

MÁRCIA FOSTER MESKO

**COMBUSTÃO INICIADA POR MICROONDAS EM SISTEMA FECHADO
PARA A DECOMPOSIÇÃO DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**UFSM
SANTA MARIA,RS – BRASIL
2004**

COMBUSTÃO INICIADA POR MICROONDAS EM SISTEMA FECHADO PARA A DECOMPOSIÇÃO DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS

por

MÁRCIA FOSTER MESKO

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

2004

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

A COMISSÃO EXAMINADORA ABAIXO ASSINADA, APROVA A
DISSERTAÇÃO

“COMBUSTÃO INICIADA POR MICROONDAS EM SISTEMA
FECHADO PARA A DECOMPOSIÇÃO DE AMOSTRAS
BIOLÓGICAS”

ELABORADA POR

MÁRCIA FOSTER MESKO

COMO REQUISITO PARCIAL PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE
MESTRE EM QUÍMICA – ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: QUÍMICA
ANALÍTICA

COMISSÃO EXAMINADORA



DR. ÉRICO MARLON DE MORAES FLORES – ORIENTADOR (UFSM)



DRA. ANA RITA DE ARAÚJO NOGUEIRA (EMBRAPA – PECUÁRIA SUDESTE)



DR. JOSÉ NERI GOTTFRIED PANIZ (UFSM)

Santa Maria, 24 de maio de 2004.

**Àos meus pais, Valter e Geni, pelo carinho, incentivo
e exemplos de trabalho, dedicação e honestidade.
Àos meus irmãos, Eduardo e Leonardo, pelo apoio
e amizade em todos os momentos.**

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Maria pela possibilidade de execução deste trabalho, meus agradecimentos.

Ao Prof. Dr. **Érico M. M. Flores** pela orientação, amizade, incentivo e exemplo profissional.

Ao Prof^a. Dr^a. **Ana Rita de Araújo Nogueira** pelas valiosas sugestões e participação como banca examinadora do trabalho.

Ao Prof. Dr. **José Neri Gottfried Paniz** pela amizade, participação como banca examinadora e, também, pelo importante apoio e contribuição durante a execução do trabalho.

Ao Prof. Dr. **Valderi Luiz Dressler** pela amizade, incentivo e apoio para a minha formação profissional e, também, por participar como banca de qualificação deste trabalho.

Aos amigos do Setor de Química Industrial e Ambiental pela convivência, amizade e incentivo.

.

A **Elyta Paniz** pela amizade e incentivo.

Aos amigos e colegas **Adriane, Diogo, Eliane e Juliano** pelo incentivo, disposição e colaboração prestada durante o desenvolvimento deste trabalho.

As minhas tias **Dalva e Dilza** pela amizade, apoio e incentivo em todos os momentos.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	<i>ix</i>
LISTA DE TABELAS	<i>xiii</i>
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	<i>xv</i>
RESUMO	<i>xvii</i>
ABSTRACT	<i>xix</i>
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	3
2.1. Relevância biológica do cobre e do zinco	4
2.2. Decomposição de amostras	5
2.3. Combustão	8
2.3.1. Combustão em sistemas abertos	8
2.3.1.1. Decomposição por via seca	8
2.3.1.2. Decomposição à baixa temperatura com oxigênio excitado	11
2.3.1.3. Sistema de Wickbold com chama hidrogênio-oxigênio	15
2.3.2. Combustão em sistemas fechados	18
2.3.2.1. Frasco de combustão de Schöniger	18
2.3.2.2. Bomba de combustão	25
2.3.2.3. Combustão em sistema dinâmico (Trace-O-Mat [®])	27

2.4. Decomposição por via úmida	31
2.4.1. Decomposição por via úmida em sistemas abertos com aquecimento por microondas	31
2.4.2. Decomposição por via úmida em sistemas fechados	36
2.4.2.1. Sistema fechado com aquecimento convencional	36
2.4.2.1. Sistema fechado com aquecimento com microondas	42
2.5. Outros Sistemas	47
2.6. Aspectos gerais do processo de combustão	50
2.6.1. Emissão de luz	52
2.6.2. Formação de fuligem	52
2.6.3. Reação de combustão em sólidos	53
2.6.4. Combustão em sistema heterogêneo	55
2.6.5. Características da combustão de hidrocarbonetos	55
3. MATERIAIS E MÉTODOS	61
3.1. Instrumentação	62
3.2. Reagentes	63
3.3. Materiais diversos	63
3.4. Sistema de decomposição proposto	64
3.5. Procedimentos de decomposição	68
3.5.1. Preparo das amostras	68
3.5.2. Decomposição por combustão assistida por microondas	69
3.5.3. Decomposição convencional assistida por microondas	69
3.5.4. Decomposição em sistema aberto – Bloco Digestor	70
3.6. Calibração do forno de microondas	71
3.7. Determinação do tempo de combustão	71
3.8. Determinação da acidez final	73

3.9. Determinação do teor de carbono residual	73
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	74
4.1. Calibração do forno de microondas	74
4.2. Desenvolvimento do suporte de quartzo	74
4.3. Otimização do sistema proposto	76
4.3.1. Determinação da concentração de elementos traço no papel utilizado no processo de combustão	76
4.3.2. Volume do iniciador da combustão - Nitrato de amônio	77
4.3.3. Determinação dos tempos de ignição, combustão e das pressões máximas atingidas no sistema	78
4.3.4. Influência na formação de fuligem	81
4.4. Determinação de Cu e Zn em amostras comerciais de fígado bovino e leite em pó integral e desnatado	82
4.5. Otimização do procedimento para a determinação de Cu e Zn em amostras biológicas	83
4.6. Determinação do teor de carbono residual e do consumo de ácido	89
4.7. Comparação de procedimentos de decomposição de amostras de fígado bovino e de leite em pó	90
4.8. Determinação de Cu e Zn em amostras biológicas por combustão iniciada por microondas	96
5. CONCLUSÃO	99
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	10

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Sistema de decomposição à baixa temperatura com oxigênio excitado (LTA) (adaptado de Anderson ⁵)	1
	1
Figura 2. Sistema de decomposição em baixa temperatura com oxigênio excitado (adaptado de Raptis <i>et al.</i> ¹⁵⁰): (a) sistema durante a combustão e (b) sistema após a combustão e durante o refluxo	1
	3
Figura 3. Sistema de combustão de Wickbold com chama hidrogênio-oxigênio: queimador com sucção para amostras líquidas (A) e queimador para amostras sólidas Bureau International du Technique Chlorine (BITC) (B), câmara de combustão com sistema de resfriamento com água (C) e tubo de absorção (D). 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> ^{47,48})	1
	6
Figura 4. Frasco de combustão de Schöniger (A) e procedimento de embalagem da amostra (B, dimensões do papel em milímetros). Adaptado de MacDonald ¹¹⁵	1
	9
Figura 5. Sistema de decomposição por combustão iniciada por microondas (adaptado de Barin ¹²)	2
	4
Figura 6. Bomba de combustão (tradicional bomba calorimétrica) (adaptado de Souza <i>et al.</i> ¹⁶²)	2

Figura 7. Sistema de decomposição por combustão em sistema dinâmico (Trace-O-Mat®) proposto por Knapp *et al.*⁹³ 2
8

- Figura 8.** Sistema de decomposição por via úmida aberto com aquecimento por microondas Prolabo® (a) e frasco normalmente utilizado com condensador (b) (adaptado de Barin¹²) 3
3
- Figura 9.** Sistema de decomposição pressurizado com aquecimento convencional Berghoff® (adaptado de Barin¹²) 3
8
- Figura 10.** Corte transversal da autoclave HPA, vista do sistema pressurizado para a decomposição de amostras com frascos abertos. **1.** autoclave; **2.** tampa da autoclave; **3.** anel retentor; **4.** disco de ruptura; **5.** revestimento de PTFE; **6.** elemento de aquecimento; **7.** termopar; **8.** banho de água; **9.** frascos de quartzo; **10.** frascos de PFA; **11.** tampas de PTFE para os frascos de decomposição; **12.** suporte de titânio para os frascos (adaptado de Maichin *et al.*¹¹⁹) 4
0
- Figura 11.** Sistema de decomposição com HNO₃ sob pressão a 320 °C com aquecimento por microondas focalizado (HPA-FM). A) 1- sistema de antena; 2- frasco de decomposição de quartzo com tampa; 3- suporte; 4- câmara de alta pressão; 5- entrada de gás; 6- saída de gás; 7- anel de ajuste; 8- tampa de proteção; 9- disco de ruptura de metal; 10- câmara de expansão; 11- tubo e disco de segurança. B) 1- frasco de digestão de quartzo; 2- vedante de PTFE; 3- tampa de quartzo; 4- mola de tungstênio; 5- tampa de PTFE. (adaptado de Matusiewicz¹²²) 4
6
- Figura 12.** Sistema fechado de decomposição assistida por microondas em altas temperaturas e radiação ultravioleta (adaptado de Florian e Knapp⁵²). Desenho esquemático do sistema de decomposição com lâmpada UV; **a-** *plug*; **b-** disco de ruptura; **c-** tampa de vedação; **d-** tampa com rosca; **e-** radiação de microondas; **f-** revestimento de PEEK; **g-** frasco de decomposição de quartzo; **h-** lâmpada de descarga sem eletrodos; **i-**

radiação ultravioleta; j - base do copo; k - fluxo de ar	4
	8
Figura 13. Microfrasco de polipropileno empregado para decomposição de amostras biológicas (adaptado de Flores ⁵⁰)	5
	0
Figura 14. Representação esquemática de um diagrama típico de ignição (adaptado de Barnard e Bradley ¹⁴)	5
	7
Figura 15 Curvas de tempo-pressão durante a combustão em um sistema estático. Onde, (a,b) combustão lenta, (c) uma chama fria, (d) duas chamas frias, (e) dois estágios de ignição. As letras correspondem aos pontos marcados na Fig. 14. (adaptado de Barnard e Bradley ¹⁴)	5
	8
Figura 16. Taxa de reação de combustão em função da temperatura, mostrando a região de coeficiente da taxa de temperatura negativo (adaptado de Barnard e Bradley ¹⁴)	5
	9
Figura 17. Curva de tempo-pressão, mostrando o retardamento da ignição (adaptado de Barnard e Bradley ¹⁴)	6
	0
Figura 18. Sistema de decomposição por combustão iniciada por microondas proposto, com modelo definitivo do suporte da amostra	6
	4
Figura 19. Suportes de quartzo utilizados no sistema de combustão iniciada por microondas, com indicação do local onde é colocada a amostra	6
	6

Figura 20. Ilustração do formato dos <i>pellets</i> das amostras utilizados no sistema proposto	6
	6
Figura 21. Ilustração do procedimento de pressurização do sistema de combustão iniciada por microondas. (a) Sistema de pressurização dos frascos, já fixados no rotor do forno. (b) Detalhe da tampa com orifício onde é feita a pressurização	6
	7
Figura 22. Proteção do frasco de quartzo com corte frontal para visualização do processo de combustão da amostra (a) e ilustração da visualização do processo de combustão (b)	7
	2
Figura 23. Concordância com os valores certificados para Cu e Zn e efeito do tempo de refluxo, após a combustão de amostra de fígado bovino. Para todos os testes foram empregados 100 mg de amostra, 50 μ L de NH_4NO_3 , potência = 1400 W, 6 mL de HNO_3 conc., $n \geq 3$	8
	4

- Figura 24.** Concordância com os valores certificados para Cu e Zn e efeito da concentração de HNO₃, após combustão com 5 min de refluxo, de amostra de fígado bovino. Para todos os testes foram empregados, 100 mg de amostra, 50 µL de NH₄NO₃, potência = 1400 W, 6 mL de solução absorvedora, n≥3 8
5
- Figura 25.** Concordância com os valores certificados para Cu e Zn e efeito da concentração de HNO₃, após combustão com e sem refluxo, da amostra de fígado bovino. Para todos os testes foram empregados 100 mg de amostra, 50 µL de NH₄NO₃, potência = 1400 W, 6 mL de solução absorvedora, n≥3 8
6
- Figura 26.** Concordância com os valores certificados para Cu e Zn e efeito da concentração de HNO₃, após a combustão, com e sem refluxo, de CRM de tecido de ostra (NIST-1566a). Para todos os testes foram empregados 100 mg de amostra, 50 µL de NH₄NO₃, potência = 1400 W, 6 mL de solução absorvedora, n≥3 8
7
- Figura 27.** Concordância com os valores certificados para Zn e efeito da concentração de HNO₃, após a combustão, com e sem refluxo, de CRM de leite em pó desnatado(NIST-1549). Para todos os testes foram empregados 150 mg de amostra, 50 µL de NH₄NO₃, potência = 1400 W, 6 mL de solução absorvedora, n≥3 8
8
- Figura 28.** Concordância com os valores certificados para Zn e efeito da concentração de HNO₃, após a combustão, com e sem refluxo, de CRM de leite em pó (BCR- 63). Para todos os testes foram empregados 150 mg de amostra, 50 µL de NH₄NO₃, potência = 1400 W, 6 mL de solução absorvedora, n≥3 8
9

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Programa do forno de microondas para decomposição das amostras	70
Tabela 2.	Valores encontrados para os elementos Al, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb, Zn e Cd, nos papéis filtro e de cigarro, sem prévia descontaminação	77
Tabela 3.	Tempo de ignição e tempo total de combustão para diferentes massas de amostra, com pressão inicial de oxigênio de 15 bar (foi considerado t=0 o momento em que iniciava a irradiação com microondas)	78
Tabela 4.	Variação da pressão máxima atingida pelo sistema e o início da combustão para 50 mg de fígado bovino, com diferentes pressões iniciais de oxigênio	79
Tabela 5.	Variação na pressão máxima atingida pelo sistema e o início da combustão, para diferentes massas de fígado bovino, com 15 bar de pressão inicial	80
Tabela 6.	Valores médios, em $\mu\text{g g}^{-1}$, para Cu e Zn (determinação por FAAS) em amostras de fígado bovino e leite em pó integral e desnatado; n=6, para cada valor	83
Tabela 7.	Resultados dos procedimentos de decomposição da amostra comercial de fígado bovino e posterior determinação de Cu e Zn por FAAS; valores médios em $\mu\text{g g}^{-1}$ (n=4, para cada valor).....	91
Tabela 8.	Resultados dos procedimentos de decomposição da amostra comercial de leite em pó integral e posterior determinação de Zn por FAAS; valores médios em $\mu\text{g g}^{-1}$ (n=4, para cada valor).....	92

Tabela 9. Resultados dos procedimentos de decomposição da amostra comercial de leite em pó desnatado e posterior determinação de Zn por FAAS; valores médios em $\mu\text{g g}^{-1}$ (n=4, para cada valor)	92
Tabela 10. Características obtidas com os diferentes procedimentos de decomposição da amostra comercial de fígado bovino e CRM NIST-1577 (<i>bovine liver</i>) e posterior determinação de Cu e Zn por FAAS; valores médios em $\mu\text{g g}^{-1}$ (n=4, para cada valor)	93
Tabela 11. Valores de zinco encontrados para as amostras de leite em pó integral e desnatado, após combustão sem refluxo, e posterior determinação por FAAS; valores médios em $\mu\text{g g}^{-1}$ (n=4, para cada valor)	96
Tabela 12. Valores de cobre e zinco encontrados para as amostras comerciais de fígado bovino, após combustão sem refluxo, e posterior determinação por FAAS; valores médios em $\mu\text{g g}^{-1}$ (n=4, para cada valor)	97
Tabela 13. Condições do sistema de decomposição por combustão iniciada por microondas	98

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

1. BITC, queimador para amostras sólidas e líquidos que contenham sólidos do sistema de combustão de Wickbold, adaptado de *Bureau International du Technique Chlorine*
2. BCR, *Bureau Community Reference*
3. CFA-C, mistura de aminas terciárias
4. CPA, sistema de decomposição à baixa temperatura com oxigênio excitado, do inglês *Cool Plasma Asher*
5. CRM, material de referência certificado, do inglês *Certified Reference Material*
6. ET AAS, espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica, do inglês *Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry*
7. FAAS, espectrometria de absorção atômica em chama, do inglês *Flame Atomic Absorption Spectrometry*
8. GF AAS, espectrometria de absorção atômica com atomização em forno de grafite, do inglês, *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*
9. HG AAS, espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos, do inglês *Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry*
10. HPA, sistema de decomposição em altas temperaturas, do inglês *High Pressure Asher*
11. ICP OES, espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado, do inglês *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*
12. ICP-MS, espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado, do inglês *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*
13. IRMM, *Institute for Reference Materials and Measurements*
14. LTA, sistema de decomposição à baixa temperatura com oxigênio excitado, do inglês *Low Temperature Ashing*
15. MS, espectrometria de massa, do inglês *Mass Spectrometry*
16. m/v, massa por volume
17. NIST, *National Institute of Standards and Technology*
18. PTFE, politetrafluoretileno, teflon[®]
19. PFA, perfluoralcóxi

20. PVC, poli(cloreto de polivinila)
21. Trace-O-Mat, nome comercial do sistema de decomposição em sistema dinâmico

RESUMO

Neste trabalho foi desenvolvido um sistema para decomposição de amostras em sistema fechado através da combustão iniciada por microondas. Este sistema foi adaptado em frascos comerciais, de quartzo, empregados rotineiramente para o preparo de amostras. Foram avaliados três modelos de suporte de quartzo para a amostra, sendo que o escolhido ficava suspenso na parte superior do frasco de decomposição. Este suporte serve, também, como protetor da tampa do frasco da chama gerada durante o processo de combustão. A amostra foi prensada na forma de *pellet* e colocada sobre um disco de papel na base do suporte, ao qual foi adicionada uma solução de nitrato de amônio, utilizada como iniciador do processo de combustão. Foi adicionada ao frasco uma solução para a absorção dos analitos. O sistema foi, então, fechado, pressurizado e colocado no interior de um forno de microondas comercial. Uma vez iniciada a irradiação com microondas, o tempo necessário para o início da combustão foi cerca de 3 s. O tempo de irradiação com microondas foi de 30 s e o tempo de combustão para 100 mg da amostra, durava aproximadamente 10 s.

O sistema foi aplicado para a determinação de Cu e Zn em amostras de fígado bovino e leite em pó. Foram empregados materiais de referência certificados de fígado bovino, tecido de ostra e leite em pó para avaliar a eficiência do sistema. A concordância entre os resultados encontrados para Zn com o referido para as amostras certificadas de fígado bovino ficou entre 95% e 104%, quando empregada apenas a combustão ou a combustão mais refluxo, inclusive quando água foi utilizada para absorver os analitos. Para Cu, somente com a combustão, as concordâncias com os valores certificados para as amostras de fígado bovino e tecido de ostra ficaram entre 93 e 96%, quando HNO_3 2 mol L⁻¹ e HNO_3 concentrado foram utilizados para absorver os analitos. Entretanto, com a etapa de refluxo, as concordâncias ficaram entre 96 e 100%. Nas amostras de leite em pó, integral e desnatado, quando foi feita somente a combustão, concordâncias próximas de 100%

foram encontradas para Zn, quando HNO_3 concentrado foi utilizado como absorvedor dos analitos.

O procedimento proposto também foi comparado com procedimentos convencionalmente utilizados para decomposição de amostras biológicas como decomposição por via úmida em sistema aberto e decomposição em sistema fechado assistida por microondas. Pode-se destacar, como vantagens deste procedimento, a completa decomposição da amostra em um tempo inferior ao necessário para os demais procedimentos. O teor de carbono residual foi inferior a 1,3% após a combustão das amostras e inferior a 0,4% quando foi feita a etapa de refluxo, bem como o consumo de ácido (utilizado como solução absorvedora) que foi sempre menor que 2%.

ABSTRACT

A procedure for sample decomposition was proposed in this study based on sample combustion assisted by microwave radiation. Combustion is started by microwave radiation in the presence of oxygen under pressure using ammonium nitrate as an aid for ignition. The system was adapted to commercial sample preparation quartz vessels. Three models of quartz holders were evaluated, and the chosen one was suspended at the top of the vessel, being used simultaneously as a sample holder and to protect the polytetrafluorethylene cap of the vessel from the flame generated in the combustion process. Sample was pressed into a pellet and placed on a disc paper in the holder and a solution of ammonium nitrate was added in order to start the combustion. Nitric acid or water was placed inside the vessel and it was used for analytes absorption. The system was closed and placed inside a commercial microwave oven. About 3 s of microwave irradiation were necessary to start the combustion. The microwave irradiation time of the procedure was 30 s and the combustion process took about 10 s.

The system was used to digestion of bovine liver and milk powder samples and further determination of copper and zinc. Bovine liver, milk powder, non-fat milk powder and oyster tissue certified reference materials were used to evaluate the accuracy of the procedure. Good agreement for zinc was obtained from bovine liver certified reference material when microwave combustion (95 to 104%) and microwave combustion followed by reflux, were used to sample decomposition, even if water was used for absorption of analyte. For copper, the values were between 93 and 96% for microwave combustion (not followed by reflux) in samples of bovine liver and oyster tissue, when HNO_3 2 mol L⁻¹, or concentrated, was used for analyte absorption. However, for combustion followed by reflux, the agreement was 96 to 100%. Good agreement for zinc was obtained (100%) for milk powder and non-fat milk powder, when only microwave combustion was used and HNO_3 concentrate was used for analyte absorption. Results from the proposed procedure were also compared to those from conventionally used procedures for biological samples

decomposition, such as wet digestion in open vessels and microwave-assisted closed vessels digestion. The advantages of this procedure include the complete sample decomposition in less time than other procedures and acid consumption (acid was used as absorption solution) always lower than 2%. Another advantage is the low residual carbon content, less of 1.3% without reflux and less than 0.4% with the reflux step.

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos tem se tornado crescente a necessidade do controle de diversos elementos, em concentrações cada vez mais baixas, nos mais diversos materiais tais como amostras biológicas, geológicas, produtos alimentícios, medicamentos, etc. No caso de amostras biológicas, este controle é de extrema importância em vista de muitas destas serem empregadas como alimentos ou suplementos alimentares, como é o caso de amostras de leite em pó e fígado bovino e suíno.

A maior parte das técnicas analíticas para a determinação de elementos em nível de traços requerem uma etapa de decomposição e/ou dissolução do analito de interesse. Praticamente todas as técnicas analíticas, inclusive as que utilizam alguma etapa de separação, previamente à detecção do analito, necessitam de um procedimento de decomposição adequado que resulte em uma mineralização da amostra o mais completa possível.¹⁰ Assim, os analitos devem estar livres da matriz original, ou de seus correspondentes resíduos formados após a decomposição, minimizando, desta forma, a ocorrência de interferências na etapa de determinação.⁸⁴

Dentre as técnicas de determinação, a espectrometria atômica é uma das mais empregadas para a análise de amostras de natureza biológica.⁸⁴ Entretanto, esta técnica, como a grande maioria, limita-se também à utilização de amostras na forma líquida e que, preferencialmente, não contenham resíduos provenientes da etapa de decomposição. Para o caso de amostras de leite em pó ou de fígado, por exemplo, a decomposição está sujeita a erros devido à presença de elevado teor de compostos de difícil degradação tais como as gorduras. Neste caso, resíduos de gordura podem se depositar nas paredes dos recipientes juntamente com uma parcela dos analitos ou, por outro lado, estes resíduos podem, também, interferir na

¹⁰ ARRUDA, M.A.Z., SANTELLI, R.E., *Quím. Nova* 20 (1997) 638-643

⁸⁴ IYENGAR, G.V., SUBRAMANIAN, K.S., WOITTIEZ, J.R.W., *Element analysis of biological samples – Principles and Practice*, CRC Press, Boca Raton, New York (1997) 105, 114-115

taxa de aspiração nas técnicas que empregam nebulizadores para introdução da amostra.

Nos últimos anos, as técnicas de preparo de amostras evoluíram rapidamente. Nesta evolução destaca-se, principalmente, o emprego da radiação microondas que, não só auxiliou na eficiência das decomposições como também diminuiu, substancialmente, o tempo necessário para o preparo das mesmas. Entretanto, apesar destas vantagens, é necessário seguir algumas recomendações para as técnicas de preparação de amostras, como o uso de sistemas fechados, o emprego de pequena massa de amostra e de reagentes, o uso de recipientes de pequeno volume e de fácil manipulação e, também, mínima diluição da amostra. Ademais, os procedimentos de decomposição devem ser seguros para o operador e não necessitarem de muito tempo para a sua preparação.

Tendo-se em vista a necessidade de um constante desenvolvimento das técnicas de preparo de amostras que, sobretudo, possibilitem valores mais baixos para os brancos analíticos e que tenham uma ampla aplicabilidade para as diversas técnicas de detecção, buscou-se, neste trabalho, propor um procedimento em conformidade com as recomendações ilustradas anteriormente. Assim, foi proposto um procedimento envolvendo a combustão de amostras biológicas em frascos fechados e assistida por microondas. Cabe ressaltar que no procedimento aqui descrito é demonstrada, pela primeira vez, a decomposição de amostras por meio de combustão iniciada por microondas com o uso de frascos de quartzo pressurizados.

É importante destacar que, no trabalho aqui apresentado, objetivou-se demonstrar a aplicabilidade da combustão iniciada por microondas em sistema fechado para a decomposição de amostras biológicas, com elevado teor de matéria orgânica, principalmente gorduras. Neste caso, optou-se por determinar Cu e Zn em amostras de fígado bovino e leite em pó por espectrometria de absorção atômica com chama. Pode-se salientar a importância do controle destes elementos em amostras de leite em pó e de fígado bovino, devido a sua ampla utilização na dieta humana e seu uso como suplementos alimentares. Apesar da importância nutricional destas amostras e da relevância biológica destes elementos, não foi objetivo deste trabalho fazer uma avaliação dos resultados encontrados com base nos aspectos toxicológicos ou nutricionais.

2. REVISÃO DA LITERATURA

A revisão bibliográfica, aqui apresentada, encontra-se subdividida em três partes, compreendendo os principais assuntos abordados neste trabalho. Na primeira parte buscou-se fazer uma breve descrição sobre a relevância biológica dos elementos estudados nas amostras de fígado e leite em pó; esta descrição foi feita tendo-se em vista a importância destas amostras na dieta alimentar. Na segunda parte, buscou-se revisar os procedimentos de decomposição de amostras, com ênfase nos procedimentos envolvendo combustão e decomposição por via úmida. Na terceira e última parte desta revisão, foi feita uma discussão mais aprofundada sobre os processos de combustão, detalhando seus possíveis mecanismos, principalmente, para sistemas gás-sólido.

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.

Ao longo deste trabalho, quando os ácidos "HNO₃, HCl, H₂SO₄ e HClO₄", não forem discriminados, estes referem-se aos ácidos concentrados (65%, d = 1,40 g mL⁻¹; 37%, d = 1,19 g mL⁻¹; 96%, d = 1,84 g mL⁻¹; 72%; d = 1,67 g mL⁻¹, respectivamente).

2.1. Relevância biológica do cobre e do zinco

Muitos elementos são considerados essenciais para o desempenho das atividades biológicas do organismo humano. Cobre e zinco fazem parte deste grupo e estão presentes nos mais diversos tipos de alimentos que compõem a dieta alimentar humana.

O cobre é considerado um nutriente essencial que está incorporado a um número apreciável de metalo-enzimas envolvidas na formação da hemoglobina, metabolismo de carboidratos, biossíntese de catecolaminas, nas cadeias entrecruzadas de colágeno e elastina e na queratina dos cabelos. Alguns sintomas associados à deficiência de cobre no organismo humano incluem anemia hipocrômica, leucemia e osteoporose.³⁸ A regulamentação para a ingestão diária de cobre estabelecida pela *National Academy of Sciences (NAS)*¹³⁴ para adultos é de 0,9 mg dia⁻¹ ou 0,013 mg kg⁻¹ dia⁻¹.

A exposição a concentrações elevadas de cobre pode levar a sérios problemas de saúde incluindo distúrbios no funcionamento do fígado e rins, anemia e deficiências no sistema imunológico. Muitos destes efeitos estão relacionados com a oxidação das membranas e macromoléculas. Desta forma, o cobre pode se ligar, por exemplo, com os grupos sulfidrilas de diversas enzimas e interferir na funcionalidade das células que protegem o organismo humano de danos causados por radicais livres. Entretanto, no caso de intoxicações agudas, pode causar distúrbios gastrointestinais como vômitos, náuseas e dores abdominais.^{38,43}

O zinco é, também, um elemento essencial para o desenvolvimento humano, quando ingerido em concentrações adequadas às necessidades das funções biológicas. Atua como um co-fator em diversos processos enzimáticos e possui um importante papel na síntese de proteínas e no processo de divisão celular. Exerce, também, influência crucial na manutenção da estabilidade da membrana celular e na função do sistema imunológico. Sais de zinco são usados em soluções oftálmicas, em loções para tratamento de doenças crônicas da pele e incorporados como adstringente em várias soluções. Desta forma, o zinco é um constituinte utilizado em inúmeros medicamentos de ação tópica.⁴ Segundo Peixoto *et al.* (2003),¹⁴² uma

³⁸ Department of health and human services, *Toxicological Profile for Copper*, Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry, U.S (2002) 12-13

¹³⁴ National Academy of Sciences-NAS, *Copper: Recommended dietary allowances*, Washington (1980) 151-154

⁴³ DÜRÜST, N., SÜMENGİN, D., DÜRÜST, Y., *J. Agr. Food Chem.* 45 (1997) 2085-2087

⁴ AMIN, A.S., ISSA, Y.M., *J. Pharmaceut. Biomed.* 31 (2003) 491-497

dosagem adequada de $ZnCl_2$ pode diminuir o acúmulo de mercúrio em tecidos e órgãos e prevenir a inibição da atividade hepática da δ -aminolevulinato desidratase (δ -ALA-D).

A ingestão de concentrações inadequadas de Zn pode ocasionar problemas para a saúde humana, pois compostos deste elemento estão presentes em boa parte dos constituintes da dieta alimentar humana. Portanto, quando ingerido em concentrações inferiores às necessidades biológicas, pode causar perda de apetite, alterações no olfato e paladar, diminuição das funções imunológicas, dificuldades de cicatrização, subdesenvolvimento dos órgãos sexuais e doenças congênitas em fetos.³⁹ Entretanto, uma dieta alimentar com elevadas concentrações de zinco pode causar efeitos adversos ao organismo humano e a ingestão de concentrações elevadas de Zn, durante um longo período, pode causar anemia, distúrbios no funcionamento do pâncreas e dos rins.³⁹ Os níveis recomendados para ingestão diária de Zn são de 11 mg dia^{-1} para homens e 8 mg dia^{-1} para mulheres, segundo a *National Academy of Sciences*.¹³⁵

2.2. Decomposição de amostras

Um determinado procedimento de decomposição deveria ser adequado à(s) técnica(s) analítica(s) de determinação, de modo que o(s) analito(s) de interesse deve(m) estar completamente solubilizado(s). Ademais, um procedimento de decomposição eficiente deve ser simples, rápido, utilizar pequenos volumes de ácidos, permitir a decomposição simultânea de um número apreciável de amostras e, finalmente, permitir que os resultados sejam o mais precisos e exatos.

Os procedimentos de decomposição, geralmente, dependem da natureza da amostra, do analito a ser determinado, da concentração em que este se encontra, da técnica de detecção e, também, da precisão e exatidão desejadas.¹⁰ A maior parte destes procedimentos de decomposição como fusão, decomposição por via seca e decomposição por via úmida com aquecimento convencional, envolvem muito tempo e, normalmente, requerem atenção e experiência do analista para a obtenção de

¹⁴² Peixoto, N.C., Roza, T., Flores, E.M.M., Pereira, M.E., *Toxicol. Lett.* 146 (2003) 17–25

³⁹ Department of health and human services, *Toxicological Profile for Zinc*, Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry, U.S (2003) 4,5, 17

¹³⁵ National Academy of Sciences, National Research Council-NAS/NRC, *Zinc: Recommended dietary allowances*, National Academy Press, 10th ed., Washington (1989) 205-213

¹⁰ ARRUDA, M.A.Z., SANTELLI, R.E., *Quím. Nova* 20 (1997) 638-643

resultados satisfatórios. Além disso, podem ocasionar contaminação ou perdas dos elementos de interesse. Como conseqüência, o preparo da amostra é, freqüentemente, considerado como uma das partes mais importantes e, também, mais demoradas da análise química para grande parte das amostras. Desta forma, existe a necessidade de um constante desenvolvimento nesta área, influenciado também, pelo amplo desenvolvimento das técnicas de detecção e pela necessidade de menores limites de detecção e, conseqüentemente, menor nível de contaminação dos brancos.¹⁰⁴

Devido à diversidade dos materiais a serem avaliados, à natureza do(s) elemento(s) a ser(em) determinado(s) e à técnica analítica a ser utilizada para a detecção, uma técnica geral para a decomposição de amostras sólidas não pode ser prescrita.²⁸ Portanto, o desenvolvimento de procedimentos de decomposição adequados à técnica de determinação, é importante para assegurar qualidade dos resultados de determinada análise. Neste trabalho, os procedimentos de decomposição foram organizados de acordo com a classificação sugerida por Knapp (1991),⁹² conforme mostrado a seguir. Aqui, os procedimentos empregados para fusão não serão abordados, uma vez que são, relativamente, pouco utilizados no preparo de amostras com elevado teor de matéria orgânica. Os sistemas de preparo de amostras em fluxo, apesar de seu emprego ser crescente na literatura, também não serão comentados.^{32,143,146}

Nesta revisão, será dado maior destaque aos procedimentos de combustão, em especial às técnicas de combustão envolvendo o sistema de Schöniger e o sistema de bomba calorimétrica, em vista de sua maior similaridade com o procedimento apresentado neste trabalho. Será dada ênfase, também, ao trabalho recente proposto e a primeira citação associando a combustão de amostras de natureza orgânica a sistemas fechados e assistidos por radiação microondas.¹² Os procedimentos de decomposição por via úmida serão descritos e discutidos, dando preferência aos procedimentos em sistemas fechados e, no caso de sistemas abertos, àqueles assistidos por microondas. Os demais sistemas, apesar de importantes e muito empregados em rotina, não foram igualmente comentados em

¹⁰⁴ LAMBLE, K.J., HILL, S.J., *Analyst* 123 (1998) 103R-133R

²⁸ CHAKRABORTY, R., DAS, A.K., CERVERA, M.L., GUARDIA, M., *Fresenius J. Anal. Chem.* 355 (1996) 99-111

⁹² KNAPP, G., *Mikrochim. Acta* [Wien] II (1991) 445-455

³² Coelho, L.M., Pereira, E.R., Arruda, M.A.Z., *Quim. Anal.* 20 (2002) 63-72

¹⁴³ PEREIRA, E.R., ARRUDA, M.A.Z., *Analyst* 124 (1999) 1873-1877

¹⁴⁶ Pichler, U., Haase, A., Knapp, G., MICHAELIS, M., *Anal. Chem.* 71 (1999) 4050-4055

¹² BARIN, J.S., Dissertação de mestrado, Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Farmacêutica, UFSM, Santa Maria/RS, 2003

vista da extensa literatura disponível que documenta totalmente os fundamentos e a aplicação destes procedimentos.^{5,20,166}

Classificação dos procedimentos de decomposição

Fusão

Combustão

- Em sistemas abertos
 - Decomposição por via seca
 - Decomposição à baixa temperatura com oxigênio excitado (Cool Plasma Asher[®])
 - Sistema Wickbold com chama hidrogênio-oxigênio
- Em sistemas fechados
 - Frasco de combustão (Schöniger)
 - Bomba de combustão
- Em sistema dinâmico
 - Trace-O-Mat[®]

Decomposição por via úmida

- Em sistemas abertos
 - Com aquecimento convencional
 - Aquecimento com radiação microondas
- Em sistemas fechados
 - Com aquecimento convencional (Bomba-PTFE, High Pressure Asher[®])
 - Aquecimento com radiação microondas
- Em sistemas em fluxo
 - Com aquecimento convencional
 - Aquecimento com radiação microondas

⁵ ANDERSON, R., Sample pretreatment and separation, analytical chemistry by open learning, John Wiley & Sons, New York (1987) 1-8, 97-99

²⁰ BOCK, R., A handbook of decomposition methods in analytical chemistry, T&A Constable Ltda, Edinburgh (1979)

¹⁶⁶ SULCEK, Z., POVONDRA, P., *Methods of decomposition in inorganic analysis*, CCR, Florida (1989) 3-5, 274

2.3. Combustão

Os procedimentos de combustão, normalmente, envolvem a ação direta do oxigênio como oxidante da matéria orgânica, diferentemente, dos procedimentos por via úmida que utilizam ácidos inorgânicos. Isto pode ser visto como uma vantagem, pois no caso do oxigênio, este gás, geralmente, apresenta mínimo teor de elementos traço.

Como fonte de oxigênio pode ser utilizado o ar ou, mesmo, oxigênio puro, podendo ser feito o preenchimento do frasco de decomposição ou a passagem de um fluxo de oxigênio pelo mesmo.⁸⁴ Neste procedimento, a matéria orgânica é decomposta por uma combinação de processos envolvendo, principalmente, pirólise, oxidação ou uma combinação destes dois processos. Este procedimento pode ser utilizado para separar compostos que não são totalmente oxidados ou óxidos que possuem baixa volatilidade.¹⁶⁶

A combustão de materiais orgânicos pode ser feita em sistemas abertos ou fechados, podendo ser empregadas altas ou baixas temperaturas. Posteriormente, serão discutidas as características de cada técnica individualmente.

2.3.1. Combustão em sistemas abertos

2.3.1.1. Decomposição por via seca

A decomposição por via seca ocorre através da combustão e/ou pirólise em uma mufla, normalmente com temperatura entre 450 e 550 °C. Este procedimento tem sido aplicado para amostras orgânicas e, provavelmente, seja um dos procedimentos mais simples para o preparo de amostras. Normalmente, os recipientes empregados são simples (béqueres, cadinhos de porcelana, quartzo, platina e zircônio), entretanto, o tempo de decomposição raramente é inferior a 8 horas. Uma vantagem da decomposição por via seca é a possibilidade de se utilizar quantidades relativamente grandes de amostra, além de não causar uma diluição excessiva desta. Isto minimiza o problema da heterogeneidade do material analisado

⁸⁴ IYENGAR, G.V., SUBRAMANIAN, K.S., WOITTEZ, J.R.W., *Element analysis of biological samples – Principles and Practice*, CRC Press, Boca Raton, New York (1997) 105, 114-115

¹⁶⁶ SULCEK, Z., POVONDRA, P., *Methods of decomposition in inorganic analysis*, CCR, Florida (1989) 3-5, 274

e, também, da baixa concentração para alguns analitos. Após decomposição por meio desta técnica, os teores de matéria orgânica residual normalmente encontrados são extremamente baixos.⁸¹ Ainda, a decomposição por via seca presta-se, dependendo do tipo de sistema, para o processamento de grande número de amostras, além de ser um procedimento relativamente barato.

Apesar das diversas vantagens deste procedimento, alguns problemas podem ser observados, principalmente, pela combinação de temperaturas elevadas com o uso de recipientes abertos. Podem ocorrer, por exemplo, perdas por volatilização de Hg, As, Sb, Sn, Ge, Se e halogênios, assim como, de elementos como Pb, Zn e Cd na forma de cloretos metálicos.⁸⁴ Para minimizar este problema, podem ser utilizados aditivos, tais como nitratos e sulfatos, produzindo nitratos e/ou sulfatos dos elementos de interesse menos voláteis ou, ainda, eliminando os cloretos como NOCl ou HCl. Porém, se ácido nítrico e/ou ácido sulfúrico ou alguns nitratos e sulfatos forem introduzidos no sistema, a possibilidade de contaminação aumenta.

