



**UFSM**

**Tese de Doutorado**

**EMPREGO DE OXIGÊNIO E PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO COMO  
AUXILIARES NA DECOMPOSIÇÃO DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS  
POR VIA ÚMIDA ASSISTIDA POR RADIAÇÃO MICRO-ONDAS**

---

**Cezar Augusto Bizzi**

**PPGQ**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2012**

**EMPREGO DE OXIGÊNIO E PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO COMO  
AUXILIARES NA DECOMPOSIÇÃO DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS  
POR VIA ÚMIDA ASSISTIDA POR RADIAÇÃO MICRO-ONDAS**

---

**por**

**Cezar Augusto Bizzi**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, **Área de Química Analítica**, da Universidade Federal de Santa Maria (RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Química**

Santa Maria, RS, Brasil

2012

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

A Comissão Examinadora abaixo assinada aprova a Tese de Doutorado

**EMPREGO DE OXIGÊNIO E PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO COMO  
AUXILIARES NA DECOMPOSIÇÃO DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS  
POR VIA ÚMIDA ASSISTIDA POR RADIAÇÃO MICRO-ONDAS**

Elaborada por

**Cezar Augusto Bizzi**

Como requisito parcial para a obtenção do grau de  
**Doutor em Química**

**COMISSÃO EXAMINADORA:**

---

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

---

Prof. Dr. Edson Irineu Müller (UFSM-RS)

---

Prof. Dr. Joaquim de Araújo Nóbrega (UFSCar-SP)

---

Prof. Dr. José Neri Gottfried Paniz (UFSM-RS)

---

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

## AGRADECIMENTOS

---

Ao **Programa de Pós-Graduação em Química** da Universidade Federal de Santa Maria e ao **Setor de Química Industrial e Ambiental (LAQIA)** pela possibilidade de execução deste trabalho.

Ao Prof. Dr. **Érico M. M. Flores**, pela orientação neste trabalho, pela confiança, pelo exemplo de profissionalismo, pelo convívio, pela amizade e, principalmente, pela oportunidade de desenvolver este trabalho no LAQIA.

Ao Profs. Drs. **Edson I. Müller, Joaquim A. Nóbrega, José N. G. Paniz e Juliano S. Barin** pela participação na banca examinadora e pelas valiosas sugestões que contribuíram para esta tese.

Aos Profs. Drs. **Joaquim A. Nóbrega e Juliano S. Barin**, pelo auxílio indispensável no decorrer deste trabalho, bem como pela amizade, pelo convívio e pelo exemplo profissional.

Aos Profs. Drs. **Fábio A. Duarte, Márcia F. Mesko e Valderi L. Dressler** pela contribuição durante o desenvolvimento das atividades de doutorado, por sua co-orientação, amizade e exemplo profissional.

Aos amigos do LAQIA do Departamento de Química da UFSM, pelo convívio, amizade e colaboração. Em especial, ao **Lucas Schmidt**, a **Jussiane S. S. Oliveira**, a **Paola A. Mello** e a **Rochele S. Picoloto**, pelas valiosas sugestões e críticas, bem como pela colaboração direta na execução deste trabalho.

Ao **Ademir e Valéria** da secretaria do PPGQ, pela disponibilidade e atenção demonstradas durante a execução deste trabalho.

A **Paola**, que esteve sempre ao meu lado me ensinou a mais simples e a mais valiosa das lições: ser paciente.

Em especial, agradeço as pessoas que, mais uma vez, mostraram que eu sempre terei em quem confiar: **meu pai Cezar, minha mãe Rosa e minha irmã Ingrid**.

***“A humildade é a única base sólida de todas as virtudes.”***

Confúcio

**SUMÁRIO**

---

<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	<i>IX</i>
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	<i>XV</i>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS</b> .....	<i>XVIII</i>
<b>RESUMO</b> .....	<i>XIX</i>
<b>ABSTRACT</b> .....	<i>XX</i>
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	<b>5</b>
2.1 Métodos de decomposição de amostras.....	6
2.1.1 Decomposição de amostras orgânicas por via úmida.....	7
2.1.2 Eficiência de decomposição de amostras orgânicas com emprego de HNO <sub>3</sub> .....	10
2.1.3 Procedimentos alternativos de decomposição por via úmida.....	14
2.2 Utilização de radiação micro-ondas para decomposição por via úmida.....	19
2.2.1 Fundamentos da radiação micro-ondas.....	20
2.2.2 Interação da radiação micro-ondas com a matéria.....	20
2.2.3 Investigação dos produtos de decomposição pela oxidação da matéria orgânica com HNO <sub>3</sub> concentrado e aquecimento micro- ondas.....	24
2.3 Emprego de ácidos diluídos para o preparo de amostras assistido por radiação micro-ondas.....	27
2.3.1 Reações de regeneração do ácido nítrico.....	33
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>36</b>
3.1 Instrumentação.....	37
3.2 Reagentes.....	39
3.3 Amostras e CRMs.....	40

3.4	Procedimentos de descontaminação.....	41
3.5	Procedimentos de decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas.....	41
3.5.1	Avaliação do efeito da concentração de HNO <sub>3</sub> sobre a eficiência de decomposição.....	42
3.5.2	Avaliação da pressão de O <sub>2</sub> e composição da fase gasosa.....	42
3.5.3	Avaliação do uso de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> como reagente auxiliar de decomposição.....	44
3.5.4	Avaliação da influência do aquecimento assistido por radiação micro-ondas para a decomposição por via úmida com HNO <sub>3</sub> diluído.....	46
3.5.5	Avaliação da influência da interação da radiação micro-ondas com a fase gasosa durante a etapa de decomposição.....	52
3.5.6	Avaliação da decomposição assistida por radiação UV com HNO <sub>3</sub> diluído e utilização de O <sub>2</sub> e H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> como reagentes auxiliares.....	53
3.5.7	Determinação de metais nas amostras decompostas por via úmida assistida por radiação micro-ondas com ácido nítrico diluído.....	55
<b>4</b>	<b>APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS.....</b>	<b>58</b>
4.1	Avaliação do método de decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas empregando HNO <sub>3</sub> diluído com utilização de O <sub>2</sub> e H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> como reagentes auxiliares.....	59
4.1.1	Avaliação do efeito da concentração de HNO <sub>3</sub> sobre a eficiência de decomposição.....	59
4.1.2	Avaliação da composição da fase gasosa com diferentes quantidades de O <sub>2</sub> e presença de gás inerte.....	66
4.1.3	Determinação de metais nas amostras de leite em pó e fígado bovino após decomposição com HNO <sub>3</sub> diluído e pressão de O <sub>2</sub> .....	80
4.1.4	Avaliação do uso de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> como reagente auxiliar.....	81

4.1.5	Determinação de metais nas amostras de leite em pó e fígado bovino decompostas com HNO <sub>3</sub> diluído e H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	89
4.1.6	Parâmetros de desempenho para a decomposição com HNO <sub>3</sub> diluído e utilização de O <sub>2</sub> e H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> como reagentes auxiliares.....	90
4.2	Avaliação da influência do aquecimento assistido por radiação micro-ondas para a decomposição por via úmida com HNO <sub>3</sub> diluído .....	92
4.2.1	Decomposição com passagem forçada de ar na parte externa do frasco de decomposição durante a etapa de aquecimento.....	93
4.2.2	Avaliação do gradiente de temperatura por termografia .....	98
4.2.3	Avaliação da influência da interação da radiação micro-ondas com a fase gasosa durante a etapa de decomposição .....	111
4.3	Avaliação da decomposição assistida por radiação UV com HNO <sub>3</sub> diluído e utilização de O <sub>2</sub> e H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> como reagentes auxiliares .....	122
4.3.1	Avaliação da influência da utilização da lâmpada de emissão de radiação UV para decomposição assistida por radiação micro-ondas com solução diluída de HNO <sub>3</sub> e utilização de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> e O <sub>2</sub> como reagentes auxiliares .....	124
4.3.2	Avaliação de parâmetros reacionais para a decomposição assistida por radiação UV com solução diluída de HNO <sub>3</sub> e utilização de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> e O <sub>2</sub> como reagentes auxiliares .....	128
4.3.3	Determinação de metais em amostras biológicas e CRMs após a decomposição assistida por radiação micro-ondas com utilização de lâmpada de emissão de radiação UV. ....	131
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>135</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>138</b>



## LISTA DE FIGURAS

---

- Figura 1. Procedimento de pressurização do frasco de quartzo, para posterior decomposição da amostra, através da válvula originalmente projetada para liberação dos gases gerados durante o procedimento de digestão. ....43
- Figura 2. a) Frasco reacional com capa de PEEK com indicações dos orifícios de entrada e saída de ar durante a circulação de ar. b) Esquema da corrente de ar utilizada para dissipação de calor do frasco reacional (adaptado de Zischka et al.<sup>86</sup>). ....47
- Figura 3. a) Sensor de temperatura e tubo de imersão posicionados no frasco de decomposição e, b) sensor de temperatura (T-probe). No detalhe é mostrado o bulbo de vidro sensível à variação de temperatura. ....48
- Figura 4. Frasco reacional posicionado no rotor com adaptação feita para obtenção de imagem térmica da superfície da parede de quartzo (para esta adaptação, a capa de PEEK foi recortada). ....49
- Figura 5. Sistema para medição de temperatura com utilização de termopar para: a) tampa com tubo de imersão de quartzo posicionada no frasco reacional; e, b) tampa com tubo de imersão comercial (esquerda) e com comprimento de 3 cm (direita). ....51
- Figura 6. Frasco reacional com tubo de imersão utilizado para medição da temperatura na fase líquida (16 cm) e três regiões da fase gasosa (3, 6 e 12 cm). A temperatura foi medida com a utilização de um termopar. Cada região do frasco reacional teve a temperatura medida nos tempos de 2,5, 5 e 7,5 min. ....51
- Figura 7. Copo de quartzo recoberto com fita adesiva de alumínio na altura da fase gasosa. No detalhe, é possível observar a janela para interação da radiação micro-ondas com a solução absorvedora de radiação. ....52

- Figura 8. (a) Lâmpada de Cd de baixa pressão (e dispositivos de PTFE) utilizada para a decomposição das amostras e (b) frasco de decomposição contendo a lâmpada de Cd para emissão de radiação UV. ....54
- Figura 9. Esquema simplificado dos parâmetros avaliados no presente estudo. ....57
- Figura 10. Avaliação da influência da concentração da solução de  $\text{HNO}_3$  para a decomposição de leite em pó integral (500 mg): (■) RCC após a decomposição feita com 20 bar de  $\text{O}_2$ ; (■) RCC após a decomposição feita sem a adição de  $\text{O}_2$  (ar à pressão atmosférica, 1 bar, 21% de  $\text{O}_2$ ); (●) acidez residual referente à decomposição feita com 20 bar de  $\text{O}_2$ ; e, (◆) acidez residual referente à decomposição feita sem a adição de  $\text{O}_2$ . ....60
- Figura 11. Aspecto dos digeridos finais para decomposição de leite em pó integral (500 mg) com soluções de  $\text{HNO}_3$  de diferentes concentrações: as imagens da parte superior são referentes à decomposição feita sem adição de  $\text{O}_2$  (ar à pressão atmosférica, 1 bar, 21% de  $\text{O}_2$ ); as imagens da parte inferior são referentes à decomposição feita com pressão de  $\text{O}_2$  (20 bar). ....62
- Figura 12. Avaliação da influência da concentração de  $\text{HNO}_3$  na decomposição de fígado bovino (500 mg): (■) RCC obtido após a decomposição com 20 bar de  $\text{O}_2$ ; (■) RCC após a decomposição sem a adição de  $\text{O}_2$  (ar à pressão atmosférica, 21% de  $\text{O}_2$ ); (●) acidez residual após a decomposição com 20 bar de  $\text{O}_2$ ; e, (◆) acidez residual após a decomposição sem a adição de  $\text{O}_2$ . ....64
- Figura 13. Aspecto dos digeridos finais para decomposição de fígado bovino (500 mg) com soluções de  $\text{HNO}_3$  de diferentes concentrações: as imagens da parte superior são referentes à decomposição sem a adição de  $\text{O}_2$  (ar à pressão atmosférica, 1 bar, 21% de  $\text{O}_2$ ); as imagens da parte inferior são referentes à decomposição com pressão de  $\text{O}_2$  (20 bar). ....64
- Figura 14. Frasco de decomposição imediatamente após o programa de resfriamento, para as decomposições com adição de  $\text{O}_2$  (20 bar) e sem adição de  $\text{O}_2$  (ar à pressão atmosférica, 1 bar, 21% de  $\text{O}_2$ ), para a decomposição de 500 mg de leite em pó integral. ....66

- Figura 15. Influência da fase gasosa na eficiência de decomposição de leite em pó integral (500 mg) com  $\text{HNO}_3$  2 mol  $\text{L}^{-1}$ . As barras representam os valores de RCC após a decomposição, para atmosfera interna do frasco reacional com: (■) pressão de  $\text{O}_2$ ; (□) pressão de Ar; e, (■) sem adição de  $\text{O}_2$  ou Ar (ar à pressão atmosférica, 1 bar, 21% de  $\text{O}_2$ ). As linhas representam a acidez residual para os resultados obtidos com a atmosfera interna do frasco reacional com: (●) pressão de  $\text{O}_2$ ; (▲) pressão de Ar; e, (◆) sem adição de  $\text{O}_2$  ou Ar (ar à pressão atmosférica, 1 bar, 21% de  $\text{O}_2$ ).....67
- Figura 16. Aspecto dos digeridos finais para decomposição de leite em pó com diferentes composições da atmosfera interna do frasco de digestão: a) sem adição de  $\text{O}_2$  (ar à pressão atmosférica, 1 bar, 21% de  $\text{O}_2$ ); b) com adição de Ar (20 bar); c) com adição de  $\text{O}_2$  (20 bar); e, d) 7,5 bar  $\text{O}_2$ . .....69
- Figura 17. Quantidade de  $\text{HNO}_3$  (em 6 mL de solução de  $\text{HNO}_3$ ) presente após a decomposição de 500 mg de leite em pó integral para: a) decomposição com atmosfera de Ar (□) e sem pressão de  $\text{O}_2$  (■); e b) decomposição com atmosfera de Ar (□); e pressão de  $\text{O}_2$  (■). As linhas intermitentes representam a acidez residual dos digeridos finais obtidos com: atmosfera de Ar (▲); atmosfera de ar (◆); e, com pressão de  $\text{O}_2$  (●). As linhas pontilhadas representam a diferença entre o número de moles iniciais (barras) e o número de moles com base na acidez residual dos digeridos finais (linhas intermitentes) para: (-x-) atmosfera de Ar; (◆) atmosfera de ar; e, (●) pressão de  $\text{O}_2$ . .....74
- Figura 18. Quantidade residual ( $\text{QR O}_2$ ) para a decomposição com pressão de  $\text{O}_2$  (■) em comparação com quantidade residual ( $\text{QR Ar}$ ) para a decomposição com atmosfera de Ar (□). A linha (◆) estabelece uma relação percentual entre as decomposições feitas com atmosfera de  $\text{O}_2$  e atmosfera de Ar  $[\text{=100}*(\text{QR O}_2 - \text{QR Ar})/\text{QI O}_2]$ . .....77
- Figura 19. Acidez residual para os digeridos finais da decomposição com (■) pressão de  $\text{O}_2$  e (□) pressão de Ar. A linha (●) representa a diferença entre a acidez residual para decomposição com Ar e com  $\text{O}_2$  ( $\text{QR O}_2 - \text{QR Ar}$ ). A linha pontilhada (---) representa a redução na quantidade de  $\text{HNO}_3$  para decomposição com pressão de  $\text{O}_2$ . .....79

- Figura 20. Influência de diferentes volumes de  $\text{H}_2\text{O}_2$  como reagente auxiliar na de composição de a) leite em pó integral e b) fígado bovino (500 mg). A decomposição foi feita com solução  $2 \text{ mol L}^{-1} \text{ HNO}_3$  contendo  $\text{H}_2\text{O}_2$  (6 mL de volume total em todos os casos): (■) RCC referente à decomposição com  $\text{H}_2\text{O}_2$  e pressão de  $\text{O}_2$ ; (■) RCC referente à decomposição somente com  $\text{H}_2\text{O}_2$ ; (●) acidez residual referente à decomposição com  $\text{H}_2\text{O}_2$  e pressão de  $\text{O}_2$ ; e, (♦) acidez residual referente à decomposição somente com  $\text{H}_2\text{O}_2$ . .....84
- Figura 21. Influência da quantidade de  $\text{H}_2\text{O}_2$  em função da diminuição da concentração da solução de  $\text{HNO}_3$  para decomposição de 500 mg de leite em pó integral. Os valores obtidos para RCC estão evidenciados na forma de barras e a acidez residual na forma de linhas: (■)  $\text{HNO}_3 \ 2 \text{ mol L}^{-1}$ ; (■)  $\text{HNO}_3 \ 1,5 \text{ mol L}^{-1}$ ; (■)  $\text{HNO}_3 \ 1 \text{ mol L}^{-1}$ ; (■)  $\text{HNO}_3 \ 0,75 \text{ mol L}^{-1}$  e (■)  $\text{HNO}_3 \ 0,5 \text{ mol L}^{-1}$ . .....87
- Figura 22. Efeito da passagem de ar forçada (FAN 1, 2 e 3) sobre a eficiência de decomposição de leite em pó integral (500 mg) com solução  $2 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{HNO}_3$  pressurizado com 7,5 bar de  $\text{O}_2$ . .....94
- Figura 23. Gráficos de a) temperatura, b) pressão e c) potência, obtidos durante a decomposição feita com circulação de ar nos modos FAN 1 (—), FAN 2 (—) e FAN 3 (—) durante a etapa de aquecimento micro-ondas. A linha vertical (---) representa o tempo de 7,5 min de aquecimento para a decomposição de leite em pó integral (500 mg) com solução  $2 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{HNO}_3$  com pressão de  $\text{O}_2$  (7,5 bar, inicial). Os gráficos foram obtidos diretamente do software do equipamento (Multiwave 3000, software versão v1.27). .....97
- Figura 24. Termografia por infravermelho obtida após etapa de aquecimento assistido por micro-ondas de 2,5 min (coluna da esquerda), 5 min (coluna do centro) e 7,5 min (coluna da direita), em diferentes concentrações de  $\text{HNO}_3$  e composição de fase gasosa. ....100

- Figura 25. Perfil de pressão no interior dos frascos para as decomposições feitas com 20 bar de  $O_2$  (linha em azul) e 20 bar de Ar (linha pontilhada em vermelho). Decomposição de 500 mg de leite em pó integral com solução  $2 \text{ mol L}^{-1}$   $HNO_3$ . As linhas verticais representam (a) 5 min e (b) 6,4 min de aquecimento. .... 103
- Figura 26. Aspecto dos digeridos finais obtidos após 2,5, 5 e 7,5 min de aquecimento (da esquerda para a direita, respectivamente). As decomposições foram feitas com 500 mg de leite em pó integral, 6 mL de solução  $2 \text{ mol L}^{-1}$   $HNO_3$  e pressão de 7,5 bar de a)  $O_2$  e b) Ar..... 105
- Figura 27. Termografia por infravermelho obtida durante a etapa de resfriamento. A decomposição foi feita com 500 mg de leite em pó integral, solução  $2 \text{ mol L}^{-1}$  de  $HNO_3$  e 7,5 bar de  $O_2$ . .... 107
- Figura 28. Esquema referente à interação da radiação micro-ondas com o copo de quartzo a) sem recobrimento de fita de alumínio e b) com recobrimento de fita de alumínio..... 112
- Figura 29. Digeridos finais para aquecimento de: a) 15 min e b) 45 min. 1) digestão com o frasco de quartzo recoberto com fita de alumínio (com pressão de 7,5 bar de  $O_2$ ); 2) digestão sem recobrimento com fita de alumínio (com pressão de 7,5 bar de  $O_2$ ); 3) digestão com recobrimento de fita de alumínio sem pressão de oxigênio; 4) digestão com recobrimento de fita de alumínio com pressão de 7,5 bar de  $O_2$ . .... 113
- Figura 30. Variação da temperatura durante a decomposição assistida por micro-ondas com recobrimento parcial do frasco com papel alumínio. Tempo de aquecimento de 45 min. Perfil de temperatura referente ao frasco reacional com (—) 7,5 bar de  $O_2$  e (—) sem pressão de  $O_2$  (ar à pressão atmosférica, 1 bar, 21% de  $O_2$ , e; (—) perfil de pressão apresentado ao longo do procedimento de decomposição..... 114

- Figura 31. Perfil de a) temperatura e b) pressão, obtidos para decomposição (—) com pressão de O<sub>2</sub> sem recobrimento de fita de Al, (—) com pressão de O<sub>2</sub> e com recobrimento de fita de Al e (—) sem pressão de O<sub>2</sub> (ar à pressão atmosférica, 1 bar, 21% de O<sub>2</sub>) com recobrimento de fita de Al. .... 116
- Figura 32. Eficiência de decomposição da amostra de leite em pó desnatado (100 mg) com a utilização da lâmpada de emissão UV (■) e sem a utilização da lâmpada (■) (solução 0,093 mol L<sup>-1</sup> de HNO<sub>3</sub>, com adição de 2 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e/ou 20 bar de O<sub>2</sub>). .... 125
- Figura 33. Avaliação da decomposição assistida por radiação UV com solução 0,093 mol L<sup>-1</sup> de HNO<sub>3</sub> e utilização de 2 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e 20 bar de O<sub>2</sub> como reagentes auxiliares para decomposição das amostras de: (■) amido de batata; (■) leite em pó desnatado; (■) cloridrato de imipramina. .... 129

## LISTA DE TABELAS

---

Tabela 1. Condições operacionais para a determinação de C e metais por ICP OES e por ICP-MS. ....	38
Tabela 2. Programa de aquecimento utilizado para a decomposição das amostras de leite em pó integral e fígado bovino, por via úmida, assistida por radiação micro-ondas. ....	42
Tabela 3. Programa de aquecimento utilizado para a decomposição foto-oxidativa das amostras de leite em pó desnatado, amido de batata e cloridrato de imipramina, por via úmida assistida por radiação micro-ondas com HNO <sub>3</sub> diluído. ....	54
Tabela 4. Eficiência de decomposição de fígado bovino (500 mg) com soluções de HNO <sub>3</sub> de diferentes concentrações, com adição de O <sub>2</sub> (20 bar) e sem adição de O <sub>2</sub> (ar à pressão atmosférica, 1 bar, 21% de O <sub>2</sub> ). ....	63
Tabela 5. Resultados obtidos para a eficiência de decomposição de fígado bovino (500 mg) com solução de HNO <sub>3</sub> 2 mol L <sup>-1</sup> com diferentes composições de fase gasosa.....	70
Tabela 6. Acidez residual (número de moles em 6 mL de solução), de acordo com a composição da fase gasosa do frasco de decomposição.....	75
Tabela 7. Concentração de metais em CRMs de leite em pó por ICP OES e por ICP-MS (Cd, Co e Pb) (média e desvio padrão em µg g <sup>-1</sup> , n = 5, 500 mg de amostra, 2 mol L <sup>-1</sup> HNO <sub>3</sub> e 7,5 bar O <sub>2</sub> ). ....	80
Tabela 8. Concentração de metais em CRMs de fígado e músculo bovino por ICP OES e por ICP-MS (Cd, Co e Pb) (média e desvio padrão em µg g <sup>-1</sup> , n = 5, 500 mg de amostra, 2 mol L <sup>-1</sup> HNO <sub>3</sub> e 5 bar O <sub>2</sub> ).....	81

Tabela 9. Resultados de RCC e acidez residual para decomposição de fígado bovino (500 mg) com solução 2 mol L <sup>-1</sup> HNO <sub>3</sub> com adição de diferentes volumes de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> . .....	85
Tabela 10. Efeito do volume de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> na decomposição de 500 mg de fígado bovino com soluções diluídas de HNO <sub>3</sub> . .....	88
Tabela 11. Resultados obtidos para a concentração de metais em CRMs de leite em pó (NIST 1549) e fígado bovino (NIST 1577) por ICP OES e por ICP-MS (Cd, Co e Pb) (média e desvio padrão em µg g <sup>-1</sup> , n = 5). .....	90
Tabela 12. Parâmetros de desempenho para a decomposição de leite em pó integral e fígado bovino com HNO <sub>3</sub> diluído e utilização de O <sub>2</sub> e H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> como reagentes auxiliares. ....	91
Tabela 13. Temperatura nos tempos de 2,5, 5 e 7,5 min de aquecimento assistido por radiação micro-ondas. Foram avaliadas as condições experimentais com HNO <sub>3</sub> 2 mol L <sup>-1</sup> (7,5 bar de O <sub>2</sub> , 7,5 bar de Ar e ar à pressão atmosférica, 1 bar) e HNO <sub>3</sub> 14 mol L <sup>-1</sup> (ar à pressão atmosférica). ....	102
Tabela 14. Temperatura nos tempos de 2,5, 5 e 7,5 min de aquecimento assistido por radiação micro-ondas, nos modos de circulação de ar FAN 1, 2 e 3. A decomposição foi feita com 500 mg de amostra e solução 2 mol L <sup>-1</sup> de HNO <sub>3</sub> , pressurizado com O <sub>2</sub> (7,5 bar de O <sub>2</sub> ). ....	106
Tabela 15. Temperatura nos tempos de 2,5, 5 e 7,5 min de aquecimento assistido por radiação micro-ondas. Foram avaliadas as condições experimentais para decomposição de 500 mg de leite em pó integral com 6 mL de solução de HNO <sub>3</sub> 2 mol L <sup>-1</sup> (7,5 bar de O <sub>2</sub> , 7,5 bar de Ar). ....	109
Tabela 16. Avaliação do uso da lâmpada de emissão UV para decomposição assistida por radiação micro-ondas com HNO <sub>3</sub> diluído (0,093 mol L <sup>-1</sup> ). Os valores de RCC estão apresentados em relação ao reagente auxiliar de decomposição utilizado: H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 2 mL; ou O <sub>2</sub> , 20 bar. ....	126



