

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Diogo Mauricio Betiolo

**DECOMPOSIÇÃO DE AMOSTRAS DE ALIMENTOS EMPREGANDO
ÁCIDO NÍTRICO DILUÍDO E PRESSURIZAÇÃO COM DIFERENTES
GASES EM SISTEMA DE CÂMARA ÚNICA DE REAÇÃO ASSISTIDA
POR RADIAÇÃO MICRO-ONDAS**

Santa Maria, RS

2017

**DECOMPOSIÇÃO DE AMOSTRAS DE ALIMENTOS EMPREGANDO
ÁCIDO NÍTRICO DILUÍDO E PRESSURIZAÇÃO COM DIFERENTES
GASES EM SISTEMA DE CÂMARA ÚNICA DE REAÇÃO ASSISTIDA
POR RADIAÇÃO MICRO-ONDAS**

por

Diogo Mauricio Betiolo

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

2017

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

A Comissão Examinadora abaixo assinada, aprova a Dissertação de Mestrado

**DECOMPOSIÇÃO DE AMOSTRAS DE ALIMENTOS EMPREGANDO
ÁCIDO NÍTRICO DILUÍDO E PRESSURIZAÇÃO COM DIFERENTES
GASES EM SISTEMA DE CÂMARA ÚNICA DE REAÇÃO ASSISTIDA
POR RADIAÇÃO MICRO-ONDAS**

Elaborada por

Diogo Mauricio Betiolo

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

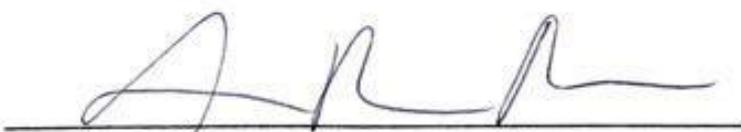
COMISSÃO EXAMINADORA:



Prof. Dr. Cezar Augusto Bizzi - Orientador (UFSM-RS)



Prof. Dr. Juliano Smanioto Barin (UFSM-RS)



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

Santa Maria, 23 de Março de 2017.

Declaração,

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

Diogo M. Betiolo

Diogo Mauricio Betiolo

***Dedico este trabalho aos meus pais
Adelio e Marli.***

AGRADECIMENTOS

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

Ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)**, pelo apoio financeiro para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Prof. Dr. **Cezar Augusto Bizzi**, pela orientação, pela oportunidade de realizar este trabalho, pelo apoio e amizade, além da transmissão de conhecimentos e exemplo profissional.

Ao Prof. Dr. **Érico Marlon de Moraes Flores**, pela co-orientação, pela amizade e pelo exemplo de dedicação profissional.

Aos Profs. Drs. **Juliano S. Barin e Sérgio R. Mortari** pela participação na banca examinadora e pelas valiosas sugestões que contribuíram para este trabalho.

Aos Profs. Drs. **Valderi L. Dressler, Fábio A. Duarte, Edson I. Müller, Paola A. Mello, Rodrigo C. Bolzan e Rochele S. Picolotto**, pelo exemplo profissional, pela amizade, incentivo e sugestões para a melhoria deste trabalho.

A **Letícia S. F. Pereira** e ao **Matheus F. Pedrotti** pelo auxílio durante o desenvolvimento deste trabalho.

Aos colegas e funcionários do **LAQIA/CEPETRO**, pela amizade, apoio e companheirismo demonstrados.

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

Aos meus amigos **Danian A. Dugato, João P. Gazola e Jeferson P. Azambuja** pelos momentos de reflexão sobre química, física e filosofia.

Em especial, agradeço as pessoas em quem sempre pude confiar: **meu pai Adelio, minha mãe Marli e meus irmãos Jean e Lucas**.

SUMÁRIO

SUMÁRIO	vii
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE TABELAS	xiv
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xv
RESUMO.....	xvi
ABSTRACT.....	xvii
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
2.1 MÉTODOS DE PREPARO DE AMOSTRA	6
2.1.1 Decomposição por via úmida.....	7
2.1.2 Aquecimento convencional.....	8
2.1.3 Aquecimento por radiação micro-ondas.....	9
2.1.4 Decomposição por via úmida em sistema fechado.....	10
2.1.5 Eficiência de decomposição.....	12
2.1.6 Uso de ácidos na decomposição por via úmida.....	13
2.1.7 Emprego de HNO₃ diluído para o preparo de amostras.....	15
2.1.8 A eficiência da decomposição usando solução de HNO₃ diluído e o efeito de reagentes auxiliares	16
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	19
3.1 INSTRUMENTAÇÃO.....	20
3.2 MATERIAIS, REAGENTES E AMOSTRAS	22
3.3 PROCEDIMENTOS DE DESCONTAMINAÇÃO.....	23
3.4 PREPARO DE AMOSTRA	23
3.4.1 Decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas em câmara única de reação (MAD-SRC).....	24

3.4.1.1 Avaliação da temperatura e composição da fase gasosa na decomposição de leite em pó integral por decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas em câmara única de reação (MAD-SRC)	26
3.4.1.2 Avaliação da pressão de O ₂ , N ₂ ou Ar como composição da fase gasosa na decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas em câmara única de reação (MAD-SRC)	27
3.4.1.3 Avaliação do uso de tampas modificadas na decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas em câmara única de reação (MAD-SRC)	27
3.4.1.4 Avaliação do efeito da concentração de HNO ₃ sobre a eficiência de decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas em câmara única de reação (MAD-SRC)	28
3.4.1.5 Decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas em câmara única de reação (MAD-SRC) com frascos modificados.....	28
3.4.2 Procedimento de decomposição em meio ácido em sistema de alta pressão e temperatura (HPA)	29
3.4.2.1 Avaliação do efeito da concentração de HNO ₃ sobre a eficiência de decomposição em sistema de alta pressão e temperatura com aquecimento convencional (HPA)	31
4 APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	33
4.1 AMOSTRAS	34
4.2 AVALIAÇÃO DO MÉTODO DE DECOMPOSIÇÃO EMPREGANDO H₂O₂ COM HNO₃ DILUÍDO EM FORNO DE ALTA PRESSÃO E TEMPERATURA (HPA).....	36
4.3 AVALIAÇÃO DA TEMPERATURA NO MÉTODO DE DECOMPOSIÇÃO EMPREGANDO HNO₃ DILUÍDO E PRESSURIZAÇÃO COM Ar, O₂ E N₂ EM CÂMARA ÚNICA DE REAÇÃO (MAD-SRC).....	41
4.4 AVALIAÇÃO DA TEMPERATURA NA EFICIÊNCIA DE DIGESTÃO DE LEITE EM PÓ INTEGRAL EMPREGANDO HNO₃ DILUÍDO E PRESSURIZAÇÃO COM Ar, O₂ OU N₂ EM CÂMARA ÚNICA DE REAÇÃO (MAD-SRC)	43

4.5 AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE DECOMPOSIÇÃO DE LINHAÇA, FÍGADO BOVINO, SALSA E LEITE EM PÓ INTEGRAL EMPREGANDO HNO ₃ DILUÍDO E PRESSURIZAÇÃO COM O ₂ NO SISTEMA MAD-SRC.....	49
4.6 DETERMINAÇÃO DE METAIS POR ICP-OES APÓS A DECOMPOSIÇÃO DE LINHAÇA, FÍGADO BOVINO, SALSA E LEITE EM PÓ INTEGRAL EMPREGANDO HNO ₃ DILUÍDO E PRESSURIZAÇÃO COM O ₂ NO SISTEMA MAD-SRC.....	51
4.7 AVALIAÇÃO DA EXATIDÃO DO MÉTODO PROPOSTO PELA DETERMINAÇÃO DE METAIS NA DECOMPOSIÇÃO DE CRM'S EMPREGANDO HNO ₃ DILUÍDO E PRESSURIZAÇÃO COM O ₂ NO SISTEMA MAD-SRC.....	53
4.8 AVALIAÇÃO DOS PERFIS DE TEMPERATURA E DE PRESSÃO PARA A DECOMPOSIÇÃO EMPREGANDO HNO ₃ DILUÍDO E PRESSURIZAÇÃO COM Ar, O ₂ E N ₂ EM CÂMARA ÚNICA DE REAÇÃO (MAD-SRC) COM TAMPAS MODIFICADAS	55
4.9 AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA FASE GASOSA NA EFICIÊNCIA DE DECOMPOSIÇÃO PARA AMOSTRAS ORGÂNICAS COM USO DE HNO ₃ DILUÍDO E PRESSURIZAÇÃO COM Ar, N ₂ OU O ₂ EMPREGANDO TAMPAS MODIFICADAS PARA OS FRASCOS REACIONAIS NO SISTEMA MAD-SRC.....	57
4.10 AVALIAÇÃO DO VOLUME DE SOLUÇÃO DE HNO ₃ EM FRASCOS REACIONAIS APÓS A DECOMPOSIÇÃO NO SISTEMA MAD-SRC COM TAMPAS MODIFICADAS.....	64
4.11 DETERMINAÇÃO DE METAIS POR ICP-OES EM LEITE EM PÓ INTEGRAL EMPREGANDO HNO ₃ DILUÍDO E PRESSURIZAÇÃO COM Ar, N ₂ E O ₂ NO SISTEMA MAD-SRC COM TAMPAS MODIFICADAS.....	66
4.12 DETERMINAÇÃO DE METAIS, C E AVALIAÇÃO DA RA NA CAVIDADE REACIONAL DO SISTEMA MAD-SRC EMPREGANDO Ar, N ₂ E O ₂	68
4.13 AVALIAÇÃO DO SISTEMA MAD-SRC COM FRASCOS MODIFICADOS.....	72
4.14 DETERMINAÇÃO DE METAIS EM LEITE EM PÓ INTEGRAL APÓS DIGESTÃO NO SISTEMA MAD-SRC COM FRASCOS MODIFICADOS.....	74
5 CONCLUSÕES	76
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	78

LISTA DE FIGURAS

-
- Figura 1.** Representação das etapas envolvidas na digestão de amostras usando o sistema SRC (UltraWAVE).....24
- Figura 2.** a) Sistema UltraWAVE; b) frasco único de reação (900 mL) com adição de 130 mL de H₂O e 5 mL de HNO₃ (14,4 mol L⁻¹); c) visão frontal/superior do sistema SRC; d) vista fronta do sistema SRC com rotor e frascos posicionados; e) rotor com frascos de quartzo e amostras após banho-maria (etapa de umidificação das amostras); f) posicionamento do rotor com frascos e amostras no sistema SRC, vista superior/lateral.....25
- Figura 3.** Tampas utilizadas na avaliação do sistema SRC. Sequência: (N) tampa normal; (1) tampa com 1 orifício; (3) tampa com 3 orifícios; e (S) sem tampa.27
- Figura 4.** a) vista superior da cavidade do sistema SRC com três frascos reacionais adaptados e, b) vista ampliada da cavidade do sistema SRC com os três frascos reacionais adaptados.29
- Figura 5.** a) vista frontal do sistema HPA; b) vista superior da cavidade com rotor e frascos fechados do sistema; c) controlador do sistema HPA e d) suporte com frascos de quartzo contendo 3 frascos com amostra e solução digestora e 2 com solução digestora (branco).....30
- Figura 6.** Resumo dos métodos de preparo de amostras empregados e dos parâmetros avaliados nesse trabalho.32
- Figura 7.** Perfis de distribuição do tamanho de partículas nas amostras de (—) leite em pó integral, (—) linhaça, (—) salsa e (—) fígado bovino....35
- Figura 8.** Gráfico de (■) RCC e (—) RA para amostras de leite em pó integral. ...36
- Figura 9.** Gráfico de (■) RCC e (—) RA para amostras de leite em pó integral. ...38
- Figura 10.** Gráfico da avaliação de (■) RCC e (■) RA na decomposição de materiais de referência certificados.39
- Figura 11.** Perfil de temperatura e pressão no sistema UltraWAVE, onde é mostrado (—) temperatura interna da cavidade, (—) pressão com ar comprimido e (—) pressão com O₂.....42

- Figura 12.** Aspecto das amostras digeridas nos procedimento de pressurização com N₂, ar e O₂ para avaliação da eficiência de decomposição no sistema MAD-SRC..... 44
- Figura 13.** Resultados para RCC após digestão no sistema MAD-SRC, de leite em pó integral. Condições utilizadas: tempo de permanência de 10 min, temperaturas de 180 a 270 °C, concentrações apresentadas para HNO₃ de 1 a 3 mol L⁻¹ e pressurizações com ar, O₂ ou N₂ a 20 bar. Os caracteres (ND) indicam que a digestão foi pouco eficiente, sendo estas amostras caracterizadas como impróprias para análises. (■) HNO₃ 1 mol L⁻¹; (■) HNO₃ 2 mol L⁻¹; e (■) HNO₃ 3 mol L⁻¹. 45
- Figura 14.** Efeito da pressão de O₂ no RCC para a decomposição de leite em pó integral usando solução de HNO₃ 1 mol L⁻¹ a 270 °C no sistema MAD-SRC, n=3. 47
- Figura 15.** Comparação da eficiência de digestão entre os sistemas MAD-SRC e HPA empregando O₂ e H₂O₂, respectivamente (T máxima de 270 °C). (■) RCC usando solução de HNO₃ 1 mol L⁻¹ e 0,1 mL de H₂O₂ 50% e (■) RCC usando solução de HNO₃ 1 mol L⁻¹ e 0,9 mL de H₂O₂ 50% (HPA); (■) RCC usando HNO₃ 1 mol L⁻¹ e 50 bar de O₂ (MAD-SRC). 48
- Figura 16.** Decomposição de amostras botânicas e biológicas usando pressão de (■) RCC, usando 40 bar de O₂ com HNO₃ 1 mol L⁻¹ e (■) RCC, usando 50 bar de O₂ com HNO₃ 1 mol L⁻¹, n=3. 49
- Figura 17.** Perfil de temperatura e pressão para digestões de leite em pó integral no sistema MAD-SRC usando tampas modificadas para os gases (—) N₂, 50 bar; (—) N₂, 20 bar; (—) Ar, 50 bar; (—) Ar, 20 bar; (—) O₂, 50 bar; e (—) O₂, 20 bar; (—) temperatura, °C. 56
- Figura 18.** Resultados para (■) RCC e (—) RA da digestão de leite em pó integral usando tampas modificadas no sistema MAD-SCR pressurizado com N₂. (N) tampa normal; (1) tampa com 1 orifício; (3) tampa com 3 orifícios; (S) sem tampa; e (BC) branco com tampa normal. 58

- Figura 19.** Resultados para (■) RCC e (—) RA da digestão de leite em pó integral usando tampas modificadas no sistema MAD-SCR, pressurizados com Ar. (N) tampa normal; (1) tampa com 1 orifício; (3) tampa com 3 orifícios; (S) sem tampa; e (BC) branco com tampa normal..... 59
- Figura 20.** Resultados para (■) RCC e (—) RA da digestão de leite em pó integral usando tampas modificadas no sistema MAD-SCR, pressurizado com O₂. (N) tampa normal; (1) tampa com 1 orifício; (3) tampa com 3 orifícios; (S) sem tampa; e (BC) branco com tampa normal..... 60
- Figura 21.** Representação dos frascos reacionais e reações promovidas no interior dos frascos no sistema MAD-SRC. a) tampa normal e b) tampa com 3 orifícios..... 61
- Figura 22.** Representação do sistema MAD-SRC com a cavidade com vapor de HNO₃ e frascos com tampas modificadas. As setas indicam a troca de fase vapor e gasosa nos frascos reacionais e sua intensidade associada ao tamanho de cada seta. (N) tampa normal; (1) tampa com 1 orifício; (3) tampa com 3 orifício; e (S) sem tampa..... 62
- Figura 23.** Representação dos sistemas (a) MAD-SRC e (b) HPA e das fases gasosas envolvidas em cada sistema..... 63
- Figura 24.** Frascos reacionais logo após a digestão de 250 mg de leite em pó integral com solução de HNO₃ 1 mol L⁻¹ e pressurização de Ar a 20 bar. (N) tampa normal; (1) tampa com 1 orifício; (S) sem tampa; (3) tampa com 3 orifícios e; (BC) branco com tampa normal..... 64
- Figura 25.** Gráfico de comparação da recuperação de Ca, K, Mg, Na, Zn e Ba após digestão por MAD-SRC com pressurização com os gases Ar, N₂ e O₂. (■) tampa normal; (■) tampa com 1 orifício; (■) tampa com 3 orifícios; (■) sem tampa. A condição de 50 bar com tampa normal foi considerada como condição de referência para os demais. 67
- Figura 26.** Resultados para C (mg L⁻¹) na solução reacional da cavidade. (■) cavidade antes do procedimento de digestão; (■) pressurização com O₂; (■) pressurização com Ar; e (■) pressurização com N₂. 70

- Figura 27.** Avaliação da influência da fase gasosa/vapor na digestão de amostras de leite em pó integral quando utilizados os frascos do sistema HPA no sistema MAD-SCR. Frascos reacionais nas três condições especificadas para a digestão de leite em pó integral: (1) frasco sem tampa; (2) frasco com tampa fechada e; (3) frasco com tampa com orifício..... 72
- Figura 28.** Resultados de (■) RCC e (■) RA para digestão de leite em pó integral no sistema MAD-SRC-O₂ com frascos modificados. Pressão inicial de 50 bar de O₂..... 74

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Condições operacionais para a determinação de metais e C por ICP-OES.	21
Tabela 2.	Determinação do diâmetro de partícula (μm) nas amostras de salsa, fígado bovino, leite em pó integral e linhaça, $n=5$	35
Tabela 3.	Resultados obtidos para a determinação de metais em CRMs de <i>Corn Bran</i> e <i>Whole Milk Powder</i> após decomposição com HNO_3 1 mol L^{-1} + $0,9 \text{ mL}$ de H_2O_2 50% e tempo de permanência de 30 min a $320 \text{ }^\circ\text{C}$ no sistema HPA. Valores em $\mu\text{g g}^{-1}$, média \pm desvio padrão, $n = 3$	40
Tabela 4.	Resultados para metais em amostras biológicas e botânicas após digestão utilizando sistema MAD-SRC com pressurização de O_2 e solução de HNO_3 1 mol L^{-1} . Valores em $\mu\text{g g}^{-1}$, média \pm desvio padrão, $n = 3$	52
Tabela 5.	Resultados para metais por ICP-OES após digestão de CRM's utilizando sistema MAD-SRC com pressurização de O_2 e solução de HNO_3 1 mol L^{-1} . Valores em $\mu\text{g g}^{-1}$, média \pm desvio padrão, $n = 3$	54
Tabela 6.	Volume de solução após digestão para cada pressão inicial e gás utilizado no sistema MAD-SRC nos experimentos com tampas modificadas. Frascos reacionais com (N) tampa normal; (1) tampa com 1 orifício; (3) tampa com 3 orifícios; (S) sem tampa e, (BC) branco. Valores em mL, média \pm desvio padrão, $n=3$	65
Tabela 7.	Resultados obtidos para RA na cavidade do sistema MAD-SRC para diferentes pressurizações com Ar ou O_2	69
Tabela 8.	Resultados para Ba, Ca, Fe, Mg, Mn, Sr, Zn, K e Na por ICP-OES após digestão por MAD-SRC (250 mg de leite em pó integral, 6 mL de HNO_3 1 mol L^{-1}). Valores em $\mu\text{g g}^{-1}$, média \pm desvio padrão, $n=3$	75

LISTA DE ABREVIATURAS

- CRM, material de referência certificado, do inglês, *certified reference material*
- DOC, carbono orgânico dissolvido, do inglês, *dissolved organic carbon*
- ICP-MS, espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado, do inglês, *inductively coupled plasma mass spectrometry*
- ICP-OES, espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado, do inglês, *inductively coupled plasma optical emission spectrometry*
- HPA, forno de alta pressão e temperatura, do inglês, *high pressure asher*
- LOD, limite de detecção, do inglês, *limit of detection*
- LOQ, limite de quantificação, do inglês, *limit of quantification*
- MAD, digestão assistida por radiação micro-ondas, do inglês, *microwave-assisted digestion*
- MAD-SRC, digestão assistida por radiação micro-ondas em câmara única de reação, do inglês, *microwave assisted digestion single reaction chamber*
- MIC, combustão iniciada por micro-ondas, do inglês, *microwave-induced combustion*
- PFA, Polifluoralcóxielileno
- PTFE, Politetrafluoretileno
- RA, acidez residual, do inglês, *residual acidity*
- RCC, teor de carbono residual, do inglês, *residual carbon content*
- RSD, desvio-padrão relativo, do inglês, *relative standard deviation*
- SRC, câmara única de reação, do inglês, *single reaction chamber*
- SRC-O₂, câmara única de reação com pressurização com oxigênio
- T.E., temperatura de ebulição
- TOC, carbono orgânico total, do inglês, *total carbon content*

RESUMO

No presente trabalho foi avaliado o uso de um sistema de câmara única de reação (SRC – *Single Reaction Chamber*) para a decomposição de amostras de alimentos por via úmida assistida por radiação micro-ondas. Investigou-se a possibilidade da utilização de soluções diluídas de HNO_3 para a decomposição das amostras, juntamente com a possibilidade do uso de O_2 como reagente auxiliar de digestão. O emprego de diferentes gases (ar comprimido, Ar, N_2 e O_2) foi feito para avaliar a influência destes na eficiência de decomposição. Leite em pó integral foi utilizado como amostra modelo para os testes de pressurização com diferentes gases. Tampas modificadas foram desenvolvidos para avaliar a influência da fase gasosa na digestão de leite em pó integral, bem como possibilitar uma melhor compreensão das reações de oxidação da matéria orgânica. Comparativamente a este estudo, um sistema com aquecimento convencional – decomposição por via úmida em forno de alta pressão e temperatura (HPA – *High Pressure Asher*) foi empregado para o estudo da influência da fase gasosa na decomposição de leite em pó integral. Para o HPA foi avaliado o uso de H_2O_2 e HNO_3 como solução digestora. Nesse sistema, foi avaliado a temperatura, concentração do HNO_3 , volume de H_2O_2 e o tempo de decomposição. O estudo da eficiência de decomposição de cada sistema foi feito com base no teor de carbono residual (RCC) e acidez residual (RA) para os digeridos. Para as melhores condições foram determinados metais (Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Sr e Zn) por ICP-OES. Os resultados indicaram que o sistema MAD-SRC utilizando O_2 apresenta alta eficiência de digestão, além de possibilitar que múltiplas amostras com características distintas sejam decompostas ao mesmo tempo. Para o sistema HPA foram observadas contaminações para determinação de Fe. A exatidão foi avaliada para os dois sistemas empregando materiais de referência certificado de leite em pó integral (NIST 8435 *Whole Milk Powder*), fígado bovino (NIST 1577^a *Bovine Liver*) e farinha de milho (NIST 8433 *Corn Bran*). O método proposto foi utilizado para digestão simultânea de amostras de linhaça, salsa, fígado bovino e leite em pó integral.

ABSTRACT

In the present work the use of a microwave-assisted wet digestion using a single reaction chamber system (MAD-SRC) at high pressure and temperature was evaluated for digesting food samples. It was evaluated the use of dilute solutions of HNO_3 for sample digestion. Oxygen was used as auxiliary reagent for sample digestion using diluted HNO_3 . The gas phase influence over the efficiency of sample digestion was performed by using different gases (compressed air, Ar, N_2 and O_2). Whole milk powder was used as a model sample for all the evaluations using different gases. Modified covers were developed to check the influence of gaseous phase in the digestion of whole milk powder, as well as provide a better understanding of the reactions of the organic matter oxidation. For comparison purposes, a sample digestion was performed using a high pressure asher (HPA), which is conventionally heated. This system was employed for evaluating. For the digestion using HPA system it was evaluated the use of HNO_3 solution (1 to 7 mol L^{-1}) with H_2O_2 . The digestion temperature, the concentration of HNO_3 , volume of H_2O_2 and the time of digestion was systematically evaluated. For both digestion system, MAD-SRC and HPA, the digestion efficiency was performed by means of residual carbon content (RCC) and residual acidity (RA) in the final digests. In the optimized sample digestion condition metals (Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Sr, and Zn) were determined by ICP-OES. The obtained results indicated that the MAD-SRC system using O_2 presented a better digestion efficiency, as well as enabling multiple samples with different compositions to be digested in the same run. The accuracy was evaluated by using certified reference materials (CRMs) of whole milk powder (NIST 8435 Whole Milk Powder), bovine liver (NIST 1577a Bovine Liver) and corn bran (NIST 8433 Corn Bran). The proposed method was used for simultaneously digestion of samples of linseed, parsley, bovine liver and whole milk powder.

1 INTRODUÇÃO

O preparo de amostras orgânicas para determinação elementar pode ser feito em sistemas abertos ou fechados, onde a oxidação da matéria orgânica ocorre por meio de uso de reagentes ácidos oxidantes (via úmida) ou por ação direta do oxigênio presente em fase gasosa (via seca). Nos sistemas abertos as amostras são decompostas em pressão atmosférica. Estes sistemas, quando empregados para via úmida, fazem uso de ácidos concentrados ou mistura de ácidos (ex.: HNO_3 , HClO_4 , H_2SO_4). Como a reação de oxidação ocorre sem aumento de pressão a limitação na decomposição da amostra está por conta da temperatura de ebulição dos reagentes, o que limita a eficiência de decomposição para cada reagente utilizado. Dentre os ácidos utilizados o H_2SO_4 apresenta a maior temperatura de ebulição e, assim, é utilizado em conjunto com outros ácidos para aumentar a temperatura de ebulição do meio reacional e favorecer a digestão das amostras. Como desvantagens dos sistemas abertos pode-se destacar a possibilidade de perdas de analitos por volatilização.¹

Nos sistemas fechados de digestão pode-se utilizar temperaturas mais elevadas que aquelas usadas nos sistemas abertos por via úmida, uma vez que a pressão aumenta de forma significativa no interior dos frascos reacionais, resultando no aumento da temperatura de ebulição das soluções. A temperatura nesses sistemas de digestão pode ser tão elevada quanto $320\text{ }^\circ\text{C}$, acima da temperatura de ebulição da maioria dos ácidos utilizados empregando sistema aberto. O sistema fechado proporciona uma redução nas perdas de analitos por volatilização, além de evitar possíveis contaminações.¹

As soluções mais utilizadas no preparo de amostras que empregam a via úmida são ácidos concentrados como HNO_3 , H_2SO_4 , HCl , HF entre outros. Dentre os ácidos mencionados, o HNO_3 é o mais utilizado devido à forte oxidação da matéria orgânica proporcionada pelo uso desse reagente. Quando esse ácido não é suficiente para oxidar a amostra, costuma-se usar uma mistura com H_2O_2 para aumentar a eficiência de decomposição. A combinação do H_2O_2 não é restrita ao HNO_3 podendo ser usada com os demais ácidos.¹

Independentemente de o sistema ser aberto ou fechado, a amostra pode ser aquecida de forma convencional (aquecimento por condução ou convecção) ou por micro-ondas (aquecimento dielétrico). Nos sistemas com aquecimento convencional o recipiente ou frasco é aquecido antes da mistura reacional, que posteriormente é aquecida por condução. A utilização de sistemas de decomposição por radiação micro-ondas foi um grande avanço na área de preparo de amostras. Esta forma de aquecimento proporciona diversas vantagens quando comparado ao aquecimento convencional, como: aquecimento uniforme da solução e da amostra, seletividade em relação aos materiais que absorvem a radiação micro-ondas (solução digestora) e rapidez. O aquecimento micro-ondas ocorre na mistura reacional preferencialmente, uma vez que os frascos utilizados nestes sistemas não são aquecidos por ação das micro-ondas. Essa uniformidade e seletividade no aquecimento micro-ondas fornece uma taxa mais elevada nos procedimentos de decomposição, melhorando a eficiência de decomposição.²⁻⁷

Além das vantagens acima descritas, como os frascos utilizados não aquecem ao interagir com a radiação micro-ondas, pode-se explorar a existência de um gradiente de temperatura no frasco reacional. Enquanto toda solução é aquecida praticamente ao mesmo tempo e de forma rápida, a fase vapor, a qual não interage com a radiação, não aquece na mesma proporção.⁸⁻¹⁰ Uma taxa de aquecimento muito maior é alcançada quando comparada aos sistemas convencionais, reduzindo significativamente o tempo de decomposição. Além disso, mecanismos relacionados à atuação da radiação micro-ondas em reações químicas não são completamente compreendidos e muitos estudos tem se voltado para uma melhor compreensão deste fenômeno de interação e aquecimento da matéria.^{11,12} A associação desses fatores tornou o método de decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas um dos métodos de preparo de amostras mais usados para diversas matrizes. A possibilidade de trabalhar com temperatura e pressão relativamente maiores, no que se refere à decomposição por via úmida em sistema fechado, representa uma melhora substancial devido ao aumento do poder oxidante dos reagentes ácidos.^{7,12-15}

O desenvolvimento tecnológico de materiais, componentes, sistemas eletrônicos e instrumentais permitiu a utilização de energia micro-ondas para o preparo de amostras. Este mesmo avanço tecnológico possibilitou que modernas instrumentações analíticas, corriqueiramente utilizadas para a determinação

elementar, fossem capazes de determinar elementos em concentrações cada vez menores. A evolução instrumental exige que sejam utilizados menores volumes de reagentes e, conseqüentemente, concentrações menores. Dessa forma, a utilização de reagentes ácidos diluídos tem sido considerada como um meio de extrema relevância. Uma forma de usar reagentes diluídos pode ser efetuada pela combinação destes com oxigênio nos métodos de digestão sem que a eficiência de decomposição seja afetada.^{9,16} Tal possibilidade deve-se a uma série de reações que ocorrem no interior dos frascos de decomposição, que resultam na regeneração do ácido e a possibilidade de emprego de soluções diluídas. Assim, pode-se alcançar limites de detecção cada vez melhores com técnicas analíticas como a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES, do inglês *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*) e a espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS, do inglês *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*), as quais geralmente são utilizadas para detecção de elementos em concentrações de $\mu\text{g L}^{-1}$ e ng L^{-1} , sendo um fator determinante para o avanço dos métodos.⁸⁻¹⁰

Recentemente, com o objetivo de se obter condições mais eficientes para decomposições por via úmida e, dessa forma, o sistema UltraWAVE (Milestone, Itália) foi desenvolvido. Este sistema pode suportar até 199 bar de pressão e 300 °C de temperatura máxima. Isso é possível porque uma cavidade metálica com um vaso em PTFE abriga os frascos de quartzo ou PTFE, que ficam parcialmente submersos em uma solução absorvedora de radiação micro-ondas. Os frascos possuem tampas com orifícios que permitem a equalização da pressão com a câmara. Antes de iniciar o programa de aquecimento, a câmara é pressurizada para evitar a projeção das soluções e, à medida que aquece, evitar perdas de analito por volatilização. Após o aquecimento, os produtos da decomposição da matéria orgânica são dispersos por todo o volume da câmara de reação, possibilitando a utilização de maiores massas de amostras sem comprometer a eficiência de decomposição.^{13,14,17} O sistema SRC foi originalmente desenvolvido para ser pressurizado com gases inertes, como Ar e N₂.

