

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

Janaína Chaves Ortiz

**DECOMPOSIÇÃO DE CARBAMAZEPINA EM SISTEMA
FECHADO POR COMBUSTÃO INICIADA POR MICROONDAS
PARA POSTERIOR DETERMINAÇÃO DE Cd, Cu e Pb**

UFSM

Santa Maria, RS - Brasil

2005

**DECOMPOSIÇÃO DE CARBAMAZEPINA EM SISTEMA
FECHADO POR COMBUSTÃO INICIADA POR MICROONDAS
PARA POSTERIOR DETERMINAÇÃO DE Cd, Cu e Pb**

por

JANAÍNA CHAVES ORTIZ

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Química, **Área de Química Analítica**, da Universidade Federal de Santa Maria (RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **MESTRE EM QUÍMICA**

Santa Maria, RS – Brasil 2005

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

A Comissão Examinadora abaixo assinada, aprova a Dissertação de
Mestrado

**DECOMPOSIÇÃO DE CARBAMAZEPINA EM SISTEMA
FECHADO POR COMBUSTÃO INICIADA POR MICROONDAS
PARA POSTERIOR DETERMINAÇÃO DE Cd, Cu e Pb**

elaborada por

Janaína Chaves Ortiz

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

COMISSÃO EXAMINADORA:



Érico Marlon de Moraes Flores- UFSM



Valderi L. Dressler- UFSM



José Neri Gottfried Paniz- UFSM

Santa Maria, 02 de Março de 2005.

Dedico este trabalho

A toda a minha família, principalmente a minha mãe Nelly, que sempre estiveram presentes em todos os momentos da minha vida e principalmente por terem acreditado na minha capacidade de realizar este trabalho, ao meu irmão Gubian que sempre me incentivou.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Maria pela possibilidade de execução do presente trabalho.

Ao Prof. Dr. **Érico M. M. Flores**, pela oportunidade de realização deste trabalho, exemplo como profissional, além da orientação e amizade.

Ao Prof. Dr. **Valderi L. Dressler**, pelo apoio e contribuição durante a execução deste trabalho.

Ao Prof. Dr. **José Neri G. Paniz**, pelas sugestões feitas para o aprimoramento deste trabalho e pela participação como banca examinadora.

Aos amigos do Setor de Química Industrial e Ambiental pela amizade e o companheirismo em todos os momentos. Agradeço especialmente a Ticiane Taflick, por ter colaborado incansavelmente para a conclusão deste trabalho. Agradeço, também, Diego Zeni, Júlio C.P. Mattos, Edson J. Müller, Greice Iop, Luiz E. Kaercher pela ajuda durante todo desenvolvimento deste trabalho. Quero agradecer também a Márcia F. Mesko e ao Juliano S. Barin pela ajuda e pelas sugestões para a elaboração desta dissertação.

SUMÁRIO

| | |
|--|-------------|
| LISTA DE FIGURAS..... | <i>ix</i> |
| LISTA DE TABELAS | <i>xii</i> |
| LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS..... | <i>xiii</i> |
| RESUMO..... | <i>xiv</i> |
| ABSTRACT..... | <i>xv</i> |
| 1. INTRODUÇÃO..... | 1 |
| 2. REVISÃO DA LITERATURA..... | 3 |
| 2.1. DETERMINAÇÃO DE METAIS PESADOS EM PRODUTOS FARMACÊUTICOS..... | 4 |
| 2.2. CARBAMAZEPINA – GENERALIDADES..... | 6 |
| 2.3. DECOMPOSIÇÃO DE AMOSTRAS..... | 8 |
| 2.3.1. Combustão..... | 10 |
| 2.3.1.1. Combustão em sistemas abertos..... | 11 |
| 2.3.1.1.1. Decomposição por via seca em sistema aberto..... | 11 |
| 2.3.1.1.2. Decomposição por via seca a baixas temperaturas com oxigênio excitado..... | 13 |
| 2.3.1.1.3. Combustão em sistema de Wickbold com chama hidrogênio-oxigênio. | 16 |
| 2.3.1.2. Combustão em sistemas fechados..... | 17 |
| 2.3.1.2.1. Frasco de combustão de Schöniger..... | 17 |

| | |
|--|-----------|
| 2.3.1.2.2. Decomposição em sistema fechado por combustão iniciada por microondas..... | 21 |
| 2.3.1.2.3. Bomba de combustão..... | 24 |
| 2.3.1.2.4. Combustão em sistema dinâmico (Trace-O-Mat®)..... | 28 |
| 2.3.2. Decomposição por via úmida..... | 30 |
| 2.3.2.1. Decomposição por via úmida em sistemas abertos..... | 30 |
| 2.3.2.1.1. Sistema aberto com aquecimento por radiação de microondas..... | 31 |
| 2.3.2.2. Decomposição por via úmida em sistemas fechados..... | 35 |
| 2.3.2.2.1. Decomposição pelo Método de Carius..... | 35 |
| 2.3.2.2.2. Decomposição sob pressão em frascos de PTFE com HNO ₃ a temperatura de até 200 °C..... | 36 |
| 2.3.2.2.3. Decomposição com HNO ₃ sob pressão a 300 °C..... | 36 |
| 2.3.2.2.4. Sistema fechado com aquecimento com radiação de microondas..... | 38 |
| 3. MATERIAIS E MÉTODOS..... | 40 |
| 3.1. INSTRUMENTAÇÃO..... | 40 |
| 3.2. Calibração do Forno de microondas..... | 41 |
| 3.3. REAGENTES..... | 41 |
| 3.4. AMOSTRAS..... | 41 |
| 3.5. MATERIAIS DIVERSOS..... | 42 |
| 3.6. PROCEDIMENTOS DE DECOMPOSIÇÃO DA AMOSTRA..... | 42 |
| 3.6.1. Decomposição por via úmida em sistema aberto – Bloco Digestor..... | 42 |
| 3.6.2. Decomposição por via úmida em sistema fechado – Berghof..... | 43 |
| 3.6.3. Decomposição por via úmida assistida por microondas..... | 43 |
| 3.7. PROCEDIMENTO PARA OBTENÇÃO DOS ESPECTROS DE INFRAVERMELHO..... | 45 |
| 3.8. PROCEDIMENTO PARA OBTENÇÃO DOS ESPECTROS DE MASSA..... | 45 |
| 3.9. SISTEMA DE DECOMPOSIÇÃO POR COMBUSTÃO INICIADA POR MICROONDAS..... | 46 |
| 3.10. PREPARO DA AMOSTRA PARA A COMBUSTÃO INICIADA POR MICROONDAS..... | 48 |
| 3.10.1.1. <i>Pellets</i> preparados em prensa hidráulica manual..... | 48 |

| | |
|---|-----------|
| 3.10.1.2. Papel gomado e cápsulas de metilcelulose empregados como invólucro para a amostra..... | 49 |
| 3.10.1.3. <i>Pellets</i> preparados em suspensão de ágar..... | 49 |
| 3.11. DECOMPOSIÇÃO POR COMBUSTÃO INICIADA POR MICROONDAS.... | 50 |
| 3.11.1.1. Determinação do tempo de combustão..... | 51 |
| 3.11.1.2. Taxa de aumento de pressão empregada para o processo de combustão iniciada por microondas para a decomposição de carbamazepina..... | 52 |
| 3.12. TEMPOS DE REPOUSOS E DE REFLUXO..... | 52 |
| | |
| 4. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS..... | 54 |
| 4.1. CALIBRAÇÃO DO FORNO DE MICROONDAS..... | 54 |
| 4.2. DECOMPOSIÇÃO DA CARBAMAZEPINA EM SISTEMAS CONVENCIONAIS..... | 54 |
| 4.3. PREPARO DA AMOSTRA DE CARBAMAZEPINA..... | 61 |
| 4.4. OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE PREPARO DOS <i>PELLETS</i> COM ÁGAR..... | 62 |
| 4.5. ESCOLHA DO INICIADOR DA COMBUSTÃO..... | 64 |
| 4.6. DETERMINAÇÃO DOS TEMPOS DE IGNIÇÃO, COMBUSTÃO E DAS PRESSÕES E TEMPERATURAS MÁXIMAS ATINGIDAS NO SISTEMA.... | 64 |
| 4.7. OTIMIZAÇÃO DO PROCEDIMENTO PARA ADIÇÃO DOS ANALITOS Cd, Cu E Pb NOS <i>PELLETS</i> PREPARADOS COM ÁGAR..... | 66 |
| 4.8. OTIMIZAÇÃO DO PROCEDIMENTO PARA DETERMINAÇÃO DE Cd, Cu E Pb NAS AMOSTRAS DE CARBAMAZEPINA..... | 67 |
| | |
| 5. CONCLUSÃO..... | 73 |
| | |
| 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 75 |
| | |
| 7. ANEXO I..... | 81 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Fórmula estrutural da carbamazepina..... | 6 |
| Figura 2. Sistema de decomposição à baixa temperatura com oxigênio excitado (LTA). (adaptado de Anderson) ⁴ | 14 |
| Figura 3. Sistema de decomposição à baixa temperatura com oxigênio excitado adaptado de Knapp ⁵⁵ (a) sistema durante a combustão e (b) sistema após a combustão e durante o refluxo..... | 15 |
| Figura 4. (A) Sistema de combustão de Wickbold com chama hidrogênio-oxigênio: queimador com sucção para amostras líquidas (B) queimador para amostras sólidas BITC, (C) câmara de combustão com sistema de resfriamento com água e (D) tubo de absorção. A) 1. porção final do queimador; 2. capilar; 3. regulador de PTFE; 4. válvula do tipo “agulha”; 5. introdução da amostra. B) 1. porção final do queimador; 2. capilar interno; 3. câmara de pré-combustão; 4. recipiente de quartzo; 5. aquecimento; 6. câmara de pirólise; 7. tampa (adaptado de Erber <i>et al</i>) ^{20,21} | 17 |
| Figura 5. Frasco de combustão de Schöniger: sistema com ignição (a) elétrica (b) , infravermelha, (c) manual..... | 19 |
| Figura 6. Sistema de decomposição por combustão iniciada por microondas. (adaptado de Barin) ¹⁰ | 21 |
| Figura 7. Bomba de combustão (tradicional bomba calorimétrica) (adaptado de Souza <i>et al</i>) ⁶² | 25 |
| Figura 8. Sistema de decomposição por combustão em sistema dinâmico (Trace-O-Mat [®])..... | 29 |
| Figura 9. (A) Sistema aberto de decomposição por via úmida com aquecimento por microondas Prolabo [®] e (B) frasco normalmente utilizado com condensador..... | 32 |
| Figura 10. Copos de PTFE : fora e dentro do frasco reacional..... | 33 |
| Figura 11. Sistema de decomposição à altas temperaturas (High Pressure Asher – HPA, adaptado de Anton Paar [®])..... | 37 |

| | |
|--|----|
| Figura 12. Rampa de tempo vs. potência aplicada no procedimento 1: (a) 600 W por 10 min; (b) 1000 W por 20 min; (c) 1400 W por 40 min; (d) resfriamento por 20 minutos, (reagente: HNO ₃ 1:1)..... | 44 |
| Figura 13. Rampa de tempo vs. potência aplicada no procedimento 2: (a) 300 W por 10 min; (b) 800 W por 20 min; (c) 1400 W por 40 min; (d) resfriamento por 20 minutos, (reagente: HNO ₃ concentrado + H ₂ O ₂). | 44 |
| Figura 14. Rampa de tempo vs. potência aplicada no procedimento 3: (a) 1400 W por 15 min; (b) resfriamento por 20 minutos, (reagentes: HNO ₃ concentrado; HNO ₃ concentrado + H ₂ O ₂ ; HNO ₃ 1:1; HNO ₃ 1:1 + H ₂ O ₂)..... | 45 |
| Figura 15. Suporte de quartzo utilizado no sistema de combustão iniciada por microondas (adaptado de Mesko). ⁵¹ | 46 |
| Figura 16. Sistema de decomposição por combustão iniciada por microondas (adaptado de Mesko). ⁵¹ | 47 |
| Figura 17. (a) Cilindro para adição da amostra a ser prensada; (b) base do cilindro e (c) pistão para comprimir e remover o <i>pellet</i> | 48 |
| Figura 18. Placa de PTFE com <i>pellets</i> | 50 |
| Figura 20. Solução resultante após decomposição com HNO ₃ em forno de microondas comercial <i>Multiwave 3000</i> [®] | 55 |
| Figura 21. Espectro de massa da carbamazepina antes da decomposição em forno de microondas. | 56 |
| Figura 22. Espectro de massa do produto depois da decomposição incompleta em forno de microondas. | 57 |
| Figura 23. Espectro de infravermelho da amostra de carbamazepina..... | 58 |
| Figura 24. Espectro de infravermelho do produto depois da decomposição incompleta em forno de microondas..... | 59 |

- Figura 25.** Ilustração da solução resultante do procedimento de combustão iniciada por microondas empregando (a) cápsula de papel “Colomy[®]” e (b) cápsula de metilcelulose como invólucro para a amostra, (c) *pellet* de ágar..... 62
- Figura 26.** Perfil do gráfico característico da combustão da amostra de carbamazepina. Barras verticais em cinza representam a potência irradiada de microondas e a linha vermelha representa a variação de pressão interna durante a combustão e a etapa de refluxo..... 66
- Figura 27.** Influência do emprego de H₂O como solução absorvedora na recuperação do Cd, Cu e Pb em diferentes tempos de repouso e refluxo após a combustão..... 68
- Figura 29.** Influência do emprego de HNO₃ 1 mol L⁻¹ como solução absorvedora na recuperação do Cd, Cu e Pb em diferentes tempos de repouso e refluxo após a combustão..... 69
- Figura 30.** Influência do emprego de HNO₃ 7 mol L⁻¹ como solução absorvedora na recuperação do Cd, Cu e Pb em diferentes tempos de repouso e refluxo após a combustão..... 70
- Figura 31.** Influência do emprego de HNO₃ 14 mol L⁻¹ como solução absorvedora na recuperação do Cd, Cu e Pb em diferentes tempos de repouso e refluxo após a combustão..... 70
- Figura 32.** Recuperação do Cd, Cu e Pb empregando o sistema de decomposição por via seca em mufla segundo a Farmacopéia Britânica..... 71

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1. Quantidade mínima de ágar para formação do <i>pellet</i> | 62 |
| Tabela 2. Resultados obtidos com os iniciadores da combustão testados..... | 64 |
| Tabela 3. Condições do sistema de decomposição por combustão iniciada por irradiação de microondas para decomposição de carbamazepina..... | 72 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

1. AAS, espectrometria de absorção atômica, do inglês *Atomic Absorption Spectrometry*
2. ATR, refletância total atenuada, do inglês *Attenuated Total Reflectance*
3. BITC, queimador para amostras sólidas e líquidas que contenham sólidos do sistema de combustão de Wickbold, adaptado de *Bureau International du Technique Chlorine*
4. BP 2001, farmacopéia britânica versão 5.0, 2001, do inglês *British Pharmacopoeia*
5. CFA-C, mistura de aminas terciárias
6. CPA, sistema de decomposição à baixa temperatura com oxigênio excitado, do inglês *Cool Plasma Asher*
7. EP, farmacopéia europeia, do inglês *European Pharmacopoeia*
8. FAAS, espectrometria de absorção atômica com chama, do inglês *Flame Atomic Absorption Spectrometry*
9. FB, Farmacopéia Brasileira 4ª edição, 1988
10. GF AAS, espectrometria de absorção atômica com atomização em forno de grafite, do inglês, *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*
11. GC-MS, cromatografia gasosa com espectrometria de massas, do inglês *Gas Chromatography-mass spectrometry*
12. HPA, sistema de decomposição à altas temperaturas com oxigênio excitado, do inglês *High Pressure Asher*
13. IC, Cromatografia iônica, do inglês *Ionic Chromatography*
14. ICP-OES, espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado, do inglês *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*
15. ICP-MS, espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado, do inglês *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*
16. LTA, sistema de decomposição à baixas temperaturas com oxigênio excitado, do inglês *Low Temperature Ashing*
17. MS, espectrometria de massa, do inglês *Mass Spectrometry*.
18. m/m, massa por massa.
19. PTFE, politetrafluoretileno, teflon®.
20. PFA, perfluoralcóxi.
21. Trace-o-Mat®, nome comercial do sistema de decomposição em sistema dinâmico.
22. v/v, volume por volume.

RESUMO

Neste trabalho foi desenvolvido um procedimento para a decomposição de carbamazepina em sistema fechado por combustão iniciada por microondas. A carbamazepina, é um produto farmacêutico utilizado no tratamento da epilepsia. As decomposições das amostras foram feitas utilizando frascos comerciais, de quartzo, empregados rotineiramente para o preparo de amostras.

Um suporte de quartzo foi adaptado aos frascos de quartzo. Após a amostra ter sido colocada neste suporte, este foi colocado no frasco de quartzo, o qual ficava suspenso na parte superior do frasco. O suporte de quartzo serve, também, como protetor para a tampa do frasco da chama gerada durante a combustão.

Foram testadas diferentes condições para o preparo das amostras da carbamazepina: *pellets* prensados, amostra encapsulada em papel gomado para cigarros e cápsulas de metilcelulose. A preparação de *pellets* foi feita utilizando-se uma suspensão de água, ágar e amostra. Um disco de papel de filtro foi utilizado como auxiliar da combustão, o qual foi colocado na base do suporte de quartzo e adicionada uma quantidade conhecida de solução de nitrato de amônio, utilizada como iniciador da combustão. Após a adição da solução absorvedora o frasco foi fechado, pressurizado e colocado no interior de um forno de microondas comercial. Uma vez iniciada a irradiação com as microondas, o tempo para o início do processo da combustão foi de 4 s e o tempo de queima para 4 amostras de aproximadamente 250 mg, foi de 15 s.

Foram testadas diferentes soluções para a absorção dos analitos: H_2O , HNO_3 0,5 mol L^{-1} , HNO_3 1 mol L^{-1} , HNO_3 7 mol L^{-1} e HNO_3 14 mol L^{-1} . Também foram investigados diferentes tempos de repouso após a combustão: 10, 20 e 30 min e diferentes tempos de refluxo para a solubilização de analitos que possam ter ficado aderidos ao sistema de decomposição, após a combustão (5, 10 e 15 min).

Para avaliar a eficiência do procedimento utilizado na decomposição da carbamazepina por combustão iniciada por microondas, foi feita a adição de três analitos, Cd, Cu e Pb, nos *pellets* e posterior determinação por espectrometria de absorção atômica com chama.

ABSTRACT

In this work, a decomposition procedure was proposed based on sample combustion assisted by microwave radiation. Samples of carbamazepine, a medicine used in the treatment of the epilepsy were used. The decomposition of samples were made using commercial quartz vessels, these are widely used in analytical routine for sample preparation.

A quartz holder was adapted to the quartz vessels. After, the sample is positioned in the holder, this was inserted and stay suspended inside the quartz vessels on the top of vessel. The quartz holder, works as a protection for the cap of vessel from the flame produced by sample combustion.

Three different sample preparation procedures for carbamazepine combustion: as pressed pellets, in cigarette paper capsules, in methyl cellulose capsules and as aqueous slurry with agar. A filter disk of paper was used as combustion auxiliary, it was positioned in the base of sample holder and an adequate volume of the ammonium nitrate solution was added as ignition starter. After the addition of absorber solution and the sample holder the vessels were closed, pressurized and inserted inside the microwave oven. Once started the microwave irradiation, the time necessary for the beginning of the combustion was about 4 s and the time for the combustion process was about 15 s for four test samples with about 250 mg.

Different absorber solutions were evaluated for the analytes: H_2O , HNO_3 0,5 mol L^{-1} , HNO_3 1 mol L^{-1} , HNO_3 7 mol L^{-1} e HNO_3 14 mol L^{-1} . Different repose time after sample combustion were tested: 10, 20 e 30 min and also different reflux times, for dissolving the remained analytes adsorbed in the system after sample combustion (5, 10 e 15 min).

For evaluation of the efficiency of the proposed procedure for carbamazepine decomposition after microwave-assisted combustion, spiked

samples with Cd, Cu and Pb for further flame atomic absorption spectrometry determination was performed.

1. INTRODUÇÃO

A contaminação por metais pesados em produtos farmacêuticos pode ser introduzida de diversas maneiras, como p. ex., através de reagentes, solventes, frascos de reação, tubulações, equipamentos utilizados na síntese do produto, embalagens, etc. Devido à propriedade dos metais de catalisar processos de decomposição de alguns produtos farmacêuticos e, também, devido a seu potencial tóxico, o controle de qualidade, desde os processos intermediários até o produto final, torna-se necessário.

Os métodos oficiais utilizados para o controle de metais pesados em produtos farmacêuticos estão descritos em farmacopéias. No Brasil, além da Farmacopéia Brasileira, têm sido empregadas, rotineiramente, a Farmacopéia Americana e a Farmacopéia Européia. De um modo geral, os testes para a determinação da presença de metais pesados, descritos em todas as farmacopéias, consistem na precipitação destes como sulfetos em solução aquosa e posterior comparação visual com uma solução de referência. Entretanto, para o teste poder ser efetuado, a amostra deve estar em solução o que, freqüentemente, envolvem etapas de preparo da amostra para a eliminação das interferências da matriz e adequação do analito para a etapa posterior de determinação. Rotineiramente, os métodos farmacopeicos empregados para o preparo de amostras envolvem metodologias clássicas de decomposição, tais como as técnicas de decomposição por via seca em mufla. Posteriormente a este procedimento, o resíduo é dissolvido em água ou solução ácida, sendo efetuado o ajuste do pH, antes da etapa de determinação. Alternativamente, tem sido proposto, também há o emprego de decomposição por via úmida em sistema aberto,²² não acompanhando o desenvolvimento evidenciado na literatura nesta área uma vez que estes procedimentos são, na maioria das vezes, morosos, com grande possibilidade de contaminação e de perdas de analito.

²²Farmacopéia Brasileira, (1988) 4ª Edição, Parte I.

Dentre todas as operações analíticas, a etapa de pré-tratamento das amostras é a mais crítica. Em geral é nesta etapa que se cometem mais erros e que se gasta mais tempo. É, também, a etapa de maior custo e, por isso, deve ser sempre cuidadosamente considerada. Em resumo, o pré-tratamento das amostras pode governar a precisão e a exatidão dos resultados obtidos e o tempo total envolvido na análise.⁴¹ Atualmente, o estado da arte em decomposição de amostras preconiza o uso de sistemas fechados com aquecimento por irradiação de microondas. Desta forma, é possível a realização da etapa de preparo de amostras de maneira rápida, eficiente e segura, pelo fato de que com o emprego destas técnicas, há o controle das pressões e temperaturas envolvidas em todo o processo, bem como da potência irradiada.

Recentemente, tem sido proposta a decomposição de amostras biológicas⁵¹ e de produtos farmacêuticos¹⁰ empregando sistema fechado por combustão iniciada por microondas, o que permite unir as vantagens associadas à decomposição assistida por microondas com os procedimentos de combustão. Este procedimento possibilitou que amostras de difícil decomposição pudessem ser decompostas em poucos minutos, e as soluções resultantes apresentando baixos teores de carbono residual.

Com base na importância da etapa de decomposição de amostras, neste trabalho foi investigada a eficiência de técnicas clássicas de decomposição por via úmida, em sistema aberto (bloco digestor) e em sistemas fechados (Berghof e forno de microondas) para as amostras de carbamazepina. Tendo em vista problemas referentes à decomposição empregando essas técnicas, neste trabalho é proposto um procedimento de decomposição de amostras de carbamazepina por combustão em recipiente fechado assistida por microondas e posterior determinação de Cd, Cu e Pb por espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS). Foram investigados diversos parâmetros: preparação de *pellets* (prensados ou com ágar), cápsulas (metilcelulose ou papel), massa de papel utilizada e efeitos de diferentes soluções absorvedoras.

⁴¹ KRUG, F.J., Apostila "Métodos de Decomposição de Amostras" V Workshop sobre Preparo de Amostras, 18 a 22 de Outubro de 2004, São Paulo – SP, 5ª ed., 4 e 5.

¹⁰ BARIN, J.S. Dissertação de mestrado, Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Farmacêuticas, UFSM, Santa Maria/RS, 2003.

⁵¹ MESKO, M.F., Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-graduação em Química, UFSM, Santa Maria/RS, 2004.

2. REVISÃO DA LITERATURA

A revisão bibliográfica aqui apresentada, está subdividida em três partes. Na primeira parte serão abordados os seguintes assuntos: a contaminação por metais pesados em produtos farmacêuticos, métodos oficiais para controle de metais pesados em produtos farmacêuticos e a determinação de metais presentes nestes produtos. Na segunda parte serão abordadas algumas generalidades da carbamazepina e na terceira parte, buscou-se revisar os procedimentos envolvendo combustão e decomposição por via úmida.

A descrição e comentários dos trabalhos revistos foram feitos salientando-se, quando possível, os aspectos relacionados com a análise de amostras com vistas à determinação de metais. Esta escolha foi feita em virtude do sistema permitir o preparo de amostras para a posterior determinação de metais.

2.1. DETERMINAÇÃO DE METAIS PESADOS EM PRODUTOS FARMACÊUTICOS

Os testes para a determinação da presença de metais pesados na Farmacopéia Brasileira (FB) são similares aos da Farmacopéia Americana, Farmacopéia Européia (EP), Farmacopéia Britânica (BP), entre outras. De um modo geral, em todas as farmacopéias os testes descritos para a determinação da presença de metais pesados consistem na precipitação destes como sulfetos metálicos em solução aquosa, comparando o precipitado formado frente ao precipitado de uma solução de chumbo de concentração conhecida. Embora existam alguns testes específicos para determinados elementos, tais como, chumbo, mercúrio, níquel, o teste geral tem sido o mais recomendado.

