



UFSM

Tese de doutorado

**AVALIAÇÃO DE MÉTODOS DE PREPARO DE AMOSTRAS PARA
POSTERIOR DETERMINAÇÃO DE CONTAMINANTES
INORGÂNICOS EM CÁPSULAS DE USO FARMACÊUTICO**

Camila De Lellis Knorr

PPGQ

Santa Maria, RS, Brasil

2014

**AVALIAÇÃO DE MÉTODOS DE PREPARO DE AMOSTRAS PARA
POSTERIOR DETERMINAÇÃO DE CONTAMINANTES
INORGÂNICOS EM CÁPSUAS DE USO FARMACÊUTICO**

por

Camila De Lellis Knorr

Tese 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 **Doutor em Ciências**

Santa Maria, RS, Brasil

2014

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 Tese de Doutorado

**AValiação de Métodos de Preparo de Amostras para Posterior
Determinação de Contaminantes Inorgânicos em Cápsulas de
Uso Farmacêutico**

Elaborada por

Camila De Lellis Knorr

Como requisito parcial para a obtenção do grau de
Doutor em Ciências

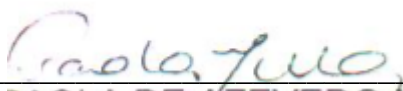
COMISSÃO EXAMINADORA:



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



Prof. Dr. Adilson Ben da Costa (UNISC-RS)



Profa. Dra. Paola de Azevedo Mello (UFSM-RS)



Prof. Dr. Sérgio Roberto Mortari (UNIFRA-RS)



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

AGRADECIMENTOS

A **Universidade Federal de Santa Maria** e ao **Programa de Pós-Graduação em Química** pela oportunidade de execução deste trabalho.

Ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)** pela bolsa de estudos concedida.

Ao Prof. Dr. **Érico Marlon de Moraes Flores** pela orientação neste trabalho.

Aos Prof. Dr. **Adilson Ben da Costa**, **Dr. Sérgio Roberto Mortari** e **Dr. Valderi Luiz Dressler** pela participação como banca examinadora deste trabalho e pelas sugestões que contribuíram para o aprimoramento deste trabalho.

A Prof. **Dra. Paola de Azevedo Mello** pela participação como banca examinadora, pelas oportunidades de aprendizado, pelo exemplo profissional e pelas sugestões e contribuições durante o desenvolvimento deste trabalho.

Aos Prof. **Dr. Edson Irineu Müller** e **Dr. Cezar Augusto Bizzi** pela co-orientação e pelas contribuições no decorrer deste trabalho.

Aos demais professores do LAQIA, **Dr. José Neri Paniz**, **Dr. Juliano Smanioto Barin**, **Dr. Fábio Andrei Duarte** e **Dra. Cláudia Smaniotto Barin** pelas contribuições neste trabalho.

Aos colegas do LAQIA, em especial **Aline L. Hermes Müller**, **Cristiano Cabral Müller**, **Jussiane S. S. Oliveira**, **Michele S. Peters Enders**, **Rochele Sogari Picoloto** e **Suelem Kaczala** pela colaboração na execução deste trabalho.

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

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	<i>vii</i>
LISTA DE TABELAS.....	<i>ix</i>
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....	<i>xi</i>
RESUMO.....	<i>xii</i>
ABSTRACT.....	<i>xiii</i>
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1 Cápsulas de uso farmacêutico: definição, composição e produção.....	4
2.2 Determinação de impurezas em fármacos.....	5
2.3 Métodos de preparo de amostras.....	8
2.3.1 Decomposição por via úmida.....	9
2.3.2 Decomposição por combustão.....	11
2.3.2.1 Decomposição por combustão iniciada por micro-ondas (MIC).....	12
2.4 Técnicas para a determinação de metais e halogênios	16
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	20
3.1 Instrumentação.....	21
3.2 Reagentes e amostras.....	23
3.3 Métodos de decomposição.....	25
3.3.1 Decomposição por via úmida em sistema fechado assistido por radiação micro-ondas (MAWD).....	25

3.3.2 Decomposição por combustão iniciada por micro-ondas (MIC).....	25
4 APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS.....	28
4.1 Decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas.....	29
4.2 Decomposição por combustão iniciada por micro-ondas.....	32
4.2.1 Avaliação da solução absorvedora.....	32
4.2.2 Avaliação da massa de amostra.....	37
4.2.3 Decomposição de material de referência certificado.....	40
4.3 Resultados obtidos empregando espectrometria de absorção atômica com forno de grafite e amostragem direta de sólidos	41
4.4 Comparação de técnicas para determinação de Cr, Cu e Mn	45
4.5 Determinação de carbono.....	47
5 CONCLUSÕES.....	50
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Representação do frasco e suporte utilizados para a decomposição por MIC.....	15
Figura 2.	Cápsulas gelatinosa, gelatinosa gastrorresistente e cápsulas de HPMC (a) inteiras, (b) após moagem e (c) cápsula gelatinosa na forma de comprimido.	26
Figura 3.	Representação dos métodos de preparo de amostra utilizados no presente trabalho.....	30
Figura 4.	Aspecto das soluções obtidas após decomposição de 200 mg de cápsulas gelatinosas por MAWD.....	33
Figura 5.	Resultados obtidos para a determinação de Cl após decomposição de cápsula gelatinosa por MIC, utilizando diferentes soluções absorvedoras (determinação por ICP-MS e IC, n=3).....	36
Figura 6.	Resultados obtidos para a determinação de Br após a decomposição de cápsulas gelatinosas por MIC utilizando diferentes soluções absorvedoras (determinação por ICP-MS e IC, n=3).....	36
Figura 7.	Resultados obtidos para a determinação de I em diferentes soluções absorvedoras por ICP-MS após decomposição de cápsula gelatinosa por MIC (n=3).	37
Figura 8.	Influência da concentração de HNO ₃ como solução absorvedora para a decomposição de cápsulas gelatinosas por MIC e determinação por ICP-MS e GF AAS (comparação com resultados obtidos após decomposição por MAWD, n=3).....	38
Figura 9.	Influência da concentração de HNO ₃ como solução absorvedora após decomposição por MIC de cápsulas gelatinosas gastrorresistentes. Comparação dos resultados obtidos após decomposição por MAWD (determinação por ICP-MS e GF AAS, n=3).	38
Figura 10.	Avaliação da concentração de HNO ₃ como solução absorvedora para a decomposição de cápsulas de HPMC por MIC e comparação dos resultados obtidos após MAWD (determinação por ICP-MS e GF AAS, n=3).	39

Figura 11. Resultados obtidos para Cl após decomposição de cápsulas gelatinosas por MIC utilizando diferentes concentrações de HNO_3 (determinação por ICP-MS, $n=3$).....	40
Figura 12. Resultados obtidos após decomposição de cápsulas gelatinosas por MIC utilizando diferentes massas de amostra e NH_4OH 100 mmol L^{-1} como solução absorvedora (determinação de Cl por ICP-MS, $n=3$).	41
Figura 13. Resultados obtidos após decomposição de cápsulas gelatinosas por MIC utilizando diferentes massas de amostra e NH_4OH 100 mmol L^{-1} como solução absorvedora (determinação de Br por ICP-MS, $n=3$).	41
Figura 14. Resultados da determinação de I por ICP-MS após decomposição de cápsula gelatinosa por MIC utilizando diferentes massas de amostra (solução absorvedora NH_4OH 100 mmol L^{-1} , $n=3$).	42
Figura 15. Otimização da temperatura de pirólise e atomização para cromo: amostra sólida com modificador químico ($5 \mu\text{g}$ de Pd) e solução aquosa com modificador químico ($5 \mu\text{g}$ de Pd). Cada ponto representa a média de 5 medidas.	46
Figura 16. Otimização da temperatura de pirólise e atomização para cobre: amostra sólida com modificador químico ($5 \mu\text{g}$ de Pd) e solução aquosa com modificador químico ($5 \mu\text{g}$ de Pd). Cada ponto representa a média de 5 medidas.	47
Figura 17. Otimização da temperatura de pirólise e atomização para manganês: amostra sólida com modificador químico ($5 \mu\text{g}$ de Pd) e solução aquosa com modificador químico ($5 \mu\text{g}$ de Pd). Cada ponto representa a média de 5 medidas.	48
Figura 18. Resultados obtidos para a determinação de carbono nos diferentes tipos de cápsulas (determinação por ICP OES, $n=3$).	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Descrição de trabalhos presentes na literatura os quais propõem a determinação de metais e halogênios em diferentes amostras.	20
Tabela 2.	Parâmetros utilizados durante a determinação de halogênios e metais por ICP-MS.	24
Tabela 3.	Condições operacionais utilizadas durante as determinações de carbono por ICP OES.	25
Tabela 4.	Avaliação da massa de amostra para a decomposição de cápsulas gelatinosas por MAWD (determinação por ICP-MS, n=3).	32
Tabela 5.	Comparação dos resultados obtidos após decomposição de cápsula gelatinosa por MAWD e determinações por ICP-MS e GF AAS (massa de amostra 200 mg, decomposição com HNO ₃ 14,4 mol L ⁻¹ , n=3).	33
Tabela 6.	Resultados obtidos após decomposição de cápsula gelatinosa, cápsula gelatinosa gastrorresistente e cápsula de HPMC por MAWD e determinação de As, Cd, Cr, Cu e Mn por ICP-MS (valores em µg g ⁻¹ , n=3).	34
Tabela 7.	Resultados obtidos para as determinações de Si e Ti nos resíduos para os diferentes tipos de cápsulas após decomposição via úmida (determinação por ICP OES, µg g ⁻¹ , n=3).....	34
Tabela 8.	Comparação dos resultados obtidos para Cl, Br e I após decomposição de cápsulas gelatinosas, cápsulas gastrorresistentes e cápsulas de HPMC por MIC utilizando NH ₄ OH 100 mmol L ⁻¹ (massa de amostra 500 mg, n=3).....	43
Tabela 9.	Resultados obtidos após decomposição de CRM de leite em pó por MIC e determinação de metais e halogênios por ICP-MS (valores em µg g ⁻¹ , n=3).	44
Tabela 10.	Programas de temperatura e tempo utilizados para a determinação de Cr ^a , Cu ^b e Mn ^c em cápsula gelatinosa.	48
Tabela 11.	Comparação dos resultados obtidos para a determinação de Cr, Cu e Mn em cápsulas gelatinosas, cápsulas gelatinosas gastrorresistentes e cápsulas de HPMC após diferentes métodos de	

	decomposição e amostragem direta (determinação por ICP-MS ^a , n=3 ^a ou n=5 ^b , valores em $\mu\text{g g}^{-1}$).	50
Tabela 12.	Limites de detecção obtidos para as diferentes técnicas e métodos de preparo de amostra utilizados no presente trabalho (valores em ng g^{-1}).	51

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

1. ASTM, *American Society for Testing and Materials Standards*
2. CRM, material de referência certificado, do inglês, *certified reference material*
3. DRC, cela dinâmica de reação, do inglês, *dynamic reaction cell*
4. F AAS, espectrometria de absorção atômica com chama, do inglês, *flame atomic absorption spectrometry*
5. GF AAS, espectrometria de absorção atômica com forno de grafite, do inglês, *graphite furnace atomic absorption spectrometry*
6. HPMC, hidroxipropilmetilcelulose
7. IC, cromatografia de íons, do inglês, *ion chromatography*
8. ICP- MS, espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado, do inglês, *inductively coupled plasma mass spectrometry*
9. ISE, eletrodo íon seletivo, do inglês, *ion selective electrode*
10. LA-ICP-MS, ablação com laser acoplada a espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado, do inglês, *laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry*
11. LD, limite de detecção
12. LQ, limite de quantificação
13. MAWD, decomposição via úmida assistida por radiação micro-ondas, do inglês, *microwave-assisted wet digestion*
14. MIC, combustão iniciada por micro-ondas, do inglês, *microwave-induced combustion*
15. NAA, análise por ativação neutrônica, do inglês, *neutron activation analysis*
16. SS GF AAS, análise direta de sólidos por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite, do inglês, *solid sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry*
17. TMAH, hidróxido de tetrametilamônio, do inglês, *tetramethylammonium hydroxide*
18. TXRF, fluorescência de raios-X por reflexão total, do inglês, *total reflection X-ray fluorescence*
19. UAE, extração assistida por ultrassom, do inglês, *ultrasound-assisted extraction*
20. USP, Farmacopeia Americana, do inglês, *United States Pharmacopeia*

RESUMO

Neste trabalho foram avaliados dois métodos de preparo de amostra, combustão iniciada por micro-ondas (MIC) e decomposição via úmida assistida por radiação micro-ondas (MAWD), para a posterior determinação de Br, Cl, Cr, Cu, I e Mn em cápsulas de uso farmacêutico. A determinação de Cl, Br e I foi feita por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) e por cromatografia de íons (IC). Por outro lado, a determinação de Cr, Cu e Mn foi feita por ICP-MS, por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS) e por análise por amostragem direta de sólidos acoplada a GF AAS (SS GF AAS).

A decomposição por MAWD possibilitou o uso de 300 mg de amostra, enquanto que, para MIC, foi possível decompor até 500 mg de amostra. Foi possível a utilização de HNO₃ diluído para a absorção dos analitos, exceto para Br e I onde foi necessário o uso de soluções alcalinas diluídas. Para a determinação de Cl foi possível a utilização de HNO₃ diluído como solução absorvedora durante a MIC, assim como soluções alcalinas diluídas.

A eficiência dos métodos de decomposição foi avaliada através da determinação de carbono residual nas soluções obtidas após MIC e MAWD. Foi observado que o valor de carbono residual nas soluções obtidas após MAWD foi de, aproximadamente, 60 mg L⁻¹ e, nas soluções após MIC, foi inferior ao limite de detecção (10 mg L⁻¹), o que demonstra a boa eficiência de decomposição das amostras por ambos os métodos utilizados. A exatidão do método empregando MIC foi avaliada através da análise de material de referência certificado (CRM) de leite em pó. As concordâncias obtidas para todos os elementos foram entre 94 e 102%.

Pode-se concluir que os métodos de preparo de amostra avaliados foram adequados à decomposição das amostras, assim como às técnicas utilizadas para a determinação dos analitos. Cabe destacar, também, que foi possível a recuperação de Cl nas amostras e no CRM utilizando ácido diluído como solução absorvedora durante as decomposições por MIC.

ABSTRACT

In this work, sample preparation methods were proposed, microwave-induced combustion (MIC) and microwave-assisted wet digestion (MAWD), for further Br, Cl, Cr, Cu, I and Mn determination in pharmaceutical capsules. For Cl, Br and I determination, ion chromatography (IC) and inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) were used. The ICP-MS technique was also used for Cr, Cu and Mn determination, as well as graphite furnace atomic absorption spectrometry (GF AAS) and by solid sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry (SS GF AAS).

For MAWD digestion, it was possible to digest 300 mg samples, whereas in MIC up to 500 mg of sample were used. Also, MIC digestion allowed the digestion using diluted nitric acid for all elements, except for Br and I which require diluted alkaline solution.

The carbon content was determined in samples after decomposition in order to evaluate the efficiency of decomposition. Sample decomposition was complete for all sample preparation methods applied, since the carbon content in MAWD solutions was 60 mg L^{-1} and it was lower than the limit of detection (10 mg L^{-1}) for MIC solutions. Certified reference material of whole milk powder was used to evaluate the accuracy of MIC digestion and the agreement to certified values was between 94 and 102%.

In conclusion, the investigated sample preparation methods were suitable to pharmaceutical capsules digestion as well as for the determination techniques. Also, chlorine recovery was possible with diluted acid solutions in MIC digestion.

1 INTRODUÇÃO

Cápsulas são formas farmacêuticas utilizadas, principalmente, para a preservação de fármacos, que serão posteriormente administrados por via oral. De maneira geral, as cápsulas classificam-se de acordo com sua composição e finalidade de aplicação. As cápsulas gelatinosas são produzidas, majoritariamente, à base de gelatina, água e glicerol e subdividem-se em duras e moles, de acordo com a sua composição, bem como com a proporção dos seus constituintes.^{6,38} Mais recentemente, cápsulas à base de hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) vem sendo utilizadas em substituição às cápsulas gelatinosas visando ao atendimento de pacientes vegetarianos.⁷⁹ Ainda, as cápsulas gelatinosas podem ser revestidas, normalmente, com polímeros ou plastificantes, com o objetivo de retardar a liberação do princípio ativo sendo chamadas de cápsulas gastrorresistentes.

O controle de qualidade das cápsulas é realizado durante o processo de fabricação, o qual inclui testes de solubilidade, desintegração, resistência a choques mecânicos, dentre outros. Porém, alguns parâmetros, tais como a presença de contaminantes inorgânicos, não são, normalmente, avaliados. Ademais, em compêndios oficiais, como a Farmacopeia Brasileira¹⁷ e a *United States Pharmacopeia* (USP)⁷⁷, apenas são descritos métodos para a determinação de contaminantes (metais) em fármacos, mas não foram encontradas referências com relação às cápsulas (livre de fármacos ou excipientes).

Dentre as técnicas mais utilizadas para a determinação de halogênios, podem-se destacar os métodos clássicos como a titrimetria e os métodos eletroanalíticos, como a determinação potenciométrica por eletrodo íon seletivo (ISE). A cromatografia de íons (IC) e a espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) também são bastante utilizadas para a determinação de halogênios em baixas concentrações (na ordem de partes por

⁶ Aulton, M., *Artmed*, 2006, pp. 453-466.

³⁸ Lachman, H. L., Fundação Calouste Gulbenkian, 2001, pp. 651-707.

⁷⁹ Zhang, L. *et al.*, *Carbohydr. Polym.* 98 (2013) 73-79.

¹⁷ Farmacopeia Brasileira, 5ª Ed., volume 1, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2010.

⁷⁷ United States Pharmacopeia Convention, USP, United States Pharmacopeia 35 - National Formulary 30, EUA, 2012.

bilhão)²⁹. Ainda, em ambas as técnicas, há a possibilidade de introdução de soluções alcalinas diluídas, tendo em vista que a literatura reporta a necessidade do uso de soluções alcalinas para que os não metais sejam absorvidos quantitativamente durante a etapa de preparo de amostra.⁴⁴ Na técnica de ICP-MS, é importante salientar que a determinação de flúor não é possível utilizando plasma de argônio. Isso porque, o potencial de ionização do flúor é superior ao do argônio, impossibilitando a transferência de elétrons no sentido da formação de átomos de flúor ionizados.^{13,48}

Assim como para a determinação de halogênios, a técnica de ICP-MS também se mostra adequada à determinação de metais e outros não-metais em baixas concentrações. Da mesma forma, a espectrometria atômica com forno de grafite (GF AAS) também permite a determinação de metais em concentrações relativamente baixas.

Cabe ressaltar que a maioria das técnicas analíticas não permite a introdução direta de amostras na forma sólida, sendo necessária uma etapa de pré-tratamento. Nesse sentido, na maioria das vezes uma etapa de preparo de amostra é necessária, previamente à etapa de determinação dos analitos.³³ Dentre os principais métodos de preparo podem-se destacar a combustão iniciada por micro-ondas (MIC) e a decomposição por via úmida em sistema fechado assistida por radiação micro-ondas (MAWD), ambos empregados para a decomposição de amostras para posterior determinação de metais.⁴⁴

A decomposição por MIC tem sido amplamente utilizada para materiais de constituição majoritariamente orgânica, como polímeros⁵⁸, elastômeros^{49,50}, fármacos^{8,9,53}, dentre outros. Possibilita, na maioria das vezes, o uso de soluções diluídas (ácidas ou alcalinas) para absorção dos analitos, o que é uma vantagem frente aos métodos de decomposição por via úmida, os quais requerem o uso de ácidos, geralmente concentrados, para a decomposição das amostras.²⁴

²⁹ Horlick, G., Montaser, A., *in*: Montaser, A., Wiley-VCH Inc., 1998, pp 505.

⁴⁴ Mello, P. A., *et al.*, *Anal. Bioanal. Chem.*, 405 (2013) 7615-7642.

¹³ Becker, J. S., John Wiley & Sons Ltd, 2007, pp 31-32.

⁴⁸ Montaser, A., Zhang, H., *in*: Montaser, A., Wiley-VCH, 1998, pp 810-811.