- Tabela 17. Resultados obtidos para metais por ICP OES e ICP-MS (Cd, Co e Pb) em CRMs de músculo bovino e leite em pó, para a decomposição com e sem lâmpada UV (empregando  $\text{HNO}_3$   $0,093 \text{ mol L}^{-1}$ , com 2 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  30% e 20 bar de  $\text{O}_2$ ) (média e desvio padrão em  $\mu\text{g g}^{-1}$ ,  $n = 5$ )..... 132
- Tabela 18. Determinação de metais por ICP OES e ICP-MS (Cd, Co e Pb) em amostras de leite em pó e amido de batata, para a decomposição com e sem lâmpada UV (empregando  $\text{HNO}_3$   $0,093 \text{ mol L}^{-1}$ , com 2 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  2 mL e 20 bar de  $\text{O}_2$ ) e para a decomposição empregando  $\text{HNO}_3$  concentrado (sem a adição de  $\text{O}_2$  ou  $\text{H}_2\text{O}_2$  e sem lâmpada UV). (média e desvio padrão em  $\mu\text{g g}^{-1}$ ,  $n = 5$ )..... 133
- Tabela 19. Limites de detecção obtidos para os procedimentos de decomposição com a utilização de diferentes reagentes. Os cálculos foram feitos com base em 500 mg de amostra (exceto para lâmpada UV, 100 mg), que foi a máxima massa de amostra decomposta durante as otimizações. [(Desvio padrão para 10 determinações do branco)  $\times$  (3) + (concentração do branco)]  $\times$  (volume de aferição) / (massa de amostra). ..... 134

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

---

- CRM**, material de referência certificado, do inglês *certified reference material*
- CV AAS**, espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio, do inglês *cold vapor atomic absorption spectrometry*
- GC-FID**, cromatografia a gás com detector por ionização em chama do inglês *gas chromatography flame ionization detector*
- GF AAS**, espectrometria de absorção atômica com forno de grafite, do inglês *graphite furnace atomic absorption spectrometry*
- ICP OES**, espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado, do inglês *inductively coupled plasma optical emission spectrometry*
- ICP-MS**, espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado, do inglês *inductively coupled plasma mass spectrometry*
- IR**, espectrometria na região do infravermelho, do inglês *infrared spectrometry*
- LC-UV-Vis**, cromatografia a líquido com detector UV-vis, do inglês *liquid chromatography UV-vis detector*
- MIC**, combustão iniciada por micro-ondas, do inglês *microwave induced combustion*
- PFA**, perfluoralcóxido
- PTFE**, politetrafluoretileno
- RCC**, teor de carbono residual, do inglês *residual carbon content*
- RMN**, ressonância magnética nuclear, do inglês *nuclear magnetic resonance*
- UV**, ultravioleta

## RESUMO

---

No presente trabalho investigou-se a possibilidade da utilização de soluções diluídas de  $\text{HNO}_3$  para decomposição de amostras biológicas (leite em pó integral e fígado bovino) por via úmida assistida por radiação micro-ondas. Foi avaliada a possibilidade de utilização de  $\text{O}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}_2$  como reagentes auxiliares de decomposição empregando  $\text{HNO}_3$  diluído. Desta forma, este estudo foi dividido em três partes: (i) investigação da utilização do frasco de decomposição com pressão de  $\text{O}_2$  para promover a reação de regeneração do  $\text{HNO}_3$ ; (ii) estudo da influência exercida pela radiação micro-ondas sobre o ciclo de regeneração do  $\text{HNO}_3$ ; e, (iii) avaliação de radiação UV *in situ* para a decomposição de amostras com o emprego de  $\text{HNO}_3$  diluído com a utilização de  $\text{O}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}_2$  como reagentes auxiliares. A eficiência de decomposição, para todas as variáveis estudadas, foi avaliada pela determinação do teor de carbono residual (RCC) nos digeridos obtidos em cada estudo. A determinação de metais nos digeridos foi feita por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) e por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS). Na primeira etapa, buscou-se avaliar a influência da presença de  $\text{O}_2$  sobre o mecanismo de regeneração, através de ensaios envolvendo a modificação da atmosfera interna do frasco de decomposição, com  $\text{O}_2$  e com Ar. Os resultados obtidos com a atmosfera modificada foram comparados com aqueles obtidos sem modificação, somente com o ar atmosférico no interior do frasco (sem pressurização com  $\text{O}_2$  ou com gás inerte antes da decomposição). Foi observado que a modificação da atmosfera, com adição de  $\text{O}_2$ , possibilitou a decomposição empregando soluções diluídas de  $\text{HNO}_3$ , com a mesma eficiência que a decomposição utilizando ácido concentrado. Além disso, também se investigou a possibilidade de utilização de  $\text{H}_2\text{O}_2$  como reagente auxiliar, o qual apresentou comportamento semelhante ao apresentado pelo  $\text{O}_2$ , resultando em uma decomposição eficiente da matéria orgânica e possibilitando a redução da concentração de  $\text{HNO}_3$ . Ainda, com o aumento da quantidade de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , assim como observado com a utilização de  $\text{O}_2$ , observou-se um aumento na acidez residual, o que foi interpretado como sendo um indício da participação de ambos os reagentes na regeneração do  $\text{HNO}_3$ . Em relação à influência exercida pela radiação micro-ondas sobre a regeneração do  $\text{HNO}_3$  foram feitos ensaios envolvendo: a passagem forçada de ar na parte externa do frasco de decomposição durante a etapa de aquecimento; a obtenção de imagens termográficas; e o estudo da interação da radiação micro-ondas com a fase gasosa do frasco de decomposição. Foi observado que, além do gradiente de temperatura existente no estágio inicial do aquecimento assistido por radiação micro-ondas, provavelmente a radiação micro-ondas exerce um efeito cinético sobre a reação de regeneração que ocorre em fase gasosa. Por fim, com a utilização de uma lâmpada de emissão de radiação UV para a decomposição de amido de batata, cloridrato de imipramina e leite em pó desnatado, foi observado que a incidência de radiação UV possibilita uma decomposição eficiente das amostras, mesmo sem a utilização de ácidos. Os resultados obtidos através do presente trabalho mostraram a viabilidade do emprego de soluções diluídas de  $\text{HNO}_3$  para a decomposição de amostras biológicas. Ainda, ao se compreender e explorar os aspectos relacionados às reações envolvidas durante a decomposição da amostra, com respeito ao processo de regeneração do  $\text{HNO}_3$ , foi possível trabalhar em condições cada vez mais brandas, com economia de reagentes e redução da quantidade de resíduos gerados, conforme preconizado nos princípios da química verde.

## ABSTRACT

---

In the present work it was investigated the possibility of using diluted  $\text{HNO}_3$  solutions for digestion of biological samples (milk powder and bovine liver) by microwave-assisted wet digestion. The possibility of use  $\text{O}_2$  and  $\text{H}_2\text{O}_2$  as auxiliary reagents for digestion using diluted  $\text{HNO}_3$ . In this purpose, this work was divided in three steps: (i) investigation of the use of digestion vessel with  $\text{O}_2$  pressure to promote the regeneration of  $\text{HNO}_3$  allowing to use diluted  $\text{HNO}_3$  solutions; (ii) study of the influence of microwave radiation in the  $\text{HNO}_3$  regeneration process; and, (iii) evaluation of the use of an UV radiation emission lamp for sample digestion using diluted  $\text{HNO}_3$  with  $\text{O}_2$  and  $\text{H}_2\text{O}_2$  as auxiliary reagents. Digestion efficiency, for all investigated parameters, was evaluated by the determination of residual carbon content (RCC) in final digests. Metals determination was performed by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES) and inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS).

In the first step, the influence of  $\text{O}_2$  in the regeneration process was studied, by modifying the inert atmosphere of digestion vessel with  $\text{O}_2$  and Ar. Results obtained with the modified atmosphere were compared with those obtained without modification, only with the atmospheric air inside the vessel (without pressurization with  $\text{O}_2$  or inert gas previous to digestion). It was observed that by changing the internal atmosphere, with the addition of  $\text{O}_2$ , it was possible to obtain the same digestion efficiency using diluted  $\text{HNO}_3$  solutions, in comparison with the efficiency obtained using concentrated acid. In addition, the possibility of using  $\text{H}_2\text{O}_2$  was also investigated. Results similar to those obtained using  $\text{O}_2$  pressure were obtained using  $\text{H}_2\text{O}_2$ , allowing an efficient digestion using diluted  $\text{HNO}_3$  solutions. For higher  $\text{H}_2\text{O}_2$  amounts, as well as for higher  $\text{O}_2$  pressure, residual acidity was higher, which was attributed to the participation of both reagents in the regeneration process of  $\text{HNO}_3$ . With regard to the influence of microwave radiation in the regeneration process of  $\text{HNO}_3$  different experiments were performed: the forced air ventilation through the external vessel walls during the heating program; thermographic images were obtained; and, the study of the interaction of microwave radiation with gaseous phase into the reaction vessel. Taking into account the results obtained from these experiments, it was observed that despite to the temperature gradient at the beginning of the heating program, probably, the microwave radiation can promote a kinetic effect on the regeneration process in the gaseous phase. Finally, an UV radiation emission lamp was used for digestion of potato starch, imipramine hydrochloride and milk powder. It was observed that UV radiation allowed high digestion efficiency, even without using acid, probably by promoting the formation of oxidizing species. The results obtained from this work showed the suitability of using diluted  $\text{HNO}_3$  solutions for digestion of biological samples. Moreover, by understanding and exploring the aspects related to the reactions which occur during digestion, concerning the regeneration process of  $\text{HNO}_3$ , it was possible to use less severe conditions, with the economy of reagents and reduction of residues, in agreement to the green chemistry recommendations.

# 1 INTRODUÇÃO

---

Os métodos de preparo utilizados para amostras de composição majoritariamente orgânica são principalmente baseados na: (i) decomposição por combustão, baseada na oxidação da matéria orgânica pela ação do oxigênio, resultando em uma reação fortemente exotérmica<sup>1</sup> e, (ii) decomposição por via úmida, onde a oxidação da matéria orgânica ocorre pela utilização de um reagente, normalmente um ácido oxidante, associado a uma fonte de energia.<sup>2</sup>

O método de decomposição de amostras, por via úmida, apresenta algumas vantagens em relação ao método de combustão. Dentre elas se destacar a temperatura em que a amostra é decomposta, que por ser relativamente mais baixa do que a empregada nos métodos por combustão, reduz o risco de perdas de espécies voláteis quando a decomposição é feita em sistemas abertos.<sup>3</sup> No entanto, a eficiência de decomposição pode ser comprometida, dependendo da mistura de reagentes utilizada e das condições operacionais, tais como a temperatura máxima de trabalho e a pressão tolerada pelo frasco reacional. Desta forma, resíduos orgânicos que não são totalmente oxidados podem permanecer em solução, o que pode interferir na etapa de determinação dos analitos empregando algumas das técnicas analíticas normalmente utilizadas, que preferencialmente utilizam soluções aquosas para calibração, tais como a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) e a espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS).<sup>4-7</sup>

Neste contexto, o aquecimento promovido pela radiação micro-ondas surgiu como uma ferramenta diferencial para a evolução dos métodos de preparo de amostras.<sup>8</sup> No entanto, a utilização desta fonte de energia para o desenvolvimento de procedimentos de preparo de amostra requer o conhecimento das características

---

<sup>1</sup> Hoenig, M. *in*: Z. Mester, R. Sturgeon, *Sample Preparation for Trace Element Analysis*, Elsevier, pp. 235-254.

<sup>2</sup> Matusiewicz, H. *in*: Z. Mester, R. Sturgeon, *Sample Preparation for Trace Element Analysis*, Elsevier, 2003, pp. 193-233.

<sup>3</sup> Flores, E. M. M., *et al.*, *in*: F. J. Krug, *Métodos de preparo de amostras*, CENA/USP, 2010, pp. 252-275.

<sup>4</sup> Wurfels, M., Jackwerth, E., Stoeppler, M., *Analytica Chimica Acta* 226 (1989) 1-16.

<sup>5</sup> Wurfels, M., Jackwerth, E., Stoeppler, M., *Analytica Chimica Acta* 226 (1989) 17-30.

<sup>6</sup> Wurfels, M., Jackwerth, E., Stoeppler, M., *Analytica Chimica Acta* 226 (1989) 31-41.

<sup>7</sup> Taylor, A. *et al.*, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 26 (2011) 653-692.

<sup>8</sup> Richter, R. C., Link, D., Kingston, H. M. S., *Analytical Chemistry* 73 (2001) 30 A-37 A.

de interação deste tipo de radiação eletromagnética com a matéria.<sup>9</sup> Como resultado destes estudos, novos sistemas foram desenvolvidos, com frascos resistentes a elevadas temperaturas e pressões, assim como instrumentos com monitoramento e controle de temperatura e pressão durante os procedimentos de decomposição.<sup>8</sup>

A soma destes aspectos foi determinante para que o método de decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas fosse considerado o estado da arte na área de preparo de amostras.<sup>2,10</sup> A possibilidade de trabalhar em condições de temperatura e pressão relativamente elevadas potencializa a ação oxidante dos reagentes ácidos empregados. Ademais, o desenvolvimento de métodos de decomposição em sistemas fechados permite que quantidades menores de reagentes sejam empregadas, minimizando a geração de resíduos e evitando diluições excessivas dos digeridos finais.<sup>11</sup>

Com respeito à decomposição de amostras de matriz orgânica, o ácido nítrico é um dos reagentes mais comumente utilizados. Além de ser um forte agente oxidante, a reação da matéria orgânica com ácido nítrico não resulta em espécies interferentes ou instáveis para as técnicas espectroanalíticas comumente empregadas para a determinação de espécies inorgânicas.<sup>10</sup> Outras vantagens do uso do ácido nítrico incluem a possibilidade de obtenção deste ácido em grau relativamente alto de pureza em relação aos outros ácidos inorgânicos e a facilidade de purificação empregando sistemas de sub-ebulição (*subboiling*), tendo em vista a temperatura de ebulição do azeótropo com a água que é de 121 °C.

No entanto, mesmo com todo o avanço obtido, grandes quantidades de reagentes concentrados ainda precisavam ser comumente utilizadas para que se obtivesse uma elevada eficiência de decomposição, em desacordo com os preceitos da química verde.<sup>12</sup> Neste sentido, nos últimos anos diversos métodos alternativos de preparo de amostras por via úmida foram desenvolvidos para a oxidação da matéria orgânica com menores quantidades de reagentes e sem comprometer a eficiência de decomposição. Dentre estas metodologias, a utilização de ácido nítrico diluído mostrou-se bastante promissora, uma vez que agrega as características de utilização de menores quantidades de reagentes quando a decomposição é

<sup>9</sup> Zlotorzynski, A. *Critical Reviews in Analytical Chemistry* 25 (1995) 43-76.

<sup>10</sup> Matusiewicz, H. *in*: H. M. Kingston, S. J. Haswell, *Microwave-enhanced chemistry*. ACS, 1997, pp. 353-369.

<sup>11</sup> Kingston, H. M., Jassie, L. B. *Analytical Chemistry* 58 (1986) 2534-2541.

<sup>12</sup> Rocha, F. R. P., Teixeira, L. S. G., Nóbrega, J. A., *Spectroscopy Letters* 42 (2009) 418-429.

procedida em sistema fechado, aproveitando as reações de regeneração do ácido nítrico que ocorrem dentro do frasco reacional. Estas reações possibilitam que a ação oxidante do ácido nítrico seja potencializada, com a única condição de que exista uma quantidade mínima de oxigênio dentro do frasco reacional.<sup>13-15</sup> Ademais, os métodos desenvolvidos com aquecimento micro-ondas apresentam uma diferença de temperatura entre a solução e a fase gasosa. Este gradiente de temperatura contribui para condensação dos produtos da reação de regeneração do ácido nítrico e reabsorção na fase aquosa.<sup>16</sup>

Com base nos trabalhos relatados na literatura, onde é evidenciado que soluções diluídas de ácido nítrico podem ser utilizadas de forma eficiente para decomposição de amostras de matriz orgânica, neste estudo buscou-se:

- (i) avaliar a utilização de  $O_2$  e  $H_2O_2$  como reagentes auxiliares para a decomposição de leite em pó integral e fígado bovino por via úmida assistida por radiação micro-ondas com  $HNO_3$  diluído.
- (ii) investigar a influência do aquecimento assistido por radiação micro-ondas para a decomposição por via úmida com  $HNO_3$  diluído, buscando a avaliação da influência do gradiente de temperatura sobre as reações de decomposição com solução diluída de  $HNO_3$ , bem como a influência exercida pela interação da radiação micro-ondas com a fase gasosa no interior do frasco reacional;
- (iii) a viabilidade de utilização de lâmpadas de emissão de radiação UV, com emprego de  $H_2O_2$  e  $O_2$  como reagentes auxiliares, para a decomposição de amido de batata, cloridrato de imipramina e leite em pó desnatado por via úmida assistida por radiação micro-ondas em sistema fechado com solução diluída de  $HNO_3$ .

A avaliação da eficiência de decomposição após cada etapa de otimização foi feita pela determinação do teor de RCC presente nas amostras após a decomposição. A acidez residual, determinada nos digeridos finais, foi utilizada

<sup>13</sup> Trevizan, L. C. *et al.*, in: M. A. Z. Arruda, Trends in sample preparation, Nova Science Publishers, 2007, pp. 29-52.

<sup>14</sup> Nobrega, J. A., *et al.*, *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy* 57 (2002) 1855-1876.

<sup>15</sup> Gonzalez, M. H. *et al.*, *Talanta* 79 (2009) 396-401.

<sup>16</sup> Castro, J. T. *et al.*, *Talanta* 78 (2009) 1378-1382.

como parâmetro para avaliar a existência da reação de regeneração do ácido devido à presença de  $O_2$  na fase gasosa do frasco de decomposição. A determinação de metais nos materiais de referência certificados (CRM) de leite em pó, fígado e músculo bovino foi utilizada para verificar a exatidão do método proposto de decomposição de amostra.



## 2 REVISÃO DA LITERATURA

---

*A revisão bibliográfica está dividida em três partes principais. Na primeira parte, são abordados os aspectos gerais sobre os métodos de decomposição de amostras por via úmida. Na segunda parte são apresentados os principais aspectos relacionados à utilização da radiação micro-ondas como fonte de energia para decomposição por via úmida em sistemas fechados. Na terceira parte é feita uma abordagem sobre a utilização de soluções diluídas de ácido nítrico para o preparo de amostras por via úmida assistida por radiação micro-ondas.*

*Cabe destacar que a ênfase deste trabalho está voltada para a utilização de soluções diluídas de ácido nítrico em métodos que envolvam a decomposição da amostra. Apesar de o emprego de soluções diluídas de ácido nítrico para procedimentos de extração ser amplamente encontrado na literatura, estes não serão contemplados no decorrer desta revisão.*

## 2.1 Métodos de decomposição de amostras

A evolução das técnicas analíticas possibilitou a determinação de elementos em concentrações cada vez mais baixas e em matrizes mais complexas. Contudo, este avanço tecnológico exigiu o aprimoramento dos procedimentos de decomposição comumente utilizados.<sup>17</sup> A forma de tratamento pelo qual as amostras são decompostas recebe nomes distintos na literatura, tais como abertura, digestão, mineralização, pré-tratamento, solubilização e decomposição.<sup>18</sup> Estes termos são empregados como sinônimos na literatura, uma vez que a amostra é solubilizada como resultado de uma reação química. Porém, como forma de padronização, o termo decomposição será preferencialmente utilizado neste trabalho. Considerando os métodos de decomposição normalmente utilizados para a decomposição de amostras orgânicas, reações químicas e instrumentação características podem ser utilizadas, fazendo com que estes métodos sejam classificados, principalmente, em dois grupos: a decomposição por via úmida e a decomposição por combustão.<sup>19-21</sup>

A decomposição por combustão é, normalmente, utilizada para amostras de matriz orgânica. O princípio está baseado na reação de oxidação da matéria orgânica (reação fortemente exotérmica) pela ação do oxigênio presente na atmosfera. Como resultado, os componentes da matriz são convertidos a CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O. A combustão pode ser feita, principalmente, de três formas: i) em sistemas abertos, envolvendo a via seca em forno tipo mufla, a decomposição em baixa temperatura com plasma de oxigênio (oxigênio radicalar e oxigênio excitado), o sistema de combustão de Wickbold e a combustão iniciada por micro-ondas focalizadas; ii) em sistema dinâmico (Trace-O-Mat<sup>®</sup>); e, iii) em sistema fechado, como a bomba de combustão, o frasco de combustão de Schöniger e a combustão iniciada por micro-ondas (MIC).<sup>22-28</sup> Apesar dos diferentes tipos de técnicas de preparo de amostras por combustão também utilizarem reagentes diluídos, esta

<sup>17</sup> Kratochvil, B. *in*: Z. Mester, R. Sturgeon, *Sample Preparation for Trace Element Analysis*, Elsevier, 2003, pp. 1-21.

<sup>18</sup> Flores, E. M. M., Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1997, 156 p.

<sup>19</sup> Anderson, R. John Wiley & Sons, 1991, 632 p.

<sup>20</sup> Costa, A. C. S. *et al. in*: F. J. Krug, *Métodos de preparo de amostras*. CENA/USP, 2010, pp. 141-168.

<sup>21</sup> Tahan, J. E. *et al.*, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 8 (1993) 1005-1010.

<sup>22</sup> Magalhães, C. E. C. *et al.*, *in*: F. J. Krug, *Métodos de preparo de amostras*. CENA/USP, 2010, pp. 185-251.

<sup>23</sup> Flores, E. M. M. *et al.*, *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy* 62 (2007) 1051-1064.

<sup>24</sup> Mesko, M. F. *et al.*, *Analytical Chemistry* 82 (2010) 2155-2160.

<sup>25</sup> Flores, E. M. M. *et al.*, *Analytical Chemistry* 76 (2004) 3525-3529.

<sup>26</sup> Mesko, M. F. *et al.*, *Microchemical Journal* 82 (2006) 183-188.

<sup>27</sup> Souza, G. B. *et al.*, *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy* 57 (2002) 2195-2201.

<sup>28</sup> Narasaki, H., *Analytica Chimica Acta* 125 (1981) 187-191.

técnica não será contemplada nesta revisão, uma vez que não é o poder oxidante do ácido o responsável pela decomposição da amostra, e sim a reação direta com o oxigênio.

Não obstante a ampla utilização dos métodos acima citados para diversas amostras, a sequência desta revisão será voltada para o método de decomposição por via úmida, uma vez que é o foco deste estudo.

### 2.1.1 Decomposição de amostras orgânicas por via úmida

A decomposição por via úmida é utilizada para converter a amostra em uma forma adequada para que a espécie química de interesse seja determinada.<sup>29</sup> Pode ser feita através do fornecimento de energia (térmica, radiação ultravioleta, radiação micro-ondas, radiação infravermelho ou ultrassom)<sup>9, 31-36</sup> em combinação com o uso de um reagente químico (tais como ácidos, bases e peróxido de hidrogênio). A maioria dos métodos de decomposição utiliza a combinação de ácidos oxidantes (HNO<sub>3</sub>, HClO<sub>4</sub> etc.) e ácidos não oxidantes (HCl, HF, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, HClO<sub>4</sub> e HNO<sub>3</sub> diluído), bem como peróxido de hidrogênio, ou uma combinação de ambos, em sistema aberto ou fechado.<sup>2,36</sup> Normalmente, o ácido nítrico concentrado é o reagente oxidante mais utilizado para a decomposição da matéria orgânica. Seu uso apresenta algumas vantagens como: sua presença nos digeridos finais não representa interferência na maioria das técnicas instrumentais, além de ser obtido comercialmente com pureza relativamente adequada.<sup>2</sup> A utilização de ácido clorídrico e sulfúrico normalmente resulta em interferências pela formação de alguns cloretos e sulfatos pouco solúveis, além de interferências isobáricas para determinação por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS, do inglês *inductively coupled plasma mass spectrometry*). Misturas de ácido clorídrico e ácido fluorídrico são normalmente utilizadas para decomposição de matrizes inorgânicas. Alguns elementos são mais solúveis na forma de cloro-

<sup>29</sup> Bermejo-Barrera, P., Moreda-Pineiro, A., Bermejo-Barrera, A., *Talanta* 57 (2002) 969-984.

<sup>30</sup> Florian, D., Knapp, G., *Analytical Chemistry* 73 (2001) 1515-1520.

<sup>31</sup> Smith, F. E., Arsenault, E. A., *Talanta* 43 (1996) 1207-1268.

<sup>32</sup> Capote, F. P., Luque de Castro, M. D., *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 387 (2007) 249-257.

<sup>33</sup> Lima, E. C. *et al.*, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 15 (2000) 995-1000.

<sup>34</sup> Strenger, S., Hirner, A. V., *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* 371 (2001) 831-837.

<sup>35</sup> Cava-Montesinos, P. *et al.*, *Analytica Chimica Acta* 531 (2005) 111-123.