Muitas vezes, dependendo do tipo de amostra, esta pode não ser solúvel em água ou solventes, mas a obtenção de uma solução aquosa é necessária para a realização do teste. Por isso, há a necessidade de se fazer decomposição das amostras.¹⁰ Segundo os testes farmacopeicos, “*Ensaio-Limite para Metais Pesados*”, após o ajuste de pH é feita a adição de sulfeto de hidrogênio recentemente preparado ou tioacetamida. Após a precipitação, é feita a comparação visual com a solução de referência, o que muitas vezes torna difícil à comparação, pois fatores tais como, analista e percepção visual, podem algumas vezes conduzir a resultados equivocados em um ensaio de extrema importância como este. Além disso, a cor dos sulfetos formados não é uma informação precisa de qual íon está presente. De acordo com a Farmacopéia Americana, os elementos que tipicamente respondem ao teste são Ag, As, Bi, Cd, Cu, Hg, Mo, Pb, Sb e Sn.

Apesar destes testes serem aceitos e amplamente utilizados pela indústria farmacêutica, se for levada em consideração à baixa seletividade e sensibilidade, observa-se que estes ensaios não são adequados para a determinação de contaminantes presentes em baixas concentrações. Como alternativa, podem ser empregadas técnicas instrumentais mais adequadas para a determinação quantitativa de metais em produtos farmacêuticos que forneçam resultados rápidos, precisos e, principalmente, confiáveis.⁸

⁸ABARCA, A., *et al.*, J. Pharm. Biomed. Anal. 25 (2001) 103-108.

⁹ANDERSON, R., Sample pretreatment and separation, analytical chemistry by open learning, John Wiley & Sons, New York (1987).

Uma das alternativas é o emprego das técnicas de espectrometria de absorção atômica (AAS), espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), entre outras.

Embora as farmacopéias apresentem, em poucas monografias o emprego da AAS, esta técnica tem sido a mais utilizada para determinação de metais em diferentes amostras. As determinações são, geralmente, feitas por AAS com atomização em chama (FAAS) quando as concentrações de analito estiverem na ordem de mg g^{-1} , ou por AAS empregando-se um forno de grafite (GF AAS) como atomizador, quando as concentrações de analito estão na ordem de $\mu\text{g g}^{-1}$.

Ahsan e colaboradores² encontraram entre 0,28 e 1,53 $\mu\text{g g}^{-1}$ de Pb em amostras de suplemento de cálcio. Em outro trabalho, Ahsan e colaboradores³ encontraram entre 8,31 e 96 $\mu\text{g g}^{-1}$ de Cd em amostras de suplemento de cálcio. Arab-Abou e Abou Donia⁶ encontraram, em amostras de plantas medicinais coletadas de mercados egípcios, concentrações de Pb que variaram de 1,13 a 14,4 $\mu\text{g g}^{-1}$. Para Cd as concentrações variaram entre 10,6 a 2,44 $\mu\text{g g}^{-1}$ e as concentrações de Cu variaram de 1,8 a 11,0 $\mu\text{g g}^{-1}$. Em amostras de condimento estes autores encontraram concentrações de Pb que variaram de 1,1 a 6,4 $\mu\text{g g}^{-1}$ e a concentração de Cu variou de 2,78 a 11,4 $\mu\text{g g}^{-1}$. Foram encontradas concentrações de 6,19 $\mu\text{g g}^{-1}$ de Pb, 1,3 $\mu\text{g g}^{-1}$ de Cd e 8,88 $\mu\text{g g}^{-1}$ Cu em amostras de camomila. Em amostras de açafreão foram encontradas concentrações de 11,3 $\mu\text{g g}^{-1}$ de Cu. Caldas e Machado¹⁴ determinaram Pb em amostras de plantas medicinais consumidas no Brasil e revelaram teores de 1480 $\mu\text{g g}^{-1}$ e concentrações de Cd entre 0,22 e 0,74 $\mu\text{g g}^{-1}$.

² AHSAN, S. *et al.*, *Anal. Chim. Acta* 362 (1997) 279- 284.

³ AHSAN, S.b *et al.*, *Talanta* 48 (1999) 63-69.

⁶ ARAB-ABOU, A. A. K., ABOU DONIA, M. A., *J. Agric. Food Chem.* 48 (2000) 2300-2304.

¹⁴ CALDAS, E. D., MACHADO, L. L., *Food and Chem. Toxicol.* 42 (2004) 599-603.

2.2. CARBAMAZEPINA: GENERALIDADES

Nos anos 60, a carbamazepina (5 *H*-Dibenz [b,f] azepina –5 carboxiamida) foi sintetizada pelos pesquisadores da Geigy Colour Company Ltd. (atual Novartis Pharmaceuticals Division), na busca de se encontrar um composto tricíclico com propriedades antipsicóticas semelhantes a clorpromazina, que era comercializada.¹⁸ A matéria-prima é um pó cristalino, cor branca a branco-amarelada, inodoro, praticamente insolúvel em água, facilmente solúvel em cloreto de metileno, solúvel em clorofórmio e metanol, ligeiramente solúvel em acetona e em etanol e muito pouco solúvel em éter. A faixa de fusão situa-se entre 189 e 193 °C, tendo a fórmula molecular C₁₅H₁₂N₂O.²² A fórmula estrutural é mostrada na Fig. 1.

A carbamazepina apresenta bons resultados para o controle do transtorno afetivo bipolar, sendo que, a dose recomendada varia entre 400 e 800 mg por dia. A droga é metabolizada por oxidação hepática na forma de 10,11-dihidróxido, que é eliminada na urina. É rapidamente absorvida para a circulação sanguínea, onde se encontra, preferencialmente, ligada a proteínas (60 a 80%).¹⁸

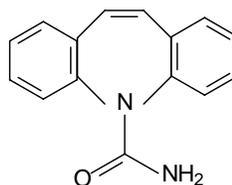


Figura 1. Fórmula estrutural da carbamazepina²²

A carbamazepina é um dos medicamentos mais usados no mundo para controlar crises parciais de epilepsia. No Brasil, comercializa-se cerca de US\$ 23 milhões/ano, segundo dados da Biosintética Farmacêutica Ltda.¹⁷ A matéria-prima que antes era comprada no mercado internacional, hoje é produzida no Brasil.

¹⁸ Com Ciência - Epilepsia www.comciencia.br/reportagens/epilepsia/ep26.htm - 46k acessado em 18/08/04.

²² Farmacopéia Brasileira, (1988) 4ª Edição, Parte I.

¹⁷ Com Ciência – Epilepsia – <http://www.comciencia.br/reportagens/epilepsia/ep05.htm> acessado em 11/01/2004.

A fabricação da matéria-prima é feita pela empresa brasileira Nortec Química-Desenvolvimentos Tecnológicos LTDA, com tecnologia desenvolvida pelos pesquisadores do Instituto de Tecnologia em Fármacos - Far-Manguinhos, que é responsável pela produção final do medicamento a qual produz anualmente 43 milhões de comprimidos de carbamazepina. A produção é adquirida, principalmente, pelas Secretarias Estaduais de Saúde do Rio de Janeiro e Bahia, além do Hospital Psiquiátrico Phillipe Pinel (do Rio de Janeiro).¹⁷

¹⁷ Com Ciência – Epilepsia – <http://www.comciencia.br/reportagens/epilepsia/ep05.htm> acessado em 11/01/2004.

2.3. DECOMPOSIÇÃO DE AMOSTRAS

Anteriormente à etapa de determinação da concentração do analito, torna-se necessário submeter algumas amostras a um tratamento adequado visando sua preparação para os passos subseqüentes da análise. A maneira de se decompor a amostra para análise depende da sua natureza, do elemento a ser determinado, do método de análise e da precisão e exatidão desejada. A grande maioria das técnicas analíticas utilizadas para determinações de elementos em amostras inorgânicas requer que a amostra esteja na forma de uma solução aquosa. Assim, geralmente, faz-se necessário à transformação dos elementos de interesse da matriz orgânica em uma forma inorgânica simples. Na maioria dos casos os elementos de interesse ficam dissolvidos em uma solução aquosa.

Existem técnicas disponíveis para a determinação de elementos individuais em uma matriz orgânica, sem a necessidade de conversão preliminar em uma forma inorgânica, tais como análise por ativação neutrônica e espectrometria de fluorescência de raios-X, embora, estas técnicas não sejam encontradas na maioria dos laboratórios analíticos.⁴²

As técnicas de decomposição que tem sido utilizadas são, normalmente, restritas às técnicas de fusão, decomposição por via seca e decomposição por via úmida com aquecimento convencional, sendo que, estes procedimentos são, na maioria das vezes morosos, com grande probabilidade de contaminação e perdas do analito de interesse.

⁴²LAMBLE, K.J., HILL, S.J., *Analyst* 123 (1998) 103R-133R.

Nesta revisão, será dada maior ênfase aos procedimentos de combustão envolvendo o sistema de Schöniger e o sistema de bomba de combustão, devido a maior similaridade com o procedimento aqui desenvolvido. Os procedimentos de decomposição por via úmida serão apresentados e discutidos, dando preferência aos procedimentos em sistemas fechados e, no caso de sistemas abertos, àqueles assistidos por microondas. Cabe ressaltar que, os demais sistemas, apesar de empregados em rotina, não foram igualmente comentados pelo fato da extensa literatura disponível que documenta os fundamentos e aplicações destes procedimentos.^{4,12}

Classificação dos procedimentos de decomposição³⁷

Combustão

- ✓ Em sistemas abertos
 - Por via seca em sistema aberto
 - À baixa temperatura com oxigênio excitado
 - Combustão de Wickbold com chama hidrogênio-oxigênio
- ✓ Em sistemas fechados
 - Frasco de combustão (Schöniger)
 - Bomba de combustão
- ✓ Em sistema dinâmico
 - Trace-o-Mat[®]

⁴ANDERSON, R., Sample pretreatment and separation, analytical chemistry by open learning, John Wiley & Sons, New York (1987) 1-8, 97-99.

¹²Bock, R., *A handbook of decomposition methods in analytical chemistry*, T&A Constable Ltda, Edinburgh (1979).

³⁷KNAPP, G., *Mikrochim. Acta* [Wien] II (1991) 445-455.

Decomposição por via úmida

- ✓ Em sistemas abertos
 - Com aquecimento convencional
 - Com aquecimento com microondas
- ✓ Em sistemas fechados
 - Com aquecimento convencional (High Pressure Asher[®])
 - Com aquecimento com microondas

2.3.1. COMBUSTÃO

Os métodos que envolvem procedimentos de combustão, geralmente estão ligados a ação direta do oxigênio como oxidante da matéria orgânica, o que difere dos procedimentos por via úmida que utilizam ácidos inorgânicos. Com o emprego do oxigênio na decomposição de amostras orgânicas, um dos pontos positivos é devido a sua pureza, pois este apresenta teores mínimos de elementos como contaminantes.

Com a oxidação da matriz, o carbono é convertido em CO₂, o hidrogênio em H₂O e o nitrogênio em óxidos de nitrogênio ou N₂. Os outros elementos permanecem em formas inorgânicas convenientes para análise.

Dentre as técnicas de decomposição de natureza oxidativa, estas podem ser sistemas abertos ou fechados, tais como: via seca em fornos tipo mufla, frasco de combustão de Schöniger, bomba de combustão, dentre outras.⁴¹

A seguir serão apresentadas as características de cada técnica individualmente.

⁴¹ KRUG, F.J., Apostila "Métodos de Decomposição de Amostras" V Workshop sobre Preparo de Amostras, 18 a 22 de Outubro de 2004, São Paulo – SP, 5ª ed. p. 52.

2.3.1.1. Combustão em sistemas abertos

2.3.1.1.1. Decomposição por via seca em sistema aberto

A decomposição por via seca está baseada na queima da fração orgânica da amostra com oxigênio do ar, onde o resíduo inorgânico obtido na forma de cinzas é solubilizado posteriormente em ácido diluído. Esta técnica é muito utilizada no preparo de amostras de natureza orgânica. O procedimento consiste da adição da amostra em um cadinho (porcelana, quartzo, etc.), que é aquecido até que o material orgânico seja queimado, resultando apenas um resíduo inorgânico não volátil. O agente oxidante é o oxigênio e o resíduo proveniente da queima consiste de óxidos de metais, assim como sulfatos não voláteis, fosfatos, silicatos e outros mais.⁴¹

Deve-se ressaltar que, embora esta técnica seja relativamente simples, há algumas limitações pelo fato de que alguns elementos podem ser convertidos em formas voláteis e perdidos parcial ou completamente.

O procedimento é conduzido em forno tipo mufla onde ocorre a combustão e/ou pirólise da amostra e as temperaturas empregadas freqüentemente estão entre 450 e 550 °C.³¹ As perdas por volatilização tornam-se mais severas em temperaturas superiores a estas. Entre os elementos propensos a volatilização no forno estão As, Ge, Se, Sb, Sn. Além disso, Cd, Pb, Zn e Co são voláteis como cloretos ou brometos.³²

Outra limitação é que, em alguns casos, a amostra pode reagir com o material do cadinho. Se o material for de sílica ou porcelana, o elemento pode ficar aderido nas paredes do cadinho. Silicatos, fosfatos e óxidos combinam-se facilmente com o esmalte dos cadinhos de porcelana, e por esta razão é preferível trabalhar com cadinhos de quartzo ou platina. Há, também, a possibilidade de perdas da amostra como aerossol líquido, perdas da amostra como espuma, alto risco de contaminação pelo fato de estar exposto ao ambiente e algumas cinzas são de difícil dissolução.³⁴

⁴¹ KRUG, F.J., Apostila "Métodos de Decomposição de Amostras" V Workshop sobre Preparo de Amostras, 18 a 22 de Outubro de 2004, São Paulo – SP, 5ª ed., p. 58.

³¹HOENIG, M. *et al.*, *Anal. Chim. Acta* 358 (1998) 85-94.

³² IYENGAR, G.V., *et al.*, *Element analysis of biological samples – Principles and Practice*, CRC Press, Boca Raton, New York (1997).

³⁴JOHREM, L., *Microchim. Acta.* 119 (1995) 211-218.

Em alguns casos, os procedimentos de decomposição podem ser mais eficientes com o emprego de aditivos nas amostras antes do processo de decomposição. Estes aditivos levam a uma aceleração na oxidação, prevenindo a volatilização de certos componentes das cinzas e prevenindo reações entre os componentes da cinza e o material do cadinho. Os oxidantes mais comumente empregados são ácido nítrico ou nitrato de magnésio, adicionados como soluções concentradas em água. Ácido sulfúrico pode ser empregado para minimizar perdas por volatilização, como no caso do PbCl_2 e CdCl_2 .⁴¹

De um modo geral, podem-se citar como principais vantagens destes procedimentos a relação favorável entre massa de amostra e volume final; requer pouca atenção do operador; não requer o uso de ácidos concentrados.

A decomposição por via seca em mufla é um dos procedimentos de decomposição de amostras mais simples. O equipamento empregado é simples e barato, e os materiais utilizados podem ser cadinhos de porcelana, quartzo, platina e zircônio. Pode-se decompor grandes quantidades de amostras (> 10 g). Existem muflas com capacidade para um grande número de cadinhos, permitindo, desta forma, a decomposição de várias amostras simultaneamente. Os teores de matéria orgânica residual, geralmente, são inferiores a 0,1% (m/m).

Algumas desvantagens podem ser citadas empregando este procedimento, como: perdas de elementos por volatilização; perdas de amostra como aerossol sólido; perdas de amostra como espuma; alto risco de contaminação e algumas cinzas são de difícil dissolução.⁴⁰ Atualmente estão disponíveis no mercado muflas com sistema de aquecimento por radiação microondas com uma elevada taxa de aquecimento.¹⁵

⁴¹ KRUG, F.J., Apostila "Métodos de Decomposição de Amostras" V Workshop sobre Preparo de Amostras, 18 a 22 de Outubro de 2004, São Paulo – SP, 5ª ed., p. 62.

⁴⁰ KRUG, F. J., Apostila "Métodos de Decomposição de Amostras" IV Workshop sobre Preparo de Amostras, 22 a 25 de Abril de 2003, Salvador – BA, 4ª ed., p. 52.

¹⁵ CEM Innovators in microwave technology, <http://www.cem.com/pages/arwv.htm>, acessado em 20/01/2005.

2.3.1.1.2. Decomposição por via seca a baixas temperaturas com oxigênio excitado

Com a utilização de um plasma contendo radicais oxigênio e oxigênio excitado, há a possibilidade de se decompor amostras em baixas temperaturas. O plasma é produzido em um sistema à baixa pressão de oxigênio aplicando-se um campo magnético de alta frequência (geralmente indutivamente acoplado) ou radiação microondas. A amostra é adicionada em um sistema em que espécies que não reagiram com o oxigênio e ozônio, são retiradas através de sucção realizada por uma bomba de vácuo. As perdas de elementos voláteis são evitadas pela utilização de um sistema de resfriamento com circulação de água. O calor produzido ocorre por meio de reações de oxidação exotérmicas sendo que a temperatura, geralmente, não ultrapassa 150 °C. Por este motivo, esta técnica é conhecida por decomposição à baixa temperatura. Deve-se levar em consideração que a decomposição da amostra é dependente da superfície de contato entre a reação de um sólido e um gás.⁴⁰

O sistema da Fig. 2 é conhecido como *Low Temperature Ashing* (LTA), e emprega fonte de radiofrequência de 13,56 MHz e potência de até 300 W. Neste equipamento, um fluxo de O₂ passa através de um tubo de sílica à baixa pressão (1-5 torr). Ao redor do tubo fixa-se uma bobina com fio de metal, através do qual passa uma corrente elétrica alternada com uma frequência de 13,56 MHz (radiofrequência). Neste campo eletromagnético, o oxigênio molecular é convertido em um plasma muito reativo contendo átomos de oxigênio excitado, radicais livres íons e elétrons livres. Os produtos voláteis da combustão e o excesso de oxigênio são purgados em direção a um módulo de exaustão.⁵⁶

⁴⁰ KRUG, F. J., Apostila "Métodos de Decomposição de Amostras" IV Workshop sobre Preparo de Amostras, 22 a 25 de Abril de 2003, Salvador - BA, 4ª ed., p. 59-60.

⁵⁶RAPTIS, S.E., *et al.*, *Fresenius Z. Anal. Chem.* 316 (1983) 482-487.

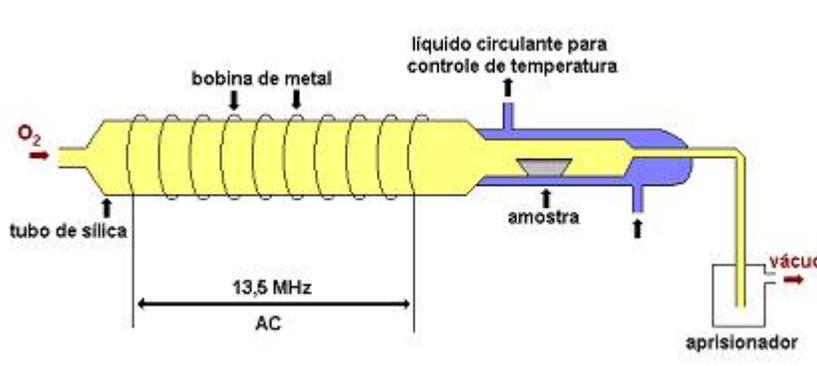


Figura 2. Sistema de decomposição à baixa temperatura com oxigênio excitado (LTA). (adaptado de Anderson⁴)

Raptis e colaboradores⁵⁶ desenvolveram um sistema de decomposição de amostras à baixa temperatura com oxigênio excitado denominado *Cool Plasma Asher* (CPA) (Fig. 3). O sistema é construído de quartzo, onde as amostras são decompostas à baixa temperatura com oxigênio excitado. O plasma é gerado por indução utilizando-se um gerador de 27,12 MHz e empregando uma potência entre 20 e 40 W. Com este sistema, até 1 g de amostra pode ser decomposta, empregando-se uma vazão de 4 L h⁻¹. Para que haja uma constante renovação da camada de sólido com o plasma, utiliza-se uma barra magnética encapsulada com quartzo, para evitar possível contaminação. Após a decomposição da amostra, coloca-se um condensador na parte superior do sistema e põe-se em refluxo com, aproximadamente, 2 mL de um ácido apropriado. Desta forma, alguns elementos que possam ter ficado adsorvidos nas paredes do sistema, podem ser solubilizados no meio ácido.⁵⁶

A temperatura atingida durante a decomposição, depende amplamente da potência elétrica, da pressão de oxigênio e da natureza da amostra. Por exemplo, amostras de tecido animal atingem, aproximadamente, 160 °C, amostras de planta atingem, aproximadamente, 150 °C.

⁴ ANDERSON, R., *Sample pretreatment and separation, analytical chemistry by open learning*, John Wiley & Sons, New York (1987) 1-8, 97-99.

⁵⁶ RAPTIS, S.E., *et al.*, *Fresenius Z. Anal. Chem.* 316 (1983) 482-487.

Em virtude das baixas temperaturas, as perdas por volatilização e as interações com os frascos de reação são sensivelmente diminuídas. Uma séria desvantagem é que a baixa pressão de oxigênio implica em uma velocidade de combustão muito lenta, levando-se horas e até dias para queimar 1 g de amostra. Geralmente a decomposição de 1 g de amostra leva 6 horas.

Amostras com alto teor de cinzas são difíceis de decompor empregando este sistema, pelo fato de que o oxigênio excitado não atinge o centro da amostra, a não ser que se agite mecanicamente a mesma ou o processo deve ser interrompido, periodicamente, para quebrar as cinzas com um bastão de platina.⁴¹

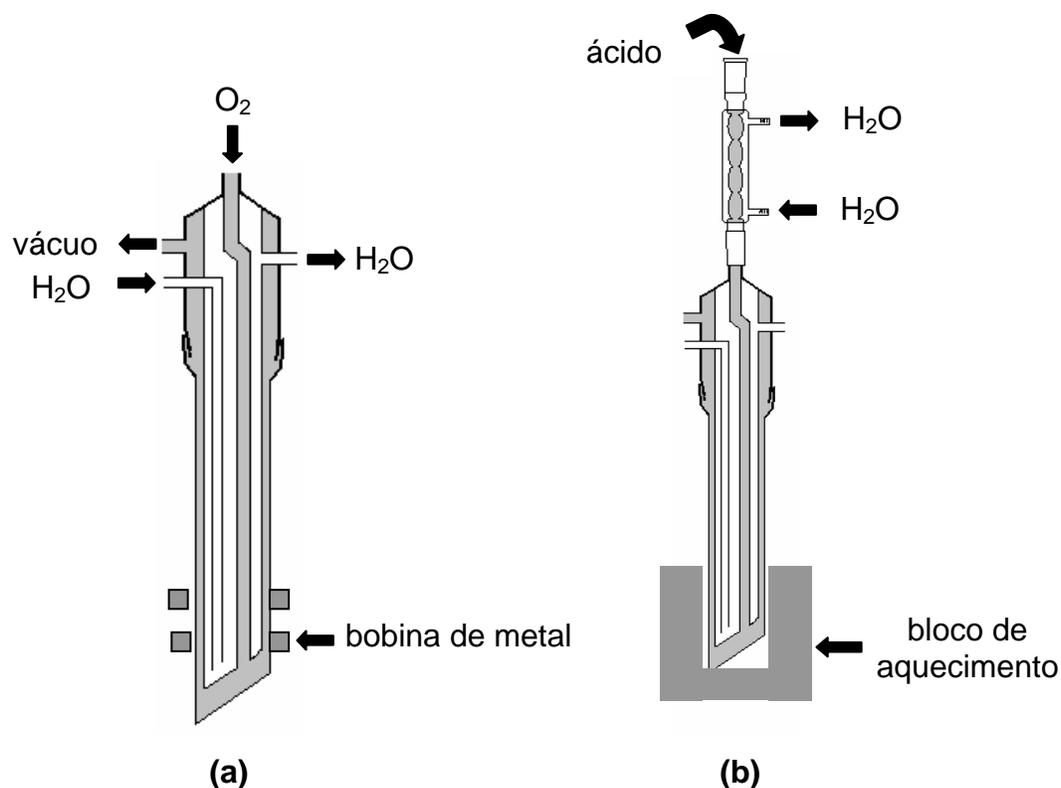


Figura 3. Sistema de decomposição à baixa temperatura com oxigênio excitado (a) sistema durante a combustão e (b) sistema após a combustão e durante o refluxo (adaptado de Knapp⁵⁶).

⁴¹ KRUG, F.J., Apostila "Métodos de Decomposição de Amostras" V Workshop sobre Preparo de Amostras, 18 a 22 de Outubro de 2004, São Paulo – SP, 5ª ed., p. 72.

⁵⁶ RAPTIS, S.E., et al., *Fresenius Z. Anal. Chem.* 316 (1983) 482-487.

2.3.1.1.3 Combustão em Sistema de Wickbold com chama hidrogênio-oxigênio

O método de decomposição de Wickbold⁶⁵ foi desenvolvido em 1952, e consiste de um sistema em que a amostra é queimada em uma chama, composta por uma mistura de aproximadamente 50% (v/v) de oxigênio e hidrogênio, atingindo temperatura maior que 2000 °C. Líquidos e gases podem ser introduzidos diretamente na chama. Deve-se ressaltar que, no caso de amostras sólidas, uma etapa de pirólise pode ser necessária que pode ser feita em uma unidade de pré-combustão e antes do transporte para a chama.