³³ Kingston, H. M., Haswell, S. J., American Chemical Society, 1997, pp 239-241.

⁵⁸ Pereira, J. S. F. *et al.*, *J. Anal. Atom. Spectrom.* 26 (2011) 1849-1857.

⁴⁹ Moraes, D. P. *et al.*, *Spectrochim. Acta B* 62 (2007) 1065-1071.

⁵⁰ Moraes, D. P. *et al.*, *Anal. Bioanal. Chem.* 397 (2010) 563-570.

⁸ Barin, J. S., Tese de Doutorado, PPGQ, Universidade Federal de Santa Maria, 2008.

⁹ Barin, J. S., Dissertação de Mestrado, PPGCTF, Universidade Federal de Santa Maria, 2003.

⁵³ Müller, A. L. H. *et al.*, *J. Anal. Atom. Spectrom.* 27 (2012) 1889-1894.

²⁴ Flores, E. M. M. *et al.*, *Spectrochim. Acta B* 62 (2007) 1051-1064.

O objetivo do presente trabalho foi propor diferentes métodos de preparo de amostras para a decomposição de cápsulas de uso farmacêutico. A decomposição por MIC e MAWD foi avaliada para a decomposição de cápsulas à base de gelatina, cápsulas gastrorresistentes à base de gelatina e cápsulas à base de HPMC. As técnicas de cromatografia de íons, ICP-MS, GF AAS e amostragem direta de sólidos acoplada a GF AAS (SS GF AAS) foram utilizadas para a determinação de Br, Cl, Cr, Cu, I e Mn após as etapas de decomposição das amostras.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Este capítulo está dividido em duas partes principais. Na primeira parte serão discutidas as propriedades físico-químicas das cápsulas utilizadas em farmácias de manipulação, bem como sua composição majoritária. Na segunda parte, serão abordados os principais métodos de preparo de amostra empregados visando à posterior determinação de Br, Cl, Cr, Cu, I e Mn.

2.1 Cápsulas de uso farmacêutico: definição, composição e produção

No âmbito farmacêutico, cápsula é o termo utilizado para designar uma forma farmacêutica para administrar medicamentos, destinados principalmente ao uso oral.⁶ São de fácil deglutição e, geralmente, são insípidas, além de serem de rápida liberação quando comparadas aos comprimidos.³⁸

Dentre os tipos de cápsulas utilizadas em farmácias de manipulação e indústrias farmacêuticas, podem-se destacar as cápsulas gelatinosas e as cápsulas de HPMC. As cápsulas gelatinosas, por sua vez, de acordo com sua composição, podem ser subdivididas em cápsulas gelatinosas duras e moles. Nos dois tipos de cápsulas, as matérias-primas utilizadas na fabricação são basicamente, gelatina, água, corantes e outros materiais, como adjuvantes e conservantes. No caso das cápsulas gelatinosas moles, estas podem conter ainda substâncias plastificantes.⁶² As cápsulas gelatinosas duras apresentam diversos tamanhos, os quais são classificados pela numeração que varia de “000” (capacidade de aproximadamente 1,37 mL) a “5” (capacidade de aproximadamente 0,13 mL).⁷¹

As cápsulas de HPMC apresentam vantagens frente às cápsulas gelatinosas, pois a presença de HPMC auxilia na redução do teor de umidade nas cápsulas, além de representar uma alternativa ao uso de gelatina. Este fato tem sido bastante considerado pela indústria farmacêutica, visando ao atendimento de pacientes vegetarianos.^{6,16,69,71}

Atualmente o processo de produção das cápsulas gelatinosas duras consiste basicamente em submergir moldes metálicos em uma solução de gelatina, à temperatura ambiente, formando um filme de gelatina. Esse processo é feito em escala industrial, totalmente automatizado e de forma contínua. A espessura da parede do invólucro é controlada pela viscosidade da solução de gelatina e pelo tempo de imersão.^{5,38,27}

As cápsulas de gelatina moles são mais comumente utilizadas para substâncias líquidas ou semi-sólidas.^{14,19} O fármaco é introduzido no invólucro de gelatina no

⁶ Aulton, M., *Artmed*, 2006, pp. 453-466.

³⁸ Lachman, H. L., Fundação Calouste Gulbenkian, 2001, pp. 651-707.

⁶² Pissinati, R., Oliveira, W. P., *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 55 (2003) 313-321.

⁷¹ Stegemann, S., 2002, pp. 5-6.

¹⁶ Fahs, A. *et al.*, *Carbohydr. Polym.* 80 (2010) 105-114.

⁶⁹ Sherry Ku, M. *et al.*, *Int. J. Pharmaceut.* 386 (2010) 30-41.

⁵ Arruda, M. A. Z., Santelli, R. E., *Quim. Nova* 20 (1997) 638-643.

²⁷ GMIA, *Gelatin Handbook*, 2012, pp. 15-16.

¹⁴ Benza, H. I., Munyendo, W. L. L., *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.* 10 (2011) 20-24.

¹⁹ Felton, L. A., *et al.*, *Int. J. Pharmaceut.* 113 (1995) 17-24.

momento da fabricação das cápsulas, diferentemente das cápsulas duras, as quais são preenchidas durante a produção do medicamento. Os invólucros das cápsulas moles normalmente apresentam como características a permeabilidade ao oxigênio e o baixo teor de água residual.⁶

O processo de fabricação atual de cápsulas moles envolve o fechamento de duas camadas de gelatina, o qual se dá com o auxílio de um par de moldes de bronze que se ajustam mutuamente. Cada molde contém uma depressão contra a qual a camada de gelatina é pressionada e dentro do qual o fármaco é inserido. A pressão entre as duas placas permite que cada cápsula seja cortada e retirada do molde, sendo posteriormente submetida à secagem.^{6,38}

Cabe ressaltar que, durante o processo de fabricação de ambos os tipos de cápsulas gelatinosas, duras e moles, é possível a incorporação de outros constituintes, com o objetivo de retardar a liberação do fármaco.²⁰ Estas cápsulas são conhecidas como cápsulas gelatinosas gastrorresistentes, as quais são produzidas com a finalidade de resistir a ação do suco gástrico, promovendo a liberação do fármaco somente no intestino. Nas formas farmacêuticas convencionais, a liberação do fármaco ocorre no estômago.^{11,62}

2.2 Determinação de impurezas em fármacos

Fármacos normalmente apresentam níveis variados de contaminantes decorrentes do uso de reagentes, formação de intermediários e subprodutos durante o processo de síntese.^{65,12} Nesse sentido, o controle de qualidade de insumos farmacêuticos é de suma importância, principalmente visando à determinação de contaminantes inorgânicos, como metais e não-metais.⁴⁰ Compêndios oficiais, como a Farmacopeia Brasileira, regulamentam limites máximos permitidos para metais em fármacos, porém com relação a halogênios há apenas testes de identificação os quais não são quantitativos.^{17,77}

⁶ Aulton, M., Artmed, 2006, pp. 453-466.

³⁸ Lachman, H. L., Fundação Calouste Gulbenkian, 2001, pp. 651-707.

²⁰ Felton, L. A., McGinity, J. W., *Eur J Pharm and Biopharm* 47 (1999) 3-14.

¹¹ Barrocas, P. M. C. *et al.*, *Braz. J. Pharm. Sci.* 43 (2007) 325-334.

⁶² Pissinati, R., Oliveira, W. P., *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 55 (2003) 313-321.

⁶⁵ Robinson, D. I., *Org. Process. Res. Dev.* 14 (2010) 946-959.

¹² Basak, A. K. *et al.*, *Adv. Drug Deliver. Rev.* 59 (2007) 64-72.

⁴⁰ Lewen, N., *J. Pharmaceut. Biomed.* 55 (2011) 653-661.

¹⁷ Farmacopeia Brasileira, 5ª Ed., volume 1, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2010.

⁷⁷ United States Pharmacopeia Convention, USP, United States Pharmacopeia 35 - National Formulary 30, EUA, 2012.

Müller *et al.*⁵³ utilizaram a MIC para a decomposição de produtos farmacêuticos e posterior determinação de Br e I por ICP-MS e cromatografia de íons. Foi possível a decomposição de 500 mg de amostra utilizando $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ 50 mmol L⁻¹ como solução absorvedora. Adicionalmente, foi feita a decomposição de materiais de referência certificados (CRMs) de músculo bovino, farelo de milho e leite em pó desnatado, obtendo-se concordâncias entre 95-97%. Os autores relataram ainda que, para a determinação por ICP-MS, os limites de detecção para Br e I foram de 0,02 e 0,001 $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente.

Em um trabalho proposto por Raggi *et al.*⁶⁴ foi descrita a necessidade da determinação de Br em diclofenaco sódico comercial, visto que, segundo os autores, o Br é um contaminante derivado da síntese deste fármaco, podendo estar presente em concentrações na ordem de partes por milhão. Os autores utilizaram a fluorescência de raios-X como técnica de determinação, pois segundo os mesmos, esta técnica permite a determinação de Br total, independente da forma química na qual este se encontra no fármaco.

Abramovic *et al.*¹ determinaram flúor em fármacos à base de fluoreto de sódio e compostos orgânicos fluorados por titulação potenciométrica. Os comprimidos foram primeiramente macerados em almofariz e, posteriormente, cerca de 50 mg do pó foram pesados. Foram adicionados a amostra 10 mL de água e 25 mL de etanol e a solução foi titulada com nitrato de lantânio. A concentração de flúor encontrada nas amostras foi de 16 a 32 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Os autores executaram, de forma comparativa, o procedimento descrito pela *USP* para identificação de flúor em fármacos e os resultados obtidos foram semelhantes para os dois métodos avaliados.

No que se refere à determinação de metais em fármacos, provavelmente em virtude de haver limites máximos pré-estabelecidos por compêndios oficiais^{17,77}, um número relativamente maior de trabalhos são encontrados na literatura. Rudovica *et al.*⁶⁶ propuseram a ablação com laser acoplada a espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (LA-ICP-MS) para a determinação de Cd, Co, Cu, Mn, Ni e Pb em fármacos. Para a determinação utilizando LA-ICP-MS foi preparado um comprimido de aproximadamente 100 mg de amostra, o qual foi analisado

⁵³ Müller, A. L. H. *et al.*, *J. Anal. Atom. Spectrom.* 27 (2012) 1889-1894.

⁶⁴ Raggi, M. A. *et al.*, *J. Pharmaceut. Biomed.* 8 (1990) 975-978.

¹ Abramović, B. F. *et al.*, *Talanta* 39 (1992) 511-515.

¹⁷ Farmacopeia Brasileira, 5ª Ed., volume 1, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2010.

⁷⁷ United States Pharmacopeia Convention, USP, United States Pharmacopeia 35 - National Formulary 30, EUA, 2012.

⁶⁶ Rudovica, V., Viksna, A., Actins, A., *J. Pharmaceut. Biomed.* 91 (2014) 119-122.

diretamente. Como método de referência, 100 mg de amostra foram decompostos com 6 mL de HNO₃ e 2 mL de H₂O₂ em sistema fechado assistido por radiação micro-ondas e a determinação foi feita por ICP-MS. Foi feita a adição de 1 µg g⁻¹ de cada analito na amostra sólida, previamente a etapa de decomposição utilizando forno de micro-ondas, para avaliar a exatidão do método. As recuperações obtidas para os analitos foram de 94 a 104%. Após a determinação dos analitos por ambos os métodos, os autores observaram que as concentrações dos elementos foram inferiores aos limites máximos estabelecidos pela USP.

Marguí *et al.*⁴² determinaram Ir, Pd, Pt e Rh em fármacos por fluorescência de raios-X por reflexão total (TXRF). Além disso, os autores avaliaram a dissolução da amostra, previamente à etapa de determinação, comparativamente com a decomposição assistida por micro-ondas, método recomendado pela USP. Para a dissolução dos fármacos foi necessário o uso de água (para o fármaco 1) e metanol (para o fármaco 2), em virtude da diferença de solubilidade de ambos. Foi possível a dissolução de 150 mg do fármaco 1 em 2 mL de água e 500 mg do fármaco 2 em 2 mL de metanol. Para a decomposição em sistema fechado assistida por radiação micro-ondas, foram utilizados 500 mg de amostra juntamente com 2 mL de HNO₃ e 6 mL de HCl e o tempo de aquecimento foi de aproximadamente 20 min. Foram feitos ensaios de recuperação para todos os analitos empregando este método para avaliar a exatidão. Os autores observaram que as recuperações foram adequadas para todos os analitos e que apenas a dissolução da amostra em água ou solvente orgânico é suficiente para a determinação dos analitos por TXRF.

Paula *et al.*⁵⁸ propuseram a extração assistida por ultrassom (UAE) como preparo de amostra para fármacos, para a posterior determinação de Cr e Mn por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS). Para o procedimento de extração, o tempo e a potência de aplicação do ultrassom foram avaliados, bem como o solvente extrator e a massa de amostra. Após as otimizações, foram escolhidas as seguintes condições: 5 mL de HCl 2 mol L⁻¹ como solução extratora e tempo de aplicação do ultrassom de 30 min a potência de 50%. A massa de amostra utilizada variou de 25 a 150 mg. A decomposição de 200 mg de amostra na presença de 20 mL de HCl:HNO₃ (3:1) foi feita utilizando um forno de micro-ondas com radiação focalizada, para comparação dos resultados. Após análise estatística

⁴² Marguí, E., Queralt, I., Hidalgo, M., *Spectrochim. Acta B* 86 (2013) 50-54.

⁵⁸ Pereira, J. S. F. et al., *J. Anal. Atom. Spectrom.* 26 (2011) 1849-1857.

dos resultados, os autores concluíram que não houve diferenças significativas entre os resultados obtidos para o método de extração e a decomposição utilizando radiação micro-ondas.

Tu *et al.*⁷⁶ determinaram 15 elementos em fármacos por ICP OES, após a extração de 10 mg de amostra com 5 mL de uma solução contendo dimetilformamida/ácido etilenodiamino tetra-acético (DMF/EDTA). Este procedimento foi repetido utilizando-se HNO₃ e aquecimento a 120 °C. Ensaios de recuperação foram feitos para ambos os métodos de forma a avaliar a exatidão de ambos. Foi observado pelos autores que os resultados obtidos para as amostras nas extrações com DMF/EDTA foram equivalentes aos obtidos utilizando HNO₃. Ainda, foi reportado pelos autores que os ensaios de recuperação apresentaram concordâncias entre 92 e 105% para todos os analitos, em ambos os procedimentos de extração.

Lásztity *et al.*³⁹ utilizaram ICP-MS e GF AAS para a determinação de metais em fármacos. Para a decomposição, foram pesados 100 mg de amostra, em cadinho de quartzo, e aquecimento a 550 °C por cerca de 1 a 2 h. Após o tempo de aquecimento e arrefecimento, foi adicionado 1 mL de água régia ao resíduo e este foi lentamente aquecido até a secura. Por fim, o resíduo foi dissolvido em 100 mL de HNO₃ 0,2 mol L⁻¹. Foi feita a determinação de Pd, Pt e Rh por ICP-MS e GF AAS e os autores reportaram resultados concordantes para ambas as técnicas.

Stoving *et al.*⁷² determinaram As, Cd, Cu, Cr, Mn, Mo, Pd e Pt em *tablets* por ICP OES após decomposição por MAWD. Cabe ressaltar que os *tablets* foram utilizados na forma inteira, composta do princípio ativo e excipientes. A decomposição das amostras foi feita utilizando-se 12 mL de uma mistura de HNO₃ + HCl (3:1). A exatidão do método foi avaliada através de ensaios de recuperação. Os autores reportaram recuperações entre 92 e 102% para todos os analitos.

Salvador *et al.*⁶⁷ fizeram a determinação de Cd, Se e Zn em xampu anti-caspa por espectrometria de absorção atômica com chama (F AAS) após decomposição por MAWD. Para a decomposição foram utilizados 200 mg de amostra e 2 mL de HNO₃. De forma comparativa, a decomposição por via seca também foi feita utilizando 200 mg de amostra e redissolução do resíduo em HCl. Apesar de os resultados dos ensaios de recuperação terem sido superiores a 95% por ambos os métodos de

⁷⁶ Tu, Q., Wang, T., Antonucci, V., *J. Pharm. Biomed.* 52 (2010) 311-315.

³⁹ Lásztity, A. *et al.*, *Microchem. J* 73 (2002) 59-63.

⁷² Stoving, C., Jensen, H., Gammelgaard, B., Stürup, S., *J. Pharmaceut. Biomed.* 84 (2013) 209-214.

⁶⁷ Salvador, A. *et al.*, *Talanta* 51 (2000) 1171-1177.

decomposição, os autores reportaram que o método de decomposição por via seca é moroso com relação à decomposição por MAWD.

2.3 Métodos de preparo de amostras

As técnicas normalmente utilizadas para a determinação de metais e não metais, em sua maioria, requerem que a amostra seja convertida a uma forma líquida. Para tanto, métodos de decomposição de amostras são normalmente empregados previamente à etapa de determinação.^{24,3,33}

A escolha de um método de preparo de amostra deve levar em consideração, entre outros aspectos, os analitos a serem determinados e a composição da amostra a ser decomposta.^{31a}

Decomposições por via úmida, as quais normalmente utilizam ácidos (concentrados ou diluídos) como reagentes são amplamente utilizadas para a decomposição de amostras visando à determinação de metais. No entanto, quando se objetiva a determinação de halogênios, a decomposição por via úmida não é adequada, pois, há a possibilidade de os halogênios, quando na presença de ácidos, serem convertidos em seus respectivos ácidos e, desta forma, serem facilmente perdidos por volatilização.⁴¹ Por outro lado, a decomposição por combustão, assistida ou não por radiação micro-ondas, permite o uso de soluções alcalinas diluídas como soluções absorvedoras. Neste sentido, este método é uma alternativa à decomposição de amostras para a posterior determinação de halogênios.^{24,36a,10b}

2.3.1 Decomposição por via úmida

O método de decomposição por via úmida promove a conversão de compostos presentes em uma amostra em formas químicas simples. Isto pode ser

²⁴ Flores, E. M. M. *et al.*, *Spectrochim. Acta B* 62 (2007) 1051-1064.

³ Anderson, R., *Sample pretreatment and separation*, John Wiley, 1991, pp. 101-106.

³³ Kingston, H. M., Haswell, S. J., *American Chemical Society*, 1997, pp 239-241

^{31a} Kebbekus, B. B. *in*: Mitra, S., volume 162, pp a) 227-229, b) 234-235

⁴¹ Maciel, J. V. *et al.*, *Food Chem.* 145 (2014) 927-931.

^{36a} Krug, F. J., 1 ed., Piracicaba, 2008, pp. a) 184-186, b) 252-253

^{10b} Barin, J. S., Flores, E. M. M., Knapp, G. *in*: Arruda, M. A. Z., 2007, pp a) 56-57, b) 69-70

feito mediante o fornecimento de energia, principalmente através de aquecimento, combinado ao uso de reagentes, como ácidos concentrados ou diluídos.⁴³ Pode ser feita empregando sistemas abertos ou fechados, utilizando aquecimento por irradiação com micro-ondas ou por convecção.^{3,5}

A decomposição em sistemas abertos apresenta como principal desvantagem a limitação da temperatura de decomposição em função do ponto de ebulição do ácido utilizado como reagente. Por exemplo, a temperatura de ebulição do azeótropo formado entre o HNO₃ e a água (68% m/m), é de aproximadamente 122 °C. Com isso, dependendo das características da amostra, a decomposição pode ser incompleta. Uma alternativa é o uso de misturas de ácidos oxidantes (HNO₃, HClO₄ concentrado e H₂SO₄ concentrado), ácidos não oxidantes (HCl, HF, H₂SO₄ diluído e HClO₄ diluído) e H₂O₂.⁴³ Estas misturas de reagentes promovem o aumento da temperatura durante a decomposição, em função do maior ponto de ebulição da mistura. Por outro lado, os sistemas abertos apresentam a vantagem de possibilitarem o uso de massas de amostra elevadas, geralmente na ordem de 1 g, quando comparados aos sistemas fechados.^{36b}

A decomposição em sistemas fechados, na maioria das vezes, é feita em fornos de micro-ondas. Neste sentido, a principal vantagem frente aos sistemas abertos é a temperatura atingida durante a decomposição. Por se tratar de um sistema fechado, o aumento da temperatura promove o aumento da pressão. Como ambos podem aumentar continuamente, a velocidade de decomposição das amostras é acelerada. Porém, como desvantagem, a massa de amostra é normalmente limitada nas decomposições em sistemas fechados, em função do aumento da pressão. Destaca-se ainda que, a limitação para o aumento contínuo da temperatura e da pressão são os materiais dos quais são fabricados os frascos utilizados para a decomposição.^{31b,33}

Nemati *et al.*⁵⁴ compararam a decomposição por via úmida em sistema aberto e a decomposição por via úmida em sistema fechado assistida por radiação micro-ondas para a decomposição de camarão e determinação de Cd, Cr, Cu, Ni e Pb. Em ambos os métodos de decomposição foram utilizados 500 mg de amostra e a decomposição foi feita utilizando-se uma mistura de HNO₃, HCl e HF em diferentes

⁴³ Matusiewicz, H. *in*: Mester, Z., Elsevier, volume 1, 2003, pp 195-196

³ Anderson, R., *Sample pretreatment and separation*, John Wiley, 1991, pp. 101-106

⁵ Arruda, M. A. Z., Santelli, R. E., *Quim. Nova* 20 (1997) 638-643.