<sup>36</sup> Melaku, S. *et al.*, *Microchimica Acta* 142 (2003) 7-12.

complexos e, também, pela solubilização de silicatos pelo ácido fluorídrico. O peróxido de hidrogênio, assim como o ácido clorídrico, é normalmente utilizado em conjunto com o ácido nítrico para melhorar a eficiência de decomposição.<sup>2,37</sup> A utilização do peróxido de hidrogênio apresenta algumas vantagens, uma vez que é um forte oxidante e resulta na formação de água e oxigênio como produto de degradação.<sup>20</sup>

Uma das vantagens da decomposição por via úmida, com relação à maioria dos métodos de decomposição por combustão ou fusão, são as menores temperaturas empregadas, o que diminui o risco de perdas por volatilização.<sup>3</sup> Quando a decomposição por via úmida é feita com a utilização de frascos abertos, normalmente se faz necessária a utilização de ácidos inorgânicos fortes, como o HNO<sub>3</sub>, HClO<sub>4</sub> e o H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Ademais, os procedimentos feitos em sistemas abertos possibilitam a decomposição de elevadas massas de amostra (que podem ser de 10 g, aproximadamente),<sup>38</sup> uma vez que o sistema opera à pressão atmosférica e não há riscos de explosão por aumento súbito de pressão<sup>39</sup>. Além disso, apresentam a vantagem de possibilitar a adição de outros reagentes durante a etapa de decomposição.<sup>39</sup> No entanto, algumas amostras apresentam características que dificultam a decomposição com o emprego de um único ácido. Nestes casos, uma combinação de dois ou mais ácidos que, pela formação de intermediários reativos, pode acelerar a decomposição da amostra.<sup>3</sup> Em sistemas abertos alguns cuidados especiais devem ser observados, principalmente acerca do agente oxidante. Neste contexto, pode-se evidenciar que a eficiência oxidativa do HNO<sub>3</sub> é comprometida, uma vez que o azeótropo formado com a água (HNO<sub>3</sub> 65%) entra em ebulição a 121 °C. Neste caso, o HNO<sub>3</sub> dificilmente poderá ser utilizado sem a adição de outros reagentes, uma vez que mesmo em decomposições feitas a 180 °C, a degradação da matéria orgânica não é completa.<sup>4,40,41</sup> Por outro lado, o HClO<sub>4</sub> apresenta um elevado poder de oxidação, mas seu uso oferece risco de explosão pela formação de percloratos instáveis. A utilização do H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, por sua vez, seria a mais recomendada pela elevada temperatura de ebulição de seu azeótropo com a água (339 °C, 98%).<sup>3,39</sup>

<sup>37</sup> Maichin, B., Zischka, M., Knapp, G., *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 376 (2003) 715-720.

<sup>38</sup> Mermet, J. M. in: H. M. Kingston, S. J. Haswell, *Microwave-enhanced chemistry*. ACS, 1997, pp. 371-400.

<sup>39</sup> Garraud, H. *et al.*, *Atomic Spectroscopy* 17 (1996) 183-185.

<sup>40</sup> Pratt, K. W. *et al.*, *Analytical Chemistry* 60 (1988) 2024-2027.

<sup>41</sup> Daniel, M. M. *et al.*, *Atomic Spectroscopy* 19 (1998) 198-203.

A decomposição por via úmida em sistema fechado apresenta vantagens em relação aos procedimentos em sistemas abertos, tais como a presença de uma atmosfera isolada e hermeticamente fechada, o que reduz a possibilidade de contaminações e a perda de espécies voláteis.<sup>2,11,42,43</sup> O aumento da temperatura interna dos frascos causa uma elevação na pressão, resultando no aumento da temperatura de ebulição do reagente utilizado e do potencial de oxidação da matéria orgânica, o que resulta em uma maior eficiência de decomposição.<sup>11,32,43,44,44</sup> Porém, a elevação na pressão em sistemas fechados aumenta o risco de explosões, exigindo condições apropriadas de trabalho.<sup>2,10,44,45</sup>

Os procedimentos de decomposição são, normalmente, classificados em sistemas de baixa e alta pressão. Os sistemas considerados de baixa pressão (< 20 bar) podem atingir temperaturas em torno de 180 °C, enquanto em sistemas de alta pressão (> 70 bar) a temperatura pode exceder os 300 °C.<sup>2</sup> Quando a decomposição é feita sob baixa pressão, o politetrafluoretileno (PTFE) é, normalmente, o material mais utilizado nos frascos reacionais, o que permite a decomposição de amostras com temperaturas entre 160 e 200 °C.<sup>3</sup> No entanto, dependendo da natureza da amostra, nas temperaturas de trabalho dos sistemas que operam sob baixa pressão o HNO<sub>3</sub> não apresenta potencial oxidante para decompor totalmente a matéria orgânica.<sup>4</sup> Ademais, o tempo de aquecimento normalmente utilizado é superior a 3 h para sistemas com aquecimento convencional. O volume de HNO<sub>3</sub> normalmente utilizado é de 2 mL para 100 mg de amostra. A massa de amostra que pode ser decomposta neste tipo de sistema também é variável, uma vez que diferentes matrizes geram diferentes quantidades de gases formados durante a decomposição (CO<sub>2</sub> proveniente da amostra e NO/NO<sub>2</sub> proveniente do HNO<sub>3</sub>). Neste caso, para que a pressão não exceda 20 bar, são utilizadas massas de amostra de aproximadamente 120 a 300 mg (gordura e material botânico liofilizado, respectivamente).<sup>3</sup>

Para amostras consideradas resistentes à ação oxidante do HNO<sub>3</sub> em temperaturas de aproximadamente 180 °C, como proteínas e aminoácidos,<sup>4,5</sup> a decomposição sob alta pressão, com temperaturas de até 320 °C, é recomendada para a degradação total da matéria orgânica.<sup>42,45</sup> Nestas condições, após 2 h de

<sup>42</sup> Neas, E. D. *et al.*, in: H. M. Kingston, L. B. Jassie Introduction to microwave sample preparation. ACS, 1988, pp. 7-32.

<sup>43</sup> Jackwerth, E., *et al.*, in: M. Stoepler, Sampling and sample preparation. Springer-Verlag, 1997, pp. 142-154.

<sup>44</sup> Knapp, G. *et al.*, in: H. M. Kingston, S. J. Haswell, Microwave enhanced chemistry. ACS, 1997, pp. 423-451.

<sup>45</sup> Knapp, G., Maichin, B., Baumgartner, *Atomic Spectroscopy* 19 (1998) 220-222.

aquecimento, a eficiência de decomposição foi maior do que a obtida nos sistemas convencionais.<sup>42,44</sup> No entanto, um equipamento especial é utilizado para este tipo de procedimento. Como a temperatura é superior a 200 °C, os frascos de decomposição são de quartzo. Além disso, o tubo de quartzo é posicionado em uma câmara pressurizada com N<sub>2</sub>. Como a decomposição ocorre a 300 °C, a soma das pressões de vapor de ácido e gases resultantes da reação com a matéria orgânica pode chegar a 130 bar, esta pressão é equilibrada com pressão de N<sub>2</sub>, o que mantém os frascos de decomposição estáveis e protegidos de explosões.<sup>2</sup>

De maneira geral, a eficiência de decomposição da amostra será dependente do tipo de aquecimento utilizado, da utilização de sistemas abertos ou fechados de decomposição e do reagente empregado. Uma vez que os resultados que são apresentados neste estudo foram obtidos com a utilização de decomposição assistida por radiação micro-ondas em sistemas fechados com utilização de HNO<sub>3</sub>, este tipo de sistema de decomposição será discutido com mais detalhes ao longo do texto.

### 2.1.2 Eficiência de decomposição de amostras orgânicas com emprego de HNO<sub>3</sub>

A eficiência de um método de decomposição pode ser estimada pela determinação da quantidade de matéria orgânica remanescente na solução contendo a amostra, ao final do procedimento de decomposição. A esta quantidade de material orgânico, que não foi eficientemente oxidado, dá-se o nome de teor de carbono residual (RCC, do inglês *residual carbon content*).<sup>4,46,47</sup> A determinação do RCC pode ser feita com a utilização de diferentes técnicas analíticas, como a análise elementar<sup>15</sup> e a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado<sup>16,47,48</sup> (ICP OES, do inglês *inductively coupled plasma optical emission spectrometry*).

A eficiência de decomposição é dependente dos constituintes da matriz. Por esse motivo, para o desenvolvimento de métodos de preparo mais eficientes, deve-

<sup>46</sup> Krushevska, A. *et al.*, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 7 (1992) 845-850.

<sup>47</sup> Krushevska, A., *et al.*, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 7 (1992) 851-858.

<sup>48</sup> Araujo, G. C. L., *et al.*, *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy* 57 (2002) 2121-2132.

se considerar a reatividade do agente oxidante utilizado com cada tipo de composto presente na matriz da amostra. Desta forma, alguns estudos foram feitos para identificar os produtos residuais orgânicos da etapa de decomposição. Dentre as técnicas analíticas mais utilizadas para determinação das diferentes formas de compostos orgânicos provenientes do procedimento de decomposição, destacam-se a análise por voltametria,<sup>4,5,41,49</sup> a cromatografia a líquido com detector UV-Vis (LC-UV-Vis, do inglês *liquid chromatography UV-Vis detector*),<sup>15,41,50</sup> a cromatografia a gás com detector por ionização em chama (GC-FID, do inglês *gas chromatography flame ionization detector*),<sup>5</sup> e a espectrometria na região do infravermelho (IR, do inglês *infrared spectrometry*)<sup>50</sup> e a ressonância magnética nuclear (RMN, do inglês *nuclear magnetic resonance*).<sup>15</sup>

Com o intuito de identificar os resíduos de decomposição de amostras biológicas, um extenso trabalho foi desenvolvido por Würfels et al., e uma série de três artigos foi publicada no ano de 1989.<sup>4-6</sup> Neste estudo, os autores avaliaram a eficiência de decomposição de diferentes aminoácidos (fenilalanina, histidina, triptofano e metionina) e ácido linoleico (ácido graxo poliinsaturado) pela determinação coulométrica do RCC. A massa de cada amostra foi o equivalente a 90 mg de carbono. O procedimento de decomposição foi feito em frascos fechados de PTFE (35 mL, 25 atm) aquecidos em bloco de alumínio a 180 °C (3 h), com 2 mL de HNO<sub>3</sub> concentrado (69%). No primeiro artigo da série,<sup>4</sup> foi observado que certos grupos de substâncias (carboidratos, ácidos graxos saturados, alcanos, entre outros) são quase completamente degradados em decomposições em sistema fechado com emprego de HNO<sub>3</sub> concentrado. No entanto, utilizando as mesmas condições experimentais o mesmo comportamento não foi observado para os ácidos graxos poliinsaturados. Adicionalmente, outros compostos também não são completamente degradados, tais como: ácido nicotínico (RCC = 95%) e derivados; ácido benzóico (RCC = 72%); betaína (RCC = 81%); fenilalanina (RCC = 57%), metionina (RCC = 10%), triptofano (RCC = 12%), histidina (RCC = 31%) e ácido linolênico (RCC = 11%). Celulose desoxirribose, e alguns carboidratos, são totalmente decompostos a 180 °C (3 h). O que chamou a atenção dos autores foi o comportamento apresentado pelas bases nitrogenadas. Enquanto a citosina e a uracila não foram completamente degradadas, os seus correspondentes nucleosídeos (citidina e uridina, compostos de bases nitrogenadas ligadas a

<sup>49</sup> Reid, H. J., Greenfield, S., Edmonds, T. E., *Analyst* 120 (1995) 1543-1548.

açúcares na forma de riboses) foram completamente decompostos. Após a decomposição das bases nitrogenadas, não foi observada a formação de  $\text{NO}_2$ , enquanto que após a decomposição das bases nitrogenadas ligadas as pentoses (assim como carboidratos puros), foi observada uma substancial formação de  $\text{NO}_2$ . Desta forma, foi presumido que a presença de  $\text{NO}_2$  tem um papel importante na decomposição destas substâncias. Os autores relacionaram este comportamento à quantidade insuficiente de  $\text{NO}_2$  para decompor as bases nitrogenadas. Ademais, no caso dos compostos com fração de açúcar ligada às bases nitrogenadas, observou-se uma degradação completa após a hidrólise ácida com a formação de  $\text{NO}_2$ , o que foi suficiente para também degradar as bases nitrogenadas. No caso de amostras semelhantes a estas, os autores observaram que não era suficiente aumentar somente a quantidade de ácido utilizado para o procedimento de decomposição. Porém, foi possível melhorar a eficiência de decomposição pela adição de glicose, o que levaria à formação de mais espécies  $\text{NO}_2$  dentro do frasco reacional.

Com respeito à reatividade das substâncias,<sup>4</sup> o primeiro passo para a decomposição de materiais biológicos seria uma hidrólise ácida que afetaria uma das seguintes ligações químicas: ligações peptídicas em proteínas, ligações glicosídicas em carboidratos, nucleotídeos, entre outros. Se os produtos da quebra das ligações acima mencionadas reagem quantitativamente durante a decomposição sob pressão, então a oxidação da matéria orgânica será completa. No entanto, se algum dos produtos destas reações não reagir quantitativamente, este produto não será eficientemente oxidado e, ainda, será o fator determinante para os valores de RCC nos digeridos finais. Os autores também observaram que a diminuição da concentração de  $\text{NO}_2$  na fase líquida, associada com a queda na pressão total do sistema, pode ser responsável pela baixa eficiência de decomposição. No entanto, o aumento na eficiência de decomposição não pode ser obtido pelo aumento na pressão, mas pode ser obtido pelo aumento na concentração de  $\text{NO}_2$ . Ademais, a decomposição de estruturas aromáticas pode ser facilitada pela presença de substâncias que facilitam o ataque eletrofílico (como a presença de substituintes  $-\text{OH}$  no anel aromático). Como exemplo, pode-se citar a decomposição completa da diidroxifenilalanina, enquanto a fenilalanina não é completamente degradada, além dos três isômeros do ácido hidroxibenzóico que são completamente oxidados, enquanto que o ácido benzóico não é completamente degradado.



No segundo artigo da série publicada por Würfels et al.,<sup>5</sup> os autores identificaram os produtos da reação de oxidação da matéria orgânica com HNO<sub>3</sub> com a utilização das técnicas analíticas de espectrometria IR, RMN e GC-FID. Dentre as diferentes substâncias que foram submetidas ao ataque ácido (HNO<sub>3</sub>, 180 °C) e resultaram em compostos estáveis, podem ser destacadas: a histidina, que leva à formação de ácido imidazol-4-carboxílico; o ácido linolênico, que resulta na formação do ácido ciclopropano-1,2-dicarboxílico; o triptofano, que forma uma mistura de compostos aromáticos; a fenilalanina, que resulta em uma mistura de ácidos nitrobenzóicos; a metionina que é oxidada a ácido metasulfônico, a cisteína e a cistina, que formam a ácido sulfúrico; e a fração que contém fósforo que é levada a fosfatos.

No terceiro artigo da série,<sup>6</sup> os autores investigaram as interferências causadas pelos produtos não oxidados da matéria orgânica sobre a determinação de Cd, Cu, Pb e Zn por voltametria. Foram observadas interferências na obtenção dos voltamogramas devido à redução dos ácidos nitrobenzóicos (formação de amina) no eletrodo de mercúrio. Além disso, foi verificado que a oxidação do triptofano, também promovida pelo ácido nitrobenzóico, resulta em um aumento de corrente pela deposição de hidrogênio no potencial utilizado para a oxidação do Zn. Desta forma, a determinação de metais por voltametria inversa pode ser feita sem interferências quando a decomposição das amostras resultar em digeridos finais sem a presença de compostos orgânicos como a fenilalanina e o triptofano.

Adicionalmente, outro estudo foi feito para avaliar a eficiência da temperatura sobre a eficiência de decomposição de amostras de folhas de pessegueiro e carvão, utilizando um sistema que opera sob elevadas pressões.<sup>42</sup> A decomposição da amostra (300 mg) foi feita com a utilização de 5 mL de HNO<sub>3</sub> concentrado. Os frascos reacionais foram alocados no interior da autoclave que, após o seu fechamento, foi pressurizada a 100 bar com N<sub>2</sub> (pressão externa ao frasco contendo a amostra). A avaliação da eficiência de decomposição foi feita com temperaturas de 180 até 300 °C, aumentada em intervalos de 10 °C. Após uma rampa de aquecimento lenta de 2,5 h, a amostra foi mantida sob aquecimento por mais de 1 h (na temperatura em avaliação) e os digeridos finais foram analisados por LC-UV-Vis. Para a amostra de folhas de pessegueiro, os autores observaram que os isômeros do ácido nitrobenzóico (*o*-, *m*- e *p*-substituídos) são os compostos residuais dominantes no procedimento de decomposição com temperaturas de até

220 °C. Na faixa de temperatura de decomposição de 230 a 250 °C, picos cromatográficos adicionais foram obtidos. Praticamente, nenhum sinal de resíduo orgânico foi obtido empregando a temperatura de decomposição de 270 °C, exceto por um único componente que permaneceu inclusive após tratamento à temperaturas da ordem de 300 °C. Para a amostra de carvão, que é caracterizada por ser uma amostra bem mais complexa que a anteriormente descrita, a maioria dos compostos residuais de carbono foram completamente degradados em temperaturas de até 260 °C. Com temperaturas de 300 °C, somente um discreto sinal cromatográfico foi observado após a decomposição da amostra. Como esperado, os autores concluíram que a eficiência de decomposição de ambas as amostras aumentou com o aumento da temperatura. Ademais, a etapa de determinação dos metais (Al, Ba, Ca, Fe, Mg, Mn, Na, Ni, P, K, S e Sr) por ICP OES não foi influenciada pelas diferentes temperaturas utilizadas durante a etapa de decomposição (recuperações quantitativas).

Outros estudos foram feitos referentes aos resíduos orgânicos provenientes da etapa de preparo de amostra, assim como algumas condições que melhorassem a eficiência de decomposição de diferentes amostras.<sup>11,15,41,50</sup> No entanto, como estes trabalhos foram feitos com aquecimento por incidência de radiação micro-ondas, a sua discussão será feita ao longo deste texto, quando a decomposição com aquecimento micro-ondas será tratada com maiores detalhes.

### **2.1.3 Procedimentos alternativos de decomposição por via úmida**

O método de decomposição por via úmida pode apresentar quase 100% de eficiência para decomposição de tecidos biológicos quando efetuado em condições extremas de temperatura e pressão (320 °C e 130 bar, respectivamente). No entanto, muitos estudos têm sido feitos empregando condições mais brandas. Podem ser destacados os métodos que empregam menores quantidades de reagentes e, por consequência, resultam em minimização do risco de contaminação com menores valores de brancos analíticos, menores quantidades de efluentes gerados, o que está de acordo com os aspectos preconizados pela química verde; tudo isso sem comprometer a eficiência de oxidação da matéria orgânica. Desta

forma, surgiram procedimentos de preparo de amostra empregando a decomposição por via úmida, dentre elas a decomposição em fase vapor, a adição de amostra sobre reagentes pré-aquecidos e a decomposição assistida por radiação UV.

### 2.1.3.1 Digestão ácida em fase vapor

A digestão em fase vapor consiste na oxidação da matéria orgânica pelo vapor ácido gerado durante a etapa de aquecimento. Este vapor é condensado na parte superior do frasco reacional e parcialmente coletado por micro-frascos de PTFE que contêm a amostra,<sup>50</sup> resultando na minimização do risco de contaminação e reduzindo os valores dos brancos analíticos.<sup>52-54</sup> Um procedimento de decomposição em fase vapor foi proposto para determinação de Ba, Ca, Cu, Cs, Fe, K, Li, Mg, Mn, Na, Rb e Sr por espectrometria de emissão atômica com chama (F AES, do inglês *flame atomic emission spectrometry*) em materiais de referência certificado (CRM, do inglês *certified reference material*) de fígado bovino (NBS SRM 1577 *bovine liver*), cabelo humano (NIES CRM-5 *human hair*) e celulose (IAEA V-9 *cotton cellulose*).<sup>54</sup> As amostras (100 mg) foram transferidas para micro-frascos de PTFE e posicionadas no interior do frasco de reação de PTFE fechado (25 mL), contendo HNO<sub>3</sub>. O sistema foi aquecido a 130 °C por 3 h. Após o resfriamento do sistema, a amostra decomposta foi solubilizada com 2 mL de água purificada. O procedimento apresentou como vantagem os baixos valores para os brancos analíticos. O procedimento todo demorou 4,5 h, incluindo o tempo de resfriamento.

Os baixos valores de branco analítico obtidos com a decomposição em fase vapor foram associados à rapidez da digestão assistida por radiação micro-ondas, em um trabalho para decomposição de tecido biológico (TORT-1, *lobster hepatopancreas*) somente com HNO<sub>3</sub> e sedimento marinho (MESS-1, *marine sediment*) com mistura de HNO<sub>3</sub> e HF.<sup>55</sup> A decomposição da amostra foi feita em micro-frascos de PTFE, alocados no interior de um frasco de decomposição de PFA de 100 mL (250 °C, 13,6 bar), com aquecimento com radiação micro-ondas. Cerca

<sup>50</sup> Nóbrega, J. A. *et al.*, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 57 (2002) 1855-1876.

<sup>51</sup> Amarasiwardena, D. *et al.*, *Analyst* 119 (1994) 1017-1021.

<sup>52</sup> Araújo, G. C. L. *et al.*, *Microchimica Acta* 144 (2004) 81-85.

<sup>53</sup> Araujo, G. C. L., Nogueira, A. R. A., Nóbrega, J. A., *Analyst* 125 (2000) 1861-1864.

<sup>54</sup> Matusiewicz, H., *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 4 (1989) 265-269.

<sup>55</sup> Matusiewicz, H., Sturgeon, R. E., Berman, S. S., *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 6 (1991) 283-287.

de 250 mg de amostra, colocados dentro dos micro-frascos, foram decompostas com 6 mL de HNO<sub>3</sub> (material biológico) e uma mistura de 1 mL de HNO<sub>3</sub> e 5 mL de HF (sedimento marinho). As amostras foram aquecidas até que o sistema atingisse a pressão de 13 bar. O tempo de aquecimento para material biológico e sedimento marinho foi de 45 e 90 min, respectivamente. A eficiência de decomposição do material biológico foi superior a 97% (RCC < 3%).

Em outro trabalho, a decomposição em fase vapor para fígado bovino foi feita com aquecimento com micro-ondas em sistema aberto (forno de micro-ondas focalizado).<sup>56</sup> Neste estudo, até três micro-frascos de PTFE (4 mL) foram alocados no interior do frasco de decomposição. Os autores avaliaram o tempo de exposição da amostra ao vapor ácido (15 a 25 min), a massa de amostra (50 a 90 mg) e o tamanho de partícula (entre 44 e 149 µm). A decomposição do fígado bovino (50 a 90 mg) foi feita com uma mistura de 15 mL de HNO<sub>3</sub> e 3 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> aquecidos a 120 °C (25 min). A amostra, previamente à exposição do vapor ácido, era misturada com 0,1 a 0,2 mL de NaClO e de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30%, m/m). Após a decomposição da amostra, Al, Ca, Cu, Fe, Mg, Mn e Zn foram determinados por ICP OES.

### 2.1.3.2 Adição de amostra sobre reagentes pré-aquecidos

A redução da concentração ácida utilizada para decomposição da matéria orgânica foi feita com uma modificação do procedimento convencional. Neste método, a amostra é gradualmente adicionada sobre o ácido concentrado, previamente aquecido.<sup>51</sup> Neste procedimento é possível decompor grandes quantidades de amostra com relativamente pequeno volume de ácido (< 5 mL). A decomposição ocorre em meio ácido concentrado e cada alíquota de amostra é previamente decomposta antes que a próxima alíquota seja adicionada. Neste contexto, leite bovino foi decomposto com adição da amostra em pequenas alíquotas sobre reagentes pré-aquecidos.<sup>57</sup> Um forno de micro-ondas com radiação focalizada foi utilizado para aquecer a mistura de reagentes concentrados (105 °C, 3 mL de HNO<sub>3</sub> e 1 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), sobre o qual a amostra foi adicionada. A adição da amostra foi feita em 10 alíquotas de 0,5 mL durante 5 min. Com este procedimento,

<sup>56</sup> Trevisan, L. C., Nogueira, A. R. A., Nóbrega, J. A., *Talanta* 61 (2003) 81-86.

<sup>57</sup> Santos, D. M., *et al.*, *Talanta* 65 (2005) 505-510.

foi possível obter melhor eficiência de decomposição em relação ao procedimento convencional (98 e 80%, respectivamente). O procedimento de adição de amostra sobre reagentes pré-aquecidos foi empregado para decomposição de leite em pó integral e desnatado para posterior determinação de Ba, Ca, Cu, K, Mg, Na, P e Zn. Os autores observaram que a melhor eficiência de decomposição observada para o procedimento proposto pode ser atribuída à reação instantânea promovida pelo contato entre a amostra e os reagentes previamente aquecidos. Ademais, como principais vantagens deste procedimento, foram elencados a maior eficiência de decomposição da amostra, o menor volume de reagentes necessários para oxidação da matéria orgânica e a possibilidade de utilizar digeridos com menores teores finais de ácido para a etapa de determinação de metais.