O sistema de combustão de Wickbold pode ser dividido em três partes principais: queimador, câmara de combustão com sistema de resfriamento com água e tubo de absorção (Fig. 4). Na câmara de combustão, os produtos são condensados em uma superfície de quartzo. Com a aplicação de vácuo através do tubo de absorção os produtos gasosos que ficam retidos no sistema e após a decomposição são retirados.

O queimador para amostras sólidas BITC (*Bureau International du Technique Chlorine*) emprega um recipiente de quartzo para acondicionamento da amostra conforme mostrado na Fig. 4 (b). A amostra é volatilizada do recipiente e introduzida na chama (até 1100 °C) na unidade de pré-combustão. Líquidos inflamáveis podem ser introduzidos no sistema diretamente, mas para líquidos viscosos, não inflamáveis e aquosos podem ser necessários diluições com volumes iguais de acetona e metanol.⁵⁰

⁶⁵WICKBOLD, R., *Angew. Chem.* 64 (1952) 133-135.

⁵⁰Mercury Analysis Working Party of BITC, *Anal. Chim. Acta* 84 (1976) 231-257.

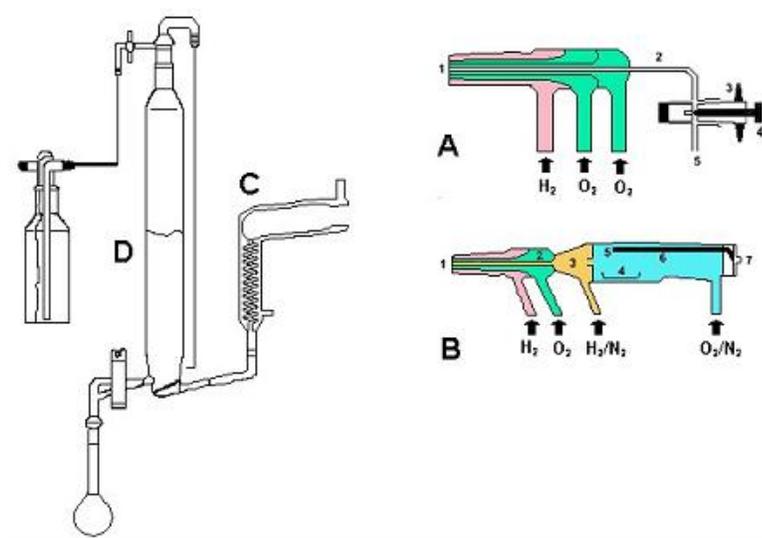


Figura 4. (A) Sistema de combustão de Wickbold com chama hidrogênio-oxigênio: queimador com sucção para amostras líquidas (B) queimador para amostras sólidas BITC, (C) câmara de combustão com sistema de resfriamento com água e (D) tubo de absorção. **A)** 1. porção final do queimador; 2. capilar; 3. regulador de PTFE; 4. válvula do tipo “agulha”; 5. introdução da amostra. **B)** 1. porção final do queimador; 2. capilar interno; 3. câmara de pré-combustão; 4. recipiente de quartzo; 5. aquecimento; 6. câmara de pirólise; 7. tampa. (adaptado de Erber *et al.*^{20,21})

2.3.1.2. COMBUSTÃO EM SISTEMAS FECHADOS

2.3.1.2.1 Frasco de combustão de Schöniger

A técnica do frasco de combustão para decomposição de materiais orgânicos foi introduzida, primeiramente por Hempel²⁹ em 1892. A técnica de Hempel consistiu da ignição elétrica de 0,5 g de amostra de carvão e outros materiais em uma cesta de platina suspensa em um frasco de 10 L, o qual foi preenchido com oxigênio.⁵⁷

²⁰ ERBER, D. *et al.*, *Fresenius J. Anal. Chem.* 346 (1993) 420-425.

²¹ ERBER, D. *et al.*, *Fresenius J. Anal. Chem.* 349 (1994) 502-509.

⁵⁷ REILLEY, C.N.; MACDONALD, A. M. G., *Advances in Analytical Chemistry and Instrumentation, the Oxygen-Flask Method*, vol. 4, 76-88, John Wiley & Sons, Inc, 1965.

²⁹ HEMPEL, W., *Z. Angew. Chem.*, 393 (1892).

Em 1955, Schöniger⁵⁷ apresentou a técnica do frasco de combustão para decomposição de materiais orgânicos, o qual pode ser aplicado em microescala com exatidão semelhante aos procedimentos clássicos para microanálises. Um fator importante desta técnica é a escolha da solução absorvedora, pois esta deve ser utilizada de acordo com os analitos que se deseja determinar, levando em consideração a técnica que se vai utilizar para detecção destes. A amostra (envolvida em papel com baixo teor de cinzas) e a solução absorvedora devem estar confinadas em um frasco adequado, com oxigênio suficiente para a completa combustão. Este processo é simples e é completado em alguns segundos, desde a ignição até a decomposição completa da amostra.

Lau e colaboradores⁴³ (1982) utilizaram a técnica do frasco de combustão no preparo de amostras de plantas para posterior determinação da concentração de selênio a qual foi feita empregando a técnica de AAS com aprisionamento de átomos (*atom trapping*). As amostras foram comprimidas na forma de *pellets* com massas de aproximadamente 2 g, e transferidos para uma barqueta de sílica onde foram, posteriormente, queimados usando um frasco de Schöniger, com capacidade de 5 L. A solução absorvedora foi ácido acético em concentrações que variaram de 2 a 4 mol L⁻¹. As recuperações obtidas após adição de analito variaram de 78 a 86% para um volume de 10 mL e entre 90 e 94% para volume de 25 mL de solução absorvedora.

Cabe ressaltar, que a capacidade dos frascos utilizada para a combustão varia entre 25 mL e 10 L, mas os mais utilizados são frascos de borossilicato de 250 ou 300 mL para massas de amostras em torno de 25 mg. Já para amostras com massas entre 50 e 60 mg é necessária a utilização de frascos com capacidade mínima de 500 mL.

O processo de ignição pode ser elétrico, com lâmpada de radiação infravermelha focada ou manual (Fig. 5), levando-se em consideração que as duas primeiras são mais seguras, pois, estas são realizadas em um sistema fechado e a ignição é automática.

⁵⁷ REILLEY, C.N.; MACDONALD, A. M. G., *Advances in Analytical Chemistry and Instrumentation, the Oxygen-Flask Method*, vol. 4, 76-88, John Willey & Sons, Inc, 1965.

⁴³ LAU, C.M., *et al.*, *Anal. Chim. Acta* 141 (1982) 213-224.



Figura 5. Frasco de combustão de Schöniger: sistema com ignição (a) elétrica¹⁹ (b), infravermelha¹⁶, (c) manual.

Entretanto, para massas de amostras superiores a 100 mg são recomendados frascos com capacidade mínima de 1000 mL. Deve-se considerar que para determinações de fluoreto e silício, os frascos de borossilicato podem causar problemas relacionados à adsorção de analitos. Então, para minimizar possíveis interações dos analitos com o frasco, podem ser utilizados frascos de polietileno na determinação de silício.¹³ No caso da determinação de fluoretos pode-se empregar frascos de quartzo ou policarbonato.⁴⁵

Murayama e colaboradores⁵³ (1989) empregaram a técnica do frasco de Schöniger para decomposição de amostras de produtos farmacêuticos. Após a decomposição, foi feita a determinação de Se por cromatografia iônica (IC). Aproximadamente 50 mg de amostra foram pesadas em papel de filtro, sendo que o volume do frasco de combustão utilizado foi de 500 mL. Como suporte da amostra foi empregada uma cesta de platina como solução absorvedora, foram utilizados 10 mL de uma solução de ácido nítrico 0,7%. Após a combustão, a amostra foi retirada do frasco e este foi lavado com água. Na solução resultante, foram adicionadas algumas gotas de permanganato de potássio 20 mol L⁻¹ até o aparecimento da cor púrpura. A solução foi evaporada até a secura (aproximadamente 1 mL) em uma chapa de aquecimento (140 °C), e ao resíduo remanescente foram adicionados 10 mL de água.

¹⁶Microanalytical Laboratory-<http://chemweb.ucc.ie/Micro.htm> acessado em 10/02/2005.

¹⁹Elementar Americas Inc. <http://www.chnos.com/mikro-k4.htm>, acessado em 10/02/2005.

¹³BURROUGHS, J.E., *et al.*, *Anal. Chem.* 40 (1968) 657-658.

⁵³MURAYAMA, M., SUZUKI, M., TAKITANI, S., *J. Chromat.* 463(1989) 147-152.

⁴⁵LIGHT, T.S., MANNION, R.F., *Anal. Chem.* 40 (1968) 657-658.

A solução foi filtrada e o Se foi determinado por cromatografia iônica. Segundo Murayama⁵³, o frasco de combustão de Schöniger previne perdas de analito e o procedimento é mais rápido do que a digestão por via úmida. Cabe ressaltar que na técnica de combustão de Schöniger, geralmente um fio de platina de 0,5 a 1 mm de espessura é empregado como suporte.⁴⁷

Kirsten e colaboradores³⁵ (1963) utilizaram um suporte de sílica em forma de espiral para determinação de sulfato e enxofre em materiais inorgânicos e orgânicos. Hassan e colaboradores²⁸ (1988) utilizaram um suporte semelhante para o preparo de amostras de compostos orgânicos e posterior determinação de bismuto. McGary⁴⁹ (1980) encontrou contaminação de iodo em papéis que foram utilizados para colocação da amostra. Segundo os autores⁴⁹, esta contaminação pode ser proveniente do corante adicionado ao papel. Este problema pôde ser contornado lavando-se várias vezes o papel com água e secando-o antes de ser utilizado.

Com relação ao invólucro das amostras que pode ser utilizado nos procedimentos de combustão, este deve ser adequado ao tipo de amostra a ser decomposta. Burroughs e colaboradores¹³ (1968), utilizaram cápsulas de gelatina para envolver amostras líquidas e posterior determinação de silício em amostras de compostos orgânicos de silício. Gutenmann e Lisk²⁶ (1960) utilizaram papel celofane como invólucro no preparo da amostras e posterior determinação de mercúrio em amostras de maçãs.

¹³ BURROUGHS, J.E., *et al.*, *Anal. Chem.* 40 (1968) 657-658.

⁵³ MURAYAMA, M., *et al.*, *J. Chromat.*, 463(1989) 147-152.

³⁵ KIRSTEN, W. J., *et al.*, *Anal. Chim. Acta* 25 (1963) 101-117.

²⁸ HASSAN, H. N. A., *et al.*, *Talanta* 35 (1988) 311-313.

⁴⁹ MCGARY, E.D., *J. Pharm. Sci.* (1980) 948-951.

²⁶ GUTENMANN, W.H., LISK, D.J., *Agric. Food Chem.* 8 (1960) 307-308.

⁴⁷ MacDONALD, A.M.G., *Advances in Analytical Chemistry and Instrumentation* (1960) p. 75-116.

2.3.1.2.2. Decomposição em sistema fechado por combustão iniciada por microondas

Barin¹⁰, em 2003, propôs um procedimento de decomposição de amostras de produtos farmacêuticos (estearato de magnésio e fitoterápicos) e materiais de referência certificados de rim de porco e vegetais por combustão iniciada por microondas. Os elementos Cd, Cu, K, Mg, Mn, Na, P e Se foram determinados por ICP-OES e Fe, Zn e Mn por FAAS. O procedimento baseou-se na utilização de um forno de microondas de uso doméstico e um frasco de decomposição (perfluoralcói, PFA) convencional (Fig. 6). Na parte superior do frasco, foi fixado um suporte de quartzo onde as amostras foram posicionadas.

Este suporte serviu também como proteção para a tampa do frasco, pois as temperaturas atingidas no momento da combustão poderiam deformar a tampa de PFA e as paredes do frasco. Foram pesados, aproximadamente, cerca de 150 mg da amostra em um invólucro (com formato de cápsula) de papel gomado para cigarros “Colomy”. Posteriormente, foram adicionados 45 μL de uma solução de NH_4NO_3 6 mol L^{-1} como auxiliar da combustão no papel contendo a amostra.

No frasco foram adicionados 5 mL de HNO_3 como solução absorvedora. Após, o sistema foi fechado e pressurizado com, aproximadamente, 5 atm com oxigênio (para pressurização do sistema foi adaptada uma válvula de PTFE na tampa, na porção superior do frasco comercial). O sistema, então, foi levado ao forno de microondas e irradiado por 40 s.

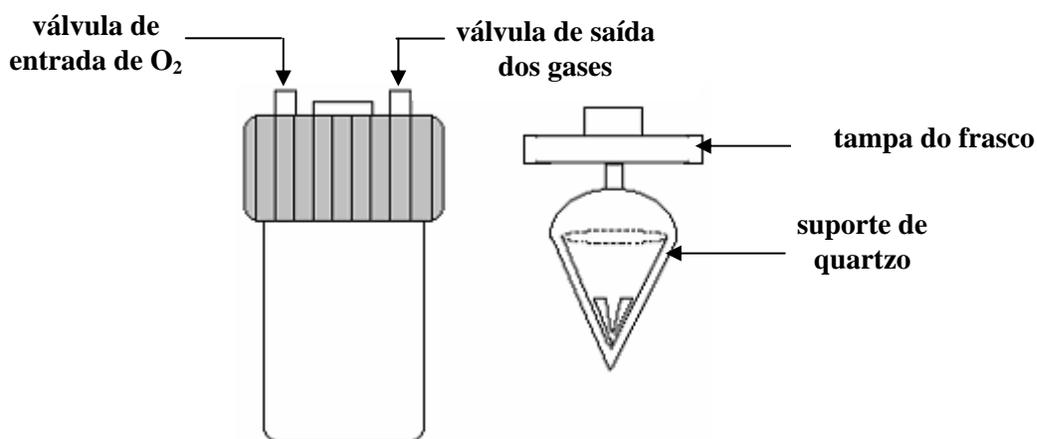


Figura 6. Sistema de decomposição por combustão iniciada por microondas. (adaptado de Barin¹⁰)

Segundo Barin¹⁰, a concordância com valores de amostras certificadas (rim de porco) para vários elementos (determinados por ICP OES) após a combustão iniciada por microondas, variou de 88 a 107% para Cd, Cu, Na e Se, quando apenas a combustão foi empregada. Quando foi adicionada uma etapa de refluxo após a combustão, com ácido nítrico concentrado como solução absorvedora, os resultados foram concordantes entre 95 e 103%.

Para os dois não-metals determinados, P e Se, Barin¹⁰ relata que estes podem ser determinados facilmente empregando a combinação do sistema utilizado e posterior determinação por, ICP OES. Este fato confirma a versatilidade do sistema para a determinação de não-metals em diversas amostras, inclusive produtos farmacêuticos. Ferro pode ser determinado diretamente após a combustão e absorção dos produtos gasosos gerados, não necessitando uma etapa de refluxo. A concordância dos resultados obtidos com a combustão sem refluxo em relação ao valor informado de Fe é 101,4% e 80% para o valor certificado de Mn. Com a aplicação de uma etapa de refluxo, a concordância fica em 100,4% para Fe e 98% para Mn. Recentemente, um procedimento de decomposição de amostras biológicas (leite em pó e fígado bovino), aplicando combustão iniciada por microondas em sistema fechado e posterior determinação de Cu e Zn por FAAS, foi proposto por Mesko.⁵¹ O sistema utilizado consiste basicamente de uma adaptação em um sistema fechado de decomposição de amostra que utiliza radiação de microondas disponível comercialmente (*Multiwave 3000*[®] - Anton Paar). Como suporte para a amostra foi empregado um suporte de quartzo, o qual foi levado ao interior do tubo de quartzo utilizado convencionalmente. As amostras foram prensadas na forma de *pellets* em prensa manual. O sistema foi pressurizado com 15 atm com oxigênio e as massas de amostras variaram entre 50 e 400 mg. Como auxiliar de combustão foram empregados discos de papel de filtro colocados na base do suporte, e o iniciador de combustão utilizado foi solução de NH_4NO_3 6 mol L⁻¹.

¹⁰BARIN, J.S., Dissertação de Mestrado, PPGCTF, UFSM/RS, 2003.

⁵¹MESKO, M.F., Dissertação de mestrado, Programa de Pós Graduação em Química, UFSM/RS, 2004.

Para avaliar a eficiência do sistema utilizado, foram empregados materiais de referência certificados de fígado bovino, tecido de ostra e leite em pó. A concordância entre os resultados encontrados para Zn nas amostras certificadas de fígado foi de 95 a 104%, tanto para combustão, quanto para combustão seguida de uma etapa de refluxo, inclusive quando água foi utilizada como solução absorvedora.

Segundo Mesko⁵¹, as concordâncias obtidas para Cu nas amostras de referência certificadas de fígado bovino e de tecido de ostra, empregando somente o processo da combustão iniciada por irradiação de microondas e utilizando HNO₃ 2 mol L⁻¹ e HNO₃ concentrado como solução absorvedora, foram de 93 a 96%. Quando aplicada uma etapa de refluxo, as concordâncias foram de 96 a 100%. Para as amostras de leite em pó, quando feita apenas à combustão, com HNO₃ concentrado como solução absorvedora, as concordâncias para Zn foram próximas a 100%. Foi verificado o teor de carbono residual após a combustão das amostras e estes foram inferiores a 1,3%. Com a combustão seguida de uma etapa de refluxo, os teores foram inferiores a 0,4%. O sistema utilizado apresenta a vantagem de poder aplicar massas maiores de amostra quando comparado ao frasco de combustão de Schöniger. Em comparação com o procedimento de combustão em bomba calorimétrica, o sistema proposto tem a possibilidade de realização de uma etapa de refluxo em sistema fechado, podendo degradar eventuais resíduos da combustão. Além disso, como a solução absorvedora empregada pode ser, em alguns casos, água ou ácido diluído, é possível a determinação subsequente por diversas técnicas sem muitas interferências.

Flores *et. al.*²³, empregaram o procedimento de decomposição de por combustão iniciada por microondas para amostras orgânicas. Após a decomposição forma determinados Cd e Cu por FAAS. Foram decompostas amostras de materiais de referência certificados de fígado bovino, rim de porco e amostras de leite em pó. As decomposições foram feitas em forno de microondas comercial e a potência aplicada foi de 1400 W durante 20 s. Nitrato de amônio foi empregado como iniciador da combustão e os frascos foram pressurizados à 15 atm com oxigênio.

⁵¹MESKO, M.F., Dissertação de mestrado, Programa de Pós Graduação em Química, UFSM/RS, 2004.

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

O processo de combustão foi completo em alguns segundos, também, foi empregada uma etapa adicional de refluxo. A concordância dos resultados obtidos foram entre 96 e 105%. Segundo os autores, é importante destacar que empregando apenas a combustão o carbono residual foi abaixo de 1,3% e empregando uma etapa adicional de refluxo este foi abaixo de 0,4%.²³

2.3.1.2.3. Bomba de combustão

A bomba de combustão é constituída, basicamente, de um recipiente de aço inoxidável com capacidade de 300 mL de volume interno, imersa em banho de água muito similar a bomba calorimétrica (Fig. 7). O interior da bomba pode ser revestido com quartzo, vidro ou platina, dependendo do analito a ser determinado. Um copo de ignição (de platina ou quartzo) é utilizado como suporte para a amostra, que geralmente se encontra na forma de *pellet*. A ignição ocorre através de dois eletrodos. Geralmente, o volume da solução absorvedora é de 10 mL, a qual é adicionada no fundo do frasco. O frasco é preenchido com oxigênio até atingir a pressão na ordem de 25 atm. No processo de combustão, a bomba é arrefecida por um banho de água e, após o processo da combustão, a solução ou o resíduo resultante, são utilizados para a determinação dos analitos de interesse com a técnica adequada.

Fujita e colaboradores²⁴ (1968), utilizaram o método de bomba de combustão preenchida com oxigênio para o preparo de diversas amostras, como amostras de arroz (farelos e grão) e óleos vegetais para posterior determinação de mercúrio por espectrometria-VIS (λ 490 nm). As massas de amostra variaram entre 2 e 4 g. Pedacos de papel (7 x 7 cm) foram utilizados como invólucro para as amostras e estas foram amarradas com fio de algodão e transferidas para o copo de ignição. No caso das amostras de óleo, estas foram adicionadas diretamente no copo de platina. Como auxiliar de combustão foi utilizado um fio de algodão, sendo que este, foi imerso na amostra e o pedaço do fio de algodão remanescente foi passado através do fio de platina. Como solução absorvedora dos gases gerados pelo processo, foram utilizados 4 mL de ácido nítrico 1 mol L⁻¹.

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

²⁴FUGITA, *et al.*, *Anal. Chem.* 40 (1968) 2042-2043.

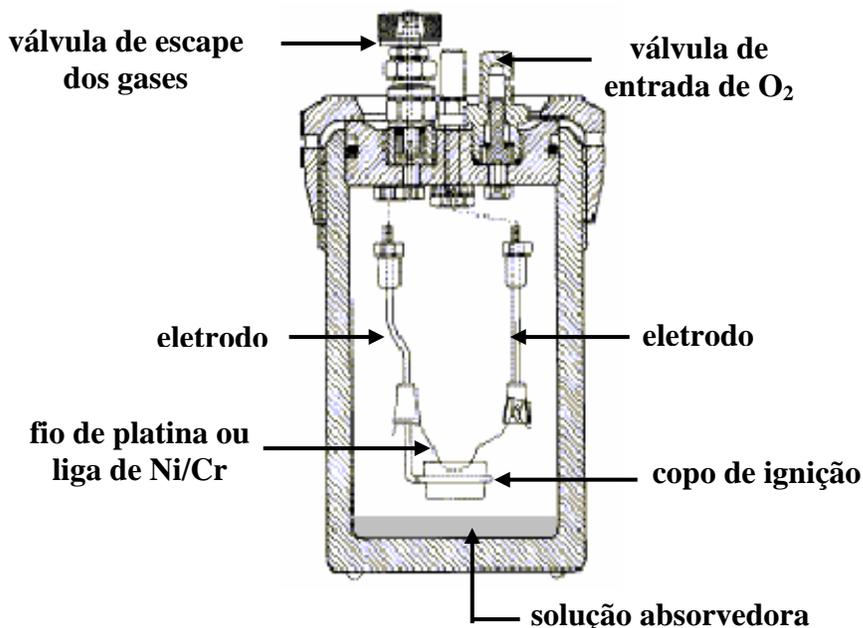


Figura 7. Bomba de combustão (tradicional bomba calorimétrica) (adaptado de Souza *et al.*⁶³)

Após a bomba ter sido fechada, esta foi pressurizada com 25 atm com oxigênio. Não houve interferências provenientes do metal da bomba nas determinações de mercúrio. As recuperações do mercúrio adicionado às amostras foram, em média, de 93%. Hicks e colaboradores³⁰ (1974) utilizaram bomba de combustão no preparo de amostras de carvão para posterior determinação de enxofre por titulação potenciométrica. As concentrações de S foram entre 0,5%, e 2,9%, respectivamente e com boa concordância com os valores de amostras certificadas. Segundo os autores, a utilização da técnica de combustão no preparo de amostra de carvão para determinação de enxofre foi adequada devido à rapidez, precisão, recuperação e facilidade de operação.

⁶³SOUZA, G.B.; *et al.*, *Spectrochim. Acta Part B* 57 (2002) 2195-2201.

³⁰HICKS *et al.* *Anal. Chim. Acta* 68 (1974) 480-483.

Fung e Dao²⁵, utilizaram a bomba de combustão para o preparo de amostras de combustíveis e efluentes orgânicos industriais. Foram determinados F, P, Cl, Br, I e S, por cromatografia iônica com detector espectrofotométrico. Os autores²⁵ sugerem a utilização de pressões elevadas com oxigênio dentro do frasco de combustão como sendo uma técnica adequada para a oxidação completa deste tipo de amostras. Nas amostras líquidas, não-combustíveis ou sólidas, foi adicionado 0,5 g de querosene ou 1-dodecanol na cápsula como diluente e auxiliar de combustão. As recuperações para compostos contendo halogênios foram superiores a 95%. Para as análises de compostos voláteis, como diclorometano e tricloroetileno, as recuperações foram superiores a 90%. Isto indica que esta técnica é adequada para decomposição de amostras voláteis, se diluentes com alto ponto de ebulição, como 1-dodecanol, forem utilizados. As recuperações dos compostos orgânicos utilizando bomba de combustão e IC foram entre 94 e 102% para a maioria dos elementos testados (F, Cl, Br, I e S). Já para N, as recuperações ficaram entre 24 e 48%.

Souza e colaboradores⁶³, utilizaram a bomba de combustão no preparo de amostras biológicas e posterior determinação de Ca, Cu, I, K, Mg, Na, P, S e Zn por ICP OES. A combustão das amostras foi realizada usando-se uma bomba calorimétrica de aço inoxidável empregando 25 atm com oxigênio, aproximadamente 5 mL de ácido nítrico (0,1% v/v) ou 10 mL de uma solução aquosa de uma mistura de amins terciárias (10%v/v) (denominadas CFA-C), foi usada como solução absorvedora.²⁵ Uma mistura de etanol e parafina foi utilizada como auxiliar de combustão, bem como, uma etapa de resfriamento de 5 a 10 minutos para melhor absorção dos gases gerados no processo da combustão.

²⁵ FUNG, Y.S., DAO, K.L., *Anal. Chim. Acta* (1995) 347-355.

⁶³ SOUZA, G.B.; *et al.*, *Spectrochim. Acta Part B* 57 (2002) 2195-2201.