^{36b} Krug, F. J., 1 ed., Piracicaba, 2008, pp. a) 184-186, b) 252-253.

^{31b} Kebbekus, B. B. *in*: Mitra, S., volume 162, pp a) 227-229, b) 234-235.

³³ Kingston, H. M., Haswell, S. J., *American Chemical Society*, 1997, pp 239-241.

⁵⁴ Nemati, K. *et al.*, *J. Hazard. Mat.* 182 (2010) 453-459.

proporções. Para avaliar a exatidão dos métodos utilizados, foi feita a decomposição de CRM (BCR 146-R - *sewage sludge from industrial origin*). Para o sistema fechado, com exceção de Cr e Ni, foram obtidas concordâncias entre 92 e 99% para os demais analitos, nas diferentes proporções da mistura ácida avaliada. Nas decomposições por sistema aberto, a concordância obtida para Cr, Ni e Cd foi inferior a 80%. Já para os demais elementos, concordâncias entre 94 e 99% foram obtidas.

Cindric *et al.*¹⁵ determinaram metais em plantas por ICP OES após decomposição assistida por micro-ondas. A decomposição de 250 mg de amostra foi realizada em sistema fechado assistido por radiação micro-ondas na presença de uma mistura de HNO₃, HCl e H₂O₂. Para avaliar a exatidão do método, os autores realizaram ensaios de recuperação onde valores entre 88 e 110% foram encontrados para todos os analitos.

Soylak *et al.*⁷⁰ determinaram Cu, Ni e Zn em folhas de chá F AAS após decomposição por MAWD. A decomposição de 200 mg de amostra foi feita utilizando 6 mL de HNO₃ e 2 mL de H₂O₂. Os autores reportaram recuperações entre 96 e 98% para os ensaios realizados na etapa de decomposição.

Filgueiras *et al.*²² compararam a decomposição por MAWD com a UAE para a decomposição de plantas e determinação de Mg, Mn e Zn por F AAS. Para as extrações por UAE foram utilizados 100 mg de amostra e 5 mL de HCl 0,3% (m/v). As amostras foram então submetidas à aplicação de ultrassom por 3 minutos a uma amplitude de 30%. A decomposição de 100 mg de amostra por MAWD foi feita utilizando 5 mL de HNO₃ e 0,5 mL de HF. Ademais, a decomposição de CRM de folhas de chá (GBW 07605 - *tea leaves*) foi feita por MAWD e UAE e as concordâncias obtidas foram entre 95 e 101%.

2.3.2 Decomposição por combustão

Os métodos de decomposição por via úmida, de maneira geral, apresentam algumas desvantagens as quais limitam a sua aplicabilidade em alguns casos, como o uso de reagentes concentrados ou a velocidade de decomposição. Ademais, a decomposição por via úmida, muitas vezes, não é adequada para a decomposição de

¹⁵ Cindrić, I. J. *et al.*, *Microchem. J.* 105 (2012) 72-76.

⁷⁰ Soy lak, M. *et al.*, *J Hazard. Mater.* 149 (2007) 264-268.

²² Filgueiras, A. V. *et al.*, *Talanta* 53 (2000) 433-441.

amostras visando à determinação de halogênios. Isto porque, a decomposição por via úmida normalmente requer o uso de ácidos concentrados, o que pode promover a perda de halogênios nas suas formas voláteis. Por este motivo, tendo em vista à determinação de halogênios, os métodos de combustão se mostram mais adequados quando comparados com a decomposição por via úmida, visto que nesses métodos o oxigênio é utilizado como oxidante da matéria orgânica, em substituição aos ácidos tradicionalmente utilizados.^{36a} Além disso, os métodos de combustão possibilitam a utilização de soluções alcalinas diluídas para absorção dos analitos, o que evita a perda destes elementos em suas formas voláteis.

Quando a combustão ocorre em sistemas fechados, a pressão e a temperatura são dependentes da massa de amostra utilizada.^{10a} Dentre os principais métodos de decomposição por combustão podem-se destacar a bomba de combustão, combustão em frasco de oxigênio (Schöniger) e a combustão iniciada por micro-ondas.

A decomposição pelo método da bomba de combustão é feita, empregando uma bomba de aço na presença de oxigênio em excesso. A amostra é posicionada no frasco, na forma de comprimido, ficando em contato com dois eletrodos metálicos, responsáveis pela ignição. A combustão ocorre em poucos minutos e o sistema é resfriado, normalmente, pela submersão em banho de gelo ou em água.²⁴

Como principais vantagens deste método pode-se citar a possibilidade de decomposição de massas de amostra superiores a 500 mg e os teores de carbono residual relativamente baixo, quando comparado aos obtidos empregando a decomposição por via úmida. Porém, somente pode ser decomposta uma amostra por vez, o que pode tornar o método moroso.

No método de decomposição em frasco de oxigênio ou frasco de Schöniger, a amostra é colocada em um envoltório de papel, o qual é suspenso no interior do frasco de decomposição, contendo oxigênio e solução absorvedora.²⁴

As principais limitações da decomposição em frasco de Schöniger são a possibilidade de oxidação incompleta da amostra, a massa de amostra relativamente baixa que pode ser decomposta e a frequência de análise. A oxidação incompleta da amostra pode ser evitada com o uso de aditivos que auxiliam na combustão da amostra. Ademais, a massa de amostra que pode ser decomposta é limitada, pois,

^{36a} Krug, F. J., 1 ed., Piracicaba, 2008, pp. a) 184-186, b) 252-253

^{10a} Barin, J. S., Flores, E. M. M., Knapp, G. in: Arruda, M. A. Z., 2007, pp a) 56-57, b) 69-70

²⁴ Flores, E. M. M. *et al.*, *Spectrochim. Acta B* 62 (2007) 1051-1064.

para decompor em torno de 1 g de amostra seria necessário um frasco com capacidade para 2 L. Ainda, similarmente a decomposição em bomba de combustão, apenas uma amostra pode ser decomposta por ciclo de decomposição, o que torna a frequência de análise baixa. Em contrapartida ao tempo de decomposição, os baixos riscos de perdas e a possibilidade de contaminação são algumas vantagens da decomposição em frasco de oxigênio.³

Com o objetivo de unir as principais vantagens das decomposições via úmida com os métodos de decomposição por combustão (especialmente a bomba de combustão e o frasco de Schöniger) a combustão iniciada por micro-ondas foi proposta na literatura e será descrita a seguir.

2.3.2.1 Decomposição por combustão iniciada por micro-ondas (MIC)

A decomposição por MIC é uma alternativa para a decomposição de amostras de matriz majoritariamente orgânica, para a posterior determinação de metais e não metais. Nesse método de decomposição, a combustão da amostra é iniciada através da interação da radiação micro-ondas com um auxiliar de ignição, o qual é adicionado, antes da pressurização com oxigênio, sob um papel filtro contendo a amostra. Normalmente, este auxiliar de ignição é uma solução de NH_4NO_3 6 mol L^{-1} . A possibilidade do uso de soluções alcalinas diluídas para a absorção dos analitos é uma vantagem, além do fato de propiciar a decomposição completa da amostra, resultando em soluções contendo concentrações de carbono relativamente baixas (inferiores a 1%).^{24,23} Na Figura 1 está representado o frasco e suporte utilizados para a decomposição por MIC.

³ Anderson, R., John Wiley, 1991, pp. 101-106

²⁴ Flores, E. M. M. *et al.*, *Spectrochim. Acta B* 62 (2007) 1051-1064.

²³ Flores, E. M. M. *et al.*, *Anal. Chem.* 76 (2004) 3525-3529.

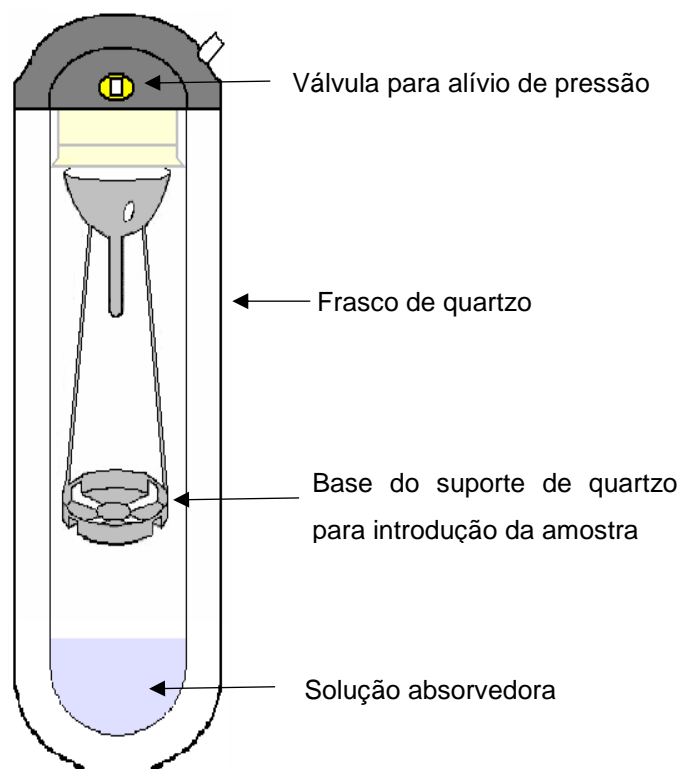


Figura 1. Representação do frasco e suporte utilizados para a decomposição por MIC.

A decomposição por MIC foi inicialmente proposta por Barin⁹, para a decomposição de produtos farmacêuticos e posterior determinação de metais e não metais por F AAS. O trabalho foi desenvolvido em um forno de micro-ondas doméstico (Panasonic, modelo NN 7809 BK, 2450 Hz). O suporte de quartzo utilizado era suspenso na parte superior do frasco, e a amostra foi adicionada ao suporte na presença de NH_4NO_3 6 mol L^{-1} . Uma solução de NH_4NO_3 foi utilizada como iniciador de combustão, mas outras soluções também foram avaliadas. Foi utilizado HNO_3 como solução absorvedora e uma etapa de refluxo foi necessária para a absorção dos analitos. A decomposição de material de referência certificado foi feita e concordâncias superiores a 95% foram obtidas para todos os analitos. O método proposto por Barin⁸ foi, posteriormente, adaptado por Flores *et al.*²³, para uso em fornos de micro-ondas comerciais, dedicados para a decomposição de amostras.

⁹ Barin, J. S., Dissertação de Mestrado, PPGCTF, Universidade Federal de Santa Maria, 2003.

⁸ Barin, J. S., Tese de Doutorado, PPGQ, Universidade Federal de Santa Maria, 2008.

²³ Flores, E. M. M. *et al.*, *Anal. Chem.* 76 (2004) 3525-3529.

Em 2004, Mesko⁴⁵ utilizou o método de decomposição por MIC para amostras biológicas, para a posterior determinação de Cu e Zn por F AAS. Neste trabalho, foram avaliados diversos tipos de suporte de quartzo, além do volume de solução de NH_4NO_3 necessário para iniciar o processo de combustão. Cabe ressaltar que os parâmetros estabelecidos por Mesko vêm sendo utilizados como referência para diversos trabalhos utilizando a decomposição por MIC. Ademais, o método foi aplicado para a decomposição de amostras de leite em pó e fígado bovino, além de CRM de leite desnatado (NIST 1549, *Non-Fat Milk Powder*), obtendo-se concordâncias superiores a 97%.

Em outro trabalho, Barin⁸ avaliou, dentre outros métodos, MIC para a decomposição de fármacos tricíclicos. Neste trabalho, MIC foi proposta como alternativa aos métodos de decomposição de amostra por via úmida, tendo em vista a dificuldade de decomposição da amostra. Ainda, o autor ressalta que, os métodos descritos em compêndios oficiais fornecem informação qualitativa com relação à presença de metais pesados.

Flores *et al.*²⁶ determinaram metais em polímeros contendo flúor após decomposição por MIC. Para as decomposições por MIC, foram utilizadas 400 mg de amostra e HNO_3 5 mol L^{-1} como solução absorvedora. De forma a avaliar a eficiência da decomposição por MIC, foi feita a determinação de carbono nos digeridos finais. Ainda, para comparação dos resultados, também foi feita análise por ativação neutrônica (NAA) e extração assistida por micro-ondas. Após as decomposições por MIC e extração, foi feita a determinação de metais por ICP OES e ICP-MS. Os autores reportaram que, as concordâncias entre os resultados obtidos pelos 3 métodos de decomposição foram entre 99 e 107%.

Moraes *et al.*⁵⁰ propuseram a MIC para a decomposição de elastômeros e determinação de Al, Fe, Mn, Sr e Zn por ICP OES. Foi possível a decomposição de 500 mg de amostra utilizando HNO_3 4 mol L^{-1} e uma etapa de refluxo de 5 min. Para comparação dos resultados, os autores fizeram a decomposição por MAWD, utilizando os seguintes reagentes: (i) $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{SO}_4$ e (ii) $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2$. Ademais, também foi feita a decomposição da amostra por via seca a 550 °C e dissolução do resíduo em HCl, conforme recomendação da *American Society for*

⁴⁵ Mesko, M. F., Dissertação de Mestrado, PPGQ, Universidade Federal de Santa Maria, 2004.

⁸ Barin, J. S., Tese de Doutorado, PPGQ, Universidade Federal de Santa Maria, 2008.

²⁶ Flores, E. M. M. *et al.*, *Anal. Chem.* 85 (2013) 374-380.

⁵⁰ Moraes, D. P. *et al.*, *Anal. Bioanal. Chem.* 397 (2010) 563-570.

Testing and Materials Standards (ASTM). Foram feitos ensaios de recuperação para todos os métodos avaliados e os autores reportaram recuperações entre 94 e 105%, com exceção da via seca onde as recuperações foram inferiores a 50%.

No trabalho de Maciel *et al.*⁴¹ foi feita à decomposição de peixes por MIC e posterior determinação de elementos traços por ICP-MS. Foi feita a decomposição de 500 mg de amostra e HNO₃ 5 mol L⁻¹ foi utilizado como solução absorvedora. Os autores compararam os resultados obtidos por MIC aos resultados obtidos após decomposição por MAWD e reportaram que não foi observada diferença significativa. Ainda, os autores destacam que os valores de carbono nas soluções obtidas após MIC foram significativamente inferiores aos valores dos digeridos obtidos por MAWD. Também foi feita a decomposição de CRM de músculo e fígado de peixe (DORM-2 - *Dogfish muscle and liver*) por MIC e as concordâncias reportadas pelos autores foram entre 94 e 108%.

Müller *et al.*⁵¹ avaliaram a decomposição por MIC para a decomposição de sementes oleaginosas e determinação de As, Cd, Hg e Pb por ICP-MS. Os autores utilizaram 500 mg de amostra e HNO₃ 7 mol L⁻¹ como solução absorvedora. Para comparação dos resultados foi feita a decomposição das amostras por MAWD, porém os resultados obtidos foram inferiores ao limite de detecção do equipamento de ICP-MS. Ainda, os autores decompueram CRMs de folhas de maçã (NIST 1515 - *apple leaves*), folhas de pêssigo (NIST 1547 - *peach leaves*), fígado bovino (NIST 1577 - *bovine liver*) e leite em pó desnatado (BCR 151 - *skim milk powder*) por MIC para avaliar a exatidão do método. As concordâncias obtidas para todos os CRMs foram superiores a 96%.

Com relação ao uso de MIC como método de preparo de amostras para a posterior determinação de halogênios, alguns trabalhos são reportados na literatura. Müller *et al.*⁵² determinaram Cl e Br em tabaco de cigarros, após decomposição por MIC. Foi possível a decomposição de até 500 mg de amostra e soluções diluídas de (NH₄)₂CO₃ puderam ser utilizadas como solução absorvedora. A determinação dos analitos foi feita por ICP OES, e limites de quantificação de 12 e 6 µg g⁻¹ foram obtidos para Cl e Br, respectivamente.

⁴¹ Maciel, J. V., *Food Chem.* 145 (2014) 927-931.

⁵¹ Müller, A. H. *et al.*, *Food Anal. Method.* 6 (2013) 258-264.

⁵² Müller, A. L. H. *et al.*, *J. Braz. Chem. Soc.* 22 (2011) 1649-1655.

Mesko *et al.*⁴⁶ utilizaram a decomposição por MIC para a decomposição de alimentos e posterior determinação de iodo por ICP-MS. Massas de amostra de até 500 mg puderam ser decompostas e, diversas soluções foram avaliadas para a absorção de iodo, sendo que se utilizando $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ 50 mmol L⁻¹ recuperações superiores a 99% foram obtidas. O limite de quantificação foi de 0,002 $\mu\text{g g}^{-1}$. Materiais de referência certificados de músculo bovino (NIST 8414 - *bovine muscle*), farelo de milho (NIST 8433 - *corn bran*) e leite em pó (NIST 8435 - *whole Milk powder*) também foram avaliados e concordâncias superiores a 97% foram obtidas.

A decomposição por MIC foi utilizada no trabalho de Pereira *et al.*⁵⁹ para amostras de nanotubos de carbono e posterior determinação de halogênios por ICP-MS e IC. Massas de até 500 mg de amostra puderam ser decompostas utilizando NH_4OH 100 mmol L⁻¹ como solução absorvedora. Materiais de referência certificados de carvão (NIST 1632b, NIST 1632c e SARM 19 - *trace elements in coal*) também foram decompostos por MIC, e as recuperações para todos os analitos foram superiores a 96%. Os limites de detecção para a determinação de Cl, Br e I por ICP-MS foram 1,3, 0,02 e 0,002 $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente. Os limites de detecção (LDs) para F, Cl, Br e I por IC foram 0,3, 1,1, 2,4 e 4,2 $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente. Cabe ressaltar que a determinação de Cl por ICP-MS foi feita utilizando cela dinâmica de reação (DRC), empregando amônia como gás de reação.

Pereira *et al.*⁶⁰ fizeram a decomposição de coque de petróleo por MIC para a posterior determinação de Cl por IC. Foram avaliados como solução absorvedora H_2O , Na_2CO_3 e $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$, sendo que segundo os autores recuperações entre 97 e 102% foram obtidas para todas as soluções. Foi feita a decomposição de CRM de carvão (BRC 181, NIST 1632b e NIST 1632c - *trace elements in coal*) utilizando H_2O como solução absorvedora e as concordâncias foram superiores a 98%. O limite de quantificação reportado pelos autores para a determinação de Cl por IC foi 3,8 $\mu\text{g g}^{-1}$.

⁴⁶ Mesko, M. *et al.*, *Anal. Bioanal. Chem.* 398 (2010) 1125-1131.

⁵⁹ Pereira, J. S. F. *et al.*, *Energ. Fuels* 23 (2009) 6015-6019.

⁶⁰ Pereira, J. S. F. *et al.*, *Spectrochim. Acta B* 64 (2009) 554-558.

2.4 Técnicas de determinação de metais e halogênios

A escolha da técnica de determinação a ser utilizada, depende, dentre outros fatores, dos elementos a serem determinados e da forma a qual a amostra se encontra. A maioria das técnicas utilizadas na determinação de metais e não metais requer que a amostra esteja na forma líquida. Neste caso, uma etapa prévia de preparo de amostra é necessária.