### 2.1.3.3 Digestão com lâmpadas de emissão de radiação UV

O processo de oxidação da matéria orgânica assistido por radiação UV (oxidação fotoquímica) representa uma alternativa para degradação de espécies orgânicas dissolvidas em amostra líquidas.<sup>59-63</sup> Pequenas quantidades de reagentes são necessárias, em comparação com os procedimentos convencionais de digestão por via úmida, o que evita a diluição da amostra após a decomposição, resultando em menores limites de detecção.<sup>2,31,63</sup> O mecanismo de decomposição assistido por radiação UV é caracterizado pela formação de radicais OH na água ou no H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, que normalmente é utilizado neste tipo de método. Estes radicais reativos são capazes de oxidar a matéria orgânica a CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O.<sup>2, 64-66</sup> No entanto, como a maioria das aplicações emprega sistemas abertos que operam a pressão atmosférica e trabalham a baixas temperaturas (65 a 90 °C) para prevenir perda de espécies voláteis, o método demanda tempo até que uma boa eficiência de decomposição seja obtida. Ademais, dependendo da quantidade inicial de carbono presente na amostra, o procedimento pode ser demorado.<sup>2,64,65</sup>

<sup>58</sup> Achterberg, E. P. *et al.*, *Analytica Chimica Acta* 440 (2001) 27-36.

<sup>59</sup> Weinberg, H. S., Cook, S. J., *Analytical Chemistry* 74 (2002) 6055-6063.

<sup>60</sup> Oms, M. T., Cerda, A., Cerda, V., *Talanta* 59 (2003) 319-326.

<sup>61</sup> Limbeck, A., *Analytica Chimica Acta* 575 (2006) 114-119.

<sup>62</sup> Leopold, K., Zierhut, A., Huber, J., *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 403 (2012) 2419-2428.

<sup>63</sup> Golimowski, J., Golimowska, K., *Analytica Chimica Acta* 325 (1996) 111-133.

<sup>64</sup> Bendicho, C., *et al.*, *Trends in Analytical Chemistry* 29 (2010) 681-691.

<sup>65</sup> Gil, S., Lavilla, I., Bendicho, C., *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 22 (2007) 569-572.

A decomposição assistida por radiação UV foi aplicada para amostras de farinha (arroz e trigo), cogumelo e beterraba para determinação de Se por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS, do inglês *graphite furnace atomic absorption spectrometry*).<sup>66</sup> A decomposição assistida por radiação UV foi feita em tubos de quartzo equipados com lâmpada de 500 W de Hg de alta pressão (254 nm). Aproximadamente 250 mg de amostra foram colocadas dentro do frasco reacional com 7 mL de HNO<sub>3</sub> (65% m/m) e 0,2 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30% m/m). A mistura reacional foi irradiada com UV por 1 h, com a temperatura controlada abaixo de 65 °C. Durante a etapa de aquecimento, alíquotas de 0,1 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foram adicionadas a cada 15 min até o final do procedimento de decomposição. A obtenção do digerido final incolor foi obtida com a adição de 7 mL de HNO<sub>3</sub> e 0,8 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Os autores consideraram o método de decomposição rápido e eficiente, resultando em condições apropriadas para determinação de Se por GF AAS. No entanto, não foi feita a determinação de RCC nos digeridos finais e a eficiência de decomposição foi feita visualmente e pela determinação de Se em CRM (NIST 8450 *Whole egg powder*, IAEA 350 *Tuna fish* e NIST 1566a *Oyster tissue*).

O método de decomposição assistida por radiação UV foi combinado com a decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas, em um trabalho desenvolvido por Florian e Knapp.<sup>31</sup> Neste trabalho, os autores desenvolveram uma lâmpada que pode ser imersa dentro do frasco reacional e a emissão de radiação UV ocorre por meio da interação da radiação micro-ondas com a lâmpada. Esta lâmpada, denominada lâmpada de descarga sem eletrodos, possui uma lâmina de Mo conectada a uma antena de W. A radiação micro-ondas é absorvida pelo Mo, transmitida para a antena de W que libera uma descarga elétrica no interior do bulbo da lâmpada preenchida com vapor de Cd a baixa pressão (4 mbar). Mercúrio, Zn, Kr e Xe também foram avaliados como fontes de emissão no bulbo da lâmpada. Com este sistema, foi possível decompor 75 mg de amostra leite em pó desnatado (dissolvido em 7 mL de água) com 1 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30% m/m), 0,05 mL de HNO<sub>3</sub> (69,5% m/m) e HCl (37% m/m). O sistema reacional foi aquecido por 30 min (250 a 280 °C), sob pressão de 72 bar. Após a decomposição, foi feita a determinação de Ca, Cu, Fe e Pb por ICP OES. Os autores destacaram a elevada quantidade de C inicialmente presente na amostra (até 7500 mg L<sup>-1</sup>), que foi eficientemente

<sup>66</sup> Manjusha, R., Dash, K., Karunasagar, D., *Food Chemistry* 105 (2007) 260-265.

decomposta pelo método proposto (RCC = 0,13%), em relação à quantidade de C passível de decomposição pelos métodos que utilizavam a decomposição UV em sistemas aberto, sob baixa temperatura (de 100 a 300 mg de C L<sup>-1</sup>).

Entretanto, apesar de todos os métodos de preparo de amostra enunciados, o fato que é considerado como o responsável pelo maior avanço recente na área de preparo de amostra é a introdução da tecnologia baseada no aquecimento assistido por radiação micro-ondas.<sup>2,8,67</sup> Esta forma de aquecimento será discutida de forma mais detalhada na sequência deste texto.

## 2.2 Utilização de radiação micro-ondas para decomposição por via úmida

A utilização da radiação micro-ondas como fonte de energia para a decomposição de amostras biológicas tem sido amplamente investigada e discutida na literatura.<sup>11,15,16,40,41,46,49,50</sup> O uso da radiação micro-ondas como fonte de energia em sistemas fechados de decomposição, quando efetuado em equipamentos adequados para este fim, apresenta vantagens em relação ao uso de aquecimento convencional. Dentre elas, podem ser destacadas a diminuição no tempo de decomposição e a aplicabilidade para materiais de difícil decomposição, como amostras geológicas, sedimentos, metalúrgicas, polímeros, dentre outras.<sup>2,9,68</sup>

Uma das grandes vantagens da utilização da radiação micro-ondas para os procedimentos de preparo de amostras é o rápido aquecimento. Esta forma de aquecimento, denominada aquecimento dielétrico, pode ser explicada como sendo resultado, principalmente, de dois mecanismos que ocorrem pela interação da onda eletromagnética com a matéria, tais como: (i) rotação dipolar, que é a orientação de dipolos elétricos do solvente pela onda eletromagnética; e (ii) condução iônica, que é a migração de íons dissolvidos em direção aos polos de carga oposta criada pela incidência da radiação.<sup>9</sup> Além disso, a radiação micro-ondas apresenta interação somente com determinados tipos de materiais, denominados absorventes.<sup>13</sup> Desta forma, é possível observar um aquecimento específico na solução que está sendo

<sup>67</sup> Michael, D. *et al.*, in: H. M. Kingston, S. J. Haswell, Microwave-enhanced chemistry. ACS, 1997, pp. 3-53.

<sup>68</sup> Ringmann, S., *et al.*, *Analytica Chimica Acta* 452 (2002) 207-215.

utilizada para o procedimento de decomposição da matéria orgânica, praticamente sem gradiente de temperatura na fase absorvente.

### 2.2.1 Fundamentos da radiação micro-ondas

A radiação micro-ondas é um tipo de energia radiante caracterizada como radiação eletromagnética, uma vez que se propaga senoidalmente no espaço e apresenta velocidade constante no vácuo (velocidade da luz,  $c = 2,997 \times 10^8 \text{ m s}^{-1}$ ).<sup>69</sup> Assim como as demais formas de radiação eletromagnética, a radiação micro-ondas pode ser descrita em termos de campo elétrico e campo magnético, diferindo das demais somente pelo comprimento de onda ( $\lambda$ ) e pela frequência ( $\nu$ ) de propagação.<sup>70</sup>

A energia micro-ondas é uma radiação classificada como não ionizante. A interação da componente elétrica da onda da radiação micro-ondas resulta em movimento molecular pela migração de íons e rotação de dipolos, porém não causa mudança na estrutura molecular. A energia micro-ondas está numa faixa de frequência de 300 a 300000 MHz. Quatro frequências são usadas para o aquecimento e secagem por radiação micro-ondas:  $915 \pm 25$ ,  $2450 \pm 13$ ,  $5800 \pm 75$  e  $22125 \pm 125$  MHz, as quais foram estabelecidas para o uso da indústria, ciência e medicina, pela *Federal Communications Commission* e conforme *International Radio Regulations*, adotado em Geneva, no ano de 1959. Destas frequências, a de 2450 MHz é a mais utilizada, além de ser a frequência usada em equipamentos domésticos.<sup>43</sup>

### 2.2.2 Interação da radiação micro-ondas com a matéria

O mecanismo de transferência de energia utilizado pela radiação micro-ondas é bem diferente dos três modos de transferência da energia térmica, considerados como convencionais: condução, convecção e radiação.<sup>9</sup>

<sup>69</sup> Atkins, P. W., de Paula, J. Físico-química - fundamentos, LTC, 2003, 488 p.

<sup>70</sup> Fundamentals of Physics Extended, 8th Ed, Wiley India Pvt. Limited, 2008, 1224 p.



O aquecimento pela ação da radiação micro-ondas pode ser descrito como a habilidade da componente elétrica da radiação eletromagnética, na frequência da radiação micro-ondas, em exercer força sobre partículas carregadas. Se uma partícula pode se mover em uma substância, uma corrente elétrica pode ser induzida (condução / migração iônica). Partículas com carga são movidas até determinadas regiões, até que seja alcançado um balanço de cargas, resultando em uma polarização dielétrica.<sup>43</sup>

O padrão de aquecimento pela radiação micro-ondas dependerá da capacidade de cada material em converter a energia eletromagnética absorvida em outra forma de energia como, por exemplo, em energia térmica. Esta capacidade pode ser mensurada pelo fator de dissipação ( $\tan \delta$ ) do material, que leva em consideração dois parâmetros relacionados com as propriedades físicas do material: (i) a constante dielétrica ( $\epsilon'$ ) é a medida da habilidade do material em obstruir/absorver a energia micro-ondas, quando esta passa através da substância; e, (ii) o fator de perda dielétrica ( $\epsilon''$ ) expressa a eficiência do material em dissipar a energia eletromagnética em outra forma de energia. A relação entre a constante dielétrica e o fator de dissipação pode ser vista na Equação 1. Quanto mais elevado for o valor do fator de dissipação ( $\tan \delta$ ), maior será a capacidade do material em absorver a radiação micro-ondas e dissipá-la na energia térmica.

$$\tan \delta = \frac{\epsilon''}{\epsilon'} \quad \text{Equação 1}$$

Desta forma, os materiais podem ser classificados de acordo com a sua interação com a radiação micro-ondas em grupos distintos que apresentam comportamentos diferentes. Um destes grupos de substâncias é denominado transparente (ex.: PTFE, quartzo, dentre outros materiais) e a penetração da radiação é considerada infinita. Estas substâncias possuem um baixo valor  $\tan \delta$  e a energia não é dissipada na forma de calor. Ademais, existem substâncias que não absorvem a radiação micro-ondas e estas são denominadas reflexivas (penetração da radiação no material é considerada zero). Os metais são um bom exemplo deste tipo de material. Por fim, o grupo de substâncias que apresenta um elevado valor de  $\tan \delta$  é denominado absorvente (água e outras substâncias polares). Estas substâncias, após entrarem em contato com a radiação micro-ondas, conseguem

dissipar a energia absorvida na forma de calor.<sup>13,43</sup> A dissipação da energia para este grupo de materiais pode ser explicada através de dois mecanismos: rotação dipolar e condução iônica.<sup>9,13,43</sup>

A condução iônica pode ser descrita como a migração condutiva de íons dissolvidos (migração eletroforética) quando um campo elétrico é aplicado. Esta migração iônica é um fluxo de corrente que resulta em perdas de energia (produção de calor) devido à resistência ao movimento que o íon encontra ao ser induzido pelo campo elétrico. Todos os íons em uma solução contribuem para o processo de condução, porém a fração da corrente transportada por alguma espécie é determinada por sua concentração relativa e sua inerente mobilidade no meio. Portanto, as perdas devido à migração iônica dependem do tamanho, carga e condutividade dos íons dissolvidos, além de estarem sujeitas ao efeito de interação iônica com moléculas do solvente.<sup>9,13,43</sup>

A rotação dipolar está relacionada com o alinhamento, devido a um campo elétrico, de moléculas em uma amostra que possuem momento dipolar permanente ou induzido. Quando o campo elétrico de radiação micro-ondas é imposto, ele alinha as moléculas polarizadas. Quando este campo diminui, a desordem termicamente induzida é restaurada. O campo de micro-ondas aplicado causa nas moléculas, em média, um maior tempo de permanência apontando para uma única direção, ao invés de apontar para outras direções. Associado com esta parcela de orientação pelo campo elétrico da radiação existe uma pequena parcela de ordem molecular imposta e, portanto, uma pequena parcela de energia é liberada na forma de calor. Quando o campo é removido, a desordem molecular retorna pela agitação térmica, em um tempo de relaxação ( $\tau$ ), e energia térmica é liberada ( $\epsilon''$ ). Em 2,45 GHz, o alinhamento das moléculas seguido por seu retorno a desordem ocorre  $4,9 \times 10^9$  vezes por segundo, resultando em um rápido aquecimento.<sup>9,13,43</sup>

Dentre os fatores que influenciam o aquecimento com radiação micro-ondas, alguns apresentam maior relevância e serão destacados neste texto. O primeiro deles é o tempo de relaxação dielétrica ( $\tau$ ), que é o tempo que as moléculas levam, na amostra, para retornar ao seu retorno à desordem termicamente induzida quando o campo elétrico que induz a polarização das moléculas é removido.<sup>43</sup> Este fator influencia diretamente o aquecimento promovido pelo mecanismo de rotação dipolar, uma vez que a o tempo de relaxação da amostra aumenta com o aumento da temperatura, diminuindo a capacidade do

material em absorver a radiação micro-ondas. Por esta razão, o tempo de relaxação dielétrico está relacionado com o fator de perda dielétrica ( $\epsilon''$ ). Outro fator que influencia a interação da radiação com a matéria é a profundidade de penetração. Este é um fator que pode ser determinante para que se obtenha um aquecimento sem gradiente de temperatura. Cada material apresentará uma profundidade de penetração única, dependente frequência da radiação micro-ondas e da constante dielétrica de cada material ( $\epsilon'$ ). Adicionalmente, o fator de dissipação ( $\tan \delta$ ) pode mudar com o aumento da temperatura. Em líquidos polares, que apresentam um elevado fator de dissipação, com o aumento da temperatura pode-se observar uma redução no fator de dissipação (promovida pelo aumento no tempo de relação e diminuição na profundidade de penetração), diminuindo a eficiência deste material em transformar a energia micro-ondas em energia térmica. Em sólidos e solventes orgânicos, o comportamento observado geralmente é o oposto e o aumento da temperatura resulta no aumento do fator de dissipação, o que pode resultar em pontos de super aquecimento denominados *hot spots*. Por fim, um dos fatores mais importantes para o aquecimento dipolar é a viscosidade da solução absorvedora. A viscosidade da amostra afeta sua habilidade de absorver energia micro-ondas ( $\tan \delta$ ) por seu efeito na rotação molecular. Conforme a temperatura da amostra aumenta e as interações moleculares forem se tornando menos energéticas, a mobilidade dos dipolos em se orientarem pela ação do campo elétrico da radiação micro-ondas aumenta. Este fator exerce influência o fator de dissipação somente no início do aquecimento dielétrico (até a viscosidade atingir valores que não afetem a mobilidade molecular). Os demais fatores (tempo de relaxação e profundidade de penetração) exercerão influência sobre o fator de dissipação somente quando a temperatura da amostra estiver mais elevada, no final do aquecimento dielétrico.<sup>9,43,71,72</sup>

A compreensão de tais fatores, aliada às condições apropriadas de operação, representaram um grande avanço na área de preparo de amostras. Considerando que a taxa de reação e a eficiência de decomposição com o emprego de soluções ácidas aumenta drasticamente com o aumento da temperatura, a utilização de uma fonte de energia que possibilita um rápido aquecimento, e praticamente sem gradiente de temperatura no seio da solução, fazem da energia

<sup>71</sup> Trevizan, L. C. *et al.*, in: M. A. Z. Arruda, Trends in sample preparation, Nova Science Publishers, 2007, pp. 29-52.

<sup>72</sup> Menezes, R. R., Souto, P. M., Kiminami, R. H. G. A., *Cerâmica* 53 (2007) 1-10.

micro-ondas uma ferramenta interessante para os procedimentos de decomposição. Esta melhora relativa obtida nos procedimentos de decomposição, juntamente com o aumento do potencial oxidante das soluções utilizadas para oxidação da matéria orgânica, foi determinante para a utilização de quantidades cada vez menores de ácidos concentrados, minimizando a geração de resíduos e diminuindo os valores dos brancos analíticos, sem comprometer a eficiência de decomposição da amostra.

### **2.2.3 Investigação dos produtos de decomposição pela oxidação da matéria orgânica com HNO<sub>3</sub> concentrado e aquecimento micro-ondas**

Os estudos de investigação dos produtos orgânicos residuais, provenientes da decomposição ineficiente da matéria orgânica, fornecem subsídios para o desenvolvimento de metodologias capazes de superar as limitações previamente encontradas. Desta forma, assim como nos estudos anteriormente discutidos para a decomposição de amostras com aquecimento convencional,<sup>4-6,42</sup> uma série de estudos foi feita para avaliar a eficiência de oxidação da matéria orgânica para métodos de decomposição por via úmida assistidos por radiação micro-ondas, em sistemas fechados.

Neste sentido, um estudo envolvendo a decomposição de materiais biológicos e botânicos serviu para demonstrar a viabilidade da utilização de frascos fechados de perfluoralcóxido (PFA) com aquecimento micro-ondas.<sup>11</sup> Conforme relatado pelos autores, quando a amostra orgânica é decomposta em sistema fechado a pressão pode aumentar de forma descontrolada. Em um primeiro momento, observa-se a produção de gases (como produto da reação) que elevam a pressão do sistema e, adicionalmente, a degradação da matéria orgânica resulta em um processo reacional exotérmico que aumenta a temperatura de todo o sistema reacional. No entanto, quando a decomposição foi feita com aquecimento micro-ondas com utilização de ácido nítrico, foi observado que este reagente é o maior responsável pelo aumento da temperatura no sistema reacional. Tal fato pode ser explicado pelo poder de absorção de radiação micro-ondas apresentado pelo ácido nítrico, que apresenta capacidade calorífica semelhante à apresentada pela água pura. Adicionalmente, a capacidade calorífica dos ácidos em geral diminui com o aumento de sua concentração. Desta forma, a utilização de soluções diluídas

aumenta o potencial de absorção de radiação micro-ondas. No entanto, a degradação da matéria orgânica, com liberação CO<sub>2</sub> e NO (Equação 2), é responsável por um aumento adicional de pressão, o que pode resultar na decomposição incompleta da matéria orgânica, com produtos orgânicos dissolvidos nos digeridos finais. Ademais, foi observado um aumento na acidez residual dos brancos utilizados no procedimento de decomposição. Os autores atribuem este fato à utilização de sistemas fechados para decomposição da amostra, o que impede a evaporação do ácido e possibilita a utilização de menores quantidades de reagentes.<sup>11</sup>



**Equação 2**

Estudos de identificação dos produtos de decomposição da matéria orgânica foram feitos em procedimentos com aquecimento micro-ondas e emprego de ácido nítrico como reagente.<sup>41</sup> Para este estudo, determinações por voltametria de pulso diferencial e por cromatografia (LC-UV-Vis) foram feitas para identificação de espécies residuais orgânicas oriundas da decomposição de fígado bovino (250 mg) com ácido nítrico concentrado (5 mL). Os autores concluíram que a digestão assistida por radiação micro-ondas (180 °C, 8 bar) de fígado bovino, resulta na produção de espécies de ácido nitrobenzóico *o*-, *m*- e *p*-substituídos. Dentre os componentes mais resistentes ao ataque ácido na amostra de fígado bovino, pode se destacar os constituintes aromáticos de aminoácidos oriundos das proteínas (ex: fenilalanina). Com base nesta informação e pela identificação dos três isômeros do ácido nitrobenzóico, foi inferido que o mecanismo dominante de ataque do ácido nítrico é baseado na nitração do anel aromático, seguida pela oxidação da cadeia de aminoácidos.<sup>41</sup>

Foi feito um estudo de identificação de resíduos orgânicos remanescentes do procedimento de decomposição empregando aquecimento por radiação micro-ondas em sistema fechado.<sup>50</sup> Neste contexto, foi feita a decomposição de leite em pó (500 mg) e polpa de tomate (1 g) utilizando somente ácido nítrico concentrado (10 mL) como reagente. Uma etapa adicional, denominada pós-digestão, foi feita pela adição de peróxido de hidrogênio (1 mL, 30% m/m). A decomposição foi considerada completa pela determinação da quantidade de carbono (RCC) por análise elementar e identificação de compostos característicos por espectroscopia

na região do infravermelho. Pela análise da aparência dos digeridos finais para o procedimento de decomposição, observou-se um aspecto levemente amarelado quando somente  $\text{HNO}_3$  foi utilizado. O aspecto observado nos digeridos finais após o tratamento com  $\text{H}_2\text{O}_2$  foi menos amarelado do que o obtido somente com o  $\text{HNO}_3$ , porém não foi totalmente límpido. Pela determinação do RCC, pode-se observar, de forma mais acentuada para a amostra de leite em pó (teores mais elevados de proteínas e gordura), que a eficiência de decomposição foi dependente do tipo de procedimento de preparo utilizado. Quando somente  $\text{HNO}_3$  foi utilizado como reagente, os valores de RCC foram superiores a 25%. Quando o  $\text{H}_2\text{O}_2$  foi adicionado gota a gota até a amostra adquirir um aspecto praticamente límpido, o teor de RCC foi de aproximadamente 22%. No entanto, o valor de RCC para a amostra de leite em pó foi inferior a 10% quando foi adicionado  $\text{H}_2\text{O}_2$  aos digeridos finais, seguido de uma etapa de evaporação (este procedimento de adição de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e evaporação foi repetido 3 ou 4 vezes). A análise por infravermelho dos digeridos finais obtidos nos diferentes procedimentos de decomposição também resultou em algumas evidências. No tratamento feito somente com  $\text{HNO}_3$ , observou-se bandas intensas características de compostos com ligações C=O, O-H e C-H, além outras bandas na região de funções de ácidos carboxílicos (-COOH). Estas bandas foram diminuídas de forma pronunciada quando os digeridos finais foram tratados com  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Os autores concluíram que os elevados níveis de RCC obtidos pela decomposição de leite em pó, devido à presença de ácidos carboxílicos nos digeridos finais utilizando somente  $\text{HNO}_3$ , podem ser diminuídos pelo emprego de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . No entanto, a remoção de espécies de ácido nitrobenzóico somente pode ser feita com a utilização de um reagente oxidante mais forte, como o ácido perclórico.

A decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas de amostras orgânicas, com a utilização somente de  $\text{HNO}_3$  concentrado, tem sido considerada como o estado da arte para o preparo de amostra. No entanto, alguns compostos orgânicos não são eficientemente oxidados e teores de 20 a 30% de RCC permanecem nos digeridos finais. Desta forma, a interferência causada por resíduos orgânicos remanescentes nos digeridos finais sobre a técnica de ICP OES (vista axial) para determinação de metais, foi investigada por Knapp et al.<sup>46</sup> Neste estudo, os autores decompueram 200 mg de ácido nicotínico com 3 mL de  $\text{HNO}_3$  concentrado, em frascos de quartzo (75 mL) em condições de pressão e temperatura de até 72 bar e 250 °C, respectivamente. O procedimento de

decomposição por via úmida assistido por micro-ondas foi feito em três temperaturas diferentes: 184, 218 e 253 °C. A amostra foi aquecida por 30 min na temperatura selecionada, antecedida por uma rampa de 5 min. A determinação do RCC nos digeridos finais mostrou que somente 10 e 15% do carbono originalmente presente na amostra foi convertido a CO<sub>2</sub> quando a decomposição teve sua temperatura limitada a 184 e 218 °C (RCC = 90 e 85%, respectivamente). No entanto, quando a temperatura foi elevada a 253 °C, a eficiência de oxidação do carbono presente na amostra à CO<sub>2</sub> foi de 60% (RCC = 40%). Com base nos resultados prévios encontrados na literatura,<sup>73</sup> os autores observaram que somente com temperaturas de, aproximadamente, 300 °C a decomposição somente com HNO<sub>3</sub> poderia ser considerada eficiente. Além disso, a determinação de As e Se por ICP OES apresentou resultados concordantes com os valores certificados à medida que os valores de RCC diminuíram.

### **2.3 Emprego de ácidos diluídos para o preparo de amostras assistido por radiação micro-ondas**

A utilização de reagentes concentrados para a decomposição de amostras sólidas para análise química é feita há mais de cinco séculos. Além disso, a maioria dos métodos de decomposição baseados na utilização de agentes oxidantes foram desenvolvidos durante o século XIX.<sup>2,8</sup> Recentemente, os procedimentos de decomposição de amostras para determinação de espécies inorgânicas estão sendo gradualmente modificados. Nestes, a decomposição com menores quantidades de reagentes,<sup>74,75</sup> mais rápidas e mais eficientes são possibilitadas, em virtude do avanço tecnológico em instrumentos utilizados para decomposição de amostras. Dentre elas, pode-se citar a utilização de fornos de micro-ondas como fonte de energia e a possibilidade de se trabalhar sob elevadas temperaturas.<sup>2,45</sup>

A decomposição de amostras biológicas normalmente é feita em sistemas de decomposição empregando frascos reacionais fechados em fornos com cavidade.<sup>2,9,32</sup> Pela associação da evolução dos frascos de reação com a

<sup>73</sup> Wurfels, M., Jackwerth, E., Stoeppler, M., *Fresenius Zeitschrift Fur Analytische Chemie* 329 (1987) 459-461.