Para as amostras de tecidos animais e elementos facilmente volatilizáveis, a mistura de etanol e parafina não é necessária. Entretanto, para as amostras como, p. ex., leite em pó, esta mistura se torna indispensável, assim como a etapa de resfriamento. Souza *et al.*,⁶³ citam que uma das vantagens da utilização do frasco de combustão, comparada ao frasco de Schöniger, é a possibilidade de se utilizar uma massa de amostra maior, a qual pode ser de até 1 g, enquanto que com o frasco de Schöniger, este está limitado para massas que variam entre 30 e 50 mg. De acordo com os resultados obtidos, os autores concluem que, com exceção do iodo, qualquer uma das soluções utilizadas como solução absorvedora são eficientes. Entretanto, para o iodo, como este é mais eficientemente absorvido em soluções alcalinas, a solução de amina CFA-C foi a solução adequada para absorção deste. As recuperações dos elementos nas amostras foram entre 91 e 105%. As concordâncias entre os materiais de referência certificados foram em torno de 95%.

Watanabe e colaboradores⁶⁴ empregaram bomba de combustão para determinação de cloro e enxofre em resíduos sólidos municipais por IC. A massa de amostra pesada foi de 0,5 g para resíduo alimentício e 0,3 g para amostras de plástico. A solução absorvedora foi 5 mL de H₂O₂ 1% . Após a bomba ter sido selada, esta foi preenchida com 30 atm com oxigênio. Após a combustão, a bomba foi mantida fechada durante 30 minutos. A amostra foi coletada e a bomba foi enxaguada com água destilada. Segundo Watanabe⁶⁴, a combustão das amostras empregando a bomba foi, freqüentemente, incompleta, resultando em concordâncias menores para Cl e S, em torno de 15 a 25%.

⁶³ SOUSA, G.B., *et al.*, *Spectrochim. Acta Part B*, 57 (2002) 2195-2201.

⁶⁴ WATANABE, N., *et al.*, *J. Mater. Cycles Waste Manag.* 5 (2003) 69-76.

2.3.1.2.4. Combustão em Sistema Dinâmico (Trace-O-Mat[®])

O sistema dinâmico (Trace-O-Mat[®]) foi desenvolvido em 1981 por Knapp e colaboradores.³⁸ Este permite a combustão com poucos riscos de contaminação, sendo todo construído de quartzo. Segundo os autores³⁸, o sistema permite que massas de até 1 g de amostra sólida orgânica ou material biológico sejam queimadas. A amostra é introduzida na forma de *pellets* feitos em prensa manual (7 mm de diâmetro, 7 mm de espessura) e introduzidos em um suporte de quartzo com uma pequena tira de papel (2 cm de comprimento, 4 mm de largura) em uma câmara de combustão de (75 mL). A câmara de combustão é conectada a um tubo teste e a uma unidade de resfriamento, a qual é preenchida com nitrogênio líquido (renovado continuamente durante a combustão). Geralmente uma vazão contínua de 80 a 100 L h⁻¹ de O₂ é introduzida tangencialmente ao suporte da amostra na câmara de combustão. Com o auxílio de uma tira de papel, a amostra entra em ignição através da irradiação proveniente de duas lâmpadas de radiação infravermelha (Fig. 8). A combustão da amostra leva em torno de 10 a 20 s. Os produtos voláteis gerados são retidos em um condensador contendo nitrogênio líquido, enquanto que, os elementos não voláteis permanecem no suporte. Após a combustão, o N_{2(liqu)} é retirado e, posteriormente, é feita uma etapa adicional de refluxo com ácido apropriado, geralmente o volume empregado é de 2 mL.

A evaporação do ácido é prevenida por condensadores com fluxo de água. A etapa de refluxo leva em torno de 30 minutos.

³⁸ KNAPP, G., *et al.*, *Fresenius Z. Anal. Chem.* 308 (1981) 97-103.

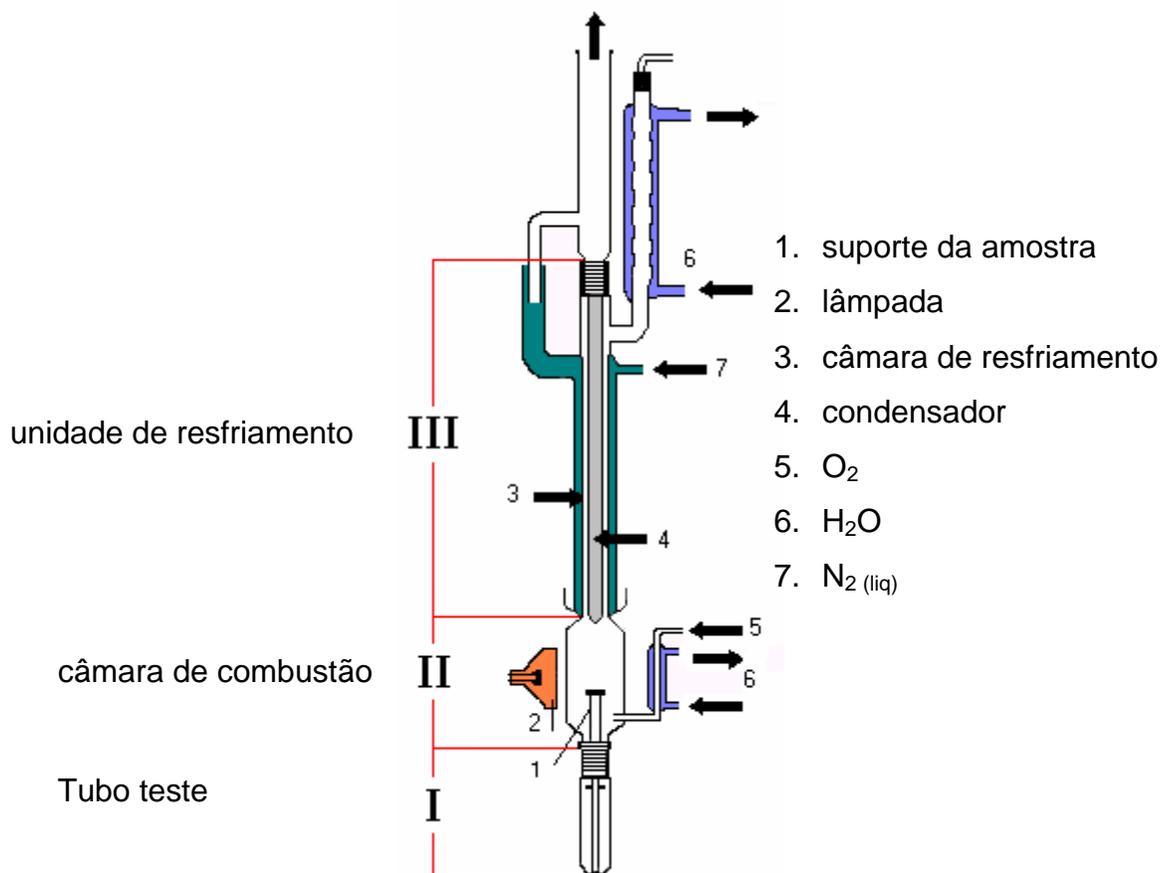


Figura 8. Sistema de decomposição por combustão em sistema dinâmico (Trace-O-Mat[®])

Han e colaboradores²⁷, empregaram o sistema Trace-O-Mat[®] na decomposição de amostras de materiais biológicos, rochas e amostras de solo para posterior determinação de selênio por HG AAS ou por voltametria de redissolução catódica de pulso diferencial. Durante a combustão das amostras em oxigênio puro, sob as condições dinâmicas, o selênio é volatilizado como SeO₂ e condensa na parte fria do sistema. Em aproximadamente 0,5 g de amostra foi adicionado uma mistura de ácido silícico entre 15 e 30% com aproximadamente 50 µL de acetato de celulose 1% em acetona (adicionados como aditivos) e, então, a mistura foi *peletizada*.

²⁷HAN H-B, et al., *Anal.Chim. Acta* 128 (1981) 9-21.

Esta mistura possibilitou a decomposição de rochas e solo fragmentados, os quais são aquecidos pela combustão da celulose a uma temperatura suficiente para a liberação do selênio. O recipiente com as cinzas resultantes da combustão foram removidos do equipamento.

O sistema foi lavado com pequenas porções de ácido nítrico 65% (v/v) ou ácido clorídrico (1:1) para completa dissolução do dióxido de selênio e outros produtos, tais como, compostos voláteis de Bi, Cd, Sb e Tl. O ácido silícico favorece a retenção de elementos concomitantes provenientes de óxidos voláteis, tais como, Cu, Fe, Mn e Pb. Renterghem *et al.*,⁵⁸ determinaram simultaneamente As, Au, Cd, Cs, Cu, Fe, Hg, Mo, Rb, Sb, Se e Zn em amostras de soro sanguíneo humano por análise por ativação neutrônica. As amostras foram decompostas pelo sistema Trace-O-Mat[®] e as recuperações obtidas foram entre 96 a 102%.

2.3.2. DECOMPOSIÇÃO POR VIA ÚMIDA

2.3.2.1. DECOMPOSIÇÃO POR VIA ÚMIDA EM SISTEMAS ABERTOS

Geralmente, a decomposição de materiais orgânicos ou biológicos por via úmida ocorre pelo aquecimento da amostra na presença de um ácido mineral oxidante concentrado, por uma mistura de ácidos oxidantes ou pela adição de um ácido oxidante com peróxido de hidrogênio. Os ácidos empregados na decomposição de amostras orgânicas ou biológicas são o nítrico, sulfúrico e perclórico.⁵² Cabe aqui ressaltar que no caso do ácido perclórico, este deve ser empregado em combinação com outro ácido, por este apresentar um alto poder de oxidação, torna-se muito perigoso devido ao risco de explosão.⁴¹

⁵⁸RENTERGHEM, D.V. *et al.*, *Anal. Chim. Acta*, 257 (1992) 1- 5.

⁴¹KRUG., F.J., Apostila "Métodos de decomposição de Amostras", V Workshop sobre Preparo de amostras, 18 a 22 de outubro de 2004, São Paulo- SP, 5ª ed., p. 111.

⁵²MURAYAMA, M., SUZUKI, M., TAKITANI, S., *J. Chromat.* 466 (1989) 355-363.

As decomposições feitas por via úmida são recomendadas, para diversos tipos de amostras para posterior determinação da concentração de metais e, também, podem ser utilizadas para a posterior determinação da concentração de alguns não-metais como, p.ex., N, P e S. Com o emprego deste procedimento de decomposição, muitos elementos de interesse são convertidos em cátions inorgânicos simples, não voláteis, que permanecem em meio ácido. É importante destacar que, no caso de sistemas abertos, alguns elementos podem ser perdidos, completamente ou parcialmente, por volatilização. Como exemplo, podem ser citados os halogênios, além de As, B, Hg, Sb e Se.

2.3.2.1.1. Sistema aberto com aquecimento por radiação de microondas

A utilização de fornos de microondas em laboratórios analíticos é relevante em vista da redução no tempo de decomposição e esta redução é de grande importância para muitos tipos de amostras. Os fornos de microondas têm sido utilizados em laboratórios desde 1975¹. Atualmente, esta tecnologia não somente é empregada em química analítica, mas também, em síntese orgânica, reações inorgânicas, dentre outros campos.

Os avanços na utilização de radiação de microondas incluem, a digestão da amostra para análise elementar, extração por solvente, dessecação da amostra, dessorção e adsorção de analito, *clean-up* da amostra, retenção em fase-sólida, eluição, destilação, plasma induzido por microondas com espectrometria de emissão ótica e reações sintéticas³³

¹ABU SAMRA, A., *et al.*, *Anal.Chem.* 47 (1975) 1475-1477.

³³JIN, Q., *et al.*, *Trends Anal. Chem.* 18 (1999) 479-484.

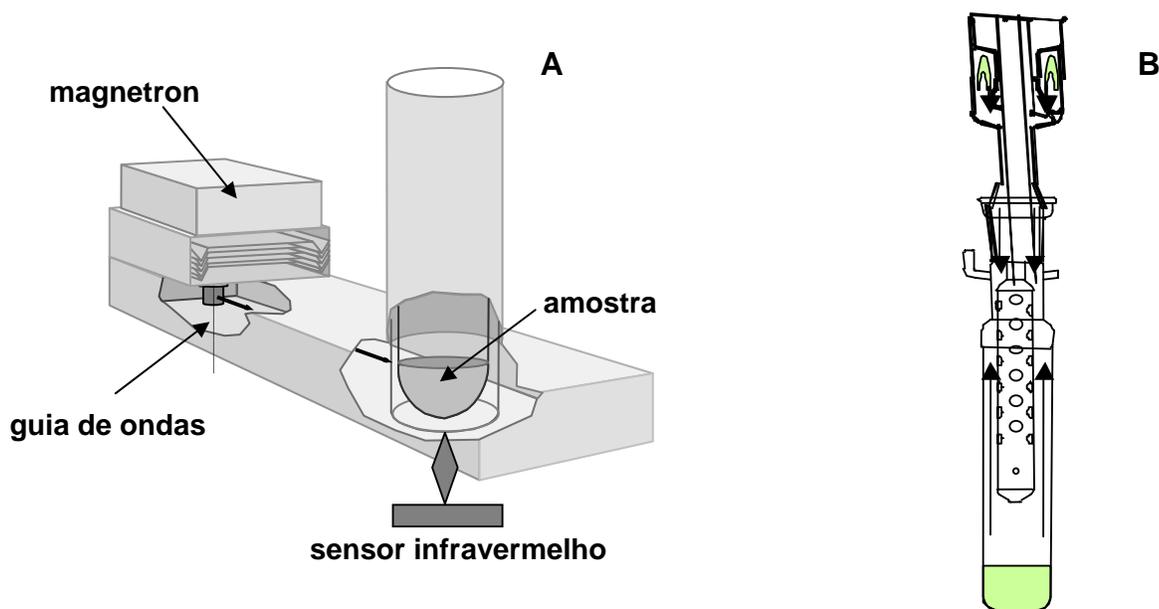


Figura 9. (A) Sistema aberto de decomposição por via úmida com aquecimento por microondas Prolabo[®] e (B) frasco normalmente utilizado com condensador.

Os sistemas de decomposição abertos, assistidos por microondas, operam em pressão atmosférica não apresentando problemas associados com o aumento de pressão, como nos sistemas fechados. A maioria destes sistemas opera com radiação de microondas focalizadas (Fig. 9). Nestes sistemas focalizados, a radiação das microondas é focalizada em uma região restrita, onde está sujeita a um campo elétrico mais forte. A distribuição da radiação das microondas é controlada através de um guia de ondas e um circulador⁴⁶. A temperatura é controlada por sensores infravermelho situado em cada cavidade. Cabe ressaltar que, na parte superior dos frascos, há um condensador onde os vapores gerados durante a digestão da amostra são condensados e isto, possivelmente evite perdas potenciais de espécies voláteis.⁵⁵

⁴⁶LUQUE-GARCÍA, J.L., LUQUE DE CASTRO, M.D., *Trends Anal. Chem.*, 22 (2003) 91-98.

⁵⁵NÓBREGA, J.A., *et al. Spectrochim. Acta Part B* 57 (2002) 1855-1876.

O forno com microondas focalizadas, apresenta maior segurança devido à operação ser à pressão atmosférica, pois as amostras podem gerar uma grande quantidade de gás, principalmente, quando se trabalha com compostos orgânicos. Os frascos podem ser construídos de diversos tipos de materiais tais como, borossilicato, quartzo e PTFE. Os fornos de microondas podem ser operados empregando potências na faixa de 200 e 950 W. O volume máximo dos frascos de reação é de 250 mL, o que permite a digestão de até 10 g de amostra ou até mesmo maior quantidade dependendo do procedimento adotado e as características da amostra. Como alternativa para a redução da concentração dos ácidos, pode-se citar a decomposição ácida em fase vapor.⁷ Neste caso, há a possibilidade de se utilizar ácidos de grau técnico devido à purificação do reagente durante a evaporação assistida por microondas, conseqüentemente os valores de branco serão diminuídos. Outra vantagem é que dependendo do tamanho do frasco reacional em que a amostra está contida pode-se tratar 3 ou 4 amostras simultaneamente (Fig.10).

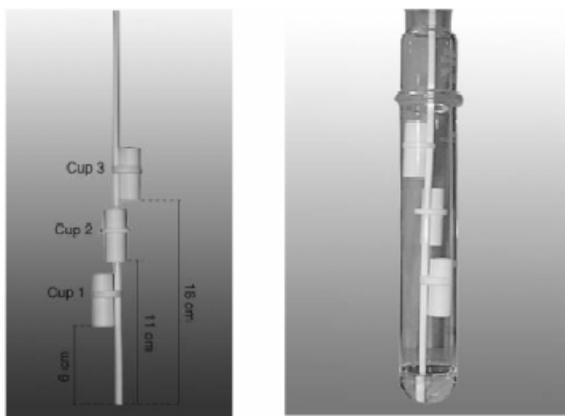


Figura 10. Copos de PTFE : fora e dentro do frasco reacional⁵⁵

⁷ ARAÚJO, G.C.L., NOGUEIRA, A.R.A., *Analyst* 125 (2000) 1861-1864.

⁵⁵ NÓBREGA, J.A., *et al.*, *Spectrochim. Acta Part B* 57 (2002) 1855-1876.

Uma desvantagem encontrada no emprego deste procedimento, está no fato de que as condições reacionais entre os copos contendo a amostra são diferentes, pois a radiação das microondas focalizadas atinge somente o frasco localizado na posição inferior do copo, Conseqüentemente, as temperaturas alcançadas neste copo serão maiores do que nos copos remanescentes do sistema, levando este a condições de decomposição mais agressivas. Este efeito causa recuperações não quantitativas para todos os copos e, as recuperações são adequadas apenas para o copo localizado na parte inferior do frasco. Embora, as condições de digestão em cada copo podem ser melhoradas adicionando-se pequenas quantidades de peróxido de hidrogênio à amostra.⁷

A adição de reagente quente na amostra, também pode ser uma opção para diminuir a concentração final do ácido na digestão. O procedimento envolve a adição gradual de amostra líquida em um pequeno volume de ácido concentrado (< 5 mL), já aquecida pela ação de microondas. As vantagens que podem ser citadas são: digestão de um grande volume de amostra, utilização de pequeno volume de ácido; cada alíquota de amostra é parcialmente digerida antes da adição do próximo ácido; digestão conduzida em meio ácido mais concentrado (o reagente é menos diluído pelo solvente); o ácido está em excesso comparado à amostra durante todo o procedimento de digestão; ácidos concentrados podem gerar radicais reativos que podem tornar mais rápido o processo de digestão.⁷

⁷ ARAÚJO, G.C.L., NOGUEIRA, A.R.A., *Analyst* 125 (2000) 1861-1864.

2.3.2.2. DECOMPOSIÇÃO POR VIA ÚMIDA EM SISTEMAS FECHADOS

2.3.2.2.1. Decomposição pelo Método de Carius

Algumas amostras não podem ser decompostas por via úmida em sistemas abertos pelo fato de ocorrerem perdas de elementos na forma de derivados voláteis tais como, As, B, Hg, P, S, Sn e Te. O procedimento de Carius minimiza estes problemas e consiste de colocar a amostra em um tubo de vidro ou quartzo e adicionar HNO_3 (67-97%, dependendo da amostra) e selar o tubo. O tubo é aquecido a temperaturas entre 250 e 300 °C por algumas horas. A decomposição é eficiente, pois, o HNO_3 reage em condições de temperatura e pressão elevadas.

O volume de ácido adicionado e a massa de amostra são dependentes da natureza da mesma. Para substâncias de fácil decomposição, 1 h de aquecimento e volumes entre 2 e 3 mL de HNO_3 65% são suficientes para uma efetiva decomposição, ao passo que amostras de tecidos de peixe, gorduras e corantes, levam aproximadamente, de 3 a 5 horas e o volume de ácido adicionado deve ser em torno de 5 a 7 mL por grama de amostra.

Após a decomposição ter sido concluída, o tubo é resfriado e aberto (cuidadosamente, pois, ainda pode estar sob pressão), o que pode ocasionar acidentes, mas também pelo fato de elementos voláteis poderem ser perdidos nesta etapa do procedimento. Para contornar este possível problema, usa-se um aditivo o qual possa ser selado no tubo junto com a amostra e o HNO_3 , como por exemplo, AgNO_3 ou prata metálica no caso dos elementos de interesse serem halogênios. No caso do uso de AgNO_3 , o íon prata retém os halogênios como sais insolúveis.⁴¹

⁴¹ KRUG., F.J., Apostila "Métodos de decomposição de Amostras", V Workshop sobre Preparo de amostras, 18 a 22 de outubro de 2004, São Paulo – SP, 5ª ed.

2.3.2.2.2. Decomposição sob pressão em frascos de PTFE com ácido nítrico a temperaturas de até 200 °C

Para decomposição de amostras em sistemas fechados, é necessário o emprego de frascos de reação apropriados. Após a adição dos ácidos, a mistura é aquecida utilizando-se um programa especial de temperatura no frasco sob pressão. As temperaturas utilizadas são dependentes da qualidade do PTFE, pois este permite empregar temperaturas entre 160 e 200 °C.

As seguintes vantagens da utilização de sistemas fechados comparados com sistemas abertos de decomposição podem ser citadas: não há perdas de analitos por volatilização; o tempo de reação é relativamente curto desde que as temperaturas empregadas sejam acima do ponto de ebulição do reagente; menores quantidades de reagentes, possibilitando menores valores de brancos; e o risco de contaminação por fontes externas é eliminado.

2.3.2.2.3. Decomposição com HNO₃ sob pressão a 300 °C

Para oxidação completa de amostras biológicas recomenda-se a utilização de HNO₃ a temperaturas de 300 °C. Temperaturas desta ordem⁶⁶, não permitem o emprego de frascos de PTFE, pois estes, estão sujeitos a se deteriorar. Por este motivo, torna-se necessário o emprego de frascos mais resistentes, como p.ex., frascos de quartzo. Knapp³⁶ propôs um sistema denominado *High Pressure Asher*[®] ou HPA.

O equipamento consiste de um frasco de digestão de quartzo o qual é fechado por uma tampa de quartzo sobre um anel de vedação de PTFE.³⁶ Neste sistema a pressão de vapor e a reação da pressão do gás resultante são equilibradas por uma pressão externa maior que 100 bar com nitrogênio.⁴¹ Este sistema pode ser aquecido a temperaturas que atinjam até 320 °C em uma autoclave, sob uma pressão externa de 100 bar. O sistema é apresentado na Fig. 11.

⁶⁶ WÜRFELS, M., *et al.*, *Fresenius J. Anal. Chem.* 329, (1987) 429.

³⁶ KNAPP, G., *Fresenius Z. Anal. Chem.*, 317, (1984) 213-219.

⁴¹ KRUG., F.J., Apostila "*Métodos de decomposição de Amostras*", V Workshop sobre Preparo de amostras, 18 a 22 de outubro de 2004, São Paulo – SP, 5ª ed.

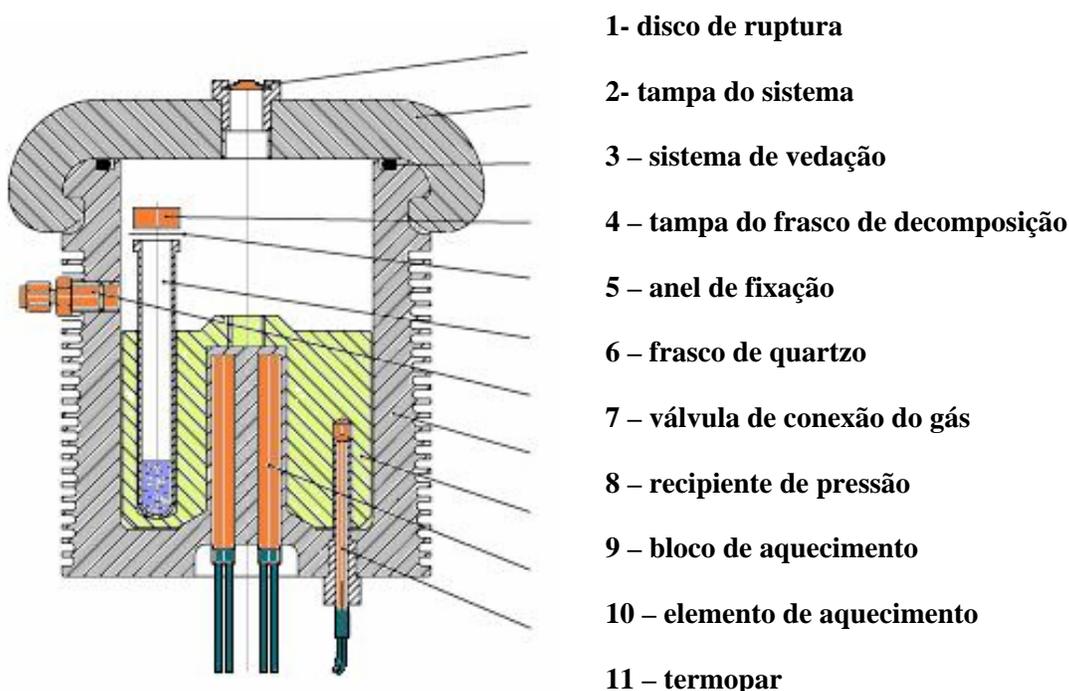


Figura 11. Sistema de decomposição a altas temperaturas (High Pressure Asher – HPA, adaptado de Anton Paar®³⁶)

A utilização deste sistema empregando HNO_3 sob pressão a $300\text{ }^\circ\text{C}$, apresenta vantagens tais como: materiais biológicos e produtos alimentícios podem ser decompostos sem a adição do ácido perclórico, evitando assim possíveis riscos de explosões; aplicabilidade em todas as técnicas que necessitem do emprego de soluções; o carbono contido na amostra biológica é completamente oxidado à CO_2 , eliminando as interferências e os sinais de fundo causados pelos resíduos orgânicos.⁴¹

Conseqüentemente, os resultados apresentarão melhor exatidão e precisão das medidas, quando comparados com procedimentos de decomposição convencionais. A decomposição a uma temperatura de $300\text{ }^\circ\text{C}$ com HNO_3 permite uma completa mineralização de materiais que são importantes em tecnologia: grafite, carbono, fibra de carbono, material sintético não contendo fluoreto, etc.⁴¹

³⁶KNAPP, G., *Fresenius Z. Anal. Chem.* 317, (1984) 213-219.