Perdas também podem ocorrer através da retenção dos elementos no recipiente de decomposição. Além disso, muitas vezes, pode ocorrer a formação de fosfatos e silicatos. Os silicatos podem ser formados por reação de óxidos de alguns elementos com vidro ou quartzo. Cadinhos de platina podem formar ligas com metais nobres. Outro problema que pode ser encontrado é que se o aumento da temperatura é feito muito rapidamente ($> 50 \text{ }^\circ\text{C h}^{-1}$), podem ocorrer perdas da amostra por projeção ou ignição.⁸⁸ Por se tratar de um sistema de decomposição aberto, existe a possibilidade de contaminação através do ar atmosférico. Os aditivos (normalmente sulfatos e nitratos) são utilizados com vários propósitos como: acelerar a oxidação da matéria orgânica, prevenir a volatilização de certos componentes das cinzas e muitas vezes, também, prevenir reações entre os componentes das cinzas e o material do cadinho.

Cobre, Mn e Zn foram determinados por espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS) em plantas por Heanes (1981),⁷⁷ após decomposição por via seca em sistema aberto. O autor observou que se não fosse adicionado um auxiliar para a combustão, os valores encontrados, para os elementos em questão, eram

⁸¹ HOENIG, M., BAETEN, H., VANHENTENRIJK, S., VASSILEVA, E., QUEVAUVILLER, Ph., *Anal. Chim. Acta.* 358 (1998) 85-94

⁸⁴ IYENGAR, G.V., SUBRAMANIAN, K.S., WOITTEZ, J.R.W., *Element analysis of biological samples – Principles and Practice*, CRC Press, Boca Raton, New York (1997) 105, 114-115

⁸⁸ JORHEM, L., *Mikrochim. Acta.* 119 (1995) 211-218

⁷⁷ HEANES, D.L., *Analyst* 106 (1981) 182-187

sempre inferiores aos valores de referência. Estas perdas também haviam sido observadas, em trabalhos anteriores, para Co e Mo.⁷⁸ Segundo o autor, estas perdas poderiam estar relacionadas à adsorção dos analitos no resíduo insolúvel ou no cadinho, à formação de cloretos voláteis como, por exemplo, ZnCl₂, ou à incompleta queima e extração dos elementos de plantas contendo concentrações elevadas de álcalis e sais fundidos.

Salvador *et al.* (2000)¹⁵⁷ determinaram selênio por ICP OES e zinco e cádmio por FAAS em xampus anti-caspa, após decomposição por via seca em mufla (500 °C) e decomposição em sistema fechado assistida por microondas. Os autores verificaram que a decomposição em sistema fechado assistida por microondas mostrou-se mais adequada para selênio, pois previne a perda de selênio como SeS₂ (substância adicionada ao xampu responsável pela ação anticaspa) por volatilização. Já, para cádmio e zinco, os resultados para ambos procedimentos de decomposição foram comparáveis. Entretanto, a decomposição em sistema fechado assistida por microondas é recomendada por ser mais simples e rápida.

A decomposição por via seca em mufla foi utilizada para o preparo de vários tipos de amostras e posterior determinação de Fe, Zn e Cu em frutas e vegetais,⁴³ Fe e Mo em preparações dietéticas,²⁵ Na e K em vegetais,¹⁵⁵ e U em amostras biológicas.⁴⁶ Foram encontradas recuperações entre 90 e 102%, para todos os elementos estudados, nos diversos tipos de amostras.

Alguns problemas, como contaminação e dificuldades associadas ao lento aquecimento empregando-se sistemas tradicionais de decomposição por via seca, como as muflas, podem ser resolvidos. Atualmente, estão disponíveis no mercado muflas com sistema de aquecimento realizado por meio de radiação microondas, onde carbeto de silício (altamente absorvedor de microondas) é empregado, permitindo uma elevada taxa de aquecimento. Além disso, neste sistema evita-se o ambiente inadequado de certos sistemas tradicionais minimizando, assim, a contaminação.²⁷

⁷⁸ HEANES, D.L., *Analyst* 106 (1981) 172

¹⁵⁷ SALVADOR, A.; PASCUAL-MARTÍ, M.C.; ARAGÓ, E.; CHISVERT, A.; MARCH, J.G., *Talanta* 51 (2000) 1171-1177

⁴³ DÜRÜST, N., SÜMENGİN, D., DÜRÜST, Y., *J. Agr. Food Chem.* 45 (1997) 2085-2087

²⁵ CANFRANC, E., ABARCA, A., SIERRA, I., MARINA, M.L., *J. Pharmaceut. Biomed.* 25 (2001) 103-108

¹⁵⁵ ROWAN, C.A., ZAJICEK, O.T., CALABRESE, E.J., *Anal. Chem.* 54 (1982) 149-151

⁴⁶ EJNIK, J.W., HAMILTON, M.M., ADAMS, P.R., CARMICHAEL, A.J., *J. Pharmaceut. Biomed.* 24 (2000) 227-235

²⁷ CEM Innovators in microwave technology, <http://www.cem.com/pages/arwv.htm>, acessada em 20/04/2004

2.3.1.2. Decomposição à baixa temperatura com oxigênio excitado

A decomposição à baixa temperatura com oxigênio excitado utiliza o poder oxidante de um plasma contendo radicais oxigênio e oxigênio excitado para a decomposição da amostra. O plasma é produzido em um sistema à baixa pressão de oxigênio através da aplicação de um campo elétrico de alta frequência (usualmente indutivamente acoplado) ou microondas. A amostra é posicionada no interior do sistema, onde as espécies não reativas de oxigênio e ozônio são retiradas através da sucção realizada por uma bomba de vácuo. Para evitar a perda de elementos voláteis é utilizado um sistema de resfriamento com circulação de água. O calor produzido é proveniente das reações de oxidação exotérmicas sendo que a temperatura, normalmente, não ultrapassa 150 °C, sendo a técnica, portanto, chamada de decomposição à baixa temperatura. Uma característica importante é que como a reação ocorre entre um sólido e um gás, a decomposição depende do contato da amostra com o plasma e, portanto, a área superficial da amostra é um parâmetro relevante.

Os sistemas comerciais de decomposição à baixa temperatura com oxigênio excitado possuem arranjos diferenciados, como demonstrado nas Figs. 1 e 2. O primeiro sistema, chamado de *Low Temperature Ashing* (LTA), emprega frequência de 13,56 MHz e potência de até 300 W (Fig. 1). Algumas versões mais recentes utilizam microondas com frequência de 2450 MHz e potência de até 200 W para criar o plasma.

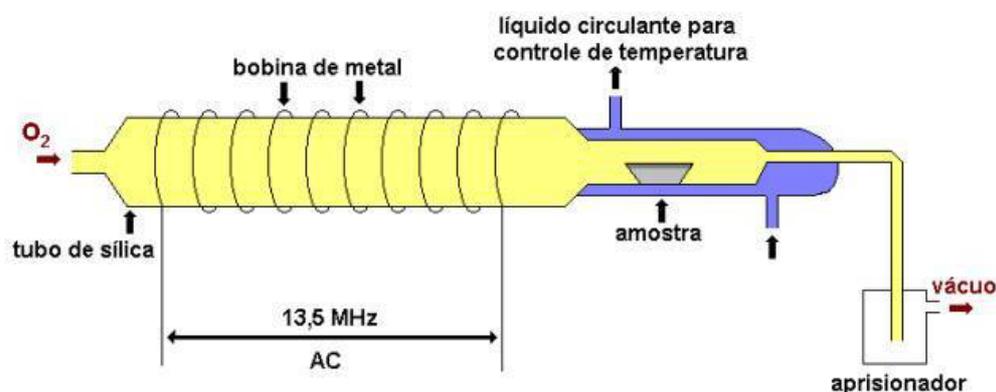


Figura 1. Sistema de decomposição à baixa temperatura com oxigênio excitado (LTA) (adaptado de Anderson⁵)

⁵ ANDERSON, R., Sample pretreatment and separation, analytical chemistry by open learning, John Wiley & Sons, New York (1987) 1-8, 97-99

Gleit e Holland (1962)⁶⁸ fizeram a decomposição de tecidos musculares, gorduras, material fecal, resina de troca iônica (Dowex AG50W, 200-400 mesh), filtros de poli(cloreto de vinila), celulose, carvão ativado e, até mesmo, um rato de 40 g, com o sistema de decomposição à baixa temperatura com oxigênio excitado, utilizando potências variáveis. Em todos os casos o resíduo era completamente solubilizado em ácidos minerais. Estes autores também relatam que, a taxa de oxidação depende da superfície de exposição da amostra, e que esta diminui, significativamente, quando a superfície é coberta com o resíduo mineral. Além disso, observaram que parte de elementos como Hg, Ag e Au estavam localizados nas paredes do sistema, a uma pequena distância de ambos os lados da barqueta de combustão. A outra parte estava retida no aprisionador.

O segundo sistema de decomposição de amostras à baixa temperatura com oxigênio excitado (Cool Plasma Asher – CPA, Fig. 2) foi desenvolvido por Raptis *et al.* (1983).¹⁵⁰ Este sistema era construído em quartzo e continha uma barra magnética para agitação da amostra, quando necessário, para constante renovação da camada de sólido em contato com o plasma. O plasma é gerado por indução através de um gerador de 27,12 MHz e potência de 20 a 40 W. Empregando-se uma vazão de oxigênio de 4 L h⁻¹, até 1 g de amostra pulverizada pode ser decomposta, não contendo mais que 10% de teor de água. Após a decomposição, coloca-se um condensador na parte superior do sistema e mantêm-se em refluxo com cerca de 2 mL de um ácido apropriado. Desta maneira, alguns elementos que possam vir a ficar adsorvidos nas paredes podem ser solubilizados no meio ácido.

Amostras de sedimento marinho, material suspenso particulado e plâncton foram decompostas no sistema à baixa temperatura com oxigênio excitado (LTA) e, posteriormente, foram determinados Zn, Cd, Pb, Cu, Sb e Bi por voltametria anódica com pulso diferencial. A queima da amostra foi conduzida com vazão de oxigênio de 40 mL min⁻¹, tempo de 10 a 15 h e potência de 200 W. As condições utilizadas, no sistema de decomposição, foram necessárias para garantir completa mineralização das amostras marinhas. Entretanto, sob estas condições, perdas de elementos voláteis como, por exemplo, antimônio, foram observadas. Valores mais baixos para os brancos são encontrados em relação à decomposição em sistema pressurizado

⁶⁸ GLEIT, C.E., HOLLAND, W.D., *Anal. Chem.* 34 (1962) 1454-1457

¹⁵⁰ RAPTIS, S.E., KNAPP, G., SCHALK, A.P., *Fresenius Z. Anal. Chem.* 316 (1983) 482-487

com aquecimento convencional. Porém, esta última leva menos tempo para decomposição.⁶⁷

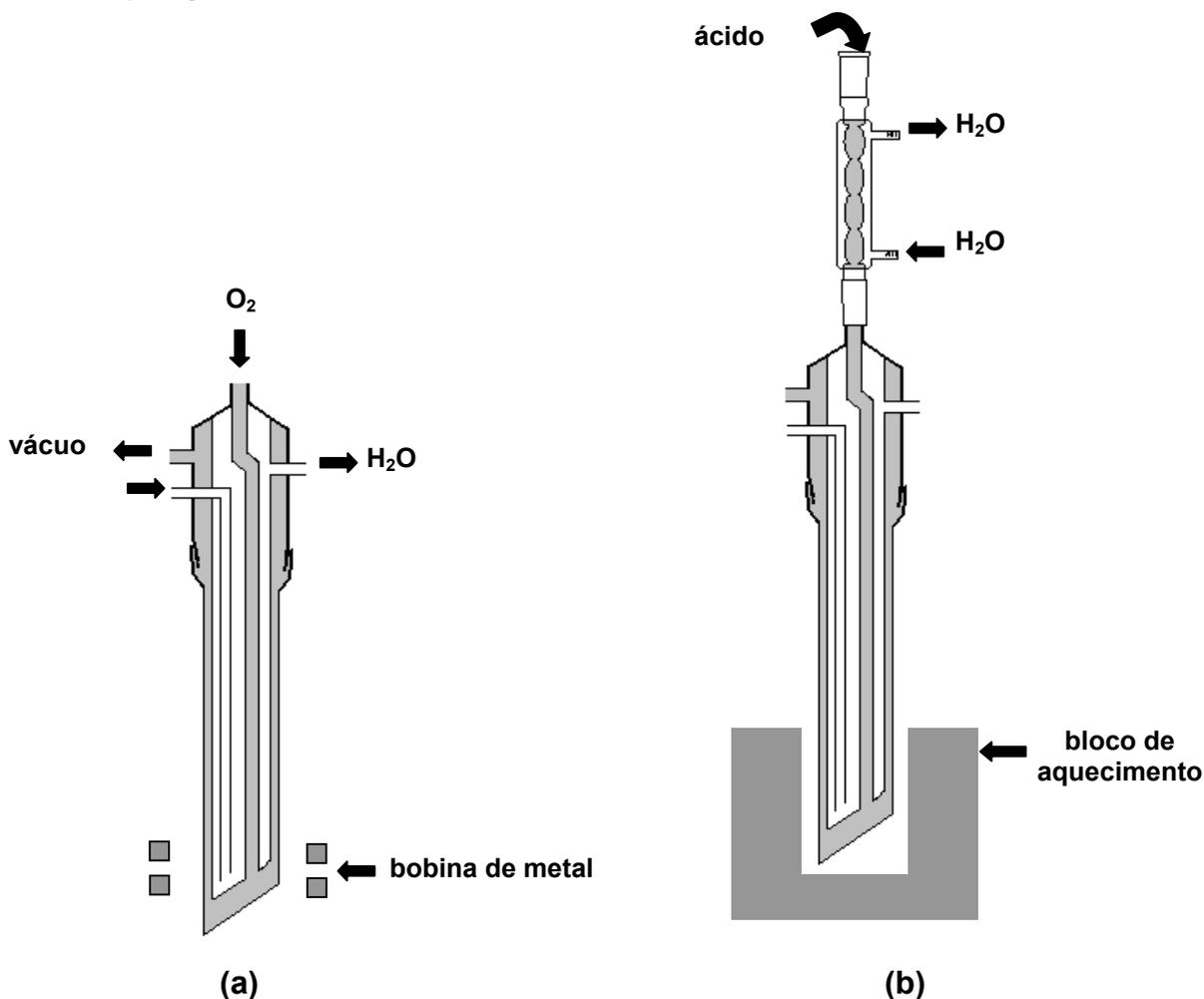


Figura 2. Sistema de decomposição em baixa temperatura com oxigênio excitado (adaptado de Raptis *et al.*¹⁵⁰). (a) sistema durante a combustão e (b) sistema após a combustão e durante o refluxo.

Mulford (1966)¹²⁷ avaliou a influência da potência aplicada para gerar o plasma na decomposição de pó de celulose e ágar contendo óxido de cobre. O autor verificou que mercúrio era perdido em todas as potências e que selênio apresentava recuperação que variava de 5 a 70% para as potências de 295 W e 32 W, respectivamente. Para arsênio, as perdas foram proporcionais à potência aplicada, no intervalo de 70 a 275 W. Walsh *et al.* (1976),¹⁷⁷ também observaram perdas substanciais de arsênio no preparo de amostras de material particulado atmosférico

⁶⁷ GILLAIN, G., *Talanta* 29 (1982) 651-654

¹⁵⁰ RAPTIS, S.E., KNAPP, G., SCHALK, A.P., *Fresenius Z. Anal. Chem.* 316 (1983) 482-487

¹²⁷ MULFORD, C.E., *At. Absorp. Newsl.* 5 (1966) 135-139

¹⁷⁷ WALSH, P.R., FASCHING, J.L., DUCE, R.A., *Anal. Chem.* 48 (1976) 1012-1014

e de várias matrizes sintéticas de sais marinhos. As perdas, provavelmente, eram dependentes da constituição da amostra, da potência empregada na geração do plasma e do tempo de exposição da amostra.

A perda de mercúrio em amostras de peixe foi avaliada por Pillay *et al.* (1971).¹⁴⁷ Os autores verificaram que após o intervalo de 3,5 a 7,0 horas de preparo, as perdas de mercúrio (adicionado na forma de Hg^{2+}) em seis amostras diferentes variaram de 81,4% a 98,0%.

Carter e Yeoman (1980)²⁶ utilizaram uma mistura de oxigênio e tetrafluoreto de carbono para aumentar a velocidade da decomposição de amostras de sangue. Os autores colocavam 10 μL de sangue mais 50 μL de água em um recipiente de níquel (clássico copo de Delves), secavam a amostra em chapa de aquecimento (2 minutos a 110 °C) e, finalmente, introduziam o copo no sistema. O tempo necessário para destruição da matéria orgânica dependia da mistura utilizada na geração do plasma, sendo 12,5 min para uma mistura 1+1 de oxigênio e tetrafluoreto de carbono. Em 1982, Williams substituiu o tetrafluoreto de carbono por politetrafluoretileno (PTFE) como fonte de flúor e como recipiente para a amostra, obtendo menor interação da amostra com o recipiente.¹⁸¹ Os autores comentam que apesar dos bons resultados obtidos para a determinação de Sn, Fe, Pb e Cr em alimentos, poderia ocorrer a formação de fluoretos voláteis, por exemplo, com B, P, S, Si, Ti, U e W.

Djudzman *et al.* (1977)⁴⁰ determinaram bismuto em fígado bovino, fígado e cérebro de rato, após decomposição à baixa temperatura com oxigênio excitado (LTA) e determinação por espectrometria de absorção atômica com aquecimento eletrotérmico (ET AAS). Os autores observaram que era necessário, aproximadamente, cerca de 15 h para a completa destruição da matéria orgânica com este sistema de decomposição.

Com relação aos aspectos de segurança, o sistema de decomposição em baixa temperatura com oxigênio excitado é bastante seguro, já que opera à baixa temperatura e aberto evitando, assim, o risco de explosões. Além disso, a técnica apresenta algumas vantagens, como a utilização de pequenas quantidades de reagentes e, conseqüentemente, menor contaminação, pequena diluição da amostra (uma vez que 2 g da amostra podem ser reconstituídos em apenas 1 ou 2 mL de

¹⁴⁷ PILLAY, K.K.S., THOMAS, C.C., SONDEL, J.A., HYCHE, C.M., *Anal. Chem.* 43 (1971) 1419-1425

²⁶ CARTER, G.F., YEOMAN, W.B., *Analyst* 105 (1980) 295-297

¹⁸¹ WILLIAMS, E.V., *Analyst* 107 (1982) 1006-1013

⁴⁰ DJUDZMAN, R., EECKHOUT, E. VAN DEN, MOERLOOSE, P. DE, *Analyst* 102 (1977) 668-691

ácido) e a decomposição de materiais de difícil preparo tais como grafite e PTFE. Entretanto, este procedimento envolve grande consumo de tempo, apresenta custo relativamente alto, baixa frequência analítica e podem ocorrer perdas de alguns elementos.¹⁵⁰

A técnica foi empregada para o preparo de amostras para a determinação de Cd em sangue¹⁷³ e arroz,¹³² B em tecidos animais¹²⁰ e materiais biológicos,³⁵ Na em fibras acrílicas,³³ Cd e Pb em sangue,⁷⁶ constituintes inorgânicos em carvão,¹⁷⁶ Pb e Se em petróleo¹⁶ e vinte e oito elementos em carvão.¹³⁰

2.3.1.3. Sistema de Wickbold com chama hidrogênio-oxigênio

A técnica de decomposição de Wickbold¹⁸⁰ foi descrita em 1952 como um “novo e rápido método para a determinação de halogênios em materiais orgânicos”. Neste sistema, a amostra é queimada em uma chama, composta por uma mistura de, aproximadamente, 50% (v/v) de oxigênio e hidrogênio, atingindo uma temperatura maior que 2000 °C. Líquidos e gases podem ser introduzidos diretamente na chama. No caso de amostras sólidas, uma etapa de pirólise pode ser necessária. Atualmente, dois tipos de queimadores estão disponíveis comercialmente (Heraeus Quarzglas GmbH). O queimador com sucção é utilizado para amostras líquidas e o queimador do tipo BITC (Bureau International du Technique Chlorine) para amostras sólidas e líquidos que contenham sólidos.

O sistema de combustão de Wickbold pode ser dividido em três partes principais:

- **Queimador** com uma unidade de pré-combustão opcional (especialmente para amostras sólidas). Amostras líquidas e gasosas são introduzidas diretamente no queimador. Amostras sólidas são primeiramente pirolisadas em uma unidade de pré-combustão e então transportadas para a chama.

¹⁵⁰ RAPTIS, S.E., KNAPP, G., SCHALK, A.P., *Fresenius Z. Anal. Chem.* 316 (1983) 482-487

¹⁷³ VALENTA, P., RÜTZEL, H., NÜRNBERG, H.W., STOEPLER, M., *Fresenius Z. Anal. Chem.* 285 (1977) 25-34

¹³² NARASAKI, H., *Anal. Chim. Acta* 104 (1979) 393-395

¹²⁰ MAIR, J.W., DAY, H.G., *Anal. Chem.* 44 (1972) 2015-2017

³⁵ DAUGHTREY, E.H., HARRISON, W.W., *Anal. Chim. Acta* 72 (1974) 225-230

³³ COOMBER, R., WEBB, J.R., *Analyst* 95 (1970) 668-669

⁷⁶ HAUSER, T.R., HINNERS, T.A., KENT, J.L., *Anal. Chem.* 44 (1972) 1819-1821

¹⁷⁶ VOGT, C., *Fresenius J. Anal. Chem.* 350 (1994) 89-92

¹⁶ BARSHICK, C.M., SMITH, D.H., HACKNEY, J.H., COLE, B.A., WADE, J.W., *Anal. Chem.* 66 (1994) 730-734

¹³⁰ NADKARNI, R.A., *Anal. Chem.* 52 (1980) 929-935

¹⁸⁰ WICKBOLD, R., *Angew. Chem.* 64 (1952) 133-135

- **Câmara de combustão com sistema de resfriamento com água**, onde os produtos da combustão são condensados em uma superfície de quartzo.
- **Tubo de absorção** dos produtos gasosos e condensados da combustão.

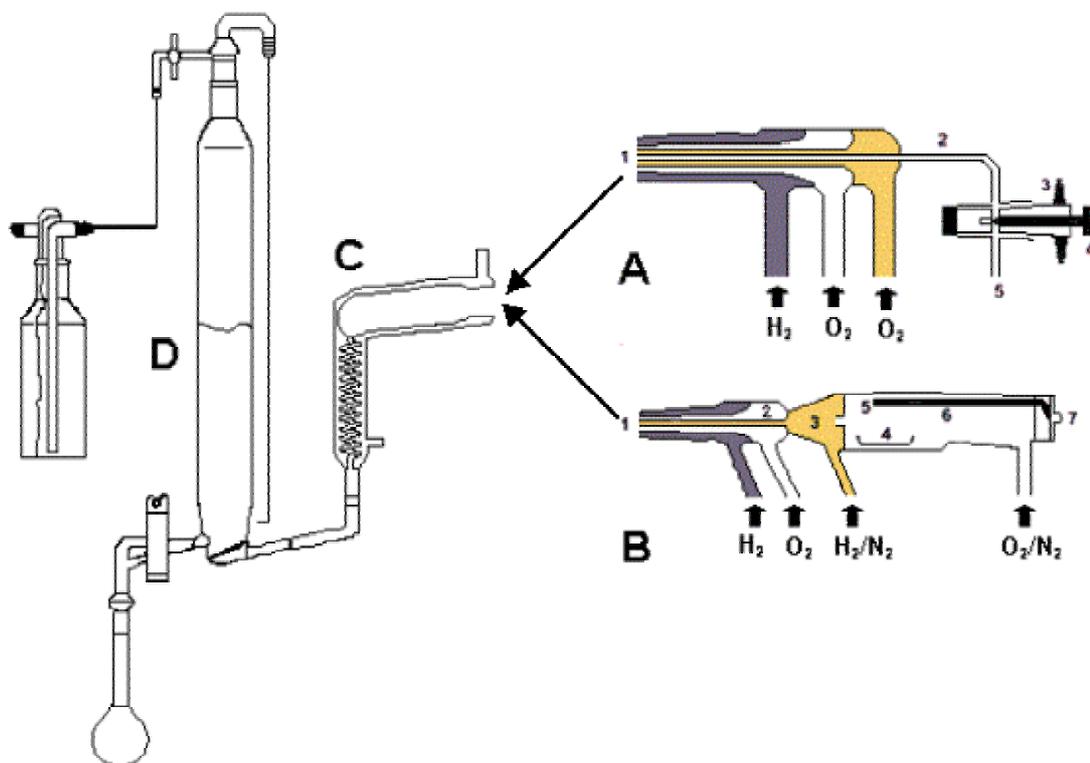


Figura 3. Sistema de combustão de Wickbold com chama hidrogênio-oxigênio: queimador com sucção para amostras líquidas (A) e queimador para amostras sólidas Bureau International du Technique Chlorine (BITC) (B), câmara de combustão com sistema de resfriamento com água (C) e tubo de absorção (D). A) 1. 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.*^{47,48}).

Os produtos gasosos que ficam retidos no sistema após a decomposição da amostra são retirados com a aplicação de vácuo através do tubo de absorção.

O queimador BITC (vide Fig. 3) para amostras sólidas emprega um recipiente de quartzo para acondicionamento da amostra. A amostra é volatilizada do recipiente e introduzida na chama através de aquecimento (de até 1100 °C) na unidade de pré-combustão. O sistema opera em batelada, onde a chama tem de ser

⁴⁷ ERBER, D., QUICK, L., ROTH, J., CAMMANN, K., *Fresenius J. Anal. Chem.* 346 (1993) 420-425

⁴⁸ ERBER, D., QUICK, L., WINTER, F., ROTH, J., CAMMANN, K., *Fresenius J. Anal. Chem.* 349 (1994) 502-509

extinta e o queimador removido para introdução de nova amostra. Já o queimador com sucção, empregado para líquidos, opera de forma contínua e a taxa de aspiração pode ser regulada.

Líquidos inflamáveis podem ser introduzidos no sistema diretamente mas, para líquidos viscosos, não-inflamáveis e aquosos, podem ser necessárias diluições com volumes iguais de acetona e metanol. Amostras contendo sais de metais alcalinos, assim como, amostras contendo fósforo, podem causar danos ao queimador de quartzo. Este problema poderia ser contornado pela substituição do queimador de quartzo por um queimador de aço inoxidável, mas podem ocorrer corrosões com amostras contendo cloreto.¹²⁴

Erber *et al.* (1993)⁴⁷ relataram que a decomposição com emprego do sistema de Wickbold pode separar compostos altamente voláteis de compostos com baixa volatilidade, através do controle da temperatura no interior da câmara de pré-combustão. Estes autores investigaram os resíduos da combustão do material de referência BCR 176 (*resíduo da incineração de lixo urbano*) e observaram que, elementos como Al, Cr, Fe, Ti, Cu, Ni, Sn e metais alcalinos e alcalinos terrosos, permanecem no resíduo da combustão. Esta separação pode ser muito interessante quando níquel é separado de elementos como selênio e arsênio, quando estes são determinados por espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos (HG AAS). As concentrações de chumbo, cádmio e zinco, no resíduo, diminuem, significativamente, quando altas temperaturas na câmara de pré-combustão são empregadas. Além disso, estes autores constataram que uma temperatura em torno de 600 °C é suficiente para volatilizar elementos como arsênio, selênio e antimônio, e, desta forma, menos de 5% de elementos como zinco, cádmio e chumbo são vaporizados. Os autores também investigaram diferentes soluções absorvedoras, para elementos como arsênio, selênio e antimônio para a determinação por HG AAS, mostrando que a água pode atuar como solvente universal para a absorção destes elementos.

Hoppstock e Milchulitz (1997)⁸² determinaram platina em gasolina com detecção voltamétrica. Contudo, os autores observaram que havia interferência de alguns componentes orgânicos mesmo com as condições drásticas da decomposição de Wickbold. Entretanto, estas interferências não foram observadas

¹²⁴ Mercury Analysis Working Party of BITC, *Anal. Chim. Acta* 84 (1976) 231-257

⁴⁷ ERBER, D., QUICK, L., ROTH, J., CAMMANN, K., *Fresenius J. Anal. Chem.* 346 (1993) 420-425

⁸² HOPPSTOCK, K.; MICHULITZ, M., *Anal. Chim. Acta* 350 (1997) 135-140

para a detecção por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS).

Erber *et al.* (1994)⁴⁸ determinaram mercúrio em materiais de referência certificados de sedimento, azevém, solo calcário, lodo de esgoto industrial, minério concentrado de zinco, carvão, após decomposição por combustão de Wickbold. Foram pesadas de 0,1 a 10 g de amostra e foram colocadas no recipiente de quartzo. Tetracloreto de carbono foi misturado ao fluxo de oxigênio ou nitrogênio, da chama hidrogênio-oxigênio para converter o mercúrio para o cloreto correspondente. Assim, os autores relataram que, foi possível decompor amostras orgânicas e inorgânicas para a determinação de mercúrio com sistema de injeção em fluxo e detecção por espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio (CV AAS).

O sistema de combustão de Wickbold com chama hidrogênio-oxigênio tem sido aplicado, também, para a decomposição e posterior determinação de fluoreto em compostos orgânicos contendo flúor,¹⁶⁷ cloreto em polímeros de polibuteno,¹⁵⁶ nitrogênio em óleos minerais⁷² e mercúrio em petróleo.⁹⁴ Entretanto, a maior aplicação do sistema de combustão de Wickbold encontra-se no preparo de amostras de petróleo para a determinação de S e Cl.^{44,45,102,111} Porém, elementos como Cl, Br, F, B, S, Hg, I, P, Pb, As, Se, V, Cd e Zn, também, podem ser determinados empregando esta técnica para o preparo da amostra.¹⁰³

2.3.2. Combustão em sistemas fechados

2.3.2.1. Frasco de combustão de Schöniger

Em 1892, Hempel determinou enxofre gravimetricamente em amostras de carvão, e outros materiais, utilizando a técnica de combustão da amostra em recipiente fechado com excesso de oxigênio. Em 1955, Schöniger demonstrou que

⁴⁸ ERBER, D., QUICK, L., WINTER, F., ROTH, J., CAMMANN, K., *Fresenius J. Anal. Chem.* 349 (1994) 502-509

¹⁶⁷ SWEETSER, P.B., *Anal. Chem.* 28 (1956) 1766-1768

¹⁵⁶ ROWE, R.D., *Anal. Chem.* 37 (1965) 368-370

⁷² GOUVERNEUR, P., SNOEK, O.I., HEERINGA-KOMMER, M., *Anal. Chim. Acta* 39 (1967) 413-422

⁹⁴ KNAUER, H.E., MILLIMAN, G.E., *Anal. Chem.* 47 (1975) 1263-1268

⁴⁴ EHRENBERGER, F., *Mikrochim. Acta* 2 (1977) 39-43

⁴⁵ EHRENBERGER, F., GORBACH, S., HUMMEL, K., *Fresenius Z. Anal. Chem.* 210 (1965) 349-354

¹⁰² KULKE, M., UMLAND, F., *Fresenius Z. Anal. Chem.* 288 (1977) 273-276

¹¹¹ LIEDERMAN, D., GLASS, J.R., *Microchem. J.* 10 (1966) 211-217

¹⁰³ Laborgerätebörse, Laboratory Equipment Exchange, <http://www.labexchange.com/english/index.html>, acessada em 15/04/2004

esta técnica de combustão de compostos orgânicos poderia ser aplicada em microescala, com a mesma exatidão dos procedimentos clássicos de microanálises.

A técnica consiste, essencialmente, em queimar a amostra em um recipiente fechado, com excesso de oxigênio, e absorver os gases produzidos durante a queima em uma solução absorvedora adequada. A decomposição ocorre em poucos segundos e os elementos de interesse, presentes na solução absorvedora, podem ser determinados de acordo com a técnica mais adequada. Esta técnica pode ser aplicada para a determinação de halogênios, enxofre, fósforo, arsênio, carbono e outros metais.¹⁵¹

O recipiente utilizado para o processo de combustão é, geralmente, um frasco cônico (na forma de erlenmeyer), de borosilicato, de 25 mL a 10 L, variando de acordo com a massa de amostra a ser queimada. Um recipiente de 250 ou 300 mL é adequado para a queima de 25 mg de amostra (Fig. 4). Alguns autores utilizaram frascos de polietileno para a determinação de silício, bem como quartzo²³ e policarbonato¹¹² para a determinação de fluoreto, visando minimizar a interação do analito com o frasco.

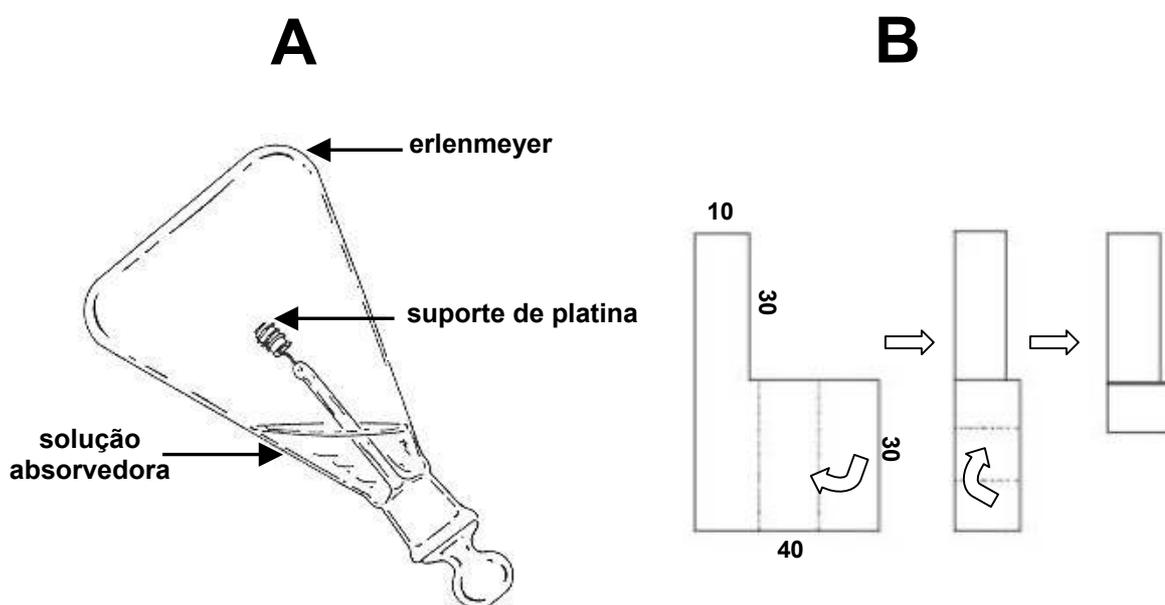


Figura 4. Frasco de combustão de Schöniger (A) e procedimento de embalagem da amostra (B, dimensões do papel em milímetros). Adaptado de MacDonald.¹¹⁵

¹⁵¹ REILLEY, C.N.; MacDONALD, A.M.G., vol. 4, John Willey & Sons, Inc (1965) 76-88

²³ BURROUGHS, J.E., KATOR, W.G., ATTIA, A.I., *Anal. Chem.* 40 (1968) 657-658

¹¹² LIGHT, T.S., MANNION, R.F., *Anal. Chem.* 41 (1969) 107-111

¹¹⁵ MacDONALD, A.M.G., *Advances in analytical chemistry and instrumentation* (1960) 75-116

A solução absorvedora é escolhida de acordo com o elemento a ser determinado, bem como pela técnica de detecção a ser utilizada. Já o volume desta solução, normalmente, depende da quantidade de amostra a ser queimada. Lau *et al.* (1982),¹⁰⁶ ao determinarem selênio em amostras de tecidos vegetais, observaram que a absorção de selênio em ácido acético era dependente da concentração e do volume da solução absorvedora. Utilizando concentrações de ácido acético de 2 a 4 mol L⁻¹, os autores obtiveram recuperações de 78% a 87% para 10 mL e de 90% a 94% para 25 mL de solução absorvedora.

Na técnica de combustão, a amostra, geralmente, é envolvida em um papel de filtro, devidamente dobrado, e suspensa na tampa do recipiente por um suporte de platina (Fig.4). O suporte é composto, normalmente, por um fio de platina de 0,5 a 1,0 mm de espessura que forma uma espécie de “cesta” na extremidade, de cerca de 15 x 30 mm.¹¹⁵ Além do papel de filtro com baixo teor de cinzas, outros materiais podem ser usados, como por exemplo, papel de cigarro, filmes de polietileno,¹⁸ cápsulas de metilcelulose,^{64,112} cápsulas de gelatina para líquidos^{41,42} e sólidos voláteis,¹⁵⁴ capilares de vidro no caso de líquidos de alto ponto de ebulição, além de envelopes de fita adesiva¹⁷⁸ e celofane.^{2,74} Dobbs (1964)⁴¹ determinou carbono-14 em compostos halogenados após decomposição em frasco de combustão de Schöniger. A amostra líquida (bromometano) foi injetada em uma cápsula de gelatina que, posteriormente, foi coberta com pó de celulose para evitar a produção de fuligem. Cápsulas de metilcelulose também podem ser utilizadas para suportar amostras sólidas, mas são utilizadas, principalmente, para amostras líquidas.¹¹² Amostras líquidas também podem ser misturadas a retardantes de chama (p. ex. MgO) e, posteriormente, preparadas na forma de pellets.⁴⁹ Gawargious *et al.*(1975)⁶³ determinaram fluoreto em compostos fluor-orgânicos onde, para amostras líquidas, utilizaram uma bolsa de papel celofane presa a uma tira de papel filtro, que continha no seu interior um pedaço de tecido de algodão para adsorver a amostra.

¹⁰⁶ LAU, C.M., URE, A.M., WEST, T.S., *Anal. Chim. Acta* 141 (1982) 213-224

¹¹⁵ MacDONALD, A.M.G., *Advances in analytical chemistry and instrumentation* (1960) 75-116

¹⁸ BELCHER, R., CAMPBELL, A.D., GOUVERNEUR, P., MacDONALD, A.M.G., *J. Chem. Soc.* 585 (1962) 3033-3037

⁶⁴ GEDANSKY, S.J., BOWEN, J.E., MILNER, O.I., *Anal. Chem.* 32 (1960) 1447-1449

¹¹² LIGHT, T.S., MANNION, R.F., *Anal. Chem.* 41 (1969) 107-111

⁴¹ DOBBS, H.E., *Anal. Chem.* 36 (1964) 687-689

⁴² DOBBS, H.E., *Anal. Chem.* 35 (1963) 783-786

¹⁵⁴ ROGERS, R.N., YASUDA, S.K., *Anal. Chem.* 31 (1959) 616-617

¹⁷⁸ WANG, C.Y., ZHOU, Y.M., YANG, W.Z., *Microchem. J.* 51 (1995) 374-378

² ALLAWAY, W.H., CARY, E.E., *Anal. Chem.* 36 (1964) 1359-1362

⁷⁴ GUTENMANN, W.H., LISK, D.J., *J. Agr. Food Chem.* 8 (1960) 306-308

¹¹² LIGHT, T.S., MANNION, R.F., *Anal. Chem.* 41 (1969) 107-111

⁴⁹ FARLEY, L.L., WINKLER, R.A., *Anal. Chem.* 35 (1963), 772-773

⁶³ GAWARGIOUS, Y.A., BESADA, A., FALTAOOS, B.N., *Anal. Chem.* 47 (1975) 502-505

Embora o papel filtro com baixo teor de cinzas seja o invólucro mais utilizado, em alguns casos seu uso pode ser restringido pela contaminação com alguns elementos. MacDonald *et al.* (1962)¹¹⁷ encontraram concentrações elevadas de cloretos em papéis de filtro e de cigarro, substituindo o uso destes por um fino pedaço de polietileno visando a determinação de cloreto, brometo e iodeto em compostos orgânicos.¹¹⁶ Uma importante observação feita por Miyahara *et al.* (1998),¹²⁶ durante a determinação de fluoretos em compostos orgânicos, em frasco de combustão de Schöniger, foi que o papel de filtro usado como invólucro da amostra comporta-se, também, como combustível. Entretanto, foi observado que a variação na quantidade de papel de filtro (massa de papel) envolvendo a amostra, não influencia na recuperação do elemento, nem no desvio padrão relativo (RSD) entre as medidas.