No presente trabalho foi proposto uma forma alternativa de utilizar o sistema SRC assistido por radiação micro-ondas (MAD-SRC). Com o objetivo de avaliar a influência da fase gasosa, bem como a possibilidade de utilização de soluções mais diluídas de HNO₃, o sistema foi pressurizado com diferentes gases (ar, O₂, N₂ e Ar),

para a decomposição de matrizes orgânicas e posterior determinação de metais por ICP-OES. A eficiência de digestão foi avaliada através da quantificação de carbono e acidez residuais dos digeridos. Além disso, foi feita a otimização dos parâmetros de concentração da solução ácida (HNO_3) e pressão inicial. Foi avaliado o uso de tampas modificadas para verificar a troca de gases entre os frascos e a cavidade a partir da melhora na eficiência de decomposição das amostras. Ademais, o procedimento proposto foi comparado com um sistema de decomposição utilizando forno de alta pressão e temperatura (HPA, do inglês *High Pressure Asher*) para amostra de leite em pó integral. A exatidão foi avaliada através da comparação dos resultados obtidos após a decomposição das amostras por MAD-SRC e HPA e pela avaliação de material de referência certificado (CRM, do inglês *Certified Reference Material*).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Nesse capítulo é apresentada uma breve revisão da literatura na qual serão abordados os aspectos gerais sobre os principais métodos de preparo de amostra por via úmida para posterior determinação de metais por técnicas espectrométricas.

2.1 MÉTODOS DE PREPARO DE AMOSTRA

O rápido desenvolvimento de técnicas analíticas para determinação de elementos em concentrações de $\mu\text{g L}^{-1}$ e ng L^{-1} não é acompanhado por métodos de preparo de amostras mais rápidos e seguros. Na literatura são encontrados diferentes abordagens na forma com que as amostras podem ser decompostas, a fim de se obter uma solução com os analitos livres, o que envolve inúmeras reações químicas e processos físicos.¹⁸ Desta forma, são encontrados termos como: digestão, calcinação, abertura, mineralização, pré-tratamento, solubilização, dissociação e decomposição. Deste modo, e com a finalidade de padronizar o texto, o termo decomposição será empregado, preferencialmente, nesse trabalho.

A maior parte das técnicas de determinação de elementos em concentrações de $\mu\text{g L}^{-1}$ e ng L^{-1} necessitam que os analitos estejam em solução e que, na maioria das vezes, a solução não contenha material particulado.¹⁸ Assim, quando se trabalha, em especial, com amostras sólidas, é necessário que um método de preparo de amostra seja aplicado para converter a amostra a uma forma adequada (normalmente líquida) para ser introduzida no equipamento. Entre os métodos disponíveis de preparo de amostras com base nas instrumentações analíticas, tipos de reações químicas envolvidas e forma como se encontram as amostras, pode-se citar dois principais grupos: os métodos de decomposição por via úmida e os por via seca.^{14,19-21}

A decomposição por combustão é baseada na reação de oxidação da matéria orgânica na presença de oxigênio.^{16,22} Esta reação é exotérmica e os produtos formados a partir da matriz orgânica são, principalmente, CO_2 e H_2O . Os analitos são liberados na forma de óxidos, sulfetos, nitratos, fosfatos, cloretos, etc.¹ Apesar de ser uma forma de decomposição de diversas matrizes, como petróleo^{21,23,24}, polímeros^{25,26}, piche²⁷, biológicas²⁸⁻³⁰, plantas^{31,32}, alimentos³³, nanotubos de carbono³⁴, materiais eletrônicos³⁵, solo e sedimentos³⁶ etc., esse método não será discutido no decorrer dessa revisão, onde será dada maior ênfase à decomposição por via úmida.

2.1.1 Decomposição por via úmida

O método de decomposição por via úmida com uso de ácido oxidante é um meio comum e muito utilizado no preparo de amostras em geral para determinação elementar. Na decomposição por via úmida é utilizado, geralmente, HNO_3 concentrado e associações deste ácido oxidante com outros ácidos como o HCl , HF , H_2SO_4 , por exemplo. As amostras são submetidas a temperaturas elevadas em sistemas fechados (180 °C a 320 °C) na presença de um ou mais ácidos, resultando em reações de oxidação da matéria orgânica e solubilização dos analitos em solução.^{37,38} A eliminação da matéria orgânica ocorre na forma de CO_2 e H_2O . Essa etapa é importante uma vez que o carbono solúvel presente nos digeridos pode interferir nas determinações de elementos por técnicas como ICP-OES e ICP-MS. Desta forma, a utilização de um sistema de decomposição por via úmida que proporcione baixas concentrações de carbono residual, risco de contaminação reduzido e não ocorram perdas de analitos, torna-se fundamental para as técnicas espectrométricas de determinação em concentrações de $\mu\text{g L}^{-1}$ e ng L^{-1} .

A decomposição por via úmida pode ser feita em sistemas abertos ou fechados. Como exemplos de sistemas abertos tem-se os blocos digestores, mufla e o método de Kjeldhal.^{2,37,38} Para sistemas fechados os fornos autoclaves e micro-ondas são os mais empregados geralmente.^{1,37} A definição de qual sistema deve ser preferencialmente utilizado é feita com base em diversos fatores, como por exemplo: massa de amostra, tipo de amostra, temperatura, pressão, ácidos utilizados, composição dos frascos, analitos a serem determinados e a técnica a ser utilizada nas determinações.¹⁸

Para os sistemas abertos há uma limitação em relação as temperaturas que podem ser trabalhadas, que está relacionada com a temperatura de ebulição (T.E.) dos ácidos utilizados. O HNO_3 (65% a 69%, m/m) é o ácido mais utilizado, seu azeótropo formado pela mistura com a água apresenta T.E. de 121 °C. O H_2SO_4 (98%, m/m) é o ácido com maior T.E., 339 °C. O HCl apresenta (na forma azeotrópica, 36%, m/m), T.E. de 109 °C. Desta forma, o H_2SO_4 é muitas vezes utilizado junto a outros ácidos para aumentar a temperatura de ebulição da solução e, assim, melhorar a decomposição das amostras.¹ Além disso, existe a possibilidade de perdas de analitos por volatilização, tais como: F, Cl, Br, I, B, Se, As, Sb, Ge, Tl e Hg.^{1,39,40} Outro fator importante é o uso de grandes volumes de

reagentes, podendo levar a contaminação da amostra decomposta e uma elevada acidez residual.^{1,2,18} É importante salientar que o uso de misturas contendo diferentes ácidos é feita também para melhorar a solubilização de compostos antes insolúveis, por exemplo compostos refratários ou silicatos.⁴¹ Além disso, a massa de amostra que pode ser decomposta em sistemas abertos é muito superior em relação a massa de amostra decomposta em sistema fechado.⁴² Para os sistemas fechados a maior desvantagem ainda é o alto custo de aquisição e manutenção do equipamento, em alguns casos há a necessidade de utilização de ácidos concentrados e podendo existir risco de explosão.^{7,42,43} Porém, as vantagens associadas a esse tipo de sistema incluem o uso de temperaturas relativamente maiores (cerca de 300 °C para sistemas que operam sob alta pressão)⁴⁴, aumento da atividade oxidante dos ácidos, menor consumo de reagentes, menores valores de brancos, bem como a redução de perdas de analitos por volatilização.^{7,16,38,45,46} Como o foco desse trabalho é voltado para os sistemas fechados, os quais serão abordados nos próximos tópicos, a descrição dos sistemas abertos serão restritas ao que foi comentado até o presente momento.³⁹

2.1.2 Aquecimento convencional

Neste tipo de aquecimento, calor é gerado a partir de uma resistência. Desta forma, o sistema – geralmente um bloco – aquece e, em seguida, o recipiente que contém os frascos com as amostras. A energia gasta nesse tipo de sistema depende muito do material e espessura empregados na sua confecção. De forma geral, este tipo de aquecimento envolve grandes quantidades de energia, além de demandar longos períodos de tempo para o preparo de amostra quando empregado os métodos por via úmida.^{7,42,47-52}

Há cerca de três décadas, um sistema de digestão com utilização de um forno de alta pressão e temperatura (HPA, do inglês *High Pressure Asher*) foi desenvolvido a fim de facilitar a decomposição de amostras que não podiam ser decompostas por outros métodos, sem que ocorressem contaminações ou perdas.^{7,37,38,53,54} O sistema consiste em uma autoclave, na qual as amostras são submetidas a uma elevada temperatura e pressão, na presença, geralmente, de

ácidos concentrados. Para que seja possível trabalhar em temperaturas relativamente altas o sistema HPA foi projetado como uma câmara de aço muito resistente a pressão, o que permite o aquecimento acima da T.E. do ácido empregado. Nesse sistema, uma resistência instalada no centro da cavidade aquece um rotor de alumínio que, por sua vez, aquece os frascos contendo as amostras. A pressão e a temperatura máximas que podem ser atingidas neste sistema são 130 bar e 320 °C, respectivamente. Algumas vantagens desse tipo de sistema estão na possibilidade de se trabalhar em condições de pressão e temperatura relativamente elevadas e a relativa facilidade de operação. Já as desvantagens estão associadas ao alto consumo de energia, tempo e a possíveis contaminações devido ao material da cavidade e rotor, os quais são metálicos.^{37,38,53-56}

2.1.3 Aquecimento por radiação micro-ondas

A radiação micro-ondas, dada suas características de interação com a matéria, proporciona uma forma de aquecimento diretamente na solução que contém a amostra. Esse mecanismo, denominado aquecimento dielétrico, pode ser explicado com base em dois fenômenos de interação da onda eletromagnética com a matéria, tais como: (i) rotação dipolar, onde ocorre a orientação dos dipolos elétricos do solvente pela onda eletromagnética; e (ii) condução iônica, a qual é responsável pela migração de íons dissolvidos em direção aos polos de carga oposta criada pela incidência da radiação eletromagnética.⁵⁷

O uso de radiação micro-ondas, como fonte de energia para aquecimento, principalmente, em sistemas fechados de decomposição, é bem documentado na literatura.^{58,59} O uso dessa fonte de aquecimento traz diversas vantagens quando comparado ao aquecimento convencional, como: aquecimento localizado, permitindo maiores taxas de aquecimento; seletividade, através do aquecimento seletivo de substâncias que interagem com a radiação micro-ondas; maior uniformidade no aquecimento devido a interação das micro-ondas com a solução e a amostra. Além disso, quando comparado ao aquecimento convencional, dependendo do material utilizado nos frascos reacionais, o resfriamento é mais rápido, uma vez que o aquecimento micro-ondas ocorre seletivamente na amostra e não no frasco. Assim,

um número maior de amostras podem ser decompostas em um mesmo intervalo de tempo, quando comparado com o sistema convencional de aquecimento.^{40,57,58}

2.1.4 Decomposição por via úmida em sistema fechado

Os sistemas fechados tem como principais vantagens oferecer um isolamento da amostra em relação à atmosfera do laboratório, reduzindo os riscos de contaminação ou perdas por volatilização.² A decomposição em sistema fechado é empregada especialmente nos casos onde há pouca amostra disponível para este fim, ou a amostra for resistente às reações de oxidação empregando ácidos concentrados. O aumento da pressão é uma consequência do aquecimento do sistema bem como a produção de gases provenientes da decomposição da matéria orgânica e formação de compostos gasosos^{10,12,15,49,50,60} (oxidação de matéria orgânica com emprego de HNO₃ gerando H₂O, CO₂ e NO_x). Amostras difíceis de serem decompostas em sistemas abertos, como piche²⁷, carvão^{47,61} e nanotubos de carbono⁴², podem ser decompostas em sistemas fechados.^{1,18,59,62-64}

A alta pressão observada nos sistemas fechados sob aquecimento induz um aumento na temperatura de ebulição da solução utilizada. Desta forma, há um aumento na ação oxidante do ácido empregado, favorecendo a decomposição de amostras com estruturas químicas resistentes a ação dos ácidos em condições de temperatura e pressão normalmente empregados.^{1,65} Sistemas que operam até 20 bar são classificados como de baixa pressão e, acima de 70 bar são classificados como de alta pressão. No primeiro caso, a baixa pressão, pode-se atingir uma temperatura de até 180 °C. Já para o segundo caso, pode-se atingir uma temperatura de até 320 °C, dependendo das propriedades mecânicas dos frascos utilizados.^{2,49}

Todavia, para decomposições usando esses tipos de sistemas, geralmente, utiliza-se somente o HNO₃ concentrado para oxidação das matrizes orgânicas. O uso de outros ácidos favorece a solubilização de alguns elementos, podendo ocorrer a solubilização da matriz também em alguns casos. Ao usar o HCl, ácido não oxidante e fracamente redutor, tem-se como principal função a dissolução de boratos, carbonatos, fosfatos, sulfatos (exceto barita) e óxidos metálicos,

normalmente constituintes de amostras inorgânicas como solos, sedimentos e minerais. Sua capacidade em dissolver os óxidos metálicos é atribuída a capacidade complexante do íon cloreto, sendo raramente utilizado sozinho nas decomposições.⁵⁹ O HF, ácido fraco, é um excelente complexante, muito eficaz para amostras ricas em silicatos (por exemplo, minerais) e, normalmente, é usado associado a outros ácidos. Tanto o HCl como o HF quando em excesso podem trazer complicações relacionadas a formação de compostos insolúveis ou mesmo de compostos voláteis.^{59,66} Para o H₂SO₄, ácido desidratante, seu uso é feito de forma a aumentar a temperatura de ebulição da solução de decomposição. Como desvantagem desse ácido está a formação de sulfatos insolúveis. Além disso, a dificuldade em purificar este ácido é um problema associado a contaminação da amostra para alguns elementos. Além dos ácidos, o uso de H₂O₂ tem como vantagem produzir H₂O e O₂. Este reagente é muitas vezes associado ao HNO₃ ou H₂SO₄.^{59,67} As desvantagens em utilizar ácidos concentrados estão no custo destes reagentes, no tratamento do efluente gerado, no risco de acidentes comprometendo a integridade do analista e nas excessivas diluições dos digeridos para adequar a solução à técnica utilizada, sem que ocorram interferência espectrais ou não espectrais.^{68,69} Por isso, diferentes ácidos são usados em menores concentrações, minimizando os problemas relacionados a precipitação, volatilização ou contaminação.⁶⁹

Dentre os sistemas fechados de decomposição de amostras, a digestão por via úmida assistida por radiação micro-ondas (MAD, do inglês *Microwave Assisted Digestion*) tem sido amplamente utilizada nos últimos anos. Dentre os sistemas utilizados para a MAD, pode-se trabalhar em condições de pressão e temperatura máximas de trabalho de 80 bar e 280 °C, respectivamente.

Mais recentemente, o sistema de decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas em câmara única de reação (MAD-SRC) vem sendo utilizado. Esse sistema apresenta uma cavidade única, onde todos os frascos são dispostos em um suporte. Os frascos são parcialmente submersos em uma solução ácida que possui diferentes funções, como absorver radiação micro-ondas, homogeneizar o aquecimento na câmara e proporcionar uma fase gasosa rica em vapor ácido. Além disso, nesse sistema é possível empregar uma pressão relativamente alta (até 199 bar) nas decomposições, o que previne possíveis projeções durante a decomposição e minimiza o risco de contaminações cruzadas.^{13,59} Na literatura é

possível encontrar trabalhos relacionados a decomposição de amostras de castanha do Brasil, castanha de caju e nozes,¹³ leite em pó¹⁴ e fármacos¹⁷ utilizando o sistema SRC.

O emprego de diferentes condições de operação (temperatura, pressão e ácidos utilizados) está relacionado com a eficiência de decomposição. Assim, o próximo item trata da avaliação da decomposição a partir do percentual de carbono residual (RCC, do inglês *Residual Carbon Content*) e da acidez residual (RA, do inglês *Residual Acidity*), bem como das possíveis interferências causadas por estes fatores.

2.1.5 Eficiência de decomposição

Como forma de avaliar a eficiência de um processo de decomposição, pode-se determinar o percentual de carbono orgânico dissolvido (DOC, do inglês *Dissolved Organic Carbon*) que permanece em solução após a decomposição. A relação entre o DOC e o carbono orgânico total (TOC, do inglês *Total Carbon Content*) presente inicialmente na amostra fornece o percentual de carbono residual (RCC, %). A diferença entre os valores obtidos de RCC e TOC aponta a eficiência de oxidação da matéria orgânica do método proposto. A presença de DOC elevado pode afetar fortemente a intensidade de emissão de linhas espectrais de alguns elementos em ICP-OES, bem como a população de íons no plasma, sendo que a magnitude dos efeitos de matriz relacionados ao carbono depende da energia de ionização e do tipo de linha considerada.^{60,70} Para as linhas atômicas com energias abaixo de 6 eV pode-se observar um decréscimo no sinal analítico, enquanto que para energias acima de 10 eV ocorre um aumento no sinal analítico.⁷¹ Para linhas iônicas com energia acima de 10 eV não são observadas influências significativas pela presença de carbono na solução.⁷¹ Apenas para linhas iônicas com energias acima de 14 eV pode-se observar influência do carbono.⁷¹ A concentração de carbono que afeta os analitos pode variar conforme a linha selecionada de cada elemento. No entanto, 5 g L⁻¹ são suficientes para causar um efeito de decréscimo ou acréscimo no sinal espectral.⁷¹

A acidez residual (RA), por sua vez, é expressa como a quantidade de ácido nítrico que permaneceu em solução após a decomposição da amostra. Ao manter a concentração do ácido e a massa da amostra é possível inferir na eficiência do método de decomposição. O aumento da acidez pode ser interpretado como um excesso de ácido presente no digerido. Tal aspecto muitas vezes é levado em consideração para reduzir a quantidade de ácido utilizado na digestão da amostra. Em outros casos, a RA foi levada em consideração para estimar a presença das reações de regeneração do HNO_3 .^{69,72,73} O efeito causado pela alta concentração de ácido é: alterações nas propriedades físicas da solução e mudanças nos fenômenos de formação do aerossol, podendo modificar o transporte dos analitos ao plasma no ICP-OES, levando a uma redução do sinal de emissão. Para as determinações por ICP-MS, os efeitos causados podem ser mais pronunciados, resultando em ionização retardada de analitos e formação de espécies poliatômicas.^{68,72-79}

A eficiência de decomposição pode ser avaliada através do RCC e da RA. Porém, a extensão da oxidação da matéria orgânica está relacionada com a pressão, temperatura e reagentes empregados nas decomposições. Assim, o próximo item trata da relação entre os ácidos empregados na decomposição.

2.1.6 Uso de ácidos na decomposição por via úmida

O HNO_3 (para solução 69% - mistura azeotrópica com água, T.E. 121,0 °C) é um agente oxidante forte, que possibilita a dissolução da maioria dos metais, formando nitratos solúveis. Este ácido é o mais utilizado para a oxidação da matéria orgânica. Quando este é utilizado na forma diluída (abaixo de 2 mol L^{-1}), sua ação oxidante é reduzida. O uso de peróxido de hidrogênio pode aumentar a ação de oxidação da matéria orgânica. Isso é possível devido a liberação do oxigênio presente na molécula destes compostos para o meio reacional.^{14,67,80-82} Pode-se, ainda, usar o aumento da pressão e temperatura a fim de favorecer a ação oxidante. Mas, a maior vantagem na utilização deste ácido é a composição química (H, N e O), que apresenta elementos químicos os quais não interferem nas determinações por técnicas espectrométricas.^{2,12,59,83-85}

O HCl (12 mol L⁻¹ a 36%, T.E. 109 °C), não é considerado oxidante e, por esse motivo, é muito utilizado em métodos que não envolvem a decomposição completa da matriz. Entretanto, dissolve prontamente alguns boratos, sulfetos, fosfatos e carbonatos de metais, peróxidos e hidróxidos de metais alcalinos.¹ Para Fe, Ga, In e Sn é possível formar cloreto em certas condições, as exceções são os cloretos de Al, Si, P, Cu, Ge, As, Pd, Ag, Sb, Pt, Au, Hg, Tl e Bi que não são solúveis ou são muito pouco solúveis. Frequentemente é utilizado com outros ácidos, o que aumenta significativamente suas propriedades redutora e complexante.^{1,86,87}

O HF (38%, mistura azeotrópica com água) é um complexante forte. Comumente empregado em análise inorgânica, por conseguir dissolver silicatos, sua capacidade de complexação evita a formação de produtos moderadamente solúveis de vários metais, além de aumentar a solubilidade e estabilidade desses elementos. Fluoretos de terras raras, lantanídeos e actinídeos são insolúveis.⁵⁹ A combinação com outros ácidos (HNO₃) favorece a dissolução dos íons. Além disso, o HF reage com elementos que formam óxidos refratários, impedindo-os de formarem seus respectivos óxidos.^{1,2,88-91}

O H₂O₂ é um agente oxidante não ácido, sua T.E. em soluções de 30% e 50% m/m é de 106 °C e 114 °C respectivamente, ambas a pressão de 1 atm. O uso do H₂O₂ como agente oxidante pode ser feito sem a presença de ácidos, no entanto, ao utilizar meio ácido seu poder de oxidação aumenta significativamente. Combinando o H₂O₂ com H₂SO₄ tem-se o ácido peroxodissulfúrico (H₂S₂O₈) e o peroxomonossulfúrico (H₂SO₅) considerado oxidante forte e muito reativo.^{67,92,93}

Além dos ácidos mencionados anteriormente, formas alternativas de decomposição podem ser empregadas para viabilizar a oxidação da matéria orgânica com redução na quantidade de reagentes, sem que a eficiência de decomposição seja comprometida. Como exemplo; pode-se citar o uso de mini-frascos, a digestão em fase vapor e o emprego de ácidos diluídos no preparo de amostras assistidos por micro-ondas. Essas formas alternativas de decomposição serão abordadas em maiores detalhes nos próximos tópicos do texto.

2.1.7 Emprego de HNO₃ diluído para o preparo de amostras

O uso de ácidos concentrados para o preparo de amostras surgiu com o desenvolvimento dos métodos por via úmida em meados do século XIX.^{1,94} Apesar disso, somente mais recentemente o emprego de ácidos diluídos para as decomposições começou a ser feito.^{5,12}

Em parte, isso está relacionado ao desenvolvimento de equipamentos capazes de suportar altas temperaturas e pressões, os quais proporcionam condições de operação mais seguras, rápidas e eficientes. Convencionalmente, emprega-se ácidos concentrados para a decomposição de amostras que apresentam resistência a outras formas mais brandas de preparo. O uso de ácidos concentrados requer mais cautela durante operação, além da necessidade de diluições para a determinação do(s) analito(s), consumindo um grande volume de reagentes e, conseqüentemente, gerando um grande volume de resíduos, indo em desacordo com princípios da química verde.¹

A utilização de sistemas fechados, os quais possibilitam trabalhar em elevadas temperaturas e pressões, permite o uso de soluções diluídas para a decomposição de amostras orgânicas, mesmo estas soluções ácidas apresentando menor poder oxidante.^{5,12,69} Para que seja possível manter a eficiência de decomposição durante toda a etapa de decomposição, é necessário que o reagente (ácido oxidante) esteja presente na solução. Desta forma, ao empregar altas pressões e temperaturas, a matéria orgânica é decomposta formando como produtos CO₂, NO e H₂O, como mostrado na Equação 1. O NO formado reage com moléculas de O₂ presentes na atmosfera do frasco reacional dando origem ao NO₂ (Equação 2). Esse último é absorvido pela solução e em contato com H₂O, forma HNO₃ e HNO₂ (Equação 3). Essa sequência de reações faz com que o HNO₃ gasto na oxidação da matéria orgânica seja recuperado e retorne à solução, reiniciando o ciclo de oxidação da matéria orgânica. A decomposição do HNO₂ (Equação 4), fornece H₂O, NO₂ e NO, os quais reiniciam o ciclo reacional de regeneração do HNO₃ (Equações 1 – 3).





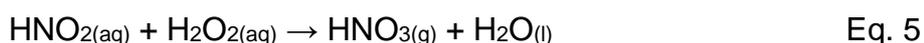
Como mostrado na Equação 2, existe uma dependência das reações apresentadas com a quantidade de O_2 presente no frasco reacional. Portanto, pode-se inferir que um aumento na concentração de O_2 irá favorecer ainda mais a formação de NO_2 , o qual irá deslocar o equilíbrio da reação para a formação de HNO_3 . Além disso, um gradiente de temperatura no frasco reacional é fundamental para que ocorra a formação do HNO_3 .^{5,88} Esta dependência em relação ao gradiente de temperatura do frasco reacional é associada a condensação da fase vapor na parte superior que encontra-se ligeiramente mais fria, a qual possibilita a interação das moléculas de NO_2 e H_2O .⁵ Estes dois fatores – O_2 e gradiente de temperatura – quando associados permitem a regeneração do HNO_3 em maiores quantidades. A ausência de matéria orgânica encerra a regeneração do HNO_3 , uma vez que esta para de ser consumida (Equação 1) e de formar NO na reação.⁵ Assim, é possível utilizar soluções mais diluídas e obter resultados satisfatórios em relação a eficiência de decomposição.^{5,12,88,95} O próximo tópico apresenta a relação da pressurização com ar atmosférico e O_2 e a eficiência da decomposição usando solução de HNO_3 diluído e H_2O_2 .

2.1.8 A eficiência da decomposição usando solução de HNO_3 diluído e o efeito de reagentes auxiliares

Nos procedimentos de decomposição deve-se levar em conta que a atmosfera contém cerca de 21% (v/v) de O_2 .^{96,97} A atmosfera, dentro de um frasco de decomposição fechado e antes de ser submetido ao aquecimento, está próximo a 1 bar. Assim, um recipiente que possua um volume interno de 0,09 L, terá cerca de 0,78 mmol de O_2 (0,025 g de O_2 , a 20 °C, segundo a equação van der Waals).⁹⁷ Apesar disso, esta quantidade de oxigênio é muito baixa para colaborar efetivamente com a decomposição da matéria orgânica empregando HNO_3 diluído.⁹⁸ Nos sistemas fechados, o uso de maiores quantidades de O_2 com HNO_3 diluído é

favorável para decomposição de matriz orgânica. Entretanto, a limitação está na quantidade de O₂ presente, ou seja, o volume do frasco limita a quantidade de O₂ que pode ser usada.^{1,9,10,42}

Com base nas reações de regeneração do HNO₃ e no avanço instrumental capaz de proporcionar equipamentos com maior resistência física e química, práticas para intensificar a reação de regeneração do HNO₃ tornam-se possíveis como, por exemplo, a pressurização dos frascos reacionais com O₂. Outra possibilidade para a regeneração do HNO₃ é a utilização de H₂O₂ como reagente auxiliar. A degradação deste composto libera O₂ e H₂O, desta forma, o O₂ liberado reage conforme descrito anteriormente (Equação 2) proporcionando condições para que ocorra a regeneração do HNO₃. A reação mostrada na Equação 5 também ocorre na solução, onde o HNO₂ é oxidado a HNO₃, potencializando ainda mais a ação oxidante do HNO₃.^{8,9,14,67,81,98}



A acidez residual pode aumentar com o aumento de O₂ disponível. Pode-se inferir que a quantidade de ácido necessária para a decomposição da amostra seja menor na condição de maior pressão de O₂ (em sistema fechado), o que leva a um valor maior de acidez, quando comparado com uma decomposição sem a utilização de atmosfera rica em O₂ (1 atm, 21% O₂). Quando a digestão foi feita com o sistema inicialmente pressurizado com O₂, mesmo com a utilização de HNO₃ diluído a eficiência de decomposição foi praticamente a mesma. Com isso, pode-se supor que o aumento da acidez está relacionado com a regeneração do mesmo pelo excesso de oxigênio presente no sistema reacional.^{8,9,81,99-101} Assim, a utilização de ácido diluído e a sua regeneração são condicionados a presença de O₂ na fase gasosa do frasco reacional.

Assim, a presença de O₂ deverá melhorar a eficiência de decomposição de amostras orgânicas complexas, mesmo com uso de HNO₃ diluído, uma vez que haverá a formação significativa de NO₂, responsável pela regeneração do HNO₃, conforme as Equações 2 a 4. Desta forma, o uso de HNO₃ concentrado não será necessário para que ocorra uma digestão eficiente.

Semelhante ao uso da pressão de O₂, uma solução de peróxido de hidrogênio (H₂O₂ 50 %, T.E. 114 °C, d 1,44 g mL⁻¹)¹⁰⁰ fornece O₂ para o meio reacional a partir da decomposição da molécula de H₂O₂ em O₂ e H₂O. A associação de H₂O₂ com ácidos aumenta o poder oxidante^{69,101} e melhora o processo de digestão da matéria orgânica.^{16,45,102} O efeito do uso de H₂O₂ é semelhante ao de O₂, podendo estar relacionado às reações de oxidação para a regeneração do HNO₃ em fase gasosa, como também, reações de oxidação de HNO₂ para HNO₃ em fase líquida.⁸¹ A reação em fase líquida do H₂O₂ deve aumentar a acidez residual no digerido pois a liberação de maior quantidade de O₂ favorece a regeneração do HNO₃^{45,69}, que por sua vez, melhora a eficiência de decomposição de amostras orgânicas.¹⁰³

Com base no que foi exposto até o momento, percebe-se a importância em reduzir a quantidade de reagentes utilizados, sem comprometer a eficiência da decomposição. No presente trabalho foi avaliada a decomposição de amostras de linhaça, fígado bovino, leite em pó integral e salsa utilizando o sistema SRC com emprego de Ar, N₂, ar comprimido e O₂ como fase gasosa e o uso de HNO₃ diluído. A determinação de Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Na, Sr e Zn foi feita por ICP-OES. A massa de amostra utilizada nos experimentos foi mantida em 250 mg. A influência da composição da fase gasosa foi avaliada para os gases Ar, N₂, O₂ e ar comprimido nas pressões entre 20 e 50 bar. Frascos e tampas modificadas foram empregadas para verificar a influência da fase gasosa e de vapor na eficiência de digestão das amostras de alimentos no sistema MAD-SRC e comparativamente foram feitas decomposições utilizando o sistema HPA com a utilização de HNO₃ diluído e H₂O₂ para amostras de leite em pó integral. A seguir são descritos os materiais e métodos utilizados no presente trabalho.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Nesta seção são descritos os equipamentos, materiais, reagentes e amostras utilizadas para o desenvolvimento deste trabalho. Além disso, são apresentados os procedimentos empregados e as otimizações feitas para a avaliação dos gases ar, O₂, N₂ e Ar para a decomposição das amostras por via úmida assistida por radiação micro-ondas em câmara única de reação (MAD-SRC). Posteriormente, é descrito o método de digestão por via úmida em forno de alta pressão e temperatura (HPA) por aquecimento convencional, o qual foi usado como método comparativo. Ademais, são mostradas as condições experimentais utilizando frascos de quartzo com maior volume no sistema MAD-SRC e o uso de ácido nítrico e peróxido de hidrogênio no sistema HPA.