⁴¹KRUG, F.J., Apostila “Métodos de Decomposição de Amostras” V Workshop sobre Preparo de Amostras, de 18 a 22 de Outubro de 2004, São Paulo-SP, 5ª edição.

2.3.2.2.4. Sistema fechado com aquecimento com radiação de microondas

No sistema fechado com aquecimento com microondas, a radiação é dispersa aleatoriamente em uma cavidade. Desta forma, toda a zona da cavidade e onde a amostra está contida, são uniformemente irradiadas. Geralmente, estes sistemas empregam frascos fechados para a decomposição. O primeiro equipamento comercial, dedicado para trabalhos em laboratório, foi produzido em 1985. Posteriormente, muitos avanços ocorreram e os equipamentos possuem campos mais uniformes, oferecendo a possibilidade de controle de potência. A segurança foi melhorada por meio de controladores de pressão e temperatura. Os equipamentos deste tipo, que operam à alta pressão e temperatura têm sido utilizados, principalmente para a digestão ácida de diversas amostras, como p.ex., solo, sedimento, ligas metálicas, materiais biológicos, entre outros.⁴⁸

Os frascos utilizados em sistemas fechados são relativamente transparentes às radiações de microondas e inertes aos reagentes utilizados para a decomposição. Geralmente, os frascos são construídos de fluorpolímero, quartzo ou borossilicato. Em geral, o procedimento consiste em colocar a amostra no frasco juntamente com a solução adequada para a digestão da amostra e irradiar a mistura com microondas aplicando a potência e o tempo necessário para a digestão da mesma.⁴⁶ Este procedimento favorece a destruição da matéria orgânica em curto espaço de tempo. Oferece as vantagens de ser simples, rápido, pouco volume de reagente necessário para a decomposição da amostra, e principalmente, redução de possíveis perdas por volatilização de analito e elimina possíveis riscos de contaminação com o ambiente externo. Silvestre e colaboradores⁶¹ empregaram o sistema de decomposição com microondas, para decomposição de amostras de leite materno empregando HNO₃ concentrado e H₂O₂ 33% (v/v) e, posterior determinação da concentração de Cu, Fe e Zn pela técnica de FAAS.

⁴⁸MATUSIEWICZ, H. *Anal. Chem.* 66 (1994) 751.

⁴⁶LUQUE-GARCÍA, J.L., LUQUE DE CASTRO, M.D., *Trends Anal. Chem.*, 22 (2003) 91-98.

⁶¹SILVESTRE, M.D., *et al.*, *J. Food Chemistry* 68 (2000) 95-99.

Nóbrega e colaboradores⁵⁴ estudaram a eficiência da digestão ácida assistida por microondas, em frascos fechados de PTFE, empregando HNO₃ em diferentes concentrações (2, 3, 5, 7 e 14 mol L⁻¹) juntamente com H₂O₂ 30% (v/v), para a decomposição de plantas. O conteúdo de carbono residual foi avaliado pela técnica de ICP OES com vista axial.

Salvador e colaboradores⁵⁹ empregaram a técnica de digestão assistida com microondas no preparo de amostras de xampu anticaspa, para, posterior determinação da concentração de Se, Zn, Cd. O reagente utilizado para a decomposição da amostra foi HNO₃. As técnicas empregadas para a quantificação foram, ICP OES e FAAS.

⁵⁴NOBREGA, J.A., *et al.*, *Spectrochim. Acta Part B* 57 (2002) 2121-2132.

⁵⁹SALVADOR, A., *et al.*, *Talanta* 51 (2000) 1171-1177.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 INSTRUMENTAÇÃO

A decomposição das amostras de carbamazepina foi realizada empregando-se o sistema de decomposição pressurizado com aquecimento por microondas *Multiwave 3000*[®] (*Microwave Sample Preparation System*, Anton Paar, Graz, Áustria). Este sistema está equipado com oito frascos de quartzo, com capacidade para 80 mL, e uma capa de proteção que suporta temperatura máxima de 280 °C, pressão máxima de 80 bar, com controladores de tempo, temperatura, pressão e potência. Para o procedimento de decomposição por combustão, foi utilizado um suporte de quartzo como local para colocação da amostra.

As determinações da concentração de Cd, Cu e Pb foram feitas em espectrômetro de absorção atômica *Analytik Jena* (mod. Vario 6, Jena, Alemanha), equipado com queimador convencional para chama ar-acetileno (fenda de 10 cm de comprimento). Os elementos foram determinados usando-se chama do tipo ar-acetileno de acordo com as recomendações do fabricante. Utilizou-se, acetileno comercial de pureza mínima de 99,5% (White Martins). Lâmpadas de cátodo oco foram empregadas como fonte de radiação. Uma lâmpada de deutério foi usada para correção de fundo. O comprimento de onda selecionado para Cu, Cd e Pb foi 324,8 nm, 228,8 nm e 217,0 nm, e a largura da fenda foi de 1,2 nm, 0,8 nm e 0,8 nm, respectivamente. Também foram utilizados outros equipamentos como: balança digital com resolução de 0,0001 g e capacidade de 210 g (Mettler Toledo mod. AG245, Suíça); banho de ultra-som (Ultrasonic Cleaner 1440D Série Evolution, Odontobrás, Brasil); estufa (Fanem mod. 515/4-C, SP, Brasil); bloco digestor (Velp Scientifica mod. DK 42, Alemanha); sistema fechado de decomposição de amostras (Berghof mod. DAH 902, Alemanha); prensa hidráulica manual e chapa de aquecimento (Velp Scientifica cód. 10.0162-62); espectrômetro de infra-vermelho com transformada de Fourier (Perkin-Elmer mod. Spectrum One FT-IR Spectrometer – acessório ATR Universal “*Attenuated Total Reflectance*” faixa de trabalho 650-4000 cm^{-1} – resolução 4,00 cm^{-1}). Cromatógrafo com acoplamento GC-MS da Agilent (GC: HP6890 / MS: HP5973N quadropolo).

3.2. CALIBRAÇÃO DO FORNO DE MICROONDAS

Para o desenvolvimento deste trabalho, foi feita a calibração prévia do forno de microondas *Multiwave 3000*[®] (Anton Paar GmbH), conforme recomendações do fabricante⁵ para garantir que a potência irradiada seja a real. Primeiramente, 1000 g de água foram transferidos para um béquer de vidro (\varnothing 180 mm) à temperatura ambiente (cerca de, 25 °C) e a temperatura inicial foi medida. Posteriormente, o béquer foi colocado no centro do forno e a água foi aquecida por 60 s aplicando-se uma potência de 1000 W.

3.3. REAGENTES

A água utilizada foi destilada, desionizada em coluna de troca iônica convencional e, posteriormente, purificada (18,2 M Ω cm) em sistema Milli-Q[®] (Ultrapure Water Purification System, Millipore, Bedford, USA). Agar-agar (powder DAB6, Merck, Alemanha). Ácido nítrico (Art. nº 100452.1000, 65%, 1,4 kg L⁻¹) de grau P.A. (Merck, Darmstadt, Alemanha), foi destilado em sistema de destilação abaixo do ponto de ebulição (Milestone, modelo duoPUR 2.01E, Monroe, Itália), com condensador de quartzo.

As soluções estoque de 5000 mg L⁻¹ de Cd, Cu e Pb, foram preparadas a partir dos reagentes nitrato de chumbo (Merck, Darmstadt, Alemanha); nitrato de cobre triidratado (VETEC- Química Fina LTDA, cód. 666) e nitrato de cádmio tetraidratado (VETEC- Química Fina LTDA, cód.662). As soluções de referência foram preparadas a partir da diluição da solução estoque. Ambas soluções foram preparadas com HNO₃ 0,2% (v/v).

As soluções de nitrato de amônio foram preparadas semanalmente, a partir da dissolução do NH₄NO₃ de grau P.A. (Merck, Darmstadt, Alemanha) em água.

3.4. AMOSTRAS

As amostras de carbamazepina em pó que foram utilizadas neste trabalho foram fornecidas por duas indústrias farmacêuticas brasileiras. As amostras foram empregadas na forma de pó nos sistemas de decomposição convencionais. Cabe

ressaltar que, nos procedimentos realizados nesses sistemas, não foram feitas otimizações acerca das quantidades de amostra e reagentes, bem como da temperatura e do tempo de aquecimento.

3.5. MATERIAIS DIVERSOS

Toda a vidraria e materiais comuns de laboratório foram lavados por imersão em HNO₃ 10% (v/v) por pelo menos 24 horas e enxaguados com água, imediatamente antes do uso. No sistema proposto, foram empregados discos de papel de filtro de, aproximadamente, 20 mg e com 20 mm de diâmetro. Estes papéis de filtro foram descontaminados por imersão em HNO₃ 10% (v/v) sob efeito de banho ultra-sônico por 20 minutos, sendo, posteriormente, lavados com água e secos em estufa a 60 °C. Utilizaram-se, como invólucro para a amostra de carbamazepina em pó, papel gomado “Colomy[®]”(Souza Cruz) para cigarros e cápsulas de metilcelulose (Nº 00, RP Scherer – Germany).

3.6. PROCEDIMENTOS DE DECOMPOSIÇÃO DA AMOSTRA

As amostras de carbamazepina em pó utilizadas neste trabalho foram fornecidas por duas indústrias farmacêuticas brasileiras. As amostras foram empregadas na forma de pó nos sistemas de decomposição convencionais. Cabe ressaltar que, nos procedimentos realizados nesses sistemas, não foram feitas otimizações acerca das quantidades de amostra e reagentes, bem como da temperatura e do tempo de aquecimento, pelo fato de que após verificar o procedimento mais adequado para a decomposição da amostra, então, posteriormente, seriam realizadas estas otimizações.

Para o sistema de decomposição proposto neste trabalho, foi feito um estudo da melhor maneira de decompor a amostra no sistema de decomposição por combustão iniciada por microondas. A seguir, estão apresentados os parâmetros estudados.

3.6.1. Decomposição por via úmida em sistema aberto - Bloco Digestor

Foram pesados, exatamente, cerca de 250 mg de carbamazepina em pó. Estas amostras foram transferidas para os tubos de decomposição do bloco digestor e posteriormente foram adicionados 5 mL de HNO₃ concentrado. As amostras ficaram

sob refluxo por 2 h a 180 °C e, posteriormente, a temperatura foi elevada a 200 °C por mais 2 h. Após o arrefecimento do sistema, o resíduo foi retirado.

3.6.2. Decomposição por via úmida em sistema fechado - Berghof

Foram pesados, exatamente, cerca de 250 mg de carbamazepina em pó. Estas amostras foram transferidas para o copo de PTFE do sistema e adicionados 5 mL de HNO₃ concentrado. As amostras ficaram sob aquecimento por 2 h a 180 °C e, posteriormente, a temperatura foi elevada a 200 °C por mais 2 h. Após o arrefecimento do sistema, o resíduo foi retirado. Cabe ressaltar que este procedimento foi adaptado da BP 2001.¹¹

3.6.3. Decomposição por via úmida assistida por microondas

Foram realizados procedimentos de decomposição da amostra de carbamazepina em sistema fechado assistido por microondas com frascos de quartzo (*Multiwave 3000*[®]), sendo aplicados quatro procedimentos de decomposição da amostra, empregando-se diferentes tempos e intensidades de radiação de microondas (a taxa de aumento de pressão empregada foi de 0,8 bar s⁻¹, temperatura máxima de 280 °C e pressão máxima de 80 bar). Para estes ensaios foram pesados, exatamente, cerca de 250 mg de amostra para cada um dos quatro procedimentos, os quais foram transferidos para o frasco de quartzo do forno de microondas adicionando-se, posteriormente, volumes de 6 mL do reagente utilizado para a decomposição da amostra. Os reagentes empregados nestes testes foram HNO₃ (concentrado ou diluído), e H₂O₂. Os programas de tempo e potência de irradiação das microondas, empregados nos quatro procedimentos estão ilustrados nas Figs. 12 a 14.

¹¹BRITISH PHARMACOPOEIA CD-ROM, Version 5.0, May 2001, Data © Crow Copyright 2001, Index + © System Simulation Ltd, The Stationery Office Ltd.

É importante mencionar que, após o tempo de irradiação das microondas, o equipamento aciona automaticamente uma etapa de ventilação, para que o sistema atinja a temperatura de, aproximadamente, 50 °C, sendo que, este tempo tem a duração de 20 min. Somente após esta etapa é que o forno de microondas pôde ser aberto e os frascos, então, retirados do sistema.

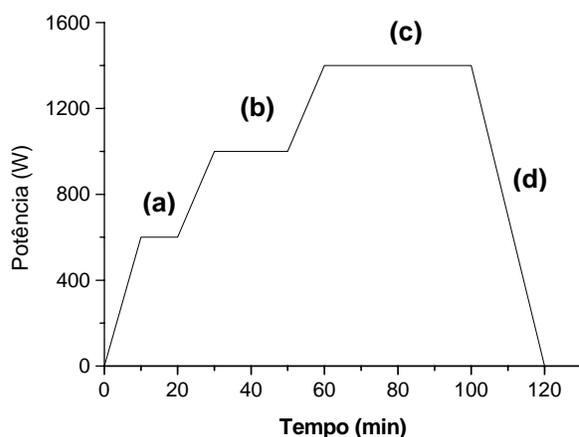


Figura 12. Rampa de tempo vs. potência aplicada no procedimento 1: (a) 600 W por 10 min; (b) 1000 W por 20 min; (c) 1400 W por 40 min; (d) ventilação por 20 min., (reagente: HNO₃ 1:1).

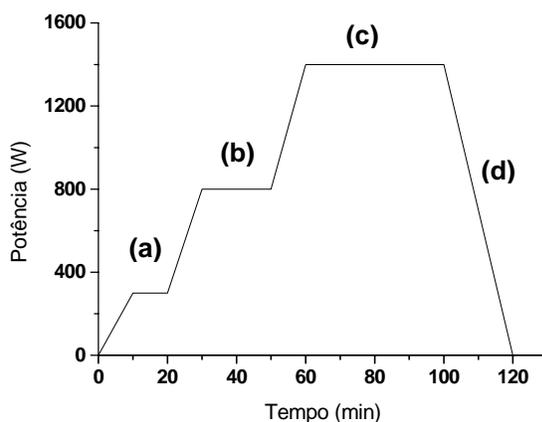


Figura 13. Rampa de tempo vs. potência aplicada no procedimento 2: (a) 300 W por 10 min; (b) 800 W por 20 min; (c) 1400 W por 40 min; (d) ventilação por 20 min., (reagente: HNO₃ concentrado + H₂O₂).

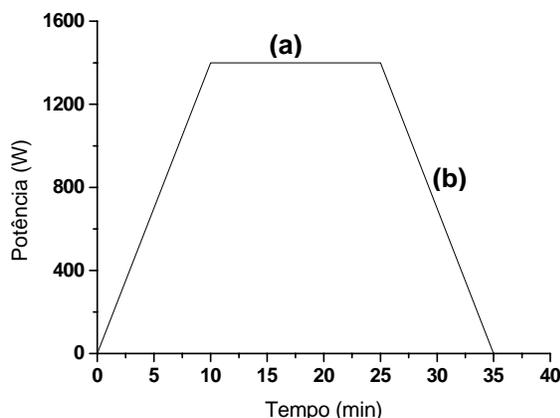


Figura 14. Rampa de tempo vs. potência aplicada no procedimento 3: (a) 1400 W por 15 min; (b) ventilação por 20 minutos, (reagentes: HNO₃ concentrado; HNO₃ concentrado + H₂O₂; HNO₃ 1:1; HNO₃ 1:1 + H₂O₂).

3.7. PROCEDIMENTO PARA OBTENÇÃO DOS ESPECTROS DE INFRAVERMELHO

Colocou-se a amostra de carbamazepina em pó ou o produto formado após a decomposição incompleta da amostra, quando utilizada a decomposição por via úmida, (empregando irradiação de microondas) sobre o acessório ATR universal até o preenchimento do orifício específico para a amostra. Após, aplicou-se uma força de 100 gauge e determinou-se o espectro realizando-se 16 varreduras. Os espectros obtidos podem ser observados nas Figs. 23 e 24.

3.8. PROCEDIMENTO PARA OBTENÇÃO DOS ESPECTROS DE MASSA

A amostra foi introduzida no espectro de massas. A coluna empregada foi HP5-MS de aproximadamente 1,5 m para promover a entrada do analito na fonte de íons, já que o composto nitrado não é volátil em condições cromatográficas normais. O uso de coluna “curta” tem sido utilizado em cromatografia rápida, mas tem aplicações para amostras que apresentam degradação térmica já que a temperatura do injetor pode ser reduzida.

Condições empregadas:

Coluna HP5-MS 1,5 m; diâmetro de 0,25 mm e 0,25 μm de filme.

Gás: hélio

Temperatura do injetor: 280 °C e pressão 47,49 psi e fluxo de 15 mL min⁻¹

Forno: 150 - 300 °C (rampa de 50 °C)

MS scan: 50 – 500 μa

MS Quadrupolo: 150 °C

MS Source: 230 °C

3.9. SISTEMA DE DECOMPOSIÇÃO POR COMBUSTÃO INICIADA POR MICROONDAS

Para o procedimento de decomposição por combustão iniciada por microondas da amostra de carbamazepina, foi empregado o mesmo sistema utilizado por Mesko.⁵¹ Este sistema é composto por um suporte de quartzo desenvolvido no laboratório, o qual foi inserido no frasco de quartzo utilizado para decomposição de amostras em forno de microondas disponível comercialmente, *Multiwave 3000*[®]. Detalhes e dimensões do suporte utilizado para o sistema estão mostrados na Fig. 15.

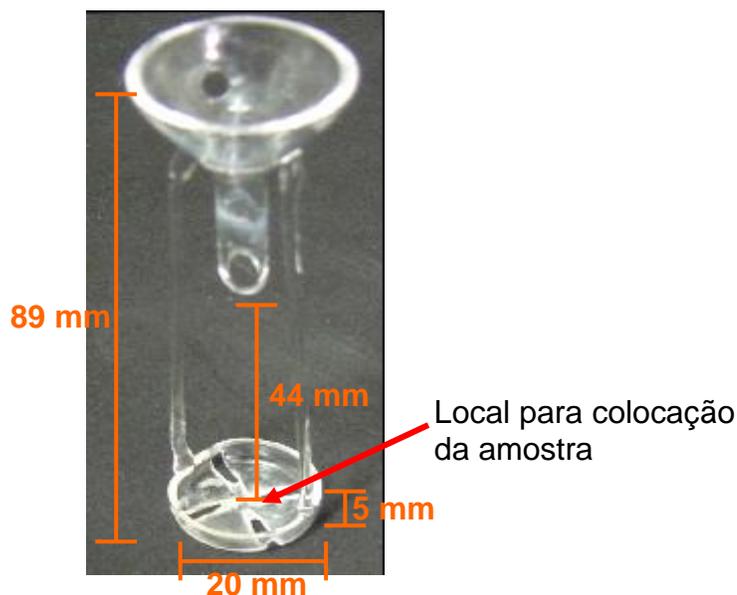


Figura 15- Suporte de quartzo utilizado no sistema de combustão iniciada por microondas (adaptado de Mesko).⁵¹

⁵¹MESKO, M.F., Dissertação de mestrado, Programa de Pós Graduação em Química, UFSM/RS, 2004.

O suporte de quartzo utilizado na decomposição da amostra por combustão iniciada por microondas contém, na parte superior, um funil e, na parte inferior uma base onde a amostra é colocada.

A Fig. 16 mostra o frasco de quartzo, a tampa com vedação de PTFE disponível comercialmente e o suporte de quartzo. A tampa possui uma válvula para alívio da pressão interna dos frascos e, quando esta válvula é aberta, os gases escapam por outra válvula situada na parte superior da tampa. No caso dos procedimentos de combustão, esta foi utilizada para a pressurização do sistema com oxigênio.



Figura 16. Sistema de decomposição por combustão iniciada por microondas (adaptado de Mesko).⁵¹

⁵¹MESKO, M.F., Dissertação de mestrado, Programa de Pós Graduação em Química, UFSM/RS, 2004.

O suporte da amostra é mantido suspenso na parte superior do frasco, sendo preso em uma pequena saliência na parte interna do frasco de quartzo. O suporte fica a uma distância de 50 mm do volume mínimo de solução absorvedora utilizada. O volume de 6 mL de solução absorvedora foi adotado neste trabalho. Este volume é recomendado pelo fabricante do forno de microondas como volume mínimo para emprego dos frascos de quartzo.⁵

3.10. PREPARO DA AMOSTRA PARA A COMBUSTÃO INICIADA POR MICROONDAS

3.10.1.1. *Pellets* preparados em prensa hidráulica manual

Foi utilizada uma prensa para preparar os *pellets*, esta consistiu-se de um cilindro, no qual foi feito um orifício no centro com 12 mm de diâmetro interno, conforme apresentado na Fig. 17 (a). Neste orifício estão posicionados dois pistões, sendo que o mais curto é colocado na parte inferior da prensa o qual pode ser removido, e serve como suporte para a amostra ser comprimida, ver Fig. 17 (b). O pistão maior é colocado no momento da prensagem da amostra, e posteriormente, auxilia na remoção da mesma, apresentado na Fig. 17 (c). As prensagens foram feitas em uma prensa hidráulica manual, as quais variaram de 900 kgf cm⁻² a 3600 kgf cm⁻².

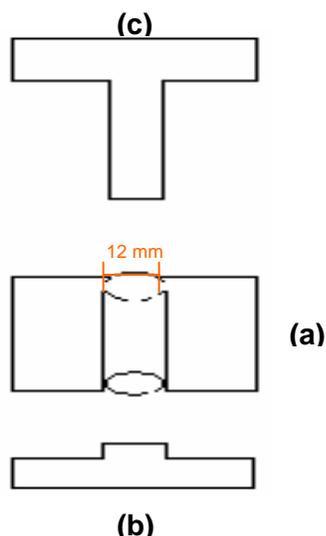


Figura 17. (a) Cilindro para adição da amostra a ser prensada; (b) base do cilindro; (c) pistão para comprimir e remover o *pellet*.

⁵Anton Paar GmbH, *Multiwave sample preparation system*, Plataforma system, Instruction Manual, Copyright[®], Graz, Áustria (2002), seções 3.4.2 e 6.1.2.

3.10.1.2. Papel gomado e cápsula de metilcelulose empregados como invólucro para a amostra

Para introduzir as amostras, em pó, no sistema de decomposição utilizado para o procedimento de combustão, estas foram envolvidas de duas formas diferentes: com papel gomado “Colomy®” para cigarros e com cápsula de metilcelulose. O papel empregado foi cortado em dois retângulos de 85 x 25 mm cada, moldados na forma de cilindros (um com 7 mm de diâmetro e o outro com 8 mm). Os cilindros foram fechados manualmente em uma das extremidades.

Foram pesados, exatamente, cerca de 250 mg de amostra no cilindro de 7 mm e o outro cilindro foi encaixado neste, (agindo como tampa) formando uma cápsula. Esta cápsula, sem a amostra, pesava cerca de 50 mg.

A cápsula de metilcelulose, também utilizada como invólucro para a amostra, foi a de nº 00 (20 x 7 mm), de aproximadamente 37 mg, disponível comercialmente, (RP Scherer Germany). As massas de amostra adicionadas dentro das cápsulas, variaram entre 100 e 300 mg.

3.10.1.3. *Pellets* preparados em suspensão de ágar

Foram feitos *pellets* empregando ágar para preparar uma suspensão composta por água, ágar e amostra. A massa de ágar adicionada foi correspondente a 10% da massa da amostra, (p.ex., 25 mg de ágar e 250 mg de amostra). O volume de água adicionado para formar a suspensão foi de 1 mL por *pellet*. Primeiramente, a água foi adicionada em um béquer e este levado a uma chapa de aquecimento com agitação magnética a uma temperatura inferior à ebulição. Posteriormente, o ágar foi adicionado à água e esta suspensão opalescente ficava sob aquecimento e agitação até transformar-se numa suspensão límpida. Quando a suspensão estava próxima a entrar em ebulição, a temperatura foi reduzida a aproximadamente, 90 °C. A seguir a massa de amostra foi adicionada e a velocidade de agitação aumentada para que a homogeneização fosse eficiente. Foi confeccionado, no próprio laboratório, uma placa de PTFE dotada de orifícios com capacidade de 3 mL, conforme mostrada na Fig. 18. Esta suspensão foi colocada na placa e levada à estufa a uma temperatura de, aproximadamente, 105 °C até que os *pellets* estivessem com peso constante (em torno de 4 horas).

Com esta placa foi possível preparar 20 *pellets* por vez. O branco foi preparado da mesma forma, porém, sem a adição da amostra.



Figura 18. Placa de PTFE com *pellets*

Para a verificação da eficiência do procedimento empregado, foram feitos ensaios de recuperação de analito, adicionando-se aos *pellets* volumes de 30 μL de uma solução de referência mista contendo Cd, Cu e Pb a uma concentração de 330 mg L^{-1} .