Dentre as técnicas utilizadas para a determinação de metais e alguns não metais, algumas permitem a determinação de elementos em baixas concentrações (na ordem de partes por trilhão), como as técnicas de ICP-MS e GF AAS. A ICP OES também é bastante reportada na literatura como técnica de escolha para a determinação de elementos em concentrações na ordem de partes por bilhão. Cabe destacar que, a F AAS é bastante utilizada como técnica de determinação para análise de rotina, tendo em vista seu baixo custo, quando comparada às técnicas acima mencionadas.

Dentre as técnicas mais utilizadas para a determinação de halogênios pode-se citar a titrimetria.³⁰ Dentre os métodos titrimétricos clássicos, os métodos de Möhr, Volhard e Fajans, permitem a determinação de cloro, bromo e iodo. Porém, dentre as desvantagens desses métodos podem-se citar a não-seletividade das titulações para um halogênio específico e os limites de detecção relativamente elevados.

Métodos eletroanalíticos como a coulometria, condutimetria e potenciometria também são comumente empregados para a determinação de halogênios. Destes, a determinação potenciométrica empregando ISE é bastante utilizada. A determinação de Cl e F é feita de maneira seletiva, diferentemente dos métodos titrimétricos. Porém esta técnica também não é adequada para a determinação em baixas concentrações. Nesse sentido, técnicas como a IC e a ICP-MS possibilitam a determinação de halogênios em concentrações relativamente inferiores àquelas obtidas pelos métodos clássicos. Ademais, ambas as técnicas são compatíveis com as soluções normalmente utilizadas para absorção de halogênios durante a decomposição por combustão, como soluções alcalinas diluídas.

A Tabela 1 resume alguns trabalhos encontrados na literatura com relação a determinação de metais e não metais em amostras diversas.

³⁰ Johansson, A., *Anal. Chim. Acta* 206 (1988) 97-109.

Tabela 1: Descrição de trabalhos presentes na literatura os quais propõem a determinação de metais e halogênios em diferentes amostras.

Amostra	Elementos	Características do método de decomposição	Técnica de determinação	Comentários	Referência
Soja	Cl, Br e I	MIC: solução absorvedora NH ₄ OH 100 mmol L ⁻¹ e etapa de refluxo de 5 min.	ICP-MS	Determinação de Cl – DRC. Concordâncias com CRM superiores a 95% (NIST 8433 - <i>corn bran</i> e NIST 8435 - <i>whole Milk powder</i>). LDs: 0,03, 1,2 e 0,002 µg g ⁻¹ (Br, Cl e I). RCC < 0,5%.	7
Alimentos	I	Extração: 500 mg de amostra + 1 mL de TMAH 25% + aquecimento (90 °C por 3 h).	ICP-MS	Concordâncias para CRM (BCR 63 e BCR 150 - <i>milk powder</i>) superiores a 95%. LD para I 30 ng g ⁻¹ .	18
Leite materno	I	Separação de soro, gordura e caseína por ultracentrifugação. Decomposição assistida por micro-ondas em sistema aberto: 2 mL de amostra + 5 mL de NH ₄ OH.	ICP-MS	Maior concentração de I encontrada no soro do leite. Concordância para o CRM (BRC 151 - <i>skim milk powder</i>) de 101%. LQ para I 0,89 µg L ⁻¹ .	21

Alimentos para nutrição infantil	Cr, Mo e Se	Via seca: 2 g de amostra + aquecimento (450 °C por 1 h). Dissolução do resíduo em 7 mL de HNO ₃ 14,4 mol L ⁻¹ . Via úmida em sistema aberto: 2 g de amostra + 25 mL de HNO ₃ 14,4 mol L ⁻¹ + 2 mL de H ₂ O ₂ + aquecimento (150 °C por 10 h). MAWD: 1 g de amostra + 7 mL de HNO ₃ 14,4 mol L ⁻¹ + 1 mL de H ₂ O ₂ + aquecimento (190 °C por 15 min).	ICP-MS e ICP OES	Concordâncias com CRM (NIST 1549 - <i>non fat milk powder</i>) entre 98 e 100%, para as decomposições via úmida. A decomposição via seca se mostrou inadequada para as amostra avaliadas.	32
Elastômeros	Br e Cl	MIC: 500 mg de amostra + 6 mL de (NH ₄) ₂ CO ₃ 50 mmol L ⁻¹	ICP-MS e IC	Determinação de Cl também por ICP OES. Comparação da decomposição por MIC com norma ASTM.	49
Polímeros	As, Bi, Cd, Co, Cu, Hg, Mn, Mo, Ni, Pb, Sb, Sr, Ti, V e Zn	MAWD: 200 mg de amostra + 6 mL de HNO ₃ 14,4 mol L ⁻¹ MIC: 500 mg de amostra + 4 mL de HNO ₃ 4 mol L ⁻¹ e 2 mL de HCl 4 mol L ⁻¹	ICP-MS e ICP OES	Concordâncias com CRM (EC680K e BCR 681 - <i>low density polyethylene</i>) entre 96 e 102%	58
Resíduos de destilação a vácuo de petróleo	Cl	MIC: 400 mg de amostra + 6 mL de (NH ₄) ₂ CO ₃ 25 mmol L ⁻¹ MAWD: 500 mg de amostra + 5 mL de HNO ₃ + 1 mL de H ₂ O ₂ Extração: 400 mg de amostra + 6 mL de H ₂ O ₂	ICP OES e IC	Concordâncias para CRM após MIC superiores a 97% (NIST 1634c - <i>trace elements in fuel oil</i> e BCR 181 - <i>coking coal</i>). Para MAWD e extração concordâncias inferiores a 40%. Recuperações de Cl nas amostras após MAWD e extração inferiores a 30%. RCC < 1%.	59

Ácidos húmicos	Cl, Br e I	MIC: solução absorvedora ((NH ₄) ₂ CO ₃ 50 mmol L ⁻¹) e etapa de refluxo de 5 min.	ICP-MS e IC	Concordâncias com CRM (NIST 1632c - <i>trace elements in coal</i> e SARM 19 - <i>coal</i>) superiores a 97%.	61
Gelatina	Cr	Decomposição por via úmida em sistema aberto: 500 mg de amostra + 5 mL de HNO ₃ concentrado. Após repouso de 24 h, adição de 0,5 mL de H ₂ O ₂ e aquecimento. Dissolução da amostra em HNO ₃ , NH ₄ OH e água: 500 mg de amostra + 5 mL do reagente + agitação manual.	GF AAS	Após decomposição por via úmida foi observada a presença de material particulado em suspensão, indicando decomposição incompleta da amostra.	63

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo serão descritos os reagentes, materiais, instrumentação e amostras utilizados no desenvolvimento deste trabalho. Além disso, serão apresentados os métodos de preparo de amostra utilizados para a decomposição.

3.1 Instrumentação

Para a decomposição das amostras por MIC e MAWD foi utilizado um forno de micro-ondas (*Multiwave 3000*, Anton Paar, Graz, Áustria), com pressão, temperatura e potência máximas de 80 bar, 280 °C e 1400 W, respectivamente. Foram utilizados frascos e suportes de quartzo comerciais, e um rotor com capacidade para 8 frascos.

A determinação de halogênios e metais, foi feita utilizando um espectrômetro de massa com plasma indutivamente acoplado (PerkinElmer SCIEX, modelo ELAN® DRC II, Canadá), equipado com nebulizador concêntrico (Meinhard®, tipo A, EUA), câmara de nebulização ciclônica e tocha com tubo injetor de quartzo (2 mm d.i.). Os parâmetros utilizados durante as determinações por ICP-MS estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Parâmetros utilizados durante a determinação de halogênios e metais por ICP-MS.

Parâmetro	
Potência do gerador de radiofrequência (W)	1350
Vazão do argônio principal (L min ⁻¹)	15
Vazão do argônio intermediário (L min ⁻¹)	1,20
Vazão do argônio do nebulizador (L min ⁻¹)	1,15
Cone de amostragem e “ <i>Skimmer</i> ”	Pt
Resolução, u	0,7
Varredura/leitura (Sweeps/reading)	10
Leituras/replicata	5
“ <i>Dwell time</i> ”, ms	50
Lente iônica	“ <i>Auto lens on</i> ”
Modo de operação do detector	“ <i>Dual</i> ”
Isótopos monitorados (m/z)	
⁵² Cr	
⁶³ Cu	
⁵⁵ Mn	
³⁵ Cl	
⁷⁹ Br	
¹²⁷ I	

A determinação de Cl, Br e I foi feita em um cromatógrafo (Metrohm, modelo Professional IC 850, Suíça) com detector de condutividade, módulo de supressão química e de CO₂ e bomba cromatográfica. Para a separação dos analitos foi utilizada

coluna de troca aniônica (Metrohm, Metrosep A Supp 5, 150 x 4 mm d.i., 5 µm de diâmetro de partícula).

Para a determinação de carbono nas amostras decompostas por MIC e MAWD foi utilizado um espectrômetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (*PerkinElmer optima 4300 DV*, PerkinElmer, EUA) com vista axial, nebulizador concêntrico e câmara de nebulização ciclônica, tocha e injetor de quartzo. Na Tabela 3 estão apresentadas as condições operacionais para a determinação de carbono por ICP OES.

Nas determinações por ICP OES e ICP-MS, o plasma foi gerado a partir de argônio (pureza não menor que 99,998%, White Martins, Brasil).

Tabela 3. Condições operacionais utilizadas durante as determinações de carbono por ICP OES.

Parâmetro	
Potência do gerador de radiofrequência (W)	1400
Vazão do argônio principal (L min ⁻¹)	15
Vazão do argônio auxiliar (L min ⁻¹)	0,2
Vazão do argônio do nebulizador (L min ⁻¹)	0,85
Velocidade da bomba peristáltica (mL min ⁻¹)	2,1
Posição da tocha	-2
	Comprimento de onda (nm)
carbono	193,091

Um espectrômetro de absorção atômica (Analytik Jena, modelo AAS Zeenit 60, Jena, Alemanha) equipado com atomizador de grafite aquecido transversalmente e efeito Zeeman como sistema de correção de fundo, acoplado com (i) amostrador automático (modelo AS 52), para as determinações de As, Cd, Cr, Cu e Mn nas soluções obtidas após decomposição e (ii) amostrador manual (modelo SSA 6Z), foi utilizado para as determinações por amostragem direta de sólidos. Utilizaram-se ainda tubos de grafite revestidos piroliticamente e plataformas de grafite, para a amostragem direta. Também foi utilizada uma balança com precisão de 0,001 mg (Sartorius M500P, Göttingen, Alemanha) integrada ao espectrômetro de absorção atômica, para a pesagem das amostras analisadas na forma sólida.

As cápsulas utilizadas neste trabalho foram moídas e homogeneizadas em um moedor criogênico (Spex Certiprep, modelo 6750, EUA). Para o preparo dos

comprimidos utilizados para a decomposição por MIC foi utilizada uma prensa hidráulica (*Manual Hydraulic Press 15 ton*, Specac, Inglaterra) com acessório de punção de 13 mm de espessura e corpo de aço de 13 mm de diâmetro, operando à pressão de 3 ton por 30 seg. Papéis filtro (Schleicher & Schüll, nº 5891, 90 mm de diâmetro, Alemanha) utilizados na decomposição por MIC foram previamente descontaminados em banho de ultrassom (Ultrasonic Cleaner 1440) com (i) etanol ou HNO₃ e (ii) água, e secos em capela de fluxo laminar (Veco do Brasil, modelo CFLH 12, Brasil). Na Figura 2 podem ser observadas as cápsulas na forma íntegra, após moagem, e na forma de comprimidos.



Figura 2. Cápsulas gelatinosa, gelatinosa gastrorresistente e cápsulas de HPMC (a) inteiras, (b) após moagem e (c) cápsula gelatinosa na forma de comprimido.

A pesagem das amostras foi feita em balança analítica (Shimadzu do Brasil, modelo AY220, Brasil), com precisão de 0,001 g e capacidade máxima de 220 g.

3.2 Reagentes e amostras

Para o preparo de soluções de referência e diluição dos digeridos foi utilizada água destilada e deionizada em coluna de troca iônica convencional, posteriormente purificada em sistema Milli-Q[®] (Milli-Q[®] *Ultrapure Purification System*, Gradient System, Millipore, EUA).

Para as decomposições por MAWD e como solução absorvedora para MIC foi utilizado HNO₃ p.a. (65%, 1,4 kg L⁻¹ Merck, Alemanha) o qual foi bidestilado em destilador de quartzo (modelo duoPUR, *subboiling distillation system*, Milestone, Itália). Ainda como soluções absorvedoras nas decomposições por MIC foram

utilizadas soluções diluídas de NH_4OH (preparado a partir de uma solução de NH_3 28-30%, 0,91 g L^{-1}) e $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ (30-33%, Fluka, Sigma-Aldrich, SP, Brasil).

As soluções de referência utilizadas para a calibração do espectrômetro de massa com plasma indutivamente acoplado e do cromatógrafo de íons foram preparadas a partir da diluição dos respectivos sais, NaF , KBr , NaCl e KI em água. Uma solução mista de Na_2CO_3 3,2 mmol L^{-1} e NaHCO_3 1,0 mmol L^{-1} foi utilizada como fase móvel nas determinações de Cl por IC. Uma solução de NH_4NO_3 6 mol L^{-1} foi preparada a partir da dissolução do sal (ACS, Merck, Brasil) em água, para utilização como iniciador de combustão, na decomposição por MIC.

Nas determinações de carbono por ICP OES, as soluções de calibração foram preparadas por diluições de uma solução de referência de 1000 mg L^{-1} de carbono, preparada a partir da diluição de ácido cítrico p.a. (Vetec, Brasil) em água. Ítrio (Assurance[®] Spex CertiPrep[®]) foi utilizado como padrão interno nas amostras e soluções de referência.

Para as determinações de Cr , Cu e Mn por ICP-MS e GF AAS, as curvas de calibração foram preparadas a partir de uma solução multielementar (SCP33MS, PlasmaCal ICP-AES e ICP-MS Standard, SCP Science, Canadá). Como modificador químico nas determinações por GF AAS foi utilizada uma solução estoque contendo 20 g L^{-1} de Pd , na forma de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ em HNO_3 15% (v/v) (Sigma-Aldrich, Missouri, EUA), diluída 20 vezes em água.

Para a descontaminação dos frascos de quartzo utilizados nas decomposições por MIC e MAWD, foi utilizado HNO_3 p.a. 14,4 mol L^{-1} e água. Os papéis filtros utilizados nas decomposições por MIC foram descontaminados em banho de ultrassom, utilizando HNO_3 1,4 mol L^{-1} por aproximadamente 20 minutos. Nas decomposições por MIC foi utilizado oxigênio (pureza maior que 99,6%, White Martins, Brasil).

As amostras de cápsulas a base de gelatina, cápsulas gastrorresistentes a base de gelatina e cápsulas a base de HPMC, utilizadas neste trabalho, foram adquiridas nas farmácias magistrais locais. Previamente à etapa de decomposição, as amostras foram submetidas à moagem criogênica, utilizando-se ciclos de agitação e congelamento de 1 minuto cada. Ainda, foram utilizadas cápsulas à base de gelatina na coloração branca (cabeça) e verde (corpo), cápsulas gastrorresistentes à base de gelatina na coloração branca e cápsulas a base de HPMC na coloração verde.

3.3 Métodos de decomposição

3.3.1 Decomposição por via úmida em sistema fechado assistido por radiação micro-ondas (MAWD)

Para a decomposição das amostras por MAWD, aproximadamente 200 mg de amostra foram pesados e transferidos para os frascos de quartzo juntamente com 6 mL de HNO_3 14,4 mol L^{-1} . O programa de aquecimento foi feito da seguinte forma: (i) rampa de 10 minutos até 1400 W, (ii) 25 minutos a 1400 W e (iii) 20 minutos de resfriamento. Após a etapa de resfriamento, as soluções foram coletadas em frascos de polipropileno e completou-se o volume a 25 mL.

3.3.2 Decomposição por combustão iniciada por micro-ondas (MIC)

Nas decomposições por MIC, foram avaliadas as seguintes condições: massa de amostra, solução absorvedora e concentração da solução absorvedora. Demais parâmetros como auxiliar de ignição, tempo da etapa de refluxo e programa de aquecimento foram utilizados conforme referência 45.

Para isso, foram preparados comprimidos de 100 a 500 mg de amostra os quais foram adicionados à base do suporte de quartzo contendo papel filtro umedecido com 50 μL de uma solução de NH_4NO_3 6 mol L^{-1} . Ao frasco de quartzo foi adicionado 6 mL de uma solução de: (i) NH_4OH (10, 25, 50 e 100 mmol L^{-1}), (ii) $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ (10, 25, 50 e 100 mmol L^{-1}) e (iii) HNO_3 (1, 2, 4, 7 e 14,4 mol L^{-1}) e o suporte contendo amostra foi posicionado no interior do frasco. Após, os frascos foram fixados no rotor, pressurizados com 20 bar de oxigênio e o rotor foi posicionado no interior da cavidade do forno de micro-ondas. Procedeu-se uma etapa de refluxo de 5 minutos e, após a etapa de resfriamento (20 minutos), a solução final foi coletada em frasco de polipropileno, completando-se o volume a 25 mL.

3.3.3 Análise direta da amostra sólida

Para a determinação de Cr, Cu e Mn por SS GF AAS, primeiramente foi feita a otimização da massa máxima de amostra que poderia ser utilizada, sem prejuízo do sinal analítico. Para isso, aumentou-se a massa de amostra até observar que a integração do sinal não era mais possível. Esse procedimento foi realizado para os 3 tipos de cápsulas utilizadas como amostra neste trabalho. Desta forma, pode-se concluir que massas de amostra superiores a 1 mg não proporcionavam a total integração do sinal. Então, aproximadamente 1 mg de amostra foi pesado e transferido para uma plataforma de grafite, a qual foi introduzida no espectrômetro de absorção atômica com forno de grafite. O programa de aquecimento utilizado iniciou-se com uma etapa de secagem de 120 °C, seguido da etapa de pirólise, a qual a temperatura variou para cada analito (1600 °C para Cr, 1200 °C para Cu, e 1300 °C para Mn). Posteriormente procedeu-se a etapa de atomização (2400 °C para Cr, 2600 °C para Cu e 2500 °C para Mn) e a etapa de limpeza a uma temperatura de 2700 °C. A seguir, um esquema simplificado dos métodos de preparo de amostra, bem como dos reagentes, massa de amostra e condições utilizadas em cada método, será mostrado na Figura 3.