3.1 INSTRUMENTAÇÃO

Para a decomposição das amostras por via úmida assistida por radiação micro-ondas em câmara única de reação (MAD-SRC) foi utilizado um sistema micro-ondas (modelo UltraWAVE®, Milestone, Sorisole, Itália), com possibilidade de operar sob elevadas temperaturas e pressão. O forno é equipado com uma câmara única de reação de aço inoxidável, contendo um frasco de politetrafluoretileno (PTFE) com capacidade de 900 mL e um rotor para até 15 frascos (capacidade individual de 15 mL). O sistema permite utilizar temperatura, pressão e potência máximas de trabalho de 275 °C, 160 bar e 1500 W, respectivamente. O resfriamento é feito através da passagem forçada de água (próxima a 10 °C) por um Chiller (modelo Smart H150-1000, LabTech, Hopkinton, Estados Unidos). Uma modificação no sistema foi feita a fim de avaliar a influência das fases vapor e gasosa na decomposição empregando 3 frascos de quartzo com capacidade individual de 90 mL. Nesse caso, empregou-se 3 frascos, um com tampa selada, um com tampa com orifício e um frasco sem tampa. Para a digestão por via úmida em forno de alta pressão e temperatura (HPA, do inglês *High Pressure Asher*, Anton Paar, Graz, Áustria) foi utilizado um forno com aquecimento convencional equipado com um rotor com capacidade máxima de 5 frascos de quartzo (capacidade individual de 90 mL). O sistema possui temperatura e pressão máximas de trabalho de 320 °C, 130 bar. Os parâmetros de temperatura e pressão foram monitorados, durante os procedimentos, pelos sensores disponíveis em cada equipamento.

As amostras foram liofilizadas com o auxílio de um liofilizador (modelo LH 2000/3, Terroni Fauvel, São Carlos, Brasil) e, em seguida, cominuídas, durante um minuto, em moinho de trituração por impacto (modelo A 11 basic, IKA, Staufen, Alemanha).

O tamanho de partícula foi determinado para as amostras de fígado bovino, leite em pó integral, linhaça e salsa a partir do uso de um analisador de partículas Mastersizer 2000 (Malvern Instruments, Worcestershire, Reino Unido).

A determinação de acidez residual nos digeridos foi feita com a utilização de um titulador automático (modelo Titrand 836, Metrohm, Herisau, Suíça) equipado com um agitador magnético (módulo 803 Ti Stand, Metrohm), uma bureta de 20 mL (Dosino 800, Metrohm) e um eletrodo de pH de vidro combinado para meio aquoso

(LL Electrode Plus, modelo 6.0262.100, Metrohm). Para os valores de RA relaciona-se o valor inicialmente contido no frasco com o valor obtido após a digestão. Assim, o valor inicial é considerado sempre como sendo 100% para efeito de comparação.

A determinação de metais, bem como de carbono, foi feita utilizando um equipamento de espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado - ICP-OES (modelo Optima 4300 DV, Perkin Elmer, Shelton, Estados Unidos) com configuração axial, câmara de nebulização ciclônica (Glass Expansion, West Melbourne, Austrália), nebulizador pneumático do tipo GemCone e tocha com tubo injetor de quartzo com 2 mm de diâmetro interno. Para a determinação de C, foi utilizado ítrio (1 mg L^{-1}) como padrão interno e os digeridos foram previamente submetidos a um fluxo de argônio ($0,1 \text{ L min}^{-1}$ por 2 min) para remoção de gases dissolvidos. Para os valores de RCC foi considerado o valor inicialmente contido na amostra, determinado por análise de carbono orgânico total (TOC), com o valor do carbono obtido após a digestão. O valor inicial de carbono é considerado sempre como sendo 100% para efeito de comparação.

Na Tabela 1, estão mostradas as condições operacionais utilizadas para a determinação de Ba, C, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Sr, Zn e Y por ICP-OES.

Tabela 1. Condições operacionais para a determinação de metais e C por ICP-OES.

Parâmetros	ICP-OES
Potência do gerador de radiofrequência (W)	1400
Vazão do gás principal (L min^{-1})	15,0
Vazão do gás auxiliar (L min^{-1})	0,20
Vazão do gás de nebulização (L min^{-1})	0,70
Câmara de nebulização	Ciclônica
Nebulizador	GemCone
Vista	Axial
Analito	Comprimento de onda (nm)
Ba (II)	233,527
C (I)	193,091
Ca (II)	393,366
Cu (I)	327,393

Fe (II)	238,204
K (I)	766,490
Mg (II)	280,271
Mn (II)	257,610
Na (I)	588,985
Sr (II)	421,552
Zn (II)	202,548
Y ^a (II)	371,029

^a Padrão interno para determinação de carbono

(I) Linha atômica

(II) Linha iônica

3.2 MATERIAIS, REAGENTES E AMOSTRAS

A água utilizada em todos os experimentos foi primeiramente destilada, em seguida, deionizada em uma coluna de troca iônica (condutividade máxima de 0,6 $\mu\text{S cm}^{-1}$) e, posteriormente, purificada em um sistema Milli-Q[®] (modelo Milli-Q[®], Gradient System, Millipore, Billerica, Estados Unidos) com resistividade mínima final de 18,2 M Ω cm.

As pressurizações dos sistemas utilizados para digestão das amostras (SRC e HPA) foram feitas com os gases O₂ 99,6%, N₂ 90,0% ou Ar 99,998% de alta pureza (White Martins, São Paulo, Brasil). Além disso, o Ar foi utilizado para geração do plasma no equipamento de ICP-OES.

Ácido nítrico concentrado P.A. (65%, 1,4 kg L⁻¹, Merck, Darmstadt, Alemanha) e ácido clorídrico concentrado P.A. (37%, 1,19 kg L⁻¹, Merck), foram bidestilados em sistema de destilação de quartzo (modelo duoPUR, Subboiling Distillation System, Milestone, Bergamo, Itália) abaixo de suas respectivas temperaturas de ebulição. Peróxido de hidrogênio (50%, 1,19 mg L⁻¹ a 20 °C, Merck) foi utilizado nas decomposições no sistema HPA.

A solução de calibração utilizada em ICP-OES para a determinação de carbono foi feita a partir de uma solução estoque 1001 \pm 12 mg L⁻¹ previamente preparada a partir da dissolução de ácido cítrico (Vetec, Brasil) em 5% HNO₃. Para a

determinação de metais foi utilizada uma solução de referência multielementar (SCP33MS, 10 mg L⁻¹, SCP Science, Quebec, Canadá) diluída em HNO₃ 5%.

Para avaliar a exatidão do método proposto foram utilizados os materiais de referência certificados (CRM's) NIST 8433 – *Corn Bran*, farinha de milho; NIST 8435 – *Whole Milk Powder*, leite em pó integral; e, NIST 1577 – *Bovine Liver*, fígado bovino.

A otimização do sistema proposto, foi feita com utilização de amostras de fígado bovino, leite em pó integral, linhaça e salsa adquiridas no comércio local de Santa Maria – Rio Grande do Sul. O tratamento das amostras é descrito em *Materiais e Métodos*, item 3.4.1 (Decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas em câmara única de reação (MAD-SRC)).

3.3 PROCEDIMENTOS DE DESCONTAMINAÇÃO

Previamente, todo o material e a vidraria comuns de laboratório, foram lavados e descontaminados por imersão em HNO₃ 10% (v/v) por um período de 24 h e lavados com água imediatamente antes do uso. Ademais, os frascos de quartzo, suporte e tampas utilizados nas decomposições nos sistemas MAD-SRC e HPA, foram descontaminados com HNO₃ através de uma programação de aquecimento nos seus respectivos sistemas, o qual consistiu uma etapa de rampa de aquecimento de 15 min até 250 °C, uma etapa de permanência de 15 minutos a 250 °C. Os frascos, suporte e tampas foram lavados com água antes do seu uso. A etapa de descontaminação foi realizada após as decomposições. A pressurização inicial no sistema MAD-SRC e HPA foram de 20 bar e 50 bar de Ar, respectivamente.

3.4 PREPARO DE AMOSTRA

As amostras de leite em pó integral, linhaça, fígado bovino, salsa e CRMs foram submetidos à decomposição em diferentes sistemas e condições, os quais são descritos a seguir.

3.4.1 Decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas em câmara única de reação (MAD-SRC)

As etapas envolvidas na digestão com o sistema MAD-SRC são mostradas na Figura 1. Inicialmente o sistema está aberto e os frascos são colocados no seu interior. A seguir, o sistema é fechado e dá-se início a pressurização. Uma vez pressurizado todo o sistema, liga-se o aquecimento por MW. Por fim, é feita a despressurização do sistema e retirada do rotor com os frascos reacionais.

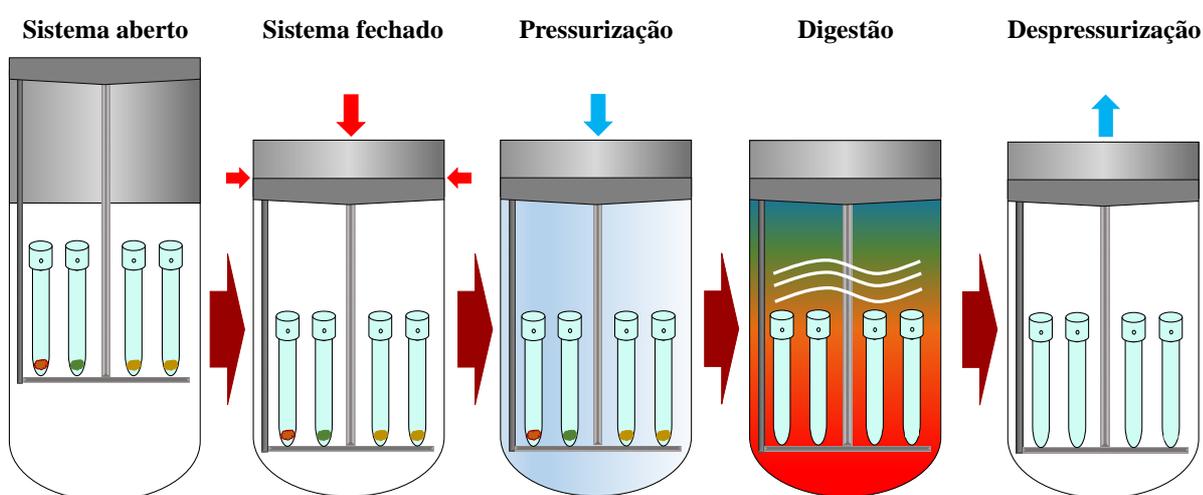


Figura 1. Representação das etapas envolvidas na digestão de amostras usando o sistema SRC (UltraWAVE).

Na Figura 2a é mostrada uma imagem do sistema UltraWAVE no qual, ao frasco reacional de PTFE, foram adicionados 130 ml de H_2O e 5 mL de HNO_3 ($14,4 \text{ mol L}^{-1}$) (Figura 2b), sendo introduzido na cavidade metálica do forno (Figura 2c). Posteriormente, foram pesados 250 mg de amostra em cada frasco de quartzo (total de 15 frascos com volume de 15 mL cada), onde foram adicionados 6 mL de HNO_3 ($0,1, 0,5, 1, 2$ ou 3 mol L^{-1}). Os frascos foram, então, fixados no rotor e, em seguida, inseridos na câmara única de reação do sistema (Figura 2d). A seguir, o sistema foi fechado manualmente, dando início à pressurização com ar, O_2 , N_2 , ou Ar. Uma etapa adicional foi requerida somente para as digestões com pressurização com O_2 , onde os frascos com amostra e solução digestora foram previamente aquecidos em banho-maria a fim de umedecer e solubilizar toda a amostra (Figura 2e). Cabe salientar que a parede do frasco não pode conter resíduos ou partículas da amostra.

Este procedimento de pré-tratamento é imprescindível para minimizar a possibilidade de ignição da amostra em uma atmosfera rica em oxigênio com aquecimento por micro-ondas, o que poderia causar uma explosão. Assim, logo após esta etapa, os frascos de quartzo foram fixados no rotor e inseridos na cavidade do sistema (Figura 2f).

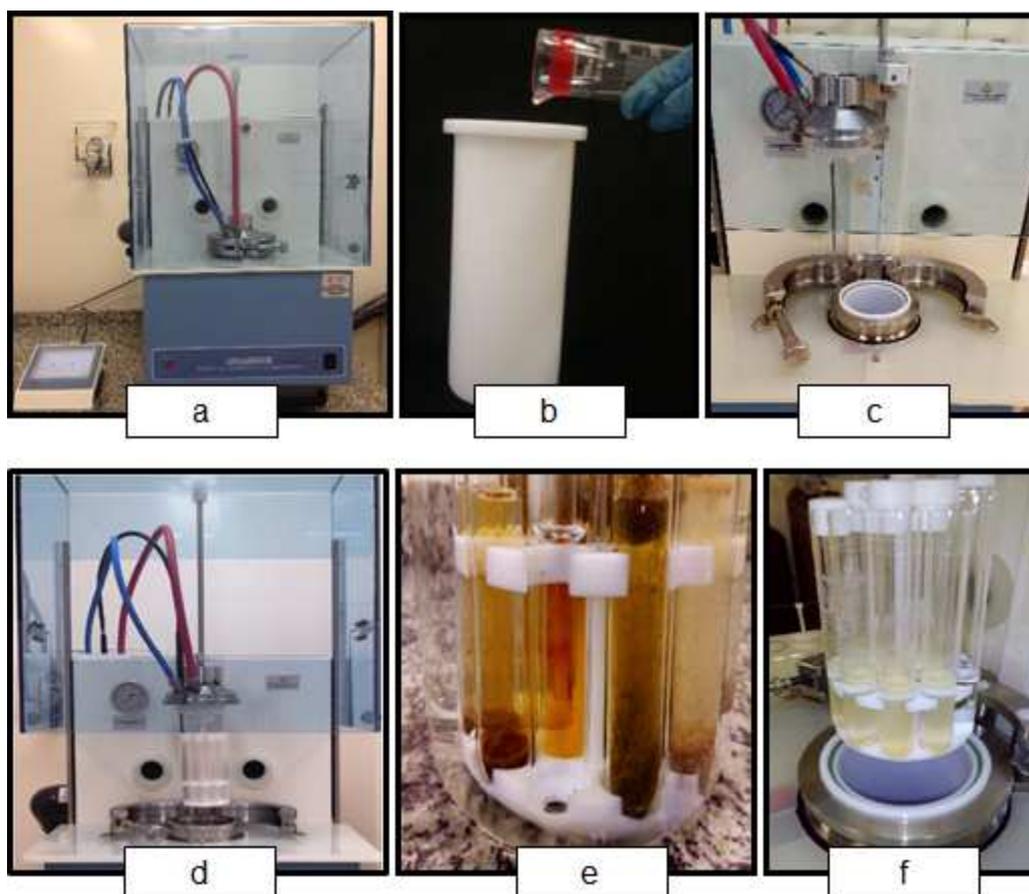


Figura 2. a) Sistema UltraWAVE; b) frasco único de reação (900 mL) com adição de 130 mL de H₂O e 5 mL de HNO₃ (14,4 mol L⁻¹); c) visão frontal/superior do sistema SRC; d) vista frente do sistema SRC com rotor e frascos posicionados; e) rotor com frascos de quartzo e amostras após banho-maria (etapa de umidificação das amostras); f) posicionamento do rotor com frascos e amostras no sistema SRC, vista superior/lateral.

O programa de irradiação utilizado no sistema MAD-SRC foi: *i)* rampa de 15 min até 270 °C, *ii)* permanência de 10 min a temperatura de 270 °C e *iii)* resfriamento até atingir a temperatura de 50 °C, onde é iniciada a despressurização da cavidade.

Ao término da decomposição, os digeridos foram transferidos para frascos volumétricos e aferidos com água. A decomposição por MAD-SRC foi feita para as amostras de leite em pó integral, linhaça, fígado bovino, salsa e CRM's e, após as decomposições, os digeridos foram submetidos à determinação elementar por ICP-OES (C e metais) e acidez residual por titulometria de neutralização.

Na decomposição por MAD-SRC, foram avaliados os parâmetros de tipo e pressão do gás de 20, 30, 40 e 50 bar para N₂, Ar, ar ou O₂ como gás de pressurização ou reagente auxiliar (nesse caso, somente o O₂ e o ar são considerados reagentes auxiliares). Foram avaliadas as temperaturas de 180, 210, 240 e 270 °C. Além disso, foi avaliada a concentração de HNO₃ (0,1, 0,5, 1, 2 e 3 mol L⁻¹), o uso de tampas de PTFE modificadas e a ausência de tampas nos frascos de quartzo. Por fim, foi verificado o volume de solução restante nos frascos modificados após cada decomposição, com as diferentes pressões iniciais dos gases. A massa de amostra foi mantida fixa em 250 mg para todos os experimentos. Os procedimentos estão descritos nos itens seguintes.

3.4.1.1 Avaliação da temperatura e composição da fase gasosa na decomposição de leite em pó integral por decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas em câmara única de reação (MAD-SRC)

A avaliação consistiu em verificar o comportamento do sistema frente a utilização de oxigênio e a eficiência da decomposição variando a temperatura de decomposição das amostras. Temperaturas de 180, 210, 240 e 270 °C foram utilizadas para decompor leite em pó integral. Para este estudo, foram utilizados ar (20% O₂), O₂ e N₂ na decomposição por MAD-SRC. As pressurizações foram feitas com 20 bar a temperatura inicial de 25 °C.

Cabe ressaltar que, as avaliações foram feitas seguindo o mesmo programa de irradiação para todos os testes. Ao término de cada decomposição, o teor de carbono residual (RCC), a acidez residual (RA) e os metais dos digeridos finais foram determinados.

3.4.1.2 Avaliação da pressão de O₂, N₂ ou Ar como composição da fase gasosa na decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas em câmara única de reação (MAD-SRC)

A avaliação consistiu em verificar a eficiência da decomposição variando a pressão interna do sistema. Para este estudo, foram utilizados O₂, N₂ ou Ar na decomposição por MAD-SRC. As pressurizações foram feitas em 20, 30, 40 e 50 bar a temperatura inicial de 25 °C.

Os gases foram avaliados com base na decomposição de leite em pó integral como amostra de estudo e otimização dos parâmetros. Ao término de cada decomposição, RCC e RA dos digeridos foram determinados.

3.4.1.3 Avaliação do uso de tampas modificadas na decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas em câmara única de reação (MAD-SRC)

Foi avaliada a influência da utilização de tampas modificadas com 1 ou 3 orifícios, tampa normal (N, original do sistema) e frasco sem tampa na decomposição por MAD-SRC. Para estes estudos, foram produzidas tampas em PTFE semelhantes às disponíveis comercialmente para o sistema de MAD-SRC. Estas tampas possuem 1 ou 3 orifícios com diâmetro específico de 6 mm cada orifício, como pode ser observado na Figura 3.

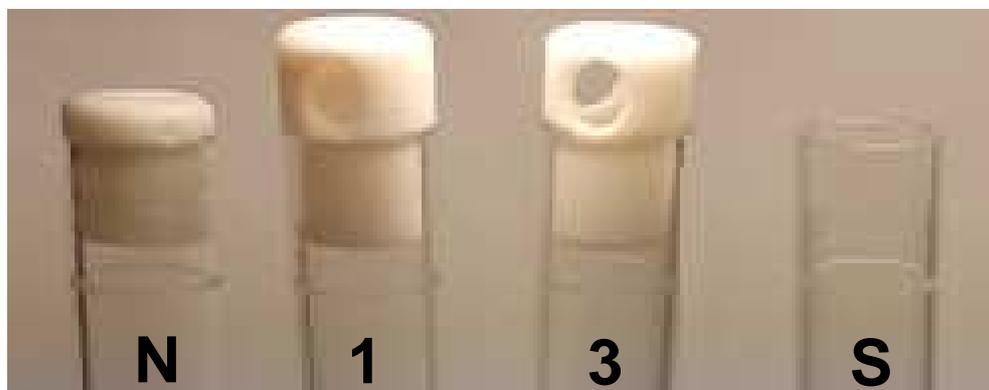


Figura 3. Tampas utilizadas na avaliação do sistema SRC. Sequência: (N) tampa normal; (1) tampa com 1 orifício; (3) tampa com 3 orifícios; e (S) sem tampa.

Com o emprego das tampas mostradas na Figura 3, os frascos apresentam um diâmetro de orifício de 1,5 mm para tampa normal, 6 mm para cada orifício nas tampas com 1 e 3 orifícios e 14,0 mm para o frasco sem tampa.

Após as decomposições, os digeridos foram avaliados segundo o volume de solução restante nos frascos e, posteriormente a isso, RCC, RA e a determinação de metais.

3.4.1.4 Avaliação do efeito da concentração de HNO_3 sobre a eficiência de decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas em câmara única de reação (MAD-SRC)

Para este estudo, foi empregado ácido nítrico (6 mL), nas concentrações de 0,1, 0,5, 1, 2, e 3 mol L⁻¹. Inicialmente, os testes foram feitos utilizando 250 mg de leite em pó integral. A melhor condição foi aplicada para as outras amostras a fim de verificar as demais variáveis do sistema. Neste estudo, o programa de irradiação utilizado foi conforme descrito anteriormente em *Materiais e Métodos*, item 3.4.1 (Decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas em câmara única de reação (MAD-SRC)). Após a decomposição e avaliação do seu volume final, os digeridos foram submetidos à determinação de RCC e RA.

3.4.1.5 Decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas em câmara única de reação (MAD-SRC) com frascos modificados

Comparativamente, nas Figuras 4a e 4b, podem ser vistos três frascos do sistema HPA, os quais foram adaptados no sistema SRC para avaliar a influência da fase gasosa no sistema UltraWAVE. Para essa avaliação, 250 mg de leite em pó foram pesados e colocados em cada frasco. Após, 6 mL de solução de HNO_3 1,0 mol L⁻¹ foram adicionados. Um dos frascos foi fechado, com tampa de quartzo e fita de PTFE. Em outro frasco foi colocada apenas com uma tampa de PTFE, a qual possui um pequeno orifício ($d < 1$ mm), possibilitando a troca de gases. Por fim, um dos frascos ficou aberto, tendo total interação da solução com a fase gasosa. Os gases empregados nestes testes foram O_2 (50 bar) e N_2 (20 e 50 bar).

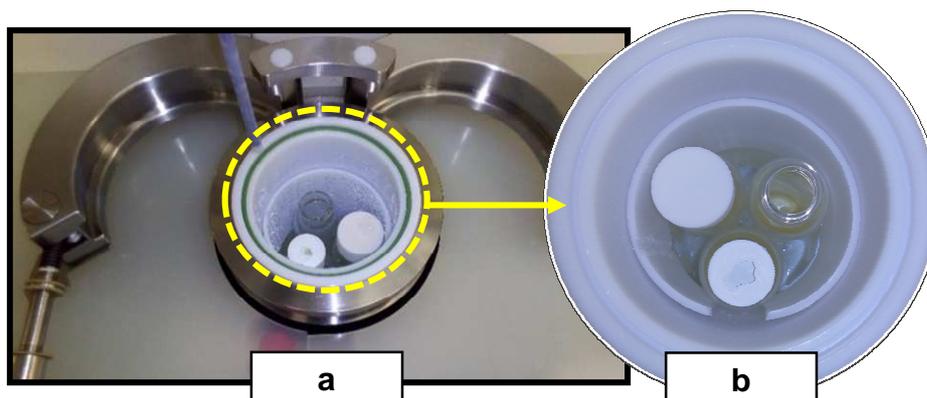


Figura 4. a) vista superior da cavidade do sistema SRC com três frascos reacionais adaptados e, b) vista ampliada da cavidade do sistema SRC com os três frascos reacionais adaptados.

3.4.2 Procedimento de decomposição em meio ácido em sistema de alta pressão e temperatura (HPA)

Para este procedimento, a amostra foi pesada e, posteriormente, transferida para os frascos previamente descontaminados, sendo adicionados 6 mL de solução. As soluções utilizadas estão descritas em *Materiais e Métodos*, item 3.4.2.1 (Avaliação do efeito da concentração de HNO_3 sobre a eficiência de decomposição em sistema de alta pressão e temperatura com aquecimento convencional (HPA)). Após, os frascos foram fechados com uma fita de PTFE e tampa de quartzo e, na sequência, foram colocados no rotor que foi inserido na cavidade metálica. Por fim, o sistema foi fechado manualmente e pressurizado com um gás inerte (50 bar de Ar ou N_2). O volume de 6 mL, colocado em cada frasco de quartzo, foi estipulado para as digestões com base nos demais experimentos feitos neste trabalho. Cabe ressaltar que o volume de H_2O_2 adicionado não alterou a concentração do ácido nem o volume final de solução. Na Figura 5a é mostrado o sistema HPA, rotor de alumínio com os frascos de quartzo (Figura 5b), controlador de temperatura do HPA (Figura 5c) e frascos com amostras e 6 mL de solução (Figura 5d).

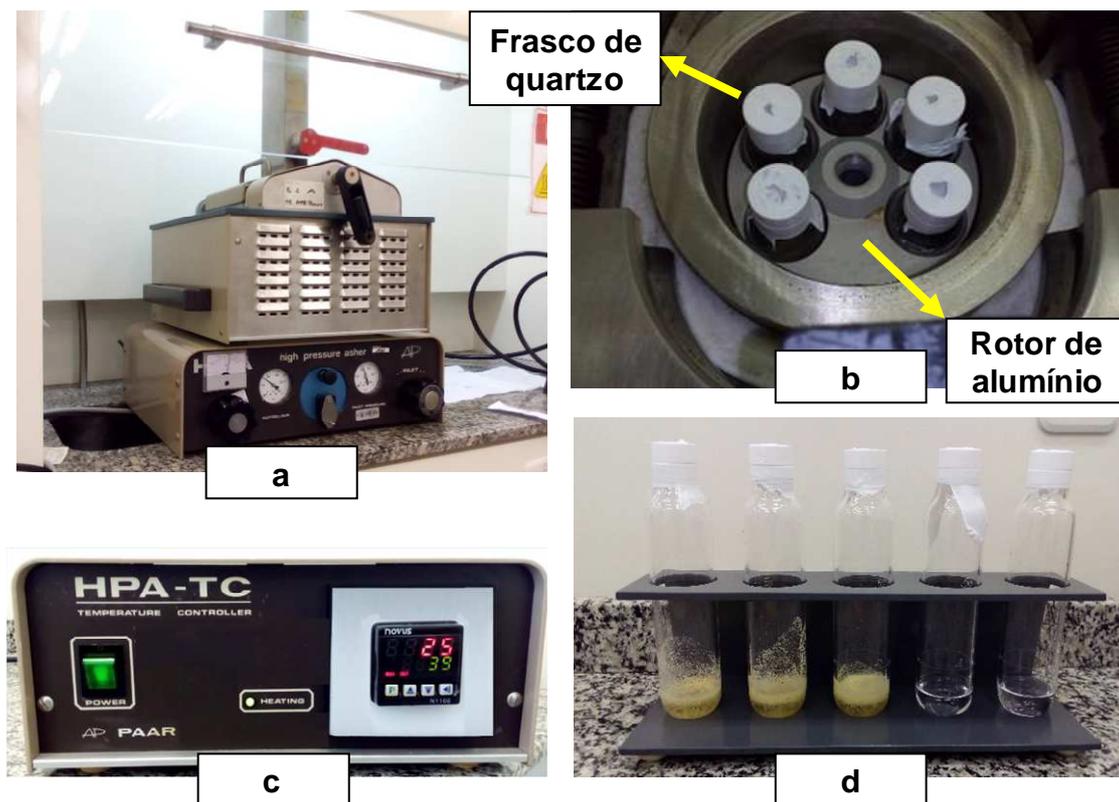


Figura 5. a) vista frontal do sistema HPA; b) vista superior da cavidade com rotor e frascos fechados do sistema; c) controlador do sistema HPA e d) suporte com frascos de quartzo contendo 3 frascos com amostra e solução digestora e 2 com solução digestora (branco).

O programa de irradiação utilizado no sistema HPA foi: *i)* rampa de 15 min até 270 °C ou 320 °C a 1600 W, *ii)* permanência de 10 min a temperatura de 270 ou 320 °C e *iii)* resfriamento até atingir a temperatura de 30 °C, onde é iniciado a despressurização da cavidade manualmente. Além disso, no sistema HPA, foram avaliados os parâmetros de pressão inicial do gás a 50 e 70 bar para N₂.

Ao término da decomposição, os digeridos foram transferidos para frascos volumétricos e aferidos a 20 mL com água. Os digeridos foram submetidos à determinação elementar por ICP-OES, RCC e RA.

3.4.2.1 Avaliação do efeito da concentração de HNO_3 sobre a eficiência de decomposição em sistema de alta pressão e temperatura com aquecimento convencional (HPA)

Para efeito de comparação, foi empregado HNO_3 nas concentrações de 1 e 7 mol L^{-1} e volumes de 0,1 e 0,9 mL de H_2O_2 50%. Para estas avaliações, foram utilizados 250 mg de leite em pó integral, temperatura de 270 °C e 320 °C e, pressão inicial de 50 bar de N_2 . Posteriormente, os CRM's NIST 8433 – Corn Bran e NIST 8435 – Whole Milk Powder foram decompostos na melhor condição encontrada. O programa de aquecimento utilizado para todos os testes está descrito no item 3.4.2 (Procedimento de decomposição em meio ácido em sistema de alta pressão e temperatura (HPA)).

Após cada decomposição, os digeridos foram transferidos para frascos volumétricos onde foram aferidos a 20 mL com água. Após, foram determinados o RCC e a RA.

Na Figura 6 é mostrado um resumo dos métodos de preparo de amostras empregados para a decomposição das amostras de leite em pó integral, salsa, fígado bovino e linhaça, bem como os parâmetros no método proposto.

MÉTODOS DE PREPARO DE AMOSTRA		
Referência		Proposto
METAIS Decomposição por HPA	METAIS Decomposição por MAD-SRC	METAIS Decomposição por MAD-SRC
Massa de amostra - 250 mg	Massa de amostra - 250 mg	Massa de amostra - 250 mg
Solução de decomposição (6 mL) - HNO ₃ 1 e 7 mol L ⁻¹ - 0,1 e 0,9 mL de H ₂ O ₂ 50%	Solução de decomposição (6 mL) - HNO ₃ 14,4 mol L ⁻¹	Solução de decomposição (6 mL) - HNO ₃ 0,1, 0,5, 1, 2, 3 e 14,4 mol L ⁻¹
Programa de aquecimento - 15 min de rampa até 270-320 °C; - 10-30 min de permanência a 270-320 °C	Programa de aquecimento - 15 min de rampa 270 °C; - 10 min de permanência a 270 °C	Programa de aquecimento - 15 min de rampa 180-270 °C; - 10 min de permanência a 180, 210, 240 e 270 °C
Pressurização - 50 bar; N ₂	Pressurização - 40 bar; Ar	Pressurização - 20 a 50 bar; ar, Ar, O ₂ e N ₂
Avaliação da eficiência a partir do RCC e do RA dos digeridos		
Determinação de Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Sr e Zn por ICP-OES		

Figura 6. Resumo dos métodos de preparo de amostras empregados e dos parâmetros avaliados nesse trabalho.