3.11. DECOMPOSIÇÃO POR COMBUSTÃO ASSISTIDA POR MICROONDAS

Para o procedimento de decomposição da carbamazepina foram pesados, exatamente, entre 150 e 300 mg de amostra na forma de *pellets* preparados com ágar. Na base do suporte de quartzo, ver Fig. 16, foi colocado um disco de papel de filtro de, aproximadamente, 20 mg. Sobre este papel foram adicionados 50 μL da solução de NH_4NO_3 6 mol L^{-1} (iniciador de combustão) e, posteriormente, o *pellet* foi colocado sobre o mesmo. Foi adicionado no frasco de quartzo do sistema, como solução absorvedora, 6 mL de água ou ácido (diluído ou concentrado) e, então, o suporte foi introduzido no mesmo. O sistema foi fechado e pressurizado com aproximadamente 20 atm com oxigênio, por cerca de 2 minutos. Os frascos, depois de fixados no rotor e colocada a capa de proteção foram levados ao forno de microondas.

Cabe ressaltar que, as condições utilizadas nos testes para a decomposição de carbamazepina por combustão iniciada por microondas foram feitas para os *pellets* com e sem adição dos analitos Cd, Cu e Pb.

Após a etapa de ventilação, as amostras foram recolhidas em frascos de polipropileno e aferidas a 25 mL com água e, posteriormente, feita a determinação da concentração de Cu, Cd e Pb por FAAS.

3.11.1.1. Determinação do tempo de combustão

Para a observação do início da combustão e tempo em que a amostra permanecia queimando, foi utilizado o programa de checagem da calibração do forno (*check calibration*), pois, durante o aquecimento, o eixo que move o rotor fica parado e o sistema de verificação do rotor ou posicionamento dos frascos não é ativado, como é feito normalmente. Desta forma, ao invés de se posicionar o béquer com água no centro do forno, foi colocado o rotor contendo quatro frascos de quartzo, sendo que no frasco em que a amostra estava contida para observação do início e término do processo de combustão foi feito um corte frontal na capa de proteção de plástico como pode ser visto na Fig. 19 (a). Este frasco foi posicionado de maneira que a combustão pudesse ser vista, conforme ilustrada na Fig. 19 (b). Nesta etapa, a potência máxima irradiada foi de 1000 W, porém, apenas durante o tempo necessário para a ignição da amostra. Por questão de segurança ao operador, o procedimento descrito acima não é recomendável ser feito



(a)



(b)

Figura 19. (a) Proteção do frasco de quartzo com corte frontal para visualização do processo de combustão da amostra e (b) processo de combustão.

3.11.1.2. Taxa de aumento de pressão empregada para o processo de combustão iniciada por microondas para a decomposição de carbamazepina.

O programa original do forno (v1.27) possibilita a variação da taxa de pressão de $0,8 \text{ bar s}^{-1}$. No momento em que esta taxa é excedida, durante o processo de combustão, a irradiação de microondas é interrompida e o sistema de refrigeração é acionado. Assim que a taxa de pressão é normalizada, a ventilação pára e reinicia-se o processo de irradiação das microondas. Há a possibilidade de se alterar esta condição, modificando-se o programa original do forno de microondas (v1.27) passando-se a utilizar o programa v1.27-SYNT que possibilita uma maior variação na taxa de aumento da pressão, sendo esta de até 3 bar s^{-1} . No desenvolvimento deste trabalho, para garantir um tempo maior de irradiação de microondas, optou-se por utilizar o programa v1.27-SYNT. Assim, as condições empregadas para o procedimento de decomposição por combustão iniciada por microondas para a decomposição da carbamazepina foram: potência de 1400 W, taxa de variação da pressão de 3 bar s^{-1} , temperatura máxima de $280 \text{ }^{\circ}\text{C}$ e pressão máxima de 80 bar.

3.12. TEMPOS DE REPOUSO E DE REFLUXO

Para verificar o procedimento de decomposição da carbamazepina empregando combustão iniciada por microondas foram testados diferentes tempos de repouso e refluxo. Os tempos de repouso estudados foram de 10, 20 e 30 min. Quando foi empregada apenas a etapa de combustão, isto é, o forno de microondas foi programado para irradiar as microondas durante 30 s. Passado este tempo, as amostras ficaram em repouso nos frascos sem despressurização, durante os diferentes tempos estudados. Após, os frascos foram despressurizados e as amostras decompostas foram coletadas em frascos de plástico e aferidos a 25 mL.

Para preparar as amostras empregando etapas de refluxo, o forno de microondas foi programado para irradiar as microondas durante diferentes tempos sendo estes 5, 10 e 15 min. Após a etapa de refluxo, os frascos foram despressurizados e as amostras decompostas foram coletadas em frascos de plástico e aferidos a 25 mL.

Para a verificação, se empregando o sistema proposto, com diferentes tempos de repouso e refluxo, poderia haver possíveis perdas de analitos, foram feitos ensaios de recuperação de analito, adicionando-se aos *pellets* volumes de 30 μL de uma solução de referência mista contendo Cd, Cu e Pb a uma concentração de 330 mg L^{-1} para cada elemento.

4. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

4.1 Calibração do forno de microondas

Para a utilização do forno de microondas no desenvolvimento deste trabalho, primeiramente, foi avaliada a potência total irradiada no interior deste, através da calibração, calculando-se a potência com base no aquecimento de uma massa conhecida de água colocada no interior do forno (ver item 3.5.3 – *Materiais e Métodos*). Após a calibração, a potência real calculada foi de 940 ± 17 W, correspondendo a 94% da potência nominal utilizada para a calibração (1000 W). A potência foi corrigida e, os valores referentes aos testes de calibração realizados posteriormente, não apresentaram variação superior a 1% do valor nominal.

4.2 Decomposição de carbamazepina em sistemas convencionais

Primeiramente, foram verificados na Farmacopéia Britânica, procedimentos de decomposição por via úmida em sistema fechado para algumas matérias-primas. Em alguns casos, é recomendada a utilização da bomba de decomposição no preparo de amostras para posterior determinação de metais-pesados. Este procedimento foi adaptado para a decomposição de carbamazepina.

Como o teste descrito na Farmacopéia Britânica para o *Ensaio-Limite para Metais- Pesados* empregado para a decomposição da carbamazepina, é feito por via seca em sistema aberto empregando forno mufla. Primeiramente, o procedimento empregado foi a decomposição por via úmida em bloco digestor. Depois de empregar este teste, foi feita a decomposição por via úmida adaptada da Farmacopéia Britânica utilizando sistema fechado, Berghof. O último teste utilizado para a decomposição da carbamazepina por via úmida em sistema fechado, foi a utilização do forno de microondas, cujo procedimento foi adaptado de Knapp e colaboradores³⁷. Segundo estes autores³⁷, a eficiência do ácido nítrico é dependente da temperatura de decomposição. O aumento da pressão é necessário para elevar o ponto de ebulição do ácido nítrico.

³⁷KNAPP, G., et al., *J. Anal. At. Spectrom.* 2002, 17, 1121-1125.

Segundo Würfels e colaboradores⁶⁶, para a decomposição de todos os tipos de materiais orgânicos empregando apenas HNO₃, é necessário à utilização de um sistema que suporte temperaturas e pressões de até 300 °C e 100 bar, respectivamente. Em vista destes pressupostos, foram adaptadas as condições de pressão e temperatura segundo Knapp e colaboradores³⁹ para a decomposição de carbamazepina em sistema fechado empregando forno de microondas com frascos de quartzo.

Nos testes realizados para a decomposição da amostra empregando a decomposição convencional assistida por microondas em sistema fechado, *Multiwave 3000*[®], foram utilizados diferentes tempos e taxas de aquecimento que estão apresentadas nas Figs. 12 a 14 (ver item 3.6.4 – *Materiais e Métodos*).

Os procedimentos aplicados para a decomposição por via úmida foram feitos aplicando condições cada vez mais drásticas. Inicialmente, fez-se a decomposição por bloco digestor, após, Berghof e por último, forno de microondas.

Contudo, estes sistemas não foram adequados, pois as decomposições não foram completas, porque, pôde-se verificar que todas as soluções apresentaram coloração amarela intensa e a presença de muitas partículas sólidas remanescentes, conforme pode ser observado na Fig. 20.



Figura 20. Solução resultante após decomposição com HNO₃ em forno de microondas comercial *Multiwave 3000*[®].

Para verificar quais os compostos formados na decomposição incompleta da amostra, foram feitos estudos por cromatografia a gás acoplada com detecção por espectrometria de massa (GC-MS).

⁶⁶WÜRFELS, M., *et al.*, *Fresenius Z. Anal. Chem.* 317 (1984) 213.

³⁹KNAPP, G., *et al.*, *J. Anal. At. Spectrosc.* (2002) 17, 1121-1125.

A amostra utilizada foi o sólido resultante da decomposição incompleta da amostra com HNO_3 concentrado, empregando-se 15 min. de refluxo e potência de 1400 W. O sólido foi lavado com água até que o pH do resíduo de lavagem estivesse próximo de 6. Posteriormente, este foi levado à estufa e secado a uma temperatura de 60 °C por aproximadamente 2 horas.

Na Fig. 21 está mostrado o espectro de massa da amostra de carbamazepina antes da decomposição. Na Fig. 22 está ilustrado o espectro de massa do produto obtido após a decomposição incompleta nas condições acima citadas. As estruturas químicas apresentadas nos espectros são oriundas da biblioteca do software do equipamento utilizado.

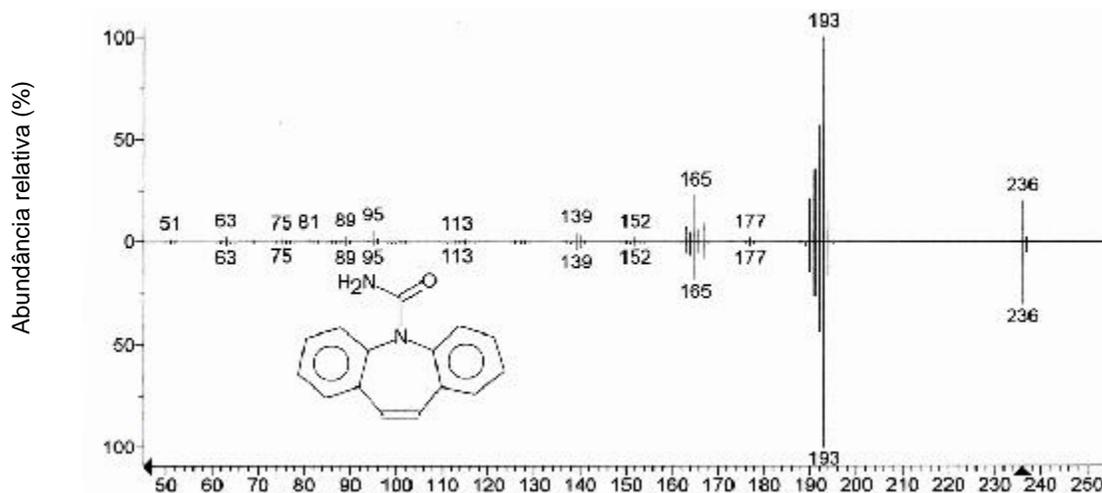


Figura 21. Espectro de massa da carbamazepina antes da decomposição em forno de microondas.

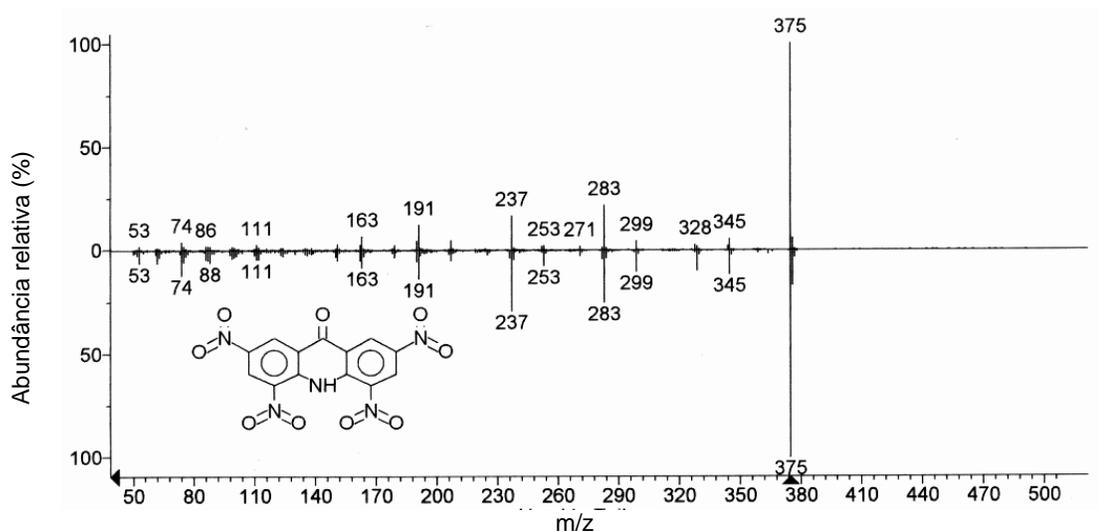


Figura 22. Espectro de massa do produto depois da decomposição incompleta em forno de microondas.

Interpretando o espectro da Fig. 23, possivelmente, as bandas na região de 872 cm^{-1} , são características de $\text{C}=\text{C}-\text{H}$. As bandas referentes a $\text{N}=\text{C}=\text{O}$ e $\text{C}=\text{O}$, provavelmente, estão situadas em 1671 cm^{-1} e a banda de $\text{H}_2\text{N}=\text{C}=\text{O}$ em 1592 cm^{-1} . A possível banda referente aos anéis aromáticos pode ser verificada em 763 cm^{-1} , característicos de anéis dissubstituídos. Nas bandas 3149 cm^{-1} e 3463 cm^{-1} , provavelmente, são características de anéis aromáticos e amida, respectivamente.⁵⁷

Com a obtenção destes dados, pode-se concluir que, a estrutura mostrada na Fig. 21 está correta, principalmente, ao se comparar com a fórmula estrutural da carbamazepina (Fig. 1) apresentada na FB.

⁵⁷REILLEY, C.N.; MacDONALD, A.M.G., *Advances in Analytical Chemistry and Instrumentation, the oxygen-flask method*, vol. 4, John Willey & Sons, Inc (1965) 76-88.

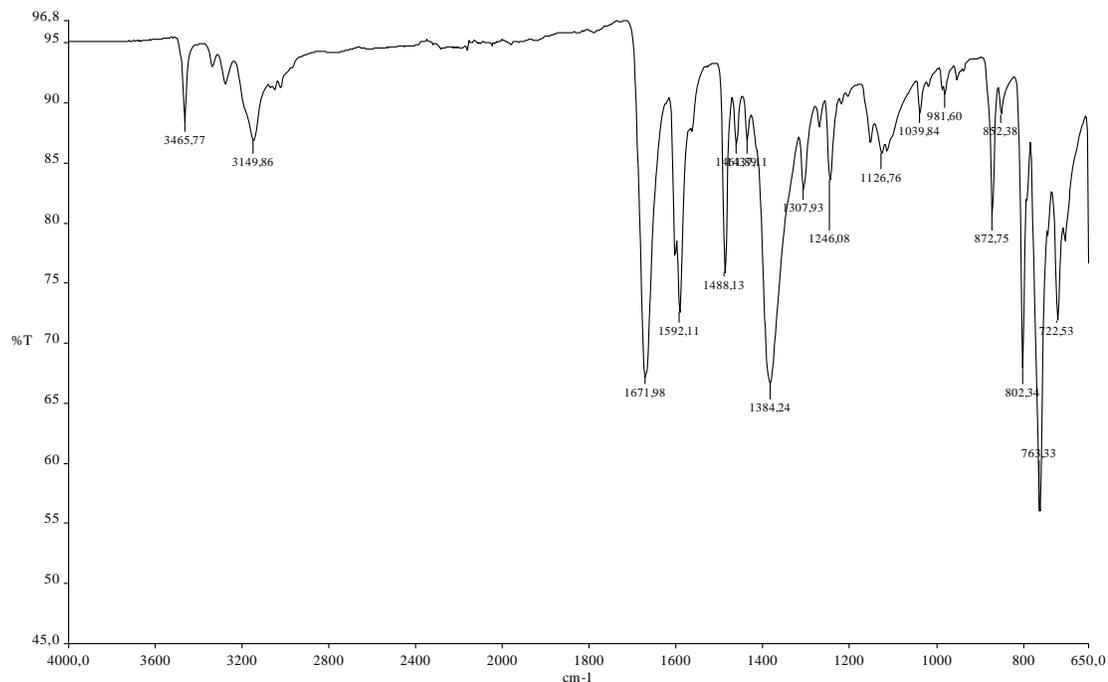


Figura 23. Espectro de infravermelho da amostra de carbamazepina

A partir do espectro mostrado na Fig. 22 pôde-se concluir que, possivelmente, ocorreram quatro nitrações nos anéis aromáticos (duas em cada anel) da carbamazepina durante a decomposição com HNO_3 assistida por radiação de microondas. Estes fragmentos podem ser evidenciados pelas diferenças de razão massa/carga de 46 (m/z do NO_2) em quatro pontos do espectro (345 para 299, 299 para 253, 283 para 237, 237 para 191). O fragmento de razão massa carga igual a 191 é possivelmente, a massa do composto formado menos os quatro grupos NO_2 . O fato de ocorrer quatro nitrações à estrutura da carbamazepina pode explicar a decomposição incompleta da amostra, uma vez que, é sabido que grupamentos NO_2 desativam o anel para sucessivos ataques.⁶²

Para uma melhor elucidação da provável estrutura do produto formado pela decomposição incompleta foi feita uma análise por infravermelho, mostrada na Fig. 24.

⁶² SOLOMONS, T.W.G., Química orgânica 1, Ed. LTC, 6ª Ed., Rio de Janeiro (1996), p. 696.

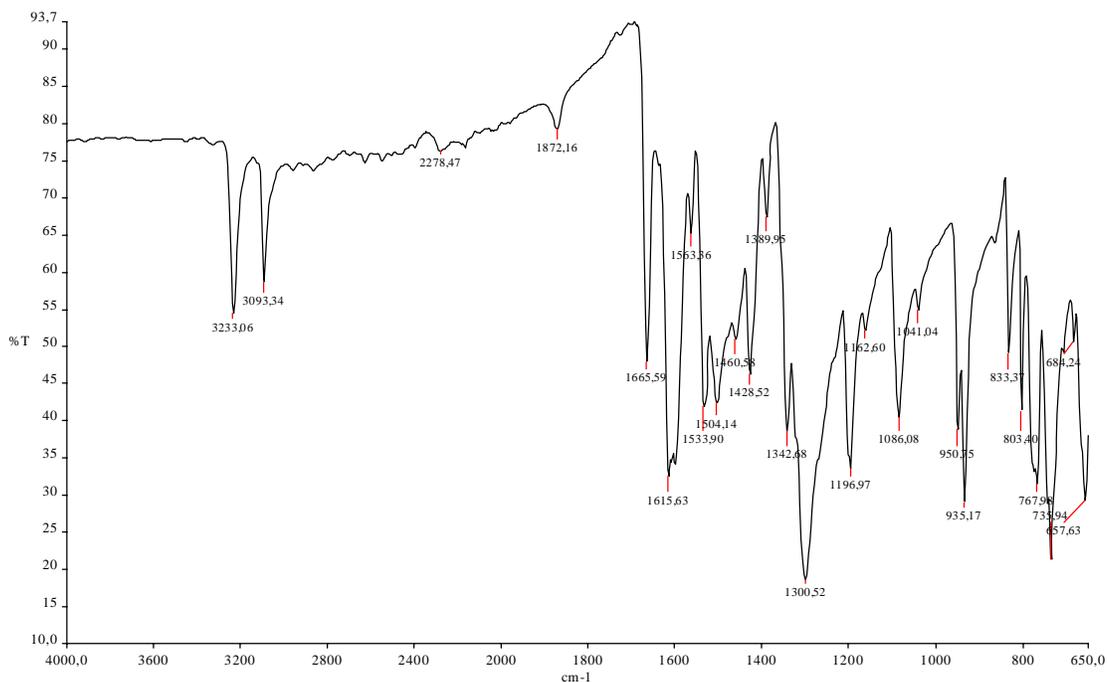


Figura 24. Espectro de infravermelho do produto depois da decomposição incompleta em forno de microondas.

O espectro obtido apresenta uma banda característica de carbonila (Ar–CO–Ar) em 1665 cm^{-1} . Outras bandas caracterizadas no espectro são as bandas que estão entre 1428 cm^{-1} e 1615 cm^{-1} de possíveis grupamentos NO_2 . A região característica de uma ligação N–H, está possivelmente em 3233 cm^{-1} , a provável região característica de uma ligação =C–H é 3093 cm^{-1} e provavelmente a banda de N–H está em 3233 cm^{-1} e as bandas dos anéis aromáticos provavelmente encontram-se nas mesmas regiões dos grupos NO_2 .^{62,60}

Para melhor elucidar a natureza do composto formado pela decomposição incompleta da carbamazepina, foi feita análise por ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ^1H). Conforme pode-se analisar no anexo I, não há sinais referentes aos possíveis hidrogênios vinílicos da molécula original, que deveriam aparecer na região entre 5,5 e 7,0 ppm.

⁶² SOLOMONS, T.W.G., Química orgânica 1, Ed. LTC, 6ª Ed., Rio de Janeiro (1996), p. 696.

⁶⁰ SILVERSTRE, R.M., WEBSTER, F.X., Identificação Espectroscópica de compostos orgânicos, Ed. LTC, 6ª Ed., Rio de Janeiro, (2000) 95-99.

Acredita-se, também, que com uma análise de RMN de ^{13}C , poderia-se chegar a uma conclusão mais plausível da estrutura do composto obtido, após a decomposição incompleta da carbamazepina, principalmente no que diz respeito à formação da carbonila entre os dois anéis aromáticos. Até o momento, tendo estas informações obtidas (espectrometria de massa, de infravermelho e ressonância magnética nuclear de hidrogênio) suspeita-se que a provável estrutura formada seja a estrutura mostrada na Fig. 21. Porém, estudos mais detalhados deverão ser feitos para confirmação desta suposição.

Tendo-se em vista que os procedimentos de decomposição efetuados não foram adequados para a carbamazepina, optou-se, então, por decompor esta amostra empregando o procedimento de decomposição por combustão iniciada por microondas.

O procedimento empregado, foi adaptado de Mesko⁵¹ a qual empregou este sistema para a decomposição de leite em pó integral e fígado bovino para posterior determinação de Cu e Zn por FAAS. Para a adaptação deste procedimento⁵¹ primeiramente, realizou-se um estudo para avaliar a melhor forma de introduzir a amostra no sistema. Já que estas não poderiam ser introduzidas na forma de pó, pelo fato de que a base do suporte de quartzo apresenta quatro ranhuras ver Fig. 15. Assim, houve a necessidade de estudar diferentes condições de introduzir a amostra no sistema de decomposição por combustão iniciada por microondas, as quais estão descritas no item 4.3.

⁵¹MESKO, M.F., Dissertação de mestrado, Programa de Pós Graduação em Química, UFSM/RS, 2004.

4.3 Preparo da amostra de carbamazepina

Inicialmente, o procedimento empregado no preparo da amostra, foi o mesmo utilizado por Mesko⁵¹. Foram pesados, exatamente, cerca de 100 a 300 mg de carbamazepina e prensados conforme apresentado no item 3.10.1.1–*Materiais e Métodos*. A decomposição da amostra empregando combustão iniciada por microondas não foi a mais adequada pelo fato de que houve a formação de fuligem nas paredes do suporte de quartzo. Pôde-se verificar que mesmo empregando diferentes pressões no momento da preparação dos *pellets*, ainda havia a formação de fuligem. Possivelmente, se fossem empregadas pressões mais elevadas com oxigênio no frasco de quartzo, esta formação de fuligem poderia ser eliminada.

Posteriormente, na tentativa de melhorar a decomposição da carbamazepina por combustão iniciada por microondas, foram utilizados papel “Colomy[®]” para cigarros e cápsulas de metilcelulose como invólucro para as amostras. Com a utilização destes materiais, as decomposições foram incompletas, pois, as soluções resultantes ficaram amareladas e com a formação de fuligem. No início da combustão, pode ter ocorrido uma expansão e rompido estes invólucros, devido ao aumento brusco de temperatura, e possivelmente projetou o pó sem queimar nas paredes do frasco e na solução absorvedora, conforme mostrado nas Figs. 25 (a) e (b). Por este motivo, estes procedimentos para o preparo da amostra foram descartados.

O último procedimento empregado para o preparo da carbamazepina, foi a preparação de *pellets* adicionando a amostra em uma suspensão de ágar em água. Empregando este procedimento, as soluções resultantes foram incolores e sem a formação de fuligem, conforme apresentada na Fig. 25 (c). Observou-se que, quando os *pellets* foram preparados com água, ágar e carbamazepina, a ignição sempre ocorreu (n=3). Possivelmente, a decomposição da amostra foi melhor pelo fato do ágar ser um bom combustível. Assim, neste caso, ele atuou como um auxiliar de combustão. Por este motivo, foi utilizada esta condição para o preparo das amostras.

Salienta-se que as condições empregadas nestes testes foram as mesmas, a massa de papel de filtro com aproximadamente, 20 mg; 50 μL de NH_4NO_3 6 mol L^{-1} e HNO_3 1 mol L^{-1} como solução absorvedora.

⁵¹MESKO, M.F., Dissertação de mestrado, Programa de Pós Graduação em Química, UFSM/RS, 2004.