<sup>74</sup> Dugeneat, S. *et al.*, *Analisis* 26 (1998) 256-260.

<sup>75</sup> Soriano, S., Netto, A. D. P., Cassella, R. J., *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 387 (2007) 1113-1120.

disponibilidade de se utilizar materiais que apresentam elevada resistência química, mecânica e térmica, foram desenvolvidos sistemas de decomposição que podem operar sob altas temperaturas e altas pressões (320 °C e 130 bar, respectivamente).<sup>76</sup> A possibilidade de trabalhar com o emprego de elevadas temperaturas e elevadas pressões resultou em condições operacionais que possibilitaram a elevação do ponto de ebulição dos reagentes utilizados para decomposição da matéria orgânica.<sup>2,45</sup> Este aspecto possui implicações termodinâmicas e cinéticas relacionadas às reações de oxidação da matéria orgânica. Uma vez que o potencial oxidante do ácido nítrico aumenta com o aumento da temperatura,<sup>16</sup> a decomposição de amostras com elevadas quantidades de compostos orgânicos pode ser feita sem a adição de reagentes auxiliares como, por exemplo, ácido sulfúrico e ácido perclórico.<sup>13,45</sup>

A utilização de ácidos concentrados pode ser necessária quando se busca a obtenção de condições drásticas de reação, como no caso de amostras que apresentem um elevado teor de gordura ou em matrizes complexas que exigem condições extremas para que se obtenha uma boa eficiência de decomposição (baixo valor de carbono residual).<sup>15,48</sup> No entanto, a utilização de reagentes concentrados pode representar riscos durante a etapa de manipulação e, além disso, normalmente requer uma etapa adicional de diluição dos digeridos finais antes da determinação, resultando na geração de grandes volumes de resíduo ácido como efluente.<sup>13,49</sup> Porém, este paradigma referente à utilização de reagentes concentrados tem mudado paralelamente com o desenvolvimento de modernas instrumentações analíticas utilizadas para determinações de espécies inorgânicas e orgânicas. Tal fato deve-se a baixa tolerância a soluções com elevados concentrações ácidas apresentada pelos equipamentos mais modernos.<sup>49,77</sup> Além disso, a tecnologia de preparo de amostras baseada no aquecimento por radiação micro-ondas, como já discutido anteriormente, potencializa a ação de alguns reagentes, o que possibilita a utilização de soluções ácidas diluídas para decomposição da matéria orgânica.

Um dos primeiros procedimentos que relatam o emprego de ácido nítrico diluído (1,4 mol L<sup>-1</sup>, 20 mL) para decomposição de amostras (3 g de material botânico, BCR 62 *Olive leaves*), foi feito com aquecimento convencional (tubo de

<sup>76</sup> Knapp, G., *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* 317 (1984) 213-219.

<sup>77</sup> Todoli, J. L., Mermet, J. M., *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy* 54 (1999) 895-929.



Nessler).<sup>78</sup> No entanto, nenhuma avaliação referente à concentração de  $\text{HNO}_3$ , assim como sobre a eficiência de decomposição, foi feita.

Um estudo mais sistematizado da concentração de  $\text{HNO}_3$  utilizada para decomposição de amostras, utilizando o aquecimento micro-ondas, foi feito por Araújo et al.<sup>49</sup> O emprego de soluções diluídas para a decomposição de amostras, baseadas no mecanismo de regeneração do ácido nítrico, foi proposto para decomposição de amostras botânicas. Neste estudo, diferentes amostras de plantas utilizadas como forrageiras (250 mg) foram decompostas em sistema de aquecimento micro-ondas com cavidade (225 °C, 30 bar), com a utilização de 2 mL de  $\text{HNO}_3$  e 1 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (30% m/m). Para o estudo de avaliação da eficiência de decomposição, soluções com concentrações de 14, 7, 5, 3, e 2 mol L<sup>-1</sup> de  $\text{HNO}_3$  foram avaliadas. Os autores observaram valores de RCC um pouco melhores quando a decomposição foi feita com a utilização de  $\text{HNO}_3$  14 mol L<sup>-1</sup> (RCC = 6,9 ± 2,2%). No entanto, a diferença para os valores de RCC foi considerada pouco representativa em relação às decomposições com soluções de ácido com a concentração variando de 7 a 2 mol L<sup>-1</sup> de  $\text{HNO}_3$ , que apresentaram valores de RCC de 10,3 a 11,3%, respectivamente. Além disso, conforme observado pelos autores, para qualquer concentração de  $\text{HNO}_3$  utilizada para o procedimento de decomposição com 1 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , os digeridos finais obtidos sempre apresentaram aspecto límpido e sem resíduos sólidos em suspensão. O mesmo comportamento não foi observado quando o volume de  $\text{H}_2\text{O}_2$  foi substituído por água, o que resultou em digeridos finais com aspecto amarelado e sólidos residuais em suspensão. Ademais, foi determinada a acidez residual apresentada pelos digeridos finais quando o procedimento de decomposição foi feito com diferentes concentrações de  $\text{HNO}_3$ . Quanto mais concentrada a solução utilizada, maior foi a acidez residual. No entanto, houve um maior consumo de  $\text{HNO}_3$  quando a digestão foi feita com  $\text{HNO}_3$  14 mol L<sup>-1</sup> (56,7%) do que quando o procedimento foi feito com solução 2 mol L<sup>-1</sup> (12%). Estes estudos demonstraram a viabilidade da utilização de soluções diluídas para a decomposição de amostras botânicas.

Em outro estudo sobre a avaliação da eficiência de decomposição empregando ácido nítrico diluído em sistema fechado foi feita pela comparação de dois procedimentos de decomposição: um baseado no aquecimento com radiação micro-ondas e outro no aquecimento convencional (condutivo).<sup>16</sup> Neste estudo, uma

<sup>78</sup> Chow, P. Y. T. et al., *Analyst* 120 (1995) 1221-1223.

amostra de café em pó foi empregada para avaliar as diferentes fontes de aquecimento empregadas no procedimento de decomposição. Para o procedimento assistido por radiação micro-ondas, a amostra de café (250 mg) foi decomposta em frascos de PFA (volume interno de 100 mL), com pressão máxima de operação de 35 bar e tempo de aquecimento de 33 min. Foi empregado um volume de 7 mL de  $\text{HNO}_3$  nas concentrações de 1, 1,7, 3,5, 7, 10,5 e 14 mol  $\text{L}^{-1}$ , seguido da adição de mais 1 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (30% m/m). Para o procedimento com aquecimento convencional, 200 mg de amostra de café foram decompostas em frascos de PTFE (volume interno de 23 mL). A solução de  $\text{HNO}_3$ , nas mesmas concentrações previamente informadas, foi utilizada juntamente com 1 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (30% m/m). O frasco reacional foi então fechado e submetido ao aquecimento dentro de um forno tipo mufla, na temperatura de 120 °C por um período de 12 h. Os resultados apresentados pelos autores mostram que não houve diferença significativa para ambos os procedimentos quando soluções de até 3,5 mol  $\text{L}^{-1}$  de  $\text{HNO}_3$  foram empregadas para decomposição e a eficiência de decomposição foi superior a 97,7% para todas as condições avaliadas. A acidez residual apresentou valores entre 0,31 e 4,66% (consumo de  $\text{HNO}_3$  de 63,6 a 66,7%, respectivamente) para o procedimento feito com aquecimento micro-ondas e 0,16 e 1,58% (consumo de  $\text{HNO}_3$  de 88,8 a 91,2%) para o procedimento feito com aquecimento convencional. Os resultados um pouco superiores de acidez residual, obtidos para o procedimento de decomposição com emprego de aquecimento micro-ondas, foi interpretado pelos autores como sendo parte do mecanismo de regeneração do ácido nítrico. Como no procedimento com aquecimento convencional o consumo de ácido nítrico foi bem superior, admitiu-se que não houve regeneração e, como consequência, foi necessário consumir uma maior quantidade de ácido para manter a mesma eficiência de decomposição. Dentre os motivos apresentados pelos autores para que o mecanismo de regeneração do ácido nítrico tenha sido mais significativo no sistema com aquecimento micro-ondas, pode-se destacar a maior disponibilidade de  $\text{O}_2$  presente na fase gasosa dos frascos (volume interno de 100 mL, comparados aos 23 mL dos frascos utilizados no aquecimento convencional) utilizados para esta forma de aquecimento, além do intenso gradiente de temperatura apresentado pelos frascos de reação durante a etapa inicial do aquecimento micro-ondas. Este último aspecto pode ser explicado pela transparência do frasco reacional à radiação micro-onda e pela intensa absorção de radiação pela fase líquida. O gradiente de

temperatura foi apontado como um dos principais responsáveis para redissolução dos produtos gasosos originados durante a reação de regeneração do ácido nítrico. Como considerações finais, os autores apontaram que a utilização de ácido nítrico diluído é uma boa estratégia para a decomposição de amostras de café em pó e que a eficiência de decomposição é criticamente dependente do tamanho do frasco reacional, assim como da disponibilidade de  $O_2$  para o mecanismo de regeneração do ácido nítrico.

A eficiência de oxidação de três classes de compostos orgânicos (grãos de soja, sangue, músculo e víscera bovina) foi avaliada com o emprego de 2 mL de soluções diluídas de  $HNO_3$  (2, 7 e 14 mol  $L^{-1}$ ) e 1 mL de  $H_2O_2$  (30% m/m) em frascos fechados com aquecimento micro-ondas.<sup>15</sup> Após a etapa de decomposição, os compostos orgânicos remanescentes da etapa de decomposição foram identificados por RMN e os isômeros do ácido nitrobenzóico, obtidos como produtos da degradação da matéria orgânica, foram separados cromatograficamente. Pela determinação do RCC, os autores observaram que a utilização de soluções tão diluídas quanto 2 mol  $L^{-1}$  de  $HNO_3$  não foram eficientes para a decomposição de víscera bovina (RCC = 90%). Resíduos sólidos e coloração amarelada foram observados nos digeridos finais. Resultados semelhantes foram observados para as amostras de grãos de soja, porém menos pronunciados do que para a amostra de víscera bovina. No entanto, a decomposição de fígado e sangue bovino mostrou-se eficiente mesmo com soluções diluídas ( $HNO_3$  2 mol  $L^{-1}$ , RCC < 22 e 10%, respectivamente) e os valores de RCC foram relativamente inferiores aos observados quando solução concentrada de  $HNO_3$  (14 mol  $L^{-1}$ ) foi utilizada (RCC = 23% e 15%, respectivamente). Esta diminuição nos teores de RCC foi explicada pelo fato de as soluções diluídas apresentarem temperaturas maiores (180 a 200 °C para solução de  $HNO_3$  2 mol  $L^{-1}$ ) durante a etapa de decomposição, do que as temperaturas obtidas com a utilização de soluções mais concentradas (160 a 170 °C para solução de  $HNO_3$  14 mol  $L^{-1}$ ). A baixa eficiência de decomposição para a amostra de víscera bovina pode ser atribuída ao baixo potencial oxidante apresentado pelo ácido diluído. Tal fato foi evidenciado pela identificação dos produtos da degradação da matéria orgânica feita por RMN, onde se observou uma grande quantidade de compostos aromáticos nitrosubstituídos. Um comportamento semelhante foi observado para a amostra de grãos de soja. Ao final do trabalho, os autores observaram que a utilização de soluções ácidas diluídas pode ser

considerada alternativa viável para a decomposição de amostras, resultando na redução da quantidade dos reagentes utilizados e na menor geração de resíduos. Ademais, os autores atribuem a possibilidade de aplicação deste tipo de procedimento, com utilização de reagentes diluídos, a alguns fatores dependentes de tecnologias mais recentes como: disponibilidade de sistemas que possibilitem a decomposição com emprego de maiores temperaturas e pressões; frascos com volume interno suficientemente grande para disponibilizar uma quantidade de  $O_2$  maior para que o mecanismo de regeneração acontecesse de forma mais eficiente; e, finalmente, frascos que apresentem um intenso gradiente de temperatura durante a etapa inicial de decomposição promovendo, assim, a condensação dos produtos gasosos oriundos do processo de regeneração do ácido nítrico.

A possibilidade de aumentar a eficiência de decomposição com o ácido nítrico foi avaliada pela adição de diferentes quantidades de  $H_2O_2$  e  $O_3$ .<sup>79</sup> Cerca de 250 mg de hepatopâncreas de lagosta (TORT-2, *Lobster hepatopancreas*) foram decompostas com a utilização de 3 mL de  $HNO_3$  concentrado (65% m/m). O frasco reacional utilizado (tetrafluormetóxido TFM-PTFE, 28 mL) permitiu decomposições sob temperaturas e pressões de até 350 °C e 200 bar, respectivamente. Apesar disso, o programa de aquecimento por micro-ondas e a temperatura máxima durante a etapa de aquecimento não foram informados pelo autor. O  $H_2O_2$  (30% m/m) foi utilizado juntamente com o  $HNO_3$ , nos volumes de 0,1, 0,2, 0,3, 0,5, 0,7 e 1,0 mL. O emprego do  $O_3$  foi feito pela purga ( $600 \text{ mL min}^{-1}$ ) através da mistura reacional por 1 min ( $0,140 \text{ mg de } O_3 \text{ min}^{-1}$ ). Pelos resultados obtidos, o autor pode observar que a adição de diferentes quantidades de  $H_2O_2$ , mesmo sendo fonte de  $O_2$  e radicais livres no meio reacional, não resultou em melhoras significativas na eficiência de decomposição. A eficiência de oxidação da matéria orgânica pela mistura  $HNO_3/H_2O_2$  variou de 65% (1 mL de  $H_2O_2$ ) a 70% (0,3 mL de  $H_2O_2$ ), resultado que não foi considerado mais eficiente do que somente  $HNO_3$  (eficiência de decomposição de 67%). No entanto, a decomposição com solução de  $HNO_3$  saturada com  $O_3$  resultou em uma eficiência de decomposição de 80%. Esta melhora na eficiência de decomposição foi atribuída ao elevado potencial oxidante do  $O_3$  em fase aquosa.

Adicionalmente, o método de decomposição por via úmida assistido por micro-ondas foi empregado para decomposição de amostras biológicas e

<sup>79</sup> Matusiewicz, H., *Chemia Analityczna* 46 (2001) 897-905.

ambientais com emprego de  $\text{HNO}_3$  diluído, juntamente com  $\text{H}_2\text{O}_2$  e pressão de  $\text{O}_2$ , para determinação de Hg por espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio (CV AAS, do inglês *cold vapor atomic absorption spectrometry*) utilizando redução induzida por UV.<sup>80</sup> A otimização do sistema de decomposição foi feita com utilização de uma amostra de fígado de peixe (250 mg, DOLT-2 *Dogfish liver*), com utilização de um frasco de decomposição (110 mL, TFM-PTFE) operando sob pressão e temperatura de até 110 bar e 300 °C, respectivamente. A solução oxidante utilizada para decomposição (6 mL de volume final) foi avaliada com  $\text{HNO}_3$  (65% m/m) nas concentrações de 0,5 a 2,1 mol L<sup>-1</sup>, juntamente com  $\text{H}_2\text{O}_2$  (30% m/m), nas concentrações de 0,2 a 0,8 mol L<sup>-1</sup>. Adicionalmente, antes do programa de aquecimento ser iniciado, o frasco reacional foi preenchido com  $\text{O}_2$  (15 bar). A concentração ideal da mistura oxidante (1,5 e 0,6 mol L<sup>-1</sup> de  $\text{HNO}_3$  e  $\text{H}_2\text{O}_2$ , respectivamente) foi determinada pelo aumento no sinal de absorvância obtido para determinação de Hg por CV AAS. Os autores atribuem a possibilidade do método de decomposição ser feito com solução diluída de  $\text{HNO}_3$  ao fato de o sistema ser pressurizado com  $\text{O}_2$ . Com a utilização das condições operacionais de decomposição otimizadas, foi determinado Hg nos CRMs DOLT-2 (*Dogfish liver*), TORT-2 (*Lobster hepatopancreas*), IAEA-086 (*Human hair*) e IAEA-336 (*Lichen*), com concordância de 99 a 104% com o valor certificado.

Como foi observado nas aplicações que utilizaram ácido nítrico diluído, empregado em concentrações inferiores a 2 mol L<sup>-1</sup> para a decomposição de diferentes matrizes,<sup>15,16,49,81</sup> a sua utilização somente é possível pela associação de alguns fatores que potencializam a ação oxidante. A explicação mais aceita para este comportamento está baseada em uma série de reações que acontecem no interior do frasco reacional, resultando na regeneração do ácido nítrico.

### 2.3.1 Reações de regeneração do ácido nítrico

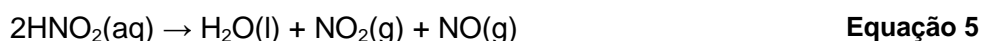
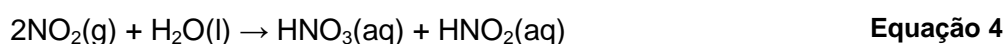
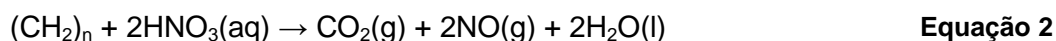
A utilização de soluções diluídas de  $\text{HNO}_3$  para decomposição de amostras biológicas tem sido experimentalmente demonstrada.<sup>13,15,16,49</sup> No entanto, dois

<sup>80</sup> Matusiewicz, H. *Chemia Analityczna* 46 (2001) 897-905.

<sup>81</sup> Matusiewicz, H., Stanisiz, E., *Microchemical Journal* 95 (2010) 268-273.

fatores estão relacionados ao emprego de soluções diluídas de ácido nítrico, sem que este implique em uma diminuição de eficiência de decomposição. Um destes fatores é dependente do gradiente de temperatura dentro do frasco reacional durante a etapa inicial de aquecimento dielétrico,<sup>16</sup> devido a não absorção de radiação micro-ondas pela fase gasosa.<sup>2,8</sup> Além disso, a utilização de soluções diluídas de ácido nítrico é dependente da presença de oxigênio na atmosfera interna do frasco de reação, contribuindo para o processo de oxidação da matéria orgânica.<sup>13,16</sup> Como resultado da combinação de ambos os aspectos, os produtos de reação podem ser oxidados na atmosfera superior do frasco reacional e, posteriormente, reabsorvidos na fase líquida.

Considerando estes fatores, percebe-se que a presença do gradiente de temperatura causa um aumento de pressão menos pronunciado durante a etapa inicial de decomposição.<sup>8</sup> A presença de O<sub>2</sub> contribui para a oxidação dos produtos de decomposição da matéria orgânica que serão reabsorvidas pela fase líquida: A soma destes dois fatores implica em um ciclo reacional que resulta na regeneração do ácido nítrico, como pode ser observado nas seguintes reações:<sup>15,16</sup>



A ocorrência das reações descritas nas Equações 2 a 5, resulta na regeneração do ácido nítrico, iniciando um ciclo reacional que permanece efetivo enquanto duas condições forem simultaneamente obedecidas:<sup>82,83</sup> (i) a existência de material orgânico da amostra que está sendo decomposta, resultando na geração de gás NO conforme a Equação 2; e, (ii) presença de oxigênio na fase gasosa do frasco reacional para aumentar a formação de NO<sub>2</sub>, conforme a Equação 3. Consequentemente, o NO<sub>2</sub> é regenerado, sendo reabsorvido na solução. Então, uma reação de desproporcionamento ocorre com a formação de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, representado pela Equação 4. A molécula de HNO<sub>2</sub> irá se decompor em NO<sub>2</sub> e NO, que seguirão a sequência reacional descrita na Equação 4 (em fase gasosa),

<sup>82</sup> Cotton, F. A., *et al.*, Advanced Inorganic Chemistry, 6 ed., John Wiley & Sons, 1999, 1356 p.

<sup>83</sup> Atkins, P. W., Shriver, D. F. Química inorgânica, Bookman Companhia, 2008, 848 p.

---

enquanto a molécula de  $\text{HNO}_3$  reiniciará o ciclo de oxidação da matéria orgânica, conforme descrito na Equação 2.<sup>13,15,16</sup>

Com base no mecanismo proposto de regeneração do ácido nítrico, pode-se supor que o aumento da quantidade de oxigênio disponível na fase gasosa favoreça a reação de regeneração do ácido, o que pode melhorar a eficiência de decomposição de materiais biológicos com utilização de ácido nítrico diluído. Desta forma, a investigação do presente trabalho será baseada em um método de decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas de materiais biológicos, com emprego de pressão de oxigênio e adição de peróxido de hidrogênio como reagentes auxiliares na oxidação da matéria orgânica, promovida por soluções diluídas de ácido nítrico. Por fim, os aspectos relacionados à influência da concentração de ácido nítrico utilizado e a quantidade de oxigênio e peróxido de hidrogênio serão avaliados, assim como a influência do gradiente de temperatura promovido pelo aquecimento micro-ondas.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

---

*Neste capítulo são descritos os equipamentos, reagentes e amostras utilizadas para o desenvolvimento deste trabalho. Além disso, são descritos os procedimentos empregados e as otimizações feitas para avaliação do oxigênio e peróxido de hidrogênio como reagentes auxiliares na decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas, com emprego de ácido nítrico diluído como agente de decomposição das amostras.*



### 3.1 Instrumentação

Para a decomposição por via úmida, assistida por radiação micro-ondas sob alta pressão e por combustão iniciada por micro-ondas (MIC), foi utilizado um forno de micro-ondas (Multiwave 3000<sup>®</sup>, *Microwave Sample Preparation System*, Anton Paar, Graz, Áustria, <http://www.anton-paar.com>), equipado com oito frascos de quartzo, com capacidade individual de 80 mL. Durante os procedimentos de decomposição a temperatura e a pressão foram acompanhadas, através dos sensores disponíveis no forno de micro-ondas que também permitiram o acompanhamento da potência irradiada ao longo do tempo. Para o sistema utilizado, a temperatura e pressão máximas de trabalho foram de 280 °C e 80 bar, respectivamente. Para as decomposições por MIC foi utilizado um suporte de quartzo, desenvolvido no Laboratório de Hialotecnica da UFSM.<sup>84</sup>

A determinação da acidez residual foi feita com a utilização de um titulador automático (Titrand 836, Metrohm, Herisau, Suíça, <http://www.metrohm.com>) 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).

A determinação de C e metais nos digeridos finais das amostras de leite em pó integral e fígado bovino por ICP OES foram feitas utilizando um espectrômetro de emissão óptica (modelo Spectro Ciros CCD, Spectro Analytical Instruments, Kleve, Alemanha, <http://www.spectro.com>). O equipamento foi utilizado na configuração axial e com sistema ótico selado, sendo equipado com câmara de nebulização de duplo passo e nebulizador do tipo *cross-flow*. As linhas de emissão selecionadas para as determinações na região do ultravioleta foram de 193,091 e 247,856 nm para C. Como não foi observada diferença nos resultados obtidos entre as duas linhas, a linha de emissão de 193,091 nm, a mais intensa para C, foi utilizada para a determinação do teor de carbono residual nos digeridos finais. Adicionalmente, a determinação de metais foi feita por ICP-MS utilizando um espectrômetro (modelo ELAN<sup>®</sup> DRC II, PerkinElmer-SCIEX Waltham, EUA, <http://www.perkinelmer.com>), equipado com nebulizador concêntrico (Meinhard tipo A, Golden, EUA, <http://www.meinhard.com>), com câmara de nebulização ciclônica

<sup>84</sup> Mesko, M. F., Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2004,137 p.

(Glass Expansion, Inc., West Melbourne, Austrália, <http://www.geicp.com>) e tocha com tubo injetor de quartzo com 2 mm de diâmetro interno. Na Tabela 1, são mostradas as condições operacionais para as determinações de C e metais (Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na e Zn) por ICP OES e por ICP-MS (Cd, Co e Pb) nas amostras estudadas (leite em pó integral e fígado bovino) após a decomposição das amostras.

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

Parâmetro	ICP OES	ICP-MS
Potência do gerador de radiofrequência	1600 W	1500 W
Vazão de argônio principal	14 L min <sup>-1</sup>	15 L min <sup>-1</sup>
Vazão de argônio auxiliar	1 L min <sup>-1</sup>	1,2 L min <sup>-1</sup>
Vazão de argônio do nebulizador	0,85 L min <sup>-1</sup>	1,13 L min <sup>-1</sup>
Câmara de nebulização	Duplo passo	Ciclônica
Nebulizador	Cross-flow	Concêntrico
Cone de amostragem e <i>skimmer</i>		Pt
Analitos	Linha de emissão, nm	m/z monitorado
C	193,091 (I)	-
Ca	393,366 (II)	-
Cd	-	111
Co	-	59
Cu	324,752 (I)	-
Fe	238,204 (I)	-
K	766,491 (I)	-
Mg	285,213 (I)	-
Mn	257,610 (II)	-
Mo	202,030 (II)	-
Na	589,592 (I)	-
Pb	-	207
Zn	213,856 (I)	-

(I) linha de emissão atômica; (II) linha de emissão iônica.

Uma câmera de infravermelho (Flir, modelo SC305, Sweden, <http://www.flir.com>) com exatidão de 2% da leitura de temperatura e sensibilidade térmica  $< 0,05^{\circ}\text{C}$  a  $30^{\circ}\text{C}$  na faixa espectral de 7,5 a 13  $\mu\text{m}$ , foi utilizada para obtenção das imagens térmicas no estudo que avaliou a influência do gradiente de temperatura. A temperatura em diferentes regiões no interior do frasco de reação (fase líquida e fase gasosa) foi medida com a utilização de um termopar tipo K (Salcas, TM 201/16.394-500) com faixa de operação de  $-200$  a  $800^{\circ}\text{C}$ .