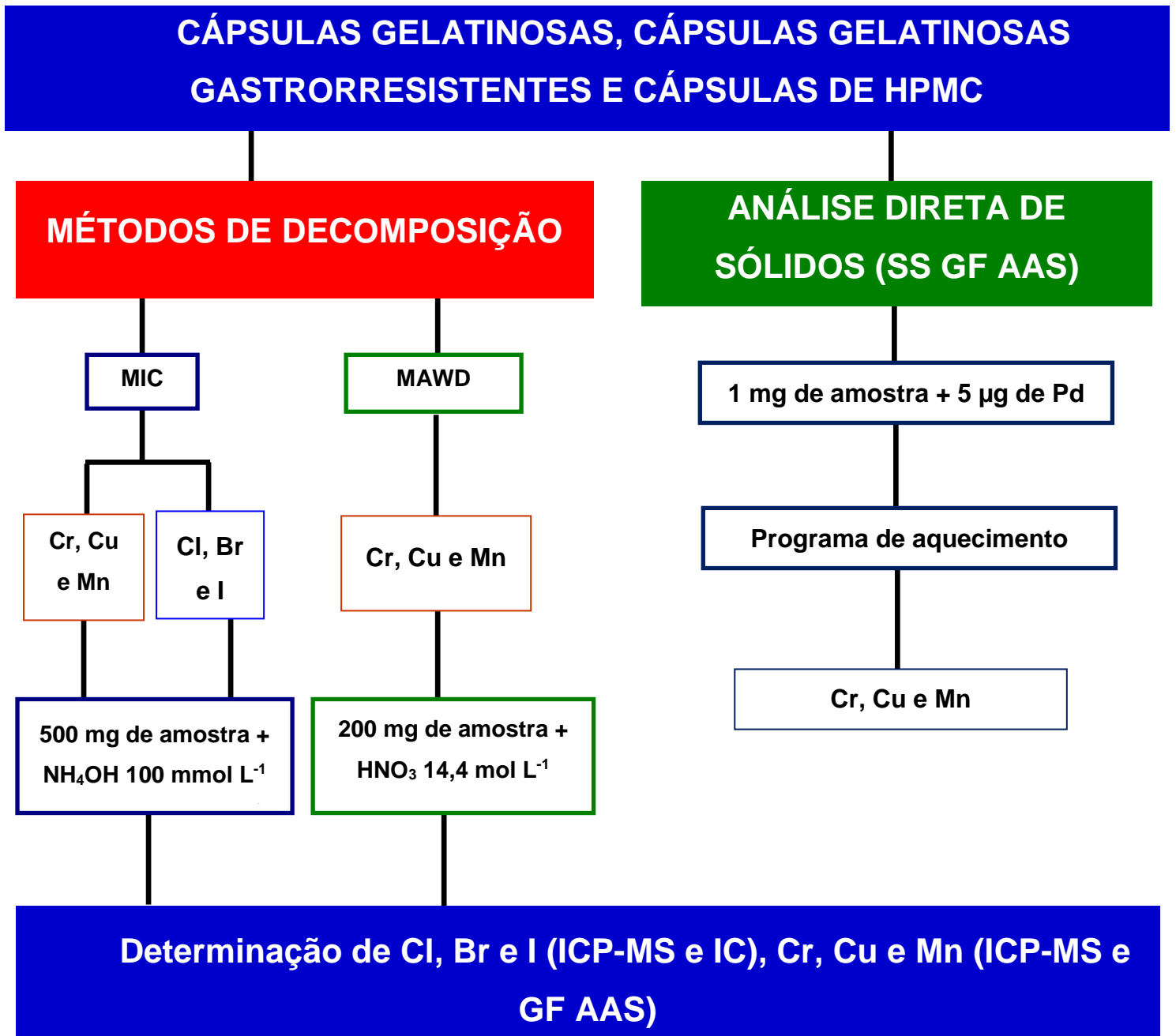


Figura 3. Representação dos métodos de preparo de amostra utilizados no presente trabalho.

4 APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Neste capítulo serão apresentados e discutidos os resultados obtidos após a decomposição de diferentes tipos de cápsulas de uso farmacêutico por MIC e MAWD e determinação de halogênios e metais por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado e halogênios por cromatografia de íons. Ainda, serão discutidos os resultados obtidos para as amostras após análise por amostragem direta.

4.1 Decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas

A decomposição por MAWD foi primeiramente avaliada para as cápsulas gelatinosas. Para isso, foi feita a avaliação da massa máxima de amostra possível de ser decomposta. Desta forma, foi feita a decomposição de 200 e 300 mg de cápsula gelatinosa, utilizando-se HNO_3 14,4 mol L^{-1} como reagente. O aspecto das soluções após decomposição pode ser observado na Figura 4. Os resultados para Cr, Cu e Mn estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Avaliação da massa de amostra para a decomposição de cápsulas gelatinosas por MAWD (determinação por ICP-MS, n=3).

Massa de amostra (mg)	Concentração ($\mu\text{g g}^{-1}$)		
	Cr	Cu	Mn
200	$4,04 \pm 0,09$	$0,385 \pm 0,040$	$0,156 \pm 0,004$
300	$4,09 \pm 0,05$	$0,384 \pm 0,023$	$0,154 \pm 0,009$

Na Tabela 4 pode ser observada a concordância entre os resultados obtidos para as diferentes massas avaliadas. Ressalta-se, ainda, que após as decomposições com 200 e 300 mg, foi observado a presença de um resíduo na parte inferior do frasco de decomposição. Com base nisso e de forma a verificar a exatidão dos resultados obtidos, foi feita a determinação destes elementos também por GF AAS nos digeridos obtidos após decomposição utilizando 200 mg de amostra. Os resultados para ambas as técnicas estão apresentados na Tabela 5.

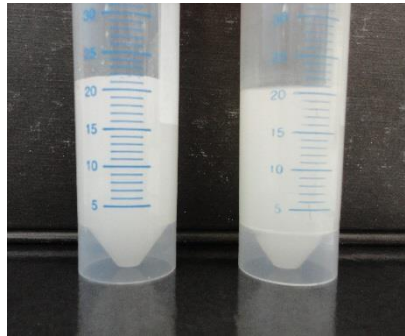


Figura 4. Aspecto das soluções obtidas após decomposição de 200 mg de cápsulas gelatinosas por MAWD.

Tabela 5. Comparação dos resultados obtidos após decomposição de cápsula gelatinosa por MAWD e determinações por ICP-MS e GF AAS (massa de amostra 200 mg, decomposição com HNO_3 14,4 mol L^{-1} , $n=3$).

Elemento	Cápsula à base de gelatina	
	ICP-MS	GF AAS
Cr	4,04 ± 0,09	4,00 ± 0,003
Cu	0,385 ± 0,004	0,384 ± 0,006
Mn	0,156 ± 0,004	0,155 ± 0,005

Como apresentado na Tabela 5, os resultados obtidos para as duas técnicas não apresentaram diferenças estatísticas significativas (*paired test t*, intervalo de confiança de 95%, $p < 0,05$). Desta forma, foi feita a decomposição dos demais tipos de cápsulas (cápsula gelatinosa gastrorresistente e cápsula de HPMC) por MAWD. Destaca-se, pois, que se optou pela decomposição de 200 mg de amostra para os demais tipos de cápsulas em virtude da quantidade elevada de resíduo insolúvel gerado quando da utilização de massas de amostra superiores. Os resultados obtidos para os diferentes tipos de cápsulas avaliados estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6. Resultados obtidos após decomposição de cápsula gelatinosa, cápsula gelatinosa gastrorresistente e cápsula de HPMC por MAWD e determinação de As, Cd, Cr, Cu e Mn por ICP-MS (valores em $\mu\text{g g}^{-1}$, $n=3$).

Elementos	Tipos de cápsulas		
	Gelatinosa	Gastrorresistente	HPMC
Cr	$4,04 \pm 0,09$	$0,204 \pm 0,004$	$0,181 \pm 0,006$
Cu	$0,385 \pm 0,004$	$0,508 \pm 0,004$	$38,1 \pm 0,5$
Mn	$0,156 \pm 0,004$	$< 0,038$	$< 0,038$

Foi observado que as cápsulas de HPMC apresentaram maior concentração de Cu com relação aos demais tipos avaliados. Já nas cápsulas gelatinosas a concentração de Cr foi bem superior ao que foi observado para as demais cápsulas.

Da mesma forma que para as cápsulas gelatinosas, a decomposição dos demais tipos de cápsulas também levou à geração de resíduos muito semelhantes aos obtidos para as cápsulas gelatinosas. Desta forma, buscando comprovar a eficiência da decomposição por MAWD, foi feita a caracterização dos resíduos obtidos nos diferentes tipos de cápsulas. Para isso, as soluções obtidas após decomposição foram centrifugadas e o resíduo foi separado do sobrenadante, o qual foi removido com o auxílio de um pipetador. Ao resíduo foram adicionados $3 \mu\text{L}$ de HF e o volume foi aferido a 50 mL. Então, foi feita a determinação de Ti e Si por ICP OES e os resultados estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7. Resultados obtidos para as determinações de Si e Ti nos resíduos para os diferentes tipos de cápsulas após decomposição via úmida (determinação por ICP OES, $\mu\text{g g}^{-1}$, $n=3$).

Tipos de cápsulas	Si	Ti
Cápsula à base de gelatina	$0,708 \pm 0,003$	5886 ± 20
Cápsula gastrorresistente à base de gelatina	$0,630 \pm 0,050$	29230 ± 1730
Cápsula à base de HPMC	$0,605 \pm 0,036$	904 ± 96

Como pode ser observado, os resíduos apresentaram elevada concentração de Ti. Sabe-se que as cápsulas de uso farmacêutico, normalmente apresentam TiO_2 em sua composição, o qual é adicionado principalmente como pigmento.^{20,68} No entanto, apesar da presença deste resíduo insolúvel após as decomposições por MAWD, foi possível a recuperação quantitativa dos analitos, após a decomposição utilizando HNO_3 $14,4 \text{ mol L}^{-1}$ e 200 mg de amostra.

4.2 Decomposição por combustão iniciada por micro-ondas

4.2.1 Avaliação da solução absorvedora

Para a decomposição por MIC foram avaliados os seguintes parâmetros: massa de amostra e solução absorvedora. Inicialmente, foram avaliadas soluções alcalinas para promover a absorção de halogênios. Alguns trabalhos presentes na literatura reportam o uso de $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$, NH_4OH e, até mesmo água como solução absorvedora para halogênios, principalmente para absorção de Cl.^{48,50,55}

Neste trabalho foram avaliadas soluções de NH_4OH e $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$, ambas nas concentrações de 10 a 100 mmol L^{-1} . Os resultados obtidos para Cl, Br e I nas diferentes concentrações estão apresentados na Figura 5, Figura 6 e Figura 7, respectivamente.

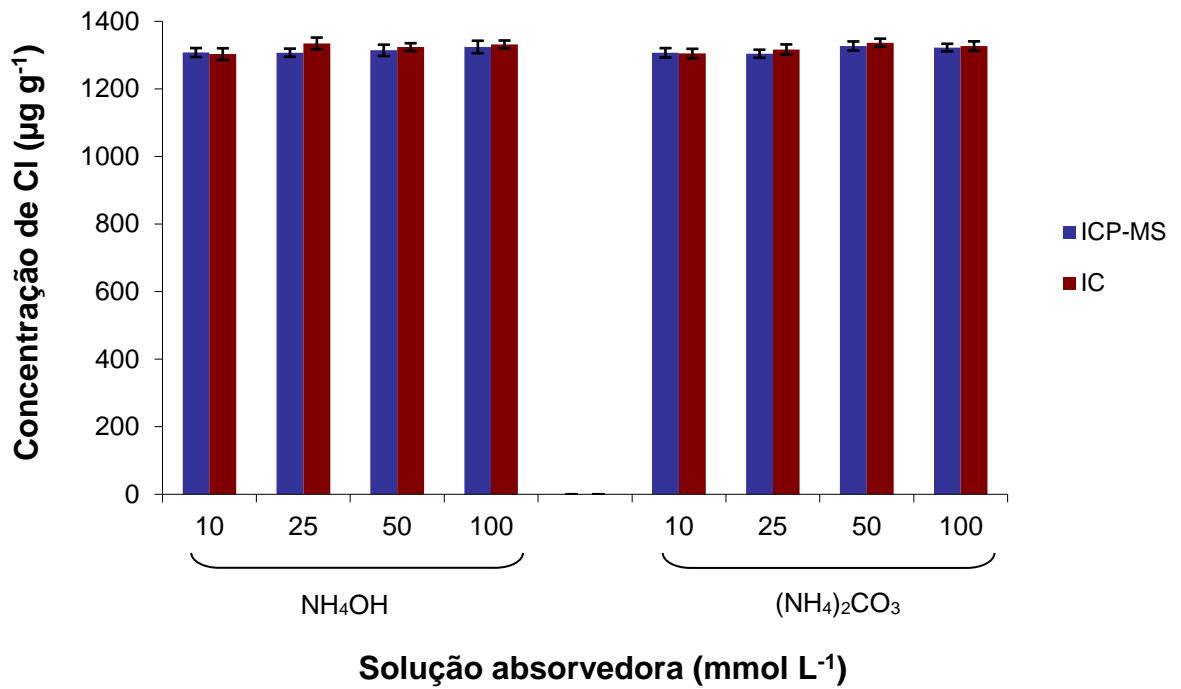


Figura 5. Resultados obtidos para a determinação de Cl após decomposição de cápsula gelatinosa por MIC, utilizando diferentes soluções absorvedoras (determinação por ICP-MS e IC, n=3).

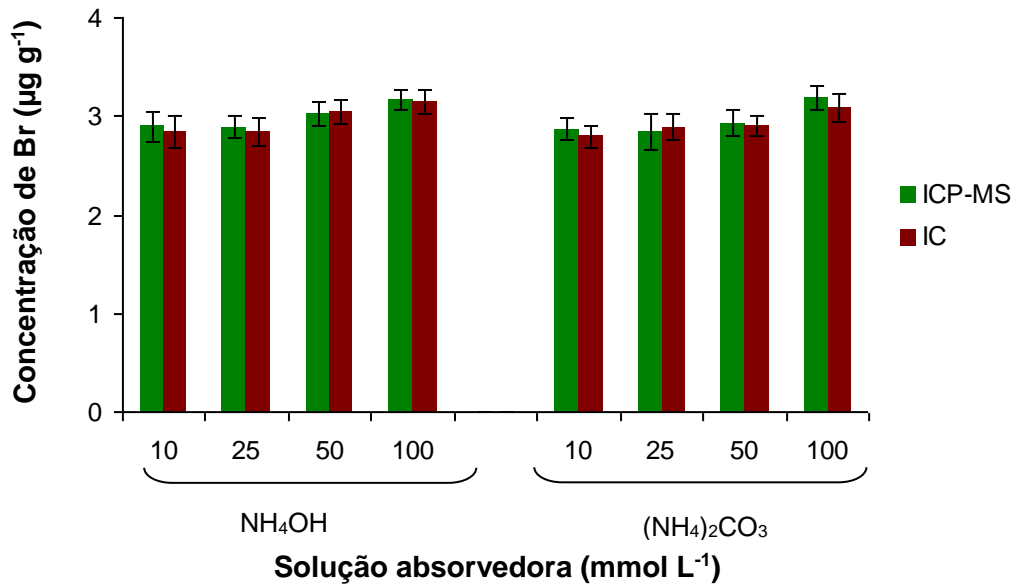


Figura 6. Resultados obtidos para a determinação de Br após a decomposição de cápsulas gelatinosas por MIC utilizando diferentes soluções absorvedoras (determinação por ICP-MS e IC, n=3).

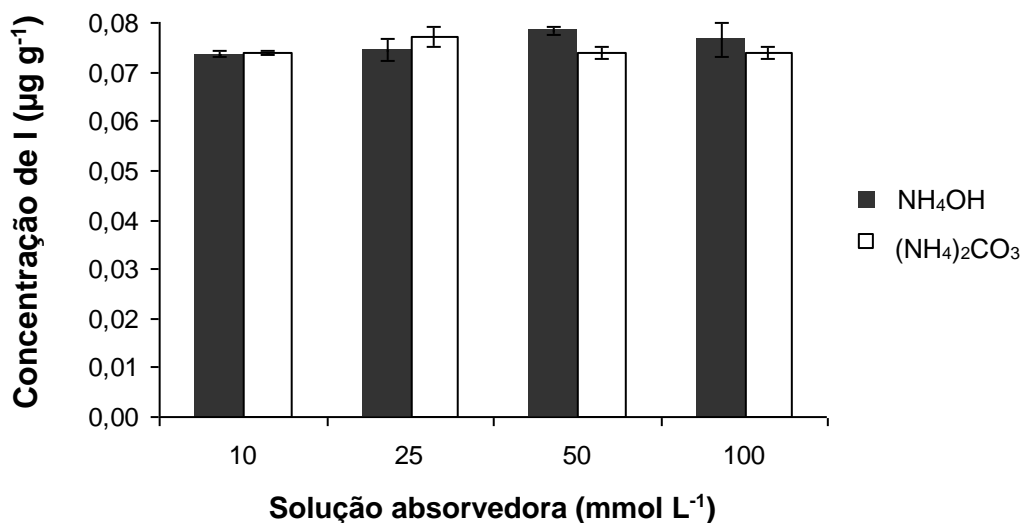


Figura 7. Resultados obtidos para a determinação de I em diferentes soluções absorvedoras por ICP-MS após decomposição de cápsula gelatinosa por MIC (n=3).

Os resultados obtidos nas diferentes concentrações de NH_4OH e $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$, para todos os analitos, não apresentaram diferenças estatísticas significativas (Análise de variância - ANOVA, intervalo de confiança de 95%, $p < 0,05$). Pode-se observar que, os resultados obtidos para Br apresentaram uma variação relativamente maior quando comparado aos resultados obtidos para Cl e I. Porém, a análise estatística dos dados mostrou que, apesar disso, os resultados não apresentam diferenças estatísticas significativas. Por esta razão, foi escolhida a solução de NH_4OH 100 mmol L^{-1} como solução absorvedora para as avaliações que se seguiram.

Posteriormente, foi feita a avaliação da solução absorvedora mais adequada para a absorção de Cr, Cu e Mn. Nesse sentido, foram avaliadas diferentes concentrações de HNO_3 e os resultados para os três tipos de cápsulas estão apresentados na Figura 8, Figura 9 e Figura 10.

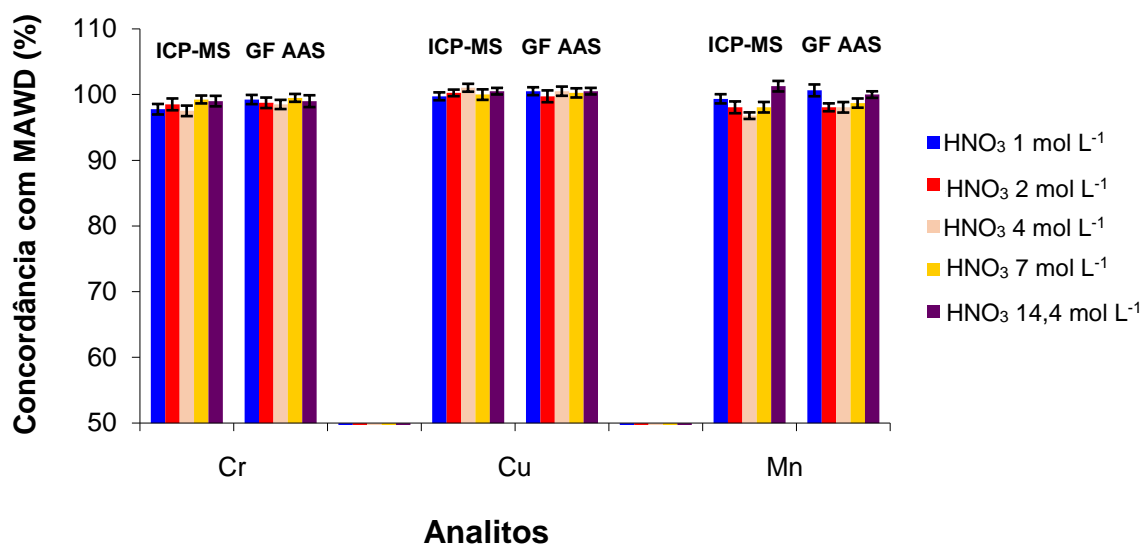


Figura 8. Influência da concentração de HNO₃ como solução absorvedora para a decomposição de cápsulas gelatinosas por MIC e determinação por ICP-MS e GF AAS (comparação com resultados obtidos após decomposição por MAWD, n=3).

