. F., Spadua, L. C., Muller, E. I., Flores, E. M. M., Dressler, V. L., Fluoride determination in carbon nanotubes by ion selective electrode, *Journal of the Brazilian Chemical Society* 23 (2012) 1193-1198.
82. Taflik, T., Duarte, F. A., Flores, E. L. M., Antes, F. G., Paniz, J. N. G., Flores, E. M. M., Dressler, V. L., Determination of bromine, fluorine and iodine in mineral supplements using pyrohydrolysis for sample preparation, *Journal of the Brazilian Chemical Society* 23 (2012) 488-495.
83. Antes, F. G., Duarte, F. A., Flores, E. L. M., Paniz, J. N. G., Flores, E. M. M., Dressler, V. L., Preparo de amostras de combustíveis fósseis por piroidrólise para a determinação de flúor e cloro, *Química Nova* 33 (2010) 1130-1134.
84. Chen, C. Y., Trace elements in Taiwanese health food, Angelica keiskei, and other products, *Food Chemistry* 84 (2004) 545-549.
85. Muravyeva, I. V., Bebeshko, G. I., Determination of fluorine in aluminum production waste, *Inorganic Material* 50 (2014) 1408-1411.
86. Oliveira, A. A., Nóbrega, J. A., Pereira-Filho, E. R., Trevizan, L. C., Avaliação de ICP OES com configuração axial ou radial para determinação de iodo em sal de cozinha, *Química Nova* 35 (2012) 1299-1305.
87. A. Fecher, P., Goldmann, I., Nagengast, A., Determination of iodine in food samples by inductively coupled plasma mass spectrometry after alkaline extraction, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 13 (1998) 977-982.

88. Itota, T., Carrick, T. E., Rusby, S., Al-Naimi, O. T., Yoshiyama, M., McCabe, J. F., Determination of fluoride ions released from resin-based dental materials using ion-selective electrode and ion chromatograph, *Journal of Dentistry* 32 (2004) 117-122.
89. Vogel, A. I., *Análise Química Quantitativa*, LTC, São Paulo, 2002, pp. 462.
90. Harris, D. C., *Análise Química Quantitativa LTC*, Rio de Janeiro, 2012, pp. 886.
91. Gilliam, J. W., Rapid measurement of chlorine in plant materials, *Soil Science Society of America Proceedings* 35 (1971) 512.
92. Adriano, D. C., Pratt, P. F., Holtzclaw, K. M., Comparison of Two Simple Methods of Chlorine Analysis in Plant Materials, *Agronomy Journal* 65 (1973) 133-134.
93. Mesko, M. F., Moraes, D. P., Barin, J. S., Dressler, V. L., Knapp, G., Flores, E. M. M., Digestion of biological materials using the microwave-assisted sample combustion technique, *Microchemical Journal* 82 (2006) 183-188.
94. Bu, X., Wang, T., Hall, G., Determination of halogens in organic compounds by high resolution inductively coupled plasma mass spectrometry (HR-ICP-MS), *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 18 (2003) 1443-1451.
95. Kregel-Rothensee, K., Richter, U., Heitland, P., Low-level determination of non-metals (Cl, Br, I, S, P) in waste oils by inductively coupled plasma optical emission spectrometry using prominent spectral lines in the 130-190 nm range, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 14 (1999) 699-702.
96. Naozuka, J., Mesquita, M. A. M., Vitoriano, P., O., E., Determination of chlorine, bromine and iodine in milk samples by ICP-OES, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 18 (2003) 917-921.
97. Hou, X., Jones, B. T., Inductively coupled plasma-optical emission spectrometry, encyclopedia of analytical chemistry, John Wiley & Sons, Ltd, 2006.
98. Akbar, M., Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, United States of America, 1998, pp. 964.
99. Fernandez, A., Murillo, M., Carrion, N., Mermet, J.-M., Influence of operating conditions on the effects of acids in inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 9 (1994) 217-221.
100. Claudia Eith, *Práticas em cromatografia de íons*, Metrohm, 2006, pp. 142.
101. Saari-Nordhaus, R., Anderson, J. M., Recent advances in ion chromatography suppressor improve anion separation and detection, *Journal of Chromatography A* 956 (2002) 15-22.
102. Müller, A. L. H., Müller, C. C., Antes, F. G., Barin, J. S., Dressler, V. L., Flores, E. M. M., Müller, E. I., Determination of bromide, chloride and fluoride in cigarette tobacco by ion chromatography after microwave-induced combustion, *Analytical Letters* 45 (2012) 1004-1015.