Dependendo do tipo de amostra, podem ocorrer algumas dificuldades quanto à escolha dos invólucros conforme foi relatado por Barney *et al.* (1959),¹⁵ ao determinarem fósforo em óleos e aditivos para motores. Estes autores observaram que, quando amostras de óleo eram contidas em cápsulas de gelatina, estas se deformavam rapidamente durante a combustão permitindo assim, que a amostra caísse na solução absorvedora antes que fosse queimada completamente. Também relataram que o papel de filtro, além do difícil manuseio com este tipo de amostra, não adsorve o óleo suficientemente, ocorrendo perdas para a solução absorvedora. Para superar tais problemas, elaboraram um microbéquer para suspender a amostra. Fukasawa e Yamane (1980)⁵⁷ demonstraram que o sucesso na combustão de um óleo depende da quantidade de amostra, da geometria do papel filtro e do espalhamento da amostra no papel filtro, obtendo bons resultados quando a amostra está bem distribuída no papel.

Algumas alterações ou adaptações no suporte da amostra podem ser feitas de acordo com a necessidade e com o tipo de amostra a ser decomposta. Dobbs (1963)⁴² utilizou um tipo de plataforma de platina para suportar amostras sólidas e outro para amostras líquidas. Para as amostras sólidas, que foram prensadas na forma de *pellets*, foi construída uma plataforma a partir de uma gaze de platina e, para as amostras líquidas, as quais foram injetadas dentro de cápsulas de gelatina, foi

¹¹⁷ MacDONALD, A.M.G., *Submicro-methods of organic analysis*. Part XIV (1962) 1938-1942

¹¹⁶ MacDONALD, A.M.G., *Submicro-methods for the analysis organic compounds*. Part XVIII (1964) 3560-3563

¹²⁶ MIYAHARA, T., OGAI, F., KITAMURA, H., NARITA, K., TAKINO, Y., TOYO'OKA, T., *Anal. Sci.* 14 (1998) 1145-1147

¹⁵ BARNEY, J.E., BERGMANN, J.G., TUSKAN, W.G., *Anal. Chem.* 31 (1959) 1394-1396

⁵⁷ FUKASAWA, T., YAMANE, T., *Anal. Chim. Acta* 113 (1980) 123-130

⁴² DOBBS, H.E., *Anal. Chem.* 35 (1963) 783-786

construído um cesto de gaze de platina, evitando assim, que a cápsula amolecasse e a amostra caísse na solução absorvedora antes da queima. Com estas alterações, foram evitadas perdas da amostra para a solução absorvedora e os resultados obtidos foram concordantes com os materiais de referência analisados. Também podem ser utilizados suportes com outros formatos, como o recipiente cilíndrico de quartzo (30 mm de diâmetro, 15 mm de altura) utilizado por Boer e Visser (1968)³⁶ para queimar (0,1 a 2 g) sulfeto de cádmio, sulfeto ou seleneto de zinco e enxofre elementar para a determinação de halogênios.

Podem ocorrer interações de alguns elementos com a platina do suporte, conforme foi observado por Hassan *et al.* (1988),⁷⁵ durante o processo de combustão de compostos orgânicos para a determinação de bismuto. Os autores relataram que, a recuperação deste elemento era em torno de 30 a 40%, o que poderia ser ocasionada pela formação de ligas do bismuto com a platina. Assim, no intuito de contornar o problema, os autores substituíram o suporte de platina por uma espiral de sílica.

Outros elementos como antimônio,¹⁹ selênio,⁵³ arsênio^{62,171} e germânio,³⁷ também podem interagir com o suporte de platina, levando a resultados insatisfatórios devido a adsorção no suporte. Além disso, ocorre, também, um desgaste da superfície de platina conforme foi observado por Clark e Al-Turaihi (1976)³¹ durante a determinação de telúrio em compostos organotelúricos. Estes autores observaram que, após cerca de dez combustões, o suporte de platina começava a ficar frágil e quebradiço, o que é um outro inconveniente devido ao seu custo elevado. Entretanto, o mesmo efeito não foi observado nos estudos feitos por Vickers e Wilkinson (1961)¹⁷⁵ para a formação de ligas de mercúrio com a platina durante o processo de combustão. Utilizando suportes de platina e de sílica, os autores relataram que os resultados, encontrados por titulometria, para mercúrio em amostras de acetato de fenilmercúrio (reagente de grau analítico) foram os mesmos. Porém, Ure e Shand, empregando suporte de platina, encontraram baixa recuperação de mercúrio por CV AAS.¹⁷² Estes autores atribuíram a baixa

³⁶ DE BOER, F.J., VISSER, J., *Analyst* 93 (1968) 56-58

⁷⁵ HASSAN, H.N.A., HASSOUNA, M.E.M., GAWARGIOUS, Y.A., *Talanta* 35 (1988) 311-313

¹⁹ BISHARA, S.W., GAWARGIOUS, Y.A., FALTAOOS, B.N., *Anal. Chem.* 46 (1974) 1103-1105

⁵³ FORBES, S., BOUND G.P., WEST, T.S., *Talanta* 26 (1979) 473-477

⁶² GAWARGIOUS, Y.A., BOULOS, L.S., FALTAOOS, B.N., *Talanta* 23 (1976) 513-516

¹⁷¹ TUCKERMAN, M.M., HODECKER, J.H., SOUTHWORTH, B.C., FLEISCHER, K.D., *Anal. Chim. Acta* 21 (1959) 463-467

³⁷ DEBAL, E., KOLOSKY, M., PEYNOT, S., REVAULT, M., *Talanta* 26 (1979) 75-79

³¹ CLARK, E.R., AL-TURAIHI, M.A., *J. Organomet. Chem.* 118 (1976) 55-58

¹⁷⁵ VICKERS, C., WILKINSON, J.V., *J. Pharm. Pharmacol.* S 13(1961) 156- 160

¹⁷² URE, A.M., SHAND, C.A., *Anal. Chim. Acta* 72 (1974) 63-77

recuperação à platina volatilizada do suporte, encontrando 5 a 10 μg desta na solução absorvedora. Para contornar este problema, os autores empregaram, com sucesso, suportes feitos de tântalo e tungstênio.

Com relação aos procedimentos de ignição, esta pode ser elétrica, com lâmpada focada, ou também, manual, sendo as primeiras vantajosas com relação aos aspectos de segurança, uma vez que é efetuada atrás de um anteparo. A última (manual), apesar de apresentar menor segurança, é extremamente simples de realizar, e não necessita de acessórios especiais para a ignição. Verifica-se que, após a combustão, um pequeno vácuo é criado no interior do frasco devido ao consumo de oxigênio e carbono e a formação e absorção de CO_2 .

Numerosas combustões têm sido realizadas com os frascos sem proteção externa, mas em vista de relatos de explosões em alguns casos isolados, tornou-se necessária maior atenção para o uso dos frascos desprotegidos. Sendo assim, uma jaqueta feita com uma gaze de metal, que envolve o frasco de vidro, pode ser usada. Esta proteção consiste em duas partes: um fundo circular e uma parte cônica que envolve todo o frasco e possui uma tira de couro no gargalo para fechar a gaze de metal no frasco.^{71,73}

Recentemente, um procedimento de decomposição em sistema fechado por combustão iniciada por microondas foi proposto por Barin (2003)¹² para a determinação de metais e não metais em produtos farmacêuticos. Este sistema foi desenvolvido observando-se as características da técnica de combustão de Schöniger, porém com vantagens com respeito a maior massa de amostra utilizada, possibilidade de refluxo sem a abertura do frasco, ignição da amostra apenas pela irradiação com microondas e menor consumo de ácidos. Foi feita uma adaptação em sistemas disponíveis comercialmente (Prolabo[®] mod. 7195) para decomposição de amostras assistida por microondas em sistema fechado. Foi fixado um dispositivo de quartzo na parte superior do frasco de decomposição (perfluoralcói, PFA) convencional (Fig. 5), servindo tanto como suporte para a amostra quanto como para a proteção da tampa do frasco, pois temperaturas superiores à deformação do PFA são, facilmente, atingidas. Cerca de 150 mg de estearato de magnésio eram envolvidas em cápsulas feitas manualmente com papel de cigarro gomado e, após, eram adicionados 45 μL de NH_4NO_3 6 mol L^{-1} (utilizado como iniciador de

⁷¹ GOUVERNEUR, P., HOEDEMAN, W., *Anal. Chim. Acta* 30 (1964) 519-523

⁷³ GOUVERNEUR, P.; EERBEEK, C.D.F., *Anal. Chim. Acta* 27 (1962) 305-306

¹² BARIN, J.S., Dissertação de mestrado, Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Farmacêutica, UFSM, Santa Maria/RS, 2003

combustão) na cápsula contendo a amostra. O frasco contendo 5 mL de HNO_3 concentrado era fechado com a tampa contendo o suporte com a amostra e, posteriormente, o sistema era pressurizado com 5 atm de oxigênio. A seguir, o sistema era colocado no forno de microondas, previamente calibrado, e irradiado por 40 s. O autor relata que a amostra começava a queimar em, aproximadamente, 3 s com um tempo total de queima em torno de 10 s, estas observações foram feitas a partir da emissão de luz no momento da combustão.

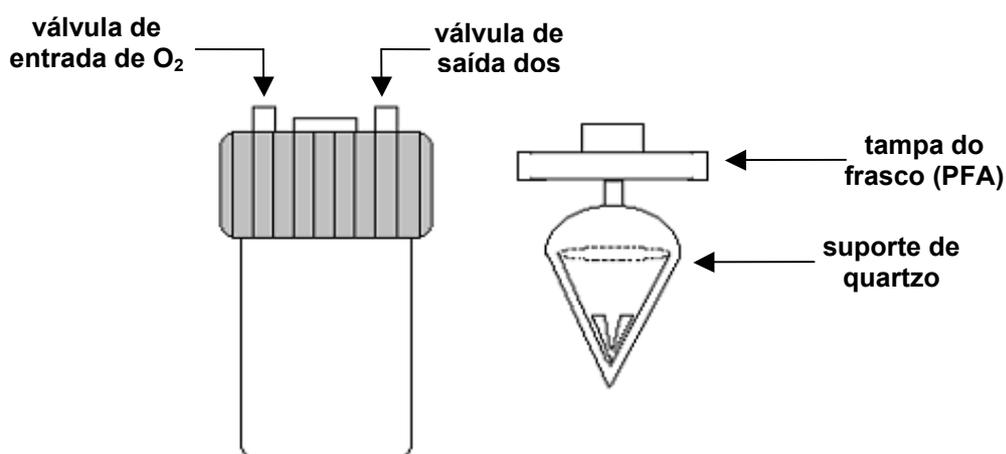


Figura 5. Sistema de decomposição por combustão iniciada por microondas (adaptado de Barin¹²).

Com este sistema foi possível a determinação de elementos como Cd, Cu, Na e Se, aplicando, somente, a combustão, sem a etapa de refluxo. Já para Zn e Cd a etapa de refluxo era necessária para assegurar boa recuperação. Entretanto, concordâncias superiores a 95% eram obtidas para todos os elementos após uma etapa adicional de refluxo. O autor salienta que P e Se também podem ser determinados após a decomposição com o sistema proposto. O sistema fechado de decomposição de amostras por combustão iniciada por microondas permite a determinação subsequente, por diversas técnicas espectrométricas e cromatográficas. Sendo assim, para estas técnicas de detecção, não são esperadas interferências devido à concentração ácida da solução absorvedora em que o analito se encontra e, nem ao carbono residual que foi baixo, quando comparado a sistemas de decomposição por via seca em mufla.

¹² BARIN, J.S., Dissertação de mestrado, Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Farmacêutica, UFSM, Santa Maria/RS, 2003

2.3.2.2. Bomba de combustão

A bomba de combustão, consiste, basicamente, de um recipiente de aço inoxidável, em geral com um volume interno de 300 mL, inserida em um banho de água, muito similar à clássica bomba calorimétrica (Fig. 6). Para a determinação de elementos traço, o interior da bomba pode ser revestido com quartzo, vidro ou platina. A amostra, normalmente, é inserida na forma de uma pastilha no copo de ignição (de platina ou quartzo), que está fixado em dois eletrodos. Uma pequena quantidade de solução absorvedora, normalmente 10 mL, é colocada no fundo do frasco e, logo após, a bomba é fechada e preenchida com oxigênio até atingir uma pressão, geralmente, da ordem de 25 atm. Durante a combustão, a bomba é resfriada em um banho de água e, terminada esta e a etapa de arrefecimento, a solução ou o resíduo obtido são utilizados para a determinação dos elementos de interesses.

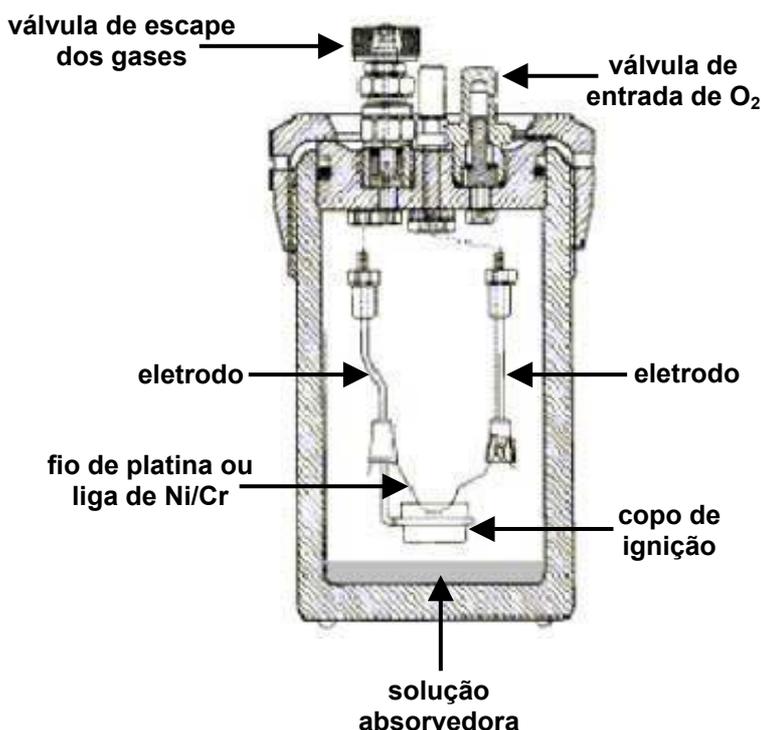


Figura 6. Bomba de combustão (tradicional bomba calorimétrica) (adaptado de Souza *et al.*¹⁶²).

Fujiwara e Narasaki (1968)⁵⁶ observaram que, após a combustão de polietileno, era necessário que a detecção fosse feita imediatamente após a ignição,

¹⁶² SOUZA, G.B.; CARRILHO, E.N.V.M.; OLIVEIRA, C.V.; NOGUEIRA, A.R.A.; NÓBREGA, J.A., *Spectrochim. Acta* 57B (2002) 2195-2201

para assegurar uma boa recuperação de cloro e mercúrio. Já no caso do cobre, ferro, chumbo, vanádio e zinco a recuperação não era completa sem que os produtos da combustão fossem tratados com um meio fortemente ácido. Os autores recomendaram este procedimento para a completa ionização dos elementos e para assegurar sua reação com o reagente complexante, usado na determinação espectrofotométrica. O meio ácido e agente complexante utilizados foram adequados para cada elemento. Para Zn, por exemplo, foi usado ácido nítrico 7 mol L⁻¹ para a etapa de refluxo e, como agente complexante, ditizona em meio de tetracloreto de carbono. Estes autores, também, determinaram a concentração de O₂ e CO₂, na fase gasosa, antes e depois da combustão de 1 g de polietileno, por espectrometria de massa. O valor encontrado para O₂, antes da combustão, foi de 95,84% (v/v) e, depois da ignição 68,76% (v/v); já para CO₂, o valor determinado antes da ignição foi de 0,02% (v/v) e de 28,95% (v/v) depois da combustão.

A decomposição empregando bomba de combustão foi empregada para o preparo de amostras biológicas e posterior determinação de Ca, Cu, K, Mg, Na, P, S, Zn e I por ICP OES. Os autores¹⁶² utilizaram uma mistura de parafina e etanol como auxiliar de combustão e uma etapa de resfriamento de 5 a 10 minutos, que melhoraram o desempenho do sistema. Para amostras de tecidos animais e elementos facilmente volatilizados, esta mistura não é necessária, mas no caso de amostras, como leite em pó, esta torna-se indispensável, assim como a etapa de resfriamento. Soluções absorvedoras de amins terciárias (CFA-C) e HNO₃ foram estudadas e seu uso foi adequado para todos os elementos, com exceção de iodo, que não foi, eficientemente, absorvido em HNO₃. Os resultados para Zn apresentaram boa concordância com os valores certificados, com ou sem o uso do auxiliar de combustão e, da etapa de resfriamento.

Outras substâncias como querosene, 1-dodecanol, 1-butanol tem sido utilizadas como auxiliares de combustão em amostras de resíduos químicos,⁵⁸ combustíveis,⁵⁹ produtos do petróleo e materiais gordurosos.¹³³ Como outros exemplos de sua aplicação, a decomposição com bomba de combustão tem sido utilizada em procedimentos envolvendo a determinação de Hg em alfafa e arroz,^{22, 55}

⁵⁶ FUJIWARA, S., NARASAKI, H., *Anal. Chem.* 40 (1968) 2031-2033

¹⁶² SOUZA, G.B.; CARRILHO, E.N.V.M.; OLIVEIRA, C.V., NOGUEIRA, A.R.A.; NÓBREGA, J.A., *Spectrochim. Acta* 57B (2002) 2195-2201

⁵⁸ FUNG, Y.S., DAO, K.L., *Anal. Chim. Acta* 334 (1996) 51-56

⁵⁹ FUNG, Y.S., DAO, K.L., *Anal. Chim. Acta* 315 (1995) 347-355

¹³³ NARASAKI, H., *Anal. Chem* 57 (1985) 2481-2486

²² BRETTAUER, E.W., MOGHISSI, A.A., SNYDER, S.S., MATHEWS, N.W., *Anal. Chem.* 46 (1974) 445-446

⁵⁵ FUJITA, M., TAKEDA, Y., TERAOKA, T., HOSHINO, O., UKITA, T., *Anal. Chem.* 40 (1968) 2042-2043

C em plantas,¹⁰⁷ As e Se em manteiga,¹³³ Ti em polietileno,⁶ S em carvão,³⁰ S, N e Cl em carvão,¹³¹ F em carvão,¹⁶⁸ Cl e S em efluentes,^{148,179} P, Cl e S em materiais biológicos,¹³⁷ F, Cl, Br, I, S, N e P em combustíveis e efluentes orgânicos industriais.^{58,59}

2.3.2.3. Combustão em sistema dinâmico (Trace-O-Mat®)

Este sistema de decomposição de amostras foi desenvolvido por Knapp *et al.*⁹³ em 1981 e, permite a decomposição de até 1 g de amostras biológicas com mínima contaminação, para posterior determinação de metais e não metais em concentrações da ordem de ng g⁻¹. Este sistema, feito em quartzo, consiste basicamente de três partes, como é mostrado na Fig. 7: (I) tubo coletor, (II) câmara de combustão e (III) unidade de resfriamento.

¹⁰⁷ LAWRENCE, P., *Analyst* 105 (1980) 922-924

¹³³ NARASAKI, H., *Anal. Chem* 57 (1985) 2481-2486

⁶ ANDUZE, R.A., *Anal. Chem.* 29 (1957) 90-91

³⁰ CHIMPALEE, N., CHIMPALEE, D., SUPARUKNARI,S., BOONYANITCHAYAKUL, B., BURNS, D.T., *Anal. Chim. Acta* 298 (1994) 401-404

¹³¹ NADKARNI, R.A., POND, D.M., *Anal. Chim. Acta* 146 (1983) 261-266

¹⁶⁸ THOMAS, J., GLUSKOTER, H.J., *Anal. Chem.* 46 (1974) 1321-1323

¹⁴⁸ POTTER, T.L., *Anal. Chem.* 56 (1984) 2987-2988

¹⁷⁹ WATANABE, N., ITO, H., *Resour. Conserv. Recy.* 20 (1997) 57-69

¹³⁷ NOVIC, M., DOVZAN, A., PIHLAR, B., HUDNIK, V., *J. Chromatogr. A* 704 (1995) 530-534

⁵⁸ FUNG, Y.S., DAO, K.L., *Anal. Chim. Acta* 334 (1996) 51-56

⁵⁹ FUNG, Y.S., DAO, K.L., *Anal. Chim. Acta* 315 (1995) 347-355

⁹³ KNAPP, G., RAPTIS, S.E., KAISER, G., TÖLG, G., SCHRAMMEL, P., SCHREIBER, B., *Fresenius Z. Anal. Chem.* 308 (1981) 97-103

Renterghem *et al.* (1992)¹⁵² liofilizaram amostras de soro sanguíneo, previamente à preparação dos *pellets*, e determinaram As, Au, Cd, Cs, Cu, Fe, Hg, Mo, Rb, Sb, Se e Zn por análise por ativação neutrônica.

A combustão da amostra é iniciada pela irradiação com luz infravermelha que pode ser movida, posteriormente a combustão, para a parte inferior do sistema para o aquecimento do líquido durante o refluxo. Os elementos voláteis, juntamente com os produtos do processo de combustão, CO₂ e H₂O, são condensados por um sistema de resfriamento com nitrogênio líquido, que fica na parte superior do compartimento de queima. Posteriormente à combustão, pode ser realizada uma etapa de refluxo com um ácido adequado, em um tubo que fica conectado na parte inferior da câmara de combustão, e serve para coletar os elementos voláteis condensados e os elementos não voláteis que podem permanecer nas cinzas da queima. Normalmente, o volume de ácido utilizado é de 2 mL.⁹³

Entre a amostra e o suporte é colocado um pedaço de papel filtro, com baixo teor de cinzas (2 cm de comprimento e 4 mm de largura), que serve para dar a ignição ao processo de combustão. A altura do suporte da amostra é ajustada de tal forma que somente o papel fique no foco das lâmpadas de infravermelho, evitando explosões, que foram observadas quando a radiação incidia diretamente na amostra.⁹³ A irradiação na etapa de combustão dura, aproximadamente, 30 segundos. Para a etapa de refluxo na potência máxima, o tempo de irradiação é de e 30 minutos, podendo variar de acordo com a quantidade de amostra. O tempo de irradiação, assim como, a abertura das válvulas para saída de oxigênio, são controlados eletronicamente.

Uma característica importante deste sistema, é que apenas amostras orgânicas não voláteis podem ser utilizadas. Isto se deve ao fato de que tais amostras (como gasolina, p. ex.) podem evaporar antes e durante o processo de aquecimento com as lâmpadas, podendo gerar uma explosão quando ocorre a ignição.

Raptis *et al.* (1980)¹⁴⁹ determinaram selênio em matrizes orgânicas e biológicas, por fluorescência de raios-X. Neste trabalho, foi feita a combustão de 500 mg de amostra e obtiveram-se 95% de recuperação do selênio.

¹⁵² RENTERGHEM, D.V., CORNELIS, R., VANHOLDER, R., *Anal. Chim. Acta* 257 (1992) 1-5

⁹³ KNAPP, G., RAPTIS, S.E., KAISER, G., TÖLG, G., SCHRAMMEL, P., SCHREIBER, B., *Fresenius Z. Anal. Chem.* 308 (1981) 97-103

¹⁴⁹ RAPTIS, S.E.; WEGSCHELDER, W.; KNAPP, G.; TÖLG, G., *Anal. Chem.* 52 (1980) 1292-1296

Gélinas *et al.* (1998)⁶⁵ determinaram iodo em amostras biológicas e produtos alimentícios por ICP-MS e utilizaram uma solução alcalina para o refluxo, evitando perdas da fração volátil do iodo que fica condensada nas paredes da câmara de combustão.

Alguns elementos podem interagir com o suporte da amostra e não serem dissolvidos, nem mesmo com a etapa de refluxo em meio ácido, ocasionando perdas durante o processo de combustão. Knapp *et al.* (1981)⁹³ investigaram o comportamento de vários elementos com suportes feitos de quartzo, platina, tântalo e titânio. Verificaram que podem ocorrer perdas de que variam de 5 a 30% por ligações dos elementos com estes materiais, mas estas perdas podem ser amenizadas utilizando um suporte de quartzo resfriado com água. Porém, este resfriamento não era prático, e foi desenvolvido um suporte, com formato adequado, que evitava o calor da zona de combustão. Entretanto, poderia ocorrer a formação de resíduos carbonáceos, devido à superfície relativamente fria do suporte, os quais eram eliminados após a etapa de refluxo com ácido. Para a remoção completa dos elementos da superfície do suporte, este era invertido, com a base para baixo, dentro do tubo de refluxo ficando imerso no ácido durante o refluxo. Os autores também observaram que a recuperação era dependente do tempo de refluxo, sendo de 90 a 95% com 15 minutos e de 95 a 100% após 30 minutos. Obviamente, o tipo de ácido a ser adicionado depende do elemento de interesse.

Entretanto, a interação de alguns elementos com o suporte da amostra, ou a possibilidade da remoção do suporte, com os resíduos formados durante a combustão, previamente a etapa de refluxo, pode ser utilizada para a eliminação de alguns interferentes. Tolg *et al.* (1981)¹⁶⁹ determinaram selênio em materiais biológicos, rochas e solos e observaram que com a adição de ácido silícico na amostra antes da queima, alguns contaminantes (arsênio, cromo, manganês) ficavam fixados nas cinzas no suporte da amostra, na forma de óxidos, e o selênio era facilmente volatilizado na forma de SeO_2 e condensado no sistema de resfriamento. Para separar os interferentes era feita a remoção do suporte da amostra após a combustão e, com uma quantidade mínima de ácido para o refluxo, o dióxido de selênio era dissolvido. Alguns outros elementos também podem ser volatilizados, como cádmio, antimônio, tálio e bismuto. Os autores também

⁶⁵ GÉLINAS, Y., KRUSHEVSKA, A., BARNES, R., *Anal. Chem.* 70 (1998) 1021-1025

⁹³ KNAPP, G., RAPTIS, S.E., KAISER, G., TÖLG, G., SCHRAMEL, P., SCHREIBER, B., *Fresenius Z. Anal. Chem.* 308 (1981) 97-103

¹⁶⁹ TOLG, G.; HAN, H.; KAISER, G., *Anal. Chim. Acta*, 128 (1981) 9-21

comentam que para as amostras de solos e rochas, além da adição do ácido silícico, a adição de celulose nas proporções de 1:0,5 e 1:2 dependendo da amostra, aumenta a eficiência do processo, pois a temperatura de combustão da celulose é suficiente para liberar o selênio da matriz. Porém, a pureza da celulose pode ser um fator limitante, pois esta não é facilmente purificada como o ácido silícico. Em estudos posteriores, estes autores observaram que a adição de nitrato de lantânio aumentava, efetivamente, a liberação de cádmio em amostras de solo, e sugerem que isto seja devido, provavelmente, pela ligação com grupos fosfato que estão presentes em altas concentrações nestas matrizes. Os autores verificaram, também, que a adição de cloreto de magnésio em amostras de rochas e solos, aumentava a volatilidade de tálio e chumbo.¹⁷⁰

Geralmente, todo o procedimento de decomposição para uma amostra demora cerca de 50 a 60 minutos. Com este procedimento não são observados problemas de contaminação elevada, pois na maioria dos casos, não são acrescentados reagentes às amostras e, também, são evitadas perdas dos elementos por volatilização e adsorção nas superfícies dos recipientes de quartzo.⁹³

2.4. Decomposição por via úmida

2.4.1. Decomposição por via úmida em sistemas abertos com aquecimento por radiação microondas

Desde a primeira aplicação de um forno de microondas para o preparo de amostras, em 1975, muitos procedimentos para decomposição (ou por vezes dissolução, extração, fusão, etc) têm sido desenvolvidos, sendo virtualmente aplicáveis a qualquer tipo de amostra.¹⁶¹ Entretanto, até recentemente, as técnicas de preparo de amostras não haviam mudado com a mesma velocidade e eficiência da instrumentação passando, então, a constituírem-se na etapa mais lenta da seqüência analítica.

A intensa utilização de fornos de microondas domésticos, durante as últimas duas décadas, acabou por estender o seu uso para laboratórios de química. A

¹⁷⁰ TOLG, G.; HAN, H.; KAISER, G., *Anal. Chim. Acta*, 134 (1982) 3-11

⁹³ KNAPP, G., RAPTIS, S.E., KAISER, G., TÖLG, G., SCHRAMEL, P., SCHREIBER, B., *Fresenius Z. Anal. Chem.* 308 (1981) 97-103

¹⁶¹ SMITH, F.E., ARSENAULT, E.A., *Talanta* 43 (1996) 1207-1268

tecnologia envolvida no emprego de microondas está bastante avançada atualmente, revolucionando, não somente os procedimentos para o preparo de amostras mas, também, em outras áreas da química como, por exemplo, síntese orgânica, reações inorgânicas, preparação de catalisadores, entre outras.¹⁶¹

O termo empregado na decomposição de amostras “assistida por microondas” foi introduzido para esclarecer que devido à baixa energia utilizada, existem ligações químicas na matriz que não podem ser quebradas com a utilização de microondas.²⁸ Sendo assim, a utilização de, somente, um simples aquecimento com microondas não irá romper as ligações químicas, já que a energia envolvida é bem menor. Ao se comparar a energia da radiação de microondas (apenas cerca de 1 J mol^{-1} de fótons, baixa energia) com as energias de ligação H-H (aproximadamente 20 kJ mol^{-1}) e C-H (cerca de 350 kJ mol^{-1}), por exemplo, parece pouco provável que a energia das microondas possa romper qualquer ligação química.¹⁶¹ Um possível mecanismo de ação das microondas, segundo Nadkarni (1984)¹²⁹, é que estas agem, simplesmente, como uma fonte de energia intensa para aquecer rapidamente a amostra.

Abu-Samra *et al.* (1975),¹ primeiramente empregaram um forno de microondas doméstico (600 W) para a decomposição de amostras biológicas. Após a decomposição, foi feita a determinação Zn, Cu e Pb por FAAS e As, Se, Co, Cr e Ni por ativação neutrônica. Os autores observaram boa concordância com materiais de referência certificados, salientando como grande vantagem deste procedimento a notável redução do tempo para a decomposição, de 1 a 2 h para 3 minutos.

Outra aplicação de radiação microondas refere-se à procedimentos para extração de alguns metais. Mahan *et al.* (1987),¹¹⁸ estudaram o uso de um forno de microondas doméstico (700 W) como alternativa para extração de Ca, Fe, Cr, Mn, Pb e Zn em amostras de sedimentos. Observaram que o procedimento proposto produz resultados comparáveis aos procedimentos convencionais (resultados para a extração total de metais em sedimentos variaram de 76% a 120% para o sistema convencional e de 62% a 120% para o sistema com uso de microondas).

Os sistemas de decomposição abertos, assistidos por microondas (Fig. 8a), operam em pressão atmosférica, não apresentando problemas associados com o aumento de pressão, como nos sistemas fechados. Grande parte destes sistemas

¹⁶¹ SMITH, F.E., ARSENAULT, E.A., *Talanta* 43 (1996) 1207-1268

²⁸ CHAKRABORTY, R., DAS, A.K., CERVERA, M.L., GUARDIA, M., *Fresenius J. Anal. Chem.* 355 (1996) 99-111

¹²⁹ NADKARNI, R.A., *Anal. Chem.* 56 (1984) 2233-2237

¹ ABU-SAMRA, A., MORRIS, J.S., KOIRTYOHANN, *Anal. Chem.* 47 (1975) 1475-1477

opera com microondas focalizadas, onde o aquecimento é mais eficiente em relação aos sistemas convencionais. A perda potencial de espécies voláteis é controlada através da condensação dos vapores em um condensador situado na porção superior do frasco (Fig. 8b). Neste sistema, cerca de 15 g de amostra podem ser processadas, além de permitir a adição de reagentes em qualquer estágio do processo de decomposição. Esta adição de reagentes, em qualquer momento do procedimento, pode ser benéfica em relação a eficiência da digestão, constituindo uma vantagem frente aos sistemas fechados, onde a adição de reagentes é dependente do resfriamento e da abertura dos recipientes. Além disso, o sistema aberto permite a evaporação dos reagentes até *secura* de forma rápida e eficiente.

Um aspecto interessante do sistema deve-se à capacidade de aplicar métodos variados para diferentes amostras simultaneamente, devido à possibilidade de operar cada frasco independentemente. Além disso, a aplicação de microondas focalizadas em baixas potências possibilita a aceleração da lixiviação de compostos organometálicos sem afetar a ligação metal-carbono ou ainda, extrair compostos orgânicos. A focalização da energia das microondas confere uma alta eficiência e torna menos importante a aplicação de altas potências.¹³⁶

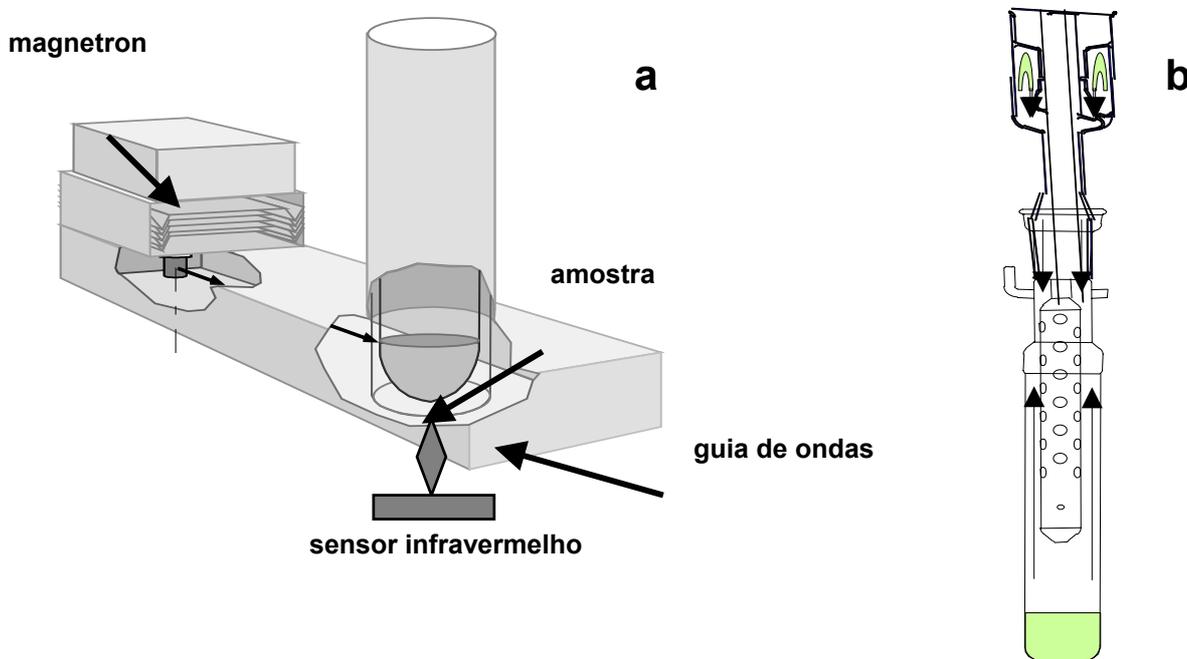


Figura 8. Sistema de decomposição por via úmida aberto com aquecimento por microondas Prolabo® (a) e frasco normalmente utilizado com condensador (b). (adaptado de Barin¹²)

¹³⁶ NÓBREGA, J.A., TREVIZAN, L.C., ARAÚJO, G.C.L., NOGUEIRA, A.R.A., *Spectrochim. Acta* 57B (2002) 1855-1876

¹² BARIN, J.S., Dissertação de mestrado, Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Farmacêutica, UFSM, Santa Maria/RS, 2003

Alguns sistemas, já disponíveis comercialmente, com duas ou seis cavidades, apesar de possibilitarem a decomposição conjunta de mais amostras, apresentam problemas com respeito à dificuldade na distribuição uniforme da radiação entre todas as cavidades quando elas são operadas simultaneamente. Entretanto, este aspecto não é tão crítico, pois o controle da liberação da radiação de microondas para cada cavidade pode, em alguns casos, ser controlado com base na temperatura do frasco de reação.³⁴ Outra característica negativa do sistema é que, por operar à pressão atmosférica, necessita da utilização de um ácido com alto ponto de ebulição (como ácido sulfúrico) para alcançar uma maior temperatura e conseqüente maior eficiência na decomposição de materiais orgânicos. Contudo, este problema pode ser contornado por mudanças realizadas na adição dos ácidos concentrados à amostra. Neste processo, a amostra líquida é adicionada gradualmente a um pequeno volume de ácido (<5 mL) já aquecida pela ação das microondas. Desta forma, maiores quantidades de amostras podem ser decompostas com menor volume de ácidos, sendo que cada alíquota é parcialmente digerida antes da adição da próxima. Também, ácidos concentrados aquecidos podem gerar espécies reativas que possibilitam uma diminuição do tempo de decomposição, além de diminuir os valores dos brancos por utilizar menor quantidade de ácidos.¹³⁶

Outra alternativa para diminuir a concentração ácida na amostra decomposta é a decomposição ácida em fase vapor.⁹ Neste sistema, 3 ou 4 amostras (de até 50 mg cada) podem ser decompostas simultaneamente no interior de um único frasco, através da condensação do vapor ácido na parte superior dos frascos de reação (feitos em PTFE). Além da redução da concentração ácida, o sistema permite a utilização de ácidos de grau técnico sem prejudicar os brancos analíticos. Um problema encontrado neste sistema é que as condições de reação são diferentes em cada frasco, onde a radiação de microondas atinge apenas o frasco localizado na porção inferior, apresentando temperaturas maiores e conseqüente condições mais agressivas de decomposição, promovendo recuperações adequadas apenas neste frasco. Porém, recuperações em torno de 100% são encontradas adicionando-se 100 µL de uma solução de hipoclorito de sódio. Isto se deve ao fato do hipoclorito poder gerar Cl₂ (um oxidante forte) quando o ácido é coletado no frasco.

³⁴ COSTA, L.M., SILVA, F.V., GOUVEIA, S.T., NÓBREGA, J.A., NOGUEIRA, A.R.A., *Spectrochim. Acta* 56B (2001) 1981-1985

¹³⁶ NÓBREGA, J.A., TREVIZAN, L.C., ARAÚJO, G.C.L., NOGUEIRA, A.R.A., *Spectrochim. Acta* 57B (2002) 1855-1876

⁹ ARAÚJO, G.C.L., NOGUEIRA, A.R.A., NÓBREGA, J.A., *Analyst* 125 (2000) 1861-1864

Oles e Graham (1991),¹³⁸ verificaram a aplicabilidade de um sistema de decomposição com microondas comercial, (Prolabo, Microdigest A-300) para a determinação de Na, Ca, Mg, K, Fe, Zn, Cu e Mn em alimentos, por FAAS. Entre 0,5 e 1,0 g de amostra foram colocados em um tubo de digestão com cerca de 15 mL de HNO₃, em tempos de até 30 minutos, em potência de, aproximadamente, 30%. A recuperação obtida, para todos os elementos estudados, variou de 94 a 107%.