4 APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Nesta seção são apresentados e discutidos os resultados obtidos nos parâmetros avaliados para decomposição empregando H_2O_2 e HNO_3 diluído em forno de alta pressão e temperatura (HPA). Posteriormente é discutido e apresentado o estudo abordando as temperaturas e pressurizações com diferentes gases para decomposição das amostras no sistema MAD-SRC com HNO_3 diluído. Após, são discutidos os resultados obtidos com a modificação nas tampas e nos frascos do sistema MAD-SRC. Posteriormente, é apresentada a aplicabilidade do método proposto para amostras de leite em pó integral, linhaça, fígado bovino e salsa. Ainda, são apresentados os resultados obtidos para a decomposição dos materiais de referência certificados avaliados neste trabalho.

4.1 Amostras

Para avaliar a eficiência de digestão e a dependência da concentração de HNO_3 , H_2O_2 , temperatura, composição da fase gasosa e pressão inicial foi utilizado leite em pó integral. A escolha de leite em pó integral se deu com base nas características da amostra como: teor de gordura, minerais e tamanho de partícula. Além disso, a amostra de leite em pó integral é referenciada na literatura sendo utilizada constantemente em publicações como forma de avaliar sistemas de decomposição.^{29,81,99} As demais amostras utilizadas foram decompostas na melhor condição para verificação da eficácia do método proposto.

As amostras foram avaliadas quanto ao teor de C, por análise elementar, sendo os valores encontrados: salsa 41%; fígado bovino 49%, leite em pó integral 51% e linhaça 60% de C (base seca).

Amostras com maior teor de ácido graxos, principalmente os insaturados, apresentam maior resistência a oxidação.¹ As amostras de linhaça e leite em pó integral apresentam um teor de ácidos graxos mais elevado. Os valores nutricionais podem ser encontrados na literatura (Tabela Brasileira de Composição de Alimentos – TACO).

Após o processo de liofilização e moagem das amostras (descritos em *Materiais e Métodos*, item 3.1 Instrumentação), aos quais as amostras de salsa, fígado bovino e linhaça foram submetidos, o diâmetro de partícula dessas amostras e de leite em pó integral foram determinados com o auxílio de um analisador de partículas Mastersizer 2000 (Malvern). O meio dispersor não deve dissolver a amostra, para tanto, as amostras foram dispersas em vaselina. A velocidade de agitação inicial da amostra no equipamento foi de 1500 rpm, sendo reduzida para 500 rpm na etapa de determinação. Pode-se observar na Figura 7 os perfis de distribuição de tamanho de partícula.

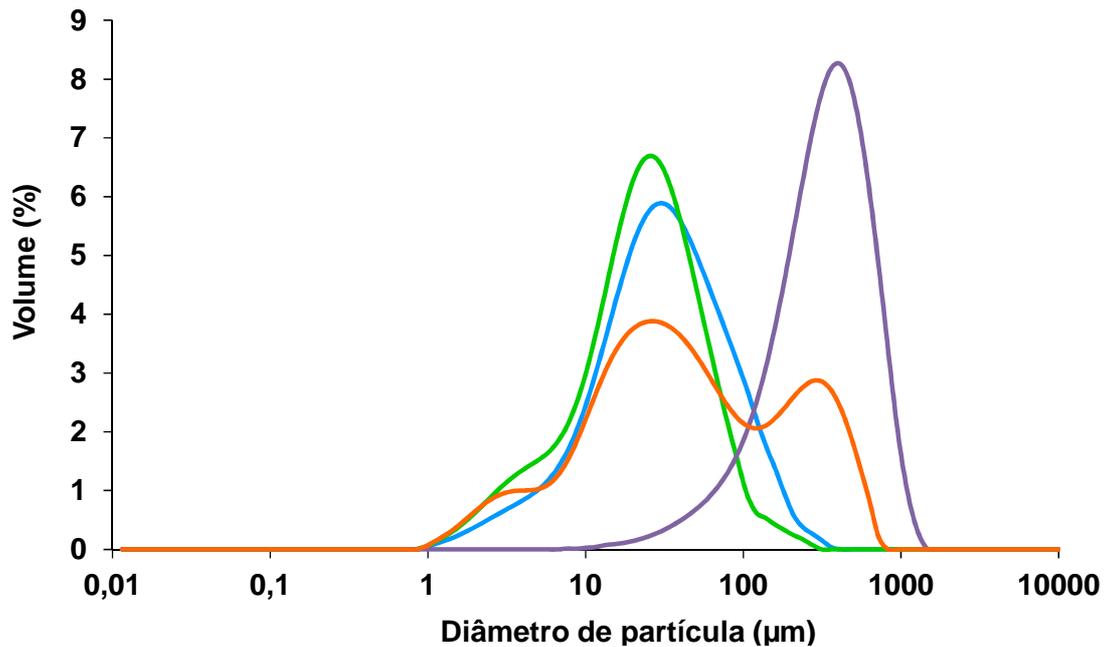


Figura 7. Perfis de distribuição do tamanho de partículas nas amostras de (—) leite em pó integral, (—) linhaça, (—) salsa e (—) fígado bovino.

A área superficial pode favorecer uma reação química mais rapidamente. A redução do tamanho de partícula a partir da moagem ou trituração, aumenta a relação entre a área superficial e o contato com a solução digestora. Desta forma, pode-se facilitar processos de decomposição.¹ O tamanho médio de 10, 50 e 90% do volume das partículas dispersas no meio é mostrado na Tabela 3.

Tabela 2. Determinação do diâmetro de partícula (μm) nas amostras de salsa, fígado bovino, leite em pó integral e linhaça, $n=5$.

Volume (%)	Diâmetro de partícula (μm)			
	Leite em pó integral	Linhaça	Salsa	Fígado bovino
10	103	6	7	5
50	312	38	28	22
90	657	308	94	60

4.2 Avaliação do método de decomposição empregando H_2O_2 com HNO_3 diluído em forno de alta pressão e temperatura (HPA)

A avaliação das condições necessárias utilizando forno de alta pressão e temperatura teve como principal foco de investigação a fase gasosa e a forma de aquecimento. Neste sistema não há uma troca da fase gasosa da cavidade com a fase gasosa presente no interior do frasco contendo a solução de digestão e a amostra.

Após a decomposição das amostras, os teores de carbono residual (RCC) e a acidez residual (RA) foram determinados. Na Figura 8 podem ser observados os valores de RCC e RA para a decomposição de leite em pó integral na temperatura de 270 °C.

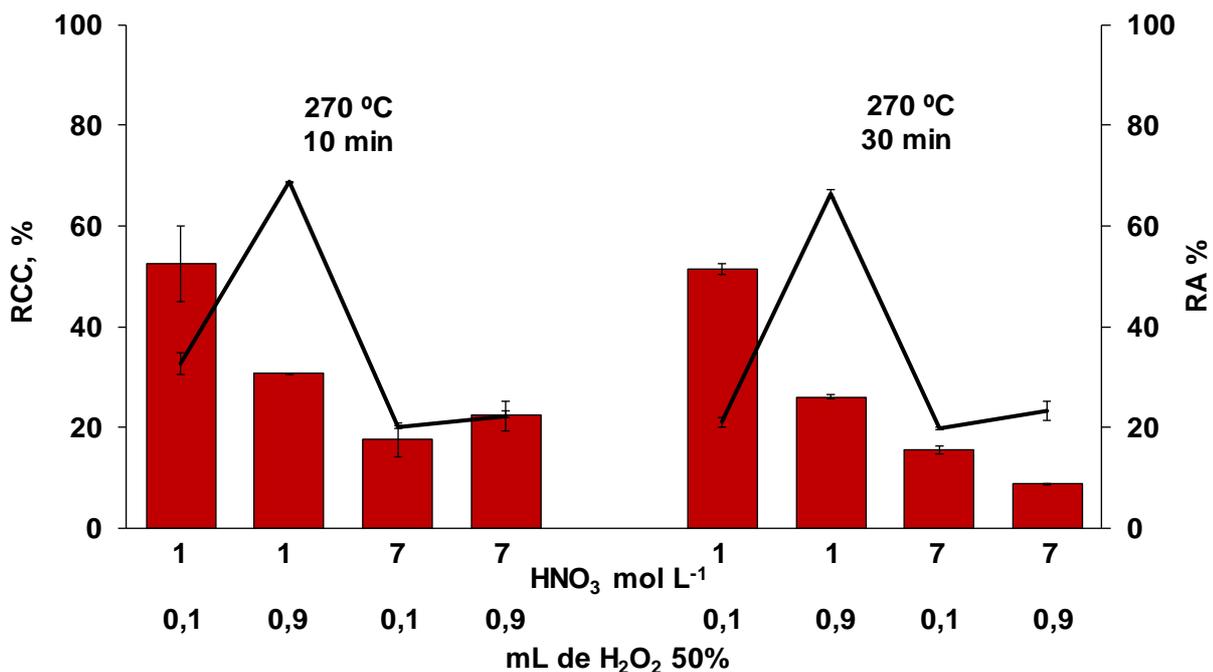


Figura 8. Gráfico de (■) RCC e (—) RA para amostras de leite em pó integral.

Nota-se que há um perfil semelhante quando utilizado 10 min e 30 min de permanência a 270 °C. A análise estatística aplicada (ANOVA duas vias) afirma que não há diferenças significativas entre os valores obtidos a 10 min e a 30 min de permanência e, também, que o tempo de permanência tem pouca influência nesse caso.

Na condição de 10 min de permanência, pode-se observar que quando foi utilizado HNO_3 1 mol L^{-1} e $0,1 \text{ mL}$ de H_2O_2 , os valores de RCC e de RA foram de 53 e 33%, respectivamente. Entretanto, para a condição de HNO_3 1 mol L^{-1} e $0,9 \text{ mL}$ de H_2O_2 os valores de RCC e RA foram de 31 e 69%. Nota-se que o uso de H_2O_2 proporcionou uma redução no valor de RCC, demonstrando melhora na eficiência de digestão. Apesar do aumento observado na RA, de 33% para 69%, quando o volume de H_2O_2 aumentou de $0,1 \text{ mL}$ para $0,9 \text{ mL}$, a RA não resultou em interferências durante as determinações por ICP-OES.^{74,75}

Esses valores reforçam a ideia de melhora na eficiência de digestão da matéria orgânica com o uso de H_2O_2 em meio ácido diluído, mesmo não havendo uma troca de fase gasosa ou vapor no frasco reacional, mas por fornecer O_2 ao meio reacional.

Na condição de 30 min de permanência a $270 \text{ }^\circ\text{C}$, os valores observados para a condição de HNO_3 1 mol L^{-1} e $0,1 \text{ mL}$ de H_2O_2 são RCC e RA de 51 e 21%, respectivamente. No entanto, para a condição de HNO_3 1 mol L^{-1} e $0,9 \text{ mL}$ de H_2O_2 os valores de RCC e RA são 26 e 66%, respectivamente. Nota-se uma redução discreta do RCC e RA em relação as mesmas condições usadas para as decomposições empregando a condição de 30 min de permanência no tempo de aquecimento.

Ao observar os valores apresentados na Figura 8 para as condições que empregam HNO_3 7 mol L^{-1} , evidencia-se uma redução dos valores de RCC e RA sendo maior a redução quando o tempo de permanência é de 30 min. Os valores para a condição de 10 min de permanência e de HNO_3 7 mol L^{-1} e $0,1 \text{ mL}$ de H_2O_2 para o RCC e a RA são 18 e 20%, respectivamente. Para a condição de 7 mol L^{-1} de HNO_3 e $0,9 \text{ mL}$ de H_2O_2 , o RCC e RA são 23 e 22%, respectivamente. Ao aumentar o tempo de permanência de 10 para 30 min, observa-se uma variação discreta nas duas condições empregadas (RCC e RA = 16 e 20% para $0,1 \text{ mL}$ de H_2O_2 e 9 e 23% para $0,9 \text{ mL}$ de H_2O_2 , respectivamente). Esses valores estão relacionados a maior quantidade de HNO_3 presente inicialmente nos frascos de digestão (7 vezes maior que a condição de 1 mol L^{-1}). Além disso, o sistema de aquecimento convencional não apresenta um gradiente de temperatura nos frascos reacionais que possa ser considerado significativo ou influente para promover a regeneração do HNO_3 .

Após a avaliação a 270 °C, o mesmo procedimento, mantendo as condições iniciais, foi realizado a 320 °C. Os resultados encontrados nestes estudos estão mostrados na Figura 9.

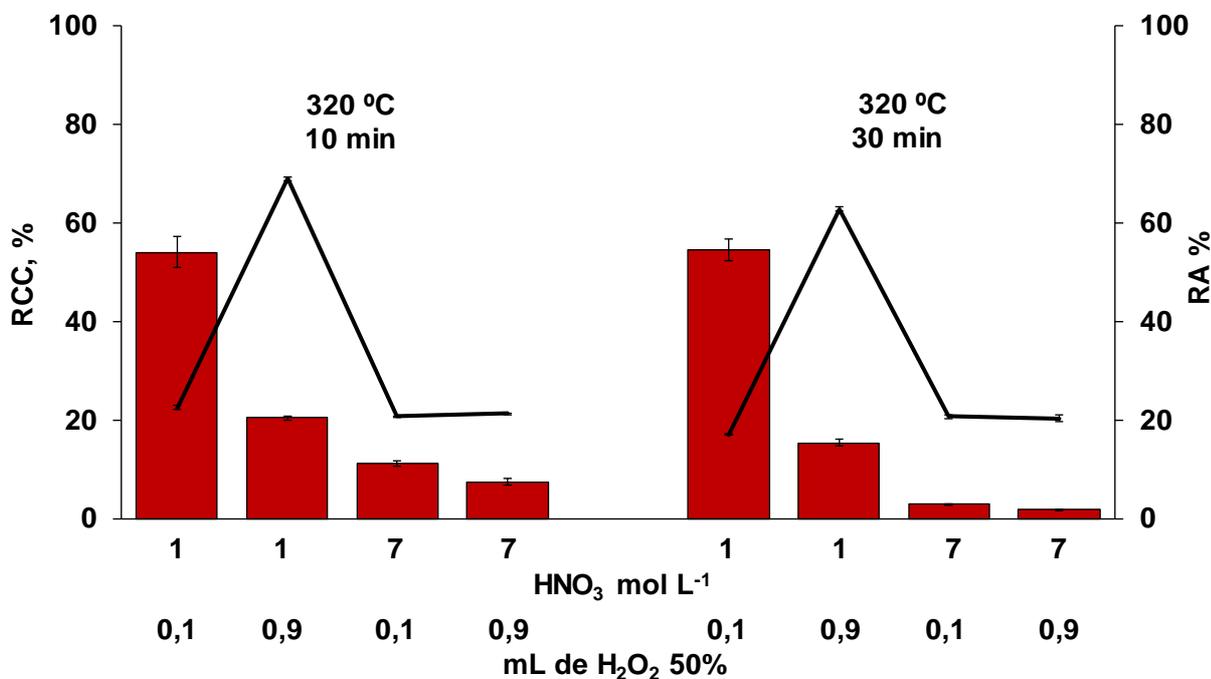


Figura 9. Gráfico de (■) RCC e (—) RA para amostras de leite em pó integral.

Novamente, o que se observa é um perfil semelhante àquele encontrado com as condições de temperatura de 270 °C. Percebe-se, claramente, a influência do H₂O₂ nas decomposições (como agente oxidante) considerando os pares de experimentos que utilizam como soluções digestoras de HNO₃ 1 e 7 mol L⁻¹. Na condição de HNO₃ 1 mol L⁻¹ mais 0,1 mL de H₂O₂ e HNO₃ 1 mol L⁻¹ mais 0,9 mL de H₂O₂, os valores para o RCC e RA são 54 e 22% na primeira condição e 20 e 69% na segunda, respectivamente. Esses valores são muito próximos àqueles observados quando a temperatura de 270 °C foi utilizada, ou seja, a variação de 50 °C não contribuiu para que houvesse melhora expressiva na redução do RCC.

Para as condições usando HNO₃ 7 mol L⁻¹ os valores foram cerca de 4 vezes menores quando o tempo de permanência de 10 min foi utilizado em relação aos 30 min de permanência, na temperatura de 320 °C, para ambos os volumes de H₂O₂ empregados. Para soluções de HNO₃ 1 mol L⁻¹ e empregando H₂O₂ como reagente auxiliar, o sistema HPA (aquecimento por condução), apresenta baixa eficiência de digestão comparado a soluções concentradas. Isso está relacionado, de certa forma,

ao fato do sistema não apresentar um gradiente de temperatura nos frascos reacionais. Tal aspecto é importante uma vez que a regeneração do HNO_3 é associada ao gradiente de temperatura, principalmente na etapa inicial de aquecimento.^{5,10}

A escolha da melhor condição de decomposição utilizando o sistema HPA levou em conta o RCC reduzido e a baixa RA, resultantes da decomposição de leite em pó integral. Desta forma, a condição utilizando como solução digestora HNO_3 1 mol L^{-1} e 0,9 mL de H_2O_2 50% na temperatura de 320 °C e tempo de permanência de 30 min foi selecionada como a mais eficiente para decomposição. Esta condição foi utilizada para a decomposição dos materiais de referência certificados (CRM's) NIST 8433 – *Corn Bran* e NIST 8435 – *Whole Milk Powder*, a fim de avaliar a exatidão do método. A massa de CRM utilizada foi de 250 mg. A Figura 10 apresenta o gráfico dos valores obtidos para RCC e RA na decomposição dos CRMs na condição selecionada.

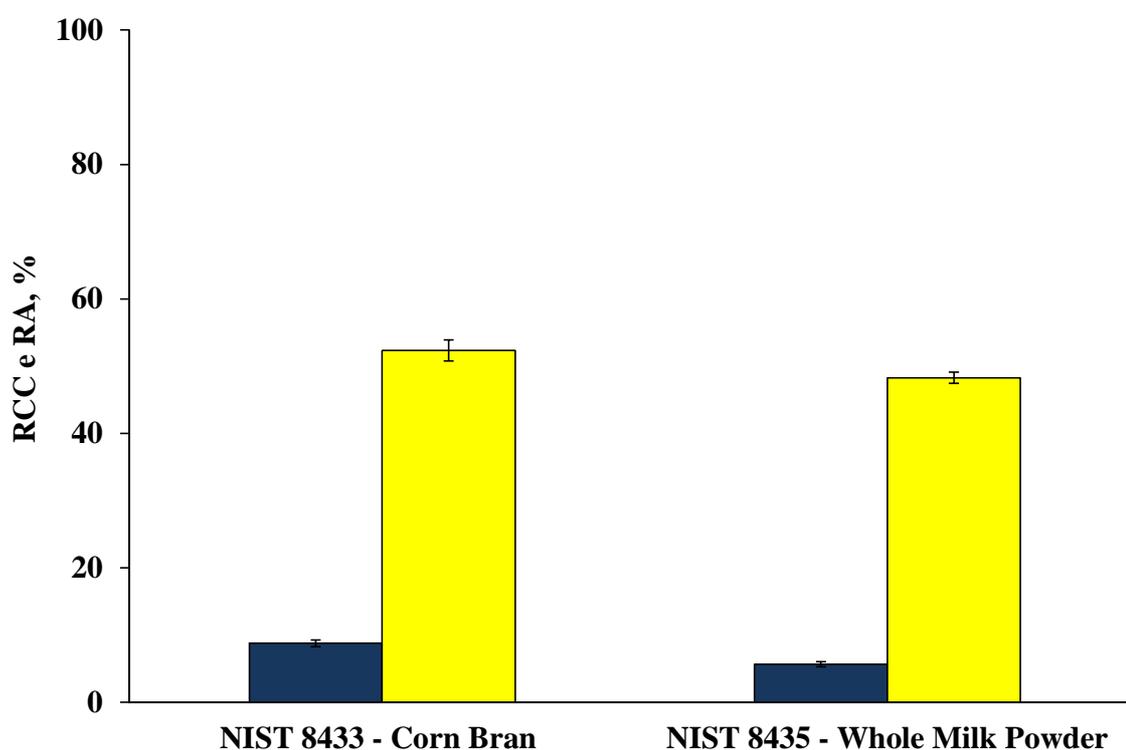


Figura 10. Gráfico da avaliação de (■) RCC e (■) RA na decomposição de materiais de referência certificados.

Os resultados obtidos na decomposição de *Corn Bran* para RCC e RA são 9 e 52%, respectivamente. Para *Whole Milk Powder* o RCC e RA são 6 e 48%, respectivamente. Os valores obtidos para o RCC mostram que a decomposição dos CRM's foi eficiente. Estes valores são considerados adequados para a massa de amostra estudada. Além disso, não foram observadas interferências nas determinações de metais por ICP-OES. Na Tabela 4 são mostrados os resultados obtidos para *Corn Bran* e *Whole Milk Powder* para metais após a decomposição utilizando HNO_3 1 mol L^{-1} + 0,9 mL de H_2O_2 50% a 320 °C com tempo de permanência de 30 min no sistema HPA.

Tabela 3. Resultados obtidos para a determinação de metais em CRMs de *Corn Bran* e *Whole Milk Powder* após decomposição com HNO_3 1 mol L^{-1} + 0,9 mL de H_2O_2 50% e tempo de permanência de 30 min a 320 °C no sistema HPA. Valores em $\mu\text{g g}^{-1}$, média \pm desvio padrão, n = 3.

Elementos	NIST 8435 (<i>Whole Milk Powder</i>)		NIST 8433 (<i>Corn Bran</i>)	
	Referência	HPA	Referência	HPA
Ba	0,58 \pm 0,23	0,65 \pm 0,10	2,4 \pm 0,52	2,5 \pm 0,25
Ca	9220 \pm 490	8967 \pm 474	420 \pm 38	450 \pm 15
Fe	1,8 \pm 1,1	2,3 \pm 0,1	14,8 \pm 1,8	25,4 \pm 8,2
K	13630 \pm 470	12668 \pm 631	566 \pm 75	504 \pm 1
Mg	814 \pm 76	792 \pm 23	818 \pm 150	758 \pm 1
Mn	0,17 \pm 0,05	0,21 \pm 0,01	2,55 \pm 0,53	2,59 \pm 0,14
Na	3560 \pm 400	3357 \pm 137	430 \pm 31	518 \pm 65
Sr	4,35 \pm 0,5	4,68 \pm 0,1	4,52 \pm 0,56	5,10 \pm 0,03
Zn	28 \pm 3,1	26 \pm 0,5	18,8 \pm 2,2	17,3 \pm 0,4

É possível observar que os valores para Fe não apresentaram concordância com os valores certificados de referência em ambos os materiais. Isso pode estar relacionado à cavidade metálica do sistema HPA, a qual apresenta-se como fonte de possível contaminação para este elemento. Os demais valores obtidos para os metais não apresentaram diferença significativa quando comparados aos valores de referência (Teste *t-student*, nível de confiança de 95%).

4.3 Avaliação da temperatura no método de decomposição empregando HNO₃ diluído e pressurização com ar, O₂ e N₂ em câmara única de reação (MAD-SRC)

O sistema SRC permite trabalhar com condições extremas de temperatura e pressão. No entanto, antes das pressurizações utilizando O₂ (SRC-O₂) foi realizada uma avaliação cuidadosa utilizando ar comprimido (21% de O₂). A avaliação foi realizada com base no controle do aumento da temperatura durante o processo de digestão. Após a avaliação com ar comprimido, as mesmas condições foram aplicadas para a digestão da amostra utilizando como gás de pressurização o O₂. A digestão utilizando N₂ foi feita como método comparativo, onde as condições instrumentais sugeridas pelo fabricante foram utilizadas.

Assim, utilizou-se um programa de aquecimento que consistiu em uma rampa de 15 min e um tempo de permanência de 10 min nas temperaturas de 180, 210, 240 e 270 °C, enquanto 250 mg de amostra de leite em pó integral foram digeridos utilizando soluções de HNO₃ (0,1, 0,5, 1, 2 e 3 mol L⁻¹). Nesta condição, a massa de amostra total na câmara de reação foi de 3,75 g (250 mg x 15 frascos de digestão), sendo digeridas simultaneamente para cada rodada de decomposição.

A avaliação dos perfis de temperatura e pressão, em tempo real, fornecidos pelo sistema de controle do forno micro-ondas, indicam a possibilidade de ocorrer reações que poderiam causar algum dano ao operador ou ao equipamento. O comportamento da taxa de aumento de pressão foi avaliado para verificar a capacidade do *software* em controlar possíveis reações abruptas através da avaliação da taxa de aquecimento.

Além disso, a avaliação da pressão contribui para um indicativo de possíveis reações que poderiam ocorrer rapidamente e, conseqüentemente, causar danos no sistema (por exemplo, explosão). Desta forma, inicialmente, a pressurização foi feita com ar comprimido (20 bar, 21% de O₂).

Após o monitoramento cuidadoso dos perfis de temperatura e pressão, verificou-se que não houve reações que poderiam oferecer risco quando utilizado ar comprimido a 20 bar. Assim, os perfis avaliados não indicaram tais reações quando empregado leite em pó integral como amostra e na condição de utilização do ar comprimido, assumiu-se que esta decomposição não apresentava riscos de reação

de decomposição inseguras, mesmo quando a temperatura de digestão foi de 270 °C.

A partir desta avaliação preliminar, utilizando o sistema SRC com ar comprimido, foi feita a decomposição empregando O₂ como gás de pressurização a 20 bar. As condições operacionais inicialmente usadas para o ar comprimido foram rigorosamente seguidas nesta avaliação (rampa de aquecimento, tempo de permanência, massa de amostra, amostra e concentração de HNO₃) a fim de comparar os dois sistemas.

Na Figura 11 pode-se observar o gráfico gerado a partir do programa de aquecimento (rampa e tempo de retenção).

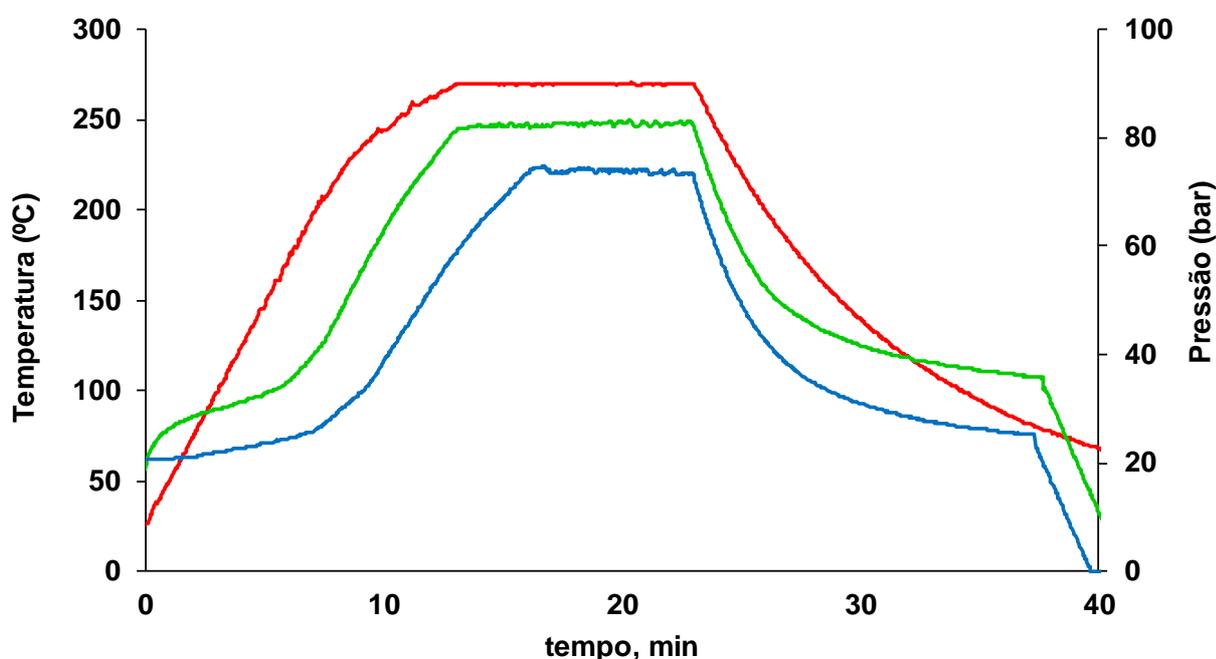


Figura 11. Perfil de temperatura e pressão no sistema UltraWAVE, onde é mostrado (—) temperatura interna da cavidade, (—) pressão com ar comprimido e (—) pressão com O₂.

Na Figura 11 apresenta-se um perfil adequado de temperatura e pressão. Foi observado uma redução da pressão quando comparado os sistemas empregando O₂ e ar comprimido ou mesmo N₂ (não apresentado no gráfico). É possível observar que não houve aumento súbito na temperatura e na pressão, um indicativo de que não ocorreram reações altamente exotérmicas e que o sistema apresentou controle em relação a taxa de aquecimento e pressão configurados para a decomposição.

O resultado apresentado demonstra que a pressão do ar comprimido foi ligeiramente maior que a pressão do O₂ nas mesmas condições de operação do sistema SRC. Pode-se observar ainda que, como parte da fase gasosa é consumida nas reações de regeneração do HNO₃ em atmosfera rica em O₂, nota-se uma redução na pressão do sistema, o que corrobora o conceito relacionado ao uso de soluções diluídas de HNO₃.¹⁰ Esta redução na pressão mostra um procedimento mais seguro para a digestão e também condições menos drásticas para o sistema. Aspectos relacionados ao efeito de O₂ sobre a regeneração do HNO₃ e sua influência sobre a eficiência de decomposição são discutidos no decorrer do texto.

4.4 Avaliação da temperatura na eficiência de digestão de leite em pó integral empregando HNO₃ diluído e pressurização com ar, O₂ ou N₂ em câmara única de reação (MAD-SRC)

Após a avaliação das condições operacionais do sistema MAD-SRC empregando ar, O₂ e N₂ como gases para pressurização, foi avaliada a eficiência na decomposição de leite em pó integral em função da temperatura. A influência de decomposição foi expressa por meio da determinação de C, por ICP-OES, e apresentada como RCC.

Para isto, utilizou-se um programa de aquecimento que consistiu em uma rampa de 15 min e um tempo de permanência de 10 min nas temperaturas de 180, 210, 240 e 270 °C. A massa de amostra foi de 250 mg (leite em pó integral), que foram digeridos utilizando soluções de HNO₃ (0,1, 0,5, 1, 2 e 3 mol L⁻¹).