103. Pereira, J. S. F., Diehl, L. O., Duarte, F. A., Santos, M. F. P., Guimarães, R. C. L., Dressler, V. L., Flores, E. M. M., Chloride determination by ion chromatography in petroleum coke after digestion by microwave-induced combustion, *Journal of Chromatography A* 1213 (2008) 249-252.
104. Orvini, E., Speziali, M., Applicability and limits of instrumental neutron activation analysis: state of the art in the year 2000, *Microchemical Journal* 59 (1998) 160-172.
105. Shinonaga, T., Gerzabek, M. H., Strebl, F., Muramatsu, Y., Transfer of iodine from soil to cereal grains in agricultural areas of Austria, *Science of The Total Environment* 267 (2001) 33-40.
106. Bhagat, P. R., Pandey, A. K., Acharya, R., Nair, A. G. C., Rajurkar, N. S., Reddy, A. V. R., Selective preconcentration and determination of iodine species in milk samples using polymer inclusion sorbent, *Talanta* 71 (2007) 1226-1232.
107. Hou, X., Chai, C., Qian, Q., Liu, G., Zhang, Y., Wang, K., The study of iodine in Chinese total diets, *Science of The Total Environment* 193 (1997) 161-167.
108. Naidu, G. R. K., Denschlag, H. O., Mauerhofer, E., Porte, N., Balaji, T., Determination of macro, micro nutrient and trace element concentrations in Indian medicinal and vegetable leaves using instrumental neutron activation analysis, *Applied Radiation and Isotopes* 50 (1999) 947-953.
109. Kumar, A., Nair, A. G. C., Reddy, A. V. R., Garg, A. N., Availability of essential elements in Indian and US tea brands, *Food Chemistry* 89 (2005) 441-448.
110. Saenko, G. N., Kravtsova, Y. Y., Ivanenko, V. V., Sheludko, S. I., Concentration of iodine and bromine by plants in the seas of Japan and Okhotsk, *Marine Biology*. 47 (1978) 243-250.
111. Yamada, Y., Occurrence of bromine in plants and soil, *Talanta* 15 (1968) 1135-1141.
112. Choudhury, R. P., Acharya, R., Nair, A. G. C., Reddy, A. V. R., Garg, A. N., Availability of essential trace elements in medicinal herbs used for diabetes mellitus and their possible correlations, *Journal Radioanalytical Nuclear Chemistry* 276 (2008) 85-93.
113. Moreda-Pineiro, A., Romaris-Hortas, V., Bermejo-Barrera, P., A review on iodine speciation for environmental, biological and nutrition fields, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 26 (2011) 2107-2152.
114. Shamsipur, M., Fattahi, N., Sadeghi, M., Pirsahab, M., Determination of ultra traces of lead in water samples after combined solid-phase extraction-dispersive liquid-liquid microextraction by graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Journal of the Iranian Chemical Society* 11 (2014) 249-256.
115. Frant, M., Ross, J. W., Use of a total ionic strength adjustment buffer for electrode determination of fluoride in water supplies, *Analytical Chemistry* 40 (1968) 1169-1171.

116. Gélinas, Y., Krushevska, A., Barnes, R. M., Determination of total iodine in nutritional and biological samples by ICP-MS following their combustion within an oxygen stream, *Analytical Chemistry* 70 (1998) 1021-1025.
117. Todolí, J. L., Mermet, J. M., Acid interferences in atomic spectrometry: analyte signal effects and subsequent reduction, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 54 (1999) 895-929.
118. Bizzi, C. A., Flores, E. L. M., Nobrega, J. A., Oliveira, J. S. S., Schmidt, L., Mortari, S. R., Evaluation of a digestion procedure based on the use of diluted nitric acid solutions and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> for the multielement determination of whole milk powder and bovine liver by ICP-based techniques, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 29 (2014) 332-338.
119. Leppänen, K., Niemelä, M., Perämäki, P., Development of an efficient acid digestion procedure utilizing high-pressure asher technique for the determination of iodine and metallic elements in milk powder, *Food Analytical Methods* 7 (2014) 1103-1108.
120. Fecher, P. A., Nagengast, A., Trace analysis in high matrix aqueous solutions using helium microwave induced plasma mass spectrometry, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 9 (1994) 1021-1027.
121. Nóbrega, J. A., Santos, M. C., de Sousa, R. A., Cadore, S., Barnes, R. M., Tatro, M., Sample preparation in alkaline media, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 61 (2006) 465-495.

---

## 7. Decomposição por MAWD para posterior determinação de metais

Para o procedimento de decomposição da amostra por MAWD e posterior determinação de metais por ICP-OES, aproximadamente 500 mg de amostra foram pesados no interior dos frascos de quartzo e 6 mL de HNO<sub>3</sub> 14,4 mol L<sup>-1</sup> foram adicionados sobre a amostra. O programa de aquecimento utilizado para a decomposição das amostras consistiu em 3 etapas: *i*) 1000 W por 10 min (10 min de rampa) *ii*) 1400 W por 35 min *iii*) 0 W por 20 min para etapa de resfriamento.

Após o término do programa e resfriamento dos frascos, as paredes dos frascos foram lavadas com água e as soluções obtidas foram recolhidas em frascos de polipropileno e aferidas a 30 mL com água. Posteriormente, os frascos de quartzo utilizados na decomposição por MAWD foram descontaminados através da adição de 6 mL de HNO<sub>3</sub> concentrado e aquecimento em forno de micro-ondas por 10 min a 1400 W.