Para todos os procedimentos de pesagem efetuados, foi utilizada uma balança analítica (Shimadzu, modelo AY220, Filipinas, <http://www.shimadzu.com.br>) com resolução de 0,0001 g, e carga máxima de 41 g. A etapa de cominuição das amostras foi feita com auxílio de um moedor criogênico Spex<sup>®</sup> Certi Prep (modelo 6750, Metuchen, EUA, <http://spexcsp.com/sampleprep>). As amostras foram secas com auxílio de uma estufa convencional (Nova Ética, modelo 400/2ND, Vargem Grande Paulista, SP, Brasil, <http://www.novaetica.com.br>). Uma centrífuga com rotação máxima de 3.300 rotações por minuto (modelo NT 810, Piracicaba, Brasil, <http://www.novatecnica.com.br>) foi utilizada para separação de material sólido em suspensão proveniente de procedimentos de decomposição ineficientes.

### 3.2 Reagentes

A água utilizada neste trabalho foi previamente destilada e 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<sup>®</sup> (Milli-Q<sup>®</sup> Ultrapure Water Purification Systems, Gradient System, Millipore, Billerica, EUA, <http://www.millipore.com>), apresentando resistividade final de  $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}$ . O ácido nítrico concentrado P.A. (Art. nº 1.00456.1000, 65%,  $1,4 \text{ kg L}^{-1}$ , Merck, Darmstadt, Alemanha, <http://www.merck.de>) e o ácido clorídrico concentrado P.A. (Art. nº 1.00317.1000, 37%,  $1,19 \text{ kg L}^{-1}$ , Merck), foram bidestilados abaixo de seus respectivos pontos de ebulição, em sistema de destilação de quartzo (modelo duoPUR, Subboiling Distillation System, Milestone, Bergamo, Itália, <http://www.milestonesci.com>). O peróxido de hidrogênio (Art. Nº 1.0721030%, 30%, Merck) foi utilizado sem purificação prévia. Como iniciador de combustão para a

decomposição por MIC, foi utilizada uma solução ( $6 \text{ mol L}^{-1}$ ) de nitrato de amônio (P.A., Merck), preparada a partir da dissolução do respectivo sal em água purificada.

Para a calibração do equipamento de ICP OES para determinação do teor de carbono residual, foi preparada uma solução estoque de C a partir de uma solução de referência (CGC1-5Y, Inorganic Ventures,  $1001 \pm 12 \text{ mg L}^{-1}$ , a partir do ácido tartárico, em 0,2%  $\text{HNO}_3$ , <http://www.inorganicventures.com>). Para a preparação das soluções de calibração para a determinação de metais por ICP OES, foi utilizada uma solução de referência (SCP33MS, com concentração de  $10 \mu\text{g mL}^{-1}$  dos metais determinados, SCP Science, Quebec, Canadá, <http://www.scpscience.com>) diluída em  $\text{HNO}_3$   $0,7 \text{ mol L}^{-1}$ .

A determinação da acidez residual foi feita por titulação de neutralização do resíduo ácido, proveniente do procedimento de digestão, com hidróxido de potássio  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  em água (Art. nº 1.05033.1000,  $56,11 \text{ g mol}^{-1}$ , Merck), previamente padronizado com hidrogenoftalato de potássio (Cod. nº 354, teor de 99,5%, Vetec, Duque de Caxias, Brasil, <http://www.vetecquimica.com.br>).

O plasma utilizado para ICP OES foi gerado a partir de argônio com pureza de 99,998% (White Martins, Duque de Caxias, Brasil, <http://www.whitemartins.com.br>). Oxigênio, com pureza de 99,9991% (White Martins) foi utilizado como reagente auxiliar nos procedimentos de decomposição por via úmida com ácido diluído.

### 3.3 Amostras e CRMs

Neste trabalho, a eficiência de decomposição foi avaliada pela digestão de amostras de leite em pó integral e fígado bovino. A amostra de leite em pó integral foi obtida em comércio local (Santa Maria, RS, Brasil). A amostra de fígado bovino foi preparada em laboratório. Para os ensaios referentes à utilização de lâmpada de emissão de radiação UV, foram utilizadas amostra de amido de batata P. A. (Qeel, São Paulo), cloridrato de imipramina (Lote IMP1175, Henrifarma, São Paulo) e leite em pó desnatado (obtido no comércio local). As amostras foram cominuídas (diâmetro de partícula inferior ou igual a  $100 \mu\text{m}$ ), secas a  $105 \text{ }^\circ\text{C}$  (até massa

constante) e armazenadas em frascos de polipropileno, em dessecador sob vácuo, até o momento de seu uso.

Os CRMs de leite em pó (Community Bureau of Reference, BCR 151 *Skim milk powder*, Bélgica; e National Institute of Standards and Technology, NIST 1549 *Non-fat milk powder*, EUA), fígado bovino (NIST 1577 *Bovine liver*, EUA) e músculo bovino (NIST 8414 *Bovine muscle*, EUA) foram secados a 60 °C, decompostos pelos procedimentos de digestão previamente otimizados, para verificar a exatidão do procedimento proposto.

### **3.4 Procedimentos de descontaminação**

Toda a vidraria e materiais comuns de laboratório foram lavados e descontaminados por imersão em HNO<sub>3</sub> 10% (v/v) por, pelo menos, 24 h e enxaguados com água purificada imediatamente antes do uso.

Os frascos de quartzo, utilizados nos procedimentos de decomposição sob alta pressão foram descontaminados com HNO<sub>3</sub> através de um programa de aquecimento no forno de micro-ondas, constituído de uma etapa de 10 min de aquecimento, a 1000 W de potência e 20 min para o arrefecimento. Ao término do programa, os frascos foram lavados com água purificada antes do uso.

### **3.5 Procedimentos de decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas**

Foi avaliada a utilização de oxigênio e peróxido de hidrogênio, como reagentes auxiliares, durante a etapa de digestão pela determinação do RCC nos digeridos finais obtidos após cada procedimento. Todos os procedimentos de decomposição foram feitos empregando-se 6 mL de solução, que é o volume mínimo de reagente recomendado pelo fabricante do forno de micro-ondas, que deve ser utilizado no interior do frasco de quartzo. Para os testes com o emprego de peróxido de hidrogênio, cabe ressaltar que o volume deste reagente adicionado não

alterou a concentração e o volume final da solução no interior do frasco de quartzo. Nestes casos, a diluição do ácido foi feita com o próprio peróxido de hidrogênio e o volume foi completado até 6 mL com água purificada. A massa de amostra utilizada (500 mg) foi escolhida aleatoriamente. Cabe ressaltar que esta é a máxima massa de amostra recomendada pelo fabricante do forno de micro-ondas para decomposições com frasco de quartzo, para as amostra de leite em pó integral e fígado bovino.

### 3.5.1 Avaliação do efeito da concentração de $\text{HNO}_3$ sobre a eficiência de decomposição

Ácido nítrico (6 mL) na concentração de 1, 2, 3, 7 e 14 mol L<sup>-1</sup>, foi utilizado para a digestão de 500 mg de leite em pó e fígado bovino. Para este estudo, o programa de aquecimento por radiação micro-ondas foi feito conforme a recomendação do fabricante (Tabela 2).

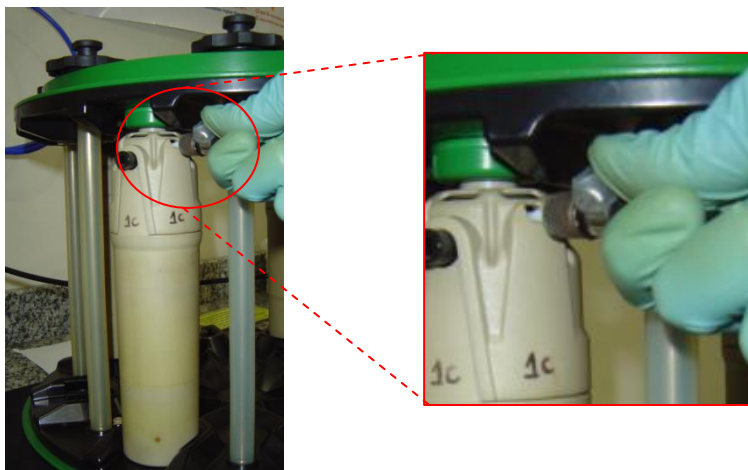
**Tabela 2.** Programa de aquecimento utilizado para a decomposição das amostras de leite em pó integral e fígado bovino, por via úmida, assistida por radiação micro-ondas.

Etapa	Potência, W	Rampa, min	Tempo, min
1	1000	5	10
2	0	-	20

### 3.5.2 Avaliação da pressão de $\text{O}_2$ e composição da fase gasosa

Após a decomposição das amostras com utilização de diferentes concentrações de  $\text{HNO}_3$ , o mesmo estudo foi feito com a utilização de oxigênio como reagente auxiliar. A adição de oxigênio nos frascos reacionais foi feita através da válvula originalmente projetada para liberação dos gases após o procedimento de digestão com aquecimento por micro-ondas convencional, conforme mostra a

Figura 1 (em detalhe). A pressão máxima de 20 bar de oxigênio utilizada neste estudo foi escolhida com base na máxima pressão inicial recomendada em estudos anteriores.<sup>26</sup>



**Figura 1.** Procedimento de pressurização do frasco de quartzo, para posterior decomposição da amostra, através da válvula originalmente projetada para liberação dos gases gerados durante o procedimento de digestão.

Desta forma, pressões de 2,5, 5, 7,5, 10, 15 e 20 bar de oxigênio foram utilizadas no interior do frasco reacional. A quantidade de oxigênio utilizada nos procedimentos de decomposição, referente as diferentes pressões utilizadas, foi de 0,24, 0,48, 0,72, 0,97, 1,46 e 1,96 g, respectivamente. Estes valores de massa foram calculados com base na equação de van der Waals para os gases reais (Equação 6, onde  $P$  é a pressão em atm;  $V$  é volume em L;  $n$  é a quantidade de matéria (número de moles);  $R$  é a constante dos gases ideais,  $0,082057 \text{ L atm mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ ;  $T$  é a temperatura em K; e,  $a$  e  $b$  são as constantes de van der Waals para o  $\text{O}_2$ , de valores  $1,3639 \text{ L atm mol}^{-2}$  e  $0,031860 \text{ L mol}^{-1}$ , respectivamente).<sup>85</sup> Este cálculo foi feito utilizando o método de Newton-Raphson para equações não lineares (Polymath 6.10, *non linear equation solver*).

$$P = \frac{nRT}{V - nb} - a \left( \frac{n}{V} \right)^2 \quad \text{Equação 6}$$

<sup>85</sup> McQuarrie, D. A., Simon, J. D. Physical Chemistry. University Science Books, 1997, 1270 p.

Os resultados obtidos utilizando as decomposições feitas com diferentes pressões de oxigênio foram comparados com aqueles obtidos pelas decomposições feitas com o frasco fechado sob pressão atmosférica (sem a adição de outro gás). Neste caso, a atmosfera inicial foi composta somente por ar, na pressão de 1 atm, que representa uma quantidade de aproximadamente 21% de oxigênio.<sup>70</sup> Ao longo do texto, as decomposições feitas empregando esta condição serão tratadas por aproximação, como sendo ar à pressão atmosférica (pressão de 1 bar).

Adicionalmente, a influência da fase gasosa sobre a eficiência de decomposição das amostras de leite em pó integral e fígado bovino foi avaliada pela utilização de um gás inerte. Neste caso, Ar foi utilizado como auxiliar, nas pressões de 7,5 e 20 bar.

### **3.5.3 Avaliação do uso de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> como reagente auxiliar de decomposição**

A utilização de peróxido de hidrogênio também foi considerada para os estudos da diminuição da quantidade de HNO<sub>3</sub> utilizada nos procedimentos de decomposição de leite em pó integral e fígado bovino. Este estudo foi feito inicialmente com a concentração de HNO<sub>3</sub> previamente otimizada, com massa de amostra de 500 mg. Em um primeiro momento (ver item 3.5.3.1 Avaliação da utilização do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> associado com O<sub>2</sub>) o peróxido de hidrogênio foi utilizado em conjunto com oxigênio (conforme pressão previamente otimizada para cada tipo de amostra). O mesmo estudo foi feito sem a utilização de oxigênio, utilizando-se somente o peróxido de hidrogênio. Em um segundo momento (ver item 3.5.3.2 Redução da concentração de HNO<sub>3</sub> com aumento da concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), buscou-se uma condição em que fosse possível reduzir ainda mais a quantidade de HNO<sub>3</sub> utilizada pelo aumento da quantidade de peróxido de hidrogênio, sem a pressurização do frasco de decomposição com oxigênio.

Cabe salientar que a quantidade de reagentes utilizadas para estes experimentos foi exatamente a mesma utilizada nos estudos anteriores, mantendo-se o volume de 6 mL de solução dentro do frasco de reação. Para que esta condição de compromisso fosse obedecida, a solução de HNO<sub>3</sub> foi preparada diretamente dentro do frasco reacional. Desta forma, para uma solução de HNO<sub>3</sub> 2



mol L<sup>-1</sup>, por exemplo, o volume de 0,86 mL de HNO<sub>3</sub> 14 mol L<sup>-1</sup> foi adicionado ao frasco reacional, seguido da adição do volume de peróxido de hidrogênio a ser avaliado e o volume final de 6 mL foi completado com água. Este critério foi obedecido com o intuito de manter constantes tanto a concentração de HNO<sub>3</sub> quanto a volume de solução no interior do frasco de reação, uma vez que estes fatores poderiam interferir na digestão da matéria orgânica, assim como na eficiência de absorção de radiação micro-ondas.

Ao final de cada etapa de otimização avaliada, os digeridos finais foram submetidos à determinação do RCC e da acidez residual.

### **3.5.3.1 Avaliação da utilização do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> associado com O<sub>2</sub>**

Este estudo foi feito com a utilização de 500 mg de amostra e 6 mL de solução 2 mol L<sup>-1</sup> de HNO<sub>3</sub>, na concentração previamente otimizada. A avaliação da influência da quantidade do peróxido de hidrogênio (0, 2, 2,5 e 3 mL) foi feita associada à pressão de O<sub>2</sub> (conforme condição previamente otimizada para a amostra de leite em pó integral e fígado bovino). Adicionalmente os mesmos parâmetros referentes à quantidade de peróxido de hidrogênio foram avaliados, sem a utilização de pressão de oxigênio.

### **3.5.3.2 Redução da concentração de HNO<sub>3</sub> com aumento da concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**

Foi avaliada a influência da utilização de maiores quantidades de peróxido de hidrogênio, associada à diminuição da concentração de HNO<sub>3</sub>. Neste caso, volumes de 2, 2,5, 3 e 4 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foram utilizados com solução de HNO<sub>3</sub> nas concentrações de 2, 1,5, 1, 0,75 e 0,5 mol L<sup>-1</sup>.

### **3.5.4 Avaliação da influência do aquecimento assistido por radiação micro-ondas para a decomposição por via úmida com HNO<sub>3</sub> diluído**

Este estudo foi feito para que se pudesse verificar a influência do gradiente de temperatura durante a etapa de decomposição. Esta avaliação foi feita com as condições previamente otimizadas para a amostra de leite em pó integral, com a utilização somente de oxigênio como reagente auxiliar de decomposição. Ademais, como ambas as amostras apresentaram comportamento semelhante para todos os parâmetros avaliados, optou-se por trabalhar somente com leite em pó integral.

Em um primeiro momento, a decomposição com emprego do ácido diluído foi feita com passagem forçada de ar pela parte externa do frasco de quartzo durante a etapa de aquecimento por radiação micro-ondas, na tentativa de induzir um maior gradiente de temperatura ao longo do frasco de decomposição. Adicionalmente, a magnitude do gradiente de temperatura, existente durante a etapa de decomposição, foi determinada pela obtenção de imagens por termografia na região do infravermelho, da superfície do frasco reacional, ao longo de determinados períodos de aquecimento e, também, durante a etapa de resfriamento.

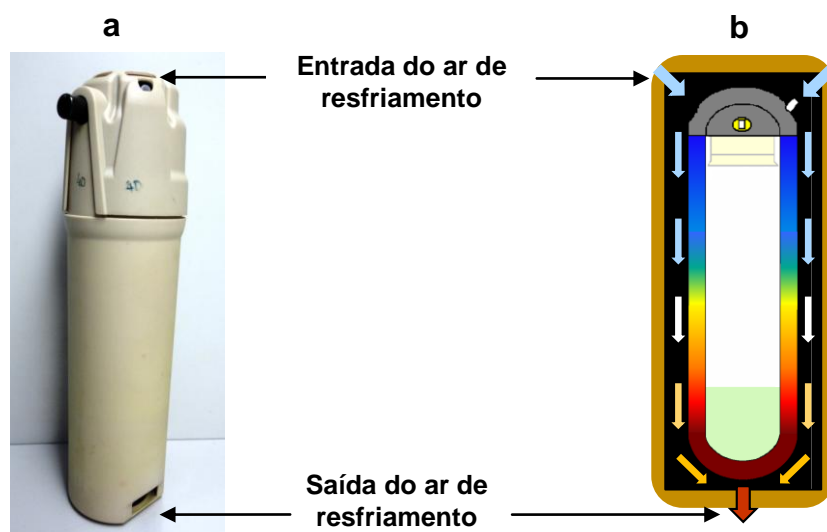
#### **3.5.4.1 Avaliação da decomposição com passagem forçada de ar na parte externa do frasco de decomposição durante a etapa de aquecimento**

O procedimento de decomposição com aquecimento micro-ondas normalmente emprega um sistema de circulação de ar interno à cavidade para que não haja um superaquecimento do sistema e prováveis vapores liberados pelos frascos reacionais possam ser eliminados.<sup>86</sup> No forno de micro-ondas utilizado neste estudo, esta circulação de ar durante a etapa de aquecimento é feita no modo mais brando, denominado FAN 1 ( $60 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ ).<sup>87</sup> Durante a etapa de resfriamento, esta circulação de ar passa para um nível superior denominado FAN 2, ( $125 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ ), com o intuito de acelerar a etapa de resfriamento. Além disso, um modo de circulação de ar ainda mais forte pode ser utilizado, o qual normalmente é acionado

<sup>86</sup> Zischka, M. *et al.*, *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* 361 (1998) 90-95.

<sup>87</sup> Multiwave 3000: Microwave sample preparation, v1.27 ed., Anton Paar GmbH, Graz, 2003, 322 p.

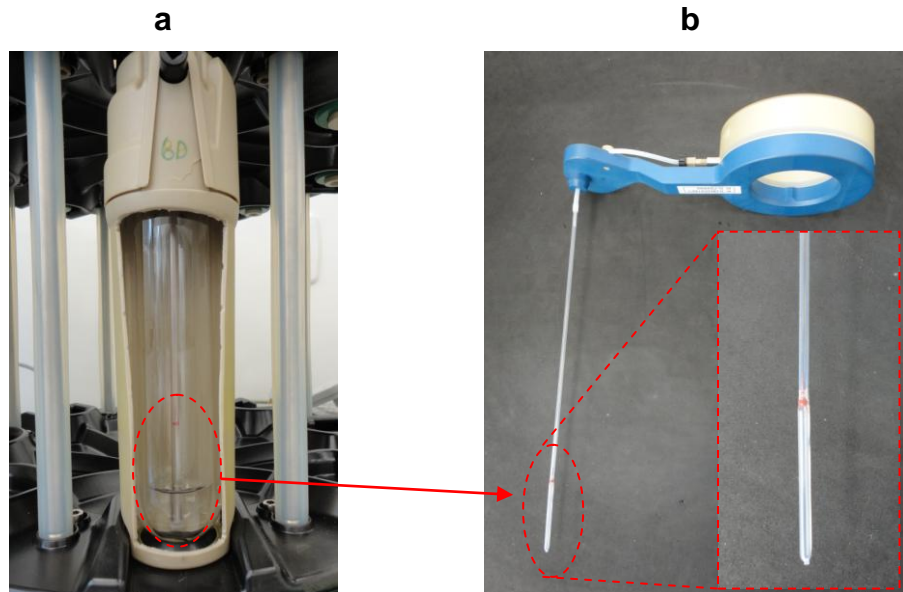
durante eventuais vazamentos ou explosões no interior da cavidade, denominado FAN 3 ( $190 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ ).<sup>87</sup> Desta forma, ao se fazer um procedimento de decomposição com os modos de circulação de ar FAN 2 e 3 ativados durante o ciclo de aquecimento, pretendeu-se induzir uma maior passagem de ar na parte externa do frasco reacional, resultando em um resfriamento mais eficiente do frasco. Desta forma, o procedimento de decomposição foi feito com a utilização do modo de circulação de ar FAN 2 e FAN 3 durante a etapa de aquecimento com radiação micro-ondas. As demais condições de temperatura, pressão, potência e tempo de aquecimento (incluindo o tempo de rampa) foram mantidas conforme descrito anteriormente (Tabela 2). Os resultados obtidos para a determinação de RCC neste estudo foram comparados aos resultados obtidos pelo método de decomposição com circulação de ar FAN 1, normalmente empregado. Na Figura 2 está demonstrado como a corrente de ar gerada pelos modos de circulação de ar (FAN 1, 2 e 3) passa pela parte externa dos frascos de reação, entre a capa de polietereftercetona (PEEK) e o frasco de quartzo.



**Figura 2.** a) Frasco reacional com capa de PEEK com indicações dos orifícios de entrada e saída de ar durante a circulação de ar. b) Esquema da corrente de ar utilizada para dissipação de calor do frasco reacional (adaptado de Zischka et al.<sup>86</sup>).

Adicionalmente, a temperatura da interface solução/fase gasosa foi medida com a utilização de um sensor (T-probe, Cat No 13921, Anton Paar), que foi posicionado no interior do frasco de decomposição através de uma tampa com um tubo de imersão (immersion tube with seal XQ, Cat No 13924, Anton Paar),

comercialmente desenvolvida para este fim. A temperatura foi medida durante o ciclo de aquecimento (decomposição de 500 mg de leite em pó integral com 6 mL de  $\text{HNO}_3$  2 mol  $\text{L}^{-1}$  e 7,5 bar de  $\text{O}_2$ ) com os modos de circulação de ar FAN 1 e 3. O posicionamento do tubo sensor de temperatura no interior do frasco de decomposição pode ser visto na Figura 3.

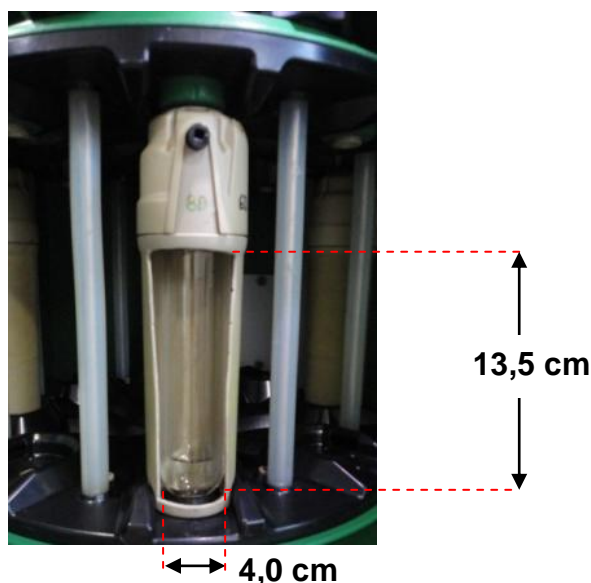


**Figura 3.** a) Sensor de temperatura e tubo de imersão posicionados no frasco de decomposição e, b) sensor de temperatura (T-probe). No detalhe é mostrado o bulbo de vidro sensível à variação de temperatura.

#### 3.5.4.2 Avaliação do gradiente de temperatura por termografia

A avaliação do gradiente de temperatura durante a etapa de aquecimento com radiação micro-ondas foi feita com o auxílio de uma câmera de infravermelho. Para este estudo, foi feita uma adaptação no sistema comercial de decomposição que possibilitou a captura da imagem da superfície da parede de quartzo do frasco reacional, conforme mostra a Figura 4. A capa de PEEK, utilizada para fixação do frasco de quartzo no rotor, foi recortada para que a parede de quartzo do copo de decomposição ficasse exposta. Como este material é transparente à radiação micro-ondas, considerou-se que esta adaptação não alterou a intensidade de radiação micro-ondas que entrou em contato com a solução utilizada no interior do

frasco de quartzo. Ainda, para o estudo termográfico, a câmera foi inicialmente calibrada para que a emissividade do quartzo fosse considerada. A emissividade do quartzo, determinada nas temperaturas de 100, 150 e 200 °C, foi de 0,76, sendo efetuada através da comparação direta com a medida de temperatura obtida empregando-se um termopar tipo K. Para tanto, os frascos foram acondicionados em estufa por 1 h nas temperaturas citadas anteriormente.