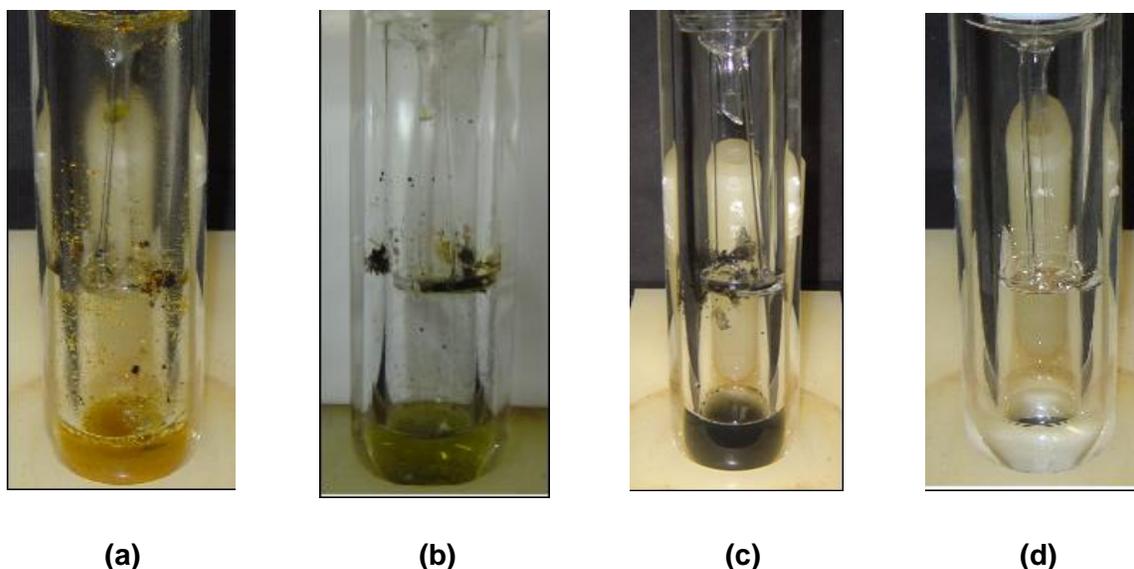


Figura 25. Ilustração da solução resultante do procedimento de combustão iniciada por microondas empregando (a) cápsula de papel “Colomy®” e (b) cápsula de metilcelulose como invólucro para a amostra, (c) *pellet* prensado *pellet* de agar e (d) *pellet* de agar.

4.4. Otimização do processo de preparo dos *pellets* com ágar

Primeiramente, foi testada qual a quantidade mínima de ágar necessária para a formação de uma suspensão sólida. Na Tabela 1 são mostradas as quantidades mínimas de ágar e o tempo necessário para a formação dos *pellets*.

Tabela 1. Quantidade mínima de ágar para formação do *pellet*.

| Ágar (mg) | Água (mL) | Tempo para formação do <i>pellet</i> (min) |
|--------------|--------------|---|
| 10 | 3 | não forma |
| 15 | 3 | 6 - 7 |
| 20 | 3 | 5 - 6 |
| 30 | 3 | 5 - 6 |

Conforme apresentado na Tabela 1, não houve a formação do *pellet* quando uma massa de 10 mg foi adicionada em 3 mL de água. A razão disto pode ser atribuída a massa de ágar empregada, que pode não ter sido suficiente para formação deste. Uma quantidade um pouco maior de massa de ágar, aproximadamente 15 mg, foi suficiente para formação do *pellet*. Isto significa que é necessário pelo menos 0,5% de ágar (m/m) para a formação do *pellet*, relacionado à água e ágar.

Depois ter sido investigada a quantidade mínima de ágar necessária para a formação dos *pellets*, foram estudados os parâmetros tempo (para formação de sólido e secagem) e temperatura para a obtenção do *pellet* utilizando água, ágar e amostra.

Inicialmente, procurou-se preparar os *pellets* com a quantidade mínima de ágar necessária para a formação destes, entretanto, depois de secos, os *pellets* com massas de, aproximadamente 250 mg, ficaram quebradiços e muitas vezes não foram possíveis tirá-los da placa de PTFE utilizada. O tempo necessário para secagem dos *pellets* foi de, aproximadamente, 6 horas a 80 °C para um volume de 3 mL de água. Para diminuir o tempo de secagem, foram testados volumes diferentes de água. Os volumes testados para uma massa de 250 mg de amostra foram 1; 1,5; 2 e 2,5 mL de água e 5% de ágar relacionado à massa de amostra.

Porém, pode-se observar que, como as amostras utilizadas no desenvolvimento deste trabalho apresentaram granulometrias diferentes, na maioria das vezes, empregando 5% de ágar para as amostras com a granulometria maior não formava o *pellet*. Então, optou-se por adicionar uma massa de ágar em excesso, sendo esta de 10% de ágar relacionado com a massa de amostra.

Assim, optou-se por utilizar um volume de 1 mL de água e de 10% de ágar em relação à massa de amostra. A temperatura de secagem dos *pellets* foi aumentada para 105 °C, reduzindo assim o tempo para, aproximadamente, 4 horas de secagem e os *pellets* obtidos nesta condição, ficaram mais uniformes deixando de serem quebradiços.

4.5 Escolha do iniciador da combustão

Realizou-se um estudo para a verificação do iniciador de combustão mais adequado para ignição da amostra. Neste trabalho, os reagentes investigados como iniciador da combustão foram HNO₃ concentrado, HClO₄ concentrado e NH₄NO₃ 6 mol L⁻¹, conforme Tabela 2. O volume de iniciador necessário para ocorrer este processo, também foi investigado. Estes estudos foram feitos com a utilização de papel de filtro como auxiliar de combustão. Então, o papel de filtro foi impregnado com estes reagentes e o procedimento foi o mesmo citado no item 3.11. – *Materiais e Métodos*. Os testes foram realizados em triplicata e os volumes adicionados foram de 25 e 50 µL para massas dos *pellets* de aproximadamente, 250 mg.

Tabela 2. Resultados obtidos com os iniciadores da combustão testados

| Solução | Volume | Resultado |
|---|------------|-------------------|
| HNO ₃ concentrado | 25 a 50 µL | Não queimou |
| HClO ₄ concentrado | 25 a 50 µL | Queimou / fuligem |
| NH ₄ NO ₃ 6 mol L ⁻¹ | 25 a 50 µL | Queimou |

Conforme os resultados apresentados na Tabela 2, o iniciador da combustão mais adequado para o desenvolvimento deste trabalho foi à solução de NH₄NO₃ 6 mol L⁻¹. O volume de iniciador da combustão utilizado neste trabalho, foi de 50 µL para os testes remanescentes.

4.6 Determinação dos tempos de ignição, combustão e das pressões e temperaturas máximas atingidas no sistema

Para avaliar o comportamento do processo de combustão iniciada por microondas (*Multiwave 3000*[®]) para a decomposição da carbamazepina, foi investigada a utilização de massa de amostra de aproximadamente 250 mg, pois esta seria a massa aproximada usada para a realização deste trabalho. Embora tenha sido usada massa de amostra em maior quantidade (aproximadamente 300 mg), optou-se por não trabalhar com essa massa de amostra porque para três amostras, uma na maioria das vezes não queimava ou ficava um pouco de fuligem na solução absorvedora. Para o processo de combustão, primeiramente, foi selecionado 1 min de irradiação das microondas, a taxa de aumento

da pressão foi de 3 bar s^{-1} , temperatura máxima $280 \text{ }^\circ\text{C}$ e pressão máxima de 80 bar. Pôde-se observar que empregando o tempo de 1 min de irradiação, nem todas as amostras queimavam, pois quando há um aumento brusco na pressão o equipamento para de irradiar as microondas e inicia o processo de resfriamento por pouco tempo, mas, possivelmente, quando isso ocorreu, nem todos os fracos foram irradiados. Então esse tempo foi aumentado para 90 s. Com o aumento do tempo da irradiação das microondas, as queimas passaram a ser mais reprodutivas. As pressões empregadas nos copos do forno de microondas *Multiwave 3000*[®], contendo a amostra e a solução absorvedora, variaram entre 15 e 22 bar. Quando empregada a pressão de 15 bar, as pressões máximas atingidas durante a combustão ficaram entre 22 e 25 bar. Quando a pressão aplicada foi de aproximadamente 20 bar, o pico máximo de pressão atingido foi de 40,7 bar. Portanto, a pressão utilizada para o desenvolvimento deste trabalho foi de aproximadamente 20 bar, pelo fato de que a pressão máxima alcançada no processo da combustão foi de, aproximadamente 50% a menos da pressão máxima de trabalho permitida que é de 80 bar. Foi empregado um pirômetro óptico (*Ultimax*[®] Infrared Thermometer - mod. Ux-20/600, limite até $3000 \text{ }^\circ\text{C}$, Ircon INC, Niles, Illinois- USA), para verificar as temperaturas atingidas durante o processo de combustão. As temperaturas atingidas foram cerca de $1400 \text{ }^\circ\text{C}$.

Após ter sido determinado o tempo de combustão, (item 3.11.1.1 - *Materiais e Métodos*), optou-se, como medida de segurança, por acompanhar o início da combustão pelo gráfico de potência vs. pressão (Fig. 26). Desta maneira, foi possível detectar o início da combustão por meio do brusco aumento na pressão interna do frasco de quartzo. Pôde-se verificar que no momento em que iniciou a irradiação das microondas, a pressão estava em, aproximadamente, 22 bar e, após alguns segundos, esta passou para, aproximadamente, 36 bar, o que confirmava a ocorrência da combustão. Também pôde ser verificado que quando o tempo de refluxo estava próximo a 9 min, a pressão atingida foi de 80 bar e assim permaneceu até o término do processo. A temperatura da solução absorvedora variou de 230 e $240 \text{ }^\circ\text{C}$ durante a etapa de refluxo.

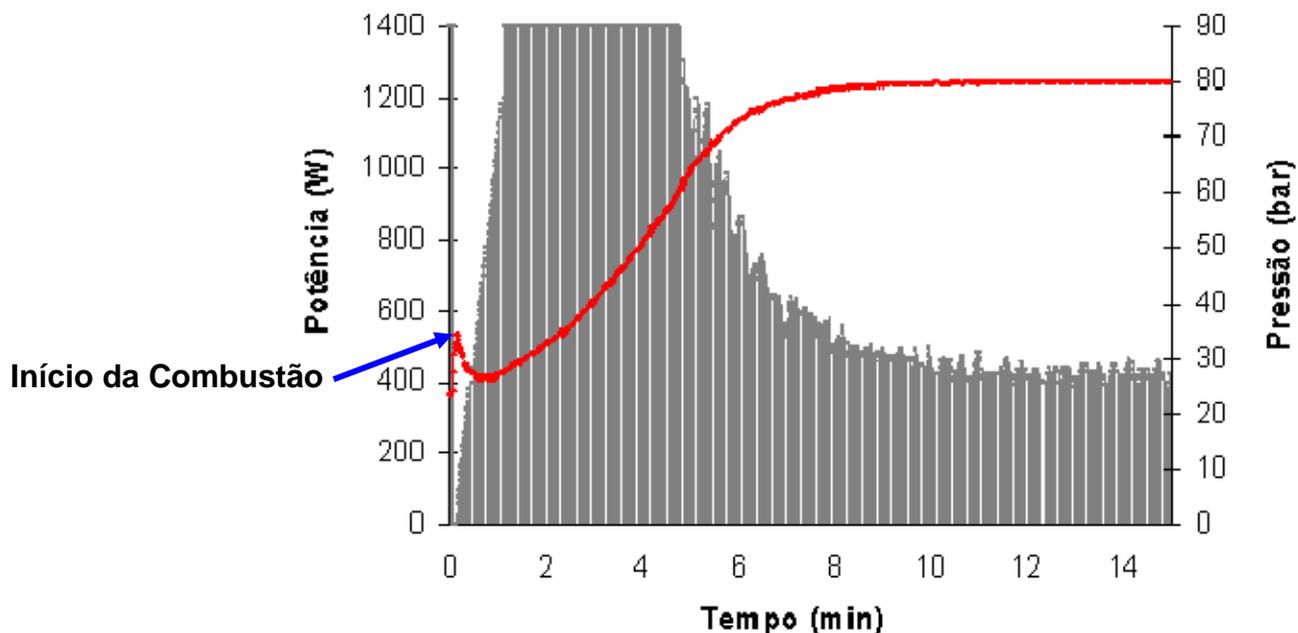


Figura 26. Perfil do gráfico característico da combustão da amostra de carbamazepina. Barras verticais em cinza representam a potência irradiada de microondas e a linha vermelha representa a variação de pressão interna durante a combustão e a etapa de refluxo.

4.7 Otimização do procedimento para a adição dos analitos Cd, Cu e Pb nos *pellets* preparados com ágar

Para o desenvolvimento deste trabalho, as amostras foram preparadas em duas etapas. Primeiramente, as amostras foram decompostas empregando combustão iniciada por microondas apenas em *pellets* da amostra, sem a adição dos analitos. Foram feitas as determinações da concentração de Cd, Cu e Pb, por FAAS. Os resultados obtidos nas determinações da concentração dos analitos foram abaixo do limite de detecção (LD) da técnica, os quais foram: $5,4 \mu\text{g g}^{-1}$; $3,1 \mu\text{g g}^{-1}$ e $7 \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente.

O segundo passo, foi investigar a melhor forma de adição dos analitos Cd, Cu e Pb, aos *pellets*. Testou-se a adição da solução contendo os analitos estudados no momento da preparação dos *pellets*. Este procedimento não foi viável, pois, a solução de referência foi preparada em HNO_3 0,2% sendo que, neste pH, a suspensão de ágar e amostra não se formou, verificando-se desta forma a necessidade do pH ser neutro

ou levemente básico. Tendo em vista que houve formação de resíduo remanescente da suspensão no béquer em que esta era preparada, optou-se por fazer a adição dos analitos momentos antes de colocar os pellets nos suportes de quartzo. Após esta etapa, os suportes contendo a amostra foram colocados dentro dos frascos de quartzo que continham a solução absorvedora.

Estudou-se a eficiência do procedimento de decomposição empregado para a decomposição da carbamazepina, através de testes de recuperação dos analitos Cd, Cu e Pb nos *pellets*. A concentração dos analitos, depois da solução aferida a 25 mL, foi de 0,4 mg L⁻¹. Cabe ressaltar que para realização das medidas, as soluções de referência para a obtenção da curva de calibração foram preparadas utilizando o solvente de acordo com a solução absorvedora, levando em consideração a concentração final do ácido, quando este foi aferido a 25 mL após o procedimento de decomposição por combustão.

4.8 Otimização do procedimento para a determinação de Cd, Cu e Pb nas amostras de carbamazepina

Após a otimização das melhores condições para o procedimento de combustão, fez-se uma avaliação da influência do tempo necessário para absorção dos gases gerados pelo processo de combustão. Estes tempos foram fixados em 10, 20 e 30 min de repouso após a combustão. Posteriormente, foi feita a avaliação da influência do tempo de refluxo, para melhor recuperação dos elementos adicionados aos *pellets*.

Conforme se pode observar na Fig. 27, empregando água como solução absorvedora, as recuperações para Cd, Cu e Pb foram acima de 90% quando, após a combustão, foi empregada uma etapa de refluxo. Primeiramente, buscou-se a razão destas recuperações, pois, é possível que após a combustão sejam formados os óxidos dos respectivos analitos. É importante considerar que os óxidos são insolúveis em água como, p. ex. o óxido de chumbo, que é solúvel em álcalis⁴².

⁴²LAMBLE, K.J., HILL, S.J., *Analyst* 123 (1998) 103R-133R.

Neste caso, se, por exemplo, o produto formado após a decomposição fosse óxido de chumbo, provavelmente, precipitaria, pelo fato de que a solução absorvedora após a combustão tem o pH ácido, em média $2,6 \pm 0,1\%$ ($n=3$). O Cu reage com o oxigênio formando óxidos insolúveis em água. Contudo, no caso das amostras de carbamazepina em que estes analitos foram adicionados, após a combustão, não se observou (visualmente) a formação de precipitados dos analitos, as soluções ficaram incolores e as recuperações foram acima de 90%. É importante ressaltar, que empregando este sistema fechado de decomposição por combustão iniciada por microondas, há a vantagem sobre os sistemas empregando bomba de combustão ou Schöniger, pois nestes, não há a possibilidade de se empregar uma etapa adicional de refluxo.

Portanto, utilizando este sistema de combustão iniciada por microondas, há a possibilidade de se utilizar água como solução absorvedora e empregar uma etapa de refluxo após a combustão, resultando assim, recuperações para Cd, Cu e Pb acima de 90%.

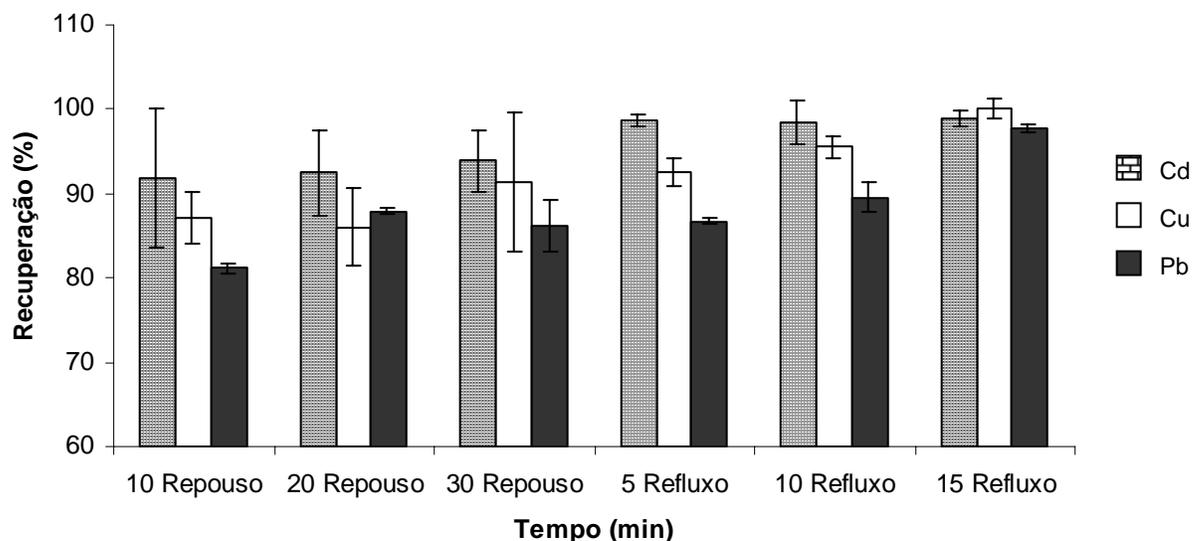


Figura 27. Influência do emprego de H₂O como solução absorvedora na recuperação do Cd, Cu e Pb em diferentes tempos de repouso e refluxo após a combustão

⁴⁴LEE, J.D., Química Inorgânica: um novo texto conciso, Ed. Edgard Blücher Ltda, São Paulo 1980, p.188.

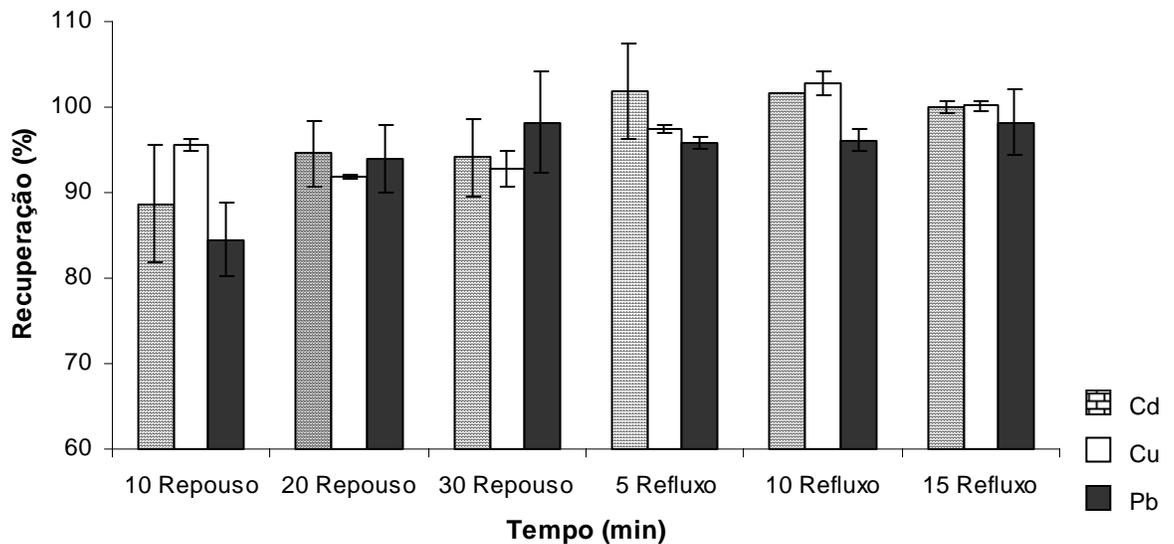


Figura 28. Influência do emprego de HNO_3 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ como solução absorvedora na recuperação do Cd, Cu e Pb em diferentes tempos de repouso e refluxo após a combustão

Observa-se na Fig. 28 que, se a solução absorvedora empregada for HNO_3 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, os resultados obtidos são um pouco mais altos, sendo estes próximos a $100 \pm 1\%$ para Cd e Cu. Para Pb as recuperações foram em média $96 \pm 1\%$, não diferindo de quando a solução absorvedora empregada foi água. O tempo de refluxo nesta condição diminui para 10 min de refluxo após a combustão.

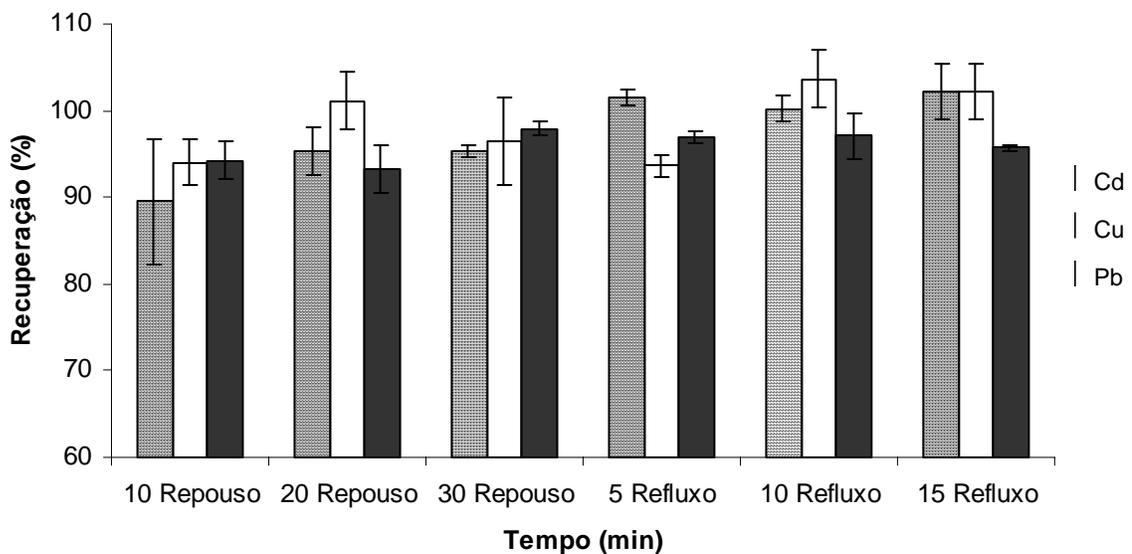


Figura 29. Influência do emprego de HNO_3 1 mol L^{-1} como solução absorvedora na recuperação do Cd, Cu e Pb em diferentes tempos de repouso e refluxo após a combustão

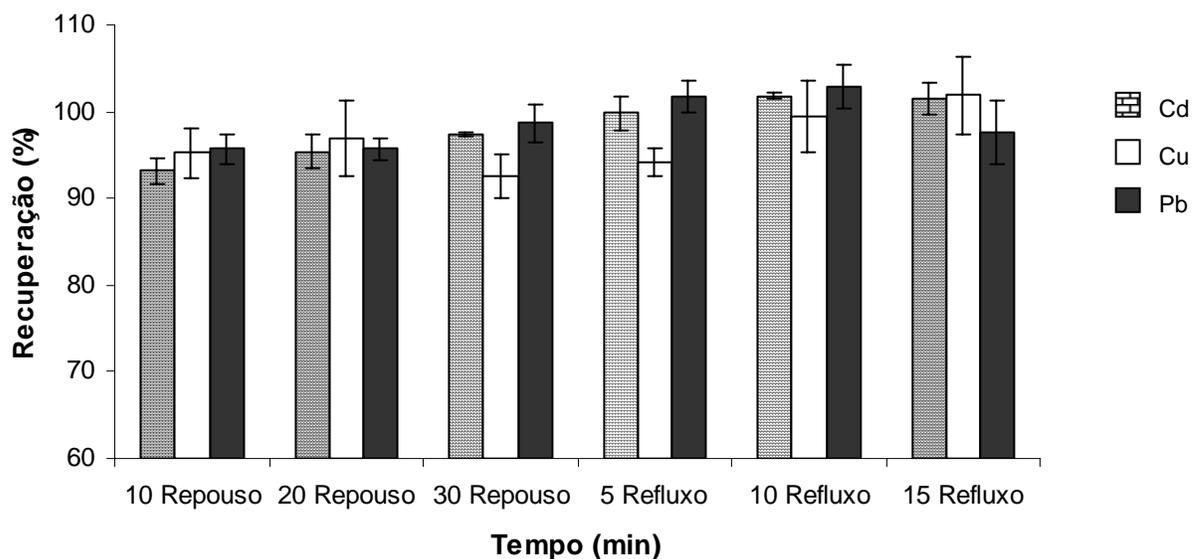


Figura 30. Influência do emprego de HNO_3 7 mol L^{-1} como solução absorvedora na recuperação do Cd, Cu e Pb em diferentes tempos de repouso e refluxo após a combustão

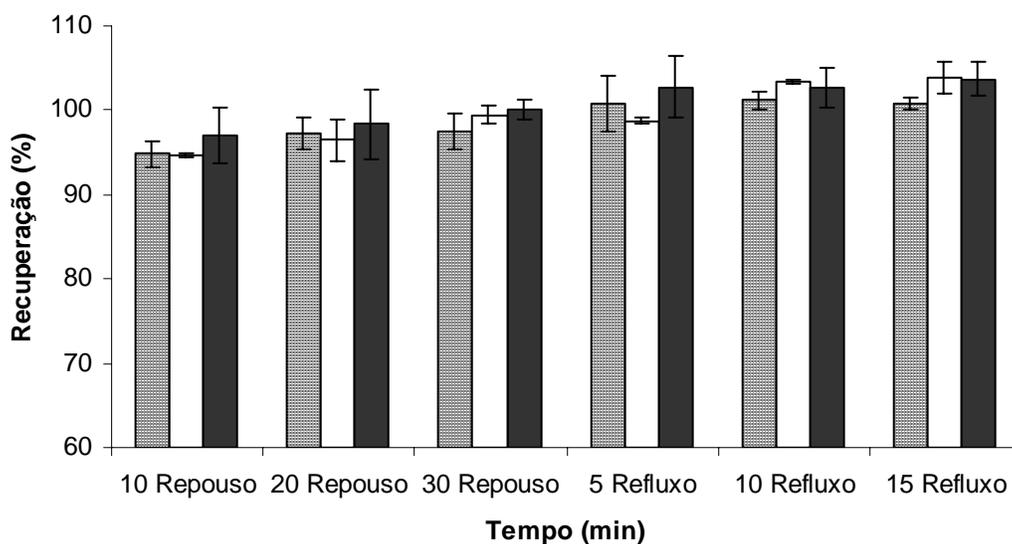


Figura 31. Influência do emprego de HNO_3 14 mol L^{-1} como solução absorvedora na recuperação de Cd, Cu e Pb em diferentes tempos de repouso e refluxo após a combustão

Ao comparar as Figs. 29 a 31 pode-se concluir que, empregando HNO_3 concentrado ou diluído, as recuperações são acima de 90% somente quando empregada uma etapa de repouso após a combustão, não sendo necessária uma etapa de refluxo. Em anexo está o estudo estatístico realizado para comparação dos

resultados obtidos onde estão apresentadas condições em que houve diferenças significativas entre as medidas realizadas.