A decomposição em sistema aberto assistida por microondas tem sido utilizada para a extração de alguns elementos e compostos organometálicos para posterior especiação de Se em urina,⁶⁹ Sn em sedimentos,²⁹ Hg em peixes⁶⁶ e As em cogumelos comestíveis.¹⁰⁵ Também, tem sido utilizada para decomposição de amostras orgânicas e inorgânicas, para posterior determinação de Hg em cosméticos,⁶⁰ Se em suplementos nutricionais e xampus⁶¹ e Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Pb e zinco em cinzas de incineração.⁵⁴

Uma comparação entre um sistema de decomposição a alta pressão e outros sistemas, com aquecimento convencional e por microondas, foi feita por Krushevskaja *et al.* (1992).¹⁰¹ Os autores determinaram o teor de carbono residual em amostras de leite, decompostas em chapa de aquecimento, em sistema de decomposição a alta pressão (HPA), em sistema fechado com aquecimento com microondas, e em sistema aberto com microondas focalizado. Observaram que o HPA (com HNO₃ somente) e o sistema com microondas focalizado (usando uma mistura de HNO₃, H₂SO₄ e H₂O₂) possibilitaram teores de carbono residuais muito baixos (menor que 1%, comparado com até 25% para outros métodos).

¹³⁸ OLES, P.J., GRAHAM, W.M., *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 74 (1991) 812-814

⁶⁹ GONZÁLEZ, J.M., LAFUENTE, M., DLASKA, M.L., FERNÁNDEZ SANCHEZ, SANZ-MEDEL, A., *J. Anal. At. Spectrom.* 13 (1998) 423-429

²⁹ CHAO, W.S., JIANG, S.J., *J. Anal. At. Spectrom.* 13 (1998) 1337-1341

⁶⁶ GERBERSMANN, M., HEISTERKAMP, M., ADAMS, F.C., BROEKAERT, J.A.C., *Anal. Chim. Acta* 350 (1997) 273-285

¹⁰⁵ LARSEN, E.H., HANSEN, M., GOSSLER, W., *Appl. Organomet. Chem.* 12 (1998) 285-291

⁶⁰ GÁMIZ-GRACIA, L., LUQUE DE CASTRO, M.D., *J. Anal. At. Spectrom.* 14 (1999) 1615-1617

⁶¹ GÁMIZ-GRACIA, L., LUQUE DE CASTRO, M.D., *Talanta* 50 (1999) 875-880

⁵⁴ FOURNIER, J.B., VIGNIER, V., RENAUD, P., MARTIN, G.J., *Analisis* 25 (1997) 196-201

¹⁰¹ KRUSHEVSKA, A. BARNES, R.M.; AMARASIRIWARADENA, C.J.; FONER, H.; MARTINES, L., *J. Anal. At. Spectrom.* 7 (1992) 851-858

2.4.2. Decomposição por via úmida em sistemas fechados

2.4.2.1. Sistema fechado com aquecimento convencional

Decomposições por via úmida podem ser feitas a pressão atmosférica, entretanto, as temperaturas atingidas são, freqüentemente, limitadas pela pressão ambiente (1 atm). Isto restringe a temperatura de decomposição para a temperatura de ebulição do solvente ou do ácido empregado. Já que a taxa de reação é, fundamentalmente, relacionada com a temperatura, esta condição impõe um limite sobre o tempo necessário para a decomposição da amostra. Uma reação mais rápida pode ser obtida fechando-se hermeticamente a amostra e o ácido em um sistema resistente à pressão e ao aquecimento. Ao mesmo tempo em que este sistema proporciona uma decomposição mais rápida, introduz, também, risco em seu manuseio, devido ao potencial de explosão, particularmente com reagentes fortemente oxidantes e escapamento de gases perigosos. Frascos abertos, naturalmente, tem os mesmos problemas de gases, mas não sendo pressurizados, reduz-se a probabilidade de explosão.¹⁰⁸ Apesar destes fatores, o emprego de sistemas fechados é, ainda, amplamente empregado para a decomposição de amostras.⁹²

Em 1860, G.L. Carius, o precursor destes sistemas, descreveu a decomposição de materiais orgânicos com ácido nítrico concentrado a temperaturas entre 250 °C e 300 °C. Neste sistema, a amostra e o ácido eram colocados em uma ampola de quartzo ou vidro de paredes grossas e então eram selados. Após, a ampola era coberta por um tubo protetor de aço (para prevenir as eventuais explosões) e aquecida a 250° a 300 °C por várias horas. Terminada a decomposição, o tubo era resfriado e cuidadosamente aberto e o conteúdo recuperado. O sistema teve seu uso descontinuado em grande parte por problemas de segurança mas, mesmo assim, ainda é utilizado (com algumas modificações) por alguns autores.^{89,113,141}

A utilização de sistemas fechados para decomposição visa a um aumento no ponto de ebulição dos ácidos inorgânicos normalmente empregados, aumentando

¹⁰⁸ LÉGÈRE, G., SALIN, E., *Appl. Spectrosc.* 49 (1995) 14A-22A

⁹² KNAPP, G., *Mikrochim. Acta [Wien]* II (1991) 445-455

⁸⁹ KELLY, W.R., PAULSEN, P.J., MURPHY, K.E., VOCKE, R.D., CHEN, I., *Anal. Chem.* 66 (1994) 2505-2013

¹¹³ LONG, S.E., KELLY, W.R., *Anal. Chem.* 74 (2002) 1477-1483

¹⁴¹ PAULSEN, P.J., KELLY, W.R., *Anal. Chem.* 56 (1984) 708-713

desta forma o seu poder de oxidação e diminuindo, portanto, a quantidade necessária destes e o risco de contaminação. Outro aspecto a ser levado em consideração é a minimização de perdas de compostos voláteis. Especialmente em combinação com técnicas que não necessitam uma completa mineralização (como espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS), FAAS, espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES), ICP-MS, etc), a decomposição sob alta pressão ganhou popularidade.⁸⁴

Os sistemas disponíveis consistem, basicamente, de frascos de PTFE envolvidos por uma jaqueta de aço inoxidável (Fig. 9), normalmente apresentando sistemas de segurança para alívio da pressão. Vários sistemas com características diferentes têm sido propostos.^{83,164}

Um procedimento típico consiste na decomposição de 100 mg de material biológico em 1 mL de um ácido ou uma mistura de ácidos. Iida *et al.* (1980)⁸³ recomendaram resfriar o frasco de PTFE antes de adicionar a amostra e o ácido, pois devido ao elevado coeficiente de expansão térmica do PTFE comparado ao aço, uma boa vedação pode ser alcançada.

A decomposição em sistema fechado com aquecimento permite a eliminação das perdas por volatilização observadas nos sistemas abertos de decomposição, apresenta baixo consumo de ácido, minimiza os problemas de contaminação e requer pouca atenção do operador. Porém, a quantidade de amostra decomposta é limitada, bem como a temperatura que pode ser atingida (limitada pelo frasco de PTFE) além de não permitir a visualização do progresso da decomposição. É importante salientar que o emprego do sistema com apenas um ácido ou com uma mistura de ácidos, não resulta em uma decomposição completa da amostra.¹⁶⁴

⁸⁴ IYENGAR, G.V., SUBRAMANIAN, K.S., WOITTEZ, J.R.W., *Element analysis of biological samples – Principles and Practice*, CRC Press, Boca Raton, New York (1997) 105, 114-115

⁸³ IIDA, C., UCHIDA, T., KOJIMA I., *Anal. Chim. Acta* 113 (1980) 365-368

¹⁶⁴ STOEPLER, M., BACKHAUS, F., *Fresenius Z. Anal. Chem.* 291 (1978) 116-120

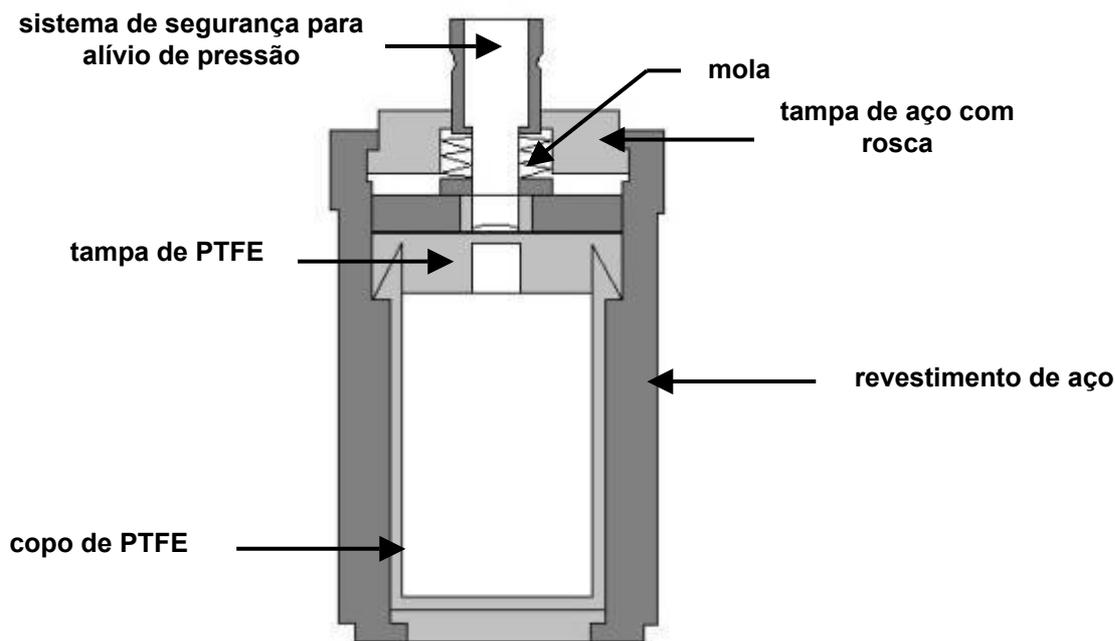


Figura 9. Sistema de decomposição pressurizado com aquecimento convencional Berghoff®. (adaptado de Barin¹²)

Para oxidar completamente amostras biológicas, independentemente de sua composição química, recomenda-se a decomposição com ácido nítrico a 300 °C.¹⁸² Como os frascos de PTFE estão sujeitos à deterioração quando temperaturas maiores que 200 °C são empregadas, utilizam-se frascos de quartzo. Knapp⁹¹ propôs um sistema para a decomposição de amostras em altas temperaturas, denominado *High Pressure Asher*® (HPA), disponível comercialmente.⁷⁹ Segundo o autor, com a utilização deste sistema, todas as técnicas analíticas disponíveis podem ser empregadas para analisar a solução resultante e, diversos materiais biológicos, óleos, alimentos, e materiais sintéticos, que não contenham flúor, podem ser decompostos, completamente, apenas com HNO₃ (sem a utilização de ácido perclórico). Com o emprego do HPA, a massa de amostra a ser decomposta é determinada pela temperatura atingida no procedimento de decomposição. Desta forma, obtém-se completa decomposição de amostras com massa equivalente a 100 mg de carbono puro, utilizando-se 2 mL de ácido nítrico (65%) em um frasco de

¹² BARIN, J.S., Dissertação de mestrado, Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Farmacêutica, UFSM, Santa Maria/RS, 2003

¹⁸² WÜRFELS, M., JACKWERTH, E., STOEPLER, M., *Fresenius Z. Anal. Chem.* 329 (1987) 459-461

⁹¹ KNAPP, G., *Fresenius Z. Anal. Chem.* 317 (1984) 213-219

⁷⁹ High Pressure Asher, HPA, http://www.anton-paar.com/sample_preparatio/microwave_CXSN-5QTFST.en.0.jsp, acessada em 02/042004

quartzo de 30 mL e uma temperatura de aquecimento de 320 °C, que corresponde a 300 °C no interior do frasco.⁹⁹

Neste sistema, o frasco é protegido contra explosões, pois a pressão externa é mantida um pouco superior à interna e o aquecimento feito em um bloco de alumínio. A pressão resultante no interior do frasco de quartzo a 300 °C é equilibrada por uma pressão externa maior que 100 atm com nitrogênio. O frasco de digestão de quartzo é fechado por uma tampa de quartzo sobre um anel de vedação de silicone, podendo ser aquecido a uma temperatura de até 320 °C e suportar pressões de mais de 100 atm.⁹⁸

Alguns autores³ aplicaram o procedimento de decomposição em altas temperaturas (HPA) para diversos materiais biológicos. A determinação de Ca, Cu, Cd, Fe, Mg, Mn e Zn foi feita por ICP OES. Como principais vantagens os autores citaram o teor de carbono residual, inferior a 1,8%, para um nível original de 52% em amostras de sangue, além dos níveis extremamente baixos dos brancos analíticos.

O sistema de decomposição em altas temperaturas tem sido utilizado para o preparo de amostras e posterior determinação de Pt, Pd, Ru e Ir em amostras ambientais,¹²⁸ S em óleos,¹⁴⁰ As e Hg em alimentos^{144,183} e Cr, Ni, Mn, V, Cu, P e S em aço e ligas de cobre.²¹

Maichin *et al.* (2003)¹¹⁹ fizeram uma adaptação no sistema de decomposição a alta pressão (HPA)⁹¹ para a decomposição de amostras orgânicas em frasco aberto por via úmida. Na Fig. 10, é mostrado o sistema HPA (corte transversal) com revestimento interno de PTFE e um suporte para frascos de quartzo ou PFA. O revestimento de PTFE previne o resfriamento do banho de água pelo ar frio das paredes de aço inoxidável do HPA. Foram utilizados frascos de quartzo (15 e 50 mL), frascos de PFA (4, 15 e 22 mL) e frascos de PFA de 1,5 mL (utilizados nos amostradores automáticos em GF AAS). Todos os frascos são cobertos com tampas de PTFE, entretanto, estas tampas não selam os frascos, elas apenas previnem a entrada de gotas de água. A autoclave foi parcialmente preenchida com água

⁹⁹ 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., 127

⁹⁸ KRUG, F.J., Apostila "Métodos de Decomposição de Amostras", III Workshop sobre Preparo de Amostras, 23 a 27 de Outubro de 2000, São Carlos – SP

³ AMARASIRIWARDENA, D., *Analyst* 119 (1994) 1017-1021

¹²⁸ MULLER, M., HEUMANN, K.G., *Fresenius J. Anal. Chem.* 368 (2000) 109-115

¹⁴⁰ OSTERMANN, M., BERGLUND, M., TAYLOR, P.D.P., *J. Anal. Atom. Spectrom.* 17 (2002) 1368-1372

¹⁴⁴ PERRING, L., ANDREY, D., *Atom. Spectrosc.* 22 (2001) 371-378

¹⁸³ ZBINDEN, P., ANDREY, D., BLAKE, C., *Atom. Spectrosc.* 21 (2000) 205-215

²¹ BORSZEKI, J., HALMOS, P., GEGUS, E., KARPATI, P., *Talanta* 41 (1994) 1089-1093

¹¹⁹ MAICHIN, B., ZISHKA, M., KNAPP, G., *Anal. Bioanal. Chem.* 376 (2003) 715-720

⁹¹ KNAPP, G., *Fresenius Z. Anal. Chem.* 317 (1984) 213-219

contendo H₂O₂ 5% (v/v). Os frascos eram, parcialmente, mergulhados na água, ou colocados no topo do banho de água, através de um suporte especial feito de titânio ou aço inox revestido com PTFE. Quando os frascos não eram, parcialmente, mergulhados na água, o aquecimento acontecia através da transferência de calor pela fase gasosa. O sistema HPA era fechado e pressurizado com 140 bar de nitrogênio.

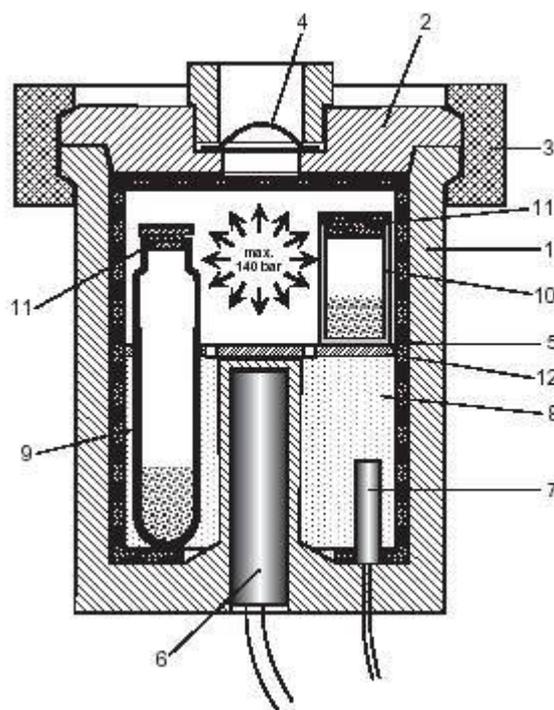


Figura 10. Corte transversal da autoclave HPA, vista do sistema pressurizado para a decomposição de amostras com frascos abertos. **1.** autoclave; **2.** tampa da autoclave; **3.** anel retentor; **4.** disco de ruptura; **5.** revestimento de PTFE; **6.** elemento de aquecimento; **7.** termopar; **8.** banho de água; **9.** frascos de quartzo; **10.** frascos de PFA; **11.** tampas de PTFE para os frascos de decomposição; **12.** suporte de titânio para os frascos (adaptado de Maichin *et al.*¹¹⁹).

Foram feitas decomposições de nove materiais: BCR-61 (*aquatic plant*), BCR-62 (*olive leaves*), CRM-184 (*bovine muscle*), CRM-185 (*bovine liver*), CRM-186 (*pig kidney*), CRM-278 (*mussel tissue*), CRM-422 (*cod muscle*), NIST 1515 (*apple leaves*), NIST-1635 (coal) e determinação de, aproximadamente, 20 elementos onde os valores foram concordantes com os certificados para todos os tipos de soluções e frascos testados. Entretanto, ocorreram perdas significativas de Hg, As, Cd e Pb,

¹¹⁹ MAICHIN, B., ZISHKA, M., KNAPP, G., *Anal. Bioanal. Chem.* 376 (2003) 715-72

quando misturas de ácidos diluídos foram utilizados em frascos de PFA, as quais os autores atribuíram ao formato do frasco combinado com a pressão de vapor mais alta para ácidos diluídos ocorrendo, assim, perda dos elementos por volatilização. A temperatura máxima de decomposição foi de 250 °C para os frascos de PFA e 270 °C para os frascos de quartzo. A quantidade de amostra foi de 0,4 a 1,5 g para os frascos de quartzo e de 0,2 a 0,5 g para os de PFA, dependendo da amostra. Portanto, quando quantidades elevadas de amostra são utilizadas ocorre um superaquecimento da mistura reacional ocasionando perdas, principalmente, nos frascos de PFA. As amostras foram decompostas com 5 mL de HNO₃ concentrado ou 2 mL de HNO₃ + 6 mL de H₂O + 2 mL de H₂O₂. Já para os frascos de 1,5 mL, foram utilizados 50 mg de amostra e 0,2 mL de HNO₃ + 0,5 mL de H₂O + 0,2 mL de H₂O₂. Para estudos de recuperação foram adicionadas concentrações conhecidas de As, Be, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Li, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb, Sb, Se, Sr, Ti, Tl, V e Zn de em 0,2 g de glicose. A amostra foi digerida com 5 mL de HNO₃ + 0,2 mL de HCl em frascos de quartzo e aplicado um programa de tempo e temperatura adequados para a decomposição. A recuperação para todos os elementos ficou em torno de 96 a 100%, com exceção do Se que foi de 94%.

Maichin *et al.* (2003),¹¹⁹ também, fizeram a decomposição de cacau, semente de abóbora, óleo lubrificante, polietileno, polipropileno, ácido nicotínico, fígado bovino, óleo de girassol e sangue humano em frascos de quartzo e de PFA. Os valores encontrados para o carbono orgânico total, tanto na decomposição com os frascos de quartzo como nos de PFA, foi menor que 1% para decomposições com HNO₃ concentrado e entre 5 e 10% para HNO₃ diluído. Entretanto, estes autores relataram que as decomposições feitas com os frascos de PFA de 1,5 mL os teores de carbono orgânico total foram inferiores a 1%, para todos os testes. Os autores também comentam que o número de amostras que podem ser decompostas, simultaneamente, é dependente do tamanho dos frascos utilizados e da capacidade da autoclave. Por exemplo, com frascos de PFA de 4 mL, tamanho normalmente utilizado para amostras biológicas, podem ser colocados até 15 frascos no interior da autoclave.

¹¹⁹ MAICHIN, B., ZISHKA, M., KNAPP, G., *Anal. Bioanal. Chem.* 376 (2003) 715-720

2.4.2.2. Sistema fechado com aquecimento com microondas

A decomposição em sistema fechado, assistida por microondas, tem sido, extensivamente, usada na preparação de amostras, principalmente, pela notória diminuição no tempo de preparo destas quando comparado aos outros procedimentos com aquecimento convencional. O recipiente para a amostra, utilizado na decomposição em sistema fechado deve ser transparente às microondas, quimicamente inerte, resistente ao ataque ácido, capaz de suportar altas temperaturas e pressões. Sobretudo, estes recipientes necessitam ter tamanhos adequados para a introdução de uma quantidade razoável de frascos (normalmente, 12) no interior do forno de microondas e serem facilmente fechados e abertos para permitir o uso em rotina de laboratório. Normalmente, os recipientes são feitos de PTFE ou PFA. Após a introdução da amostra no recipiente, adicionam-se os reagentes e então o recipiente é hermeticamente fechado, colocado no forno e irradiado com microondas.

Primeiramente, foram utilizados fornos de microondas domésticos para a decomposição de amostras. Estes fornos apresentam a desvantagem de controlar a potência irradiada através de diferentes pulsos do magnetron, ou seja, vários ciclos de liga-desliga. Por exemplo, para irradiar 50% da potência nominal do forno de microondas em 1 min, o magnetron permanece ligado cerca de 30 s e, nos 30 s restantes, desligado. Isto pode ser indesejado para fins analíticos, pois perdas significativas de calor podem ocorrer durante os períodos em que o magnetron estiver desligado. Recentemente, já estão sendo fabricados fornos de microondas domésticos, onde a potência nominal selecionada é irradiada (p.ex., Panasonic[®], Inverter).

Com base nos problemas que surgiram com a utilização dos fornos de microondas domésticos empregados para a decomposição de amostras e, em vista de requisitos de segurança, um grande número de fornos de microondas dedicados para o preparo de amostras foram desenvolvidos nos últimos anos. Assim, problemas como danos causados por vapores ácidos, não homogeneidade da radiação, reflexão da radiação por algumas amostras e, também, segurança do operador, puderam ser minimizados.¹⁰⁴

A grande vantagem da decomposição assistida com microondas em sistema fechado é alta eficiência de aquecimento que pode ser obtida. O aquecimento causa

¹⁰⁴ LAMBLE, K.J., HILL, S.J., *Analyst* 123 (1998) 103R-133R

um aumento na pressão devido à evaporação dos ácidos empregados e aos gases produzidos durante a decomposição de uma amostra. Este aumento de pressão é benéfico por aumentar o ponto de ebulição destes ácidos, aumentando, conseqüentemente, a capacidade de destruição da matriz da amostra. Entretanto, um aumento excessivo na pressão, o que ocorre, principalmente, quando é realizada a decomposição de amostras que contenham elevados teores de matéria orgânica, pode levar à destruição dos frascos. Por esta razão, muitos recipientes empregados para decomposição em fornos de microondas são construídos com sistemas de alívio de pressão mantendo, portanto, a segurança do operador.¹⁰⁴

O aumento na pressão, como comentado anteriormente, aumenta a temperatura de ebulição do(s) ácido(s) usado(s) e aumenta, substancialmente, a decomposição de amostras orgânicas. Por exemplo, o ácido nítrico entra em ebulição a 120 °C à pressão atmosférica, mas em cerca de 5 atm, ele entrará em ebulição a 176 °C quando aquecido por microondas aumentando, assim, o seu poder de oxidação.⁹⁰

McCarthy e Ellis (1991)¹²³ compararam três procedimentos para a decomposição de mariscos e determinação de Pb, Cd, Cr, Cu e Zn por FAAS: a) via úmida (12,5 g amostra + 30 mL HNO₃, à temperatura ambiente por uma noite e, após, em banho-maria até quase seca); b) via seca (12,5 g amostra a 100 °C/4,5 h e após, por uma noite a 450 °C; após retomada do resíduo em HNO₃); e c) por decomposição em forno de microondas (CEM MDS-81D) em duas etapas: sistema aberto (12,5 g + 9 mL HNO₃ com 30% de potência por 2 vezes de 15 minutos) e, logo após, em sistema fechado (30% de potência por 15 minutos). A recuperação para os sistemas com microondas e via úmida variou de 80 a 92%, e de 54 a 72% para via seca. Valores mais baixos, para Cu e Zn, foram observados para o sistema por via seca em materiais de referência certificados.

Mingorance *et al.*(1993)¹²⁵ fizeram a aplicação de quatro procedimentos de decomposição de amostras biológicas diversas para a determinação de P, B (ICP OES), Fe, Cu, Mn, Zn, Cd e Pb (GF AAS ou FAAS). Os procedimentos envolveram a decomposição por via úmida com HNO₃, somente, ou combinação com HF, H₂O₂ ou HClO₄. Os sistemas de microondas testados foram: Moulinex 430 (665 W, 30 mL), Parr (até 80 atm) e Milestone MLS-1200 MEGA (até cerca de 100 atm). Entre 100 e

¹⁰⁴ LAMBLE, K.J., HILL, S.J., *Analyst* 123 (1998) 103R-133R

⁹⁰ KINGSTON, H.M., JASSIE, L.B., *Introduction to microwave sample preparation*, ACS, Washigton(1988) 113-114

¹²³ McCARTHY, H.T., ELLIS, C., *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 74 (1991) 566-569

¹²⁵ MINGORANCE, M.D., PÉREZ-VASQUEZ, M.L., LACHICA, M., *J. Anal. At. Spectrom.* 8 (1993) 853-858

200 mg de amostra foram pesados diretamente no frasco de PTFE e, a seguir, foram adicionados os reagentes. No caso da determinação de Fe, foi verificado que a presença de SiO₂ causava uma diminuição do teor encontrado para este elemento; porém, o tratamento com HF em chapa de aquecimento, após a decomposição em microondas, superava este problema. Bons resultados foram obtidos usando-se a mistura HNO₃ + H₂O₂ e HNO₃ + HClO₄ em amostras contendo gordura (leite).

Krushevskaja *et al.* (1992)¹⁰¹ compararam diversos procedimentos (decomposição seca e úmida), para a decomposição de amostras de leite (0,1 a 0,5 g), baseando-se na recuperação de Zn e no teor de carbono residual. A decomposição por via seca, em temperaturas de 400 a 700 °C, com e sem a adição de H₃BO₃, Mg(NO₃)₂ e H₂SO₄, foram estudadas; sem a adição, perdas de Zn foram verificadas em altas temperaturas, especialmente na presença de cloretos. Em temperaturas próximas de 500 °C a recuperação de Zn foi maior que 95% e o teor de carbono residual superior a 0,05%. Procedimentos de decomposição úmida, incluindo aquecimento em chapas metálicas, sistema de decomposição a alta pressão (Anton Paar, frasco de quartzo de 70 mL), e com microondas (sistema aberto, microondas focalizado; Prolabo Microdigest M300, 300 W) e sistema fechado (CEM 81 D, com frascos de PTFE-PFA de 60 mL, 650 W), foram aplicados para a dissolução das amostras. Concentrações de Zn, medidas por ICP OES, não foram afetadas pela presença de carbono residual e a recuperação foi maior que 95%. O teor de carbono residual variou, e pode ser reduzido por meio da otimização de parâmetros de decomposição (pressão, temperatura e tempo) ou pela adição de H₂SO₄ e/ou H₂O₂ ao HNO₃.

Cobre, Fe e Zn foram determinados por FAAS em amostras de leite humano, após decomposição assistida por microondas em sistema fechado (Milestone MLS 1200).¹⁶⁰ Foram colocados 2 mL de amostra no frasco de PTFE e foi adicionado 1 mL de HNO₃ concentrado e 0,25 mL de H₂O₂ (33% v/v). Foi aplicado um programa de aquecimento com 330 W por 4 min, 600 W por 4 min. A solução foi transferida para um tubo com 10 mL de água e aquecida a 80 °C por 2 h e 30 min, até completa evaporação. O resíduo foi dissolvido com água e aferido a 10 mL. Foram feitas adições dos elementos em algumas amostras e as recuperações variaram de 95 a 101% para os três elementos em questão.

¹⁰¹ KRUSHEVSKA, A. BARNES, R.M.; AMARASIRIWARADENA, C.J.; FONER, H.; MARTINES, L., *J. Anal. At. Spectrom.* 7 (1992) 851-858

¹⁶⁰ SILVESTRE, M.D., LAGARDA, M.J., FARRÉ, R., MARTÍNEZ-COSTA, C., BRINES, J., *Food Chem.* 68 (2000) 95-99

Com a utilização da decomposição em sistema fechado assistida por microondas, tem sido feita a determinação de vários elementos nos mais variados tipos de amostras como, por exemplo, Se em suplementos alimentícios¹⁷⁴ e minerais,¹⁶⁵ Se em comprimidos,¹¹⁴ Ca, Mg, Zn, Mn, e Cr em multivitamínicos,⁹⁷ As em comprimidos sem revestimento e com revestimento de açúcar, cápsulas, pós e xaropes de produtos tradicionais da medicina chinesa¹³⁹ e vários elementos em vitamina E.¹⁰⁹ Desta forma, este procedimento tem sido largamente empregado para a decomposição dos mais variados tipos de amostras, como solos,⁹⁵ águas, sedimentos e amostras biológicas,¹⁵³ óleos lubrificantes,¹¹ entre outras.

Matusiewicz (1994)¹²¹ desenvolveu um sistema de decomposição fechado, empregando microondas focalizadas para decompor amostras de maneira eficiente. O sistema suporta temperaturas de até 300 °C e pressões de 100 bar, o que de acordo com Würfels *et al.* (1987)¹⁸² torna-se necessário para a completa destruição de todos os tipos de materiais orgânicos com a utilização de HNO₃ apenas. O sistema apresenta algumas vantagens em relação à decomposição assistida por microondas, pois os frascos de PTFE, normalmente, empregados neste procedimento não podem suportar tal temperatura. Com relação ao sistema de decomposição a altas pressões (HPA) o sistema proposto apresenta menor custo e menor tempo necessário para a decomposição. Levine *et al.* (1999),¹¹⁰ fizeram uma avaliação do desempenho deste sistema na decomposição de amostras botânicas, biológicas e geológicas. O tempo necessário de decomposição para amostras botânicas foi cerca de 10 minutos, enquanto que, para amostras geológicas e biológicas foi, aproximadamente, 15 minutos. Produtos orgânicos não-voláteis que, normalmente, estão presentes nas soluções decompostas por procedimentos convencionais, estão ausentes ou, significativamente, reduzidos quando o sistema é empregado para decomposição.

¹⁷⁴ VALIENTE, L., PICCINNA, M., ALE, E.R., GRILLO, A., SMICHOWSKI, P., *At. Spectrosc.* 23 (2002) 129-134

¹⁶⁵ STOICA, A.I., BABAU, G.R., IORGULESCU, E.E., MARINESCU, D., BAIULESCU, G.E., *J. Pharmaceut. Biomed.* 30 (2002) 1425-1429

¹¹⁴ LOZAK, A., FIJALEK, Z., SARNA, K., *Electroanal.* 10 (1998) 846-851

⁹⁷ KRAMPITZ, P.D., BARNES, K.W., *At. Spectrosc.* 19 (1998) 43-44

¹³⁹ ONG, E.S., YONG, Y.L., WOO, S.O., *J. AOAC Int.* 82 (1999) 963-967

¹⁰⁹ LEON, C.A.P., BAYON, M.M., CARUSO, J.A., *Anal. Bioanal. Chem.* 374 (2002) 230-234

⁹⁵ KOS, V., VEBER, M., HUDNIK, V., *Fresenius J. Anal. Chem.* 360 (1998) 225-229

¹⁵³ RINGMANN, S., BOCH, K., MARQUARDT, W., SCHUSTER, M., SCHLEMMER, G., KAINRATH, P., *Anal. Chim. Acta* 452 (2002) 207-215

¹¹ AUCELIO, R.Q., CURTIUS, A.J., *Analyst* 125 (2000) 1673-1679

¹²¹ MATUSIEWICZ, H., *Anal. Chem.* 66 (1994) 751-755

¹⁸² WÜRFELS, M., JACKWERTH, E., STOEPLER, M., *Fresenius Z. Anal. Chem.* 329 (1987) 459-461

¹¹⁰ LEVINE, K.E., BATCHELOR, J.D., RHOADES, C.B., JONES, B.T., *J. Anal. At. Spectrom.* 14 (1999) 49-59

Uma versão mais atual do sistema permite atingir temperaturas e pressões de até 320 °C e 120 bar, respectivamente, além de possibilitar a decomposição de até 6 amostras simultaneamente (Fig.11).¹²²

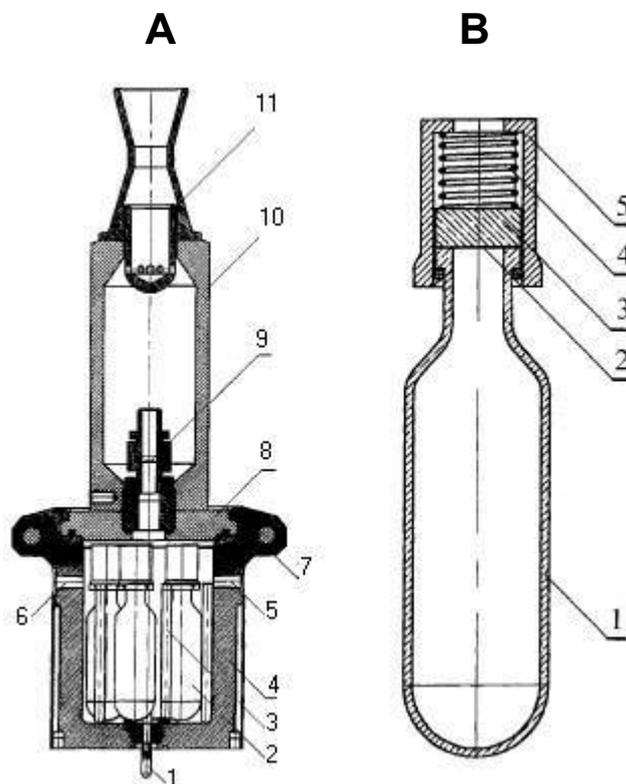


Figura 11. Sistema de decomposição com HNO₃ sob pressão a 320 °C com aquecimento por microondas focalizado (HPA-FM). A) 1- sistema de antena; 2- frasco de decomposição de quartzo com tampa; 3- suporte; 4- câmara de alta pressão; 5- entrada de gás; 6- saída de gás; 7- anel de ajuste; 8- tampa de proteção; 9- disco de ruptura de metal; 10- câmara de expansão; 11- tubo e disco de segurança. B) 1- frasco de digestão de quartzo; 2- vedante de PTFE; 3- tampa de quartzo; 4- mola de tungstênio; 5- tampa de PTFE. (adaptado de Matusiewicz¹²²).

Légère e Salin (1995)¹⁰⁸ propuseram um sistema baseado no encapsulamento de amostras e decomposição em microondas sob pressão. A cápsula (feita de poliacrilamida, com 70 mg de peso e 2 mL de capacidade), contendo a amostra, era colocada em um tubo de PTFE-PFA em forma de "U" (9,5 mm d.i.), que suportava temperaturas de até 200 °C, com válvulas para fechamento nas extremidades. A remoção da amostra decomposta era feita com uma haste flexível de PTFE (a

¹²² MATUSIEWICZ, H., *Anal. Chem.* 71 (1999) 3145-3149

¹⁰⁸ LÉGÈRE, G., SALIN, E., *Appl. Spectrosc.* 49 (1995) 14A-22A

mesma empregada para a colocação da cápsula). O diâmetro interno do tubo era relativamente grande, não ocasionando problemas de seccionamento da amostra, pois as bolhas saíam da solução com facilidade.

2.5. Outros Sistemas

Florian e Knapp,⁵² em 2001, propuseram um sistema fechado de decomposição de amostras assistido por microondas em altas temperaturas empregando radiação ultravioleta (Fig. 12). O sistema foi desenvolvido para decompor eficientemente amostras orgânicas, já que a grande maioria dos procedimentos de decomposição deixam um elevado teor de carbono orgânico dissolvido, o qual poderia interferir na determinação de elementos por ICP-MS^{17,96} e FAAS.¹⁷ Neste sistema, os autores introduziram uma lâmpada de descarga sem eletrodos ativada pela radiação microondas no interior de cada frasco de decomposição. A lâmpada era feita em quartzo, sendo preenchida com vapor de cádmio (linha de emissão predominante em 228 nm), apresentando uma antena na parte superior da lâmpada feita de molibdênio (Fig. 12). Cerca de 75 mg de leite desnatado eram transferidos para um frasco de decomposição de quartzo, seguidos de 7 mL de água e 50 μ L HNO₃ mais 50 μ L HCl, ambos concentrados. Imediatamente antes de fechar o frasco, era adicionado 1 mL de H₂O₂. Então, o sistema era irradiado com microondas por 30 minutos, sendo mantido na pressão de 72 bar durante a decomposição. Após resfriamento do sistema, era feita a aferição à 10 mL com água. Segundo os autores, o tempo de decomposição da amostra no sistema comparado aos sistemas tradicionais de decomposição por radiação ultravioleta foi reduzido por um fator de 5 vezes, enquanto que a concentração inicial de carbono orgânico dissolvido é reduzida por um fator de 50 vezes. Boa concordância foi encontrada na determinação de Cd, Cu, Fe e Pb em material de referência certificado de leite desnatado (IRMM, CRM 151)

⁵² FLORIAN, D., KNAPP, G., *Anal. Chem.* 73 (2001) 1515-1520

¹⁷ BEGEROW, J., TURFELD, M., DUNEMAN, L., *J. Anal. At. Spectrom.* 11 (1996) 913-916

⁹⁶ KRACHLER, M., RADNER, H., IRGOLIC, K., *Fresenius J. Anal. Chem.* 355 (1996) 120-128

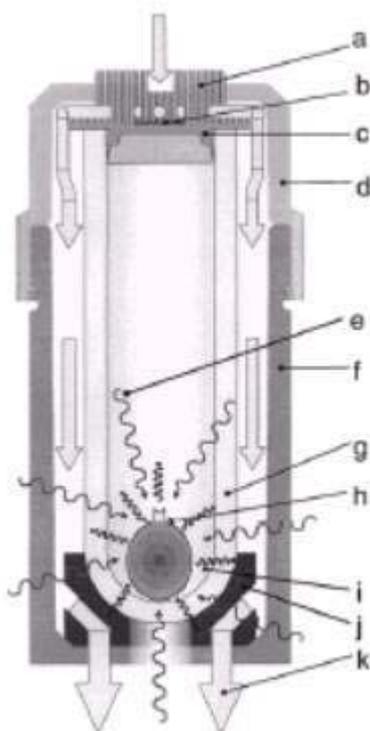


Figura 12. Sistema fechado de decomposição assistida por microondas em altas temperaturas e radiação ultravioleta (adaptado de Florian e Knapp⁵²). Desenho esquemático do sistema de decomposição com lâmpada UV; **a-** plug; **b-** disco de ruptura; **c-** tampa de vedação; **d-** tampa com rosca; **e-** radiação de microondas; **f-** revestimento de PEEK; **g-** frasco de decomposição de quartzo; **h-** lâmpada de descarga sem eletrodos; **i-** radiação ultravioleta; **j-** base do copo; **k-** fluxo de ar.