As soluções de calibração para a determinação de metais por ICP-OES, foram preparadas a partir de uma solução multielementar (SCP33MS, PlasmaCAL, Canadá) contendo todos analitos na concentração de 10 mg L<sup>-1</sup> em ácido nítrico 5% (Merck). As concentrações utilizadas para a curva de calibração de metais do ICP-OES foram preparadas na faixa de 1 a 100 µg L<sup>-1</sup>. Na Tabela 17 podem ser observados os parâmetros operacionais utilizados para a determinação de metais por ICP-OES.

**Tabela 17.** Parâmetros operacionais para as determinações de metais por ICP-OES.

<b>Parâmetro</b>	<b>ICP-OES</b>
Potência do gerador de radiofrequência (W)	1400
Vazão principal de argônio (L min <sup>-1</sup> )	12,0
Vazão auxiliar de argônio (L min <sup>-1</sup> )	1,0
Vazão de argônio do nebulizador (L min <sup>-1</sup> )	1,00
Câmara de nebulização	<i>Scott</i>
Nebulizador	<i>Cross flow</i>
Linhas de emissão, nm	
Al	167,078
Ba	455,404
Ca	393,366
Cd	214,438
Cr	205,552
Cu	327,396
Fe	259,941
Mg	279,553
Mn	259,273
P	177,495
Sb	231,147
Sr	407,771
Ti	334,187
V	292,464
Zn	213,856
S	180,731
Replicatas	5

### 7.1 Determinação de metais após decomposição assistida por micro-ondas

As amostras de plantas medicinais (camomila, gengibre e quebra-pedra) foram caracterizadas quanto ao teor de metais. O procedimento, assim como o programa de

aquecimento do forno de micro-ondas, utilizado para a determinação de metais, está descrito no item 3.4.1 (*Materiais e Métodos*). Os resultados obtidos para a determinação de metais utilizando a MAWD, podem ser observados na Tabela 18.

**Tabela 18.** Resultados obtidos para a determinação de metais ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ), após decomposição das amostras de camomila, gengibre e quebra-pedra por MAWD utilizando  $\text{HNO}_3$   $14.4 \text{ mol L}^{-1}$  (média  $\pm$  desvio padrão,  $n = 3$ ).

Elemento	Camomila	Gengibre	Quebra-pedra
<b>Al</b>	178 $\pm$ 8	95,9 $\pm$ 6,9	1043 $\pm$ 28
<b>Ba</b>	10,8 $\pm$ 0,4	9,73 $\pm$ 1,12	78,4 $\pm$ 0,4
<b>Ca</b>	6555 $\pm$ 98	1292 $\pm$ 28	6458 $\pm$ 614
<b>Cd</b>	0,115 $\pm$ 0,005	0,405 $\pm$ 0,027	2,10 $\pm$ 0,07
<b>Cr</b>	2,45 $\pm$ 0,09	0,459 $\pm$ 0,017	28,4 $\pm$ 1,4
<b>Cu</b>	10,7 $\pm$ 0,46	5,17 $\pm$ 0,11	7,88 $\pm$ 0,07
<b>Fe</b>	173 $\pm$ 11	85,3 $\pm$ 2,4	1516 $\pm$ 2
<b>Mg</b>	3120 $\pm$ 358	2197 $\pm$ 33	2298 $\pm$ 72
<b>Mn</b>	40,4 $\pm$ 3,2	253 $\pm$ 7	339 $\pm$ 10
<b>P</b>	3831 $\pm$ 54	1906 $\pm$ 107	2280 $\pm$ 153
<b>S</b>	2513 $\pm$ 68	4624 $\pm$ 150	1697 $\pm$ 155
<b>Sr</b>	2,43 $\pm$ 1,47	4,66 $\pm$ 0,18	44,2 $\pm$ 0,9
<b>Ti</b>	7,63 $\pm$ 0,53	3,66 $\pm$ 0,74	83,9 $\pm$ 1,1
<b>V</b>	0,290 $\pm$ 0,001	0,240 $\pm$ 0,003	4,66 $\pm$ 0,07
<b>Zn</b>	31,5 $\pm$ 1,2	14,9 $\pm$ 0,16	40,3 $\pm$ 2,0

Observando a Tabela 18, as amostras de camomila, gengibre e quebra-pedra, de maneira geral, apresentaram altas concentrações de Ca, Mg, P e S. Estes elementos são considerados majoritários e são essenciais para o desenvolvimento das plantas. Embora em concentrações menores, as amostras também apresentaram Ba, Cu, Fe, Mn, Sr, Ti, V e Zn, conhecidos como micronutrientes.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Kalra, Y. P., Handbook of Reference Methods for Plant Analysis 1998, pp. 1-10.