As condições utilizando soluções de 0,1, 0,5 e 1 mol L⁻¹ de HNO₃, quando empregadas com ar comprimido ou N₂, não foram adequadas para a decomposição de leite em pó integral. Nestes casos, os digeridos apresentaram material particulado e aspecto escuro, características da má decomposição da matéria orgânica, mesmo a 270 °C. Para as soluções de 0,1 e 0,5 mol L⁻¹ de HNO₃ empregando O₂ como gás de pressurização, esse efeito também foi observado. Porém, pode-se perceber uma melhora no aspecto do digerido obtido quando HNO₃ 1 mol L⁻¹ foi utilizado no sistema pressurizado com 20 bar de O₂. Nesta condição, o digerido obtido apresentou aspecto límpido, sem material particulado suspenso. A

Figura 12 mostra os digeridos após a decomposição utilizando o sistema MAD-SRC nas condições mencionadas.

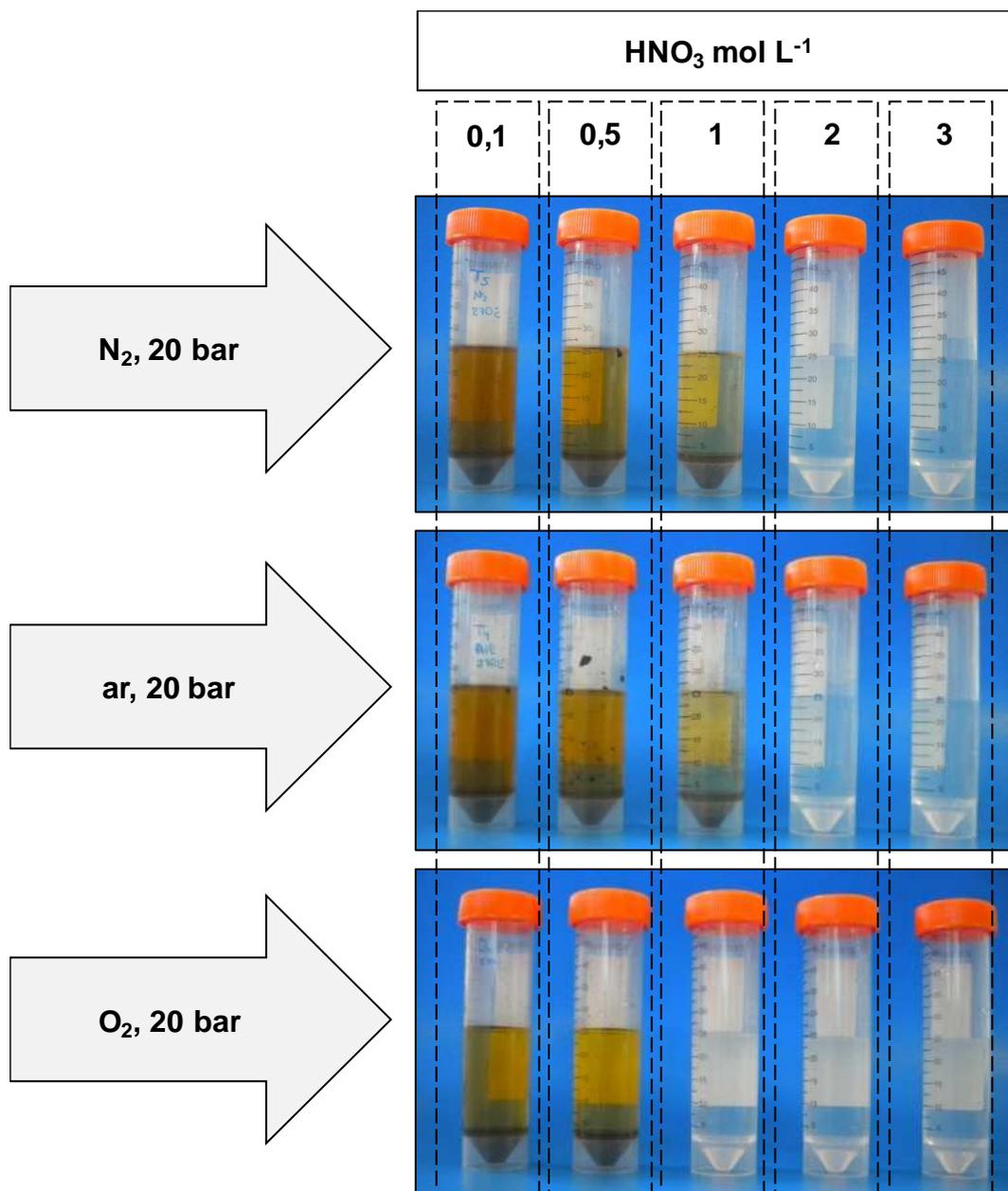


Figura 12. Aspecto das amostras digeridas nos procedimentos de pressurização com N₂, ar e O₂ para avaliação da eficiência de decomposição no sistema MAD-SRC.

Na Figura 13 são apresentados os resultados de RCC referentes à decomposição no sistema MAD-SRC nas condições estudadas. Devido ao aspecto turvo, e a presença de material particulado suspenso, as condições de 0,1, 0,5 e 1

mol L⁻¹ de HNO₃ para ar comprimido e N₂ e, para 0,1 e 0,5 mol L⁻¹ de HNO₃ para O₂, não foram adequados para análises por ICP-OES.

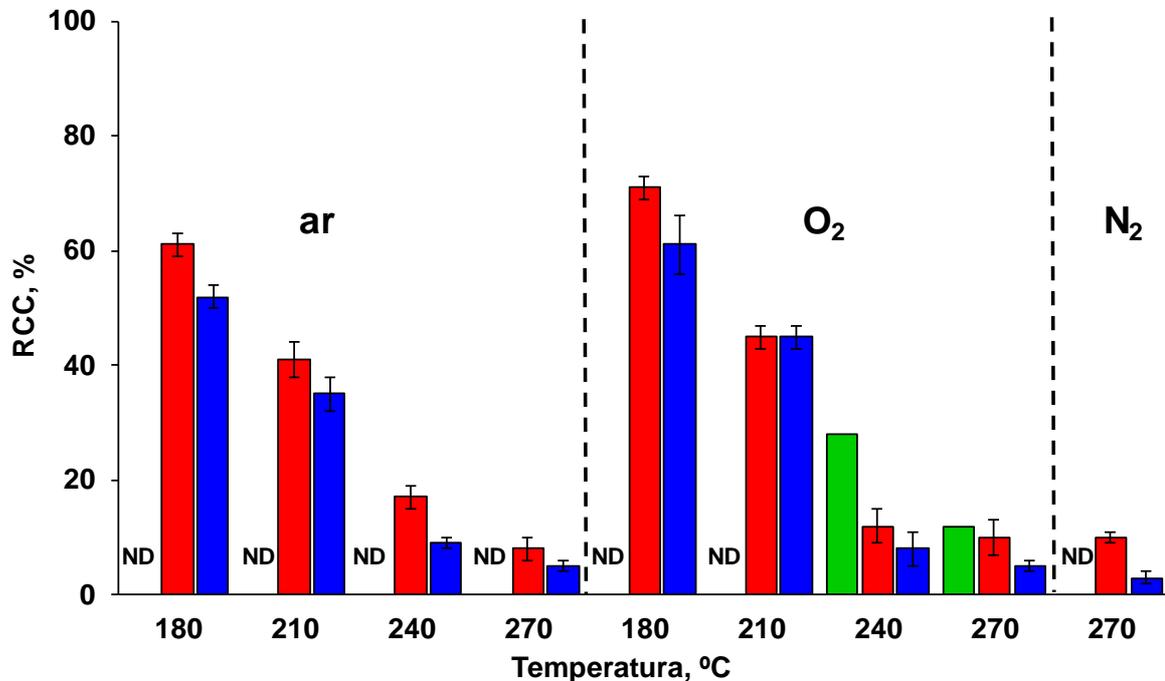


Figura 13. Resultados para RCC após digestão no sistema MAD-SRC, de leite em pó integral. Condições utilizadas: tempo de permanência de 10 min, temperaturas de 180 a 270 °C, concentrações apresentadas para HNO₃ de 1 a 3 mol L⁻¹ e pressurizações com ar, O₂ ou N₂ a 20 bar. Os caracteres (ND) indicam que a digestão foi pouco eficiente, sendo estas amostras caracterizadas como impróprias para análises. (■) HNO₃ 1 mol L⁻¹; (■) HNO₃ 2 mol L⁻¹; e (■) HNO₃ 3 mol L⁻¹.

Os resultados mostrados na Figura 13 indicam um perfil de redução do RCC com aumento de temperatura. Este perfil é acompanhado pela concentração da solução a qual também demonstra reduzir os valores de RCC à medida que a concentração de HNO₃ aumenta de 1 para 3 mol L⁻¹.

Quando o N₂ foi utilizado, as decomposições somente ocorreram nas concentrações de HNO₃ de 2 e 3 mol L⁻¹ a 270 °C. Para ar comprimido e O₂ são observados perfis semelhantes de RCC. Percebe-se, ainda, que a concentração de HNO₃ 1 mol L⁻¹ não foi suficiente para decompor as amostras mesmo utilizando temperatura de 270 °C quando o sistema foi pressurizado com ar comprimido. No entanto, as condições de 240 e 270 °C e HNO₃ 1 mol L⁻¹ possibilitaram a digestão da amostra de leite em pó integral quando o sistema foi pressurizado com O₂.

Os resultados apresentados na Figura 13 evidenciam a possibilidade do uso de soluções diluídas de HNO_3 na presença de uma atmosfera rica em O_2 , o qual atua diretamente para melhorar a eficiência de digestão da matéria orgânica. Como citado anteriormente, a ocorrência de reações químicas na fase gasosa do frasco reacional promovem a regeneração do HNO_3 e favorecem a digestão.^{5,9,10}

De acordo com o mecanismo de regeneração do HNO_3 ¹⁰, o que se espera é um aumento na regeneração do HNO_3 quando O_2 é empregado. Além disso, espera-se que com o aumento da pressão de O_2 na câmara reacional deve-se obter maior eficiência na digestão^{5,10}. Contudo, os processos e mecanismos citados até o momento fazem referência a sistemas fechados, não a sistemas onde os frascos de digestão são alocados em uma autoclave. No sistema MAD-SRC todos os frascos estão dispostos em um rotor onde ficam parcialmente submersos em uma solução reacional. Estes frascos estão todos em contato direto com a fase gasosa/vapor na câmara reacional e, desta forma, compartilham a atmosfera da câmara reacional, a qual é responsável por evitar a evaporação da solução digestora e a projeção das amostras durante a decomposição. Conforme as avaliações, verificou-se que a fase gasosa desempenha papel importante na digestão das amostras, não se restringido apenas por evitar projeções ou evaporações das soluções ou amostras.

Assim sendo, com o objetivo de explorar melhor o uso da fase gasosa no sistema MAD-SRC, avaliações nas pressões de 20 a 50 bar de O_2 foram feitas para decompor 250 mg de leite em pó integral, na temperatura de 270 °C e solução de 1 mol L⁻¹ de HNO_3 . Os resultados são mostrados na Figura 14.

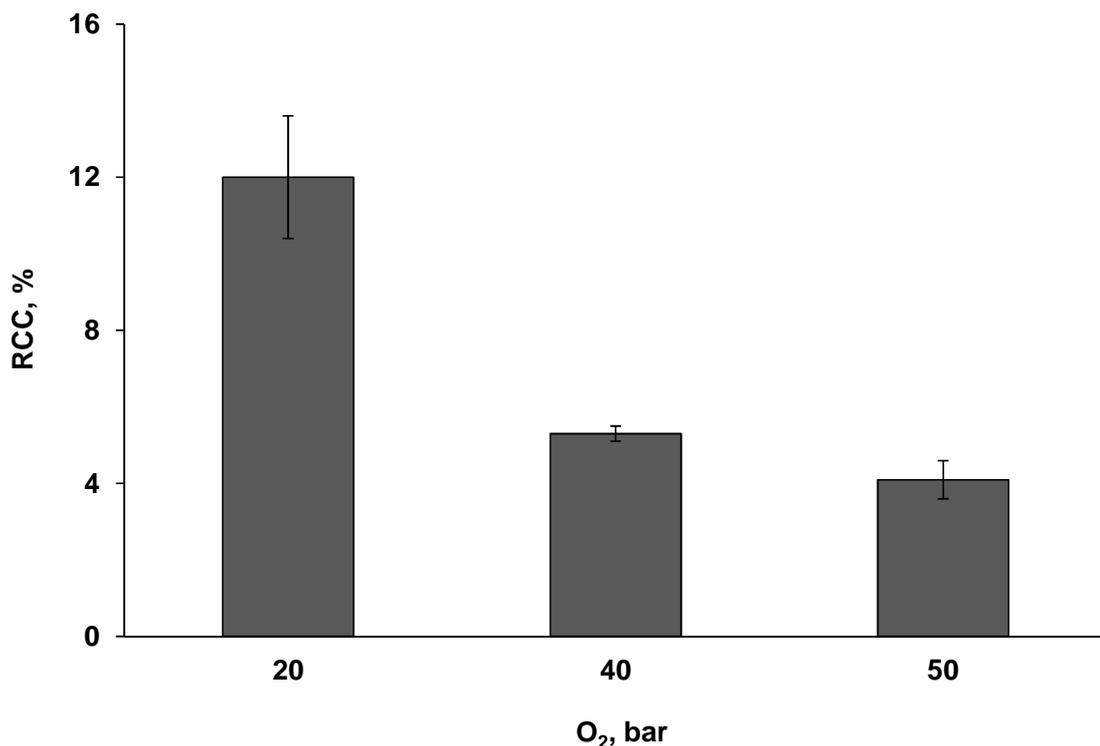


Figura 14. Efeito da pressão de O₂ no RCC para a decomposição de leite em pó integral usando solução de HNO₃ 1 mol L⁻¹ a 270 °C no sistema MAD-SRC, n=3.

Quando a pressão inicial do sistema foi aumentada de 20 para 40 bar (Figura 14), observa-se uma redução significativa no valor de RCC de 12 para 5,3%, respectivamente. No entanto, a redução do RCC de 40 para 50 bar é menos pronunciada (RCC de 5,3 para 4,1%, respectivamente). O aumento na eficiência de oxidação da matéria orgânica nesse caso é menor, o que pode indicar que para a amostra em questão (leite em pó integral) a condição de 40 bar como pressão inicial de O₂ seja satisfatória para as digestões.

A viabilidade de utilização de uma pressurização a 50 bar de O₂ pode ser útil quando se tem diferentes tipos de amostras no mesmo sistema e estas apresentam grandes quantidades de ácidos graxos ou diferentes resistências a oxidação frente a reações com HNO₃. Esta condição pode possibilitar a digestão simultânea de várias amostras com composições muito diferentes, utilizando a mesma fase gasosa e HNO₃ diluído. Isso não é possível em outras condições e em outros sistemas, mesmo empregando temperaturas mais elevadas, como no caso do HPA a 320 °C.

Comparando o sistema MAD-SRC e o sistema HPA, a diferença não está somente na forma de aquecimento, mas também na influência da fase gasosa nestes dois sistemas. Adicionalmente a esta questão, pode-se relacionar os dois

sistemas e a eficiência de digestão em cada um deles. A Figura 15 mostra a comparação entre o sistema MAD-SRC e o HPA para a condição utilizando solução de HNO_3 1 mol L^{-1} . Para ambos os sistemas (Figura 15) a massa de amostra foi de 250 mg de leite em pó integral, a temperatura foi de $270 \text{ }^\circ\text{C}$ com o mesmo programa de aquecimento e pressão inicial nos dois sistemas (MAD-SRC e HPA com 50 bar de O_2 e de N_2 , respectivamente). A solução utilizada no sistema MAD-SRC consistiu apenas de HNO_3 1 mol L^{-1} e a solução no sistema HPA de HNO_3 1 mol L^{-1} com 0,1 ou 0,9 mL de H_2O_2 50%. Os valores de RCC foram de 4,1% para o sistema MAD-SRC, 53% (0,1 mL de H_2O_2) e 31% (0,9 mL de H_2O_2) para o sistema HPA.

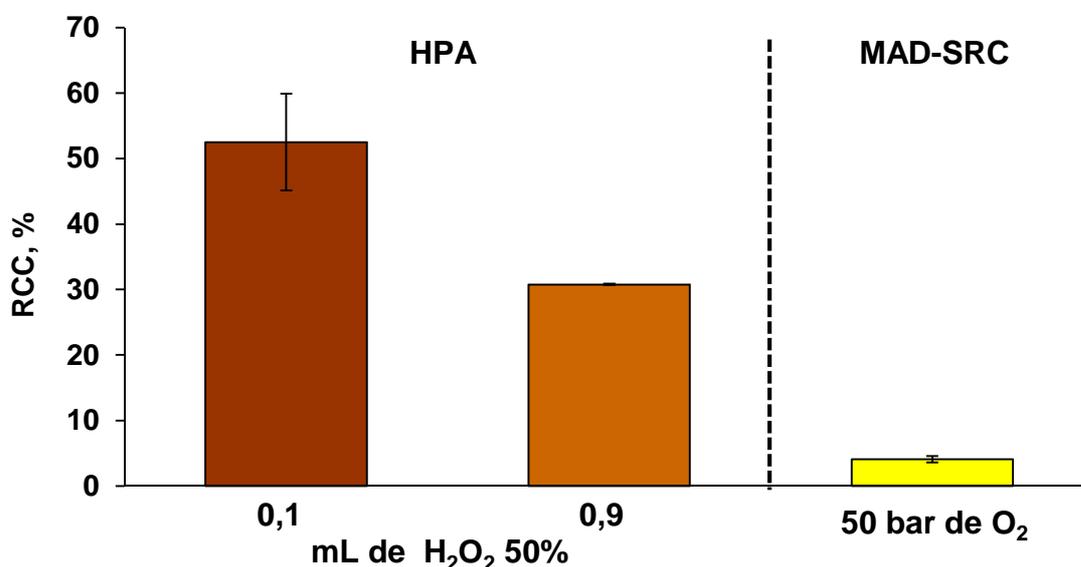


Figura 15. Comparação da eficiência de digestão entre os sistemas MAD-SRC e HPA empregando O_2 e H_2O_2 , respectivamente (T máxima de $270 \text{ }^\circ\text{C}$). (■) RCC usando solução de HNO_3 1 mol L^{-1} e 0,1 mL de H_2O_2 50% e (■) RCC usando solução de HNO_3 1 mol L^{-1} e 0,9 mL de H_2O_2 50% (HPA); (■) RCC usando HNO_3 1 mol L^{-1} e 50 bar de O_2 (MAD-SRC).

Ao observar a Figura 15, percebe-se que, na mesma concentração de HNO_3 , pressão inicial, temperatura e tempo reacional, a influência da fase gasosa (O_2) é significativa (ANOVA, nível de confiança de 95%), visto que o RCC é reduzido de mais de 31 para 4,1% (condição 0,9 mL de H_2O_2). Estes resultados demonstram que a eficiência de decomposição da matéria orgânica depende do tipo e da pressão exercida pela fase gasosa. A seguir são apresentados os resultados da decomposição de amostras com diferentes características e resistências a oxidação no sistema MAD-SRC.

4.5 Avaliação da eficiência de decomposição de linhaça, fígado bovino, salsa e leite em pó integral empregando HNO₃ diluído e pressurização com O₂ no sistema MAD-SRC

A possibilidade de se trabalhar com diferentes matrizes, principalmente em uma mesma rodada de decomposição, é uma vantagem para qualquer sistema. Como forma de avaliar a possibilidade de uma condição que satisfaça este requisito, 250 mg de amostra (em triplicata) de linhaça, fígado bovino e salsa foram digeridos, simultaneamente, empregando solução de HNO₃ 1 mol L⁻¹ a 270 °C e com pressurizações de 20, 40 e 50 bar de O₂. Na Figura 16 são mostrados os resultados para RCC das amostras digeridas e de leite em pó integral digerido no mesmo sistema e condições. A decomposição com pressão de 20 bar de O₂ resultou em digeridos com material inadequadamente decompostos, apresentando aspecto turvo. Nesta condição, as amostras foram consideradas impróprias para análise por ICP-OES. Assim, as pressurizações de 40 e 50 bar foram utilizadas para decompor as amostras simultaneamente.

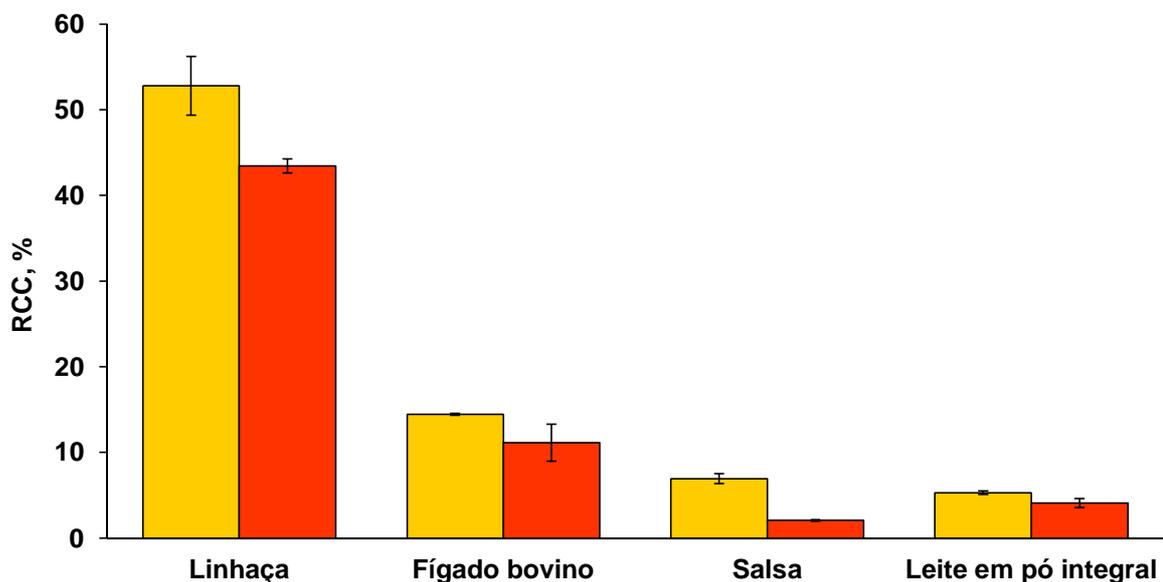


Figura 16. Decomposição de amostras botânicas e biológicas usando pressão de (■) RCC, usando 40 bar de O₂ com HNO₃ 1 mol L⁻¹ e (■) RCC, usando 50 bar de O₂ com HNO₃ 1 mol L⁻¹, n=3.

Dentre as amostras estudadas, a linhaça apresentou maior RCC. Esta amostra possui em sua composição grande quantidade de ácidos graxos poli-insaturados os quais são mais resistentes a oxidação.^{1,104} O RCC da digestão da linhaça foi de 74 e 58% para 40 e 50 bar, respectivamente. Apesar disso, as digestões levaram à obtenção de soluções límpidas. Entretanto, a linhaça apresentou cerca de 5,3 g L⁻¹ de carbono dissolvido em solução quando digerida a pressão de 40 bar. De acordo com estudos já publicados, concentrações de C de cerca de 5 g L⁻¹ já podem causar interferências nas determinações de metais por ICP-OES.⁷¹ Assim, na condição de 40 bar de O₂ a concentração de carbono dissolvido em solução é suficientemente alta, podendo causar interferências nas determinações elementares por ICP-OES. Ao empregar 50 bar de O₂ para a digestão simultânea das amostras, o valor de carbono dissolvido em solução para a linhaça ficou em 4,3 g L⁻¹, o que possibilitou a quantificação das amostras por ICP-OES, minimizando o risco de interferências. O carbono dissolvido em solução para as demais amostras foi relativamente menor e, por essa razão, não houve prejuízo a análise elementar por ICP-OES.

A eficiência de digestão nas duas condições de pressurização foi relativamente semelhante para as demais amostras (RCC menor que 5%). Os valores observados para o carbono dissolvido nestas soluções foram abaixo do valor que poderia causar alguma interferência nas determinações elementares por ICP-OES. A utilização de 50 bar de O₂ foi escolhida para uma digestão simultânea das amostras e posterior determinação de metais por ICP-OES, uma vez que a eficiência desta empregando solução de 1 mol L⁻¹ de HNO₃ foi satisfatória.

A acidez residual dos digeridos no sistema MAD-SRC com 50 bar de O₂ foi de 70% e, para os digeridos com pressurização de 50 bar de N₂ foi de 7,5%. Quando o sistema foi pressurizado com N₂, a solução de HNO₃ 1 mol L⁻¹ não foi eficiente para oxidar a matéria orgânica, mesmo com praticamente todo ácido tendo sido consumido. Já com o sistema pressurizado com O₂, além de resultar em uma boa eficiência de decomposição, pouco ácido foi consumido. Estes valores apontam para uma regeneração do HNO₃, o que condiz com a literatura.^{8,10}

4.6 Determinação de metais por ICP-OES após a decomposição de linhaça, fígado bovino, salsa e leite em pó integral empregando HNO₃ diluído e pressurização com O₂ no sistema MAD-SRC

As determinações de RCC e RA para as amostras empregando pressurização com O₂ no sistema MAD-SRC possibilitaram a escolha da melhor condição de decomposição para a posterior determinação de metais, livre de possíveis interferências. Desta forma, usando solução de 1 mol L⁻¹ de HNO₃ e 50 bar de O₂, foram digeridas, simultaneamente, amostras de fígado bovino, linhaça, salsa e leite em pó integral. A massa utilizada foi de 250 mg (massa total na cavidade de 3,0 g) e a temperatura e o tempo de permanência foram de 270 °C e 10 min, respectivamente. Os metais determinados por ICP-OES para as amostras selecionadas foram Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Sr e Zn. A Tabela 5 mostra os valores obtidos para os metais e a comparação empregando método de referência. Para o método de referência, foram utilizados 6 mL de HNO₃ 14,4 mol L⁻¹ e pressão inicial de 50 bar de N₂, no sistema MAD-SRC.

Tabela 4. Resultados para metais em amostras biológicas e botânicas após digestão utilizando sistema MAD-SRC com pressurização de O₂ e solução de HNO₃ 1 mol L⁻¹. Valores em µg g⁻¹, média ± desvio padrão, n = 3.

Elementos	Fígado bovino		Linhaça		Salsa		Leite em pó integral	
	Referência	SRC-O ₂	Referência	SRC-O ₂	Referência	SRC-O ₂	Referência	SRC-O ₂
Ba	0,252 ± 0,024	< 0,3 ^b	3,42 ± 0,14	3,45 ± 0,20	57,6 ± 1,8	54,1 ± 2,4	2,37 ± 0,06	2,34 ± 0,11
Ca	149 ± 8	137 ± 7	2109 ± 78	2167 ± 95	7850 ± 498	8388 ± 799	9717 ± 199	9712 ± 142
Cu	225 ± 15	216 ± 20	13,5 ± 0,3	13,1 ± 0,2	8,85 ± 0,38	8,33 ± 0,38	< 2 ^b	< 1 ^b
Fe	198 ± 7	193 ± 6 ^a	55,1 ± 2,9	52,1 ± 1,8 ^a	1201 ± 57	1219 ± 78 ^a	3,26 ± 0,12	3,36 ± 0,20 ^a
K	8590 ± 616	9033 ± 386	5512 ± 313	5608 ± 448	32126 ± 1245	33754 ± 1553	13163 ± 574	13003 ± 415
Mg	579 ± 18	587 ± 22	3100 ± 103	3036 ± 163	2796 ± 119	2911 ± 109	867 ± 25	867 ± 26
Mn	7,03 ± 0,30	7,13 ± 0,87	21,9 ± 0,7	22,3 ± 1,2	122 ± 9	112 ± 6	0,274 ± 0,045	0,297 ± 0,071
Na	2266 ± 187	2103 ± 110	218 ± 10	210 ± 14,1	681 ± 35	643 ± 26	4522 ± 192	4203 ± 240
Sr	< 1 ^b	< 0,7 ^b	10,3 ± 0,4	10,8 ± 0,6	49,6 ± 1,7	47,7 ± 2,2	4,67 ± 0,26	5,17 ± 0,32
Zn	104 ± 4	102 ± 5	45,3 ± 1,0	42,3 ± 1,4	46,3 ± 2,5	50,8 ± 2,8	36,7 ± 3,2	34,1 ± 2,3

^a Digestão usando 6 mL de HNO₃ 1 mol L⁻¹ e 100 µL de HCl 12 mol L⁻¹.

^b Limite de quantificação.

De acordo com os dados mostrados na Tabela 5, podemos observar que os resultados obtidos para a maioria dos metais estão de acordo com os valores encontrados para o método de referência (Teste *t-student*, nível de confiança de 95%). Entretanto, dentre os metais avaliados, para o Fe foi necessário o uso de 100 μL de solução de HCl 12 mol L^{-1} para que fosse possível obter recuperações quantitativas deste metal. Pode-se inferir que a adição de HCl para determinação quantitativa de Fe deve-se ao fato do HNO_3 utilizado estar em concentração muito baixa.

4.7 Avaliação da exatidão do método proposto pela determinação de metais na decomposição de CRM's empregando HNO_3 diluído e pressurização com O_2 no sistema MAD-SRC

Após a otimizações das condições para o sistema MAD-SCR, foi feita a determinação de metais por ICP-OES para diferentes materiais botânicos (NIST 8433 – *Corn Bran*) e biológicos (NIST 8435 – *Whole Milk Powder* e NIST 1577a – *Bovine Liver*). Os resultados para Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Sr e Zn são mostrados na Tabela 6.

Tabela 5. Resultados para metais por ICP-OES após digestão de CRM's utilizando sistema MAD-SRC com pressurização de O₂ e solução de HNO₃ 1 mol L⁻¹. Valores em µg g⁻¹, média ± desvio padrão, n = 3.

Elemento	NIST 8433 (Corn Bran)		NIST 8435 (Whole Milk Powder)		NIST 1577a (Bovine Liver)	
	Certificado	SRC-O ₂	Certificado	SRC-O ₂	Certificado	SRC-O ₂
Ba	2,40 ± 0,52	2,09 ± 0,30	0,58 ± 0,23	0,495 ± 0,045	-	< 0,3 ^b
Ca	420 ± 38	425 ± 20	9220 ± 490	9882 ± 494	116 ± 4	113 ± 3
Cu	2,47 ± 0,40	2,20 ± 0,28	0,46 ± 0,08	< 1 ^b	160 ± 8	146 ± 10
Fe^a	14,8 ± 1,8	14,6 ± 0,70	1,8 ± 1,1	1,44 ± 0,05	184 ± 15	178 ± 12
K	566 ± 75	611 ± 50	13630 ± 470	13464 ± 450	11000 ± 300	10666 ± 236
Mg	818 ± 150	728 ± 31	814 ± 76	756 ± 46	601 ± 28	568 ± 25
Mn	2,55 ± 0,59	2,27 ± 0,31	0,17 ± 0,05	< 0,2 ^b	10,5 ± 1,7	9,43 ± 0,80
Na	430 ± 31	434 ± 17	3560 ± 400	3660 ± 237	2420 ± 60	2428 ± 110
Sr	4,62 ± 0,56	4,82 ± 0,31	4,35 ± 0,50	3,90 ± 0,31	0,136 ± 0,001	< 0,7 ^b
Zn	18,6 ± 2,2	17,4 ± 1,4	28,0 ± 3,1	26,1 ± 2,2	127 ± 16	121 ± 9

^a Digestão usando 6 mL de HNO₃ 1 mol L⁻¹ e 100 µL de HCl 12 mol L⁻¹.