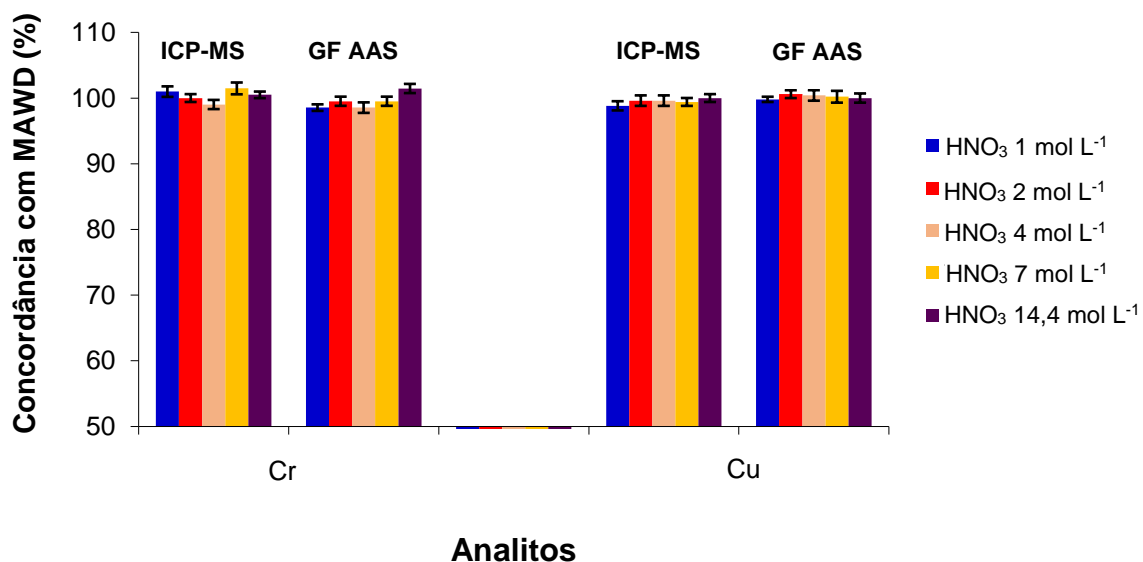


Figura 9. Influência da concentração de HNO₃ como solução absorvedora após decomposição por MIC de cápsulas gelatinosas gastroresistentes. Comparação dos resultados obtidos após decomposição por MAWD (determinação por ICP-MS e GF AAS, n=3).

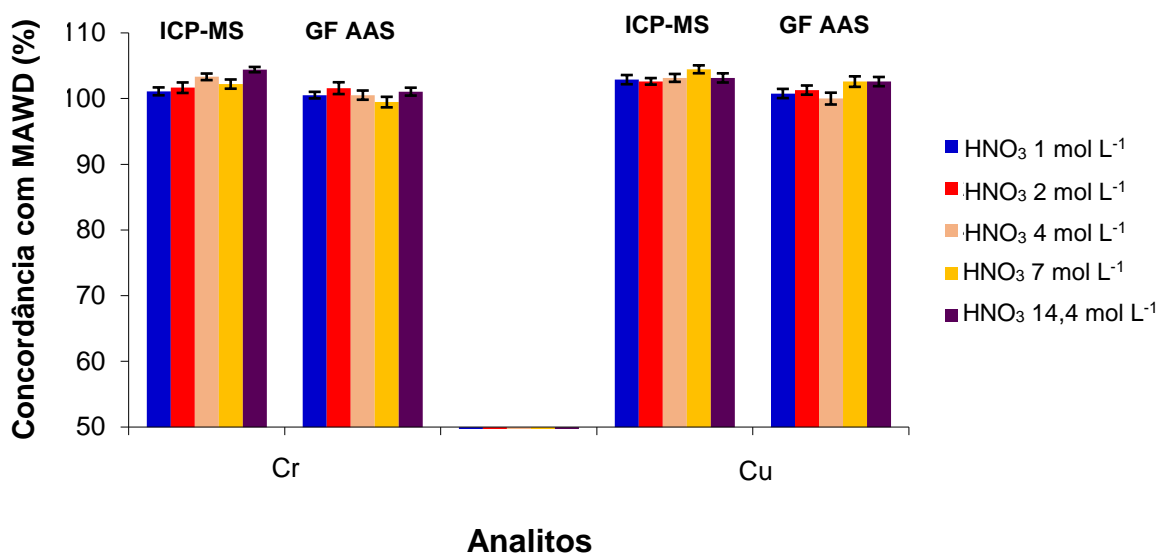


Figura 10. Avaliação da concentração de HNO₃ como solução absorvedora para a decomposição de cápsulas de HPMC por MIC e comparação dos resultados obtidos após MAWD (determinação por ICP-MS e GF AAS, n=3).

Como pode ser observado, mesmo utilizando-se soluções diluídas de HNO₃ (1 mol L⁻¹) foi possível a absorção dos elementos de forma quantitativa, comparando-se os resultados com aqueles obtidos para as soluções após decomposição via úmida. Após comparação estatística dos resultados, foi observado que não houve diferença significativa entre os mesmos (Análise de variância - ANOVA, intervalo de confiança de 95%, $p < 0,05$). Os resultados obtidos para Mn ficaram abaixo dos limites de detecção das técnicas de ICP-MS e GF AAS para as cápsulas gastrorresistentes e cápsulas de HPMC.

De forma complementar, foi feita a determinação de halogênios nas soluções decompostas utilizando-se diferentes concentrações de HNO₃. Os resultados para a determinação de Cl estão apresentados na Figura 11.

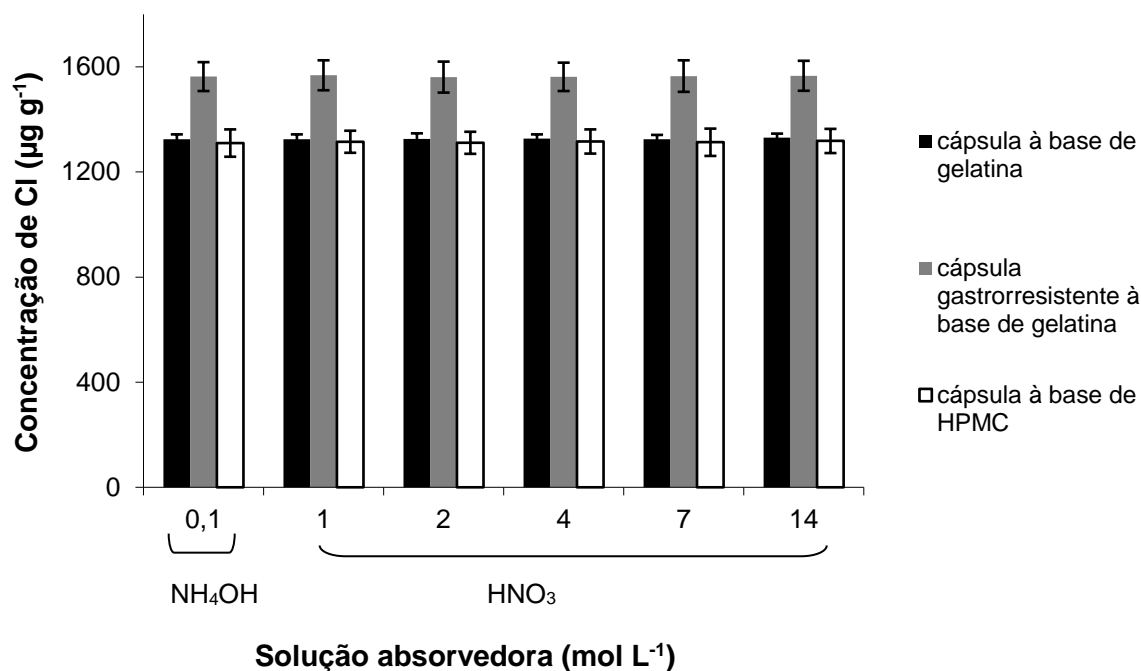


Figura 11. Resultados obtidos para Cl após decomposição de cápsulas gelatinosas por MIC utilizando diferentes concentrações de HNO₃ (determinação por ICP-MS, n=3).

Foi observado que, mesmo com concentrações mais diluídas de HNO₃, os resultados obtidos para Cl foram concordantes com os resultados obtidos para as soluções de NH₄OH 100 mmol L⁻¹. Cabe destacar que, a utilização de HNO₃ como solução absorvedora para decomposição de amostras visando à determinação de halogênios, não é comumente reportada na literatura.^{55,52,25,46,56} Isto pode ser atribuído a formação dos respectivos ácidos voláteis (HF, HCl, HBr e HI), possibilitando a perda destes elementos por volatilização.⁴⁴ Porém, como pode ser observado pelos resultados apresentados, no caso da decomposição por MIC, estas perdas não ocorreram. Com isso, fez-se a determinação de Cl nas amostras decompostas por MAWD, porém a recuperação de Cl foi inferior a 30%.

4.2.2 Avaliação da massa de amostra

Para avaliação da quantidade de amostra máxima possível de ser decomposta por MIC massas de amostra de 100 a 500 mg foram decompostas utilizando NH₄OH 100 mmol L⁻¹ e os resultados estão apresentados nas Figuras 12, 13 e 14.

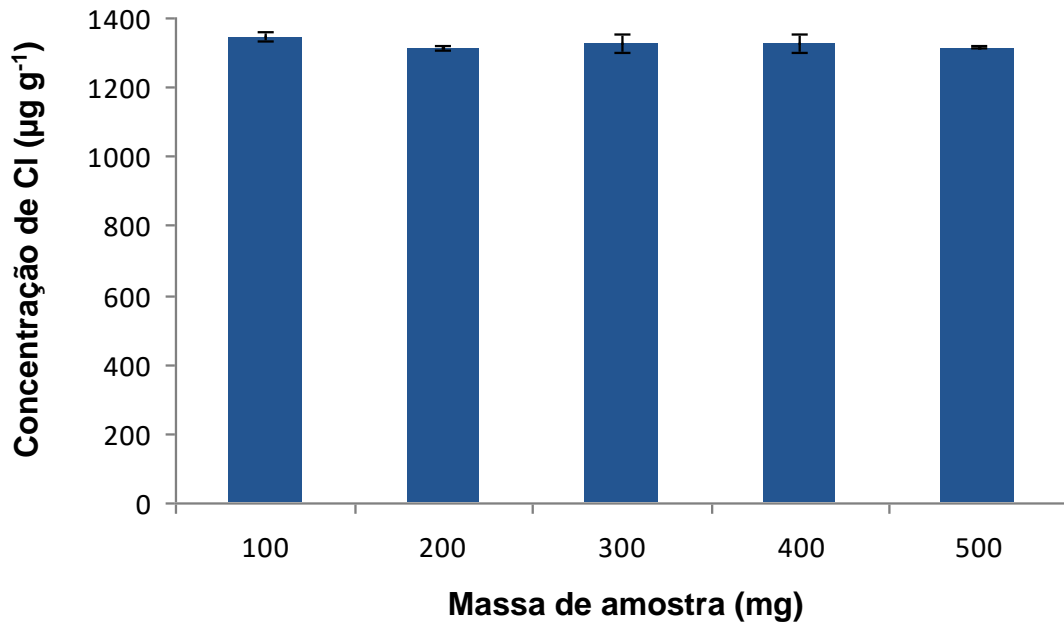


Figura 12. Resultados obtidos após decomposição de cápsulas gelatinosas por MIC utilizando diferentes massas de amostra e NH_4OH 100 mmol L^{-1} como solução absorvedora (determinação de Cl por ICP-MS, $n=3$).

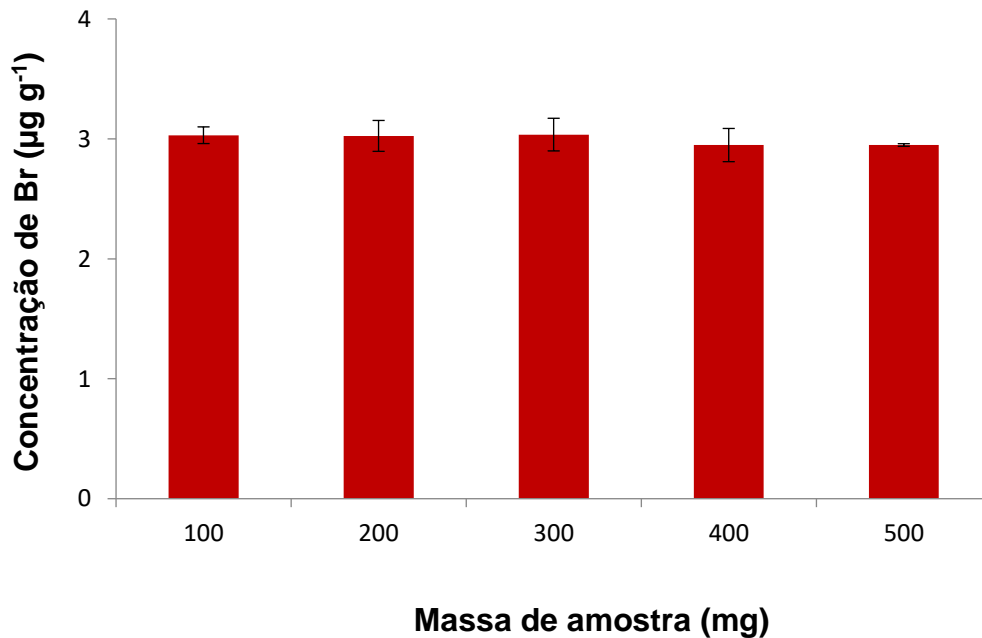


Figura 13. Resultados obtidos após decomposição de capsulas gelatinosas por MIC utilizando diferentes massas de amostra e NH_4OH 100 mmol L^{-1} como solução absorvedora (determinação de Br por ICP-MS, $n=3$).

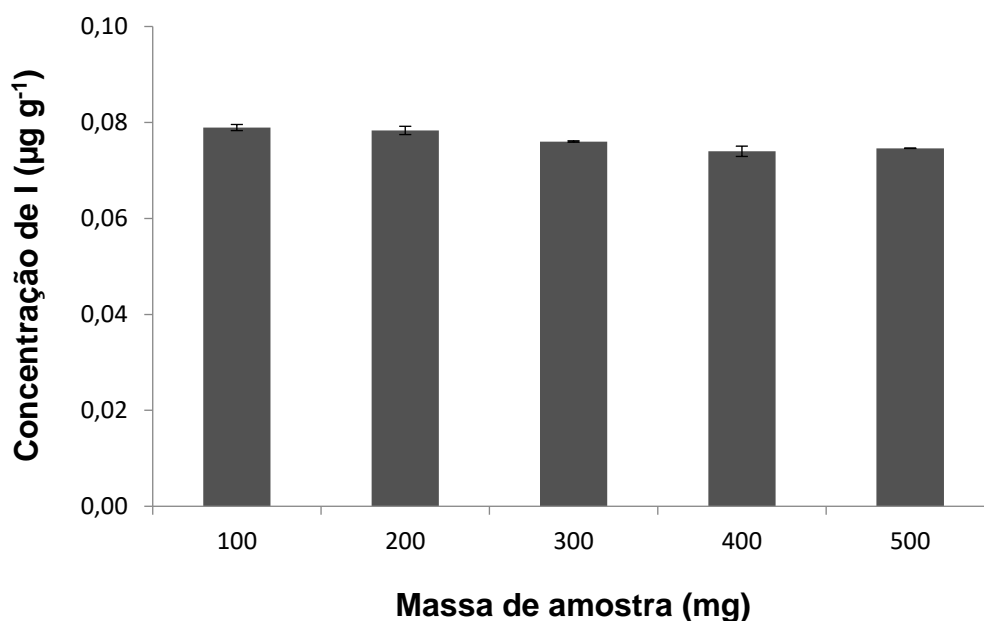


Figura 14. Resultados da determinação de I por ICP-MS após decomposição de cápsula gelatinosa por MIC utilizando diferentes massas de amostra (solução absorvedora NH_4OH 100 mmol L^{-1} , $n=3$).

Foi possível observar que os resultados obtidos não apresentaram diferença estatística. Ressalta-se ainda que, foi possível a decomposição de até 500 mg de amostra, o que possibilitou a obtenção de menores limites de detecção para as determinações por ICP-MS. Ademais, a decomposição de massas maiores de amostra permitiu a determinação de, principalmente iodo, o qual está presente em baixas concentrações nas amostras, comparado aos demais halogênios.

Após as otimizações de massa de amostra e solução absorvedora, foi feita a determinação de Cl, Br e I nas cápsulas gelatinosas, cápsulas gelatinosas gastrorresistentes e cápsulas de HPMC e os resultados estão apresentados na Tabela 8.

Tabela 8. Comparação dos resultados obtidos para Cl, Br e I após decomposição de cápsulas gelatinosas, cápsulas gastrorresistentes e cápsulas de HPMC por MIC utilizando NH_4OH 100 mmol L^{-1} (massa de amostra 500 mg, $n=3$).

Tipo de cápsulas	Analitos	Técnica de determinação	
		ICP-MS	IC
Cápsula à base de gelatina	Cl	1324 ± 19	1332 ± 12
	Br	$3,17 \pm 0,11$	$3,14 \pm 0,12$
	I	$0,077 \pm 0,003$	$< 0,05$
Cápsula gastrorresistente à base de gelatina	Cl	1563 ± 55	1521 ± 41
	Br	$0,318 \pm 0,011$	$< 0,10$
	I	$< 0,005$	$< 0,05$
Cápsula à base de HPMC	Cl	1310 ± 52	1326 ± 25
	Br	$0,442 \pm 0,032$	$< 0,10$
	I	$0,014 \pm 0,001$	$< 0,05$

Os resultados apresentados na Tabela 8 demonstram a concordância obtida entre os resultados para as diferentes técnicas utilizadas (*paired test t*, intervalo de confiança de 95%, $p < 0,05$). Ainda, os resultados obtidos para Br e I foram inferiores ao limite de detecção da técnica de IC para as cápsulas gelatinosas gastrorresistentes e cápsulas de HPMC.

É importante salientar que a determinação de Cl por ICP-MS nas amostras após MIC e MAWD foi realizada sem o uso de DRC. De maneira geral, a DRC é empregada com o objetivo de eliminar ou minimizar interferências espectrais. O ^{35}Cl está susceptível a interferências poliatômicas principalmente devido às espécies $^{16}\text{O}^{18}\text{O}^1\text{H}$ e $^{34}\text{S}^1\text{H}$. No entanto, estas interferências não são comumente reportadas.^{74,75,78} Alguns trabalhos presentes na literatura sugerem uso de DRC para determinação de Cl por ICP-MS com objetivo de obter melhores limites de detecção, tendo em vista a baixa eficiência de ionização do Cl em plasma de Ar (aproximadamente 1%).^{4,7,61,48} Neste trabalho, no entanto, não foi feito o uso de DRC.

4.2.3 Decomposição de material de referência certificado

Para avaliar a exatidão da decomposição por MIC foi feita a decomposição de CRM de leite em pó integral (NIST 8435 - whole milk powder) por MIC utilizando HNO_3 em diferentes concentrações e, também, NH_4OH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Os resultados estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9. Resultados obtidos após decomposição de CRM de leite em pó por MIC e determinação de metais e halogênios por ICP-MS (valores em $\mu\text{g g}^{-1}$, $n=3$).

Elementos	Solução absorvedora (mol L^{-1})				Valor certificado
	HNO_3			NH_4OH	
	2	7	14,4	0,1	
Br	ND ^b	ND ^b	ND ^b	$20,6 \pm 0,4$	20 ± 10
Cl	8150 ± 150	8421 ± 152	5660 ± 160	8405 ± 170	8420 ± 440
Cr	$0,518 \pm 0,016$	$0,503 \pm 0,034$	$0,518 \pm 0,016$	ND ^b	$0,5^a$
I	ND ^b	ND ^b	ND ^b	$2,39 \pm 0,15$	$2,3 \pm 0,4$
Mn	$0,169 \pm 0,005$	$0,172 \pm 0,006$	$0,174 \pm 0,012$	ND ^b	$0,17 \pm 0,05$

^a Valor informado.

^b Não determinado

Os resultados obtidos para o CRM nas decomposições utilizando diferentes soluções absorvedoras foram comparados aos valores certificados através da análise estatística dos dados e não foram observadas diferenças entre os resultados (Análise de variância - ANOVA, intervalo de confiança de 95%, $p < 0,05$). Destaca-se que, para os elementos os quais o valor presente no CRM é apenas informado (não certificado) foi aplicado o teste t com intervalo de confiança de 95% ($p < 0,05$).⁴⁷

Cabe ressaltar que, os valores obtidos para Cl no CRM foram concordantes com o valor certificado quando soluções diluídas de HNO_3 foram utilizadas como solução absorvedora. Este comportamento foi semelhante ao obtido para as amostras, exceto pelo fato de que para a amostra foi possível a recuperação de Cl com o uso de HNO_3 concentrado. Da mesma forma, foi feita a determinação de Br e I no CRM após a decomposição utilizando soluções diluídas de HNO_3 como solução absorvedora. Ao contrário do que foi observado para os resultados obtidos com o uso de NH_4OH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, a concentração de Br e I nas soluções com diferentes concentrações de HNO_3 ficaram abaixo dos limites de detecção. Com isso, observou-se que o uso de soluções HNO_3 , mesmo concentrações relativamente baixas, como 2 mol L^{-1} , não se mostraram adequadas a absorção de Br e I. Uma possível explicação

poderia ser a formação de HBr e HI, provenientes do uso de HNO_3 como reagente, os quais podem ter sido perdidos por volatilização logo após a abertura dos frascos de decomposição. Cabe destacar que, a literatura recomenda o uso de soluções alcalinas para absorção quantitativa de halogênios, como forma de prevenir estas possíveis perdas por volatilização.^{44,60,57}

4.3 Resultados obtidos empregando a espectrometria de absorção atômica com forno de grafite e amostragem direta de sólidos (SS GF AAS)

Com o objetivo de comparar os resultados obtidos para os dois métodos de decomposição avaliados, foi feita a determinação de As, Cd, Cr, Cu e Mn nas cápsulas gelatinosas através da análise por amostragem direta por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite.