Para comparar as recuperações dos analitos adicionados empregando combustão iniciada por microondas com o procedimento clássico recomendado para a decomposição da carbamazepina, foi feita a decomposição da amostra adaptando-se o procedimento descrito na Farmacopéia Britânica. Este procedimento emprega a decomposição por via seca em mufla.

No momento do preparo da amostra foram adicionadas soluções contendo quantidades conhecidas de Cd, Cu e Pb. A Fig. 32 apresenta os valores de recuperação encontrados para estes elementos. Como pode ser verificada, a recuperação máxima foi de $93,12 \pm 4,4\%$ para Cu. Para Cd e Pb, as recuperações foram inferiores, $87,62 \pm 4,8\%$ e $69,7\%$, respectivamente. Para Pb, além do baixo valor de recuperação, a variação foi maior que para os outros elementos (cerca de 9%). Estes valores mostram os problemas que podem estar associados ao se empregar uma técnica baseada em sistemas abertos e à alta temperatura ($600\text{ }^{\circ}\text{C}$), sujeitos a perdas de elementos voláteis.

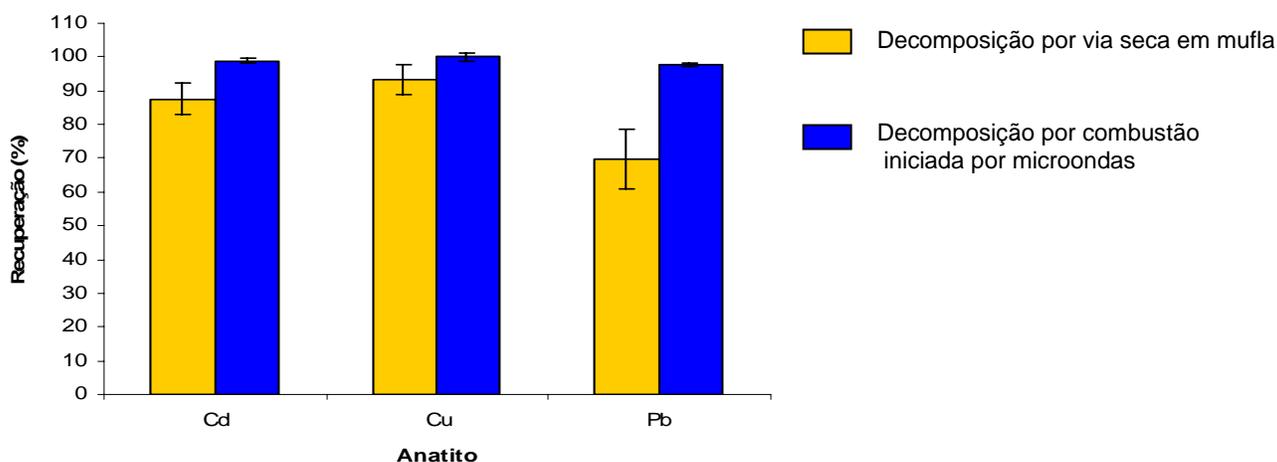


Figura 32. Recuperação do Cd, Cu e Pb empregando o sistema de decomposição por via seca em mufla segundo a Farmacopéia Britânica

Na Tabela 3 estão descritas as melhores condições para a decomposição da amostra de carbamazepina por combustão iniciada por microondas e posterior determinação de Cd, Cu e Pb por FAAS.

Tabela 3. Melhores condições do sistema de decomposição por combustão iniciada por irradiação de microondas para decomposição de carbamazepina

| | |
|---|---|
| Quantidade de amostra | 250 mg |
| Solução absorvedora | H ₂ O ou HNO ₃ (concentrado ou diluído) |
| Volume da solução absorvedora | 6 mL |
| Volume de NH ₄ NO ₃ 6 mol L ⁻¹ | 50 µL |
| Pressão O ₂ | 15 bar |
| Tempo de irradiação das microondas | 90 s (para decompor quatro amostras) |

6. CONCLUSÃO

Como foi apresentado no decorrer deste trabalho, a utilização dos sistemas convencionais de decomposição por via úmida não foram eficientes. Utilizando-se o procedimento de decomposição indicado pela Farmacopéia Britânica (BP), pôde-se verificar que as perdas dos analitos adicionados foram consideráveis, principalmente, no caso do chumbo, o qual as recuperações foram abaixo de 70% .

Cabe ressaltar que, além das recuperações empregando a combustão iniciada por microondas em sistema fechado terem sido melhores, o tempo necessário para a decomposição da carbamazepina é consideravelmente reduzido. Pelo procedimento de decomposição da amostra indicado na BP, o tempo de decomposição é de, aproximadamente, 4 h. Empregando o procedimento proposto, a decomposição leva em média 35 min, quando após a combustão, é feita uma etapa de refluxo. Deve-se considerar também, a menor possibilidade de contaminação da amostra proveniente do ambiente externo ao se comparar com o procedimento da BP. Ademais, este procedimento frente aos demais sistemas de decomposição estudados, foi o único que se mostrou capaz de efetuar a decomposição da carbamazepina.

Ao se comparar com procedimentos clássicos de Schöniger e bomba de combustão, o sistema proposto para a decomposição da carbamazepina empregando combustão iniciada por microondas em sistema fechado, tem a vantagem da possibilidade de refluxo após a combustão, podendo degradar eventuais resíduos da combustão, bem como solubilizar analitos que possam ter ficado aderidos nas paredes do frasco e/ou no suporte de quartzo.

Há a possibilidade de empregar como solução absorvedora água ou ácido nítrico diluído, neste caso, diminuindo assim a acidez final da solução, além de diminuir a quantidade de resíduos gerados.

É importante considerar que este procedimento, provavelmente poderá ser empregado para a decomposição de outros fármacos que não são decompostos em sistemas convencionais de decomposição de amostras por via úmida. Portanto, com a utilização deste procedimento para a decomposição de amostra de produto farmacêutico (princípio ativo), este fato talvez possa despertar o interesse em se empregar técnicas de preparo de amostra e de determinação de metais pesados utilizando procedimentos e técnicas que estão em evidência, como por exemplo, AAS ou ICP-MS, no controle de qualidade de produtos farmacêuticos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABU-SAMRA, A., MORRIS, J.S., KOIRTYONANN, S.R., Wet ashing of some biological samples in a microwave oven, *Anal. Chem.* 47 (1975) 1475-1477.
2. AHSAN, S., KANECO, S., OHTA, K., MIZUNO, T., SUZULI, T., MIYADA, M., TANIGUCHI, Y., Eletrothermal atomic absorption spectrometric determination of lead in calcium drug samples by direct atomization technique, *Anal. Chim. Acta* 362 (1997) 279-284.
3. AHSAN, S., KANECO, S., OHTA, K., MIZUNO, T., TANIGUCHI, Y., Direct determination of cadmium in calcium drug samples using electrothermal atomic absorption spectrometry with a metal tube atomizer and thiourea as a matrix modifier, *Talanta* 48 (1999) 63-69.
4. ANDERSON, R., *Sample pretreatment and separation, analytical chemistry by open learning*, John Wiley & Sons, New York (1987) 1-8, 97-99
5. Anton Paar GmbH, *Multiwave 3000[®] microwave sample preparation system*, Plataform system, Instruction Manual, Copyright[®], Graz, Áustria (2002) seções 3.4.2 e 6.1.2.
6. ARAB-ABOU, A.A.K. e ABOU DONIA, M. A., Heavy metals in Egyptian Spices and Medicinal Plants and the effect of processing on their levels, *J. Agric. Food Chem.* 48 (2000) 2300-2304.
7. ARAÚJO, G.C.L., NOGUEIRA, A.R.A., Single vessel procedure for acid-vapour partial digestion in a focused microwave: Fe and Co determination in biological samples by ETAAS, *Analyst* 125 (2000) 1861-1864.

8. ABARCA, A., CANFRANC, E., SIERRA, I., MARINA, M.L., *A validated flame AAS method for determining magnesium in multivitamin pharmaceutical preparation*, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 25 (2001) 103-108.
9. ANDERSON, R., *Sample pretreatment and separation, analytical chemistry by open learning*, John Wiley & Sons, New York (1987).
10. BARIN, J.S., Determinação de metais e não-metals em produtos farmacêuticos após decomposição em sistema fechado por combustão iniciada por microondas, Dissertação de mestrado, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Farmacêuticas, Universidade Federal de Santa Maria/RS, 2003.
11. BRITISH PHARMACOPOEIA CD-ROM, Version 5.0, May 2001, Data © Crow Copyright 2001, Index + © System Simulation Ltd, The Stationery Office Ltd
12. BOCK, R., *A handbook of decomposition methods in Anal. Chem.*, T&A Constable Ltd., Edinburgh (1979).
13. BURROUGHS, J.E., KATOR, W.G., ATTIA, A.I., A micro method for determining silicon in organosilicon compounds by modified oxygen flask method, *Anal. Chem.* 40 (1968) 657-658.
14. CALDAS, E.D., MACHADO, L.L., Cadmium, mercury and lead in medicinal herbs in Brasil, *Food. Chem. Toxicol.*, 42 (2004) 599-603.
15. CEM Innovators in microwave technology, <http://www.cem.com/pages/arwv.htm>, acessado em 20/01/2005.
16. Microanalytical Laboratory -
<http://chemweb.ucc.ie/Micro.htm> acessado em 10/02/2005
17. Com Ciência – Epilepsia – atualizado em 10/07/2002.
<http://www.comciencia.br/reportagens/epilepsia/ep05.htm> acessado em 11/01/2004.
18. Com Ciência – Epilepsia
<http://www.comciencia.br/reportagens/epilepsia/ep26.htm> - 46k acessado em 18/08/04.
19. Elementar Americas Inc.
<http://www.chnos.com/mikro-k4.htm>, acessado em 10/02/2005.

20. ERBER, D., QUICK, L., ROTH, J., CAMMANN, K., Investigation of sample decomposition for the trace determination of arsenic, antimony and selenium in organic materials using the Wickbold combustion method, *Fresenius J. Anal. Chem.* 346 (1993) 420-425.
21. ERBER, D., QUICK, L., WINTER, F., ROTH, J., CAMMANN, K., The Wickbold combustion method for determination of mercury under statistical aspects, *Fresenius J. Anal. Chem.* 349 (1994) 502-509.
22. FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 4ª Edição, Parte I, Atheneu Editora São Paulo Ltda, 1988, p.88.
23. FLORES, E.M.M., BARIN, J.S., PANIZ, J.N.G., MEDEIROS, J.A., KNAPP, G., Microwave-Assisted Sample Combustion: A technique for sample preparation in trace element determination. *Anal. Chem.* 76 (2004) 3525-3529.
24. FUGITA, M., TAKEDA, Y., TERAOKA, T., HOSHINO, O., UKITA, T., Microdetermination of mercury by the oxygen bomb combustion method, *Anal. Chem.* 40 (1968) 2042-2043.
25. FUNG, Y.S., DAO, K.L., Oxygen bomb combustion ion chromatography for elemental analysis of heteroatoms in fuel and wastes development, *Anal. Chim. Acta* 315 (1995) 347-355.
26. GUTENMANN, W.H., LISK, D.J., Rapid determination of mercury in apples by modified Schöniger combustion, *Agric. Food. Chem.* 8 (1960) 307-308.
27. HAN H-B, KAISER, G., TÖLG, G., Decomposition of biological materials, rocks, and soils in pure oxygen under dynamic conditions for the determination of selenium at trace levels, *Anal. Chim. Acta* 128 (1981) 9-21.
28. HASSAN, H.N.A., HASSOUNA, M.E.M. AND GAWARGIOUS, Y.A., Spectrophotometric determination of bismuth in organic compounds after oxygen-flask combustion, *Talanta* 35 (1988) 311-313.
29. HEMPEL, W., *Z. Angew. Chem.* 13 (1892) p. 393-394.
30. HICKS, J.E., FLEENOR, J.E., SMITH, H.R., The rapid determination of sulfur in coal, *Anal. Chim. Acta* 68 (1974) 480-483.
31. HOENIG, M., BAETEN, H., VANHENTENRIJK, S., VASSILEVA, E., QUEVAUVILLER, Ph., Critical discussion on the need for an efficient mineralization procedure for the analysis of plant material by atomic spectrometric methods, *Anal. Chim. Acta* 358 (1998) 85-94.

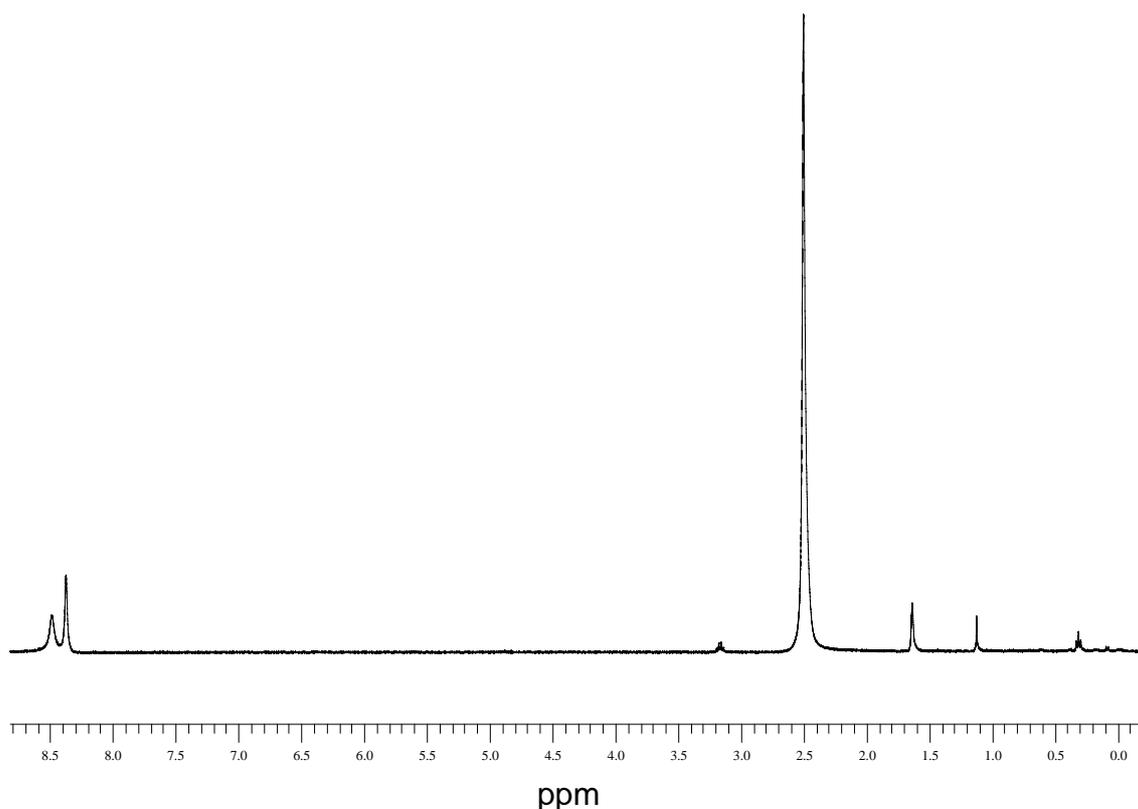
32. IYENGAR, G.V., SUBRAMANIAN, K.S., WOITTIEX, J.R.W., *Element analysis of biological samples – Principles and Practice*, CRC Press, Boca Raton, New York (1997) 105, 114-115.
33. JIN, Q., LIANG, F. HANQI, Z., ZHAO, L., HUAN, Y., SONG, D. Application of microwave techniques in analytical chemistry, *Trends Anal. Chem.* 18 (1999) 479-484.
34. JOHREM, L., Dry ashing, sources of error, and performace evaluation in AAS, *Microchim. Acta* 119 (1995) 211-218.
35. KIRSTEN, W. J., HANSSON, K.A., NILSSON, S.K., Determination of sulfate and sulfur in inorganic and organic materials, *Anal. Chim. Acta* 25 (1963) 101-117.
36. KNAPP, G., Der weg zu leistungsfähigen methoden der elementsuperenalyse in umweltproben, *Fresenius Z. Anal. Chem.* 317 (1984) 213-219.
37. KNAPP, G., Mechanized techniques for sample decomposition and element preconcentration, *Mikrochim. Acta* [Wien] II (1991) 445-455.
38. KNAPP, G., RAPTIS, S.E., KAISER, G., TÖLG, G., SCHRAMEL, P., SCHREIBER, B., A partially mechanized for the combustion of organic samples in a stream of oxygen with quantitative recovery of the trace elements, *Fresenius Z. Anal. Chem.* 308 (1981) 97-103.
39. KNAPP, G., WASILEWSKA, M., GOESSLER, W., ZISCHKA, M., MAICHIN, B., Efficiency of oxidation in wet digestion procedures and influence from residual organic carbon content on selected techniques for determination of trace elements, *J. Anal. At. Spectrom.* 17 (2002) 1121-112.
40. KRUG, F.J., Apostila “Métodos de Decomposição de Amostras” IV Workshop sobre Preparo de Amostras, 22 a 25 de Abril de 2003, Salvador – BA, 4ª edição, p. 54.
41. KRUG., F.J., Apostila “Métodos de decomposição de Amostras”, V Workshop sobre Preparo de amostras, 18 a 22 de outubro de 2004, São Paulo – SP, 5ª edição, p. 52.
42. LAMBLE, K.J., HILL, S.J., Microwave digestion procedures for environmental matrices, *Analyst* 123 (1998) 103R-133R.
43. LAU, C.M., URE, A.M., WEST, T.S., The determination of selenium by atom-traping atomic absorption spectrometry, *Anal. Chim. Acta* 141 (1982) 213-224.
44. LEE, J.D., Química Inorgânica: um novo texto conciso, Ed. Edgard Blücher Ltda, São Paulo 1980, p.188.

45. LIGHT, T.S., MANNION, R.F., Microdetermination of fluorine in organic compounds by potentiometric titration using a fluoride electrode, *Anal. Chem.* 40 (1968) 657-658.
46. LUQUE-GARCÍA, J.L., LUQUE DE CASTRO, M.D., Where is microwave-based analytical equipment for solid sample pré-treatment going?, *Trends Anal. Chem.* 22 (2003) 91-98.
47. MacDONALD, A.M.G., *Advances in Analytical Chemistry and Instrumentation* (1960) p. 75-116.
48. MATUSIEWICZ, H. Development of a high pressure/temperature focused microwave heated teflon bomb for sample preparation, *Anal. Chem.* 66 (1994) 751-755.
49. McGARY, E.D., Quantitative semiautomated colorimetric determination of thyroid (Iodine) in thyroid tablets, *J. Pharm. Sci.* 69 (1980) 948-951.
50. Mercury Analysis Working Party of BITC, Standarization of methods for the determination of traces of mercury; Part II. Determination of total mercury in materials containing organic matter, *Anal. Chim. Acta* 84 (1976) 231-257.
51. MESKO, M.F., Combustão iniciada por microondas em sistema fechado para a decomposição de amostras biológicas, Dissertação de mestrado, Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Santa Maria/RS, 2004.
52. MURAYAMA, M., SUZUKI, M., TAKITANI, S., Determination of trace anionic impurities in concentrated inorganic acids by recycle ion chromatography, *J. Chromat.* 466 (1989) 355-363.
53. MURAYAMA, M., SUZUKI, M., TAKITANI, S., Determination of selenium in drugs by oxygen flask combustion and ion chromatography, *J. Chromat.* 463 (1989) 147-152.
54. NÓBREGA, J.A., ARAÚJO, G.C.L., GONZALES, M.H., FERREIRA, A.G., NOGUEIRA, A.R.A., Effect of acid concentration on closed-vessel microwave-assisted digestion of plant materials, *Spectrochim. Acta Part B* 57 (2002) 2121-2132.
55. NÓBREGA, J.A., TREVISAN, L.C., ARAÚJO, G.C.L., NOGUEIRA, A.R.A. Focused-microwave-assisted strategies for sample preparation, *Spectrochim. Acta Part B* 57 (2002) 1855-1876.

56. RAPTIS, S.E., KNAPP, G., SCHALK, A.P., Novel method for the decomposition of organic and biological materials in a oxygen plasma excited at high frequency for elemental analysis, *Fresenius Z. Anal. Chem.* 316 (1983) 482-487.
57. REILLEY, C.N.; MacDONALD, A.M.G., Advances in Analytical Chemistry and Instrumentation, the oxygen-flask method, vol. 4, John Willey & Sons, Inc (1965) 76-88.
58. RENTERGHEM, D.V., CORNELIS, R., VANHOLDER, R., Radiochemical Determination of twelve trace elements in human blood serum, *Anal. Chim. Acta* 257 (1992) 1- 5.
59. SALVADOR, A., PASCUAL-MARTÍ, M.C., ARAGÓ, 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.
60. SILVERSTEIN, R.M., WEBSTER, F.X, Identificação Espectroscópica de Compostos Orgânicos, Ed. LTC, 6ª Ed., Rio de Janeiro, (2000) 67-101.
61. SILVESTRE, M.D., LÁGARDA, M.J., FARRÉ.R, MARTINEZ-COSTA, C., BRINES, J., Copper, iron and zinc determinations in human milk using FAAS with microwave digestion, *Food. Chem.* 68 (2000) 95-99.
62. SOLOMONS, T.W.G., Química orgânica 1, Ed. LTC, 6ª Ed., Rio de Janeiro (1996) 696.
63. SOUSA, G.B., CARRILHO, E.N.V.M., OLIVEIRA, C.V., NOGUEIRA, A.R.A., NÓBREGA, J.A., Oxygen bomb combustion of biological samples for inductively coupled plasma optical emission spectrometry, *Spectrochim. Acta Part B*, 57 (2002) 2195-2201.
64. WATANABE, N., TANIKAWA, N., OIKAWA, T., INOUE, S., FUKUYAMA, J., Improved quartz furnace method for chlorine and sulfur determination in municipal solid waste, *J. Mater. Cycles Waste Manag.* 5 (2003) 69-76.
65. WICKBOLD, R., Neue Schnellmethode zur halogenbestimmung in organischen substanzen, *Angew. Chem.* 64 (1952) 133-135.
66. WÜRFELS, M., JACKWERTH, E., STOEPLER, M., About the problem of disturbances of inverse voltammetric trace analysis after pressure decomposition of biological samples, *Fresenius Z. Anal. Chem.* 329 (1987) 459-461.

ANEXO I

Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio do produto formado na decomposição incompleta da carbamazepina



Os sinais que aparecem no espectro acima mostram (em 2,5 ppm) o sinal do dimetil-sulfóxido deuterado (solvente) e na região de, aproximadamente, 8,5 ppm o sinal oriundo dos anéis aromáticos, levemente deslocados devido à presença de grupos NO_2 ligados. Não há sinais de hidrogênios vinílicos, que deveriam aparecer na região de 5,5 a 7,0 ppm evidenciando, desta maneira, que houve uma oxidação da ligação dupla carbono-carbono da molécula de carbamazepina. Com base nestes resultados, acredita-se que a estrutura formada após a decomposição incompleta é a apresentada na Fig. 22. Os outros sinais de menor intensidade são impurezas presentes na amostra.

O espectro foi registrado empregando-se o seguinte equipamento: Espectrômetro Bruker, DPX 400 MHz. Os deslocamentos químicos δ estão relacionados em parte por milhão (ppm) em relação ao $\text{DMSO } d_6$.