Sperling,¹⁶³ em 1984, desenvolveu um procedimento para a decomposição de amostras ambientais e posterior determinação de Cd por GF AAS. Este procedimento foi desenvolvido de acordo com os conceitos de que se todas as etapas do procedimento analítico, desde a tomada da amostra, pudessem ser feitas sempre no mesmo recipiente, os riscos de perdas e de contaminação seriam reduzidos ao mínimo. A coleta, a pesagem e a preservação da amostra poderiam ser feitas *in loco* e, do transporte ao laboratório até a medida final, os procedimentos poderiam ser feitos com facilidade, simplicidade e segurança. A decomposição era feita em frascos fechados de polipropileno (1,5 e 4 mL de capacidade), aquecidos a 70 °C por uma noite. O procedimento consistia na decomposição da amostra com mistura ácida de H₂SO₄/HNO₃ 1 + 4 (v/v) e aferição de volume no próprio frasco

⁵² FLORIAN, D., KNAPP, G., *Anal. Chem.* 73 (2001) 1515-1520

¹⁶³ SPERLING, K.R., Determination of Cd traces in environmental samples, em "Fortschritte in der Atom-spektrometrischen Spurenanalytik", Band 2, ed. B. WELZ, VCH, Weinheim, (1984) 385-401

usado para a decomposição; a proporção de ácido era de 50 µL para cada 5 mg de amostra. Segundo o autor, com este procedimento, era possível o processamento de um grande número de amostras de cada vez e, já que a amostra não era excessivamente diluída durante o procedimento elevada sensibilidade poderia ser alcançada. Campos,²⁴ em 1988, adaptou este procedimento para a decomposição de amostras de vegetais e determinação de Cd, Cu e Pb por GF AAS: até 5 mg de amostra + 50 µL de mistura sulfonítrica (H₂SO₄/HNO₃ 1 : 3 v/v) e aquecimento em estufa, à 80 °C, por 12 horas. O autor observou boa concordância entre os valores encontrados e valores para material de referência certificado, *Spinach leaves*: 91,7% para Cd, 95,1% para Pb e 108% para Cu, atribuindo a variação à pequena massa de amostra utilizada.

Com base nestes trabalhos, Flores (1997)⁵⁰ decompôs amostras de erva-cidreira e fígado bovino empregando recipientes fechados de polipropileno (Fig. 13) para as etapas de decomposição, diluição e, mesmo, de determinação de Cr e Cu por GF AAS e Se por HG AAS. A decomposição foi realizada empregando-se 80 µL de ácido sulfúrico e 150 µL de ácido nítrico concentrados, com aquecimento em estufa ou em forno de microondas doméstico, com prévia calibração de potência. A concordância entre os resultados encontrados pelo autor com os referidos para amostras certificadas foi de 86 a 98% para todos os elementos empregando-se a decomposição em estufa. Com aquecimento com microondas, a concordância foi de 95 a 98% para Cr e Cu. Para Se, com aquecimento com microondas, a concordância foi de 57% para fígado bovino e 82% para farinha de arroz. Neste caso, o princípio do “*frasco único*” foi empregado em quase sua totalidade.

Flores *et al.* (2001),⁵¹ posteriormente, desenvolveram um procedimento para a determinação de As em amostras de cabelo, também empregando estufa convencional e forno de microondas doméstico para o aquecimento. A determinação de As em amostras biológicas, por HG AAS, é sujeita a problemas devido às dificuldades de decomposição de espécies orgânicas contendo As, que não são detectadas pelos sistemas convencionais. Para isto, agentes oxidantes fortes aliados a sistemas pressurizados, normalmente, precisam ser empregados. Entretanto, apesar das condições relativamente brandas e da decomposição não ser

²⁴ CAMPOS, R.C., Tese de doutorado, PUC, Rio de Janeiro/RJ, 1988

⁵⁰ FLORES, E.M.M., Tese de Doutorado, Programa de Pós-graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais, UFRGS, Porto Alegre/RS, 1997.

⁵¹ FLORES, E.M.M., SAIDELLES, A.P.F., BARIN, J.S., MORTARI, S.R., MARTINS, A.F., *J. Anal. At. Spectrom.* 16 (2001) 1419-1423

completa (restam de 25 a 40% do carbono original), isto não interfere na determinação de As. O procedimento mostrou-se apropriado para a decomposição de um grande número de amostras, de maneira simples e com menor consumo de reagentes (da ordem de “ μL ”), mínima diluição, além de ser comparável a outros procedimentos descritos na literatura. Além disso, a facilidade de manuseio e, o fato de serem descartáveis, torna seu emprego apropriado para análises de rotina. As possibilidades de contaminação são minimizadas, pois após a adição dos reagentes o frasco só é aberto para a etapa de diluição e de medida propriamente dita. Desta forma, o emprego de frascos de polipropileno fechados é adequado para procedimentos de decomposição por via úmida de amostras biológicas.

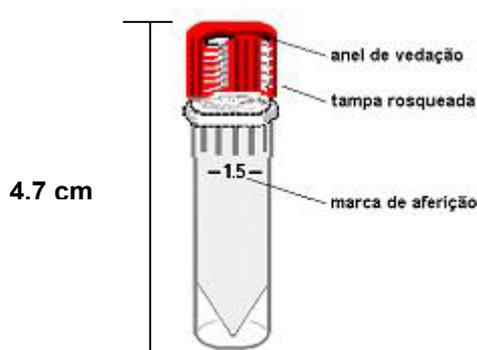


Figura 13. Microfrasco de polipropileno empregado para decomposição de amostras biológicas (adaptado de Flores⁵⁰)

2.6. Aspectos gerais do processo de combustão

O processo de combustão origina-se da interação de fenômenos físicos e químicos. Nos fenômenos químicos envolvidos no processo de combustão, estão a ocorrência de reações exotérmicas, as ondas de detonação e a emissão de luz. Já, os físicos envolvem, principalmente, o transporte de matéria e energia, como a condução de calor e a difusão das espécies químicas.

Na reação de combustão, normalmente, estão envolvidos dois componentes principais, o combustível e o oxidante. Um sistema simples de combustão pode ser

⁵⁰ FLORES, E.M.M., Tese de Doutorado, Programa de Pós-graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais, UFRGS, Porto Alegre/RS, 1997.

aquele que ocorre com materiais pré-misturados em forma gasosa, sendo aquecido lentamente em um sistema fechado. Se a temperatura fornecida não ultrapassar um determinado valor, o calor produzido pela reação será dissipado através das paredes do recipiente.¹⁴ Entretanto, quando este valor é ultrapassado, dependendo das propriedades físicas dos reagentes e do recipiente, a taxa de liberação de energia oriunda da reação pode exceder a taxa de perda através das paredes do recipiente. Se isto ocorrer, a temperatura irá aumentar, conseqüentemente, aumentando a velocidade da reação e a taxa de liberação de energia da reação. Sendo assim, a reação será acelerada indefinidamente (de acordo com o suprimento adequado de reagentes) levando a uma explosão.

O termo explosão refere-se ao aumento violento na pressão que deve estar acompanhado da auto-aceleração da reação. O estado do sistema, no momento em que a auto-aceleração ocorre é chamado de ignição e corresponde à temperatura de ignição ou, mais corretamente, temperatura de auto-ignição. Como a energia é liberada na forma de calor, este tipo de evento é classificado como explosão térmica. A auto-aceleração ocorre porque a velocidade de reação varia exponencialmente com a temperatura, enquanto que a transferência de calor por condução depende linearmente da temperatura. Ainda em relação à ignição, se esta ocorrer em uma região localizada, uma zona de reação explosiva pode se propagar através da mistura reagente. Portanto, se houverem gases contidos, por exemplo, em um tubo longo e a reação for iniciada em uma das extremidades (através de uma fagulha), uma onda de combustão percorrerá o tubo. Tal onda é denominada deflagração, embora formalmente o termo seja usualmente restrito à onda de combustão na qual a zona de reação é luminosa.¹⁴

Com relação à velocidade de queima, os diferentes tipos de chamas, compostas, normalmente, por uma combinação particular de gases combustível-oxidante-inerte, depende, principalmente, das proporções de mistura, temperatura inicial, pressão total e umidade, além da turbulência.¹⁰⁰

¹⁴ BARNARD, J.A.; BRADLEY, J.N., *Flame and Combustion*, 2nd ed., Chapman and Hall New York (1985) 3, 4, 132-136, 163, 172, 173, 184-186, 202

¹⁰⁰ KRUG, F.J.; NÓBREGA, J.A.; BERGAMIN FILHO, H.; Apostila "Chamas em espectroscopia de emissão e absorção"; CENA-USP Piracicaba –SP; Maio de 1991

2.6.1. Emissão de luz

A emissão de luz acompanha, praticamente, todos os fenômenos de combustão e, embora a maioria das informações disponíveis tenha sido obtida de estudos sobre chamas, as características observadas são similares a outros sistemas.

Se uma chama estiver em equilíbrio termodinâmico completo, os gases aquecidos devem emitir uma radiação contínua de acordo com a temperatura desta. Para um verdadeiro corpo negro, a emissão deve ter um valor único ("V") para todos os comprimentos de onda. Porém, para as chamas normalmente empregadas, a emissão é próxima a zero na região do ultravioleta e visível, enquanto que, no infravermelho a emissão fica próxima ao valor "V". Uma vez que partículas sólidas são introduzidas na chama, a emissão fica muito próxima daquela do corpo negro, mostrando apenas uma pequena variação em relação ao comprimento de onda. A emissão contínua pode, também, ser observada em processos de recombinação entre íon-elétron, átomo-átomo ou radical-radical, pois as transições eletrônicas para estados superiores envolvidos não são quantizadas. Entretanto, a maioria das espécies gasosas presentes em chamas apresentam transições eletrônicas mais discretas. Este fato, associado com a ausência de transições eletrônicas de alguns dos produtos estáveis da combustão de hidrocarbonetos (p. ex. H_2O , CO_2 , CO e O_2) é responsável pela baixa intensidade da radiação nas regiões do ultravioleta e visível. Algumas espécies intermediárias podem sofrer transições energéticas termodinamicamente mais favoráveis (p. ex. OH , CH , CN , C_2 , HCO , NH e NH_2), onde se percebe um espectro discreto destes intermediários.¹⁴

2.6.2. Formação de fuligem

Apesar da oxidação de compostos orgânicos levar, normalmente, à formação de monóxido e dióxido de carbono, chamas ricas em combustíveis tendem a produzir carbono no estado sólido, comumente denominado de fuligem. Isto causa uma coloração amarela intensa característica de tais chamas, podendo haver a formação de partículas que podem se depositar nas superfícies mais frias. A

¹⁴ BARNARD, J.A.; BRADLEY, J.N., *Flame and Combustion*, 2nd ed., Chapman and Hall New York (1985) 3, 4, 132-136, 163, 172, 173, 184-186, 202

natureza destas partículas varia, tanto fisicamente quanto quimicamente, dependendo da posição da chama. Primeiramente, uma fuligem considerada nova, possui um diâmetro inicial de 5 nm, que aumenta gradualmente, principalmente por aglomeração, podendo atingir 200 nm ou mais. A concentração de partículas de fuligem cai, tipicamente, na faixa de 10^6 a 10^9 partículas por cm^3 . Nestas partículas, o teor de hidrogênio fica em torno de 1% em peso ou 12% em relação ao número de átomos presentes, correspondendo, aproximadamente, a forma empírica C_8H .¹⁴

2.6.3. Reação de combustão em sólidos

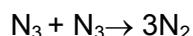
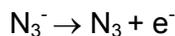
Na reação de combustão em sólidos ocorrem alguns fenômenos básicos, também observados nos gases, ou seja, explosões nas quais a reação pode ser considerada essencialmente uniforme em todo o sistema. Assim, neste caso, a propagação das ondas de combustão, detonação ou deflagração, ocorre através do material a uma velocidade fixa.

Quando comparados com os gases, os sólidos possuem condutividades térmicas mais elevadas (cerca de uma ordem de magnitude) e coeficientes de difusão que são muito menores. A energia de ativação para a difusão é, usualmente, inferior a 80 kJ mol^{-1} , de modo que, mesmo em elevadas temperaturas, a difusão, raramente, torna-se importante até que a fusão ocorra. Mecanismos que dependem do deslocamento dos centros ativos através dos retículos sólidos, podem, usualmente, ser eliminados ou desconsiderados em quase todos os casos, devido ao domínio dos mecanismos envolvendo transferência de calor.¹⁴

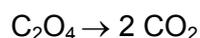
Mesmo se tratando de materiais sólidos, a combustão raramente ocorre na fase sólida, pois a temperatura da zona de reação é, normalmente, bem acima do ponto de fusão e, portanto, o sólido pode entrar na zona de reação como um líquido. Alternativamente, o material pode vaporizar e, então, a combustão poderá ocorrer na fase gasosa ou, no caso da mistura de dois componentes, na interface entre o gás e o sólido. Entretanto, estas considerações são aplicáveis para materiais covalentes mas, para materiais iônicos com alto ponto de fusão e temperaturas de sublimação, a situação é menos definida.

¹⁴ BARNARD, J.A.; BRADLEY, J.N., *Flame and Combustion*, 2nd ed., Chapman and Hall New York (1985) 3, 4, 132-136, 163, 172, 173, 184-186, 202

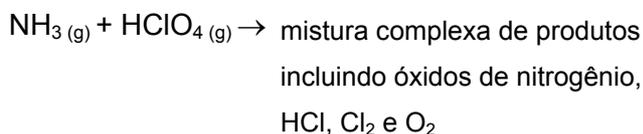
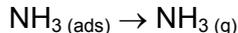
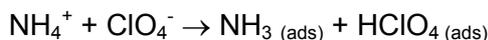
O mecanismo para azidas, por exemplo, pode envolver a perda de um elétron do íon N_3^- seguido da reação de dois grupos N_3 .¹⁴



Desde que o calor seja liberado no último passo da reação e as duas espécies se difundam juntas, a reação provavelmente ocorrerá na fase fundida. Entretanto, em oxalatos, onde o calor envolvido na reação é dito como unimolecular, a combustão pode ocorrer diretamente na fase sólida.¹⁴



Com o perclorato de amônio, na ausência de catalisadores, o mecanismo envolve a transferência de um próton do íon amônio para o íon perclorato, formando amônia e ácido perclórico, que ficam adsorvidos e, então, são liberados para a fase gasosa. Ocorre uma reação exotérmica e o calor é conduzido para o perclorato de amônio, resultando em um aumento de temperatura, decomposição acelerada e, eventualmente, deflagração.⁸⁷



Como poderia ser esperado, devido a grande variedade de produtos, a reação na fase gasosa é muito complexa e envolve várias espécies de radicais livres.⁸⁶ Alguns catalisadores podem influenciar na decomposição de percloratos de várias maneiras. O óxido de magnésio, por exemplo, pode reagir com o perclorato de amônio formando o perclorato metálico correspondente que, então, forma uma fase fundida aumentando, assim, a taxa de decomposição do ácido perclórico.⁸⁵

É difícil prever o efeito da pressão na reação de combustão de um sólido. Como a reação conduz a formação de gases, poderia ser esperado que, com um aumento de pressão, a reação fosse inibida. Apesar desta inibição ocorrer em muitos casos, um aumento de pressão também pode atuar mantendo os produtos gasosos confinados, em temperatura elevada, nas proximidades da zona de reação.

¹⁴ BARNARD, J.A.; BRADLEY, J.N., *Flame and Combustion*, 2nd ed., Chapman and Hall New York (1985) 3, 4, 132-136, 163, 172, 173, 184-186, 202

⁸⁷ JACOBS, P.W.M., WHITEHEAD, H.M., *Chem. Rev.* 69 (1969) 551-590

⁸⁶ JACOBS, P.W.M., PEARSON, G.S., *Combust. Flame* 13 (1969) 419-430

⁸⁵ JACOBS, P.W.M., GILBERT, R., *Canad. J. Chem.*, 49 (1971) 2827

Assim sendo, ocorrerá um aumento na transferência de calor para os reagentes e, conseqüentemente, na velocidade de reação.¹⁴

2.6.4. Combustão em sistema heterogêneo

Em sistemas gás-sólido a combustão ocorre, normalmente, na superfície, onde o oxidante é adsorvido, previamente, à reação. O calor liberado faz com que os produtos sejam liberados rapidamente na forma de gases. Embora, a reação inicie na superfície esta não é, necessariamente, a etapa determinante da velocidade da reação. O processo completo é conduzido por uma seqüência de eventos e, em princípio, qualquer um deles pode ser o determinante da velocidade da reação. A primeira etapa é a transferência do reagente, normalmente oxigênio, da fase gasosa para a superfície da partícula sólida. O reagente é, então, adsorvido e reage com a superfície antes dos produtos gasosos serem liberados e difundidos. Se, o sólido for altamente poroso como freqüentemente é o caso, uma maior área superficial estará acessível para a difusão do reagente e esta etapa do processo, pode influenciar na velocidade da reação. Assim, os fatores que podem influenciar na velocidade da reação de combustão são:¹⁴

- a) a difusão do gás na superfície sólida;
- b) a adsorção e reação química;
- c) os poros de difusão.

2.6.5. Características da combustão de hidrocarbonetos

Em um sistema estático simples, podem ser distinguidas duas regiões com comportamento de reação diferente, que dependem, primeiramente, da temperatura e pressão e são separados por uma linha divisória acentuada (Fig.14). De um lado da linha, a combustão é lenta e pode, até mesmo, ser imperceptível, enquanto do outro lado ocorre uma reação explosiva. No caso de hidrocarbonetos e materiais orgânicos a situação é, geralmente, mais complexa. Como no caso anterior, a linha divisória representa a região em que ocorre a verdadeira ignição, caracterizada pela

¹⁴ BARNARD, J.A.; BRADLEY, J.N., *Flame and Combustion*, 2nd ed., Chapman and Hall New York (1985) 3, 4, 132-136, 163, 172, 173, 184-186, 202

explosão em um sistema estático e uma chama amarela associada com a formação de carbono em um sistema em fluxo. Na região da combustão “lenta”, vários fenômenos podem ser distinguidos (Fig. 14) e, estes podem ser ilustrados por várias curvas de pressão-tempo, observadas quando uma mistura de combustível-oxigênio reage em um sistema estático sob condições iniciais diferentes (Fig. 15). Em tal sistema não ocorrem mudanças significativas de temperatura, as mudanças de pressão representam boas medidas da extensão da reação e as medidas de tempo-pressão são, portanto, adequadas para o acompanhamento da reação.¹⁴

As curvas na Fig. 15 apresentam o comportamento da reação quando a temperatura inicial é mantida constante (Fig. 14, T1) e a pressão inicial é gradualmente aumentada. A baixas pressões, p_1 , as reações são lentas: esta é a região de “combustão lenta” à baixa temperatura e a curva pressão-tempo apresenta um perfil sigmoidal (Fig. 15, curvas a e b). Estas curvas mostram que a aceleração inicial ocorre exponencialmente, mas de forma lenta, devido a degeneração da cadeia ramificada, seguida por uma diminuição na velocidade à medida que os reagentes são consumidos. Os produtos formados em maior quantidade nesta região são, normalmente, os alquenos com mesmo número de átomos de carbono que o combustível. Porém, peróxidos, aldeídos, cetonas e álcoois também são formados, assim como, monóxido de carbono e água. Quando a pressão inicial do reagente é aumentada, pode ser observada uma chama azul pálida. Isto é acompanhado pelo momentâneo pulso de pressão durante o qual a temperatura pode ser aumentada em, aproximadamente, 150 K antes do sistema reverter para uma combustão lenta à baixa temperatura (Fig. 15, curva d). A duração de uma “chama fria” é, tipicamente, 1 s. Em pressões um pouco mais elevadas, uma sucessão destas, então chamadas, “chamas frias” podem ser observadas (Fig. 15, curva d). Aumentos posteriores de temperatura resultam na ignição.¹⁴

Freqüentemente, a ignição é precedida por uma chama fria e este processo é conhecido como “ignição em dois estágios” (Fig. 15, curva e). Na região onde ocorre a chama fria, além dos produtos já mencionados, podem ser formados éteres cíclicos em quantidades variáveis, enquanto a ignição resulta em diversos produtos nos quais alquenos menores e monóxido de carbono são predominantes.

¹⁴ BARNARD, J.A.; BRADLEY, J.N., *Flame and Combustion*, 2nd ed., Chapman and Hall New York (1985) 3, 4, 132-136, 163, 172, 173, 184-186, 202

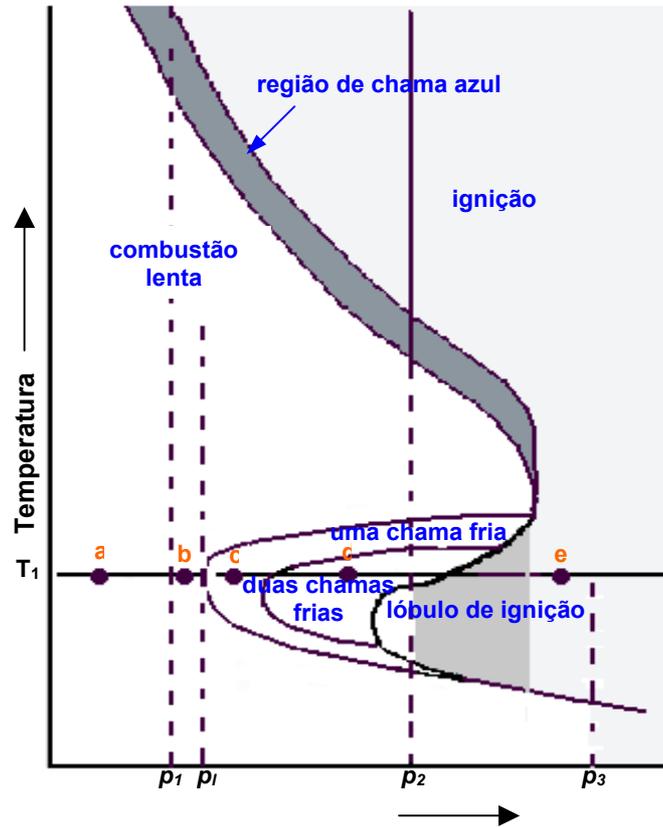


Figura 14. Representação esquemática de um diagrama típico de ignição (adaptado de Barnard e Bradley¹⁴).

Os limites separando as regiões em que vários tipos de comportamentos ocorrem, podem ser observados na Fig. 14. Em ambos os sistemas, com altas e baixas pressões (p_1 e p_3), as explosões ocorrem quando a temperatura é aumentada, sem a intervenção de chamas frias. Ao longo da linha correspondente a pressão intermediária inicial, p_2 , o primeiro aumento da temperatura inicial dos reagentes, causa reações lentas formando as chamas frias e, então, a ignição. Entretanto, um posterior aumento na temperatura resulta na ignição sendo substituída por chamas frias e, então, ocorre uma reação lenta antes de, novamente, atingir temperaturas levadas e ocorrer nova ignição. Esta é uma manifestação do, então chamado, coeficiente de temperatura negativa da velocidade de reação que, também, revela por si mesmo, se a velocidade da reação de misturas de composição constante, é função da temperatura quando a região onde a velocidade diminui e a temperatura aumenta (Fig. 16). A forma do diagrama da Fig. 16 tem

¹⁴ BARNARD, J.A.; BRADLEY, J.N., *Flame and Combustion*, 2nd ed., Chapman and Hall New York (1985) 3, 4, 132-136, 163, 172, 173, 184-186, 202

levado para a subdivisão da zona de combustão lenta em regiões de altas e baixas temperaturas.¹⁴

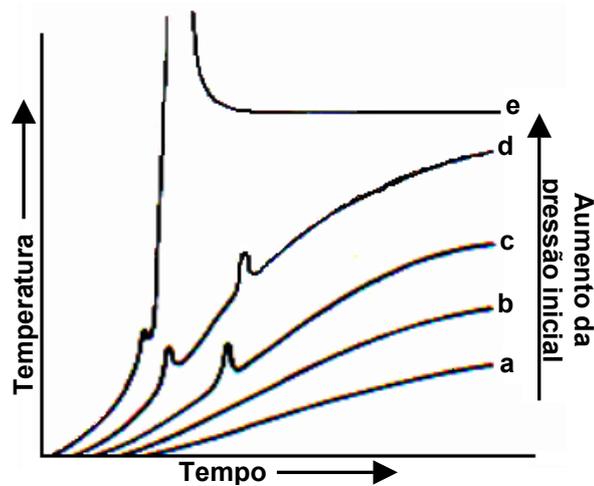


Figura 15. Curvas de tempo-pressão durante a combustão em um sistema estático. Onde, (a,b) combustão lenta, (c) uma chama fria, (d) duas chamas frias, (e) dois estágios de ignição. As letras correspondem aos pontos marcados na Fig. 14. (adaptado de Barnard e Bradley¹⁴).

Outros fenômenos são, muitas vezes, observados. Na região onde são esperadas a ocorrência de múltiplas chamas frias, uma única chama fria, ocorre seguida de um período de tempo apreciável, ocorrendo uma segunda chama fria e, então, a ignição: isto é denominado ignição retardada (Fig. 17). Em alguns sistemas, a região de ignição pode ser separada quando a combustão lenta ocorre por uma estreita zona em que uma intensa chama azul pode ser vista.

Vários destes fenômenos em sistemas estáticos podem ocorrer, também, em sistemas em fluxo. Chamas frias podem ser estabilizadas em sistemas em fluxo e podem ser vistas individualmente ou seguidas por uma intensa chama azul. Em algumas circunstâncias a chama azul pode ser seguida por uma chama amarela, usualmente associada com a verdadeira ignição.

¹⁴ BARNARD, J.A.; BRADLEY, J.N., *Flame and Combustion*, 2nd ed., Chapman and Hall New York (1985) 3, 4, 132-136, 163, 172, 173, 184-186, 202

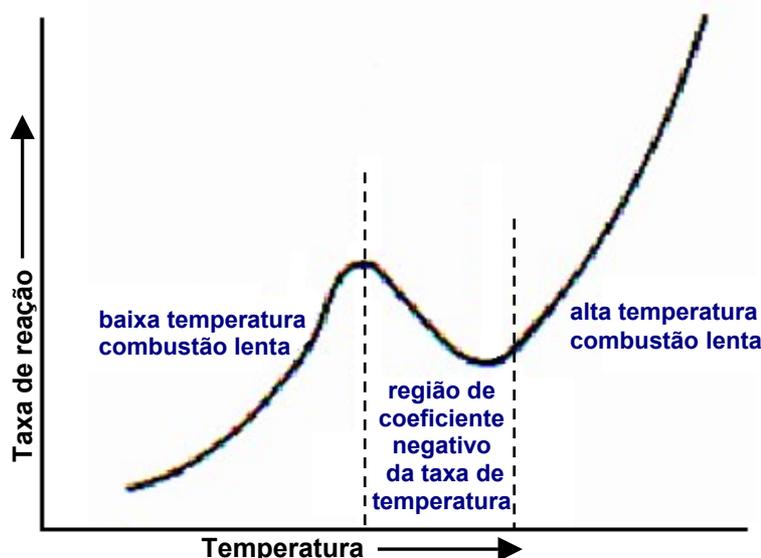


Figura 16. Taxa de reação de combustão em função da temperatura, mostrando a região de coeficiente da taxa de temperatura negativo (adaptado de Barnard e Bradley¹⁴).

Diagramas de ignição, mostrados na Fig. 14, têm sido construídos para vários sistemas de combustão. Eles são, geralmente, similares na forma e exibem uma ou mais regiões, chamadas de lóbulos, em que a ignição requer uma alta pressão dos reagentes conforme a temperatura é aumentada. Quando a pressão correspondente, p_1 , é muito dependente da natureza do combustível e da composição da mistura combustível-oxidante, a faixa de temperatura em que as chamas frias são observadas situa-se, normalmente, entre 250 e 350 °C. O diagrama da Fig. 14, geralmente, é utilizado para descrever a morfologia do sistema e este mostra que a combustão em sistema estático é, excessivamente, complexa. Todavia, um grande esforço tem sido dedicado para correlacionar o modelo destes diagramas, em particular dos lóbulos, com os detalhes da química do sistema reacional.^{8,80} Isto tem sido uma dificuldade, pois a situação é intensamente influenciada pelos gradientes de temperatura e concentração estabelecidos pelo desenvolvimento da reação e pelo inevitável consumo de reagentes, onde a superfície de contato pode ser uma parte desta.¹³

¹⁴ BARNARD, J.A.; BRADLEY, J.N., *Flame and Combustion*, 2nd ed., Chapman and Hall New York (1985) 3, 4, 132-136, 163, 172, 173, 184-186, 202

⁸ ANTONIK, S., LUCQUIN, M., *Bull. Soc. Chem. Fr.* 10 (1968) 4043

⁸⁰ HOARE, D.E., TING-MAN LI., WALSH, A.D., *Eleventh Symposium (International) on Combustion*, The Combustion Institute, Pittsburg (1967) 879

¹³ BARNARD, J.A., HARWOOD, B.A., *Combust. Flame* 22 (1974) 35-42

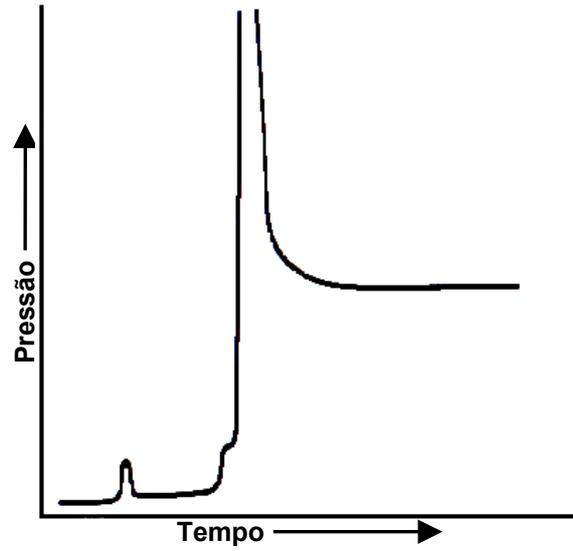


Figura 17. Curva de tempo-pressão, mostrando o retardamento da ignição (adaptado de Barnard e Bradley¹⁴).

¹⁴ BARNARD, J.A.; BRADLEY, J.N., *Flame and Combustion*, 2nd ed., Chapman and Hall New York (1985) 3, 4, 132-136, 163, 172, 173, 184-186, 202

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo são descritos os equipamentos, reagentes e amostras utilizados para o desenvolvimento deste trabalho, bem como, os procedimentos empregados para o preparo e análise das amostras. É apresentada, também, uma descrição detalhada do sistema de combustão iniciada por microondas em sistema fechado, assim como a descrição dos outros procedimentos de decomposição utilizados para comparação com o sistema proposto.

O sistema proposto consiste, basicamente, na adaptação de um dispositivo de quartzo, especialmente desenvolvido para este trabalho, no interior de um frasco de quartzo do sistema comercial de decomposição de amostras assistido por microondas.

Também, são avaliados alguns parâmetros utilizados para acompanhamento e avaliação do sistema de decomposição proposto. Finalmente, é descrita a aplicação do procedimento desenvolvido para a determinação de cobre e zinco em amostras de fígado bovino e leite em pó.

3.1. Instrumentação

A decomposição das amostras foi feita empregando-se o sistema de decomposição pressurizado com aquecimento por microondas *Multiwave 3000*[®] (*Microwave Sample Preparation System*, Anton Paar, Graz, Áustria) equipado com oito frascos de quartzo de 80 mL, temperatura máxima de 280 °C, pressão máxima de 80 bar, com controladores de tempo, temperatura, pressão e potência. Para a decomposição empregando o procedimento de combustão, um dispositivo de quartzo, especialmente desenvolvido foi utilizado como suporte das amostras. Este sistema é descrito no item 3.4.

As determinações de Cu e Zn 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). Acetileno comercial, mín. 99,5% de pureza (AGA), foi empregado para as determinações. Lâmpadas de cátodo ôco foram usadas como fonte de radiação. Uma lâmpada de deutério foi usada para correção de fundo. Os comprimentos de onda selecionados para Cu e Zn foram 324,8 e 213,9 nm; largura da banda espectral de 1,2 e 0,5 nm e corrente da lâmpada de 3 e 4 mA, respectivamente.

Para a preparação dos *pellets* foi utilizada uma prensa de aço inox construída no laboratório. A prensa consiste de um cilindro de 12 mm de diâmetro interno com um fundo que pode ser removido, um pistão que comprime a amostra e, posteriormente, auxilia na remoção da mesma.

As determinações das concentrações de alguns elementos nos papeis utilizados como auxiliares de combustão foram feitas por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) no Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

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 convencional Fanem (mod. 515/4-C, SP, Brasil), bloco digestor Velp Scientifica (mod. DK 42, Alemanha), potenciômetro digital (Hanna, mod. pH211, Sarmeola di Rubano, Itália).

3.2. Reagentes

A água utilizada foi destilada, desionizada em coluna de troca iônica convencional e, posteriormente, purificada (18,2 MΩ cm) em sistema Milli-Q® (Ultrapure Water Purification System, Millipore, Bedford, USA). Os seguintes ácidos concentrados foram de grau P.A. (Merck, Darmstadt, Alemanha): ácido nítrico (Art. nº 100452.1000, 65%, 1,4 kg L⁻¹) e clorídrico (Art. nº 100318.250, 37%, 1,19 kg L⁻¹) foram destilados em sistema de destilação abaixo do ponto de ebulição em quartzo (Milestone, modelo duoPUR 2.01E, Monroe, Itália).

As soluções estoque de Cu e Zn foram preparadas a partir de soluções Titrisol® (Merck): CuCl₂ Art. nº 109987, 1000 ± 0,002 g de Cu, ZnCl₂, Art. nº 109953, 1000 ± 0,002 g de Zn diluídas a 1000 mL com HNO₃ 2% (v/v). As soluções de referência foram preparadas a partir da diluição da solução estoque 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.

3.3. 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 planos de papel de filtro (Selecta, NR 589³, Lote 42082, Alemanha) de, aproximadamente, 20 mg e com 20 mm de diâmetro. Estes papéis filtro foram descontaminados por imersão em HNO₃ 10% (v/v) em banho de ultra-som por 20 minutos sendo, posteriormente, lavados com água e secos em estufa a 50 °C. Também foram feitos alguns testes com um papel gomado de cigarro da marca Colomy (Souza Cruz, contendo 50 folhas), que foi descontaminado da mesma maneira.

3.4. Sistema de decomposição proposto

Para o desenvolvimento do sistema proposto, foi feita uma adaptação no forno de microondas disponível comercialmente, *Multiwave 3000*[®] (Anton Paar). Colocou-se um dispositivo de quartzo, feito no laboratório, no interior do tubo de quartzo convencionalmente empregado no forno de microondas, servindo este como suporte para a amostra. Foram avaliados três modelos de suporte para a amostra, sendo que o escolhido ficava suspenso na parte superior do frasco de decomposição. A Fig. 18 mostra as principais partes do sistema com o modelo de suporte da amostra definitivo. Detalhes e dimensões dos suportes desenvolvidos para o sistema são mostrados na Fig. 19.

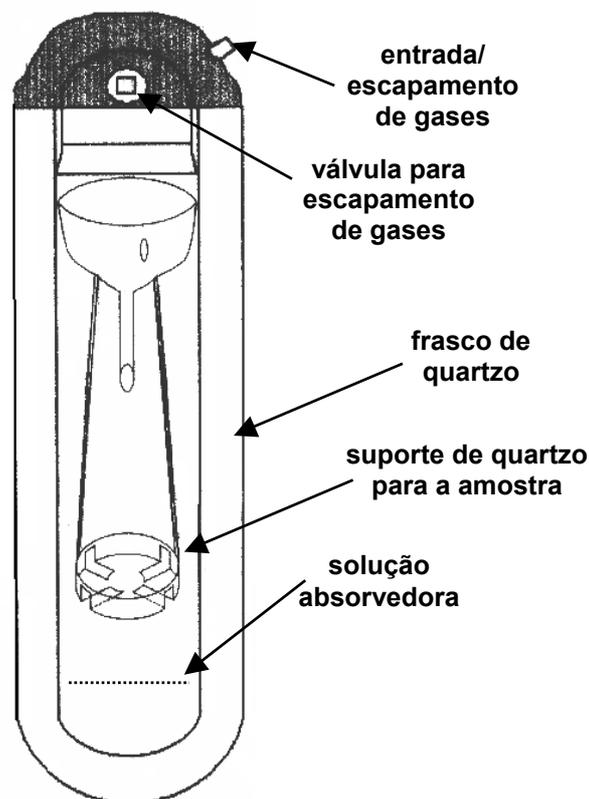


Figura 18. Sistema de decomposição por combustão iniciada por microondas proposto, com modelo definitivo do suporte da amostra.

Pode-se observar na Fig. 18 que o sistema é composto de um frasco de quartzo (diâmetro interno de 22 mm) com capacidade de 80 mL e uma tampa com vedação de PTFE. A tampa possui uma saída de gases (*syringe connector with O-ring*) para aliviar a pressão interna dos frascos antes de abri-los, que no caso dos

procedimentos de combustão, foi utilizada para a pressurização do sistema com oxigênio, e uma válvula de escapamento dos gases (*venting screw*) que regula a saída dos mesmos.

O volume, mínimo de 6 mL, de solução absorvedora é recomendado pelo fabricante do forno de microondas.⁷ Se forem utilizados volumes menores de ácidos, estes podem passar, completamente, para a fase gasosa durante o aquecimento. Neste caso, a energia das microondas pode interagir com as partes dos frascos, do rotor ou com a amostra. Podendo, desta forma, danificar ou destruir alguns componentes do equipamento ou, no caso da decomposição de amostras orgânicas, pode levar a auto-ignição ou danos causados pela pressão gerada nos frascos. Neste trabalho, foi utilizada como solução absorvedora dos gases produzidos durante a combustão, ácido nítrico, diluído ou concentrado e água.

A Fig. 19 mostra os modelos de suportes de quartzo desenvolvidos para utilização no sistema de combustão iniciada por microondas. Pode-se observar, Figs. 19 “a, b e c”, que os diâmetros dos suportes de quartzo são ligeiramente menores que o diâmetro interno do frasco (Fig.18). Nas Figs. 19 “a e b” os suportes se mantêm na posição vertical, sem que exista a necessidade de algum outro aparato. Estes suportes possuem uma alça do mesmo material que é utilizada para a colocação e remoção deste do interior do frasco de quartzo, com o auxílio de uma haste.

Na Fig. 19c pode-se observar que 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. Este suporte possui um orifício na parte superior que é utilizado para a colocação e remoção deste do interior do frasco, com o auxílio de uma haste. O suporte fica a uma distância de 5 cm do volume mínimo de solução absorvedora (6 mL) utilizado.