Primeiramente, com a finalidade de avaliar a possibilidade da calibração do equipamento com soluções aquosas, a otimização da temperatura de pirólise e atomização foi feita para soluções de referência e para a amostra sólida. Para cromo, a avaliação da temperatura de pirólise foi feita nas temperaturas de 1400, 1600 e 1800 °C, fixando-se a temperatura de atomização em 2600 °C. Foi observado que o comportamento do cromo foi semelhante para a solução e para a amostra e que a temperatura de 1000 °C foi a máxima possível onde não ocorreram perdas de analito. Após fixada a temperatura de pirólise em 1000 °C, a avaliação da temperatura de atomização foi feita variando-se a temperatura entre 2200 e 2600 °C. Da mesma forma, foi observado um comportamento semelhante para amostra e para a solução, onde a temperatura de 2600 °C foi selecionada para atomização. Na Figura 15 estão apresentados os resultados obtidos para essas avaliações.

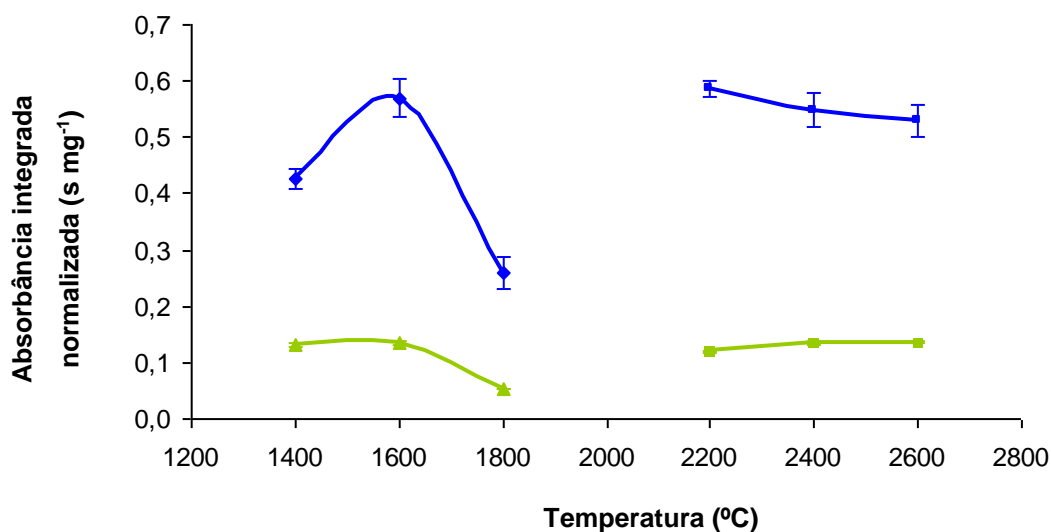


Figura 15. Otimização da temperatura de pirólise e atomização para cromo: ■ amostra sólida com modificador químico (5 µg de Pd) e ● solução aquosa com modificador químico (5 µg de Pd). Cada ponto representa a média de 5 medidas.

Da mesma forma, a avaliação da temperatura de pirólise e atomização para cobre foi feita para a solução aquosa e para a amostra. Assim, avaliou-se a temperatura de pirólise entre 1000 e 1400 °C, fixando-se a temperatura de atomização em 2500 °C. Foi observado que até 1200 °C, foi possível fazer a pirólise sem perdas de analito, tanto para amostra quanto para a solução aquosa. A temperatura de 1000 °C foi escolhida como temperatura de pirólise. Para avaliar a atomização, com a temperatura de pirólise fixada em 1000 °C, avaliando-se a temperatura de atomização em 2400, 2600 e 2800 °C. Foi observado que o comportamento entre as temperaturas foi muito semelhante. A temperatura selecionada foi de 2600 °C, e de forma a prolongar o tempo de vida útil do forno e plataforma utilizados, foi escolhida a temperatura de 2600 °C para a etapa de atomização. Na Figura 16 podem ser observadas as temperaturas avaliadas em função das absorbâncias obtidas em cada uma delas.

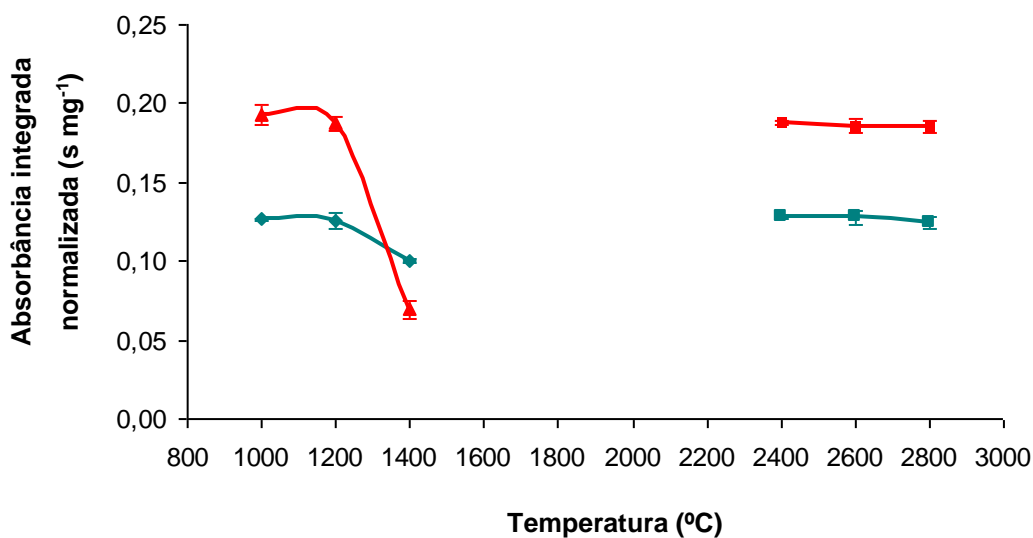


Figura 16. Otimização da temperatura de pirólise e atomização para cobre: ■ amostra sólida com modificador químico (5 µg de Pd) e ● solução aquosa com modificador químico (5 µg de Pd). Cada ponto representa a média de 5 medidas.

Da mesma forma que para cromo e cobre, as mesmas avaliações foram feitas para manganês. Assim, a temperatura de pirólise foi avaliada entre 1300 e 1600 °C, fixando-se a temperatura de atomização em 2200 °C. Pode-se observar que as temperaturas para a solução aquosa e para a amostra foram semelhantes. Com isso, fixando-se a temperatura de pirólise em 1300 °C fez-se a avaliação da temperatura de atomização entre 2200 e 2600 °C. Foi observado um comportamento semelhante para as temperaturas de atomização avaliadas e, portanto, a temperatura de atomização escolhida foi de 2200 °C, conforme mostra a Figura 17.

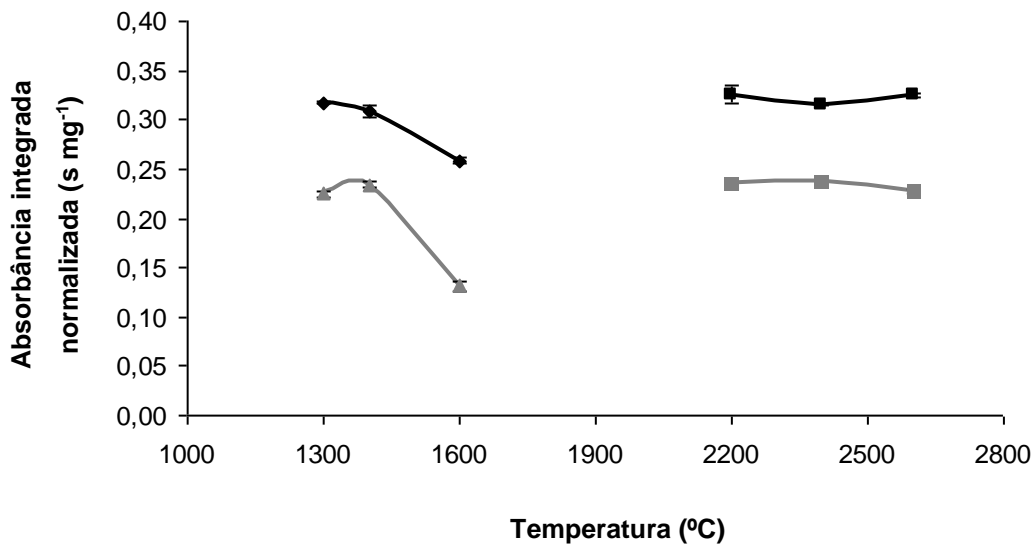


Figura 17. Otimização da temperatura de pirólise e atomização para manganês: ■ amostra sólida com modificador químico (5 µg de Pd) e ● solução aquosa com modificador químico (5 µg de Pd). Cada ponto representa a média de 5 medidas.

Após as otimizações das temperaturas ideais de pirólise e atomização para cada elemento, e, observando-se que não havia diferença no comportamento térmico para soluções aquosas ou amostra sólida, fez-se a quantificação das amostras utilizando-se calibração com soluções aquosas. Na Tabela 10, estão resumidos os programas de temperatura utilizados na determinação de Cr, Cu e Mn em cápsulas gelatinosas, gastrorresistentes e de HPMC por SS GF AAS.

Tabela 10. Programas de temperatura e tempo utilizados para a determinação de Cr^a, Cu^b e Mn^c em cápsula gelatinosa.

Etapa	Temperatura (°C)	Rampa (°C s ⁻¹)	Tempo (s)
Secagem	120 ^{a-c}	10 ^{a-c}	20 ^{a-c}
Pirólise	1600 ^a , 1200 ^b , 1300 ^c	40 ^{a-c}	80 ^{a-c}
Auto-zero	1600 ^a , 1200 ^b , 1300 ^c	0 ^{a-c}	5 ^{a-c}
Atomização	2400 ^a , 2600 ^b , 2500 ^c	*FP ^{a-c}	4 ^a , 6 ^b , 8 ^c
Limpeza	2700 ^{a-c}	*FP ^{a-c}	5 ^{a-c}

* Potência máxima, do inglês, *full power*.

As curvas de calibração foram preparadas a partir de soluções de referência individuais de cada elemento e a concentração final das soluções foi calculada em massa (pg). Desta forma, as curvas de calibração para cada elemento foram as seguintes: (i) Cr - 250 a 1500 pg, (ii) Cu - 250 a 1000 pg e (iii) Mn - 100 a 600 pg. Após a etapa de calibração do equipamento, foi feita a determinação de Cr, Cu e Mn nas amostras.

Os resultados obtidos para a análise das amostras na forma sólida foram utilizados para a comparação com os resultados obtidos pelas demais técnicas de determinação. Cabe destacar que, em virtude da elevada concentração de Cu na cápsula de HPMC, a determinação deste elemento nesta amostra por amostragem direta não foi possível. Isso porque, mesmo com o uso de massa de amostra de, aproximadamente, 0,1 mg, não foi possível a integração do sinal obtido, o qual não retornou a linha base em função da alta concentração de Cu na amostra. Uma alternativa para solucionar este problema seria a utilização de um comprimento de onda secundário. Com isso, ocorreria a redução da sensibilidade do equipamento e com isso poderia se obter a total integração do sinal, possibilitando a quantificação de Cu na amostra. Contudo, este estudo não foi realizado neste trabalho, tendo em vista a concordância entre os resultados obtidos para Cu nas determinações por ICP-MS e GF AAS, nas soluções obtidas após decomposição pelos diferentes métodos avaliados.

4.4 Comparação de técnicas para determinação de Cr, Cu e Mn

Após submeter a amostra aos diferentes métodos de preparo de amostra e, da mesma forma, a análise por amostragem direta, foi feita a comparação dos resultados obtidos para as melhores condições, conforme apresentado na Tabela 11.

Tabela 11. Comparação dos resultados obtidos para a determinação de Cr, Cu e Mn em cápsulas gelatinosas, cápsulas gelatinosas gastrorresistentes e cápsulas de HPMC após diferentes métodos de decomposição e amostragem direta (determinação por ICP-MS^a, n=3^a ou n=5^b, valores em $\mu\text{g g}^{-1}$).

Analitos	Tipos de cápsulas	Métodos de preparo de amostra		SS GF AAS ^b
		MIC ^a	MAWD ^a	
Cr	Cápsula gelatinosa	3,95 ± 0,07	4,04 ± 0,09	4,05 ± 0,02
	Cápsula gastrorresistente	0,206 ± 0,005	0,208 ± 0,002	0,204 ± 0,004
	Cápsulas de HPMC	0,183 ± 0,007	0,181 ± 0,006	0,186 ± 0,004
Cu	Cápsula gelatinosa	0,384 ± 0,005	0,385 ± 0,004	0,388 ± 0,002
	Cápsula gastrorresistente	0,502 ± 0,005	0,508 ± 0,004	0,502 ± 0,006
	Cápsulas de HPMC	39,2 ± 0,7	38,1 ± 0,5	ND
Mn	Cápsula gelatinosa	0,155 ± 0,006	0,156 ± 0,004	0,156 ± 0,009
	Cápsula gastrorresistente	< 0,009	< 0,010	< 0,260*
	Cápsulas de HPMC	< 0,009	< 0,010	< 0,260*

ND - Não determinado

* valor em ng g^{-1}

Na Tabela 11 pode ser observada a concordância entre os resultados obtidos para os diferentes métodos de preparo de amostra, bem como para aqueles obtidos por amostragem direta. Os resultados obtidos para cada tipo de cápsula, nos diferentes métodos e técnicas utilizados, não apresentaram diferença estatística (Análise de variância - ANOVA, intervalo de confiança de 95%, $p < 0,05$), o que corrobora a concordância obtida entre eles.

Cabe destacar que, a MIC possibilitou a decomposição de até 500 mg de amostra e, foi possível a utilização de ácido diluído para absorção dos analitos. Ainda, a decomposição por MIC possibilitou a determinação de halogênios, mesmo utilizando HNO_3 como solução absorvedora (neste caso, apenas para Cl). Não obstante, a decomposição por MAWD também se mostrou adequada à decomposição das amostras, porém a massa máxima utilizada foi 300 mg. Isso porque, foi observado o aumento do resíduo de TiO_2 (proveniente da decomposição da amostra) com o aumento da massa utilizada. Como este resíduo insolúvel permaneceu aderido aos frascos de decomposição, a sua remoção poderia causar ranhuras nos frascos de

decomposição. Em virtude disso, não foi feita a avaliação de massa de amostra superior a 300 mg.

Por outro lado, a possibilidade da amostragem direta se mostrou bastante vantajosa, principalmente no que se refere à manipulação mínima da amostra e a evitar a etapa de preparo de amostra, bem como o uso de ácidos ou outros reagentes para a decomposição.

Os LDs foram calculados considerando-se 3 vezes o desvio padrão de 10 medidas do branco somado ao valor do branco. Os valores foram calculados considerando 300 mg para MAWD e 500 mg para MIC. No caso da análise por amostragem direta, foram utilizadas plataformas vazias e os LDs foram calculados considerando-se 1 mg de amostra. Os limites de detecção para as diferentes técnicas utilizadas na determinação de Cr, Cu e Mn, assim como para os diferentes métodos de preparo de amostra estão apresentados na Tabela 12.

Tabela 12. Limites de detecção obtidos para as diferentes técnicas e métodos de preparo de amostra utilizados no presente trabalho (valores em ng g⁻¹).

Elemento	Decomposição	Limites de detecção		
		ICP-MS	GF AAS	SS GF AAS
Cr	MIC	85	23	0,434
	MAWD	36	30	-
Cu	MIC	11	15	0,837
	MAWD	38	40	-
Mn	MIC	9,0	2,0	0,434
	MAWD	10	16	-

* Referente a 1 mg de amostra.

4.5 Determinação de carbono

Foi feita para avaliar a eficiência de decomposição a determinação de carbono nas soluções obtidas após decomposição por MIC e MAWD. Na Figura 18, estão apresentados os resultados obtidos para as soluções após MAWD, para os diferentes tipos de cápsulas avaliados. Cabe salientar que, para as soluções obtidas após MIC, os valores de carbono foram inferiores a 10 mg L⁻¹.

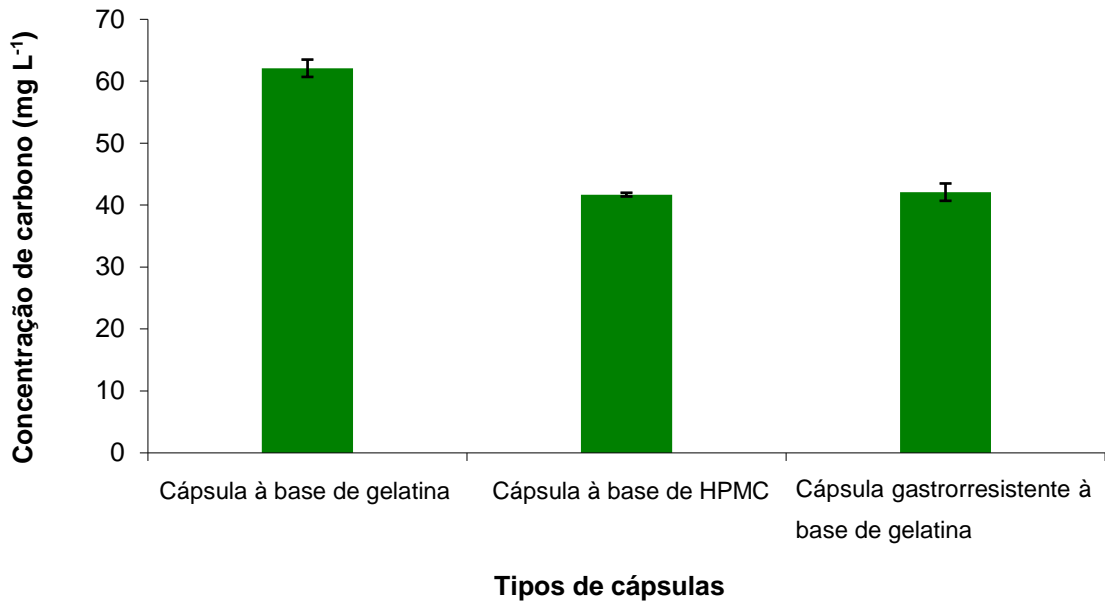


Figura 18. Resultados obtidos para a determinação de carbono nos diferentes tipos de cápsulas (determinação por ICP OES, n=3).

Os valores de carbono apresentados na Figura 18 mostram que, a decomposição por MAWD foi eficiente para a decomposição dos três tipos de cápsulas, uma vez que os valores encontrados são relativamente baixos ($< 60 \text{ mg L}^{-1}$). É importante salientar que, a presença de carbono pode causar interferências não-espectrais nas determinações por ICP-MS. No caso de elementos de difícil ionização pode ocorrer aumento de sinal em virtude da presença de carbono nas soluções.^{2,35} No trabalho de Grindlay *et al.*²⁸ foi feita a avaliação da interferência do carbono na determinação de diversos elementos, dentre eles As, Cd, I, Mn e Pb, por ICP-MS. As soluções avaliadas continham uma concentração de carbono entre 5 e 30 g L^{-1} . Para os elementos em estudo, os autores reportam que não houve interferência de carbono nas determinações por ICP-MS, em soluções contendo 5 g L^{-1} de carbono. Desta forma, e considerando que a concentração de carbono nas soluções obtidas após MIC e MAWD foram inferiores a 5 g L^{-1} , este tipo de interferência não foi observado no presente trabalho.