^b Limite de quantificação.

Como pode ser observado na Tabela 6, os resultados obtidos utilizando o método proposto para os materiais de referência NIST 8433, NIST 8435 e NIST 1577a não apresentam diferença significativa (Teste *t-student*, nível de confiança de 95%). Portanto, a utilização de HNO_3 1 mol L^{-1} e pressurização com O_2 a 50 bar na digestão no sistema MAD-SRC foram adequados para a posterior determinação dos metais avaliados.

4.8 Avaliação dos perfis de temperatura e de pressão para a decomposição empregando HNO_3 diluído e pressurização com Ar, O_2 e N_2 em câmara única de reação (MAD-SRC) com tampas modificadas

Os perfis de temperatura e de pressão para o sistema MAD-SRC, usando frascos com tampas modificadas, foram avaliados com base nos resultados obtidos até o momento. Como observado, o aumento na pressão de O_2 influenciou positivamente a oxidação da matéria orgânica. Dessa forma, a investigação de tampas com maior troca de gases é outro aspecto que pode contribuir para a oxidação da matéria orgânica. A utilização de tampas modificadas poderia favorecer possíveis reações por apresentar maior área superficial de exposição da amostra com a atmosfera da cavidade (entrada de gases e saída de CO_2 , principalmente). Desta forma, as avaliações foram feitas com utilização de um programa de aquecimento que consistiu em rampa de 15 min até 270 °C e permanência de 10 min nessa temperatura. A massa de amostra e a concentração do HNO_3 utilizados nestes experimentos foram mantidos em 250 mg e 1 mol L^{-1} (6 mL de solução), respectivamente.

A avaliação dos perfis de temperatura e pressão em tempo real, fornecidos pelo sistema operacional, não indicaram a presença de variações acentuadas de temperatura ou pressão. Estes perfis foram comparadas ao sistema MAD-SRC com tampas originais. Cabe salientar que as pressões finais para os sistemas pressurizados com N_2 , Ar e O_2 foram 118, 110 e 108 bar, respectivamente, quando utilizado 50 bar de pressão inicial. Quando utilizado 20 bar de pressão inicial as pressões finais para N_2 , Ar e O_2 foram de 68, 64 e 64 bar, respectivamente.

Na Figura 17 pode-se observar o gráfico gerado a partir do programa de aquecimento para as condições de 20 e 50 bar para os três gases usados nas digestões.

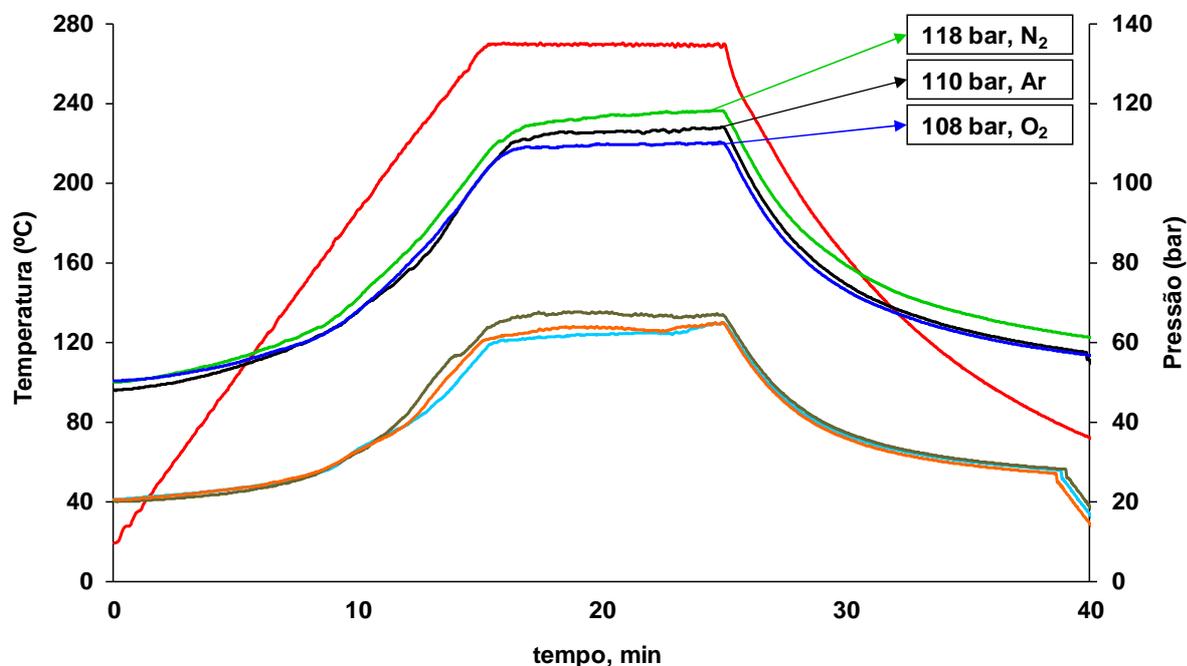


Figura 17. Perfil de temperatura e pressão para digestões de leite em pó integral no sistema MAD-SRC usando tampas modificadas para os gases (—) N₂, 50 bar; (—) N₂, 20 bar; (—) Ar, 50 bar; (—) Ar, 20 bar; (—) O₂, 50 bar; e (—) O₂, 20 bar; (—) temperatura, °C.

No gráfico da Figura 17 são observados os perfis de pressão para os diferentes gases utilizados. Outro aspecto interessante foi a menor pressão máxima observada quando o sistema foi pressurizado com O₂, possivelmente com resultados das reações de regeneração do HNO₃. Quando o HNO₃ é regenerado, além do O₂ consumido, o NO também retorna para a solução na forma de NO₂.

4.9 Avaliação da influência da fase gasosa na eficiência de decomposição para amostras orgânicas com uso de HNO₃ diluído e pressurização com Ar, N₂ ou O₂ empregando tampas modificadas para os frascos reacionais no sistema MAD-SRC

Após o estudo das condições operacionais do sistema MAD-SRC com emprego de Ar, N₂ e O₂, foram propostas mudanças nos frascos reacionais a fim de melhorar a eficiência de decomposição de amostras orgânicas a partir do método proposto.

A avaliação da influência da fase gasosa no sistema MAD-SRC foi feita a partir da decomposição de 250 mg leite em pó integral com solução de HNO₃ 1 mol L⁻¹, temperatura de 270 °C, pressão de 20 e 50 bar de Ar, N₂ ou O₂, utilizando tampas especialmente confeccionadas para os frascos reacionais, em PTFE (politetrafluoroetileno), com orifícios apresentando áreas distintas, para a troca de fase interna e externa do frasco reacional. A tampa original dos frascos de quartzo de 15 mL do sistema UltraWAVE apresentam um orifício de aproximadamente 1,8 mm² de área (essas tampas também foram usadas nos experimentos anteriores com o sistema MAD-SRC). Dois tipos de tampas com orifícios intermediários (1 orifício com 28,3 mm² e 3 orifícios, com área total de 84,8 mm²) foram confeccionadas em PTFE (em triplicata) a fim de estudar a troca gasosa entre as fases externa e interna dos frascos reacionais. Além disso, foram utilizados frasco sem tampa, apresentando área de troca gasosa de 154,0 mm². Os frascos foram dispostos em triplicata para cada tipo de tampa (ou sem) na cavidade reacional: 3 frascos com tampa normal (N), 3 frascos com tampa com 1 orifício (1), 3 frascos com tampa com 3 orifícios (3), 3 frascos sem tampa (S) e 3 brancos (BC). Para os brancos foram usados frascos com tampas normais.

As avaliações consistiram de duas condições de pressão para cada fase gasosa (Ar, N₂ ou O₂), sendo a 20 ou 50 bar para as pressurizações. As condições operacionais e reagentes foram mantidas iguais em todos os experimentos (250 mg de leite em pó integral, HNO₃ 1 mol L⁻¹, programa de aquecimento: rampa 15 min até 270 °C, permanência a 270 °C por 10 min). A Figura 18 mostra os resultados de RCC e RA para a decomposição de leite em pó integral nas pressões de 20 e 50 bar de N₂.

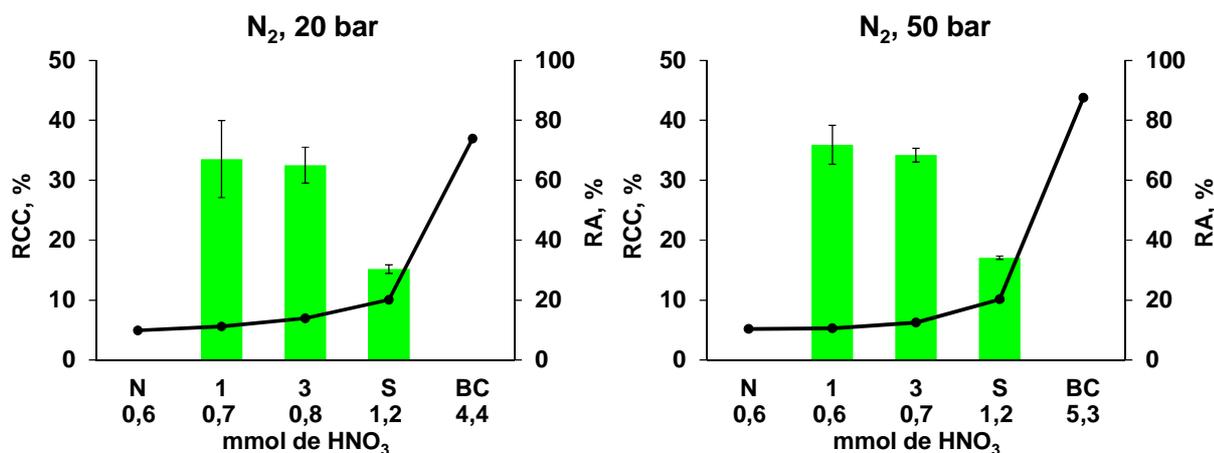


Figura 18. Resultados para (■) RCC e (—) RA da digestão de leite em pó integral usando tampas modificadas no sistema MAD-SCR pressurizado com N₂. (N) tampa normal; (1) tampa com 1 orifício; (3) tampa com 3 orifícios; (S) sem tampa; e (BC) branco com tampa normal.

À medida que a área de troca das fases aumenta de 1,8 mm² (tampa normal (N)) para 154,0 mm² (sem tampa (S)), ocorre uma redução significativa do RCC. Neste caso, observa-se uma melhora na eficiência da decomposição apenas por facilitar a troca de fases gasosa dos frascos reacionais com a fase gasosa da cavidade do sistema MAD-SRC, mesmo com utilização de N₂.

Foi observado uma melhora de até 70% na eficiência de decomposição usando N₂ e tampas com 1 e 3 orifícios para os frascos reacionais. Quando a tampa foi retirada, uma melhora na eficiência de digestão de até 90% foi observada. Logo abaixo do gráfico estão descritas as concentrações de acidez residual em quantidade de matéria (mol) restantes após as digestões, e pode-se observar que concentração de ácido praticamente não varia quando compara-se o mesmo frasco/tampa nas pressões de 20 e 50 bar (frascos com tampa normal (N), por exemplo). Entretanto, percebe-se um aumento da concentração do ácido em solução quando a área de troca de fase gasosa é aumentada. Ao comparar o frasco com tampa normal e o frasco sem tampa tem-se o dobro de acidez residual. Uma explicação para a ocorrência deste fenômeno é que à medida que a matéria orgânica é decomposta forma-se gás CO₂. No caso dos frascos sem tampa, este gás é liberado para a atmosfera do sistema SRC (externa aos frascos de decomposição) com maior facilidade do que nos frascos com tampa, possibilitando uma troca mais intensa de fase gasosa nos frascos sem tampa. Os frascos com

tampa normal, apresentam uma reduzida área de troca de fase gasosa, dificultando a entrada da fase gasosa da cavidade e reduzindo a eficiência de digestão.

Na Figura 19 são mostrados os resultados obtidos após a decomposição das amostras com o uso de Ar a 20 ou 50 bar de pressão nas mesmas condições anteriores.

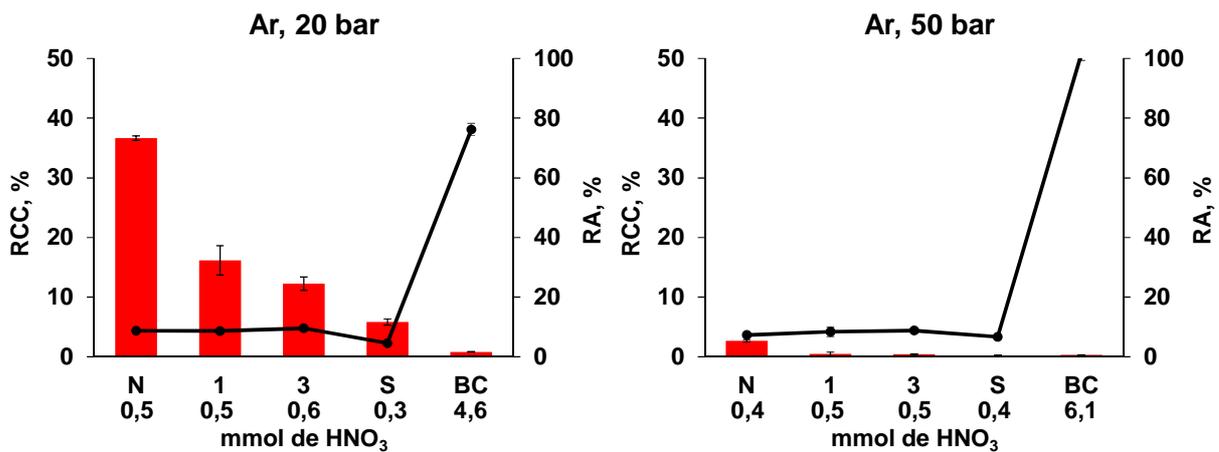


Figura 19. Resultados para (■) RCC e (—) RA da digestão de leite em pó integral usando tampas modificadas no sistema MAD-SCR, pressurizados com Ar. (N) tampa normal; (1) tampa com 1 orifício; (3) tampa com 3 orifícios; (S) sem tampa; e (BC) branco com tampa normal.

Nos gráficos da Figura 19 é possível notar que a redução nos valores de RCC foi mais previsível com o aumento da área para troca gasosa, em relação aos gráficos da Figura 18. Para o Ar, o comportamento é mais equilibrado e demonstra o efeito causado pela troca de fase gasosa. Comparando o uso de N₂ e Ar, constata-se uma redução considerável do RCC quando usado o mesmo procedimento e tampas. Para a pressurização a 50 bar, os resultados indicam que houve uma melhora significativa na decomposição das amostras, mesmo quando se utilizou as tampas normais, ficando abaixo dos 5% de RCC. A RA foi mantida praticamente constante para todos os frascos avaliados para digestão de amostra.

Na Figura 20 são apresentados os resultados de RCC e RA obtidos com a pressurização usando O₂ a 20 ou 50 bar para as mesmas condições reacionais primeiramente pressurizadas com N₂ e Ar. Cabe salientar que os gráficos da Figura 20 apresentam escala diferentes para o valor de RCC em relação aos outros gráficos apresentados (Figuras 18 e 19).

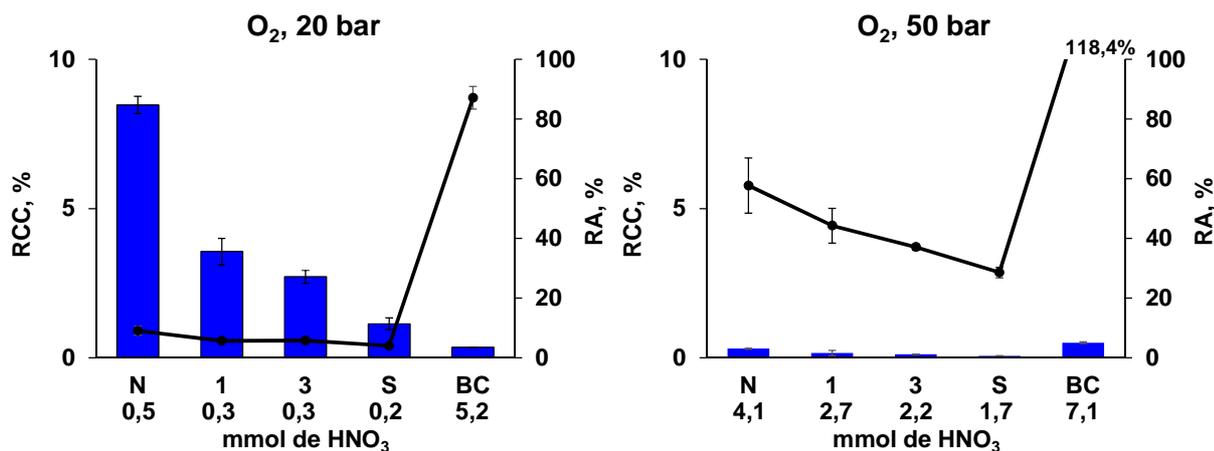


Figura 20. Resultados para (■) RCC e (—) RA da digestão de leite em pó integral usando tampas modificadas no sistema MAD-SCR, pressurizado com O₂. (N) tampa normal; (1) tampa com 1 orifício; (3) tampa com 3 orifícios; (S) sem tampa; e (BC) branco com tampa normal.

Conforme é observado na Figura 20, o resultado para as decomposições usando O₂ a 20 bar resultaram em valores de RCC inferiores a 10% e, novamente, é visualizado um perfil de RCC semelhante ao encontrado para 20 bar de Ar, porém com valores significativamente menores. Os resultados mostrados na Figura 20 indicam que houve uma digestão mais eficiente quando o sistema foi pressurizado com O₂ quando comparado a mesma condição para o Ar. Como pode ser observado, a RA neste experimento manteve-se praticamente constante e, semelhantemente ao experimento com 20 bar de Ar, observa-se uma pequena redução destes valores conforme aumenta a área de troca de fase gasosa, podendo também, estar associado a perdas por evaporação do ácido.

Para o experimento com 50 bar de O₂ os valores para o RCC praticamente se alinham ao eixo da abscissa, demonstrando clara eficiência de digestão no processo (eficiência próximo a 100% para a amostra teste). Os elevados valores de branco (BC) indicam a possibilidade de frações voláteis de matéria orgânica migrarem para dentro do frasco e condensarem somente quando a temperatura do sistema é reduzida, sendo este efeito mais perceptível nos frascos sem a presença de matéria orgânica.

Para a concentração de RA, observa-se que na pressurização a 20 bar, os valores são cerca de 10 vezes menores que aqueles mostrados para o experimento que utiliza 50 bar de O₂. Os resultados para a acidez residual (RA) mostram uma possível regeneração do HNO₃, a qual ocorre nos frascos reacionais. Esse valor

deve estar diretamente ligado à concentração de O_2 presente na cavidade reacional.⁵ Ademais, os valores menores, apresentados para os frascos com tampas modificadas e sem tampa, podem ser associados a perdas por evaporação da solução (HNO_3) de cada frasco como será discutido no decorrer deste texto.

As reações químicas entre o HNO_3 e a matéria orgânica da amostra promovem a formação de CO_2 , H_2O e NO , conforme descritas anteriormente descrito em *Revisão Bibliográfica*, item 2.1.7 (Emprego de HNO_3 diluído para o preparo de amostras). A Figura 21 ilustra as reações que podem ocorrer no interior do frasco de reação.

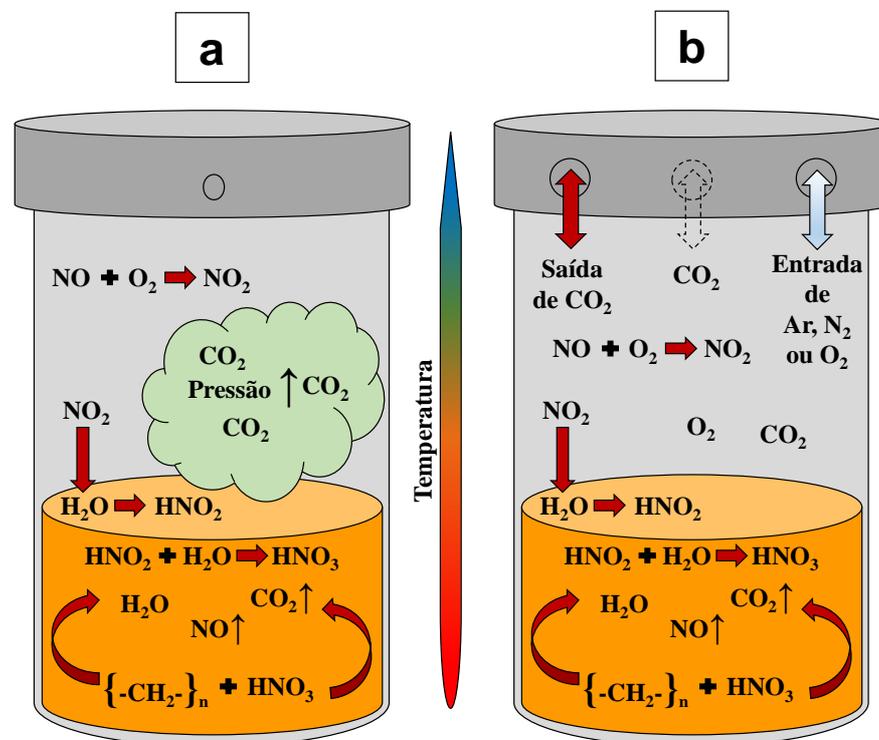


Figura 21. Representação dos frascos reacionais e reações promovidas no interior dos frascos no sistema MAD-SRC. a) tampa normal e b) tampa com 3 orifícios.

A formação de CO_2 no frasco reacional (Figura 21) resulta em um aumento de pressão (pressão interna do frasco > pressão da cavidade), resultando na expulsão deste gás de dentro do frasco. A formação deste gás é acompanhada de um aumento de pressão impedindo que a fase gasosa da cavidade adentre ao frasco reacional enquanto CO_2 estiver sendo gerado. A tampa do frasco com orifício reduzido (tampa normal – Figura 21a) não contribui de forma significativa para que ocorra a troca de forma acentuada da fase gasosa do sistema para o frasco reacional, devido a área do orifício ser muito pequena ($1,8 \text{ mm}^2$). Entretanto, ao

utilizar tampas modificadas (Figura 21b), ou mesmo sem tampas, os frascos reacionais operam de forma diferente. Neste caso, o CO_2 formado no frasco reacional é substituído pelo gás que preenche a cavidade. Esta troca de atmosfera interna e externa provoca inúmeras consequências para a digestão, sendo a entrada do gás de pressurização e do vapor de HNO_3 proveniente da solução reacional da cavidade, saída de CO_2 dos frascos reacionais as mais importantes. Uma representação do sistema pode ser vista na Figura 22, onde são apresentados os frascos reacionais e o sistema reacional da cavidade.

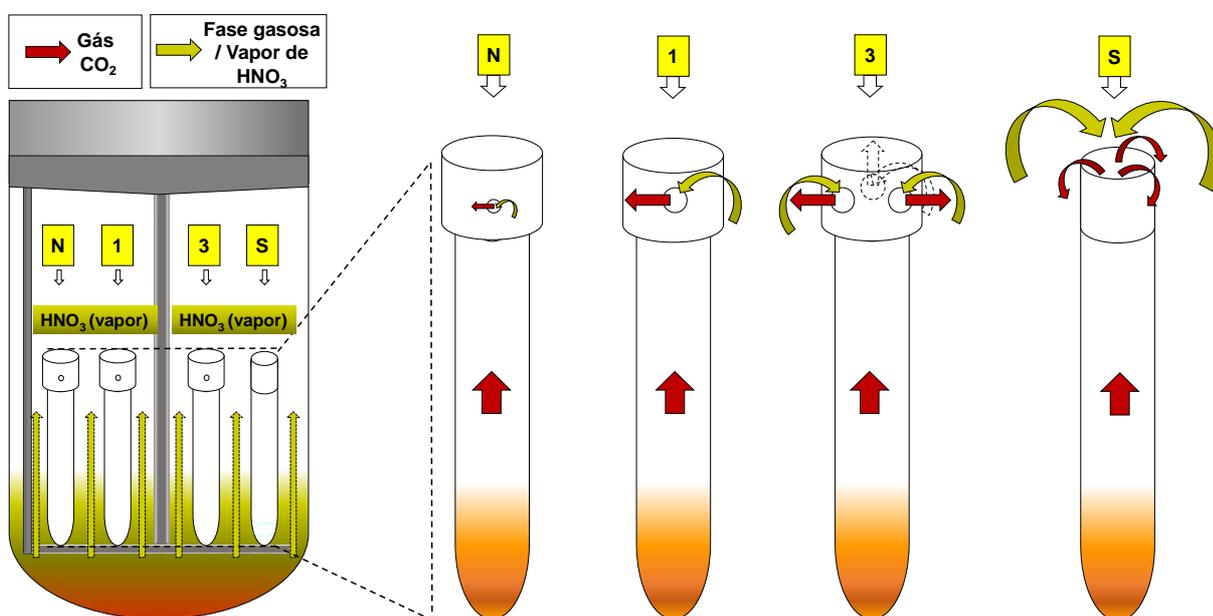


Figura 22. Representação do sistema MAD-SRC com a cavidade com vapor de HNO_3 e frascos com tampas modificadas. As setas indicam a troca de fase vapor e gasosa nos frascos reacionais e sua intensidade associada ao tamanho de cada seta. (N) tampa normal; (1) tampa com 1 orifício; (3) tampa com 3 orifícios; e (S) sem tampa.

Um dos fatores importantes no sistema MAD-SRC com tampas modificadas é a troca da fase vapor. Esta informação parte da observação do valor para o branco após a digestão, o qual foi superior (118,4%) aos valores calculados para RA (condição de 50 bar de O_2). Este valor é resultado da evaporação do ácido presente na cavidade e condensação do mesmo no interior dos frascos reacionais. Desta forma, a troca de fase vapor (HNO_3) para os frascos reacionais a partir da solução reacional da cavidade, pode contribuir para a digestão das amostras, além da regeneração do HNO_3 com o uso de O_2 . O contrário também é verdadeiro, ou seja, a

evaporação do HNO_3 e de H_2O de dentro dos frascos reacionais pode ocorrer. No entanto, esta evaporação se dá em momentos diferentes daqueles mencionados para a entrada do ácido nos frascos. Isso é observado nos resultados dos brancos, os quais tem uma redução da RA em relação ao valor inicial (20 bar de O_2 , por exemplo). As condições mencionadas neste parágrafo se restringem aos frascos com tampas modificadas e sem tampa, uma vez que não foram observados com tampa normal.

Uma forma de comparar os resultados obtidos pelo estudo do sistema com tampas modificadas, e a influência que a fase gasosa do sistema pode exercer, é pela comparação com o sistema de decomposição HPA. Comparativamente, o sistema MAD-SRC e o HPA podem operar nas mesmas condições de temperatura e pressão. O resultado no entanto é muito diferente. A seguir a Figura 23 mostra uma representação do perfil dos dois sistemas.

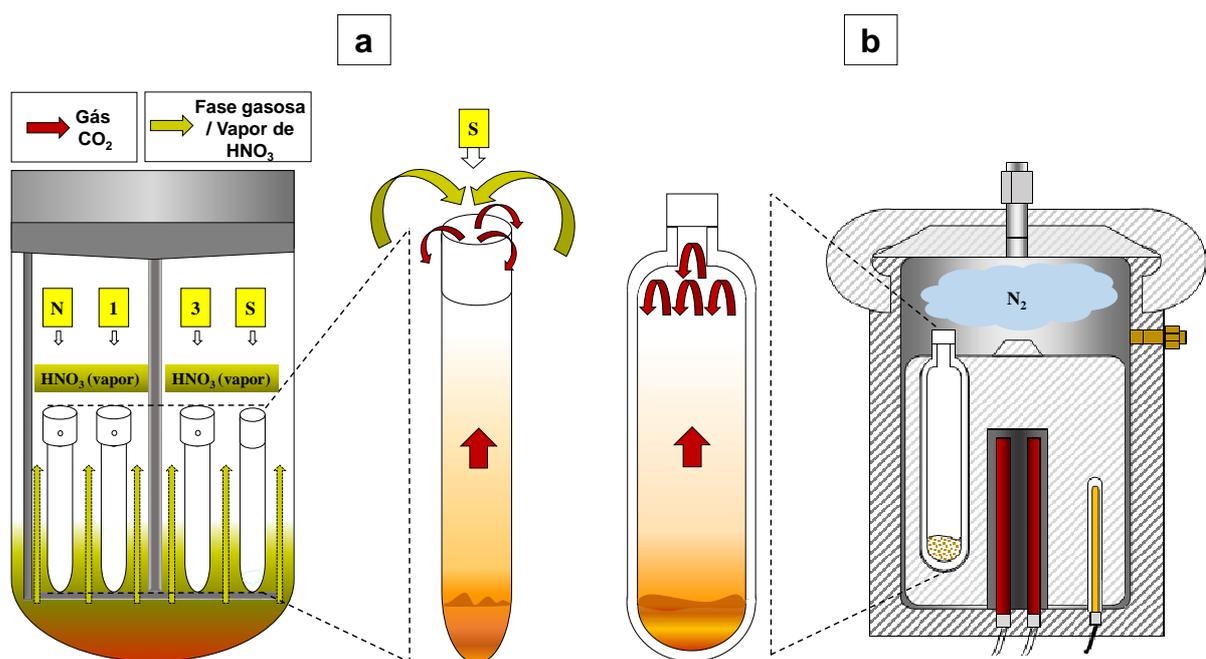


Figura 23. Representação dos sistemas (a) MAD-SRC e (b) HPA e das fases gasosas envolvidas em cada sistema.

Como mencionado anteriormente, o sistema MAD-SRC pode favorecer a troca gasosa no interior dos frascos reacionais com menor ou maior facilidade, dependendo da tampa empregada nos frascos. No entanto, no sistema HPA não há contato com a fase gasosa do exterior do frasco, sendo limitada àquela do seu interior. Essa limitação pode implicar em diversas questões, entre elas, uma menor

eficiência de digestão, uma vez que não é auxiliada por nenhum dos fatores mencionados anteriormente. Esta hipótese foi confirmada experimentalmente, de acordo com os resultados apresentados em *Apresentação e Discussão dos Resultados*, item 4.4 (Avaliação da temperatura na eficiência de digestão de leite em pó integral empregando HNO_3 diluído e pressurizado com ar, O_2 ou N_2 em câmara única de reação), em que nas mesmas condições reacionais a eficiência de decomposição foi significativamente inferior.