⁷ Anton Paar GmbH, *Multiwave 3000® microwave sample preparation system*, Plataforma sistem, Instruction Manual, Copyright®, Graz, Áustria (2002) seções 3.4.2 e 6.1.2

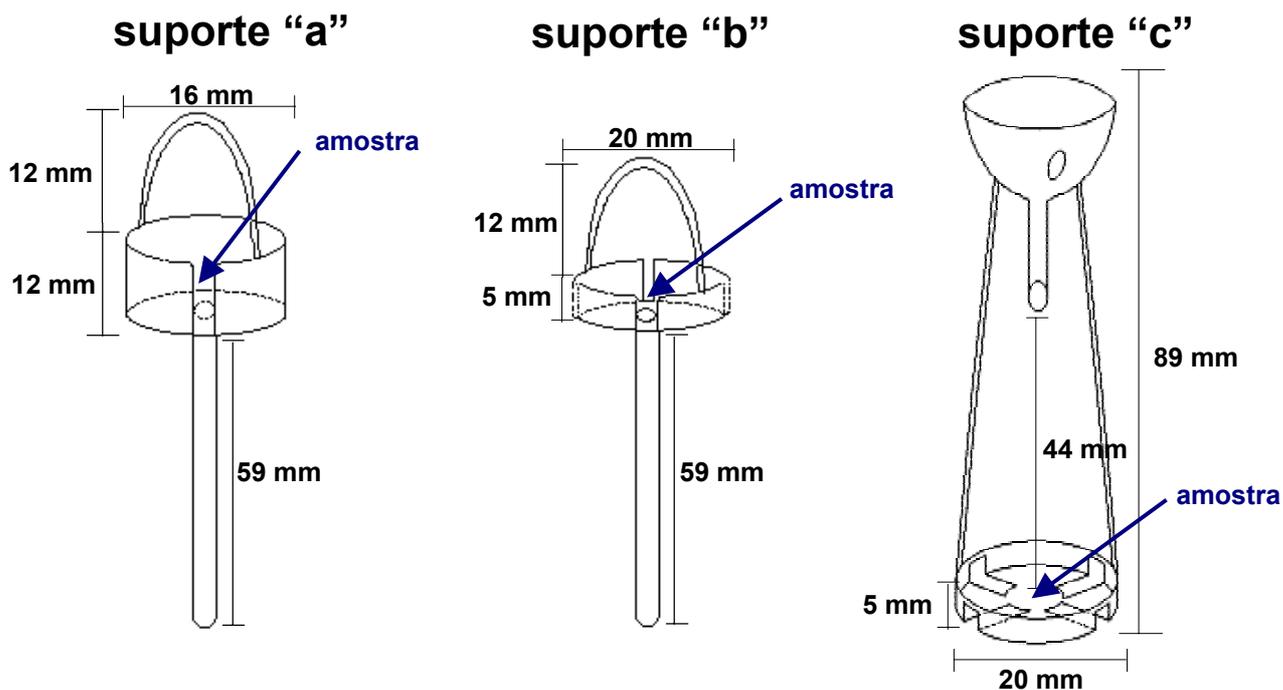


Figura 19. Suportes de quartzo utilizados no sistema de combustão iniciada por microondas, com indicação do local onde é colocada a amostra.

Foram preparados *pellets* das amostras de, aproximadamente, 12 mm de diâmetro (Fig. 20) que, posteriormente, eram pesados e colocados no suporte de quartzo, que continha um disco de papel de filtro (20 ± 5 mg) que cobria completamente a base do suporte. Imediatamente, após a colocação da amostra no suporte, era adicionado um volume conhecido da solução de NH_4NO_3 6 mol L^{-1} no papel de filtro e o suporte, com o auxílio de uma haste era, cuidadosamente, colocado no interior do frasco de quartzo. A haste utilizada (quartzo com a ponta de platina) foi especialmente desenvolvida para evitar possíveis contaminações.



Figura 20. Ilustração do formato dos *pellets* das amostras utilizados no sistema proposto.

Assim que o frasco de quartzo era fechado com o cuidado para que ficasse, completamente, vedado, este era colocado no rotor do forno de microondas e, posteriormente, pressurizado com oxigênio a uma pressão conhecida.

A pressurização do sistema foi feita inserindo-se uma ponteira de PTFE, feita especialmente para este sistema, no orifício de entrada/escapamento de gases, localizado na tampa do frasco de quartzo. Primeiramente, a válvula de escapamento dos gases era aberta e feita a pressurização no orifício de entrada/escapamento de gases (Fig. 21) durante, aproximadamente, 1 minuto, para garantir que o frasco atingisse a pressão interna desejada. Após este tempo, a válvula era fechada e a ponteira removida. As pressões de trabalho variaram de 5 a 15 bar. Logo após este procedimento, o rotor era levado ao forno e aplicado o programa selecionado para a combustão das amostras e, se necessário, uma etapa de refluxo era adicionada.

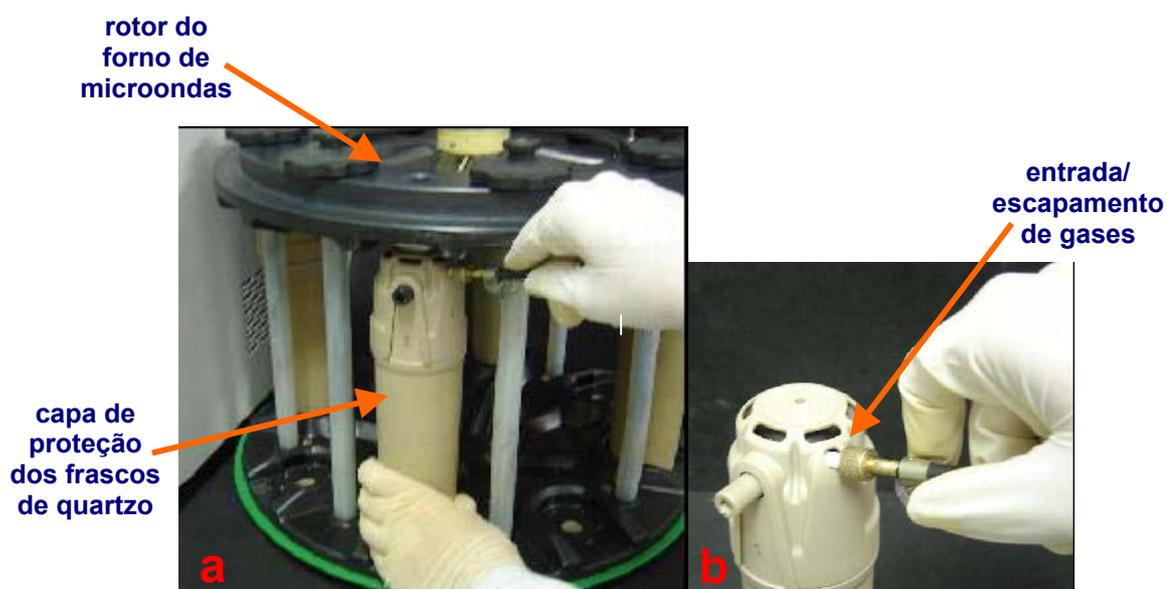


Figura 21. Ilustração do procedimento de pressurização do sistema de combustão iniciada por microondas. (a) Sistema de pressurização dos frascos, já fixados no rotor do forno. (b) Detalhe da tampa com orifício onde é feita a pressurização.

Ao término do programa de combustão, o rotor era removido do interior do forno de microondas e levado até uma capela de exaustão para ser feito o alívio da pressão interna dos frascos, através da válvula de escapamento dos gases. Este alívio da pressão era feito lentamente para que não houvesse projeção da solução absorvedora, bem como dos gases condensados na tampa, através do orifício de saída dos gases.

Assim que a pressão interna era completamente aliviada, removiam-se os frascos do rotor e antes que estes fossem abertos, era realizada uma lavagem das paredes dos frascos e, dos suportes da amostra. A lavagem era realizada com a própria solução absorvedora, para assegurar que os possíveis elementos presentes nos gases condensados, nas paredes dos frascos e nos suportes da amostra, fossem completamente absorvidos. Após esta etapa, a solução absorvedora era transferida para os frascos de polipropileno com água e aferidas a 25 mL, para posterior determinação.

3.5. Procedimentos de decomposição

3.5.1. Preparo das amostras

Foram empregados materiais de referência certificados (CRM) *Institute for Reference Materials and Measurements* – IRMM: BCR 63 - *milk powder*, e *National Institute of Standards and Technology* – NIST: 1577 - *bovine liver*, 1566a - *oyster tissue* e 1549 - *non fat milk powder*.

Adicionalmente, amostras de fígado bovino e leite em pó (integral e desnatado) foram obtidas no comércio local. As amostras de fígado foram, inicialmente, trituradas e secas em liofilizador a 10 °C, durante 48 horas. Posteriormente, as amostras foram moídas em gral de ágata e peneiradas até que toda a amostra apresentasse partículas com diâmetro inferior a 80 µm. Em seguida, as amostras foram secas em estufa a 60 °C, até massa constante, e armazenadas em frascos de vidro borossilicato, em dessecador, sob vácuo até o momento de uso. As amostras de leite em pó foram utilizadas *in natura*, com a granulometria original e sem secagem prévia.

Para as decomposições por combustão assistida por microondas, as amostras e materiais de referência certificados foram prensadas na forma de *pellets* de aproximadamente 12 mm de diâmetro e massas variando de 50 a 400 mg (Fig. 20, item 3.4 – *Materiais e Métodos*).

3.5.2. Decomposição por combustão assistida por microondas

Foram pesados cerca de 100 mg de amostra de fígado bovino, leite em pó (desnatado e integral) ou de CRMs, as quais já estavam na forma de *pellets*. Após, foram adicionados 50 μL do iniciador de combustão (NH_4NO_3 6 mol L^{-1}) no papel filtro. O sistema foi fechado e pressurizado com oxigênio por, aproximadamente, 1 minuto. Como solução absorvedora foram testados HNO_3 concentrado, HNO_3 diluído e água. O sistema foi colocado no forno de microondas e aquecido em intervalos de tempos que variaram entre 30 segundos e 20 minutos na potência máxima de 1400 W. Após resfriamento, as amostras foram aferidas a 25 mL com água e, posteriormente, executada a determinação de Cu e Zn.

O programa original do forno de microondas foi modificado, previamente, para a versão v1.27-SYNT que possibilita a variação na taxa de aumento de pressão variando de 0,1 a 3 bar s^{-1} . Esta taxa pode ser modificada de acordo com a necessidade do procedimento de decomposição. A adequação da taxa de aumento de pressão permite maior segurança aos procedimentos de decomposição. De acordo com o aumento da pressão durante o procedimento, se a taxa selecionada for excedida, a irradiação de microondas é interrompida e o sistema de refrigeração é acionado, voltando a irradiar as microondas assim que esta taxa é normalizada.

O sistema de decomposição foi desenvolvido com a utilização de quatro frascos de quartzo, para uma maior agilidade do processo. Normalmente, utilizou-se a taxa aumento de pressão de 3 bar s^{-1} , durante os procedimentos de combustão, para garantir um tempo maior de irradiação de microondas nas amostras.

3.5.3. Decomposição convencional assistida por microondas

Para comparação com o procedimento de combustão iniciada por microondas proposto, as amostras investigadas e CRMs foram decompostos no forno de microondas de acordo com o procedimento recomendado pelo fabricante.

Cerca de 150 mg de amostra de fígado bovino, assim como de CRM de fígado bovino (NIST-1577), foram transferidas para o frasco de quartzo do forno de microondas, adicionando-se posteriormente, 2 mL de HNO_3 concentrado, 4 mL de H_2O_2 e 0,5 mL de HCl concentrado. O sistema, após fechamento adequado, foi

colocado no interior do forno de microondas sendo submetido ao programa de aquecimento mostrado na Tabela 1.

Para as amostras de leite em pó (integral e desnatado) e CRMs, de leite em pó (BCR-63) e de leite em pó desnatado (NIST-1549), cerca de 200 mg de amostra foram transferidas para os frascos de quartzo adicionando-se a seguir 6 mL de HNO₃ concentrado. Utilizou-se o mesmo programa de decomposição das amostras de fígado bovino (Tabela 1) devido à ausência de recomendações do fabricante para decomposição destas amostras nos frascos de quartzo.

Após arrefecimento, as amostras foram transferidas para frascos de polipropileno de 50 mL e aferidas a 25 mL com água.

Todos os testes, para o desenvolvimento do procedimento de combustão, foram feitos com as amostras comerciais cujos valores de Cu e Zn foram, previamente, determinados após decomposição por via úmida, em sistema fechado de acordo com as recomendações do fabricante. Estas determinações prévias foram feitas com o intuito de economizar o material de referência certificado, e estes foram utilizados somente nos testes finais, com o procedimento desenvolvido, para a avaliação da exatidão do procedimento.

Tabela 1. Programa do forno de microondas para decomposição das amostras.

Etapa	Potência (W)	Rampa (min.)	Tempo (min.)	Ventilação
1	1400	5	30	1
2	0	0	20	2

Taxa de aumento de pressão: 0,5 bar s⁻¹, temperatura máx.: 280 °C e pressão máx.: 80 bar

3.5.4. Decomposição em sistema aberto - Bloco Digestor

Foram pesados, aproximadamente, 500 mg de amostra comerciais de fígado bovino e de leite em pó integral e desnatado. Estas amostras foram transferidas para os tubos de decomposição do bloco digestor e foram adicionados 4,5 mL de HNO₃ concentrado e 500 µL de H₂O₂. As amostras ficaram sob refluxo por 2 h a 150 °C e, logo após este período de refluxo, as amostras foram removidas do bloco para o resfriamento. Quando as amostras já estavam frias foram adicionados 500 µL de HClO₄, pois ocorreu a formação de uma fina camada branca (sobrenadante) na

solução decomposta, indicando que a decomposição não havia sido completa. Então, colocaram-se as amostras sob refluxo com HClO_4 por mais 1,5 h a 200 °C. Após arrefecimento, as amostras foram transferidas para frascos de polipropileno de 50 mL e aferidas a 25 mL com água.

3.6. Calibração do forno de microondas

Inicialmente, o forno de microondas foi calibrado para assegurar a potência real irradiada durante o desenvolvimento deste trabalho. Após o procedimento de calibração, o equipamento é auto-ajustado para a potência real selecionada.

A calibração do forno de microondas foi feita conforme recomendações do fabricante⁷ e este procedimento foi realizado mensalmente. Assim, pesou-se 1000 g de água em um béquer de vidro (\varnothing 180 mm) à temperatura ambiente (em torno de 25 °C) e mediu-se a temperatura inicial. A seguir, o béquer foi colocado no centro do forno e a água foi aquecida por 60 segundos à 1000 W, medindo-se, imediatamente, a temperatura atingida pela água. Após a remoção do béquer do forno, a água era agitada para melhor homogeneidade da temperatura. A potência total irradiada foi calculada diretamente no *software* do forno de microondas e o fator de correção foi adicionado ao programa do mesmo.

3.7. Determinação do tempo de combustão

Para a observação do início da combustão e do tempo que a amostra permanecia queimando, foi feita uma alteração no programa de calibração do forno de microondas (conforme item 3.6–*Materiais e Métodos*). Desta forma, 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. Assim, em substituição do béquer utilizado para a calibração do forno, foi colocado o rotor contendo quatro frascos de quartzo, sendo um deles com um corte frontal no recipiente plástico de proteção (Fig. 22). Este frasco, no qual foi colocada a amostra a ser queimada, foi posicionado em frente da porta do forno, para que pudesse ser

⁷ Anton Paar GmbH, *Multiwave 3000® microwave sample preparation system*, Plataforma sistem, Instruction Manual, Copyright®, Graz, Áustria (2002) seções 3.4.2 e 6.1.2

visualizada a queima (seu início, desenvolvimento e término) através da janela de vidro. Nesta etapa a potência máxima irradiada foi de 1000 W, porém apenas durante o tempo necessário para a ignição da amostra, quando a irradiação era interrompida.

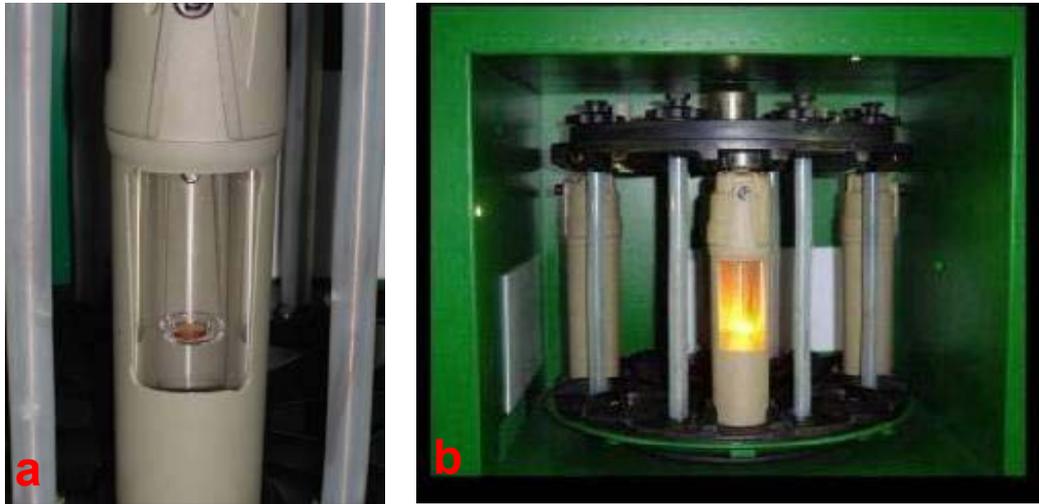


Figura 22. Proteção do frasco de quartzo com corte frontal para visualização do processo de combustão da amostra (a) e ilustração da visualização do processo de combustão (b).

O procedimento descrito acima, embora mais adequado para a observação da combustão e evolução dos gases, não é recomendado pelo fabricante em vista de aspectos de segurança por ser feita uma modificação da proteção plástica original. Desta forma, após alguns testes iniciais, optou-se por acompanhar o início da combustão pelo aumento na taxa de pressão, através da utilização do programa de decomposição, que foi adaptado para os procedimentos de combustão. Para executar este procedimento, não é necessário fazer nenhuma alteração do suporte, tubos, etc, ou do programa de aquecimento. Assim, não é necessário trabalhar com os frascos de quartzo desprotegidos, como no procedimento anteriormente descrito, permitindo assim, que os testes sejam executados com maior segurança.

Para estes testes, o valor da taxa de aumento de pressão foi mantido em $0,8 \text{ bar s}^{-1}$, para uma melhor observação no mostrador do forno de microondas que, através de sensores, permite acompanhar as variações de pressão e temperatura no interior dos frascos. Estas alterações mostram o momento em que ocorre um pico de

pressão que, neste caso, é o momento em que a reação de combustão atinge um aumento de pressão superior a $0,8 \text{ bar s}^{-1}$.

Uma discussão adicional acerca da emissão de luz e do aumento de pressão relacionado aos processos de queima é abordada no item 2.2.4 - *Revisão da literatura*.

3.8. Determinação da acidez final

A acidez da solução, obtida após a decomposição do fígado bovino e do leite em pó por diferentes procedimentos, foi determinada através de titulação potenciométrica com NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em potenciômetro digital equipado com eletrodo combinado Ag/AgCl, eletrodo de referência saturado com KCl e um eletrodo indicador.

3.9. Determinação do teor de carbono residual

A determinação do teor de carbono orgânico residual foi feita em espectrômetro de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado ICP OES conforme procedimento descrito por Gouveia *et al.*⁷⁰. As determinações foram efetuadas em 193,027 nm e 247,857 nm. A curva analítica foi construída, com soluções de referência de 0,05, 0,10 e 0,25% m/v C preparados com HNO₃ $1,4 \text{ mol L}^{-1}$, a partir da diluição de uma solução aquosa de uréia, correspondendo a de 5% de carbono. Em todas as soluções e amostras, foi adicionado um padrão interno de trítio de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$.

⁷⁰ GOUVEIA, S.T.; SILVA, F.V.; COSTA, L.M.; NOGUEIRA, A.R.A.; NÓBREGA, J.A., *Anal. Chim. Acta* 445 (2001) 269-275

4. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

4.1. Calibração do forno de microondas

Para a determinação da potência total irradiada no interior do forno de microondas empregado neste trabalho foi feita, inicialmente, sua calibração, calculando-se a potência com base no aquecimento de uma massa conhecida de água colocada no interior do forno (ver item 3.6 - *Materiais e Métodos*). A potência real calculada foi de 942 ± 19 W, correspondendo a 94,2% da potência nominal utilizada para a calibração (1000 W). A potência foi corrigida pelo equipamento e os valores referentes aos testes de calibração realizados posteriormente, não apresentaram variação superior a 1% do valor nominal.

4.2. Desenvolvimento do suporte de quartzo

Quartzo foi escolhido como material para confecção do suporte da amostra no procedimento de combustão proposto, devido a elevada temperatura atingida durante a combustão. Em trabalho prévio, em¹² que foram testados suportes de vidro, foi relatado que ocorriam deformações dos mesmos, causadas pela temperatura elevada do processo de combustão.

Foram avaliados três modelos de suportes de quartzo (Fig. 19, item 3.4- *Materiais e Métodos*) para utilização no sistema de combustão iniciada por microondas. Primeiramente, buscou-se utilizar um suporte, com o qual fosse possível trabalhar com a amostra em forma de pó. Então, foi construído um suporte de quartzo com 16 mm de diâmetro interno, 12 mm de altura, com fenda lateral de 2 mm e com 59 mm de comprimento (Fig. 19, suporte "a"). Com este modelo de suporte a amostra era colocada dentro de um envoltório de papel filtro com o mesmo formato do suporte. Entretanto, houve dificuldades em pressurizar o sistema desta

¹² BARIN, J.S., Dissertação de mestrado, Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Farmacêutica, UFSM, Santa Maria/RS, 2003

forma, pois a amostra era projetada do suporte para as paredes do frasco de quartzo. Não foi possível enrolar a amostra com papel de filtro, pois este se tornou bastante quebradiço após a descontaminação com ácido nítrico. Logo após esta tentativa, as amostras foram prensadas na forma de *pellets* e o mesmo suporte foi utilizado, mas ocorreu o problema de formação de fuligem nas paredes do suporte. Provavelmente, este fato tenha ocorrido devido a uma grande superfície de quartzo em contato com a chama durante a combustão da amostra (Formação de Fuligem, item 2.6.2-*Revisão da Literatura*). Existiu então, a necessidade de modificar o suporte da amostra para que uma menor massa de quartzo ficasse em contato com a chama. Tentou-se, então, um modelo com mais três ranhuras (Fig. 19, suporte “b”) para que durante o processo de refluxo a solução escoasse melhor, e com as paredes mais baixas para evitar o contato com a chama. Com este modelo o problema de formação de fuligem foi resolvido, mas o suporte era muito frágil e durante a lavagem do frasco, com a própria solução absorvedora, o suporte quebrava com muita facilidade, pois este ficava solto dentro do frasco de quartzo.

Assim, foi desenvolvido um terceiro modelo de suporte (Fig. 19, suporte “c”), o qual fica suspenso na parte superior do frasco de quartzo e que possui uma espécie de “funil”, na sua extremidade superior. Este “funil” auxilia no processo de refluxo da solução e, também, protege a tampa de PTFE do frasco de quartzo de possíveis danos causados pela queima de amostras voláteis ou de uma grande quantidade de amostra. Foram feitos alguns testes com o suporte “c”, e verificou-se que este é mais adequado para o uso nos procedimentos de combustão devido a sua maior operacionalidade. Além disso, não foram observadas alterações durante a combustão das amostras, pois a base, compartimento onde fica a amostra, do suporte “c” é idêntica a do suporte “b”. Cabe salientar que para os suportes “b” e “c”, os resultados obtidos para a combustão foram bastante semelhantes. Entretanto, quando foi realizada a etapa de refluxo, após a combustão, o suporte “c” mostrou-se mais eficiente, devido ao seu formato que proporciona um gotejamento no centro da sua base. Desta forma, optou-se por utilizar o suporte “c” para todos os testes de combustão iniciada por microondas.

Mesmo não medindo a temperatura atingida pela chama no interior do frasco durante a combustão, pode-se dizer que uma temperatura maior que 560 °C,¹⁴⁵ seja atingida, pois apesar de o processo de combustão ocorrer em pouco tempo

¹⁴⁵ PFAENDER, H.G.; SCHRÖDER, H., Schott Glaslexikon, Moderne Verlagsgesellschaft mbH (1989) 101-102

(tipicamente em torno de 8 s), este ocasiona a deformação do vidro como observado em trabalho anterior.¹² Esta deformação serviu, portanto, como um indicativo da temperatura atingida. Da mesma forma, pode-se dizer que a temperatura não deve ultrapassar 1600 °C, pois não foi observada a deformação do suporte de quartzo.¹⁴⁵⁻¹⁵⁸ Apenas como comparativo da temperatura atingida, Schöniger¹⁵⁹ avaliou a temperatura da queima de papel filtro e metilcelulose em frasco de combustão proposto pelo mesmo autor. Para o primeiro, temperaturas em torno de 1000 °C foram encontradas e, para o segundo, temperaturas de, até, 1200 °C.

Algumas medidas da temperatura durante a combustão, para as amostras estudadas, foram feitas empregando-se um pirômetro óptico Ultimax® Infrared Thermometer (mod. UX-20/600 ~ 3000 °C, Ircon, USA). Os resultados obtidos foram concordantes com a suposição acima e temperaturas máximas entre 1200 e 1500 °C foram observadas com o sistema proposto. Mais detalhes são apresentados no item 4.8.

4.3. Otimização do sistema proposto

4.3.1. Determinação da concentração de elementos traço no papel utilizado no processo de combustão

Para evitar possíveis contaminações empregando o sistema de combustão iniciada por microondas, determinou-se, previamente, a concentração de alguns elementos nos papéis que seriam utilizados. A decomposição do papel filtro de baixa cinza e do papel de cigarro (Colomy), foi feita com 6 mL de HNO₃ concentrado no forno de microondas com 10 minutos de irradiação à 1400 W de potência. Para estes testes, os papéis utilizados não foram descontaminados previamente. As concentrações dos elementos determinados por ICP OES são mostradas na Tabela 2.

Optou-se por trabalhar com o papel filtro, descontaminado conforme procedimento do item 3.3 (*Materiais e Métodos*), como suporte da amostra e

¹² BARIN, J.S., Dissertação de mestrado, Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Farmacêutica, UFSM, Santa Maria/RS, 2003

¹⁴⁵ PFAENDER, H.G.; SCHRÖDER, H., Schott Glaslexikon, Moderne Verlagsgesellschaft mbH (1989) 101-102

¹⁵⁸ SCHOLZE, H., Glas Natur, Struktur und Eigenschaften, Springer-Verlag (1988) 121

¹⁵⁹ SCHÖNIGER, W., *Fresenius Z. Anal. Chem.* 181(1961) 28-39

combustível para o sistema, devido a concentrações mais baixas de vários elementos, quando comparado com o papel de cigarro, como pode ser observado na Tabela 2. Cabe ressaltar que a massa de papel filtro utilizada no sistema proposto é da ordem de 20 mg o que não aumenta, consideravelmente, os valores para os brancos.

Tabela 2. Valores encontrados para os elementos Al, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb, Zn e Cd, nos papéis filtro e de cigarro, sem prévia descontaminação.*

Elemento	Papel filtro ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Papel de cigarro ($\mu\text{g g}^{-1}$)
Al	12,3 \pm 0,1	27,7 \pm 0,9
Cr	0,25 \pm 0,01	0,85 \pm 0,07
Cu	1,44 \pm 0,07	5,55 \pm 0,04
Mn	0,08 \pm 0,01	1,91 \pm 0,01
Ni	0,61 \pm 0,15	0,81 \pm 0,05
Pb	0,99 \pm 0,03	2,10 \pm 0,31
Zn	1,15 \pm 0,01	4,67 \pm 0,09
Cd	0,06 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01

*Determinações feitas por ICP OES(n=3)

4.3.2. Volume do iniciador da combustão - Nitrato de amônio

Realizou-se um estudo para a verificação do volume mais adequado do iniciador de combustão da amostra de fígado bovino. Apesar de terem sido realizados estudos prévios¹² com relação ao iniciador da combustão mais adequado e seus volumes, estes estudos foram feitos utilizando papel de cigarro como auxiliar de combustão. Sendo assim, foi mantido o iniciador de combustão NH_4NO_3 e a concentração de 6 mol L^{-1} , mas foram testados os volumes do iniciador, pois neste trabalho utilizou-se papel de filtro como suporte da amostra. Para estes testes foi variado o volume de NH_4NO_3 e as demais condições foram mantidas como, p.ex., a massa de amostra, massa de papel, pressão de oxigênio, etc. O volume de NH_4NO_3 foi variado de 10 a 100 μL . Observou-se que, de todos volumes de iniciador testados, com 50 μL de NH_4NO_3 , a ignição da amostra sempre ocorreu (n=5). Já

¹² BARIN, J.S., Dissertação de mestrado, Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Farmacêutica, UFSM, Santa Maria/RS, 2003

para volumes de 10 e 100 μL , por exemplo, a ignição da amostra não ocorreu, no mínimo, em 2 de cada 5 tentativas.

4.3.3. Determinação dos tempos de ignição, combustão e das pressões máximas atingidas no sistema

Com o fim de se avaliar o comportamento do processo de combustão iniciada por microondas, foram realizados alguns testes prévios utilizando amostras comerciais de fígado bovino. Foram observados o tempo de início da combustão, os tempos de queima e as variações nas pressões máximas atingidas. Estes comportamentos podem ser observados nas Tabelas 3, 4 e 5. A Tabela 3 mostra o tempo em que ocorreu a ignição e quanto tempo durou a combustão de diferentes massas de amostra. Estas observações foram feitas visualmente, de acordo com as modificações feitas na proteção do frasco de quartzo e no programa do forno de microondas, conforme descrito no item 3.7 - *Materiais e Métodos*.

Tabela 3. Tempo de ignição e tempo total de combustão para diferentes massas de amostra, com pressão inicial de oxigênio de 15 bar (foi considerado $t=0$ o momento em que iniciava a irradiação com microondas).

Massa de amostra (mg)	Início da combustão (s)	Final da combustão (s)	Tempo de combustão (s)
50	3	10	7
100	2	12	10
200	3	21	18
300	2	22	20
400	2	34	32

Para todos os testes foram empregados 50 μL de NH_4NO_3 , 30 s de irradiação de microondas à 1000 W, 6 mL de HNO_3 conc.

De acordo com a Tabela 3 pode-se observar que o aumento da massa de amostra praticamente não altera o tempo de ignição. Entretanto, o tempo total de combustão é modificado, pois quando é aumentada a massa de amostra o tempo total da combustão aumenta em proporção semelhante. Em todos os casos foi possível fazer a observação do tempo em que os gases gerados no processo de combustão eram absorvidos pela solução absorvedora. Para todos os casos, independentemente da massa de amostra, o tempo situou-se entre 5 e 8 min

quando HNO₃ concentrado foi utilizado como solução absorvedora. Quando água foi empregada como solução absorvedora os gases foram absorvidos em aproximadamente 10 minutos.

As Tabelas 4 e 5 mostram o momento em que ocorre a ignição da amostra. Esta observação foi feita de acordo com o procedimento descrito no item 3.7 (Materiais e Métodos). O aumento de pressão é monitorado pelo sensor do sistema de segurança do forno de microondas. A queima total, para massas de amostra de 50 a 100 mg, ocorre em alguns segundos (tipicamente de 6 a 11 s), conforme foi observado nos testes com um corte na proteção plástica em que se pode visualizar o início da combustão. Um comportamento semelhante também foi relatado em trabalho anterior com a queima de estearato de magnésio, empregando-se um frasco de PTFE.¹² Não foi possível distinguir com exatidão a diferença de tempo entre o início da reação (etapa lenta) e o aumento de pressão, porém esta diferença foi inferior a 1 s. Portanto, pode-se dizer que o início da reação de combustão ocorreu, praticamente, no instante em que é registrado o pico de pressão. Uma vez atingida a pressão máxima, esta diminui rapidamente, pois ocorre um equilíbrio entre as fases gasosa e líquida. Os gases produzidos na reação são absorvidos pela solução, permanecendo em equilíbrio com a solução absorvedora: $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$

Na Tabela 4 são mostradas as variações das pressões máximas atingidas pelo sistema para 50 mg de fígado bovino, quando diferentes pressões iniciais de oxigênio são utilizadas. A Tabela 4, também mostra o momento da ignição da amostra para diferentes pressões iniciais.

Tabela 4. Variação da pressão máxima atingida pelo sistema e o início da combustão para 50 mg de fígado bovino, com diferentes pressões iniciais de oxigênio.

Pressão inicial (bar)	Pressão máxima (bar)	Início da Combustão (s)
5	12,1 ± 0,9	3
10	17,5 ± 1,1	3
15	22,9 ± 1,3	3

Para todos os testes foram empregados 50 µL de NH₄NO₃, 30 s de irradiação de microondas à 1400 W, 6 mL de HNO₃ conc., n≥3.

¹² BARIN, J.S., Dissertação de mestrado, Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Farmacêutica, UFSM, Santa Maria/RS, 2003

O incremento de pressão (diferença entre a pressão inicial e a pressão máxima atingida pelo sistema) foi de, praticamente, 8 bar para todos os casos, como pode ser observado na Tabela 4. Este aumento pode estar relacionado com produção de gases de acordo com a massa de amostra que foi queimada. Também pode ser observado na Tabela 4 que a ignição da amostra ocorreu em 3 s para todos os casos, independentemente da pressão inicial do sistema para 50 mg de amostra. A Tabela 5 mostra a variação na pressão máxima atingida pelo sistema e o início da combustão para diferentes massas de fígado bovino com 15 bar de pressão inicial.

Tabela 5. Variação na pressão máxima atingida pelo sistema e o início da combustão, para diferentes massas de fígado bovino, com 15 bar de pressão inicial.

Massa de amostra (mg)	Pressão máxima (bar)	Variação na pressão	Início da combustão (s)
50	22,9 ± 1,3	7,9 ± 1,3	3
100	25,1 ± 0,9	10,1 ± 0,9	3
150	26,3 ± 1,1	11,3 ± 1,1	3
200	27,1 ± 0,8	12,1 ± 0,8	3
250	28,6 ± 1,4	13,6 ± 1,4	3
300	30,7 ± 1,7	15,7 ± 1,7	3

Para todos os testes foram empregados 50 µL de NH₄NO₃, 30 s de irradiação de microondas à 1400 W, 6 mL de HNO₃ conc., n≥3.

Como pode ser observado nas Tabelas 4 e 5, mesmo com as modificações das pressões iniciais do sistema e das massas de amostra de fígado bovino, os tempos de ignição mantiveram-se em 3 s após a irradiação de microondas ter sido iniciada. Sob estas condições (pressão inicial de O₂= 15 bar), pode-se observar que as pressões máximas atingidas pelo sistema variaram de 23 bar para 30 bar, com 50 e 300 mg, respectivamente. Como a pressão máxima atingida durante a combustão, nestes testes foi de 25 bar para 100 mg de amostra, a pressão inicial de oxigênio para os testes posteriores foi mantida em 15 bar. Sob estas condições de operação do sistema pode-se trabalhar com máxima de segurança, já que nos frascos de quartzo as pressões de trabalho são de até 80 bar. Estes parâmetros foram importantes para assegurar a ignição do papel e da amostra com uma boa reprodutibilidade.

Estudo semelhante foi realizado para as amostras de leite em pó, integral e desnatado, onde os tempos de ignição mantiveram-se em 3 s após a irradiação com

microondas ter sido iniciada (pressão inicial de 15 bar). Um comportamento semelhante também foi observado para estas amostras com relação ao aumento de pressão, apresentando uma variação inferior a 5% com relação às amostras de fígado bovino.

Também se pode observar na Tabela 5 que a variação na pressão do sistema aumentou com o incremento da massa de amostra. Este fato poderia ser relacionado com o tempo que a amostra permaneceria queimando e os gases iriam sendo absorvidos pela solução já que, para 100 mg de amostra, o tempo de queima foi em torno de 10 s (Tabela 3). Entretanto, não foi possível fazer o acompanhamento das pressões atingidas pelo sistema com a variação das massas de amostra, paralelamente com o acompanhamento visual da ignição e do tempo total da combustão. Para o acompanhamento da pressão o rotor deve estar montado com a cobertura de proteção. Contudo, nos testes onde foi possível a visualização da ignição da amostra, também, foi observado que os gases produzidos pela combustão levavam em média de 5 a 10 minutos para serem absorvidos pela solução.

4.3.4. Influência na formação de fuligem

Foi observado que quando eram queimados 50 mg de amostra (5 bar de pressão inicial, 30 s de irradiação, 1400 W de potência), ocorria a formação de fuligem nas paredes do suporte “a” de quartzo (Fig. 19, item 3.4 – *Materiais e Métodos*). Entretanto, o mesmo não foi observado quando as mesmas condições eram mantidas e a pressão do sistema era aumentada para 15 bar. Normalmente, as chamas ricas em combustíveis tendem a produzir carbono no estado sólido. Esta formação causa uma coloração amarela intensa característica de tais chamas, podendo haver a formação de partículas de carbono sólido (fuligem) que podem se depositar nas superfícies mais frias.¹⁴ Estas observações estão, freqüentemente, relacionadas com os processo de combustão de gases. Entretanto, o mesmo aspecto foi observado durante o processo de combustão de amostras sólidas. Mesmo que o mecanismo ainda não esteja completamente elucidado para estes

¹⁴ BARNARD, J.A.; BRADLEY, J.N., *Flame and Combustion*, 2nd ed., Chapman and Hall New York (1985) 3, 4, 132-136, 163, 172, 173, 184-186, 202

processos, foi observado que, mesmo quando se utiliza um excesso de oxidante (oxigênio) no sistema, ocorre a formação de uma chama com coloração amarela e, também, pode ocorrer a formação de fuligem quando uma superfície fria estiver próxima à chama. Esta coloração da chama pode estar relacionada com o fato de existir pouca superfície de contato entre o oxidante e o combustível (no caso, do *pellet* da amostra com o oxigênio). Porém a coloração da chama não pode somente ser relacionada à formação de carbono sólido, pois estas amostras contêm elevadas concentrações de sódio (em torno de 0,24% para fígado bovino) o que também, ocasiona uma chama de coloração amarela. Estas observações influenciaram fortemente no desenvolvimento do suporte para a amostra, pois, desta forma, foi estabelecido que este deveria ter a menor superfície de contato possível com a chama durante o processo de combustão para evitar a formação de fuligem.

Posteriormente, verificou-se que com o sistema proposto com a utilização do suporte “c” (Fig. 19, item 3.4 – *Materiais e Métodos*), foi possível queimar até 400 mg de amostra, com 15 bar de pressão, sem que ocorresse a formação de fuligem, ou que ficasse resíduo da amostra no suporte.

4.4. Determinação de Cu e Zn em amostras comerciais de fígado bovino e leite em pó integral e desnatado

Primeiramente fez-se a determinação prévia de cobre e zinco nas amostras de fígado bovino e leite em pó integral e desnatado. Estas amostras foram utilizadas posteriormente nos estudos para as melhores condições de decomposição por combustão iniciada por microondas. Desta forma, minimizou-se a utilização de CRMs para estes testes, o que é de grande interesse devido ao seu custo elevado.

As amostras foram decompostas no bloco digestor e no forno de microondas *Multiwave 3000*[®], conforme descrito nos itens 3.5.3 e 3.5.4 – *Materiais e Métodos*. As amostras de fígado bovino e leite em pó foram utilizadas após, adequada preparação, conforme descrito no item 3.5.1 - *Materiais e Métodos*. As concentrações médias de Cu e Zn encontrados para estas amostras são mostrados na Tabela 6.