Pode-se observar que, os valores de carbono encontrados são relativamente elevados. Como esperado, o aquecimento, convencional ou utilizando radiação micro-ondas, acelera o processo de oxidação da matéria orgânica.³⁷ Isso pode ter favorecido

a decomposição das amostras por MAWD, resultando em valores de carbono relativamente baixos. Por outro lado, a ausência de aquecimento nos processos de solubilização poderia explicar os valores de carbono elevados para as amostras após solubilização em água ou HNO_3 . Ademais, a grande quantidade de partículas dispersas em solução impossibilitou a introdução destas soluções, mesmo após diluição, no equipamento de ICP-MS.

5 CONCLUSÕES

A decomposição de cápsulas de uso farmacêutico foi proposta nesse trabalho para a posterior determinação de Br, Cl, Cr, Cu, I e Mn por ICP-MS, IC, GF AAS e SS GF AAS. A decomposição por MAWD mostrou-se adequada à decomposição de cápsulas de uso farmacêutico, possibilitando a decomposição de até 300 mg de amostra. Cabe ressaltar que as amostras decompostas por MAWD apresentaram resíduos insolúveis após a decomposição, o qual foi caracterizado como tendo elevada concentração de Ti. Como o resíduo ficava impregnado nos frascos após decomposição, optou-se por não utilizar massa de amostra superior a 300 mg para evitar possíveis danos aos frascos de decomposição, proveniente da deposição do resíduo. Apesar disto, os valores de carbono nas soluções obtidas após a decomposição por via úmida foram relativamente baixos, indicando a decomposição eficiente da matriz orgânica da amostra.

A decomposição por MIC também se mostrou adequada para a decomposição das cápsulas avaliadas neste trabalho. Foi possível decompor até 500 mg de amostra e foi possível a recuperação quantitativa de Cr, Cu e Mn utilizando-se HNO_3 1 mol L⁻¹. Para halogênios, a solução de NH_4OH 10 mmol L⁻¹ foi suficiente para absorção dos elementos. É importante salientar que, particularmente para Cl, foi possível a recuperação utilizando soluções diluídas de HNO_3 , para amostra e CRM.

A análise por amostragem direta mostrou-se uma alternativa aos métodos de preparo de amostra utilizados, permitindo a determinação de Cr, Cu e Mn utilizando-se massas de amostra de aproximadamente 1 mg. Ainda, apesar de as amostras serem de fácil decomposição, a etapa de preparo de amostra é normalmente morosa, quando comparada a análise sem prévia decomposição. Por outro lado, a análise monoelementar é uma desvantagem frente à técnica de ICP-MS, onde a determinação dos analitos é possível de forma seqüencial.

Pode-se destacar, ainda, que todos os métodos avaliados para decomposição, assim como técnicas utilizadas para a determinação dos analitos incluindo amostragem direta, mostraram-se vantajosos e alternativas viáveis para o controle de

impurezas inorgânicas em cápsulas de uso farmacêutico. Também é importante destacar que, o controle de qualidade é de suma importância no que se refere aos insumos utilizados pela indústria farmacêutica, tendo vista que alguns elementos, principalmente metais, são conhecidamente tóxicos ao organismo humano, dependendo da concentração ingerida. Neste sentido, pode-se observar que não foram encontradas concentrações elevadas para elementos considerados tóxicos, como As e Cd nas cápsulas avaliadas.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abramović, B. F., Gaál, F. F., Cvetković, S. D., Titrimetric determination of fluoride in some pharmaceutical products used for fluoridation, *Talanta* 39 (1992) 511-515.
2. Agatemor, C., Beauchemin, D., Matrix effects in inductively coupled plasma mass spectrometry: A review, *Anal. Chim. Acta*, 706 (2011) 66-83
3. Anderson, R., Sample pretreatment and separation, John Wiley, 1991, pp. 101-106
4. Antes, F. G., Decomposição de coque, resíduo de vácuo e petróleo extrapesado por piroidrólise para a determinação de cloro, Dissertação de mestrado, PPGQ, 2007
5. Arruda, M. A. Z., Santelli, R. E., Mecanização no preparo de amostras por microondas: o estado da arte, *Quim. Nova* 20 (1997) 638-643.
6. Aulton, M., Delineamento de formas farmacêuticas, Artmed, 2006, pp. 453-466.
7. Barbosa, J. T. P., Santos, C. M. M., Bispo, L. S., Lyra, F. H., David, J. M., Korn, M. G. A., Flores, E. M. M., Bromine, chlorine and iodine determination in soybean and its products by ICP-MS after digestion using microwave-induced combustion, *Food Anal. Method.* 6 (2003) 1065-1070
8. Barin, J. S., Desenvolvimento de Procedimentos Alternativos de Preparo e de Determinação de Metais Pesados em Fármacos Tricíclicos, Tese de Doutorado, PPGQ, Universidade Federal de Santa Maria, 2008.
9. Barin, J. S., Determinação de metais e não metais em produtos farmacêuticos após decomposição em sistema fechado por combustão iniciada por microondas, Dissertação de Mestrado, PPGCTF, Universidade Federal de Santa Maria, 2003.

10. Barin, J. S., Flores, E. M. M., Knapp, G., Trends in sample preparation using combustion techniques *in*: Arruda, M. A. Z., Trends in sample preparation, Nova science publishers, 2007, pp a) 56-57, b) 69-70
11. Barrocas, P. M. C., Santos, D. F. G., Ferreira, D. C., Coelho, P. M. B. S., Oliveira, R. C. S., Veiga, F. J. B., Sistemas farmacêuticos gastrorretentivos flutuantes, *Braz. J. Pharm. Sci.* 43 (2007) 325-334
12. Basak, A. K., Raw, A. S., Al Hakim, A. H., Furness, S., Samaan, N. I., Gill, D. S., Patel, H. B., Powers, R. F., Yu, L., Pharmaceutical impurities: Regulatory perspective for abbreviated new drug applications, *Adv. Drug Deliver. Rev.* 59 (2007) 64-72.
13. Becker, J. S., Inorganic mass spectrometry: Principles and applications, John Wiley & Sons Ltd, 2007, pp 31-32
14. Benza, H. I., Munyendo, W. L. L., A review of progress and challenges in soft gelatin capsules formulations for oral administration, *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.* 10 (2011) 20-24.
15. Cindrić, I. J., Zeiner, M., Krpetić, M., Stinger, G., ICP-AES determination of minor and major elements in Cornelian Cherry (*Cornus mas* L.) after microwave assisted digestion, *Microchem. J.* 105 (2012) 72-76.
16. Fahs, A., Brogly, M., Bistac, S., Schmitt, M., Hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) formulated films: Relevance to adhesion and friction surface properties, *Carbohydr. Polym.* 80 (2010) 105-114.
17. Farmacopeia Brasileira, 5^o Ed., volume 1, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2010.
18. Fecher, P., Goldmann, I., Nagengast, A., Determination of iodine in food samples by inductively coupled plasma mass spectrometry after alkaline extraction, *J. Anal. Atom. Spectrom.* 13 (1998) 977-982.
19. Felton, L. A., Haase, M. M., Shah, N. H., Zhang, G., Infeld, M. H., Malick, A. W., McGinity, J. W., Physical and enteric properties of soft gelatin capsules coated with eudragit® L 30 D-55, *Int. J. Pharmaceut.* 113 (1995) 17-24.
20. Felton, L. A., McGinity, J. W., Adhesion of polymeric films to pharmaceutical solids, *Eur J Pharm and Biopharm* 47 (1999) 3-14

21. Fernández-Sánchez, L. M., Bermejo-Barrera, P., Fraga-Bermudez, J. M., Szpunar, J., Lobinski, R., Determination of iodine in human milk and infant formulas, *J. Trace Elem. Med. Bio.* 21, Supplement 1 (2007) 10-13.
22. Filgueiras, A. V., Capelo, J. L., Lavilla, I., Bendicho, C., Comparison of ultrasound-assisted extraction and microwave-assisted digestion for determination of magnesium, manganese and zinc in plant samples by flame atomic absorption spectrometry, *Talanta* 53 (2000) 433-441.
23. Flores, E. M. D., 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, *Anal. Chem.* 76 (2004) 3525-3529.
24. Flores, E. M. M., Barin, J. S., Mesko, M. F., Knapp, G., Sample preparation techniques based on combustion reactions in closed vessels - A brief overview and recent applications, *Spectrochim. Acta B* 62 (2007) 1051-1064.
25. Flores, E. M. M., Mesko, M. F., Moraes, D. P., Pereira, J. S. F., Mello, P. A., Barin, J. S., Knapp, G., Determination of halogens in coal after digestion using the microwave-induced combustion technique, *Anal. Chem.*, 80 (2008) 1865-1870.
26. Flores, E. M. M., Muller, E. I., Duarte, F. A., Grinberg, P., Sturgeon, R. E., Determination of trace elements in fluoropolymers after microwave-induced combustion, *Anal. Chem.* 85 (2013) 374-380.
27. GMIA, Gelatin Handbook, 2012, pp. 15-16.
28. Grindlay, G., Mora, J., Loss-Vollebregt, M., Vanhaecke, F., A systematic study on the influence of carbon on the behavior of hard-to-ionize elements in inductively coupled plasma-mass spectrometry, *Spectrochim. Acta B*, 86 (2013) 42-49
29. Horlick, G., Montaser, A., Analytical Characteristics of ICPMS in: Montaser, A., Inductively coupled plasma mass spectrometry, Wiley-VCH Inc., 1998, pp 505
30. Johansson, A., The development of the titration methods: Some historical annotations, *Anal. Chim. Acta* 206 (1988) 97-109.

31. Kebbekus, B. B., Preparation of samples for metals analysis *in*: Mitra, S., Sample preparation techniques in analytical chemistry, volume 162, pp a) 227-229, b) 234-235
32. Khan, N., Jeong, I. S., Hwang, I. M., Kim, J. S., Choi, S. H., Nho, E. Y., Choi, J. Y., Kwak, B.-M., Ahn, J.-H., Yoon, T., Kim, K. S., Method validation for simultaneous determination of chromium, molybdenum and selenium in infant formulas by ICP-OES and ICP-MS, *Food Chem.* 141 (2013) 3566-3570.
33. Kingston, H. M., Haswell, S. J., Microwave-enhanced chemistry: Fundamentals, sample preparation and applications, American Chemical Society, 1997, pp 239-241
34. Koppelaar, D. W., Eiden, G. C., Barinaga, C. J., Collision and reaction cells in atomic mass spectrometry: development, status and application, *J. Anal. At. Spectrom.* 19 (2004) 561-570
35. Kralj, P., Veber, M., Investigations into nonspectroscopic effects of organic compounds in inductively coupled plasma mass spectrometry, *Acta Chim. Slov.* 50 (2003) 633-644
36. Krug, F. J., Métodos de Preparo de Amostras, 1 ed., Piracicaba, 2008, pp. a) 184-186, b) 252-253
37. Kubrakova, I. V., Formanovsky, A. A., Kudinova, T. F., Ku'zmin, N. M., Microwave-assisted nitric acid digestion of organic matrices, *Mendeleev. Commun.* 8 (1998) 93-94
38. Lachman, H. L., Teoria e prática na indústria farmacêutica, Fundação Calouste Gulbenkian, 2001, pp. 651-707.
39. Lásztity, A., Kelkó-Lévai, Á., Varga, I., Zih-Perényi, K., Bertalan, É., Development of atomic spectrometric methods for trace metal analysis of pharmaceuticals, *Microchem. J* 73 (2002) 59-63.
40. Lewen, N., The use of atomic spectroscopy in the pharmaceutical industry for the determination of trace elements in pharmaceuticals, *J. Pharmaceut. Biomed.* 55 (2011) 653-661.
41. Maciel, J. V., Knorr, C. L., Flores, E. M. M., Müller, E. I., Mesko, M. F., Primel, E. G., Duarte, F. A., Feasibility of microwave-induced combustion

- for trace element determination in *Engraulis anchoita* by ICP-MS, *Food Chem.* 145 (2014) 927-931.
42. Marguí, E., Queralt, I., Hidalgo, M., Determination of platinum group metal catalyst residues in active pharmaceutical ingredients by means of total reflection X-ray spectrometry, *Spectrochim. Acta B* 86 (2013) 50-54.
 43. Matusiewicz, H. Wet digestion methods *in*: Mester, Z., Sturgeon, R. Sample preparation for trace element analysis, Elsevier, volume 1, 2003, pp 195-196
 44. Mello, P. A., Barin, J. S., Duarte, F. A., Bizzi, C. A., Diehl, L. O., Muller, E. I., Flores, E. M. M., Analytical methods for the determination of halogens in bioanalytical sciences: A review, *Anal. Bioanal. Chem.*, 405 (2013) 7615-7642
 45. Mesko, M. F., Combustão iniciada por microondas em sistema fechado para a decomposição de amostras biológicas, Dissertação de Mestrado, PPGQ, Universidade Federal de Santa Maria, 2004.
 46. Mesko, M., Mello, P., Bizzi, C., Dressler, V., Knapp, G., Flores, É. M., Iodine determination in food by inductively coupled plasma mass spectrometry after digestion by microwave-induced combustion, *Anal. Bioanal. Chem.* 398 (2010) 1125-1131.
 47. Miller, J. C., Miller, J. N., Statistical for analytical chemistry, Ellis Horwood Limited, 3^o ed., 1993, pp 53-54.
 48. Montaser, A., Zhang, H., Mass Spectrometry with Mixed-Gas and Helium ICPS *in*: Montaser, A., Inductively coupled plasma mass spectrometry, Wiley-VCH, 1998, pp 810-811
 49. 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, *Spectrochim. Acta B* 62 (2007) 1065-1071.
 50. Moraes, D. P., Pereira, J. S. F., Diehl, L. O., Mesko, M. F., Dressler, V. L., Paniz, J. N. G., Knapp, G., Flores, E. M. M., Evaluation of sample preparation methods for elastomer digestion for further halogens determination, *Anal. Bioanal. Chem.* 397 (2010) 563-570.

51. Müller, A. H., Muller, C., Lyra, F., Mello, P., Mesko, M., Muller, E., Flores, E. M., Determination of toxic elements in nuts by inductively coupled plasma mass spectrometry after microwave-induced combustion, *Food Anal. Method.* 6 (2013) 258-264.
52. 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, *J. Braz. Chem. Soc.* 22 (2011) 1649-1655.
53. Müller, 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, *J. Anal. Atom. Spectrom.* 27 (2012) 1889-1894.
54. Nemati, K., Abu Bakar, N. K., Abas, M. R. B., Sobhanzadeh, E., Low, K. H., Comparative study on open system digestion and microwave assisted digestion methods for metal determination in shrimp sludge compost, *J. Hazard. Mat.* 182 (2010) 453-459.
55. Paula, C. E. R., Caldas, L. F. S., Brum, D. M., Cassella, R. J., Development of a focused ultrasound-assisted extraction method for the determination of trace concentrations of Cr and Mn in pharmaceutical formulations by ETAAS, *J. Pharmaceut. Biomed.* 74 (2013) 284-290.
56. 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, *J. Anal. Atom. Spectrom.* 25 (2010) 1268-1274.
57. 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, *J Chromatogr A* 1213 (2008) 249-252.
58. Pereira, J. S. F., Knorr, C. L., Pereira, L. S. F., Moraes, D. P., Paniz, J. N. G., Flores, E. M. M., Knapp, G., Evaluation of sample preparation methods for polymer digestion and trace elements determination by ICPMS and ICPOES, *J. Anal. Atom. Spectrom.* 26 (2011) 1849-1857.

59. Pereira, J. S. F., Mello, P. A., Duarte, F. A., Santos, M. F. P., Guimarães, R. C. L., Knapp, G., Dressler, V. L., Flores, E. M. M., Feasibility of microwave-induced combustion for digestion of crude oil vacuum distillation residue for chlorine determination, *Energ. Fuels* 23 (2009) 6015-6019.
60. Pereira, J. S. F., Mello, P. A., Moraes, D. P., Duarte, F. A., Dressler, V. L., Knapp, G., Flores, E. M. M., Chlorine and sulfur determination in extra-heavy crude oil by inductively coupled plasma optical emission spectrometry after microwave-induced combustion, *Spectrochim. Acta B* 64 (2009) 554-558.
61. Pereira, J. S. F., Moreira, C. M., Albers, C. N., Jacobsen, O. S., Flores, E. M. M., Determination of total organic halogen (TOX) in humic acids after microwave-induced combustion, *Chemosphere* 83 (2011) 281-286.
62. Pissinati, R., Oliveira, W. P., Enteric coating of soft gelatin capsules by spouted bed: effect of operating conditions on coating efficiency and on product quality, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 55 (2003) 313-321.
63. Quináia, S. P., Nóbrega, J. A., Direct determination of chromium in gelatine by graphite furnace atomic absorption spectrophotometry, *Food Chem.* 64 (1999) 429-433.
64. Raggi, M. A., Re, P. D., Lucchini, F., Parisi, F., Salvi, A., Determination of bromine traces in sodium diclofenac using X-ray fluorescence spectroscopy, *J. Pharmaceut. Biomed.* 8 (1990) 975-978.
65. Robinson, D. I., Control of genotoxic impurities in active pharmaceutical ingredients: A review and perspective, *Org. Process. Res. Dev.* 14 (2010) 946-959.
66. Rudovica, V., Viksna, A., Actins, A., Application of LA-ICP-MS as a rapid tool for analysis of elemental impurities in active pharmaceutical ingredients, *J. Pharmaceut. Biomed.* 91 (2014) 119-122.
67. Salvador, A., Pascual-Martí, M. C., Aragón, E., Chisvert, A., March, J. G., Determination of selenium, zinc and cadmium in antidandruff shampoos by atomic spectrometry after microwave assisted sample digestion, *Talanta* 51 (2000) 1171-1177.

68. Sgraja, M., Blömer, J., Bertling, J., Jansens, P., Experimental and theoretical investigations of the coating capsules with titanium dioxide, *Chem. Eng. J.* 160 (2010) 351-362
69. Sherry Ku, M., Li, W., Dulin, W., Donahue, F., Cade, D., Benameur, H., Hutchison, K., Performance qualification of a new hypromellose capsule: Part I. Comparative evaluation of physical, mechanical and processability quality attributes of Vcaps Plus®, Quali-V® and gelatin capsules, *Int. J. Pharmaceut.* 386 (2010) 30-41.
70. Soylak, M., Tuzen, M., Souza, A. S., Korn, M. G. A., Ferreira, S. L. C., Optimization of microwave assisted digestion procedure for the determination of zinc, copper and nickel in tea samples employing flame atomic absorption spectrometry, *J Hazard. Mater.* 149 (2007) 264-268.
71. Stegemann, S., Hard Gelatin Capsules - Today and Tomorrow, 2002, pp. 5-6.
72. Støvning, C., Jensen, H., Gammelgaard, B., Stürup, S., Development and validation of an ICP-OES method for quantitation of elemental impurities in tablets according to coming US pharmacopeia chapters, *J. Pharmaceut. Biomed.* 84 (2013) 209-214.
73. 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, *Anal. Chim. Acta* 570 (2006) 88-92.
74. Tanner, S. D., Baranov, V. I., A dynamic reaction cell for inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-DRC-MS) II: Reduction of interferences produced within the cell, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 10 (1999) 1083-1094
75. Tanner, S. D., Baranov, V. I., Bandura, D. R., Reaction cells and collision cells for ICP-MS: a tutorial review, *Spectrochim. Acta B* 57 (2002) 1361-1452
76. Tu, Q., Wang, T., Antonucci, V., High-efficiency sample preparation with dimethylformamide for multi-element determination in pharmaceutical materials by ICP-AES, *J. Pharm. Biomed.* 52 (2010) 311-315.

-
77. United States Pharmacopeia Convention, USP, United States Pharmacopeia 35 - National Formulary 30, EUA, 2012.
 78. Vanhaecke, F., Balcaen, L., Deconinck, I., Schrijver, I., Almeida, C. M., Moens, L., Mass discrimination in dynamic reaction cell (DRC)-ICP-mass spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.* 18 (2003) 1060-1065
 79. Zhang, L., Wang, Y., Liu, H., Yu, L., Liu, X., Chen, L., Zhang, N., Developing hydroxypropyl methylcellulose/hydroxypropyl starch blends for use as capsule materials, *Carbohydr. Polym.* 98 (2013) 73-79.