4.10 Avaliação do volume de solução de HNO_3 em frascos reacionais após a decomposição no sistema MAD-SRC com tampas modificadas

Após cada digestão, o volume restante nos frascos reacionais foi determinado. Verificou-se que os frascos apresentavam menor volume conforme a área de troca de fase gasosa/vapor aumentava. A Figura 24 mostra o experimento feito empregando 20 bar de Ar e solução de HNO_3 1 mol L^{-1} na digestão de 250 mg de leite em pó integral.

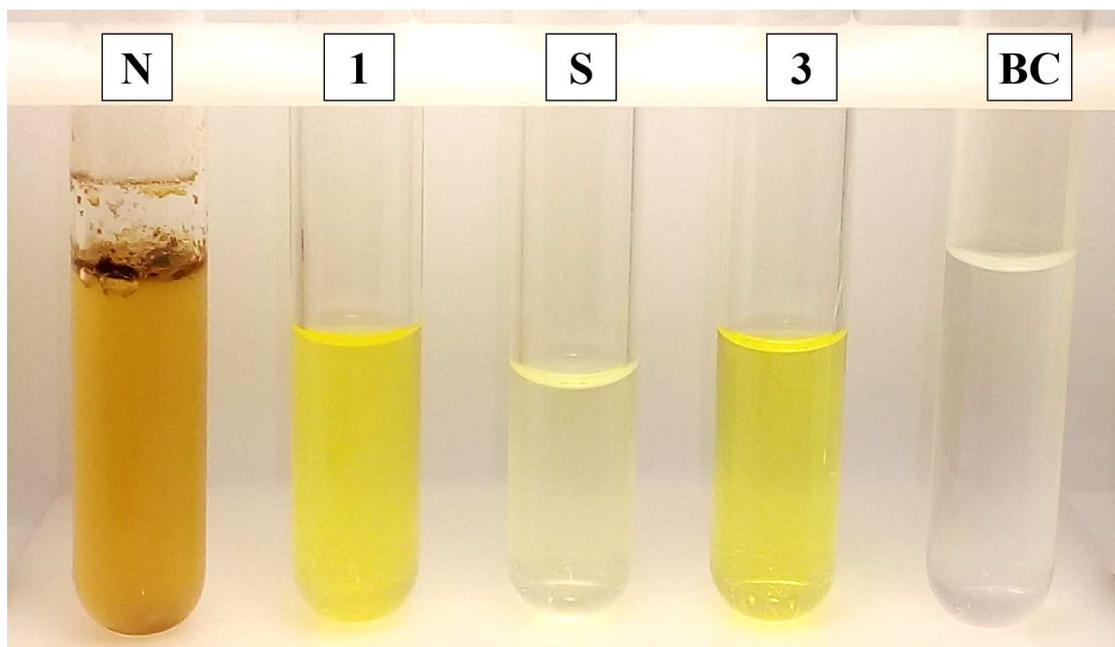


Figura 24. Frascos reacionais logo após a digestão de 250 mg de leite em pó integral com solução de HNO_3 1 mol L^{-1} e pressurização de Ar a 20 bar. (N) tampa normal; (1) tampa com 1 orifício; (S) sem tampa; (3) tampa com 3 orifícios e; (BC) branco com tampa normal.

Os volumes médios de solução de HNO_3 1 mol L^{-1} foram determinados para cada tipo de gás e para cada pressão (20 e 50 bar) empregados nos experimentos. Assim, a Tabela 7 mostra os volumes de solução de HNO_3 após cada digestão. Cabe salientar que o volume inicial de solução utilizado para todos os experimentos foi de 6 mL de HNO_3 1 mol L^{-1} .

Tabela 6. Volume de solução após digestão para cada pressão inicial e gás utilizado no sistema MAD-SRC nos experimentos com tampas modificadas. Frascos reacionais com (N) tampa normal; (1) tampa com 1 orifício; (3) tampa com 3 orifícios; (S) sem tampa e, (BC) branco. Valores em mL, média \pm desvio padrão, $n=3$.

Gás	Pressão inicial, bar	Volume final de solução, mL			
		N	1	3	S
Ar	50	6,0 \pm 0,1	4,0 \pm 0,2	3,2 \pm 0,9	2,0 \pm 0,3
	20	6,0 \pm 0,1	4,4 \pm 0,2	3,5 \pm 0,2	3,7 \pm 0,6
O ₂	50	6,0 \pm 0,1	4,3 \pm 0,2	3,8 \pm 0,2	2,2 \pm 0,1
	20	6,0 \pm 0,1	3,4 \pm 0,1	2,6 \pm 0,1	0,3 \pm 0,1
N ₂	50	6,0 \pm 0,1	5,6 \pm 0,1	5,3 \pm 0,1	5,2 \pm 0,1
	20	6,0 \pm 0,1	5,2 \pm 0,2	5,5 \pm 0,2	4,9 \pm 0,4

Os valores apresentados na Tabela 7 mostram a influência de cada tipo de gás e da área de troca de fase gasosa/vapor no volume final de solução de HNO_3 , com exceção das tampas normais que não apresentaram variação. Observa-se que para N_2 em ambas as pressurizações os volumes são maiores que os demais gases, para tampas modificadas e sem tampa, variando menos de 1 mL. Para o Ar, os volumes são maiores conforme o aumento da área, variando de 1 a 3 mL a mais que no caso com pressurização com N_2 . Ao observar os volumes para O_2 , nota-se uma redução ainda mais acentuada, sendo que ocorreram reduções de volume maiores quando empregado pressurização a 20 bar. Ao relacionar os volumes observados com a eficiência de oxidação da matéria orgânica, percebe-se um menor volume residual para as condições com maior eficiência de oxidação da matéria orgânica. Além da redução de volume nos frascos reacionais poder estar relacionada com alguns fatores como a solubilidade e reatividade da fase gasosa empregada,

acredita-se que CO₂ formado durante a oxidação da matéria orgânica (que é um gás muito mais solúvel que os demais gases estudados) também exerça um efeito considerável.

4.11 Determinação de metais por ICP-OES em leite em pó integral empregando HNO₃ diluído e pressurização com Ar, N₂ e O₂ no sistema MAD-SRC com tampas modificadas

Para a quantificação de metais, 250 mg de amostra de leite em pó integral foram decompostos utilizando HNO₃ 1 mol L⁻¹. O procedimento utilizado está descrito em *Apresentação e Discussão dos Resultados*, item 4.9 (Avaliação da influência da fase gasosa na eficiência de decomposição para amostras orgânicas com uso de HNO₃ diluído e pressurização com Ar, N₂ ou O₂ empregando tampas modificadas para os frascos reacionais no sistema MAD-SRC). Cabe salientar que os valores obtidos para metais no procedimento de digestão usando 50 bar de Ar foram utilizados como referência em comparação com os demais experimentos de 20 e 50 bar com as diferentes composições da atmosfera interna do sistema SRC e tampas modificadas.

Os resultados obtidos para Ca, Mg, K, Na, Zn e Ba por ICP-OES após digestão por MAD-SRC na amostra de leite em pó integral usando tampas modificadas para os frascos reacionais estão mostrados na Figura 25. Os valores são comparados com base na recuperação dos metais na condição de solução de HNO₃ 1 mol L⁻¹ com frasco com tampa normal e pressurização com Ar a 50 bar.

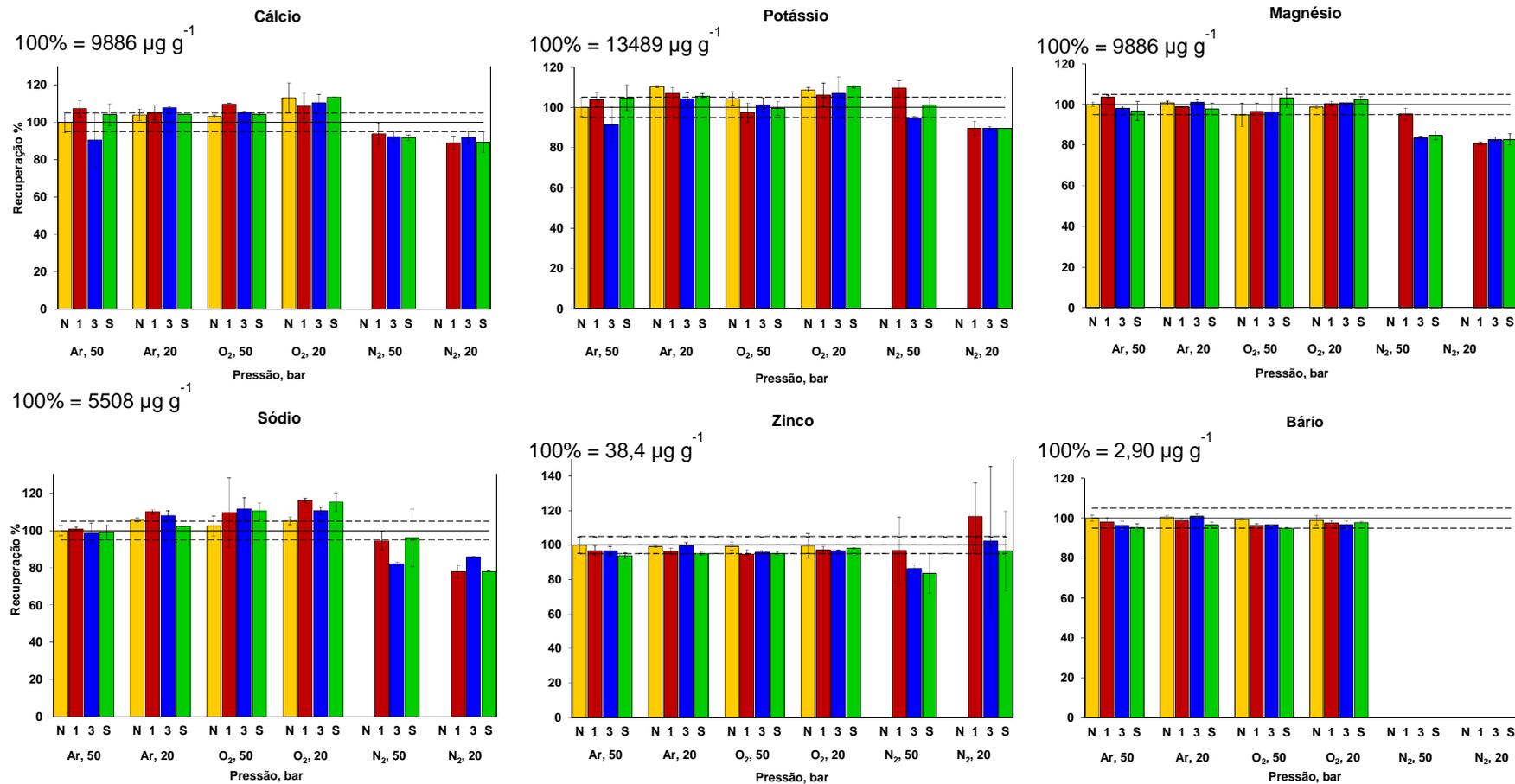


Figura 25. Gráfico de comparação da recuperação de Ca, K, Mg, Na, Zn e Ba após digestão por MAD-SRC com pressurização com os gases Ar, N₂ e O₂. (■) tampa normal; (■) tampa com 1 orifício; (■) tampa com 3 orifícios; (■) sem tampa. A condição de 50 bar com tampa normal foi considerada como condição de referência para os demais.

A linha contínua mostrada nos gráficos na Figura 25 representa o valor obtido como referência (MAD-SRC usando HNO_3 1 mol L^{-1} e pressão de 50 bar de Ar, barra mais à esquerda em cada gráfico) e as barras representam as concordâncias dos valores obtidos com o uso das tampas modificadas. As linhas pontilhadas mostradas na Figura 25 representam um desvio de 5% no valor de referência.

Os resultados para Ca, em todos os frascos não apresentaram diferença significativa (Teste *t-student*, nível de confiança de 95%) em relação ao valor de referência, obtido por MAD-SRC com 50 bar de Ar. Resultados semelhantes foram obtidos para Na, Mg e K com exceção dos testes utilizando N_2 como gás de pressurização. Os quais apresentaram resultados inferiores. Esses resultados inferiores podem estar associados a digestão incompleta da amostra quando do uso do gás N_2 . Ademais, para o Na foram observados resultados superiores nos frascos com tampas modificadas e nos frascos sem tampa. Esse resultado pode estar associado a contaminação dos frascos na condição empregando O_2 . Para o elemento Zn foi observado resultados concordantes (Teste *t-student*, nível de confiança de 95%) nas condições usando Ar e O_2 . Porém, na condição utilizando N_2 os valores obtidos para amostra de leite em pó integral apresentaram elevados desvios. Nesse caso, podendo estar associados também a digestão ineficiente em cada frasco reacional. Para o Ba, foram observados resultados concordantes (Teste *t-student*, nível de confiança de 95%) nas condições utilizando Ar e O_2 . No entanto, não foi possível quantificar este elemento quando empregado N_2 nas pressurizações de 20 e 50 bar.

4.12 Determinação de metais, C e avaliação da RA na cavidade reacional do sistema MAD-SRC empregando Ar, N_2 e O_2

Inicialmente, foi feita a determinação de metais, C e RA da solução utilizada para absorver micro-ondas na cavidade. Esta avaliação foi feita para verificar possíveis interferências ou perdas de analitos por volatilização nas etapas de digestão. Desta forma, foi assumido como sendo a referência para os demais experimentos a solução utilizada na cavidade antes do procedimento de digestão.

Ao término de cada digestão, uma alíquota da solução reacional da cavidade foi coletada e posteriormente quantificada quanto aos metais, C e RA.

Os resultados obtidos para os metais (Ba, Ca, Mg, Na, K, e Zn) indicaram concentrações menores do que os respectivos limites de quantificação do método. Este aspecto é de extrema importância uma vez que não foram determinados nenhum dos analitos investigados. Tal aspecto pode ser considerado como evidência de que não causaram perdas de espécies voláteis, mesmo quando os frascos reacionais foram utilizados sem tampa.

Na Tabela 8 são mostrados os resultados para RA obtidos na solução da cavidade reacional após as decomposições usando os diferentes gases e pressões iniciais.

Tabela 7. Resultados obtidos para RA na cavidade do sistema MAD-SRC para diferentes pressurizações com Ar ou O₂.

Gás	Pressão, bar	RA, %
Ar	50	87,7
	20	92,8
O₂	50	56,8
	20	94,8

Valor de RA inicial na cavidade = 0,533 mol L⁻¹ = 100%.

Conforme pode ser observado na Tabela 8, os resultados de RA para Ar e para O₂ a 20 bar são muito próximos. No entanto, o valor de RA para a pressurização com 50 bar de O₂ é muito inferior. Este resultado indica que parte do ácido que estava na solução da cavidade foi evaporado, sendo condensado no interior dos frascos reacionais conforme mencionado anteriormente. A acidez residual nos frascos reacionais aumentou significativamente quando empregado 50 bar de O₂ na digestão de leite em pó integral. Com tudo isso, pode-se concluir que o HNO₃ foi evaporado da cavidade e condensado no interior dos frascos reacionais, contribuindo para elevada eficiência de decomposição.

A Figura 26 mostra os resultados obtidos para C na cavidade reacional do sistema MAD-SRC utilizando os frascos modificados para as pressurizações com Ar, O₂ e N₂ a 20 e 50 bar. Os resultados para C (mg L⁻¹) indicam que substâncias

orgânicas voláteis podem ter sido evaporadas dos frascos reacionais e migrado para a solução reacional da cavidade.

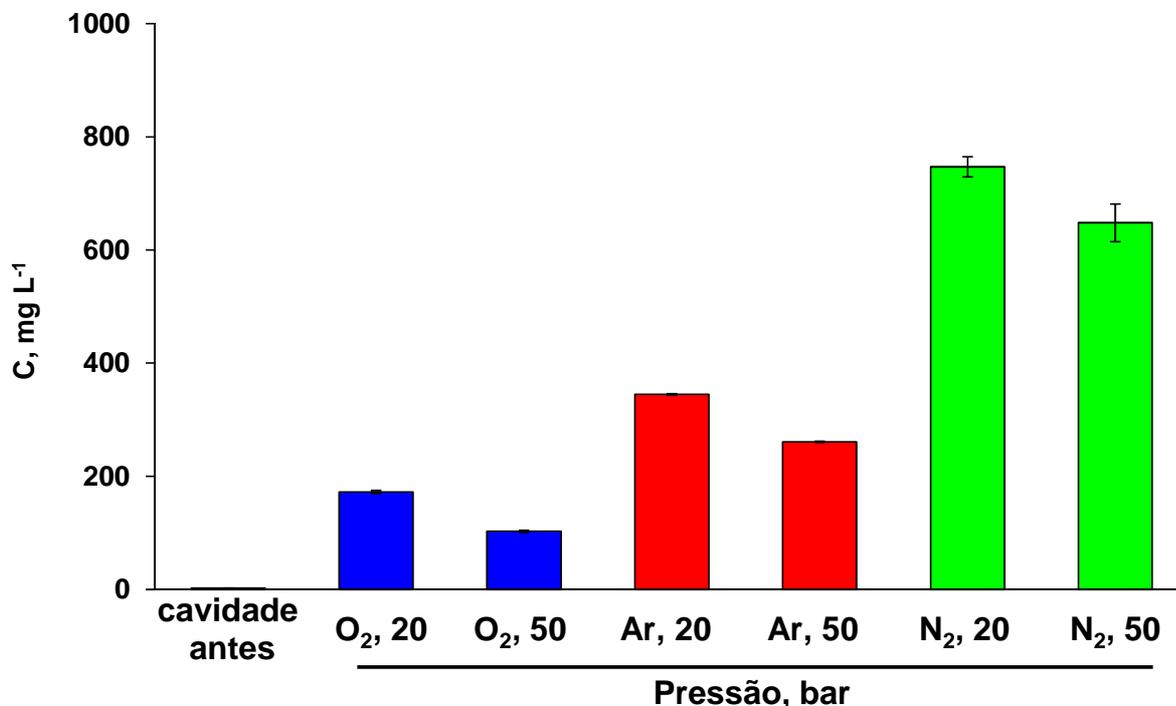


Figura 26. Resultados para C (mg L⁻¹) na solução reacional da cavidade. (■) cavidade antes do procedimento de digestão; (■) pressurização com O₂; (■) pressurização com Ar; e (■) pressurização com N₂.

Os resultados observados na Figura 26, mostram que o emprego dos gases na pressurização no sistema MAD-SRC contribuem de forma diferenciada para a digestão das amostras. Inicialmente a solução reacional da cavidade foi avaliada quanto a presença de carbono na sua composição, resultando em valores próximos ao limite de detecção do instrumento. Observa-se que para os gases Ar, N₂ e O₂ os resultados de C são elevados quando comparados ao valor obtido para a solução reacional da cavidade antes dos procedimentos de digestão. Para o O₂, observa-se que os valores de C são menores que para os demais gases e que na condição empregando 50 bar de O₂ o resultado é menor ainda. Este perfil se repete para os gases Ar e N₂ nas pressurizações de 20 e 50 bar. No entanto, os valores obtidos para os gases Ar e N₂ são maiores quando comparados ao O₂. Nesse ponto, é interessante ressaltar a reatividade do O₂ como gás reacional no sistema MAD-SRC, não ocorrendo para os demais gases empregados. A reatividade do O₂, associada a sua solubilidade, pode influenciar na evaporação de substâncias orgânicas voláteis,

presentes inicialmente na amostra. Porém, o poder oxidante do O_2 juntamente com a ação de regeneração do HNO_3 são evidenciados na digestão das amostras pelo reduzido valor de C, além do que foi mencionado anteriormente sobre a eficiência de digestão associada ao O_2 . Já para os gases inertes Ar e N_2 , observa-se uma influência maior na evaporação de substâncias orgânicas voláteis dos frascos reacionais para a solução reacional da cavidade.¹⁰⁰ Além disso, a concentração de carbono na cavidade devido a presença de CO_2 em solução é descartada nesses casos uma vez que as soluções reacionais são purgadas com Ar antes da determinação de C, fazendo com que o CO_2 seja expulso da solução. Desta forma, pode-se inferir que gases inertes interferem de forma acentuada na evaporação dessas substâncias orgânicas voláteis, facilitando a evaporação de um meio mais concentrado (frasco reacional) para um menos concentrado (cavidade) e induzindo a valores de eficiência de digestão maiores. Isso não indica de forma conclusiva uma maior eficiência de digestão, porém apenas uma troca da matéria orgânica volátil do meio reacional para a solução reacional da cavidade. Para o O_2 tem-se reações que poderiam ocorrer na solução da cavidade, o que reduziria o RCC nesse caso, já que a solução é composta também por HNO_3 . Cabe destacar, ainda, que a utilização de pressurização mais elevada mostrou-se mais eficiente para a digestão, uma vez que os resultados obtidos para 50 bar mostram uma redução na presença de C em solução, possivelmente pela oxidação da matéria orgânica a CO_2 , minimizando a evaporação de espécies voláteis de carbono.

A influência da fase gasosa foi constatada quando o sistema SRC foi pressurizado com O_2 ou gases inertes. Com a utilização de tampas modificadas pode-se intensificar a troca de gases entre as atmosferas internas (frascos) e externas (cavidade). Porém, a utilização de um frasco completamente fechado dentro do sistema SRC ainda não foi explorada. Este aspecto é interessante pois mesmo com a tampa normal do frasco existe uma troca dos gases que constituem as atmosferas dos frascos e da cavidade. Com um sistema (frasco) fechado, pode-se eliminar completamente a troca gasosa a fim de efetivamente compreender o real papel que a fase gasosa exerce sobre a oxidação da matéria orgânica. Portanto, o uso de frascos modificados resistentes à pressurização foi utilizado para demonstrar a influência causada quando se restringe a troca de fase gasosa no sistema reacional mantendo um dos frascos fechados. O item a seguir descreve o procedimento utilizado para avaliar a influência da fase gasosa na digestão de

amostra de leite em pó integral com solução de HNO_3 1 mol L^{-1} empregando O_2 ou N_2 como gases de pressurização a 20 e 50 bar.

4.13 Avaliação do sistema MAD-SRC com frascos modificados

Foram feitas avaliações para verificar a influência da fase gasosa no sistema MAD-SRC comparando com o sistema HPA. Neste experimento os frascos do sistema HPA foram utilizados no sistema MAD-SRC. Como forma de verificar a influência da fase gasosa, três frascos foram utilizados, sendo que: um frasco foi inserido sem a tampa, um frasco foi selado como no sistema HPA (com fita de PTFE e tampa de quartzo), e o último, foi inserido na cavidade com a tampa para os frascos do sistema MAD-SRC que apresenta um orifício de $1,8 \text{ mm}^2$ e fica solta sobre o frasco.

As condições para estas avaliações foram: 250 mg de leite em pó integral, 6 mL de HNO_3 1 mol L^{-1} e pressurizações com N_2 a 20 e 50 bar e O_2 a 50 bar. Cabe salientar que ao utilizar O_2 , uma etapa adicional foi realizada a fim de solubilizar a amostra, evitando possíveis reações de combustão na cavidade. Assim, as amostras foram submetidas a banho-maria por 10 min a $50 \text{ }^\circ\text{C}$ e na sequência os frascos foram alocados na cavidade com ajuda de um suporte.

A Figura 27 mostra os três digeridos após os experimentos feitos no sistema MAD-SCR com os frascos modificados e pressurização com N_2 e O_2 .

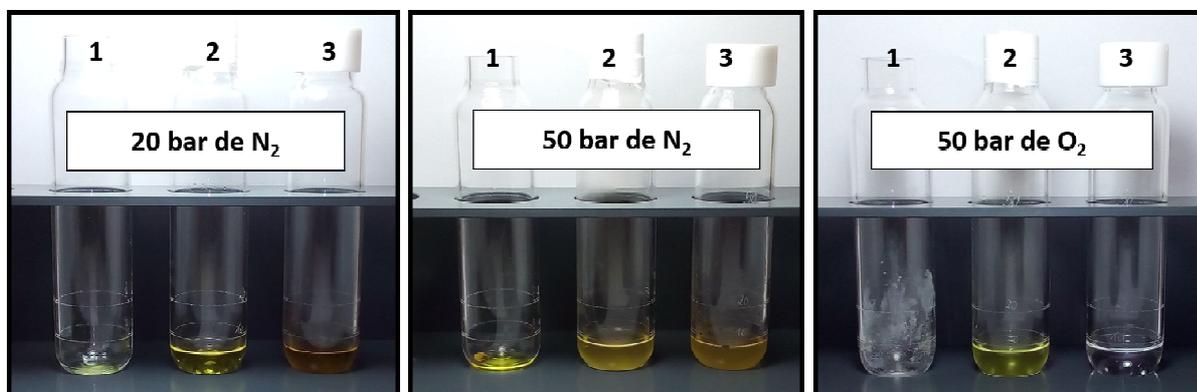


Figura 27. Avaliação da influência da fase gasosa/vapor na digestão de amostras de leite em pó integral quando utilizados os frascos do sistema HPA no sistema MAD-SCR. Frascos reacionais nas três condições especificadas para a digestão de

leite em pó integral: (1) frasco sem tampa; (2) frasco com tampa fechada e; (3) frasco com tampa com orifício.

Para o sistema utilizando 20 bar de N_2 observou-se que ocorreram digestões incompletas nos três frascos. Nota-se, ainda, que no frasco sem tampa (frasco 1), boa parte da solução foi evaporada, restando apenas a amostra parcialmente úmida no fundo do frasco. Desta forma, não foram realizadas as análises referentes a RCC e RA para esta primeira avaliação.

Em seguida, foi avaliada a digestão usando pressão de 50 bar de N_2 . É possível observar que os três frascos apresentam amostras não digeridas completamente. Nesse caso, o frasco sem tampa apresentou mais solução que quando comparado a pressurização a 20 bar. Entretanto, todos foram considerados impróprios para análise por ICP-OES.

A terceira avaliação consistiu em pressurizar o sistema com 50 bar de O_2 . Usando as mesmas condições, foi possível notar que para o frasco sem tampa (frasco 1), toda a solução foi evaporada, restando apenas um pó branco o qual foi facilmente solubilizado em água. Pode-se inferir que, devido a extensão da área de contato ser muito maior entre a solução e a fase gasosa, houve uma maior facilidade para que a evaporação da solução ocorresse. Para o frasco com tampa selada (frasco 2) percebe-se que a digestão foi incompleta da amostra, apresentando coloração amarelada, característica da solubilização parcial da amostra teste. Por fim, o frasco com tampa com orifício apresentou uma solução clara e límpida e um volume próximo ao volume inicial.

Assim, pode-se inferir a participação efetiva da fase gasosa na decomposição de leite em pó integral no sistema MAD-SRC. Observou-se a digestão completa das amostras em contato com a fase gasosa reativa. Além disso, a digestão foi incompleta para o frasco fechado na ausência da fase gasosa reativa (frasco 2), o que comprova diretamente que a concentração do ácido, a temperatura e a pressão não foram suficientes para digerir a amostra. A Figura 28 mostra os resultados obtidos para RCC e RA para digestão de leite em pó integral no sistema MAD-SRC com frascos modificados.

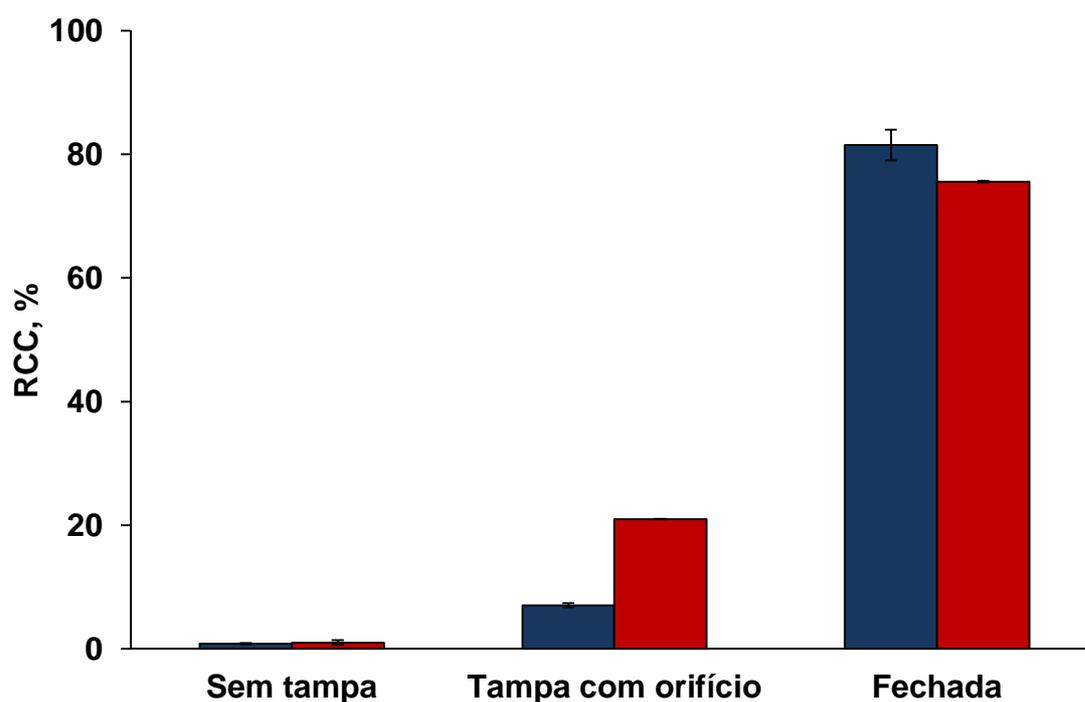


Figura 28. Resultados de (■) RCC e (■) RA para digestão de leite em pó integral no sistema MAD-SRC-O₂ com frascos modificados. Pressão inicial de 50 bar de O₂.

Os resultados observados na Figura 28, mostram que 81% da amostra não foi decomposta quando o frasco estava fechado (frasco 2). Além disso, o valor para a RA permaneceu alto, 76%, indicando que pouco ácido foi usado na digestão. Para este sistema, a influência da fase gasosa é fator determinante na digestão das amostras. Os valores para o frasco sem tampa foram de 1% para o RCC e RA. Para o frasco com tampa com orifício os valores de RCC e RA foram 7 e 21%, respectivamente.

4.14 Determinação de metais em leite em pó integral após digestão no sistema MAD-SRC com frascos modificados

Após a avaliação da influência da fase gasosa na digestão das amostras de leite em pó integral, foram determinados Ba, Ca, Fe, Mg, Mn, Sr, Zn, K e Na quando empregando 50 bar de O₂. A Tabela 9 mostra os resultados comparados ao método de referência que usa 40 bar Ar, programa de aquecimento com rampa de 15 min até 270 °C e permanência de 10 min na mesma temperatura, 6 mL de solução de HNO₃ 14,4 mol L⁻¹.

Tabela 8. Resultados para Ba, Ca, Fe, Mg, Mn, Sr, Zn, K e Na por ICP-OES após digestão por MAD-SRC (250 mg de leite em pó integral, 6 mL de HNO₃ 1 mol L⁻¹). Valores em µg g⁻¹, média ± desvio padrão, n=3.