Tabela 6. Valores médios, em $\mu\text{g g}^{-1}$, para Cu e Zn (determinação por FAAS) em amostras de fígado bovino e leite em pó integral e desnatado; n=6, para cada valor.

Amostra	Valor médio (bloco digestor e sistema fechado com radiação microondas)	
	Cu	Zn
NIST-1577 (<i>bovine liver</i>)	$191,3 \pm 7,6^*$	$131 \pm 3,2^*$
Fígado bovino	$76,1 \pm 2,4$	$110,6 \pm 1,8$
Leite em pó integral	$< 2,3^{**}$	$36,4 \pm 1,9$
Leite em pó desnatado	$< 2,3^{**}$	$44,3 \pm 1,5$

*valor certificado (NIST-1577) para Cu = $193 \pm 10 \mu\text{g g}^{-1}$ e para Zn = $130 \pm 13 \mu\text{g g}^{-1}$

** LQ = $2,3 \mu\text{g g}^{-1}$

Os valores encontrados para cada sistema (bloco digestor e sistema com aquecimento por radiação microondas) foram comparados de maneira independente com os certificados para estas amostras. Como não houve diferença significativa ($P=0,05$) entre os valores encontrados e os valores certificados calculou-se a média destas concentrações e o valor médio empregado para os ensaios subseqüentes.

4.5. Otimização do procedimento para a determinação de Cu e Zn em amostras biológicas

Para a otimização das melhores condições para o procedimento de combustão das amostras de fígado bovino e de leite em pó, primeiramente, fez-se uma avaliação da influência do tempo de refluxo com ácido nítrico concentrado. Adicionalmente, amostras de tecido de ostras também foram empregadas (NIST 1566a). Pode-se observar na Fig. 23 que, a partir de 5 minutos de refluxo, todos os valores para Cu e Zn foram próximos de 100% de concordância com os valores do CRM para fígado bovino (NIST-1577) e com os da amostra de fígado bovino comercial (concentrações de Cu e Zn são informadas na Tabela 6). Sendo assim, para estudos posteriores foi feita uma avaliação apenas da combustão e da combustão seguida da etapa de 5 minutos de refluxo, não havendo a necessidade da utilização de tempos maiores de refluxo para estes elementos nestas amostras. Cabe salientar que as otimizações do procedimento de combustão proposto foram

feitas com a amostra de fígado bovino, com o objetivo de utilizar o mínimo possível de material de referência certificado. Entretanto, para evitar possíveis problemas causados pela amostragem e homogeneidade da amostra, para todos os testes ao menos uma das repetições foi feita com material de referência certificado, para a verificação da concordância dos valores obtidos.

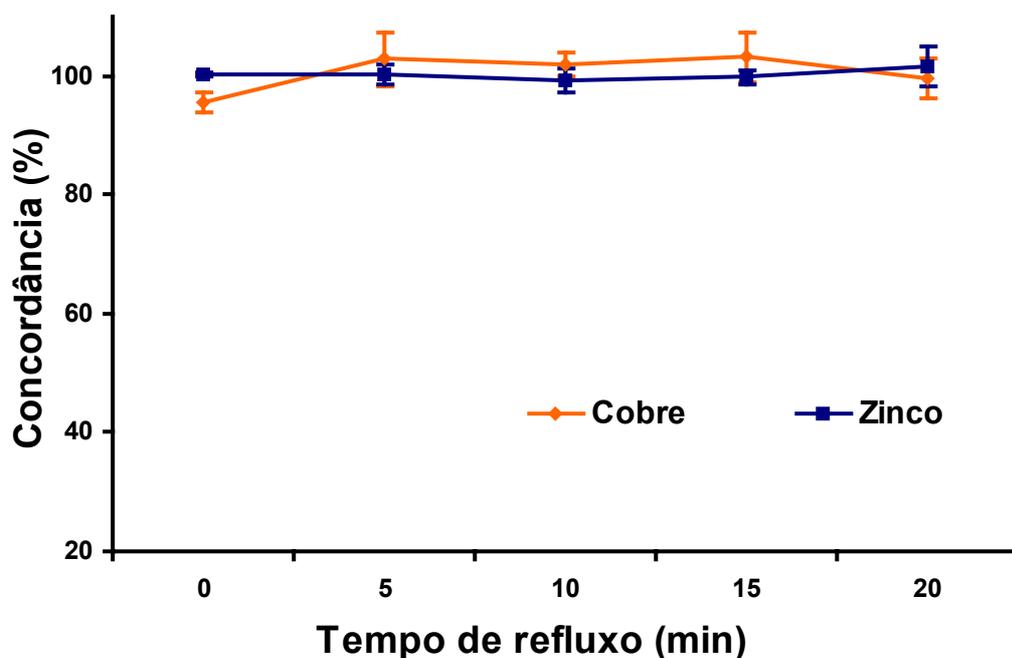


Figura 23. Concordância com os valores certificados para Cu e Zn e efeito do tempo de refluxo, após a combustão de amostra de fígado bovino. Para todos os testes foram empregados 100 mg de amostra, 50 μL de NH_4NO_3 , potência = 1400 W, 6 mL de HNO_3 conc., $n \geq 3$.

Investigou-se, a seguir, a influência da concentração do ácido nítrico como solução absorvedora para Cu e Zn, após a combustão, com 5 minutos de refluxo, da amostra de fígado bovino e do CRM (NIST-1577). Pode-se observar, Fig. 24, que as concordâncias com os valores certificados foram próximas de 100% , tanto para Cu quanto para Zn, com concentrações superiores a 2 mol L^{-1} de ácido nítrico. Contudo, para concentrações inferiores de ácido nítrico ou, mesmo, com água como solução absorvedora, os resultados foram menores para Cu.

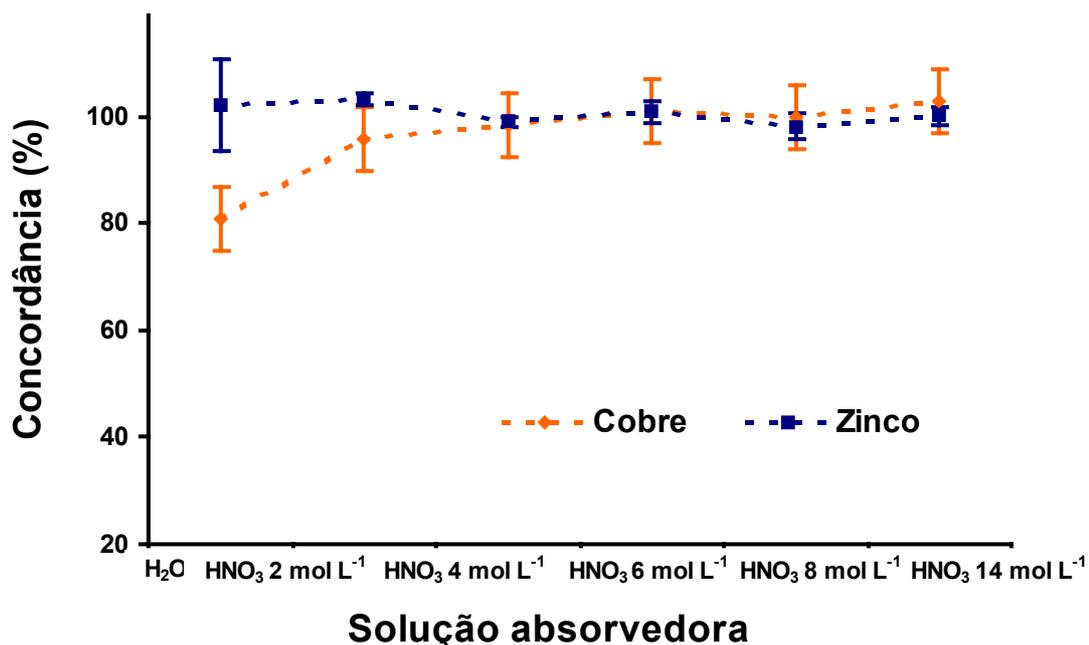


Figura 24. Concordância com os valores certificados para Cu e Zn e efeito da concentração de HNO₃, após combustão com 5 min de refluxo, de amostra de fígado bovino. Para todos os testes foram empregados, 100 mg de amostra, 50 μL de NH₄NO₃, potência = 1400 W, 6 mL de solução absorvedora, n≥3.

Com base nos resultados da influência do tempo de refluxo e da concentração de ácido nítrico como solução absorvedora para Cu e Zn (Figs. 23 e 24), foram fixados para os estudos posteriores duas condições: somente combustão e combustão seguida de 5 minutos de refluxo. Ainda, com base nos resultados preliminares, as soluções absorvedoras estudadas foram somente água, HNO₃ 2 mol L⁻¹ e HNO₃ concentrado.

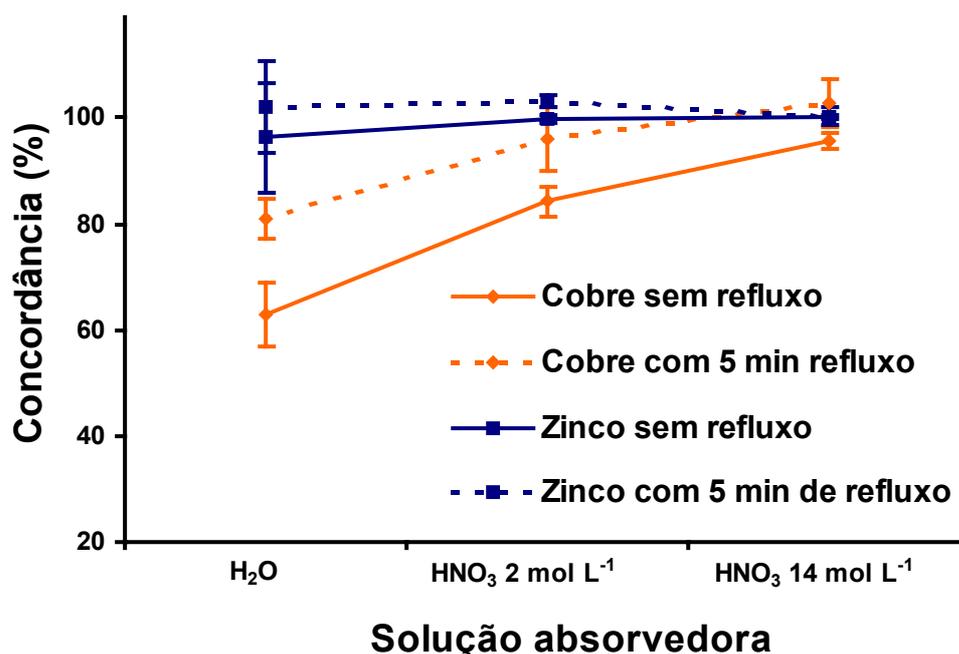


Figura 25. Concordância com os valores certificados para Cu e Zn e efeito da concentração de HNO₃, após combustão com e sem refluxo, da amostra de fígado bovino. Para todos os testes foram empregados 100 mg de amostra, 50 μL de NH₄NO₃, potência = 1400 W, 6 mL de solução absorvedora, n≥3.

Pode-se observar na Fig. 25 que, para zinco, tanto com refluxo como quando foi realizada somente a combustão da amostra, as concordâncias com os valores de referência certificados variaram de 96,3 a 102,2% quando água foi utilizada como solução absorvedora. Já para HNO₃ 2 mol L⁻¹ e HNO₃ concentrado, com e sem refluxo, as concordâncias para Zn variaram de 99,8±0,9% a 103,3±1,2% e de 100,2±1,7% a 100,3±0,4%, respectivamente. Entretanto, para Cu o mesmo comportamento não foi observado, pois só foram encontradas concordâncias superiores a 95% com HNO₃ concentrado, quando foi realizada somente combustão. Para combustão com a etapa adicional de refluxo, foram encontradas concordâncias de 96,0±5,7% com HNO₃ 2 mol L⁻¹ e de 102,8±4,6% com HNO₃ concentrado, como soluções absorvedoras. Quando água foi utilizada como solução absorvedora para Cu, mesmo com a etapa adicional de refluxo, os valores encontrados foram de 81,0±3,7% e, sem a etapa de refluxo de 62,9±6,2% de concordância com o valor certificado. Comportamento semelhante foi observado para Cu e Zn no CRM de tecido de ostra NIST-1566a (Fig. 26), onde concordâncias em torno de 60% foram encontradas para Cu, quando utilizou-se água como solução absorvedora, mesmo

com a etapa adicional de refluxo. Para Zn utilizando-se água como solução absorvedora encontrou-se concordância de $80,2 \pm 8,4\%$ sem refluxo e, $95,5 \pm 2,6\%$ com 5 minutos de refluxo. Para as demais concentrações de ácido nítrico, tanto com quanto sem refluxo, concordâncias superiores a 93% foram encontradas para os dois elementos.

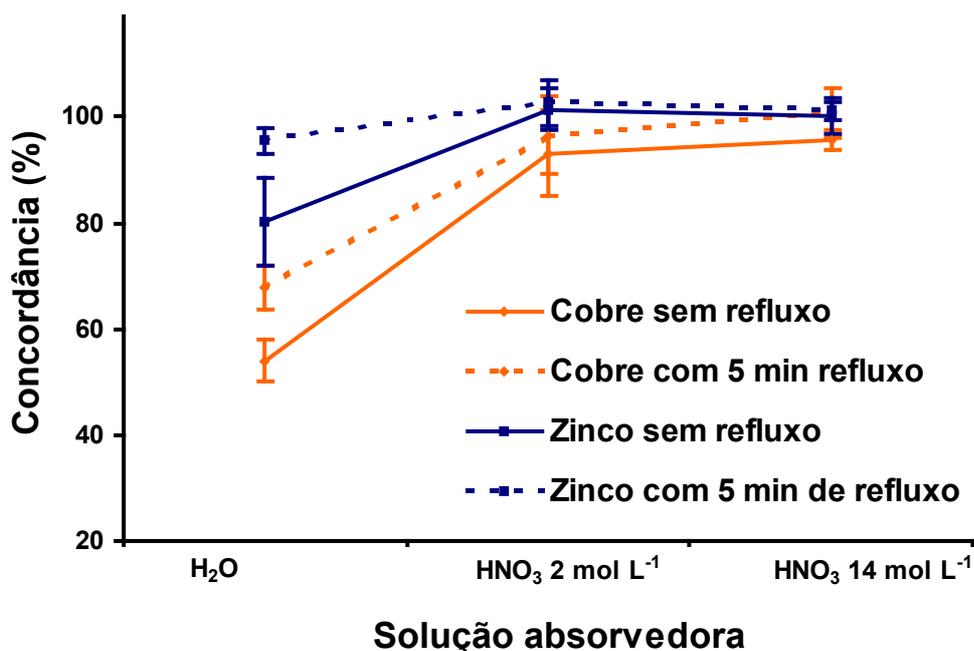


Figura 26. Concordância com os valores certificados para Cu e Zn e efeito da concentração de HNO₃, após a combustão, com e sem refluxo, de CRM de tecido de ostra (NIST-1566a). Para todos os testes foram empregados 100 mg de amostra, 50 µL de NH₄NO₃, potência = 1400 W, 6 mL de solução absorvedora, n≥3.

Para os CRMs de leite em pó (BCR-63) e leite em pó desnatado (NIST-1549) (Fig. 27 e 28) foi observado que após a combustão ocorreu a formação de pequenas partículas esféricas brancas que ficaram fixadas no suporte de quartzo, sendo solubilizadas somente com a etapa adicional de refluxo com HNO₃ concentrado. Provavelmente, tenha ocorrido a formação de óxidos e carbonatos de cálcio, devido a elevada concentração de cálcio (em torno de 1,3%) no leite. Também, foi observado que estas partículas esféricas não foram solubilizadas durante a etapa de refluxo com água, nem com HNO₃ 2 mol L⁻¹.

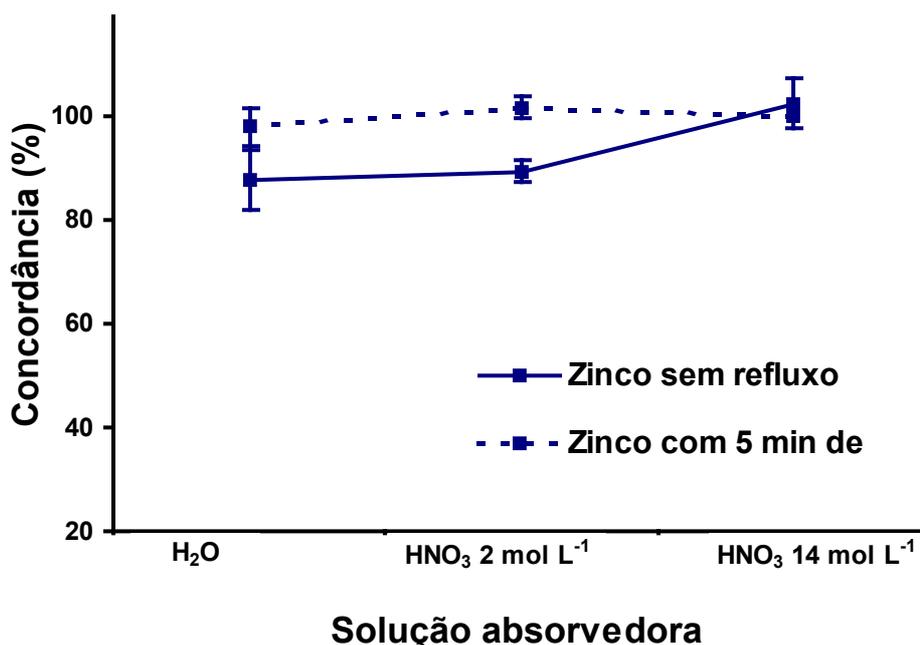


Figura 27. Concordância com os valores certificados para Zn e efeito da concentração de HNO₃, após a combustão, com e sem refluxo, de CRM de leite em pó desnatado (NIST-1549). Para todos os testes foram empregados 150 mg de amostra, 50 μL de NH₄NO₃, potência = 1400 W, 6 mL de solução absorvedora, n ≥ 3.

Pode-se observar na Fig. 27, que concordâncias para Zn superiores a 97% foram encontradas para todas as soluções absorvedoras testadas no CRM para leite desnatado (NIST-1549), inclusive para água. Entretanto, mesmo neste caso, uma etapa adicional de refluxo foi necessária. Quando foi feita somente a combustão da amostra, sem refluxo, com HNO₃ concentrado a concordância foi de 102,2 ± 4,8% e, para HNO₃ 2 mol L⁻¹ e água foi de 89,2 ± 2,1 e 87,5 ± 5,6%, respectivamente.

Quando foi feita a combustão do CRM de leite em pó (BCR- 63) (Fig. 28), os resultados para zinco, sem refluxo, foram 86,3 ± 2,4%, 88,6 ± 3,2, 102,2 ± 2,0% para água, HNO₃ 2 mol L⁻¹ e HNO₃ concentrado, respectivamente, como solução absorvedora. Com a adição de uma etapa de refluxo de 5 minutos, as concordâncias com os valores certificados para zinco foram de 92,8 ± 2,0% e 103,6 ± 3,5% para soluções absorvedoras de HNO₃ 2 mol L⁻¹ e HNO₃ concentrado, respectivamente. Já para água como solução absorvedora para Zn, com refluxo, a concordância com o valor certificado foi de 86,3 ± 0,6%.

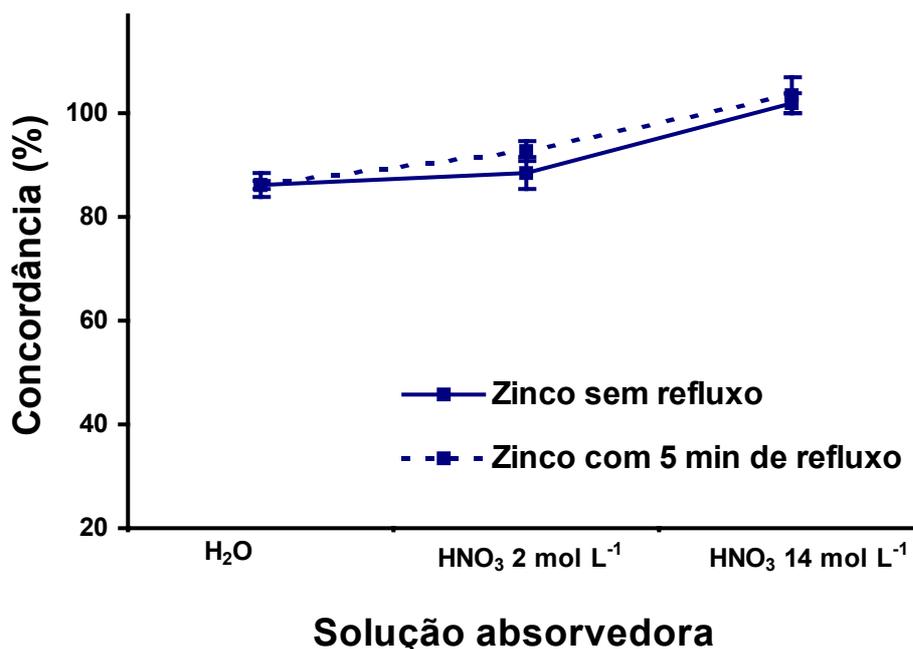


Figura 28. Concordância com os valores certificados para Zn e efeito da concentração de HNO₃, após a combustão, com e sem refluxo, de CRM de leite em pó (BCR- 63). Para todos os testes foram empregados 150 mg de amostra, 50 μL de NH₄NO₃, potência = 1400 W, 6 mL de solução absorvedora, n≥3.

Pode-se observar através das Figs. 27 e 28 que, mesmo com a adição de 5 minutos de refluxo, as concordâncias para água e HNO₃ 2 mol L⁻¹ como soluções absorvedoras, não foram melhoradas. Este fato talvez possa ser explicado, ou relacionado, com a formação das partículas brancas que, provavelmente, sejam óxidos ou carbonatos de cálcio, que poderiam reter o analito. Entretanto, com a etapa de refluxo com HNO₃ concentrado, não permanece nenhum resíduo no suporte de quartzo e as concordâncias se aproximam de 100%.

4.6. Determinação do teor de carbono residual e do consumo de ácido

A determinação de carbono residual foi feita de acordo com o procedimento descrito no item 3.9-*Materiais e Métodos*. Após a combustão de 250 mg de fígado bovino, o teor de carbono residual foi inferior a 1,3±0,4% do conteúdo original da amostra (para 15 bar de pressão no sistema). Este valor é relativamente baixo e foi obtido apenas com o procedimento de combustão sem nenhuma etapa adicional de

refluxo com a solução absorvedora. Quando se adiciona a etapa de 5 minutos de refluxo com HNO_3 concentrado, o teor de carbono residual diminui para 0,4% do valor original. Este valor também foi determinado para amostras de leite em pó desnatado onde, os valores encontrados foram de 1,1% para o procedimento de combustão sem refluxo e, com 5 minutos de refluxo, o teor de carbono residual foi inferior a 0,3%. O teor de carbono residual é baixo quando comparado com os procedimentos de decomposição por via úmida e comparável com a decomposição por via seca em mufla e bomba calorimétrica. Estes resultados mostram a eficiência da decomposição da amostra com a utilização do sistema proposto.

O consumo de ácido em cada solução após a decomposição por combustão seguida de uma etapa de refluxo com ácido nítrico concentrado foi feita por titulação ácido-base, conforme descrito no item 3.8-*Materiais e Métodos*. De acordo com estes dados (n=3) mais de 98% do ácido original restam na solução absorvedora após o refluxo, indicando que a decomposição da amostra não ocorreu pela ação do ácido. Com base nestes resultados, pode-se concluir que a decomposição da amostra ocorre, quase que exclusivamente, pelo processo de combustão.

4.7. Comparação de procedimentos de decomposição de amostras de fígado bovino e de leite em pó

Para fazer uma avaliação do procedimento proposto neste trabalho, fez-se uma comparação com os outros procedimentos de decomposição normalmente utilizados para amostras biológicas. A Tabela 7 mostra os resultados para cobre e zinco com os diferentes procedimentos de decomposição utilizadas para as amostras comerciais de fígado bovino.

Tabela 7. Resultados dos procedimentos de decomposição da amostra comercial de fígado bovino e posterior determinação de Cu e Zn por FAAS; valores médios em $\mu\text{g g}^{-1}$ (n=4, para cada valor).

Procedimento de decomposição para amostras de fígado bovino	Valor encontrado	
	Cu	Zn
Sistema aberto com aquecimento convencional	77,8 ± 3,9	111,9 ± 9,2
Microondas em sistema fechado	74,4 ± 2,2	109,3 ± 7,4
Combustão iniciada com microondas (sem refluxo/HNO ₃ conc.)	72,3 ± 3,1	104,8 ± 8,5
Combustão iniciada com microondas (refluxo de 5 min/HNO ₃ conc.)	74,8 ± 2,4	105,6 ± 4,4

Na Tabela 7 estão expressos os valores determinados para cobre e zinco em uma amostra de fígado bovino comercial comparando-se alguns procedimentos de decomposição. De acordo com os resultados obtidos, pode-se afirmar que os procedimentos mostraram valores concordantes.

Como demonstrado na Fig. 25, para a otimização do sistema proposto, os teores de zinco em amostras de fígado bovino, podem ser atingidos até mesmo sem refluxo o qual, entretanto, é essencial para a obtenção de resultados satisfatórios para cobre, principalmente, quando se utiliza ácido diluído como solução absorvedora. Os resultados também podem ser confirmados através da determinação destes elementos em CRMs de tecido de ostras (NIST 1566a – *Oyster Tissue*), como demonstrado na Fig. 26.

A Tabela 8 mostra os resultados para zinco com os diferentes procedimentos de decomposição utilizados para as amostras de leite em pó integral comerciais.

Tabela 8. Resultados dos procedimentos de decomposição da amostra comercial de leite em pó integral e posterior determinação de Zn por FAAS; valores médios em $\mu\text{g g}^{-1}$ (n=4, para cada valor).

Procedimento de decomposição para amostras de leite em pó integral	Valor encontrado
	Zn
Sistema aberto com aquecimento convencional	$35,4 \pm 1,9$
Microondas em sistema fechado	$35,3 \pm 0,6$
Combustão iniciada com microondas (sem refluxo em HNO_3 conc.)	$33,4 \pm 2,3$
Combustão iniciada com microondas (refluxo de 5 min em HNO_3 conc.)	$38,6 \pm 0,9$

A Tabela 9 mostra os resultados para zinco com os diferentes procedimentos de decomposição utilizados para as amostras comerciais de leite em pó desnatado.

Tabela 9. Resultados dos procedimentos de decomposição da amostra comercial de leite em pó desnatado e posterior determinação de Zn por FAAS; valores médios em $\mu\text{g g}^{-1}$ (n=4, para cada valor).

Procedimento de decomposição para amostras de leite em pó desnatado	Valor encontrado
	Zn
Sistema aberto com aquecimento convencional	$44,5 \pm 2,0$
Microondas em sistema fechado	$42,8 \pm 0,8$
Combustão iniciada com microondas (sem refluxo em HNO_3 conc.)	$45,2 \pm 2,3$
Combustão iniciada com microondas (refluxo de 5 min em HNO_3 conc.)	$45,8 \pm 1,7$

Pode-se observar (Tabelas 8 e 9) que, para Zn e em ambas as amostras (leite em pó integral e desnatado), os valores encontrados empregando-se apenas a combustão da amostra sem refluxo são concordantes com os valores encontrados para Zn com os demais procedimentos de decomposição.

Além da comparação da eficiência dos procedimentos de decomposição, pode-se, também, comparar o tempo necessário para cada um deles. A Tabela 10 mostra o tempo necessário para cada procedimento de decomposição das amostras de fígado bovino e a eficiência destes através da concordância com valores certificados no CRM NIST-1577 (*bovine liver*).

Para a comparação do tempo necessário para todos os procedimentos de decomposição não foi levada em conta a preparação da amostra incluindo a moagem, pesagem, e adição de ácidos, pois este tempo para todos os procedimentos, praticamente, se equivale, mesmo que seja necessária a preparação dos *pellets* das amostras para a técnica de combustão.

Tabela 10. Características obtidas com os diferentes procedimentos de decomposição da amostra comercial de fígado bovino e CRM NIST-1577 (*bovine liver*) e posterior determinação de Cu e Zn por FAAS; valores médios em $\mu\text{g g}^{-1}$ (n=4, para cada valor).

Procedimento de decomposição	Tempo decomposição	Concordância (%)	
		Cu	Zn
Combustão iniciada com microondas sem refluxo	30 s	95,7 ± 4,6	100,2 ± 1,7
Combustão iniciada com microondas com refluxo	25 min	102,8 ± 1,6	100,2 ± 0,4
Microondas em sistema fechado	50 min	99,8 ± 4,1	100,1 ± 1,1
Decomposição em bloco digestor	3 h e 30 min	102,2 ± 2,4	101,2 ± 2,3

Para comparação com os outros procedimentos de decomposição, as decomposições por combustão iniciada por microondas foram feitas com HNO_3 concentrado. Valores certificados no CRM (NIST-1577): $193 \pm 10 \mu\text{g g}^{-1}$ para Cu e $130 \pm 13 \mu\text{g g}^{-1}$ para Zn.

Os resultados mostrados na Tabela 10 podem ser empregados para demonstrar a eficiência do sistema na decomposição de materiais biológicos para a posterior determinação de Cu e Zn por FAAS. Neste caso, os valores mostrados na Tabela 10 para os procedimentos de combustão foram obtidos quando HNO_3 concentrado foi utilizado como solução absorvedora. Os resultados são bastante

satisfatórios para Cu e Zn com o procedimento de combustão realizado com HNO₃ concentrado. Entretanto, como foi mostrado na Fig. 25, em alguns casos bons resultados, também, podem ser obtidos quando água ou ácidos diluídos são utilizados como solução absorvedora.

Pode-se observar que, além da concordância entre os valores encontrados, deve-se considerar, também, o tempo necessário para a realização da etapa de decomposição. Para a decomposição no bloco digestor foram necessárias, no mínimo, 3 h e para a decomposição no forno de microondas *Multiwave 3000*[®] foram necessários 30 minutos de decomposição, mais a etapa adicional de resfriamento de 20 min, totalizando 50 min. Entretanto, utilizando-se a decomposição por combustão iniciada por microondas o tempo necessário é de apenas 30 s para que a amostra seja queimada. Também, pode-se destacar que, mesmo quando a etapa adicional de 5 minutos de refluxo para procedimento de combustão iniciada por microondas e necessária, o tempo total do procedimento não ultrapassa 25 minutos. O tempo da etapa de refluxo é de 5 minutos e o da etapa de resfriamento é de 20 minutos. Esta última etapa é necessária para qualquer procedimento de decomposição realizada no forno de microondas *Multiwave 3000*[®].

Pode-se, também, comparar o procedimento proposto com alguns dados obtidos na literatura para a decomposição de amostras biológicas. Souza *et al.* (2002)¹⁶² encontraram concordâncias superiores a 95% para Cu e Zn em amostras biológicas, por combustão em bomba calorimétrica, utilizando HNO₃ diluído como solução absorvedora. Entretanto, para alguns casos, como por exemplo, para amostras de leite em pó, foi relatada a necessidade de adicionar um auxiliar de combustão (parafina + etanol) nas amostras para permitir uma combustão mais completa. Ademais, os autores relataram que o tempo necessário para decomposição de cada amostra fica entre 10 e 15 min, pois foi observado que melhores resultados eram obtidos com a espera do resfriamento do sistema. Fujiwara e Narasaki (1968)⁵⁶ relataram que, após a combustão de polietileno e posterior determinação espectrofotométrica, de cobre e zinco, além de outros metais, a recuperação não era completa sem que os produtos da combustão fossem tratados com um meio fortemente ácido.

¹⁶² SOUZA, G.B.; CARRILHO, E.N.V.M.; OLIVEIRA, C.V., NOGUEIRA, A.R.A.; NÓBREGA, J.A., *Spectrochim. Acta* 57B (2002) 2195-2201

⁵⁶ FUJIWARA, S., NARASAKI, H., *Anal. Chem.* 40 (1968) 2031-2033

No caso do procedimento proposto neste trabalho, não é necessário nenhum auxiliar de combustão para nenhuma das amostras estudadas sendo estas, quase que na sua totalidade, decompostas apenas pelo processo de combustão. Como pôde ser observado, em muitos casos quando se empregou unicamente a combustão (sem refluxo) são obtidas concordâncias superiores a 95% para Zn. Resultados semelhantes foram encontrados para Cu, porém empregando-se HNO₃ concentrado como solução absorvedora.

Uma característica interessante do sistema proposto é a possibilidade de refluxo em sistema fechado, podendo degradar eventuais resíduos da combustão e, adicionalmente, garantir a limpeza da superfície interna (frasco, suporte e tampa) com a remoção de eventuais espécies ali adsorvidas.

Os valores para os brancos, para os elementos investigados, foram sempre desprezíveis, o que atesta a boa qualidade dos reagentes empregados, bem como a virtual não contaminação dos frascos de quartzo (mesmo quando estes apenas lavados com água após uma etapa de combustão seguida ou não de refluxo). Cabe destacar que, o procedimento de combustão proposto foi otimizado para quatro frascos de quartzo, devido a operacionalidade dos testes realizados, do consumo de amostras e reagentes. Entretanto, o forno utilizado possui 8 frascos de quartzo que podem ser utilizados para os procedimentos combustão iniciada por microondas rotineiramente.

Em trabalho anterior, empregando um sistema semelhante para a combustão iniciada por microondas, para a decomposição de amostras de estearato de magnésio e fitoterápicos, a amostra era envolvida em papel de cigarro e suspensa na tampa de um frasco de PTFE através de um aparato de quartzo. O sistema era pressurizado com 5 atmosferas de oxigênio e a ignição do processo de combustão era feita em um forno de microondas doméstico.¹² Pode-se observar algumas diferenças entre a utilização de frascos de PTFE e frascos de quartzo para os procedimentos de combustão, onde uma das principais vantagens destes últimos é a maior resistência a elevadas temperaturas e pressões. A quantidade de amostra decomposta no sistema é de até 400 mg que, também, é uma vantagem quando comparado com sistema de combustão de Schöniger.

¹² BARIN, J.S., Dissertação de mestrado, Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Farmacêutica, UFSM, Santa Maria/RS, 2003

4.8. Determinação de Cu e Zn em amostras biológicas por combustão iniciada por microondas

Após a avaliação das variáveis que influenciam na determinação de Cu e Zn nas amostras comerciais de fígado bovino e leite em pó, determinou-se estes elementos nestas amostras utilizando-se, apenas, o procedimento de combustão, sem a etapa de refluxo. Os valores encontrados para estas amostras são mostrados nas Tabelas 11 e 12.

Na Tabela 11 são mostrados os valores encontrados para zinco, após combustão sem refluxo, das amostras comerciais de leite em pó integral e desnatado. Estes valores podem ser comparados com os valores médios encontrados nestas amostras utilizando-se outros procedimentos de decomposição e determinação por FAAS.

Tabela 11. Valores de zinco encontrados para as amostras de leite em pó integral e desnatado, após combustão sem refluxo, e posterior determinação por FAAS; valores médios em $\mu\text{g g}^{-1}$ (n=4, para cada valor).

Solução absorvedora	Leite em pó integral Zn	Leite em pó desnatado Zn
HNO ₃ conc.	35,4 ± 2,3	45,3 ± 2,3
HNO ₃ 2 mol L ⁻¹	31,3 ± 1,3	40,3 ± 0,9
H ₂ O	32,4 ± 3,1	39,1 ± 1,8

Concentrações médias de Zn encontradas nas amostras de leite em pó, integral (Zn 36,4 ± 1,9 $\mu\text{g g}^{-1}$) e desnatado (Zn 44,3 ± 1,5 $\mu\text{g g}^{-1}$), utilizando-se outros procedimentos de decomposição e determinação por FAAS.

Na Tabela 12 são mostrados os valores encontrados para cobre e zinco, após combustão, sem refluxo, das amostras comerciais de fígado bovino. Estes valores são concordantes com as concentrações médias de Cu e Zn encontradas nestas amostras utilizando-se outros procedimentos de decomposição e determinação por FAAS.

Os valores médios das concentrações de cobre e zinco nas amostras foi determinado através da média dos valores encontrados nas decomposições feitas no bloco digestor, forno de microondas *Multiwave 3000*[®] e combustão iniciada por microondas com 5 minutos de refluxo. Desta forma, os valores encontrados para

cobre e zinco nas amostras de fígado bovino e leite em pó comerciais foram comparados com os valores encontrados após a decomposição por combustão iniciada por microondas, sem a etapa de refluxo (Tabelas 11 e 12).

Tabela 12. Valores de cobre e zinco encontrados para as amostras comerciais de fígado bovino, após combustão sem refluxo, e posterior determinação por FAAS; valores médios em $\mu\text{g g}^{-1}$ (n=4, para cada valor).

Solução absorvedora	Fígado bovino	
	Cu	Zn
HNO₃ conc.	72,3 ± 3,1	109,8 ± 8,5
HNO₃ 2 mol L⁻¹	44,6 ± 4,2	109,1 ± 8,9
H₂O	41,8 ± 3,9	107,9 ± 9,1

Concentrações médias de Cu ($76,1 \pm 2,4 \mu\text{g g}^{-1}$) e Zn ($110,6 \pm 9,2 \mu\text{g g}^{-1}$) encontradas nas amostras de fígado bovino utilizando-se outros procedimentos de decomposição e determinação por FAAS.

Como pode ser observado nas Tabelas 11 e 12 os valores encontrados para zinco foram concordantes com os valores previamente determinados nas amostras comerciais, utilizando-se apenas o procedimento de combustão, independentemente da solução absorvedora utilizada. Entretanto, para cobre (Tabela 12) os valores encontrados, utilizando-se somente a combustão da amostra, sem a etapa adicional de refluxo, foram abaixo dos valores médios determinados nas amostras comerciais de fígado bovino, exceto quando se utilizou HNO₃ concentrado como solução absorvedora. Tal comportamento pode estar relacionado com a solubilidade dos respectivos óxidos destes elementos. Apesar dos dois óxidos, tanto o de Zn quanto o de Cu, serem praticamente insolúveis em água a uma temperatura de 20 °C, o óxido de zinco pode ser solubilizado em ácidos diluídos (p.ex. ácido acético e ácidos minerais). Sendo assim, determinou-se o pH das soluções após a combustão das amostras de fígado bovino, utilizando-se água como solução absorvedora e o pH variou de 2 a 4. A acidez residual das soluções pode estar relacionada com o excesso de CO₂ gerado após o processo de combustão que fica dissolvido na solução. Desta forma, pode-se atribuir à acidez das soluções os melhores resultados encontrados para Zn, quando foi feita somente a combustão da amostra utilizando-se

água como solução absorvedora, ao contrário dos resultados para Cu nas mesmas condições.

Com relação ao procedimento proposto, é possível determinar Zn utilizando-se apenas a combustão como forma de decompor as amostras biológicas. Porém, para Cu é necessária uma etapa de refluxo da solução absorvedora para assegurar a completa recuperação deste elemento. Sendo assim, pode-se afirmar que o procedimento proposto está de acordo com outras metodologias empregadas para a decomposição de amostras, podendo ser aplicado para a determinação destes metais em amostras de fígado bovino, tecido de ostra, leite em pó integral e desnatado.