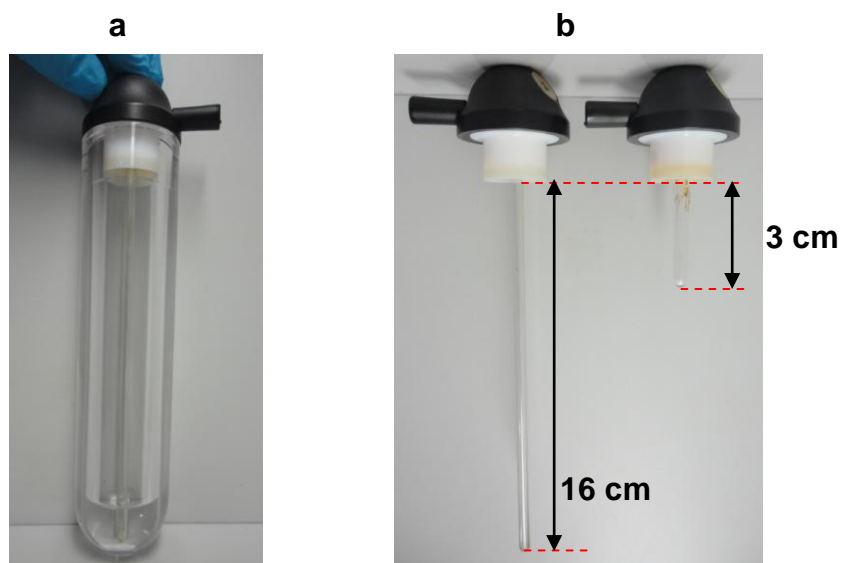
**Figura 4.** Frasco reacional posicionado no rotor com adaptação feita para obtenção de imagem térmica da superfície da parede de quartzo (para esta adaptação, a capa de PEEK foi recortada).

As imagens térmicas foram obtidas após 0, 2,5, 5 e 7,5 min de aquecimento com radiação micro-ondas. Após o tempo de decomposição selecionado, o programa de aquecimento foi parado e a imagem térmica foi obtida o mais breve possível. Para o tempo de aquecimento seguinte, uma nova massa de amostra foi pesada e colocada no interior do frasco de reação, seguida da adição de uma nova mistura reacional. Este estudo foi feito com HNO<sub>3</sub> diluído, com atmosfera interna do frasco reacional com pressão de 7,5 bar de O<sub>2</sub>, com 7,5 bar de Ar e com ar à pressão atmosférica. Além disso, para comparação este estudo foi feito com a utilização de HNO<sub>3</sub> concentrado (ar a pressão atmosférica). O modo de circulação de ar interno na cavidade de micro-ondas mais brando (FAN 1) foi utilizado para este estudo. A obtenção das imagens térmicas também foi feita com a utilização dos

diferentes modos de circulação de ar na cavidade interna do forno de micro-ondas (FAN 2 e 3) para as decomposições com pressão de O<sub>2</sub> e pressão de Ar.

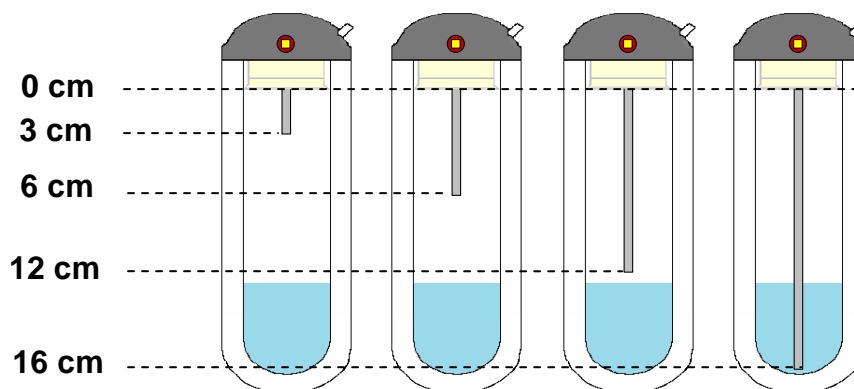
As imagens térmicas também foram obtidas durante a etapa de resfriamento. Este estudo foi feito somente para o procedimento de decomposição com aquecimento micro-ondas com circulação de ar no modo FAN 1 (durante a etapa de aquecimento). As imagens térmicas foram obtidas após 2,5, 5, 7,5, 10, 12,5 e 15 min de resfriamento. Durante o resfriamento, o sistema de circulação de ar operou no modo FAN 2, conforme utilizado ao longo deste trabalho.

As imagens térmicas obtidas durante a etapa de aquecimento (2,5, 5 e 7,5 min, circulação de ar no modo FAN 1), foram comparadas com as medições de temperatura no interior do frasco reacional obtidas com a utilização de um termopar inserido no interior de uma tubo de quartzo (inserção), posicionada no interior do frasco de decomposição. Este estudo foi feito com a utilização de uma tampa com um tubo de imersão de quartzo no interior do frasco reacional, comercialmente disponível para a medição de temperatura na fase líquida. Para que diferentes regiões no interior do frasco reacional fossem avaliadas, o tubo de imersão de quartzo foi adaptado em diferentes tamanhos. O tamanho original do tubo de imersão (16 cm) foi utilizado para medir a temperatura da solução no fundo do frasco de decomposição. Após, o tubo de imersão foi cortado no Laboratório de Hialotecnica da UFSM, nos tamanhos de 12, 6 e 3 cm (Figura 5).



**Figura 5.** Sistema para medição de temperatura com utilização de termopar para: a) tampa com tubo de imersão de quartzo posicionada no frasco reacional; e, b) tampa com tubo de imersão comercial (esquerda) e com comprimento de 3 cm (direita).

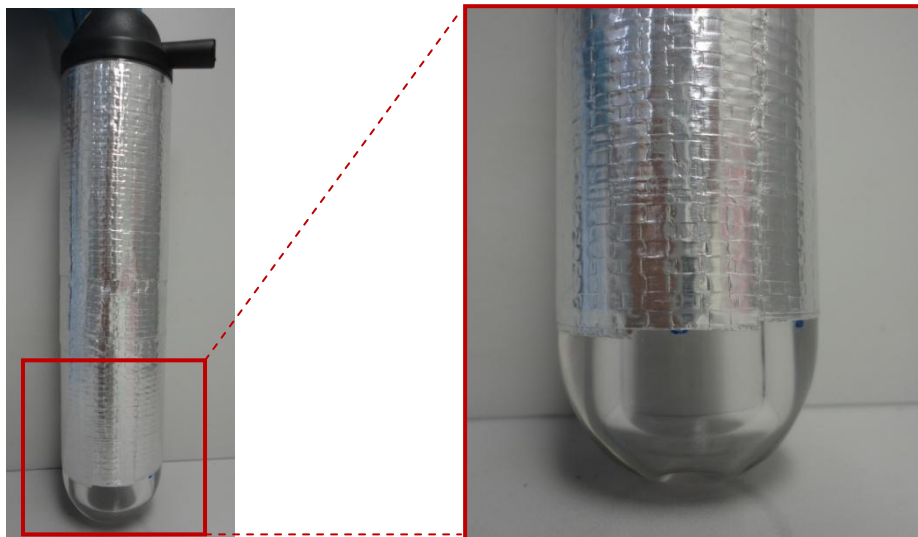
Nas dimensões de 12, 6 e 3 cm do tubo de imersão, o termopar foi introduzido no frasco reacional para medição da temperatura em diferentes regiões da fase gasosa, como pode ser observado na Figura 6.



**Figura 6.** Frasco reacional com tubo de imersão utilizado para medição da temperatura na fase líquida (16 cm) e três regiões da fase gasosa (3, 6 e 12 cm). A temperatura foi medida com a utilização de um termopar. Cada região do frasco reacional teve a temperatura medida nos tempos de 2,5, 5 e 7,5 min.

### 3.5.5 Avaliação da influência da interação da radiação micro-ondas com a fase gasosa durante a etapa de decomposição

No decorrer deste trabalho, verificou-se a necessidade de se avaliar a magnitude da interação da radiação micro-ondas com a fase gasosa durante a etapa de aquecimento. Este estudo foi feito com a utilização de um programa de decomposição conforme os parâmetros previamente mencionados para a amostra de leite em pó integral (somente com utilização de oxigênio como reagente auxiliar, item 3.5.2 Avaliação da pressão de  $O_2$  e composição da fase gasosa). Para que este estudo fosse possível, a parede externa do frasco de quartzo foi recoberta com uma fita adesiva de alumínio na região da fase gasosa, imediatamente acima do nível da solução, conforme mostra a Figura 7. Este recobrimento com papel alumínio atuou como uma barreira física para as micro-ondas, uma vez que o alumínio é um material que reflete radiação neste comprimento de onda. Previamente à colocação da fita de alumínio na parte externa do frasco de decomposição, a fita de alumínio foi colocada ao redor de um béquer de vidro, contendo água, o qual foi aquecido em um forno de micro-ondas doméstico. Este teste foi feito para verificar se a interação da radiação micro-ondas com a fita metálica não resultaria em faíscas no interior da cavidade do forno.



**Figura 7.** Copo de quartzo recoberto com fita adesiva de alumínio na altura da fase gasosa. No detalhe, é possível observar a janela para interação da radiação micro-ondas com a solução absorvedora de radiação.

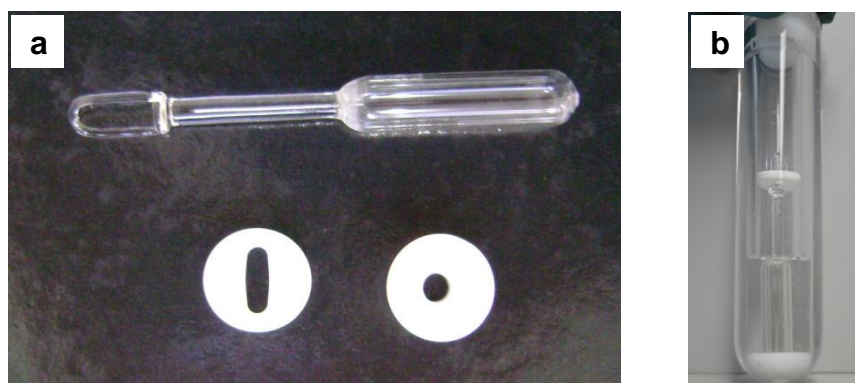


Desta forma, foi possível verificar a eficiência do procedimento de decomposição com e sem a interação da radiação micro-ondas com a fase gasosa interna ao frasco de decomposição. Em um primeiro momento, o procedimento de decomposição com o frasco recoberto com alumínio foi feito no tempo de 15 min (5 min de rampa e 10 min de permanência), conforme programa de aquecimento feito para as demais avaliações. Este estudo foi feito com solução  $2 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{HNO}_3$  (6 mL) e 500 mg de leite em pó. Foi avaliada a influência da decomposição com ar à pressão atmosférica (21% de  $\text{O}_2$ ), com pressão de  $\text{O}_2$  (7,5 bar) e de Ar (7,5 bar). Após este experimento, o frasco recoberto com fita de alumínio foi aquecido por radiação micro-ondas por 45 min (frasco de decomposição pressurizado com  $\text{O}_2$  e com ar à pressão atmosférica). Por fim, foram fixadas as condições de temperatura máxima de aquecimento do sistema ( $220 \text{ }^\circ\text{C}$ ), tempo de permanência na temperatura máxima (8 min) e pressão máxima (80 bar), para que as decomposições feitas com recobrimento com fita de alumínio (atmosfera do frasco com ar à pressão atmosférica e pressão de  $\text{O}_2$ ) e decomposição feita sem recobrimento de fita de alumínio (atmosfera do frasco com 7,5 bar de  $\text{O}_2$ ) fossem comparadas nas mesmas condições experimentais.

### **3.5.6 Avaliação da decomposição assistida por radiação UV com $\text{HNO}_3$ diluído e utilização de $\text{O}_2$ e $\text{H}_2\text{O}_2$ como reagentes auxiliares**

Para a avaliação da utilização de lâmpadas UV para foto-oxidação empregando  $\text{HNO}_3$  diluído e  $\text{O}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}_2$  como reagentes auxiliares, foram utilizadas amostras de leite em pó desnatado, amido de batata e cloridrato de imipramina (fármaco com três anéis aromáticos condensados). A foto-oxidação foi feita com a utilização de lâmpadas de irradiação UV de vapor de cádmio (1 mg) de baixa pressão preenchida com argônio (4 mbar), assistida por radiação micro-ondas, como descrito no trabalho de Knapp et al.<sup>31</sup> Os principais comprimentos de onda emitidos pela lâmpada são 228 e 326 nm. A intensidade de irradiação emitida pela lâmpada, durante o aquecimento micro-ondas, varia de 1 a 10 W. Para o posicionamento da lâmpada de emissão UV no frasco de decomposição, foi utilizado um anel de PTFE (posicionado na parte inferior do frasco) e outro anel de

PTFE posicionado na parte superior da lâmpada. A lâmpada de emissão UV e os discos de PTFE, assim como o posicionamento dentro do frasco de decomposição, podem ser observados na Figura 8.



**Figura 8.** (a) Lâmpada de Cd de baixa pressão (e dispositivos de PTFE) utilizada para a decomposição das amostras e (b) frasco de decomposição contendo a lâmpada de Cd para emissão de radiação UV.

O programa de aquecimento utilizado com base no trabalho de Knapp et al.,<sup>31</sup> está mostrado na Tabela 3. Ao término do programa de decomposição, os digeridos foram transferidos para frascos de polipropileno e avolumados com água até o volume de 30 mL.

**Tabela 3.** Programa de aquecimento utilizado para a decomposição foto-oxidativa das amostras de leite em pó desnatado, amido de batata e cloridrato de imipramina, por via úmida assistida por radiação micro-ondas com HNO<sub>3</sub> diluído.

Etapa	Potência, W	Rampa, min	Tempo, min	FAN
1	1000	-	30	1
2	0	-	20	2

Algumas adaptações foram feitas, referentes ao trabalho desenvolvido por Knapp et al.,<sup>31</sup> para adequar o sistema de decomposição à utilização das lâmpadas de UV. As amostras (100 mg), foram transferidas para o frasco de decomposição (com o disco de PTFE previamente posicionado no frasco). Todas as otimizações foram feitas com a utilização de 100 µL de HNO<sub>3</sub> concentrado e o volume de

solução foi de 15 mL (volume mínimo para cobrir todo o bulbo da lâmpada UV). Quando o sistema foi pressurizado com O<sub>2</sub>, foram utilizados 100 µL de HNO<sub>3</sub> concentrado e o volume de 15 mL de solução foi completado com água purificada. Nos estudos que envolveram a utilização de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 2 mL deste reagente foram adicionados ao frasco de decomposição, além dos 100 µL de HNO<sub>3</sub>, seguidos da adição de água (12,9 mL) para completar os 15 mL de solução. Nestas condições, a concentração do HNO<sub>3</sub> sempre foi de 0,093 mol L<sup>-1</sup>.

Foram avaliadas condições de decomposição com e sem a utilização da lâmpada UV. Para este estudo foram, inicialmente, avaliados os seguintes parâmetros: (i) efeito da adição de 2 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; (ii) efeito da pressurização do sistema com 20 bar de O<sub>2</sub>; e (iii) o efeito da adição de 2 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e pressurização do sistema com de 20 bar de O<sub>2</sub>. Em um segundo momento, a condição com menor valor de RCC obtida no estudo anterior foi avaliada sob as seguintes condições: (i) tempo de decomposição aumentado para 60 min; (ii) decomposição com modo de circulação de ar no modo FAN 3, durante a etapa de aquecimento; (iii) decomposição com HNO<sub>3</sub> e HCl (mistura de 100 µL de cada ácido); e (iv) decomposição sem a adição de ácido (somente H<sub>2</sub>O e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ou O<sub>2</sub>). Adicionalmente, foi feita a determinação de metais nas amostras por ICP OES e ICP-MS. A exatidão do método proposto de foto-oxidação assistida por radiação micro-ondas, em sistema fechado, foi avaliada pela determinação de metais nos CRMs de leite em pó (BCR 151) e músculo bovino (NIST 8414).

### **3.5.7 Determinação de metais nas amostras decompostas por via úmida assistida por radiação micro-ondas com ácido nítrico diluído**

A determinação de metais nos digeridos finais por ICP OES, obtidos nas etapas de otimização das condições experimentais para redução da concentração de HNO<sub>3</sub> (com utilização de O<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> como reagentes auxiliares) e utilização da lâmpada de emissão de radiação UV, foi feita para validação do método de decomposição proposto. Neste caso, foi utilizado um CRM com matriz semelhante a da amostra de leite em pó (BCR 151 *skim milk powder* e SRM NIST 1549 *non-fat*

*milk powder*) e de fígado bovino (SRM NIST 1577 *bovine liver* e SRM NIST 8414 *bovine muscle*).

Para a comparação dos resultados, obtidos pela decomposição com a utilização das lâmpadas de emissão de UV, foram determinados metais nas amostras de amido de batata e leite em pó desnatado (decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas) e na amostra de cloridrato de imipramina (decomposta por MIC). A decomposição por MIC foi feita com base no procedimento descrito por Barin,<sup>88</sup> com 300 mg de amostra, 6 mL de HNO<sub>3</sub> 7 mol L<sup>-1</sup> como solução absorvedora e 5 min de refluxo a 1400 W.

O fluxograma da Figura 9 mostra as avaliações feitas no presente estudo para todos os parâmetros apresentados nesta seção, os quais serão discutidos na seção 4 (*Apresentação e Discussão dos Resultados*).

---

<sup>88</sup> Barin, J. S., Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2003, 115 p.

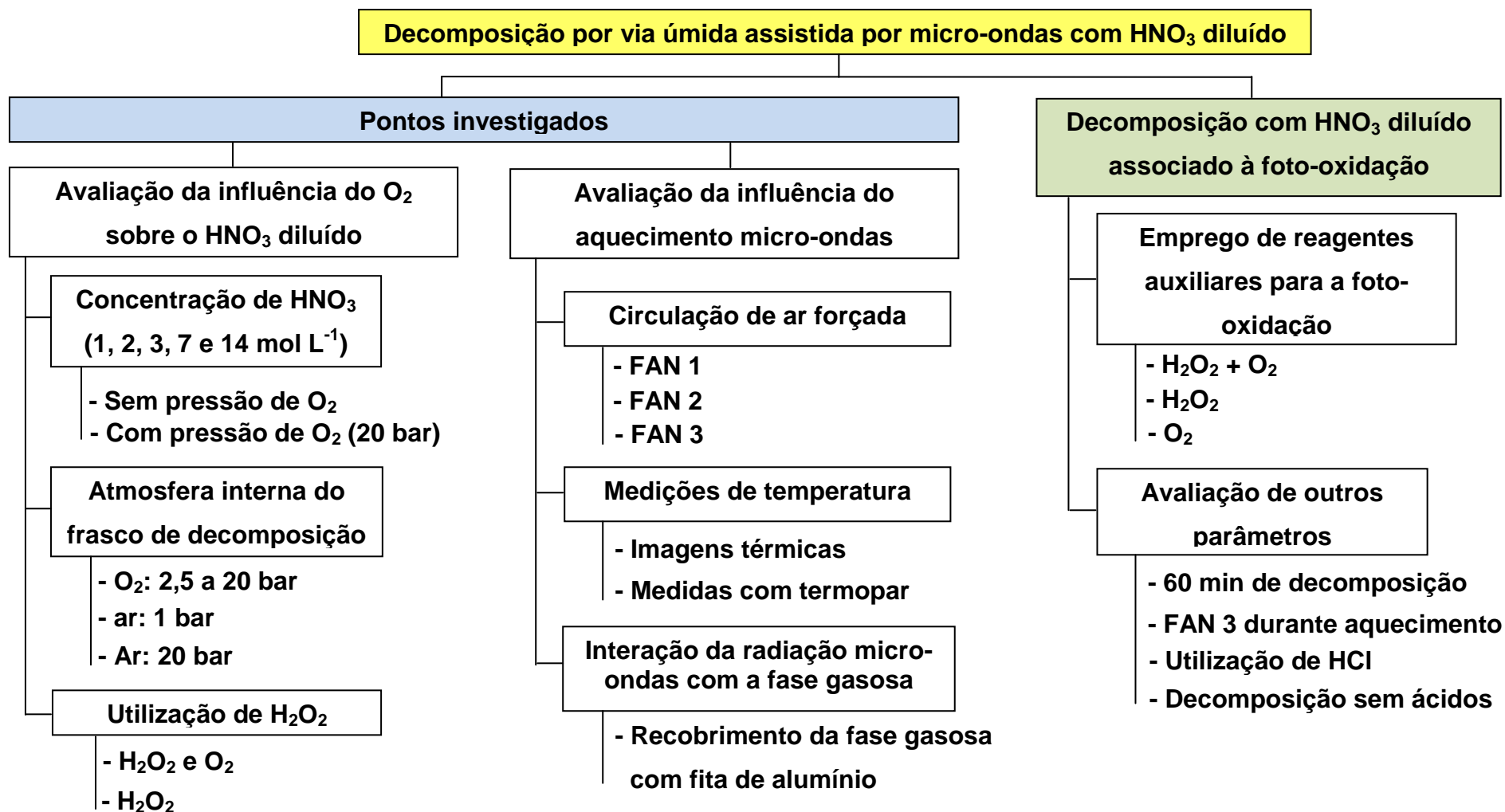


Figura 9. Esquema simplificado dos parâmetros avaliados no presente estudo.

## 4 APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

---

*Neste capítulo serão apresentados os resultados obtidos após a decomposição das amostras por via úmida assistida por micro-ondas com utilização de  $\text{HNO}_3$  diluído. Para facilitar a interpretação dos dados obtidos, os resultados foram divididos em: (i) avaliação do método de decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas com  $\text{HNO}_3$  diluído com utilização de  $\text{O}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}_2$  como reagentes auxiliares, onde foram avaliados alguns parâmetros referentes à influência do  $\text{O}_2$  sobre o mecanismo de regeneração do  $\text{HNO}_3$ ; (ii) avaliação da influência do aquecimento assistido por radiação micro-ondas para a decomposição por via úmida com  $\text{HNO}_3$  diluído, onde se avaliou a influência do gradiente de temperatura sobre as reações de decomposição com solução diluída de  $\text{HNO}_3$ , bem como a influência exercida pela interação da radiação micro-ondas com a fase gasosa no interior do frasco reacional; e, (iii) a viabilidade de utilização de lâmpadas de emissão de radiação UV, com emprego de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e  $\text{O}_2$  como reagente auxiliares, para a decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas em sistema fechado com solução diluída de  $\text{HNO}_3$ .*

#### **4.1 Avaliação do método de decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas empregando HNO<sub>3</sub> diluído com utilização de O<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> como reagentes auxiliares**

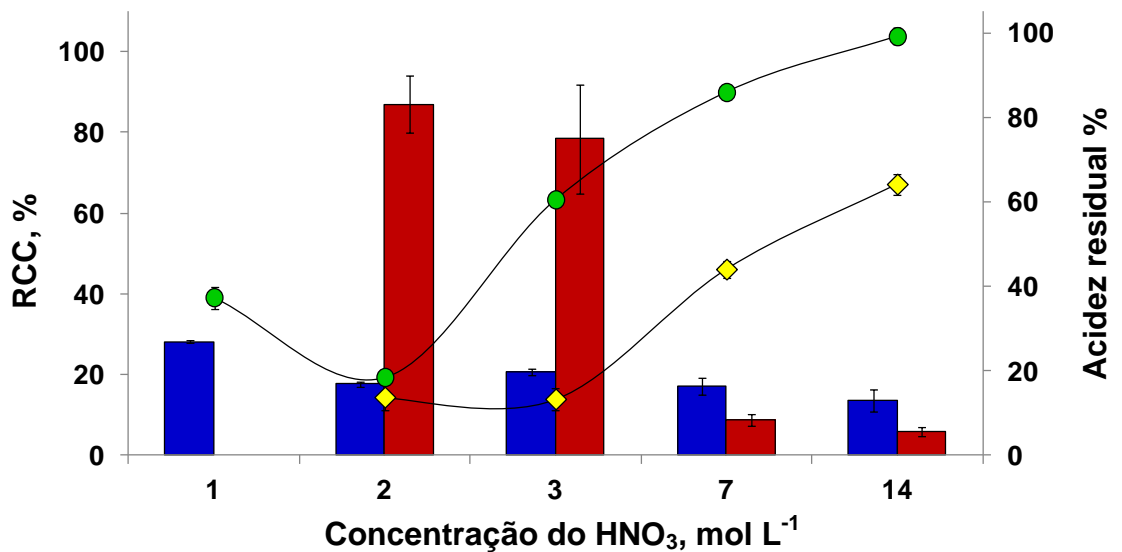
A viabilidade de métodos que possibilitam a decomposição de materiais biológicos, com menores quantidades de HNO<sub>3</sub>, foi avaliada pela utilização de oxigênio e peróxido de hidrogênio como reagentes auxiliares durante a etapa de decomposição. Para que fosse possível mensurar a eficiência de decomposição da matéria orgânica do procedimento proposto, o teor inicial de C foi quantificado nas amostras por análise elementar. A amostra de fígado bovino apresentou teor de 50,6% de C, enquanto a amostra de leite em pó possui teor de 50,3% de C. Desta forma, conforme relatado na literatura,<sup>4,47</sup> a relação obtida entre o teor de C inicial na amostra e a determinação da quantidade de C remanescente na solução obtida após a decomposição pode ser relacionada com a eficiência de oxidação da matéria orgânica e representada na forma de RCC. Adicionalmente, o teor de ácido residual nos digeridos finais (acidez residual) também foi determinado com o intuito de verificar a quantidade de HNO<sub>3</sub> após a decomposição.

##### **4.1.1 Avaliação do efeito da concentração de HNO<sub>3</sub> sobre a eficiência de decomposição**

Inicialmente, foi avaliada a concentração da solução de HNO<sub>3</sub> necessária para decompor 500 mg de amostra de fígado bovino e leite em pó integral. Este estudo foi feito com 6 mL de solução de HNO<sub>3</sub> nas concentrações de 1, 2, 3, 7 e 14 mol L<sup>-1</sup>. Para todas as soluções, foi avaliada a decomposição com a pressurização do frasco com 20 bar de O<sub>2</sub> e sem a adição de O<sub>2</sub> (ar à pressão atmosférica, 1 bar, 21% de O<sub>2</sub>). O aquecimento foi efetuado por 15 min (5 min de rampa de 0 a 1000 W e 10 min a 1000 W), seguida de uma etapa de resfriamento de 20 min (0 W).