Elementos	Referência	Sem tampa	Tampa com orifício	Tampa fechada
Ba	2,37 ± 0,06	2,33 ± 0,13	2,36 ± 0,07	2,31 ± 0,07
Ca	9717 ± 199	8746 ± 55	9181 ± 131	8727 ± 41
Fe	3,26 ± 0,12	9,39 ± 0,35	3,11 ± 0,10	3,13 ± 0,10
Mg	867 ± 25	822 ± 21	816 ± 20	849 ± 8
Mn	0,274 ± 0,045	0,312 ± 0,020	0,292 ± 0,020	0,290 ± 0,030
Sr	4,67 ± 0,26	5,00 ± 0,19	5,02 ± 0,09	5,01 ± 0,16
Zn	36,7 ± 3,2	27,67 ± 1,7	24,96 ± 2,0	28,90 ± 1,3
K	13163 ± 574	14910 ± 1016	14716 ± 1143	14200 ± 972
Na	4522 ± 192	4983 ± 212	4875 ± 365	4828 ± 213

Referência: 40 bar Ar; 270 °C; programa de aquecimento: 15 min de rampa e 10 min de permanência; HNO₃ 14,4 mol L⁻¹.

Os valores para Ca não foram concordantes de acordo com os testes, apresentaram baixa recuperação em relação ao método de referência. Para Fe, observa-se valor três vezes maior para o frasco sem tampa em relação aos demais. Este valor pode estar associado com uma possível contaminação na etapa de confecção do suporte para os frascos no sistema MAD-SRC. Os valores para Ca e Zn foram inferiores quando comparados aos valores de referência. Isto pode estar relacionado a erros na etapa de determinação elementar ou erros na etapa de diluição das amostras.

5 CONCLUSÕES

O método proposto de digestão por MAD-SRC, usando HNO_3 1 mol L^{-1} e pressão de O_2 foi adequado para a digestão de 250 mg de amostra e posterior determinação de Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Sr e Zn. Além disso, destaca-se como vantagem a aplicação do método para a digestão simultânea de amostras com diferentes composições na presença de solução diluída de HNO_3 . Neste trabalho, o método utilizado apresentou exatidão adequada, praticidade, e relativa simplicidade, adequando-se às análises de rotina.

Nota-se, ainda, que a fase gasosa empregada nos procedimentos de digestão apresenta um papel fundamental para a digestão das amostras. O uso de gases inertes requer soluções mais concentradas de HNO_3 para possibilitar a digestão completa das amostras. Porém, quando empregado O_2 pode-se reduzir significativamente a concentração de HNO_3 (até 1 mol L^{-1}) sem que ocorra supressão na eficiência de digestão. O uso de O_2 favorece a regeneração do HNO_3 , que por sua vez reinicia o ciclo de oxidação da matéria orgânica, mantendo assim, o sistema ativo para a decomposição das amostras, possibilitando a decomposição de maiores massas de amostras (as quais não foram foco de estudo deste trabalho).

O efeito ocasionado pelo uso de tampas modificadas (ou sem tampas) nos frascos reacionais no sistema MAD-SRC demonstra a possibilidade de melhoria significativa na eficiência de digestão no sistema para as amostras, apenas pelo favorecimento da troca de fase gasosa/vapor dos frascos reacionais com o meio reacional da cavidade. Nesse caso, observa-se a influência causada pela saída de CO_2 e entrada de O_2 no frasco reacional, bem como a maior regeneração do HNO_3 e a contribuição exercida pelo HNO_3 , presente inicialmente na solução reacional da cavidade, o qual é passivo de evaporação e condensação no interior dos frascos reacionais, contribuindo também para a melhora na digestão das amostras.

Outro fator determinante observado no presente trabalho está relacionado ao uso de frascos modificados. Nota-se que ao fechar um frasco reacional e impedir que ocorra troca de fase gasosa, a digestão é interrompida após certo tempo, restando elevada concentração de HNO_3 em solução e quantidade expressiva de amostra não digerida. Este efeito observado nos frascos reacionais modificados (fechados) contribui para a hipótese de que a fase gasosa apresenta um papel

essencial para a decomposição de amostras orgânicas. Além disso, observa-se a influência dos gases N_2 e O_2 na digestão das amostras, confirmando a influência causada pelo uso de uma fase gasosa reativa (O_2) e da solubilidade dos gases na solução reacional a qual possibilita a saída do CO_2 , produto da digestão da matéria orgânica.

De forma análoga, a observação da redução da eficiência de digestão pode ser consequência direta da alta concentração de CO_2 presente na fase gasosa e em solução. Uma vez que o CO_2 apresenta solubilidade mais elevada que os demais gases empregados na digestão das amostras, essa condição é verificada com o uso de N_2 (menor solubilidade em fase líquida), o qual pode dificultar a saída do CO_2 da solução devido à alta pressão exercida na cavidade reacional. Consequentemente, o excesso de CO_2 presente em solução pode desfavorecer a reação de oxidação da matéria orgânica pelo HNO_3 (Equação 1), reduzindo a eficiência de digestão pelo excesso de produto da reação em solução. Observando, assim, uma maior concentração de HNO_3 em solução, onde as amostras orgânicas não consumiram o HNO_3 de forma estequiométrica.

Destaca-se que para as condições avaliadas não foram observadas interferências na determinação dos elementos Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Sr e Zn. Demonstrando o uso do método para digestão de amostras orgânicas e posterior determinação de metais por ICP-OES. Assim, o método proposto é uma alternativa em relação aos métodos convencionalmente empregados para posterior determinação de metais em amostras orgânicas com características químicas diversificadas.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Krug, F. J., Métodos de preparo de amostras para análise elementar, 2016, pp.
2. Matusiewicz, H., Sample Decomposition Techniques in Inorganic Trace Elemental Analysis, I. Baranowska (Ed.) Handbook of Trace Analysis: Fundamentals and Applications, Springer International Publishing, Cham, 2016, pp. 75-122.
3. Agazzi, A., Pirola, C., Fundamentals, methods and future trends of environmental microwave sample preparation, *Microchemical Journal* 67 (2000) 337-341.
4. Bhandari, S. A., Amarasiriwardena, D., Closed-vessel microwave acid digestion of commercial maple syrup for the determination of lead and seven other trace elements by inductively coupled plasma-mass spectrometry, *Microchemical Journal* 64 (2000) 73-84.
5. Castro, J. T., Santos, E. C., Santos, W. P. C., Costa, L. M., Korn, M., Nóbrega, J. A., Korn, M. G. A., A critical evaluation of digestion procedures for coffee samples using diluted nitric acid in closed vessels for inductively coupled plasma optical emission spectrometry, *Talanta* 78 (2009) 1378-1382.
6. Chevallier, E., Chekri, R., Zinck, J., Guérin, T., Noël, L., Simultaneous determination of 31 elements in foodstuffs by ICP-MS after closed-vessel microwave digestion: Method validation based on the accuracy profile, *Journal of Food Composition and Analysis* 41 (2015) 35-41.
7. Matusiewicz, H., Sturgeon, R. E., Comparison of the efficiencies of on-line and high-pressure closed vessel approaches to microwave heated sample decomposition, *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* 349 (1994) 428-433.
8. Bizzi, C. A., Barin, J. S., Müller, E. I., Schmidt, L., Nóbrega, J. A., Flores, E. M. M., Evaluation of oxygen pressurized microwave-assisted digestion of botanical materials using diluted nitric acid, *Talanta* 83 (2011) 1324-1328.
9. Bizzi, C. A., Marlon de Moraes Flores, E., Sogari Picoloto, R., Smanioto Barin, J., Araujo Nobrega, J., Microwave-assisted digestion in closed vessels: effect of pressurization with oxygen on digestion process with diluted nitric acid, *Analytical Methods* 2 (2010) 734-738.
10. Bizzi, C. A., Flores, E. M. M., Barin, J. S., Garcia, E. E., Nóbrega, J. A., Understanding the process of microwave-assisted digestion combining diluted nitric acid and oxygen as auxiliary reagent, *Microchemical Journal* 99 (2011) 193-196.

11. Zhou, J., Xu, W., You, Z., Wang, Z., Luo, Y., Gao, L., Yin, C., Peng, R., Lan, L., A new type of power energy for accelerating chemical reactions: the nature of a microwave-driving force for accelerating chemical reactions, *Scientific Reports* 6 (2016) 25149.
12. Gonzalez, M. H., Souza, G. B., Oliveira, R. V., Forato, L. A., Nóbrega, J. A., Nogueira, A. R. A., Microwave-assisted digestion procedures for biological samples with diluted nitric acid: Identification of reaction products, *Talanta* 79 (2009) 396-401.
13. Muller, C. C., Muller, A. L. H., Pirola, C., Duarte, F. A., Flores, E. M. M., Muller, E. I., Feasibility of nut digestion using single reaction chamber for further trace element determination by ICP-OES, *Microchemical Journal* 116 (2014) 255-260.
14. Muller, E. I., Souza, J. P., Muller, C. C., Muller, A. L. H., Mello, P. A., Bizzi, C. A., Microwave-assisted wet digestion with H₂O₂ at high temperature and pressure using single reaction chamber for elemental determination in milk powder by ICP-OES and ICP-MS, *Talanta* 156–157 (2016) 232-238.
15. Nóbrega, J. A., Pirola, C., Fialho, L. L., Rota, G., de Campos Jordão, C. E. K. M. A., Pollo, F., Microwave-assisted digestion of organic samples: How simple can it become?, *Talanta* 98 (2012) 272-276.
16. Flores, É. M. M., Barin, J. S., Mesko, M. F., Knapp, G., Sample preparation techniques based on combustion reactions in closed vessels — A brief overview and recent applications, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 62 (2007) 1051-1064.
17. Muller, A. L. H., Oliveira, J. S. S., Mello, P. A., Muller, E. I., Flores, E. M. M., Study and determination of elemental impurities by ICP-MS in active pharmaceutical ingredients using single reaction chamber digestion in compliance with USP requirements, *Talanta* 136 (2015) 161-169.
18. Smith, F. E., Arsenault, E. A., Microwave-assisted sample preparation in analytical chemistry, *Talanta* 43 (1996) 1207-1268.
19. Cruz, S. M., Schmidt, L., Dalla Nora, F. M., Pedrotti, M. F., Bizzi, C. A., Barin, J. S., Flores, E. M. M., Microwave-induced combustion method for the determination of trace and ultratrace element impurities in graphite samples by ICP-OES and ICP-MS, *Microchemical Journal* 123 (2015) 28-32.
20. Ahmed, M., Chin, Y. H., Guo, X., Zhao, X.-M., Microwave assisted digestion followed by ICP-MS for determination of trace metals in atmospheric and lake ecosystem, *Journal of Environmental Sciences*.

21. Pereira, J. S. F., Moraes, D. P., Antes, F. G., Diehl, L. O., Santos, M. F. P., Guimarães, R. C. L., Fonseca, T. C. O., Dressler, V. L., Flores, É. M. M., Determination of metals and metalloids in light and heavy crude oil by ICP-MS after digestion by microwave-induced combustion, *Microchemical Journal* 96 (2010) 4-11.
22. Barin, J. S., Flores, É. M. M., Mesko, M. F., Mello, P. A., Pereira, J. S. F., Chapter 5 - Microwave-Induced Combustion, *Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Analysis*, Elsevier, Amsterdam, 2014, pp. 143-177.
23. Pereira, J. S. F., Mello, P. A., Moraes, D. P., Duarte, F. A., Dressler, V. L., Knapp, G., Flores, É. M. M., Chlorine and sulfur determination in extra-heavy crude oil by inductively coupled plasma optical emission spectrometry after microwave-induced combustion, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 64 (2009) 554-558.
24. Duyck, C., Miekeley, N., Porto da Silveira, C. L., Aucélio, R. Q., Campos, R. C., Grinberg, P., Brandão, G. P., The determination of trace elements in crude oil and its heavy fractions by atomic spectrometry, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 62 (2007) 939-951.
25. Enders, M. S. P., de Souza, J. P., Balestrin, P., Mello, P. d. A., Duarte, F. A., Muller, E. I., Microwave-induced combustion of high purity nuclear flexible graphite for the determination of potentially embrittling elements using atomic spectrometric techniques, *Microchemical Journal* 124 (2016) 321-325.
26. Krzyzaniak, S. R., Santos, R. F., Dalla Nora, F. M., Cruz, S. M., Flores, E. M. M., Mello, P. A., Determination of halogens and sulfur in high-purity polyimide by IC after digestion by MIC, *Talanta* 158 (2016) 193-197.
27. Pereira, L. S. F., Iop, G. D., Flores, E. M. M., Burrow, R. A., Mello, P. A., Duarte, F. A., Strategies for the determination of trace and toxic elements in pitch: Evaluation of combustion and wet digestion methods for sample preparation, *Fuel* 163 (2016) 175-179.
28. Mesko, M. F., de Moraes, D. P., Barin, J. S., Dressler, V. L., Knapp, G., de Moraes Flores, É. M., Digestion of biological materials using the microwave-assisted sample combustion technique, *Microchemical Journal* 82 (2006) 183-188.
29. Pereira, J. S. F., Pereira, L. S. F., Schmidt, L., Moreira, C. M., Barin, J. S., Flores, E. M. M., Metals determination in milk powder samples for adult and infant nutrition after focused-microwave induced combustion, *Microchemical Journal* 109 (2013) 29-35.
30. Maciel, J. V., Knorr, C. L., Flores, E. M. M., Müller, E. I., Mesko, M. F., Primel, E. G., Duarte, F. A., Feasibility of microwave-induced combustion for trace element determination in *Engraulis anchoita* by ICP-MS, *Food Chemistry* 145 (2014) 927-931.

31. Barin, J. S., Pereira, J. S. F., Mello, P. A., Knorr, C. L., Moraes, D. P., Mesko, M. F., Nóbrega, J. A., Korn, M. G. A., Flores, E. M. M., Focused microwave-induced combustion for digestion of botanical samples and metals determination by ICP OES and ICP-MS, *Talanta* 94 (2012) 308-314.
32. Muller, A. L. H., Muller, C. C., Lyra, F., Mello, P. A., Mesko, M. F., Muller, E. I., Flores, E. M. M., Determination of Toxic Elements in Nuts by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry after Microwave-Induced Combustion, *Food Analytical Methods* 6 (2013) 258-264.
33. Picoloto, R. S., Doneda, M., Flores, E. L. M., Mesko, M. F., Flores, E. M. M., Mello, P. A., Simultaneous determination of bromine and iodine in milk powder for adult and infant nutrition by plasma based techniques after digestion using microwave-induced combustion, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 107 (2015) 86-92.
34. Pereira, J. S. F., Antes, F. G., Diehl, L. O., Knorr, C. L., Mortari, S. R., Dressler, V. L., Flores, E. M. M., Microwave-induced combustion of carbon nanotubes for further halogen determination, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 25 (2010) 1268-1274.
35. Mello, P. A., Diehl, L. O., Oliveira, J. S. S., Muller, E. I., Mesko, M. F., Flores, E. M. M., Plasma-based determination of inorganic contaminants in waste of electric and electronic equipment after microwave-induced combustion, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 105 (2015) 95-102.
36. Picoloto, R. S., Wiltscche, H., Knapp, G., Mello, P. A., Barin, J. S., Flores, E. M. M., Determination of inorganic pollutants in soil after volatilization using microwave-induced combustion, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 86 (2013) 123-130.
37. Oliveira, E. d., Sample preparation for atomic spectroscopy: evolution and future trends, *Journal of the Brazilian Chemical Society* 14 (2003) 174-182.
38. Maichin, B., Zischka, M., Knapp, G., Pressurized wet digestion in open vessels, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 376 (2003) 715-720.
39. Bendicho, C., Sample Preparation for Trace Element Analysis 41 In Series: Comprehensive Analytical Chemistry, Elsevier B.V., Amsterdam, The Netherlands, 2003, 1286 pp., ISBN: 0-444-51101-6. Edited by Zoltan Mester and Ralph Sturgeon, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 59 (2004) 1943-1944.
40. Barnes, R. M., Júnior, D. S., Krug, F. J., Chapter 1 - Introduction to Sample Preparation for Trace Element Determination - Flores, Érico Marlon de Moraes, Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Analysis, Elsevier, Amsterdam, 2014, pp. 1-58.

41. Croudace, I. W., A possible error source in silicate wet-chemistry caused by insoluble fluorides, *Chemical Geology* 31 (1980) 153-155.
42. Grinberg, P., Sturgeon, R. E., Diehl, L. d. O., Bizzi, C. A., Flores, E. M. M., Comparison of sample digestion techniques for the determination of trace and residual catalyst metal content in single-wall carbon nanotubes by inductively coupled plasma mass spectrometry, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 105 (2015) 89-94.
43. Pereira, J. S. F., Knorr, C. L., Pereira, L. S. F., Moraes, D. P., Paniz, J. N. G., Flores, E. M. M., Knapp, G., Evaluation of sample preparation methods for polymer digestion and trace elements determination by ICPMS and ICPOES, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 26 (2011) 1849-1857.
44. Sparsha, N., Ravindra Reddy, K., Venkatesh, P., D., H. R., Sirisha, G., Sahithireddy, P., A review on high pressure asher, *International Journal of Current Pharmaceutical Research* 5 (2013) 5.
45. Matusiewicz, H., Chapter 3 - Systems for Microwave-Assisted Wet Digestion - Flores, Érico Marlon de Moraes, *Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Analysis*, Elsevier, Amsterdam, 2014, pp. 77-98.
46. Packer, A. P., Sarkis, J. E. S., Giné, M. F., Santos, É. J. d., High pressure asher (HPA-S) decomposition of biodiesel samples for elemental analysis by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES), *Journal of the Brazilian Chemical Society* 25 (2014) 743-749.
47. Alvarado, J., Leon, L. E., Lopez, F., Lima, C., Comparison of conventional and microwave wet acid digestion procedures for the determination of iron, nickel and vanadium in coal by electrothermal atomisation atomic absorption spectrometry, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 3 (1988) 135-138.
48. Baffi, C., Bettinelli, M., Beone, G. M., Spezia, S., Comparison of different analytical procedures in the determination of trace elements in lichens, *Chemosphere* 48 (2002) 299-306.
49. Amarasiriwardena, C. J., Jayawardene, I., Lupoli, N., Barnes, R. M., Hernandez-Avila, M., Hu, H., Ettinger, A. S., Comparison of digestion procedures and methods for quantification of trace lead in breast milk by isotope dilution inductively coupled plasma mass spectrometry, *Analytical Methods* 5 (2013) 1676-1681.
50. Altundag, H., Tuzen, M., Comparison of dry, wet and microwave digestion methods for the multi element determination in some dried fruit samples by ICP-OES, *Food and Chemical Toxicology* 49 (2011) 2800-2807.

51. Saraswati, R., Vetter, T. W., Watters, R. L., Comparison of reflux and microwave oven digestion for the determination of arsenic and selenium in sludge reference material using flow injection hydride generation and atomic absorption spectrometry, *Analyst* 120 (1995) 95-99.
52. Rodushkin, I., Ruth, T., Huhtasaari, Å., Comparison of two digestion methods for elemental determinations in plant material by ICP techniques, *Analytica Chimica Acta* 378 (1999) 191-200.
53. Knapp, G., Decomposition methods in elemental trace analysis, *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 3 (1984) 182-185.
54. White, T. R., Kettisch, P. J., Kainrath, P., The High Pressure Asher: A High-Performance Sample Decomposition System as an Alternative to Microwave-Assisted Digestion, *Atomic Spectroscopy* 19 (1998) 187-192.
55. Besecker, K. D., Rhoades, C. B., Jones, B. T., Barnes, K. W., A Simple Closed-Vessel Nitric Acid Digestion Method for a Polyethylene/Polypropylene Polymer Blend, *Atomic Spectroscopy* 19 (1998) 193-197.
56. Daniel, M. M., Batchelor, J. D., Rhoades, C. B., Jr., Jones, B. T., The Effect of Digestion Temperature on Matrix Decomposition Using a High Pressure Asher, *Atomic Spectroscopy* 19 (1998) 198-203.
57. Zlotorzynski, A., The Application of Microwave Radiation to Analytical and Environmental Chemistry, *Critical Reviews in Analytical Chemistry* 25 (1995) 43-76.
58. Mello, P. A., Barin, J. S., Guarnieri, R. A., Chapter 2 - Microwave Heating - Flores, Érico Marlon de Moraes, *Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Analysis*, Elsevier, Amsterdam, 2014, pp. 59-75.
59. Müller, E. I., Mesko, M. F., Moraes, D. P., Korn, M. d. G. A., Flores, É. M. M., Chapter 4 - Wet Digestion Using Microwave Heating, *Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Analysis*, Elsevier, Amsterdam, 2014, pp. 99-142.
60. Wasilewska, M., Goessler, W., Zischka, M., Maichin, B., Knapp, G., Efficiency of oxidation in wet digestion procedures and influence from the residual organic carbon content on selected techniques for determination of trace elements, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 17 (2002) 1121-1125.
61. Levine, K. E., Batchelor, J. D., Rhoades Jr, C. B., Jones, B. T., Evaluation of a high-pressure, high-temperature microwave digestion system, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 14 (1999) 49-59.

62. Andrade Korn, M. d. G., da Boa Morte, E. S., Batista dos Santos, D. C. M., Castro, J. T., Barbosa, J. T. P., Teixeira, A. P., Fernandes, A. P., Welz, B., dos Santos, W. P. C., Nunes dos Santos, E. B. G., Korn, M., Sample Preparation for the Determination of Metals in Food Samples Using Spectroanalytical Methods—A Review, *Applied Spectroscopy Reviews* 43 (2008) 67-92.
63. Sastre, J., Sahuquillo, A., Vidal, M., Rauret, G., Determination of Cd, Cu, Pb and Zn in environmental samples: microwave-assisted total digestion versus aqua regia and nitric acid extraction, *Analytica Chimica Acta* 462 (2002) 59-72.
64. Lambie, K. J., Hill, S. J., Microwave digestion procedures for environmental matrices . Critical Review, *Analyst* 123 (1998) 103R-133R.
65. Barin, J. S., Tischer, B., Picoloto, R. S., Antes, F. G., da Silva, F. E. B., Paula, F. R., Flores, E. M. M., Determination of toxic elements in tricyclic active pharmaceutical ingredients by ICP-MS: a critical study of digestion methods, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 29 (2014) 352-358.
66. Feng, X., Wu, S., Wharmby, A., Wittmeier, A., Microwave digestion of plant and grain standard reference materials in nitric and hydrofluoric acids for multi-elemental determination by inductively coupled plasma mass spectrometry, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 14 (1999) 939-946.
67. Wang, J., Nakazato, T., Sakanishi, K., Yamada, O., Tao, H., Saito, I., Microwave digestion with HNO₃/H₂O₂ mixture at high temperatures for determination of trace elements in coal by ICP-OES and ICP-MS, *Analytica Chimica Acta* 514 (2004) 115-124.
68. Evans, E. H., Giglio, J. J., Interferences in inductively coupled plasma mass spectrometry. A review, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 8 (1993) 1-18.
69. Araújo, G. C. L., Gonzalez, M. H., Ferreira, A. G., Nogueira, A. R. A., Nóbrega, J. A., Effect of acid concentration on closed-vessel microwave-assisted digestion of plant materials, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 57 (2002) 2121-2132.
70. Krushevska, A., Barnes, R. M., Amarasiriwaradena, C. J., Foner, H., Martines, L., Determination of the residual carbon content by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry after decomposition of biological samples, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 7 (1992) 845-850.
71. Grindlay, G., Gras, L., Mora, J., de Loos-Vollebregt, M. T. C., Carbon-related matrix effects in inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 63 (2008) 234-243.
72. Grotti, M., Leardi, R., Frache, R., Combined effects of inorganic acids in inductively coupled plasma optical emission spectrometry, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 57 (2002) 1915-1924.

73. Brenner, I. B., Mermet, J. M., Segal, I., Long, G. L., Effect of nitric and hydrochloric acids on rare earth element (REE) intensities in inductively coupled plasma emission spectrometry, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 50 (1995) 323-331.
74. Todolí, J.-L., Mermet, J.-M., Acid interferences in atomic spectrometry: analyte signal effects and subsequent reduction, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 54 (1999) 895-929.
75. Todoli, J.-l., Mermet, J.-m., Canals, A., Hernandis, V., Acid effects in inductively coupled plasma atomic emission spectrometry with different nebulizers operated at very low sample consumption rates, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 13 (1998) 55-62.
76. Dubuisson, C., Poussel, E., Mermet, J.-m., Luis Todoli, J., Comparison of the effect of acetic acid with axially and radially viewed inductively coupled plasma atomic emission spectrometry: influence of the operating conditions, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 13 (1998) 63-67.
77. Marichy, M., Mermet, M., Mermet, J. M., Some effects of low acid concentrations in inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 45 (1990) 1195-1201.
78. Brenner, I. B., Segal, I., Mermet, M., Mermet, J. M., Study of the depressive effects of nitric acid on the line intensities of rare earth elements in inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 50 (1995) 333-340.
79. Canals, A., Hernandis, V., Todolí, J. L., Browner, R. F., Fundamental studies on pneumatic generation and aerosol transport in atomic spectrometry: effect of mineral acids on emission intensity in inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 50 (1995) 305-321.
80. Markandeya, A. G., Firke, N. P., Pingale, S. S., Salunke-Gawali, S., Quantitative elemental analysis of Celocia argentea leaves by ICP-OES technique using various digestion methods, *International Journal of Chemical and Analytical Science* 4 (2013) 175-181.
81. Bizzi, C. A., Flores, E. L. M., Nobrega, J. A., Oliveira, J. S. S., Schmidt, L., Mortari, S. R., Evaluation of a digestion procedure based on the use of diluted nitric acid solutions and H₂O₂ for the multielement determination of whole milk powder and bovine liver by ICP-based techniques, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 29 (2014) 332-338.

82. Mketi, N., Nomngongo, P. N., Ngila, J. C., An innovative microwave-assisted digestion method with diluted hydrogen peroxide for rapid extraction of trace elements in coal samples followed by inductively coupled plasma-mass spectrometry, *Microchemical Journal* 124 (2016) 201-208.
83. Souza, S. N. P., Nascentes, C. C., Costa, L. M., Validation of a microwave-assisted digestion procedure of pate samples using diluted HNO₃ for Fe and Zn determination by FS FAAS, *Analytical Methods* 5 (2013) 6411-6415.
84. Barbosa, J. T. P., Santos, C. M. M., Peralva, V. N., Flores, E. M. M., Korn, M., Nóbrega, J. A., Korn, M. G. A., Microwave-assisted diluted acid digestion for trace elements analysis of edible soybean products, *Food Chemistry* 175 (2015) 212-217.
85. Muller, A. L. H., Muller, E. I., Barin, J. S., Flores, E. M. M., Microwave-assisted digestion using diluted acids for toxic element determination in medicinal plants by ICP-MS in compliance with United States pharmacopeia requirements, *Analytical Methods* 7 (2015) 5218-5225.
86. Matusiewicz, H., Sturgeon, R. E., Berman, S. S., Trace element analysis of biological material following pressure digestion with nitric acid-hydrogen peroxide and microwave heating, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 4 (1989) 323-327.
87. Hulanicki, A., Characteristics and Specificity of Trace Analysis, I. Baranowska (Ed.) Handbook of Trace Analysis: Fundamentals and Applications, Springer International Publishing, Cham, 2016, pp. 3-16.
88. Flores, E. M. M., Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Determination, Elsevier, Amsterdam, 2014, pp.
89. Tölg, G., Extreme trace analysis of the elements—I: Methods and problems of sample treatment, separation and enrichment, *Talanta* 19 (1972) 1489-1521.
90. Tölg, G., Problems and trends in extreme trace analysis for the elements, *Analytica Chimica Acta* 283 (1993) 3-18.
91. Amaral, C. D. B., Fialho, L. L., Camargo, F. P. R., Pirola, C., Nóbrega, J. A., Investigation of analyte losses using microwave-assisted sample digestion and closed vessels with venting, *Talanta* 160 (2016) 354-359.
92. Qi, C., Liu, X., Lin, C., Zhang, X., Ma, J., Tan, H., Ye, W., Degradation of sulfamethoxazole by microwave-activated persulfate: Kinetics, mechanism and acute toxicity, *Chemical Engineering Journal* 249 (2014) 6-14.
93. Costa, C., Santos, V. H. S., Araujo, P. H. H., Sayer, C., Santos, A. F., Fortuny, M., Microwave-assisted rapid decomposition of persulfate, *European Polymer Journal* 45 (2009) 2011-2016.

94. Nóbrega, J. A., Donati, G. L., Microwave-Assisted Sample Preparation for Spectrochemistry. In: Meyers, R. A. (Ed.) *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, John Wiley & Sons, 2011, pp. 16504.
95. Bizzi, C. A., Nóbrega, J. A., Barin, J. S., Oliveira, J. S. S., Schmidt, L., Mello, P. A., Flores, E. M. M., Effect of simultaneous cooling on microwave-assisted wet digestion of biological samples with diluted nitric acid and O₂ pressure, *Analytica Chimica Acta* 837 (2014) 16-22.
96. Atkins, P., De Paula, J., *Elements of Physical Chemistry*, New York: W. H. Freeman, 2009, pp.
97. McQuarrie, D. A., Simon, J. D., *Physical Chemistry: A Molecular Approach*, University Science Books, 1997, pp.
98. Bizzi, C. A., Nóbrega, J. A., Barin, J. S., Chapter 6 - Diluted Acids in Microwave-Assisted Wet Digestion - Flores, Érico Marlon de Moraes, *Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Analysis*, Elsevier, Amsterdam, 2014, pp. 179-204.
99. Bizzi, C. A., Barin, J. S., Garcia, E. E., Nóbrega, J. A., Dressler, V. L., Flores, E. M. M., Improvement of microwave-assisted digestion of milk powder with diluted nitric acid using oxygen as auxiliary reagent, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 66 (2011) 394-398.
100. Lide, D. R., *CRC Handbook of Chemistry and Physics*, 84 ed., 2003, pp.
101. Bockris, J. O. M., Oldfield, L. F., The oxidation-reduction reactions of hydrogen peroxide at inert metal electrodes and mercury cathodes, *Transactions of the Faraday Society* 51 (1955) 249-259.
102. Gorsuch, T. T., *The destruction of organic matter*, Pergamon Pr., Oxford [usw.], Braunschweig, 1970, pp.
103. Schramel, P., Hasse, S., Destruction of organic materials by pressurized microwave digestion, *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* 346 (1993) 794-799.
104. Lima, R. M., Rodriguez-Amaya, D. B., Farfán, J. A., Nonato, C. T., Lima, M. T., Salay, E., Colugnati, F. A. B., Galeazzi, M. A. M., *Tabela Brasileira de Composição de Alimentos*, 4. ed. rev. e ampl. ed., BookEditora, Campinas - SP: NEPA - UNICAMP, 2011, pp. 161.