Adicionalmente, após o término deste trabalho, foram feitas determinações da temperatura atingida durante a combustão com o sistema proposto. A temperatura máxima determinada para amostras de fígado e de leite em pó foram de 1290 e de 1480 °C para massas de 200 e de 400 mg (pressão de O₂ = 15 bar). Estes resultados estão de acordo com os valores estimados previamente (Item 4.2) e explicam os baixos teores de carbono residual encontrados com o uso do sistema proposto (evidentemente, com temperaturas de queima da ordem de 1300 °C, a matéria orgânica original é completamente degradada).

Na Tabela 13 estão descritas as melhores condições encontradas para decomposição das amostras empregadas neste trabalho. Sendo que, a massa de amostra pode ser variada de acordo com as necessidades para a técnica de detecção e a solução absorvedora é dependente do elemento a ser determinado.

Tabela 13. Condições do sistema de decomposição por combustão iniciada por microondas.

Quantidade de amostra	50 até 400 mg
Suporte	Suporte “c”
Solução absorvedora	HNO ₃ conc., HNO ₃ diluído ou água
Volume da solução absorvedora	6 mL
Volume de NH₄NO₃	50 µL
Concentração de NH₄NO₃	6 mol L ⁻¹
Pressão de O₂	15 bar
Tempo de irradiação de microondas	30 s

Suporte “c” (vide Fig. 19, item 3.4 – *Materiais e Métodos*)

5. CONCLUSÃO

O sistema proposto permite a determinação posterior de zinco aplicando-se somente a etapa de combustão. Entretanto, para cobre, é necessária uma etapa adicional de refluxo após a combustão. Neste sistema o tempo requerido para a decomposição é bastante curto, aproximadamente 30 s se for aplicada, apenas, a etapa de combustão e, de 25 minutos se for necessária a etapa adicional de refluxo. O teor de carbono residual é baixo, comparável ao de sistemas de decomposição por via seca em mufla e bomba calorimétrica, duas técnicas que permitem a quase completa decomposição da amostra. O consumo de ácido no processo de oxidação da amostra é muito pequeno (pois a amostra é virtualmente decomposta com a etapa de combustão), permitindo a utilização de ácidos menos concentrados e diminuindo, conseqüentemente, os riscos de contaminação, os custos e os resíduos gerados.

Comparativamente, o sistema proposto apresenta vantagens em relação ao frasco de combustão de Schöniger, pois pode-se utilizar massas maiores de amostra (até 400 mg). Comparando-se, também, com os procedimentos de combustão em bomba calorimétrica, pode-se salientar que o sistema proposto neste trabalho apresenta, como vantagens, a possibilidade do refluxo em sistema fechado, podendo degradar eventuais resíduos da combustão. Também, se pode destacar que a possibilidade de contaminação do sistema é mínima, pois este é constituído de frascos de quartzo com partes de PTFE. Cabe ainda destacar, a facilidade de operação e adaptação ao sistema de decomposição assistido por radiação microondas convencional, além da possibilidade o processamento de até oito amostras por ciclo de decomposição.

O sistema proposto envolvendo a combustão iniciada por microondas é adequado para procedimentos de decomposição de amostras biológicas para a posterior determinação de metais. Apesar de não ter sido investigado neste trabalho, é possível que este sistema possa ser aplicado para o preparo de

amostras com vistas à determinação de não-metals. Esta suposição é reforçada com base nas características do sistema proposto que são muito semelhantes àsquelas de sistemas convencionais empregando bombas calorimétricas ou o clássico sistema de Schöniger. Como a solução absorvedora utilizada pode ser, em alguns casos, água ou ácido diluído, é possível a determinação subsequente por diversas técnicas multielementares, espectrométricas e cromatográficas, não sendo esperadas fortes interferências devido ao tipo de solução em que o analito se encontra.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABU-SAMRA, A., MORRIS, J.S., KOIRTYOHANN, Wet ashing of some biological samples in a microwave oven, *Anal. Chem.* 47 (1975) 1475-1477
2. ALLAWAY, W.H., CARY, E.E., Determination of submicrogram amounts of selenium in biological materials, *Anal. Chem.* 36 (1964) 1359-1362
3. AMARASIRIWARDENA, D., Vapor-phase acid digestion of micro samples of biological material in a high-temperature, high-pressure asher for inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, *Analyst* 119 (1994) 1017-1021
4. AMIN, A.S., ISSA, Y.M., Utility of formazans and cetylpyridinium chloride in rapid spectrophotometric determination of zinc in biological materials and pharmaceutical formulations, *J. Pharmaceut. Biomed.* 31 (2003) 491-497
5. ANDERSON, R., *Sample pretreatment and separation, analytical chemistry by open learning*, John Wiley & Sons, New York (1987) 1-8, 97-99
6. ANDUZE, R.A., Colorimetric determination of titanium in polyethylene, *Anal. Chem.* 29 (1957) 90-91
7. Anton Paar GmbH, *Multiwave 3000[®] microwave sample preparation system*, Plataforma sistem, Instruction Manual, Copyright[©], Graz, Áustria (2002) seções 3.4.2 e 6.1.2
8. ANTONIK, S., LUCQUIN, M., Oxidation mechanisms of hydrocarbon compounds at low-temperature, *Bull. Soc. Chem. Fr.* 10 (1968) 4043
9. ARAÚJO, G.C.L., NOGUEIRA, A.R.A., NÓBREGA, J.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
10. ARRUDA, M.A.Z., SANTELLI, R.E., Mecanização no preparo de amostras por microondas: o estado da arte, *Quím. Nova* 20 (1997) 638-643
11. AUCELIO, R.Q., CURTIUS, A.J., Comparative study of electrothermal atomic absorption spectrometric methods for the determination of silver in used lubricating oils, *Analyst* 125 (2000) 1673-1679

12. BARIN, J.S., Determinação de metais e não metais em produtos farmacêuticos após decomposição em sistema fechado por combustão iniciada por microondas, Dissertação de mestrado, Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria/RS, 2003
13. BARNARD, J.A., HARWOOD, B.A., Physical factors in the study of the spontaneous ignition of hydrocarbons in static systems, *Combust. Flame* 22 (1974) 35-42
14. BARNARD, J.A.; BRADLEY, J.N., *Flame and Combustion*, 2nd ed., Chapman and Hall New York (1985) 3, 4, 132-136, 163, 172, 173, 184-186, 202
15. BARNEY, J.E., BERGMANN, J.G., TUSKAN, W.G., Rapid determination of phosphorus in motor oils and additives, *Anal. Chem.* 31 (1959) 1394-1396
16. BARSHICK, C.M., SMITH, D.H., HACKNEY, J.H., COLE, B.A., WADE, J.W., Glow discharge mass spectrometric analysis of trace metals in petroleum, *Anal. Chem.* 66 (1994) 730-734
17. BEGEROW, J., TURFELD, M., DUNEMAN, L., Determination of physiological platinum levels in human urine using magnetic sector field inductively coupled plasma mass spectrometry in combination with ultraviolet photolysis, *J. Anal. At. Spectrom.* 11 (1996) 913-916
18. BELCHER, R., CAMPBELL, A.D., GOUVERNEUR, P., MacDONALD, A.M.G., Submicro-methods of organic analysis 15. determination of sulphur by oxygen-flask method, *J. Chem. Soc.* 585 (1962) 3033-3037
19. BISHARA, S.W., GAWARGIOUS, Y.A., FALTAOOS, B.N., Polarographic microdetermination of cobalt, nickel, and antimony in organic compounds, *Anal. Chem.* 46 (1974) 1103-1105
20. BOCK, R., *A handbook of decomposition methods in analytical chemistry*, T&A Constable Ltda, Edinburgh (1979)
21. BORSZEKI, J., HALMOS, P., GEGUS, E., KARPATI, P., Application of pressurized sample preparation methods for the analysis of steels and copper alloys, *Talanta* 41 (1994) 1089-1093
22. BRETTHAUER, E.W., MOGHISSI, A.A., SNYDER, S.S., MATHEWS, N.W., Determination of submicrogram amounts of mercury by the oxygen bomb combustion method, *Anal. Chem.* 46 (1974) 445-446
23. BURROUGHS, J.E., KATOR, W.G., ATTIA, A.I., Micro method for determining silicon in organosilicon compounds by a modified oxygen flask method, *Anal. Chem.* 40 (1968) 657-658

24. CAMPOS, R.C., Estudo de uma nova técnica de introdução de amostras sólidas combustíveis para determinação de elementos voláteis por espectrofotometria de absorção atômica com chama, Tese de doutorado, Pontifícia Universidade Católica, Rio de Janeiro/RJ, 1988
25. CANFRANC, E., ABARCA, A., SIERRA, I., MARINA, M.L., Determination of iron and molybdenum in a dietetic preparation by flame AAS after dry ashing, *J. Pharmaceut. Biomed.* 25 (2001) 103-108
26. CARTER, G.F., YEOMAN, W.B., Determination of cadmium in blood after destruction of organic material by low-temperature ashing, *Analyst* 105 (1980) 295-297
27. CEM Innovators in microwave technology, <http://www.cem.com/pages/arwv.htm>, acessada em 20/04/2004
28. CHAKRABORTY, R., DAS, A.K., CERVERA, M.L., GUARDIA, M., Literature study of microwave-assisted digestion using electrothermal atomic absorption spectrometry, *Fresenius J. Anal. Chem.* 355 (1996) 99-111
29. CHAO, W.S., JIANG, S.J., Determination of organotin compounds by liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry with a direct injection nebulizer, *J. Anal. At. Spectrom.* 13 (1998) 1337-1341
30. CHIMPALEE, N., CHIMPALEE, D., SUPARUKNARI,S., BOONYANITCHAYAKUL, B., BURNS, D.T., Flow-injection spectrofluorimetric determination of sulphate using calcein and zirconium, *Anal. Chim. Acta* 298 (1994) 401-404
31. CLARK, E.R., AL-TURAIHI, M.A., A rapid procedure for the determination of the tellurium content of organotellurium compounds, *J. Organomet. Chem.* 118 (1976) 55-58
32. COELHO, L.M., PEREIRA, E.R., ARRUDA, M.A.Z., On-line mechanised microwave biological fluid decomposition and off-line calcium and magnesium determinations by flame atomic absorption spectrometry, *Quim. Anal.* 20 (2002) 63-72
33. COOMBER, R., WEBB, J.R., Comparison of low temperature radiofrequency ashing with other methods of organic sample oxidation for the determination of sodium in an acrylic fibre, *Analyst* 95 (1970) 668-669
34. COSTA, L.M., SILVA, F.V., GOUVEIA, S.T., NÓBREGA, J.A., NOGUEIRA, A.R.A., Focused microwave-assisted acid digestion of oils: an evaluation of the residual carbon content, *Spectrochim. Acta* 56B (2001) 1981-1985
35. DAUGHTREY, E.H., HARRISON, W.W., Analysis for trace levels of boron by ion exchange-hollow cathode emission, *Anal. Chim. Acta* 72 (1974) 225-230

36. DE BOER, F.J., VISSER, J., Separation of low concentrations of halogen from some luminescent materials and elemental sulphur by a modified oxygen-flask method, *Analyst* 93 (1968) 56-58
37. DEBAL, E., KOLOSKY, M., PEYNOT, S., REVAULT, M., Remarques sur le microdosage du bore et du germanium dans les composés organiques et minéraux, *Talanta* 26 (1979) 75-79
38. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES, *Toxicological Profile for Copper*, Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry, U.S (2002) 12-13
39. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES, *Toxicological Profile for Zinc*, Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry, U.S (2003) 4,5, 17
40. DJUDZMAN, R., EECKHOUT, E. VAN DEN, MOERLOOSE, P. DE, Determination of bismuth by atomic-absorption spectrophotometry with electrothermal atomisation after low-temperature ashing, *Analyst* 102 (1977) 668-691
41. DOBBS, H.E., Determination of carbon-14 in halogenic compounds by an oxygen flask method, *Anal. Chem.* 36 (1964) 687-689
42. DOBBS, H.E., Oxygen flask method for the assay of tritium-, carbon-14-, and sulfur-35-labeled compounds, *Anal. Chem.* 35 (1963) 783-786
43. DÜRÜST, N., SÜMENGİN, D., DÜRÜST, Y., Ascorbic acid and element contents of foods of Trabzon (Turkey), *J. Agr. Food Chem.* 45 (1997) 2085-2087
44. EHRENBERGER, F., Determination of oxygen in organic fluorine compound and phosphorous compound or metal organic compound, *Mikrochim. Acta* 2 (1977) 39-43
45. EHRENBERGER, F., GORBACH, S., HUMMEL, K., Schnellbestimmung von halogen und schwefel in organischen substanzen mit einer modifizierten wickbold-apparatur, *Fresenius Z. Anal. Chem.* 210 (1965) 349-354
46. EJNIK, J.W., HAMILTON, M.M., ADAMS, P.R., CARMICHAEL, A.J., Optimal sample preparation conditions for the determination of uranium in biological samples by kinetic phosphorescence analysis (KPA), *J. Pharmaceut. Biomed.* 24 (2000) 227-235
47. ERBER, D., QUICK, L., ROTH, J., CAMMANN, K., Investigation of sample decomposition for the trace determination of arsenic, antimony and selenium in organic and inorganic materials using the Wickbold combustion method, *Fresenius J. Anal. Chem.* 346 (1993) 420-425

48. ERBER, D., QUICK, L., WINTER, F., ROTH, J., CAMMANN, K., The Wickbold combustion method for the determination of mercury under statistical aspects, *Fresenius J. Anal. Chem.* 349 (1994) 502-509
49. FARLEY, L.L., WINKLER, R.A., Flowing oxygen Schöniger combustion for large samples, *Anal. Chem.* 35 (1963), 772-773
50. FLORES, E.M.M., Procedimento combinado para decomposição e determinação de elementos-traço por espectrometria de absorção atômica e desenvolvimento de gerador de hidretos em microescala, Tese de Doutorado, Programa de Pós-graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre/RS, 1997.
51. FLORES, E.M.M., SAIDELLES, A.P.F., BARIN, J.S., MORTARI, S.R., MARTINS, A.F., Hair sample decomposition using polypropylene vials for determination of arsenic by hydride generation atomic absorption spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.* 16 (2001) 1419-1423
52. FLORIAN, D., KNAPP, G., High-temperature, microwave-assisted UV digestion: a promising sample preparation technique for trace element analysis, *Anal. Chem.* 73 (2001) 1515-1520
53. FORBES, S., BOUND G.P., WEST, T.S., Determination of selenium in soils and plants by differential pulse cathodic-stripping voltammetry, *Talanta* 26 (1979) 473-477
54. FOURNIER, J.B., VIGNIER, V., RENAUD, P., MARTIN, G.J., Element analysis carried out on reference samples. Comparison between five digestion techniques using wet and dry processes, *Analusis* 25 (1997) 196-201
55. FUJITA, M., TAKEDA, Y., TERAOKA, T., HOSHINO, O., UKITA, T., Microdetermination of mercury by the oxygen bomb combustion method, *Anal. Chem.* 40 (1968) 2042-2043
56. FUJIWARA, S., NARASAKI, H., Determination of trace elements in organic material by the oxygen bomb method, *Anal. Chem.* 40 (1968) 2031-2033
57. FUKASAWA, T., YAMANE, T., Determination of trace vanadium in petroleum oils by oxygen flask combustion and a catalytic method, *Anal. Chim. Acta* 113 (1980) 123-130
58. FUNG, Y.S., DAO, K.L., Elemental analysis of chemical wastes by oxygen bomb combustion-ion chromatography, *Anal. Chim. Acta* 334 (1996) 51-56
59. 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

60. GÁMIZ-GRACIA, L., LUQUE DE CASTRO, M.D., Determination of mercury in cosmetics by flow injection-cold generation-atomic fluorescence spectrometry with on-line preconcentration, *J. Anal. At. Spectrom.* 14 (1999) 1615-1617
61. GÁMIZ-GRACIA, L., LUQUE DE CASTRO, M.D., Determination of selenium in nutritional supplements and shampoos by flow injection-hydride generation-atomic fluorescence spectrometry, *Talanta* 50 (1999) 875-880
62. GAWARGIOUS, Y.A., BOULOS, L.S., FALTAOOS, B.N., New iodometric methods for the microdetermination of arsenic in organic compounds, *Talanta* 23 (1976) 513-516
63. GAWARGIOUS, Y.A., BESADA, A., FALTAOOS, B.N., Indirect polarographic microdetermination of fluorine in fluoroorganic compounds after oxygen-flask combustion, *Anal. Chem.* 47 (1975) 502-505
64. GEDANSKY, S.J., BOWEN, J.E., MILNER, O.I., Rapid combustion method for determination of phosphorus in petroleum products, *Anal. Chem.* 32 (1960) 1447-1449
65. GÉLINAS, Y., KRUSHEVSKA, A., BARNES, R., Determination of total iodine in nutritional and biological samples by ICP-MS following their combustion within an oxygen stream, *Anal. Chem.* 70 (1998) 1021-1025
66. GERBERSMANN, M., HEISTERKAMP, M., ADAMS, F.C., BROEKAERT, J.A.C., Two methods for the speciation analysis of mercury in fish involving microwave-assisted digestion and gas chromatography-atomic emission spectrometry, *Anal. Chim. Acta* 350 (1997) 273-285
67. GILLAIN, G., Studies of pretreatments in the determination of Zn, Cd, Pb, Cu, Sb and Bi in suspended particulate matter and plankton by differential-pulse anodic-stripping voltammetry with a hanging mercury drop electrode, *Talanta* 29 (1982) 651-654
68. GLEIT, C.E., HOLLAND, W.D., Use of electrically excited oxygen for the low temperature decomposition of organic substances, *Anal. Chem.* 34 (1962) 1454-1457
69. GONZÁLEZ, J.M., LAFUENTE, M., DLASKA, M.L., FERNÁNDEZ SANCHEZ, SANZ-MEDEL, A., Organic and inorganic selenium speciation in urine by on-line vesicle mediated high-performance liquid chromatography-focused microwave digestion-hydride generation-inductively coupled plasma mass spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.* 13 (1998) 423-429
70. GOUVEIA, S.T.; SILVA, F.V.; COSTA, L.M.; NOGUEIRA, A.R.A.; NÓBREGA, J.A., Determination of residual carbon by inductively-coupled plasma optical emission spectrometry with axial and radial view configurations, *Anal. Chim. Acta* 445 (2001) 269-275

71. GOUVERNEUR, P., HOEDEMAN, W., The determination of mercury in organic compounds, *Anal. Chim. Acta* 30 (1964) 519-523
72. GOUVERNEUR, P., SNOEK, O.I., HEERINGA-KOMMER, M., Nitrogen determination in mineral oils by means of wickbold oxyhydrogen combustion, *Anal. Chim. Acta* 39 (1967) 413-422
73. GOUVERNEUR, P.; EERBEEK, C.D.F., A simple safety precaution in oxygen flask combustions, *Anal. Chim. Acta* 27 (1962) 305-306
74. GUTENMANN, W.H., LISK, D.J., Fungicide residues, rapid determination of mercury in apples by modified Schoniger combustion, *J. Agr. Food Chem.* 8 (1960) 306-308
75. HASSAN, H.N.A., HASSOUNA, M.E.M., GAWARGIOUS, Y.A., Spectrophotometric microdetermination of bismuth in organic compounds after oxygen-flask combustion, *Talanta* 35 (1988) 311-313
76. HAUSER, T.R., HINNERS, T.A., KENT, J.L., Atomic absorption determination of cadmium and lead in whole blood by a reagent-free method, *Anal. Chem.* 44 (1972) 1819-1821
77. HEANES, D.L., *Determination of Trace Elements in Plant Materials by a Dry-ashing Procedure 2. copper, manganese and zinc*, *Analyst* 106 (1981) 182-187
78. HEANES, D.L., Determination of trace-elements in plant materials by a dry-ashing procedure 1. cobalt and molybdenum, *Analyst* 106 (1981) 172
79. High Pressure Asher, HPA, http://www.anton-paar.com/sample_preparatio/microwave_CXSN-5QTFST.en.0.jsp, acessada em 02/04/2004
80. HOARE, D.E., TING-MAN LI., WALSH, A.D., *Eleventh Symposium (International) on Combustion*, The Combustion Institute, Pittsburg (1967) 879
81. 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
82. HOPPSTOCK, K.; MICHULITZ, M., Voltammetric determination of trace platinum in gasoline after Wickbold combustion, *Anal. Chim. Acta* 350 (1997) 135-140
83. IIDA, C., UCHIDA, T., KOJIMA I., Decomposition of bovine liver in a sealed teflon vessel for determination of metals by atomic absorption spectrometry, *Anal. Chim. Acta* 113 (1980) 365-368

84. IYENGAR, G.V., SUBRAMANIAN, K.S., WOITTIEZ, J.R.W., *Element analysis of biological samples – Principles and Praticce*, CRC Press, Boca Raton, New York (1997) 105, 114-115
85. JACOBS, P.W.M., GILBERT, R., Decomposition of perchloric acid on metal oxide catalysts, *Canad. J. Chem.*, 49 (1971) 2827
86. JACOBS, P.W.M., PEARSON, G.S., Mechanism of the decomposition of ammonium perchlorate, *Combust. Flame* 13 (1969) 419-430
87. JACOBS, P.W.M., WHITEHEAD, H.M., Decomposition and combustion of ammonium perchlorate, *Chem. Rev.* 69 (1969) 551-590
88. JORHEM, L., Dry ashing, souces of error, and performance evaluation in AAS, *Mikrochim. Acta.* 119 (1995) 211-218
89. KELLY, W.R., PAULSEN, P.J., MURPHY, K.E., VOCKE, R.D., CHEN, I., Determination of Sulfur in Fossil Fuels by Isotope Dilution Thermal Ionization Mass Spectrometry, *Anal. Chem.* 66 (1994) 2505-2013
90. KINGSTOM, H.M., JASSIE, L.B., *Introduction to microwave sample preparation*, ACS, Washigton(1988) 113-114
91. KNAPP, G., Der weg zu leistungsfähigen methoden der elementspurenanalyse in umweltproben, *Fresenius Z. Anal. Chem.* 317 (1984) 213-219
92. KNAPP, G., Mechanized techniques for sample decomposition and element preconcentracion, *Mikrochim. Acta* [Wien] II (1991) 445-455
93. 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
94. KNAUER, H.E., MILLIMAN, G.E., Analysis of petroleum for trace metals. Determination of mercury in petroleum and petroleum products, *Anal. Chem.* 47 (1975) 1263-1268
95. KOS, V., VEBER, M., HUDNIK, V., Determination of selenium in soil by hydride generation AAS, *Fresenius J. Anal. Chem.* 360 (1998) 225-229
96. KRACHLER, M., RADNER, H., IRGOLIC, K., Microwave digestion methods for the determination of trace elements in brain and liver samples by inductively coupled plasma mass spectrometry, *Fresenius J. Anal. Chem.* 355 (1996) 120-128
97. KRAMPITZ, P.D., BARNES, K.W., The determination of minerals in multivitamin samples using microwave digestion and ICP-OES analysis, *At. Spectrosc.* 19 (1998) 43-44

98. KRUG, F.J., Apostila "Métodos de Decomposição de Amostras", III Workshop sobre Preparo de Amostras, 23 a 27 de Outubro de 2000, São Carlos – SP
99. 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., 127
100. KRUG, F.J.; NÓBREGA, J.A.; BERGAMIN FILHO, H.; Apostila "Chamas em espectroscopia de emissão e absorção"; CENA-USP Piracicaba –SP; Maio de 1991
101. KRUSHEVSKA, A. BARNES, R.M.; AMARASIRIWARADENA, C.J.; FONER, H.; MARTINES, L., Comparison of sample decomposition procedures for the determination of zinc in milk by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.* 7 (1992) 851-858
102. KULKE, M., UMLAND, F., Improvement of Wickbold combustion apparatus for decomposition of petroleum-products and used lubricating oils for trace analysis of inorganic components, *Fresenius Z. Anal. Chem.* 288 (1977) 273-276
103. Laborgerätebörse, Laboratory Equipment Exchange, <http://www.labexchange.com/english/index.html>, acessada em 15/04/2004
104. LAMBLE, K.J., HILL, S.J., Microwave digestion procedures for environmental matrices, *Analyst* 123 (1998) 103R-133R
105. LARSEN, E.H., HANSEN, M., GOSSLER, W., Speciation and health risk considerations of arsenic in the edible mushroom *laccaria amethystina* collected from contaminated and uncontaminated locations, *Appl. Organomet. Chem.* 12 (1998) 285-291
106. LAU, C.M., URE, A.M., WEST, T.S., The determination of selenium by atom-trapping atomic absorption spectrometry, *Anal. Chim. Acta* 141 (1982) 213-224
107. LAWRENCE, P., Macro-determination of carbon in agricultural materials by oxygen-bomb combustion and titrimetry, *Analyst* 105 (1980) 922-924
108. LÉGÈRE, G., SALIN, E., Capsule-based microwave digestion, *Appl. Spectrosc.* 49 (1995) 14A-22A
109. LEON, C.A.P., BAYON, M.M., CARUSO, J.A., Trace element determination in vitamin E using ICP-MS, *Anal. Bioanal. Chem.* 374 (2002) 230-234
110. LEVINE, K.E., BATCHELOR, J.D., RHOADES, C.B., JONES, B.T., Evaluation of a high-pressure, high-temperature microwave digestion system, *J. Anal. At. Spectrom.* 14 (1999) 49-59
111. LIEDERMAN D., GLASS, J.R., A modified Wickbold combustion apparatus for the determination of sulfur in liquid hydrocarbons, *Microchem. J.* 10 (1966) 211-217

112. LIGHT, T.S., MANNION, R.F., Microdetermination of fluorine in organic compounds by potentiometric titration using a fluoride electrode, *Anal. Chem.* 41 (1969) 107-111
113. LONG, S.E., KELLY, W.R., Determination of mercury in coal by isotope dilution cold-vapor generation inductively coupled plasma mass spectrometry, *Anal. Chem.* 74 (2002) 1477-1483
114. LOZAK, A., FIJALEK, Z., SARNA, K., Voltammetric and EQCM studies on selenium(IV) at mercury, gold and glassy carbon electrodes in the presence of Cu(II), Au(III), Pb(II) and Cd(II), *Electroanal.* 10 (1998) 846-851
115. MacDONALD, A.M.G., *Advances in analytical chemistry and instrumentation* (1960) 75-116
116. MacDONALD, A.M.G., *Submicro-methods for the analysis organic compounds. Part XVIII* (1964) 3560-3563
117. MacDONALD, A.M.G., *Submicro-methods of organic analysis. Part XIV* (1962) 1938-1942
118. MAHAN, K.I., FODERARO, T.A., GARZA, T.L., MARTINEZ, R.M., MARONEY, G.A., TRIVISONNO, M.R., WILLGING, E.M., Microwave digestion techniques in the sequential extraction of calcium, iron, chromium, manganese, lead, and zinc in sediments, *Anal. Chem.* 59 (1987) 938-945
119. MAICHIN, B., ZISHKA, M., KNAPP, G., Pressurized wet digestion in open vessels, *Anal. Bioanal. Chem.* 376 (2003) 715-720
120. MAIR, J.W., DAY, H.G., Curcumin method for spectrophotometric determination of boron extracted from radio frequency ashed animal tissues using 2-ethyl-1,3-hexanediol, *Anal. Chem.* 44 (1972) 2015-2017
121. MATUSIEWICZ, H., Development of a high pressure/temperature focused microwave heated teflon bomb for sample preparation, *Anal. Chem.* 66 (1994) 751-755
122. MATUSIEWICZ, H., Development of a High-Pressure Asher Focused Microwave System for Sample Preparation, *Anal. Chem.* 71 (1999) 3145-3149
123. McCARTHY, H.T., ELLIS, C., Comparison of microwave digestion with conventional wet ashing and dry ashing digestion for analysis of lead, cadmium, chromium, copper and zinc in shellfish by flame atomic-absorption spectroscopy, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 74 (1991) 566-569
124. Mercury Analysis Working Party of BITC, Standardization 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

125. MINGORANCE, M.D., PÉREZ-VASQUEZ, M.L., LACHICA, M., Microwave digestion methods for the atomic spectrometric determination of some elements in biological samples, *J. Anal. At. Spectrom.* 8 (1993) 853-858
126. MIYAHARA, T., OGAI, F., KITAMURA, H., NARITA, K., TAKINO, Y., TOYO'OKA, T., Determination of Fluorine in Organic Compounds by Potentiometric Titration with Aluminum Chloride Solution Combined with Oxygen Flask Combustion, *Anal. Sci.* 14 (1998) 1145-1147
127. MULFORD, C.E., Low-Temperature Ashing for the Determination of Volatile Metals by Atomic Absorption Spectroscopy, *At. Absorp. Newsl.* 5 (1966) 135-139
128. MULLER, M., HEUMANN, K.G., Isotope dilution inductively coupled plasma quadrupole mass spectrometry in connection with a chromatographic separation for ultra trace determinations of platinum group elements (Pt, Pd, Ru, Ir) in environmental samples, *Fresenius J. Anal. Chem.* 368 (2000) 109-115
129. NADKARNI, R.A., Applications of microwave oven sample dissolution in analysis, *Anal. Chem.* 56 (1984) 2233-2237
130. NADKARNI, R.A., Multitechnique multielemental analysis of coal and fly ash, *Anal. Chem.* 52 (1980) 929-935
131. NADKARNI, R.A., POND, D.M., Application of ion chromatography for determination of selected elements in coal and oil shale, *Anal. Chim. Acta* 146 (1983) 261-266
132. NARASAKI, H., Determination of cadmium in polished rice by low-temperature ashing and atomic absorption spectrometry, *Anal. Chim. Acta* 104 (1979) 393-395
133. NARASAKI, H., Determination of arsenic and selenium in fat materials and petroleum products by oxygen bomb combustion and automated atomic absorption spectrometry with hydride generation, *Anal. Chem.* 57 (1985) 2481-2486
134. National Academy of Sciences-NAS, *Copper: Recommended dietary allowances*, Washington (1980) 151-154
135. National Academy of Sciences, National Research Council-NAS/NRC, *Zinc: Recommended dietary allowances*, National Academy Press, 10th ed., Washington (1989) 205-213
136. NÓBREGA, J.A., TREVIZAN, L.C., ARAÚJO, G.C.L., NOGUEIRA, A.R.A., Focused-microwave-assisted strategies for sample preparation, *Spectrochim. Acta* 57B (2002) 1855-1876
137. NOVIC, M., DOVZAN, A., PIHLAR, B., HUDNIK, V., Determination of chlorine, sulphur and phosphorus in organic materials by ion chromatography using electro dialysis sample pretreatment, *J. Chromatogr. A* 704 (1995) 530-534

138. OLES, P.J., GRAHAM, W.M., Microwave acid digestion of various food matrices for nutrient determination by atomic-absorption spectrophotometry, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 74 (1991) 812-814
139. ONG, E.S., YONG, Y.L., WOO, S.O., Determination of arsenic in traditional Chinese medicine by microwave digestion with flow injection-inductively coupled plasma mass spectrometry (FI-ICP-MS), *J. AOAC Int.* 82 (1999) 963-967
140. OSTERMANN, M., BERGLUND, M., TAYLOR, P.D.P., Measurement of the content of sulfur in gas oils using a high pressure asher, isotope dilution and thermal ionization mass spectrometry, *J. Anal. Atom. Spectrom.* 17 (2002) 1368-1372
141. PAULSEN, P.J., KELLY, W.R., Determination of sulfur as arsenic monosulfide ion by isotope dilution thermal ionization mass spectrometry, *Anal. Chem.* 56 (1984) 708-713
142. PEIXOTO, N.C., ROZA, T., FLORES, E.M.M., PEREIRA, M.E., Effects of zinc and cadmium on HgCl₂-δ-ALA-D inhibition and Hg levels in tissues of suckling rats, *Toxicol. Lett.* 146 (2003) 17-25
143. PEREIRA, E.R., ARRUDA, M.A.Z., Mechanised flow system for on-line microwave digestion of food samples with off-line catalytic spectrophotometric determination of cobalt at ng l(-1) levels, *Analyst* 124 (1999) 1873-1877
144. PERRING, L., ANDREY, D., Optimization and validation of total mercury determination in food products by cold vapor AAS: Comparison of digestion methods and with ICP-MS analysis, *Atom. Spectrosc.* 22 (2001) 371-378
145. PFAENDER, H.G.; SCHRÖDER, H., Schott Glaslexikon, Moderne Verlagsgesellschaft mbH (1989) 101-102
146. PICHLER, U., HAASE, A., KNAPP, G., MICHAELIS, M., Microwave-enhanced flow system for high-temperature digestion of resistant organic materials, *Anal. Chem.* 71 (1999) 4050-4055
147. PILLAY, K.K.S., THOMAS, C.C., SONDEL, J.A., HYCHE, C.M., Determination of mercury in biological and environmental samples by neutron activation analysis, *Anal. Chem.* 43 (1971) 1419-1425
148. POTTER, T.L., Determination of total organic chloride in solid waste, *Anal. Chem.* 56 (1984) 2987-2988
149. RAPTIS, S.E.; WEGSCHELDER, W.; KNAPP, G.; TÖLG, G., X-ray fluorescence determination of trace selenium in organic and biological matrices, *Anal. Chem.* 52 (1980) 1292-1296

150. RAPTIS, S.E., KNAPP, G., SCHALK, A.P., Novel method for the decomposition of organic and biological materials in an oxygen plasma excited at high frequency for elemental analysis, *Fresenius Z. Anal. Chem.* 316 (1983) 482-487
151. 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
152. RENTERGHEM, D.V., CORNELIS, R., VANHOLDER, R., Radiochemical determination of twelve trace elements in human blood serum, *Anal. Chim. Acta* 257 (1992) 1-5
153. RINGMANN, S., BOCH, K., MARQUARDT, W., SCHUSTER, M., SCHLEMMER, G., KAINRATH, P., Microwave-assisted digestion of organoarsenic compounds for the determination of total arsenic in aqueous, biological, and sediment samples using flow injection hydride generation electrothermal atomic absorption spectrometry, *Anal. Chim. Acta* 452 (2002) 207-215
154. ROGERS, R.N., YASUDA, S.K., Rapid microdetermination of fluorine in organic compounds, *Anal. Chem.* 31 (1959) 616-617
155. ROWAB, C.A., ZAJICEK, O.T., CALABRESE, E.J., Dry ashing vegetables for the determination of sodium and potassium by atomic-absorption spectrometry, *Anal. Chem.* 54 (1982) 149-151
156. ROWE, R.D., Wickbold combustion and spectrophotometric analysis procedure for trace amounts of organic chlorine in viscous polybutene polymers, *Anal. Chem.* 37 (1965) 368-370
157. 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
158. SCHOLZE, H., *Glas Natur, Struktur und Eigenschaften*, Springer-Verlag (1988) 121
159. SCHÖNIGER, W., Die kolbenmethode in der organischen mikroelementaranalyse, *Fresenius Z. Anal. Chem.* 181(1961) 28-39
160. SILVESTRE, M.D., LAGARDA, M.J., FARRÉ, R., MARTÍNEZ-COSTA, C., BRINES, J., Copper, iron and zinc determinations in human milk using FAAS with microwave digestion, *Food Chem.* 68 (2000) 95-99
161. SMITH, F.E., ARSENAULT, E.A., Microwave-assisted sample preparation in analytical chemistry, *Talanta* 43 (1996) 1207-1268
162. SOUZA, G.B.; CARRILHO, E.N.V.M.; OLIVEIRA, C.V., NOGUEIRA, A.R.A.; NÓBREGA, J.A., Oxygen bomb combustion of biological samples for inductively

- coupled plasma optical emission spectrometry, *Spectrochim. Acta* 57B (2002) 2195-2201
163. SPERLING, K.R., Determination of Cd traces in environmental samples, em "Fortschritte in der Atomspektrometrischen Spurenanalytik", Band 2, ed. B. WELZ, VCH, Weinheim, (1984) 385-401
164. STOEPLER, M., BACKHAUS, F., Pretreatment studies with biological and environmental materials 1. systems for pressurized multisample decomposition, *Fresenius Z. Anal. Chem.* 291 (1978) 116-120
165. STOICA, A.I., BABAU, G.R., IORGULESCU, E.E., MARINESCU, D., BAIULESCU, G.E., Differential pulse cathodic stripping voltammetric determination of selenium in pharmaceutical products, *J. Pharmaceut. Biomed.* 30 (2002) 1425-1429
166. SULCEK, Z., POVONDRA, P., *Methods of decomposition in inorganic analysis*, CCR, Florida (1989) 3-5, 274
167. SWEETSER, P.B., Decomposition of organic fluorine compounds by Wickbold oxyhydrogen flame combustion method, *Anal. Chem.* 28 (1956) 1766-1768
168. THOMAS, J., GLUSKOTER, H.J., Determination of fluoride in coal with the fluoride ion-selective electrode, *Anal. Chem.* 46 (1974) 1321-1323
169. TOLG, G.; HAN, H.; KAISER, 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
170. TOLG, G.; HAN, H.; KAISER, G., Decomposition of biological materials, rocks and soils with simultaneous volatilization of trace elements in pure oxygen under dynamic conditions, *Anal. Chim. Acta*, 134 (1982) 3-11
171. TUCKERMAN, M.M., HODECKER, J.H., SOUTHWORTH, B.C., FLEISCHER, K.D., Determination of arsenic in organic compounds rapid micro and semimicro methods, *Anal. Chim. Acta* 21 (1959) 463-467
172. URE, A.M., SHAND, C.A., The determination of mercury in soils and related materials by cold-vapour atomic absorption spectrometry, *Anal. Chim. Acta* 72 (1974) 63-77
173. VALENTA, P., RÜTZEL, H., NÜRNBERG, H.W., STOEPLER, M., Trace chemistry of toxic metals in biomatrices, *Fresenius Z. Anal. Chem.* 285 (1977) 25-34
174. VALIENTE, L., PICCINNA, M., ALE, E.R., GRILLO, A., SMICHOWSKI, P., Determination of selenium in dietary supplements by ETAAS and HG-AAS: A comparative study, *At. Spectrosc.* 23 (2002) 129-134

175. VICKERS, C., WILKINSON, J.V., Flask combustion technique in pharmaceutical analysis – mercury containing substances, *J. Pharm. Pharmacol. S* 13(1961) 156-160
176. VOGT, C., Speciation of the inorganic components in brown coal, *Fresenius J. Anal. Chem.* 350 (1994) 89-92
177. WALSH, P.R, FASCHING, J.L., DUCE, R.A., Losses of arsenic during the low temperature ashing of atmospheric particulate samples, *Anal. Chem.* 48 (1976) 1012-1014
178. WANG, C.Y., ZHOU, Y.M., YANG, W.Z., Fluoride Electrode-Coupled Minicomputer for Determination of Fluoride in Human Hair, *Microchem. J.* 51 (1995) 374-378
179. WATANABE, N., ITO, H., Anaysis of waste for combustion: the case of Osaka City, Japan, *Resour. Conserv. Recy.* 20 (1997) 57-69
180. WICKBOLD, R., Neue Schnellmethode zur halogenbestimmung in organischen substanzen, *Angew. Chem.* 64 (1952) 133-135
181. WILLIAMS, E.V., Low-temperature oxygen-fluorine radiofrequency ashing of biological materials in poly(tetrafluorethylene) dishes prior to the determination of tin, iron, lead and chromium by atomic-absorption spectroscopy, *Analyst* 107 (1982) 1006-1013
182. 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
183. ZBINDEN, P., ANDREY, D., BLAKE, C., A routine ion chromatography ICP-MS method for the analysis of arsenic species applicable in the food industry, *Atom. Spectrosc.* 21 (2000) 205-215