Quando 500 mg de leite em pó integral foram decompostos com soluções de HNO<sub>3</sub> de diferentes concentrações, verificou-se que a eficiência de oxidação da matéria orgânica é diretamente dependente da quantidade de oxidante presente no

frasco reacional (Figura 10, barras em vermelho). Quando a decomposição da amostra foi feita com solução de  $\text{HNO}_3$  nas concentrações de 14 e 7 mol  $\text{L}^{-1}$ , observou-se um aspecto límpido nos digeridos finais e os valores de RCC foram de  $5,8 \pm 1,1$  e  $8,7 \pm 1,4\%$ , respectivamente. No entanto, a mesma eficiência de decomposição não foi observada com soluções de  $\text{HNO}_3$  de menores concentrações de. Quando solução de  $\text{HNO}_3$  3 mol  $\text{L}^{-1}$  foi utilizada, o digerido final apresentou um aspecto amarelado, o que foi considerado um forte indício de que a decomposição não havia sido eficiente. Esta baixa eficiência de decomposição foi comprovada pela determinação de RCC ( $78,0 \pm 13,5\%$ ). Quando a decomposição foi feita com  $\text{HNO}_3$  2 mol  $\text{L}^{-1}$  o digerido final apresentou uma coloração marrom claro e sólidos residuais, provenientes da amostra não decomposta (RCC foi de  $104,9 \pm 2,0\%$ ). Não foram observados indícios de oxidação da matéria orgânica quando  $\text{HNO}_3$  1 mol  $\text{L}^{-1}$  foi utilizado e, por isso, nesta condição, não foi feita a determinação de RCC.



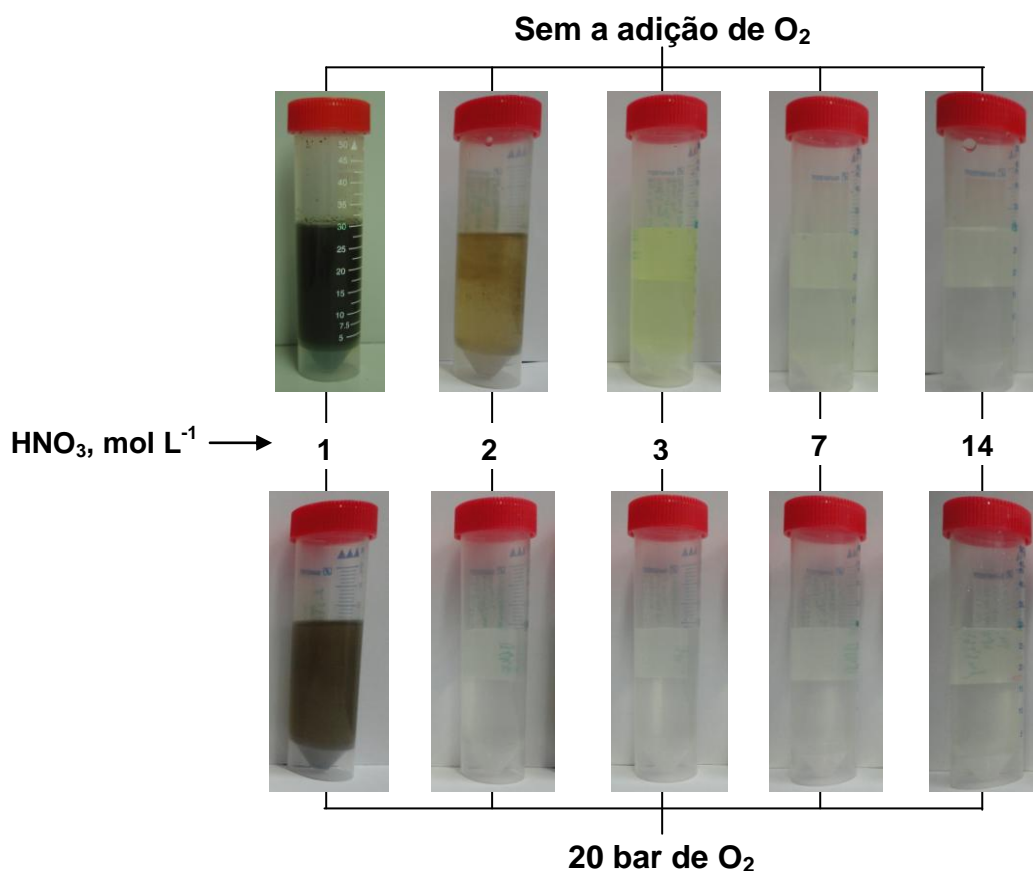
**Figura 10.** Avaliação da influência da concentração da solução de  $\text{HNO}_3$  para a decomposição de leite em pó integral (500 mg): (■) RCC após a decomposição feita com 20 bar de  $\text{O}_2$ ; (■) RCC após a decomposição feita sem a adição de  $\text{O}_2$  (ar à pressão atmosférica, 1 bar, 21% de  $\text{O}_2$ ); (●) acidez residual referente à decomposição feita com 20 bar de  $\text{O}_2$ ; e, (◆) acidez residual referente à decomposição feita sem a adição de  $\text{O}_2$ .

Com base nos trabalhos envolvendo a utilização de soluções diluídas de  $\text{HNO}_3$ ,<sup>15,16,49,81</sup> pode-se inferir que a presença de oxigênio no frasco reacional seja



um dos fatores responsáveis pela regeneração do  $\text{HNO}_3$ , possibilitando a utilização deste reagente em menores concentrações. Neste estudo, as diferentes concentrações da solução de  $\text{HNO}_3$ , foram avaliadas com a utilização do frasco reacional pressurizado com 20 bar de oxigênio (Figura 10, barras em azul). Quando a decomposição foi feita com  $\text{HNO}_3$  2, 3, 7 e 14 mol  $\text{L}^{-1}$ , foi observado que os digeridos finais apresentavam um aspecto límpido, com RCC de  $17,6 \pm 0,6\%$ ,  $20,6 \pm 0,8$ ,  $17,2 \pm 2,0$  e  $13,6 \pm 2,8$ , respectivamente. A utilização de  $\text{HNO}_3$  1 mol  $\text{L}^{-1}$  resultou em um digerido final com coloração marrom escuro e material particulado em suspensão (RCC de  $28,1 \pm 0,3\%$ ).

Além da determinação do RCC, a determinação da acidez residual na amostra de leite em pó integral também foi feita (Figura 10, linhas com pontos amarelos). Para o procedimento feito sem a utilização de oxigênio como reagente auxiliar, foi observado que o teor de ácido residual (calculado com base na concentração inicial de  $\text{HNO}_3$ ) foi de  $64,1 \pm 2,5\%$  e  $43,9 \pm 2,0\%$  quando a decomposição foi feita com  $\text{HNO}_3$  14 e 7 mol  $\text{L}^{-1}$ , respectivamente. O teor residual de ácido apresentou valores inferiores a 14% quando soluções de  $\text{HNO}_3$  3 e 2 mol  $\text{L}^{-1}$  foram empregadas para a decomposição de fígado bovino (13,2% e 13,6% respectivamente). No entanto, quando a decomposição foi feita com a utilização de oxigênio como reagente auxiliar, pode-se observar um aumento considerável na acidez residual (Figura 10, linhas com pontos verdes). Para os procedimentos que utilizaram solução de  $\text{HNO}_3$  14 e 7 mol  $\text{L}^{-1}$ , os valores de acidez residual foram de  $99,1 \pm 2,0$  e  $85,9 \pm 1,5\%$ , respectivamente. A decomposição com  $\text{HNO}_3$  3 mol  $\text{L}^{-1}$  resultou em uma acidez residual de  $60,4 \pm 1,0\%$  e com a utilização de solução 2 mol  $\text{L}^{-1}$  de  $\text{HNO}_3$  a acidez foi de  $18,4 \pm 1,0\%$ . É válido ressaltar que nesta concentração do ácido, a decomposição foi considerada eficiente, resultando em um digerido final límpido com RCC menor do que 20%. Com o emprego de solução 1 mol  $\text{L}^{-1}$  de  $\text{HNO}_3$  a acidez residual foi de  $37,3 \pm 2,6\%$ . O aspecto final dos digeridos pode ser observado na Figura 11.



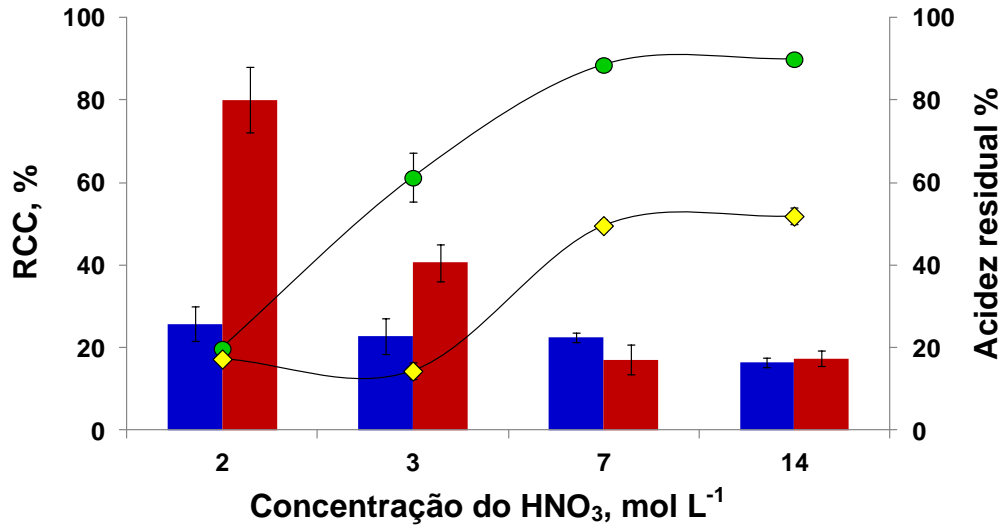
**Figura 11.** Aspecto dos digeridos finais para decomposição de leite em pó integral (500 mg) com soluções de  $\text{HNO}_3$  de diferentes concentrações: as imagens da parte superior são referentes à decomposição feita sem adição de  $\text{O}_2$  (ar à pressão atmosférica, 1 bar, 21% de  $\text{O}_2$ ); as imagens da parte inferior são referentes à decomposição feita com pressão de  $\text{O}_2$  (20 bar).

O estudo acima empregando a amostra de leite em pó integral também foi feito com a amostra de fígado bovino. A decomposição foi feita com a utilização de 500 mg de amostra que foram oxidados com 6 mL de solução de  $\text{HNO}_3$ , com diferentes concentrações (1, 2, 3, 7 e  $14 \text{ mol L}^{-1}$ ). Os resultados obtidos para esta matriz, referentes à determinação do RCC e a acidez residual, podem ser observados na Tabela 4.

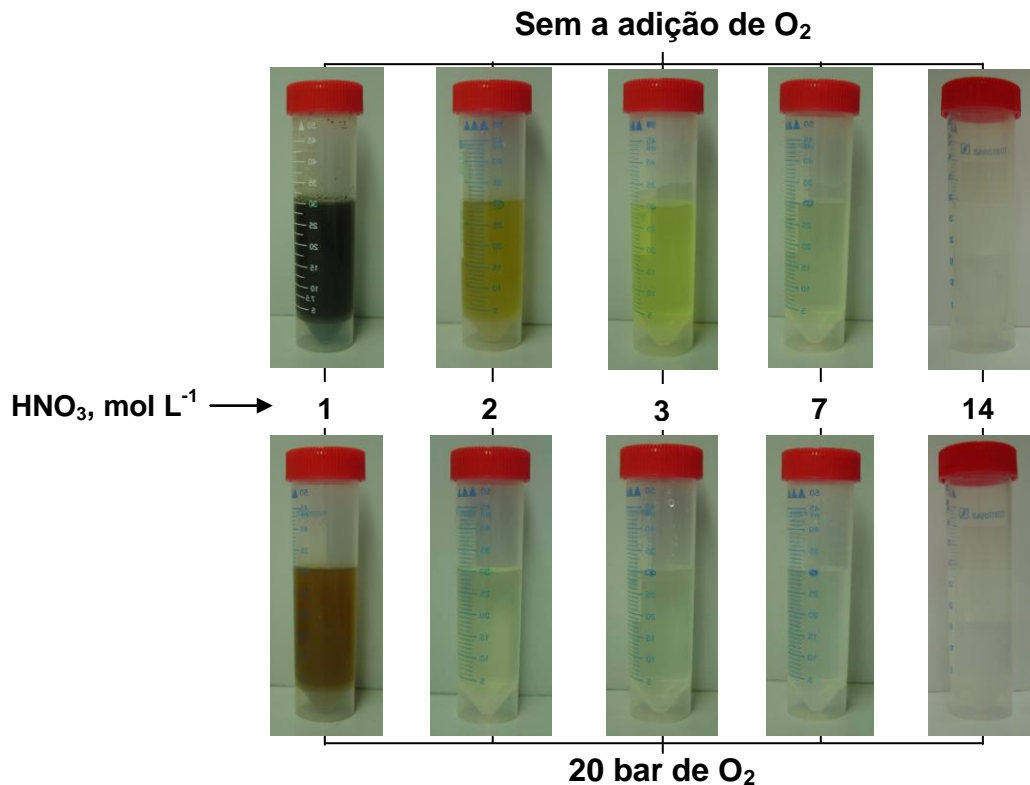
**Tabela 4.** Eficiência de decomposição de fígado bovino (500 mg) com soluções de HNO<sub>3</sub> de diferentes concentrações, com adição de O<sub>2</sub> (20 bar) e sem adição de O<sub>2</sub> (ar à pressão atmosférica, 1 bar, 21% de O<sub>2</sub>).

Fase gasosa	HNO <sub>3</sub> , mol L <sup>-1</sup>	RCC, %	Aspecto final do digerido	Acidez residual, %
ar, 1 bar	1	-	material sólido suspenso	23,5 ± 3,3
	2	-	material sólido suspenso	17,4 ± 0,1
	3	40,5 ± 4,5	Amarelado	14,5 ± 2,0
	7	17,5 ± 3,6	Límpido	49,7 ± 1,4
	14	16,9 ± 2,3	Límpido	52,0 ± 2,0
O <sub>2</sub> , 20 bar	1	-	material sólido suspenso	21,5 ± 0,9
	2	25,8 ± 4,3	Límpido	19,9 ± 1,0
	3	22,7 ± 4,3	Límpido	61,3 ± 6,0
	7	22,5 ± 1,2	Límpido	88,6 ± 0,4
	14	17,3 ± 1,1	Límpido	90,0 ± 0,7

A determinação do RCC e da acidez residual para a amostra de fígado bovino apresentou resultados semelhantes aos obtidos para a amostra de leite em pó integral. O gráfico que ilustra a semelhança entre os resultados de RCC e acidez residual para a amostra de fígado bovino pode ser observado na Figura 12. Do mesmo modo, o aspecto dos digeridos finais pode ser observado na Figura 13.

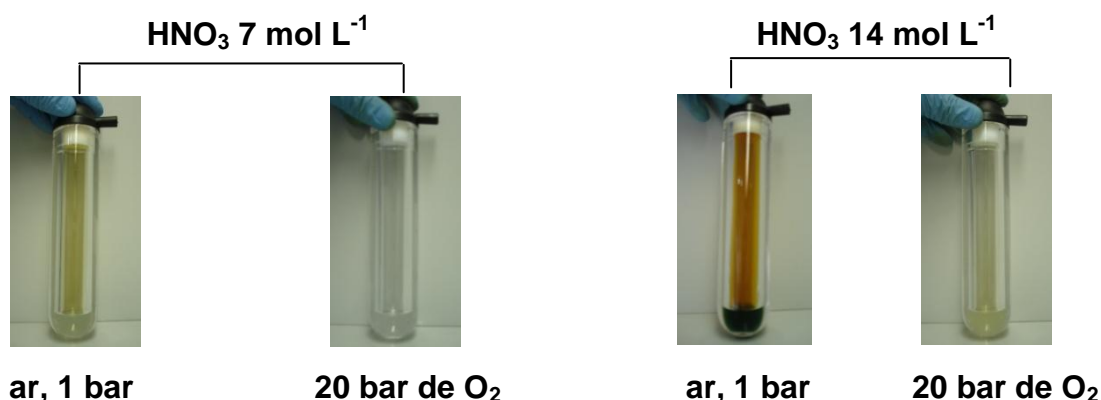


**Figura 12.** Avaliação da influência da concentração de HNO<sub>3</sub> na decomposição de fígado bovino (500 mg): (■) RCC obtido após a decomposição com 20 bar de O<sub>2</sub>; (■) RCC após a decomposição sem a adição de O<sub>2</sub> (ar à pressão atmosférica, 21% de O<sub>2</sub>); (●) acidez residual após a decomposição com 20 bar de O<sub>2</sub>; e, (◆) acidez residual após a decomposição sem a adição de O<sub>2</sub>.



**Figura 13.** Aspecto dos digeridos finais para decomposição de fígado bovino (500 mg) com soluções de HNO<sub>3</sub> de diferentes concentrações: as imagens da parte superior são referentes à decomposição sem a adição de O<sub>2</sub> (ar à pressão atmosférica, 1 bar, 21% de O<sub>2</sub>); as imagens da parte inferior são referentes à decomposição com pressão de O<sub>2</sub> (20 bar).

Os resultados obtidos após a otimização da concentração da solução de  $\text{HNO}_3$ , utilizado para decomposição de leite em pó integral e fígado bovino, mostram que é possível decompor até 500 mg de ambas as amostras com solução de  $\text{HNO}_3$   $7 \text{ mol L}^{-1}$ , sem reagentes adicionais. Por outro lado, quando o frasco reacional foi pressurizado com oxigênio (20 bar), foi possível decompor a mesma massa de amostra com solução de  $\text{HNO}_3$   $2 \text{ mol L}^{-1}$ . Nestas condições, a decomposição foi considerada eficiente com RCC inferior a 23% (com utilização de  $\text{HNO}_3$   $2 \text{ mol L}^{-1}$  e 20 bar de  $\text{O}_2$ ). Estes resultados foram semelhantes aos RCC relatados na literatura para amostras biológicas ( $< 30\%$ ).<sup>46,50,80</sup> Adicionalmente, com o uso de  $\text{HNO}_3$   $2,0 \text{ mol L}^{-1}$  e pressurização com  $\text{O}_2$ , a acidez final foi inferior à obtida com a decomposição utilizando solução de  $\text{HNO}_3$   $7 \text{ mol L}^{-1}$  sem adição de  $\text{O}_2$ . Observou-se que a decomposição feita com a utilização de 20 bar de  $\text{O}_2$  resultou em maior eficiência para a decomposição da matéria orgânica com solução diluída de  $\text{HNO}_3$ . Além dos baixos valores de RCC, observou-se que a acidez residual, determinada nos digeridos finais, aumentou com a adição de oxigênio como reagente auxiliar e com o aumento da concentração de  $\text{HNO}_3$ . Comparando uma mesma concentração de  $\text{HNO}_3$ , os valores de acidez residual foram superiores quando o sistema foi pressurizado com  $\text{O}_2$ , o que corrobora o mecanismo de regeneração de  $\text{HNO}_3$  dentro do frasco reacional com a presença de oxigênio. Outro indício de que o mecanismo de regeneração esteja ocorrendo é o aspecto da fase gasosa do frasco reacional ao término da etapa de resfriamento do procedimento de decomposição (Figura 14). Quando a decomposição foi feita sem adição de  $\text{O}_2$ , fumos de coloração marrom intensa eram observados (característicos de  $\text{NO}_2$ ). A intensidade dos fumos diminuiu com a diminuição da concentração do  $\text{HNO}_3$ . No entanto, quando a decomposição foi feita com pressão inicial de oxigênio, em nenhum momento os fumos de  $\text{NO}_2$  foram observados. Este aspecto pode ser explicado pela absorção destas espécies pela fase aquosa, o que está de acordo com o mecanismo de regeneração do  $\text{HNO}_3$ .



**Figura 14.** Frasco de decomposição imediatamente após o programa de resfriamento, para as decomposições com adição de O<sub>2</sub> (20 bar) e sem adição de O<sub>2</sub> (ar à pressão atmosférica, 1 bar, 21% de O<sub>2</sub>), para a decomposição de 500 mg de leite em pó integral.

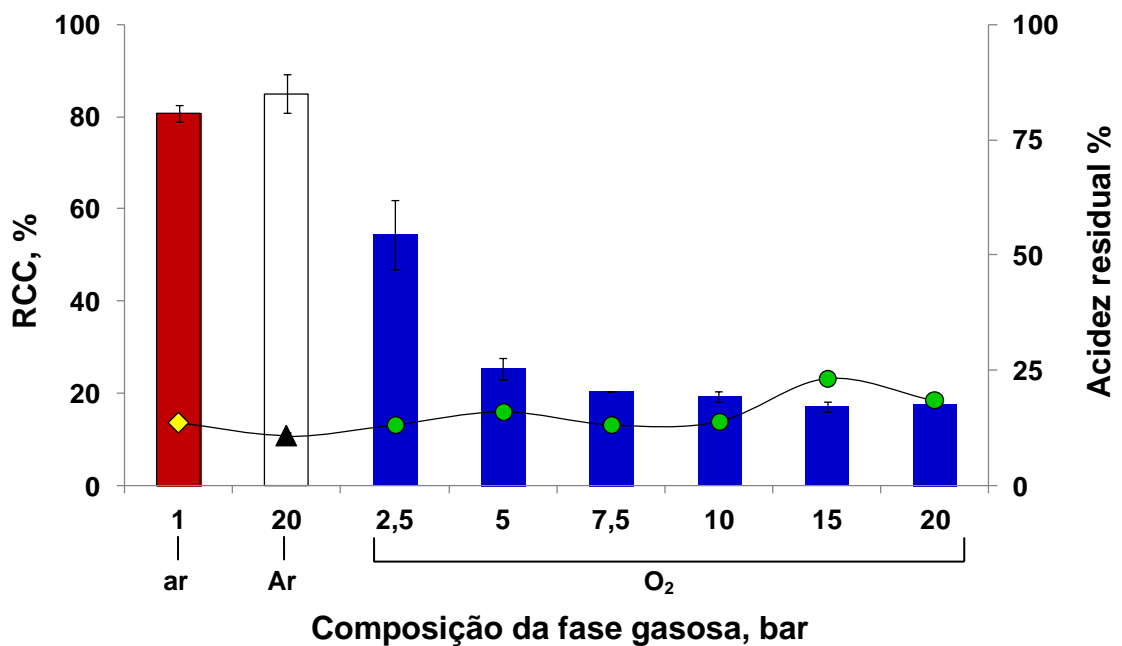
#### 4.1.2 Avaliação da composição da fase gasosa com diferentes quantidades de O<sub>2</sub> e presença de gás inerte

Com base nos dados obtidos no estudo da concentração de HNO<sub>3</sub> utilizada para decomposição das matrizes biológicas, sem alteração da atmosfera interna do frasco reacional e com adição de O<sub>2</sub> (20 bar), é possível inferir que a presença de O<sub>2</sub> potencializou a ação oxidante do HNO<sub>3</sub>, possivelmente pelo mecanismo de regeneração proposto nas Equações de 2 a 5 (item 2.3.1 *Reações de regeneração do ácido nítrico*, p. 33).

Desta forma, foi feita a avaliação da influência de diferentes quantidades de oxigênio sobre a eficiência de decomposição de leite em pó integral e fígado bovino (500 mg), empregando solução 2 mol L<sup>-1</sup> de HNO<sub>3</sub> e aquecimento assistido por micro-ondas, nas mesmas condições previamente utilizadas. Para este estudo, os resultados de RCC e acidez residual, obtidos através decomposição com pressão de O<sub>2</sub> (20 bar, 1,96 g), foram comparados com a decomposição feita com menores quantidades de O<sub>2</sub> dentro do frasco reacional. Desta forma, pressões de 2,5, 5, 7,5, 10 e 15 bar de oxigênio foram utilizadas no interior do frasco reacional, que equivalem às quantidades de oxigênio de 0,24, 0,48, 0,72, 0,97, e 1,46 g, respectivamente. Para comparação, foram feitas decomposições sem modificação

da atmosfera interna (sem adição de  $O_2$ , somente a presença do ar na pressão atmosférica no momento do fechamento do frasco) e com a adição de um gás inerte (Ar), mantendo-se iguais as demais condições experimentais.

Quando a amostra de leite em pó integral foi decomposta com  $HNO_3$  2 mol  $L^{-1}$  sob pressão de  $O_2$  de 7,5, 10 e 15 bar, os valores de RCC foram sempre inferiores a 22%, como pode ser observado na Figura 15 (barras em azul) (RCC foi de  $21,7 \pm 0,1$ ,  $19,2 \pm 1,1$  e  $17,0 \pm 1,1\%$ , respectivamente). Para estas condições de pressão de oxigênio, assim como obtido com 20 bar de  $O_2$  (RCC foi de  $17,6 \pm 0,6\%$ ), os aspectos finais dos digeridos de leite em pó integral foram sempre límpidos. No entanto, quando a decomposição foi feita com pressões de 2,5 e 5 bar de  $O_2$ , os valores de RCC foram superiores (RCC foi de  $54,3 \pm 7,6$  e  $25,5 \pm 2,4$ , respectivamente). Ademais, uma leve coloração amarelada foi observada quando pressão de 2,5 bar de  $O_2$  foi utilizada.

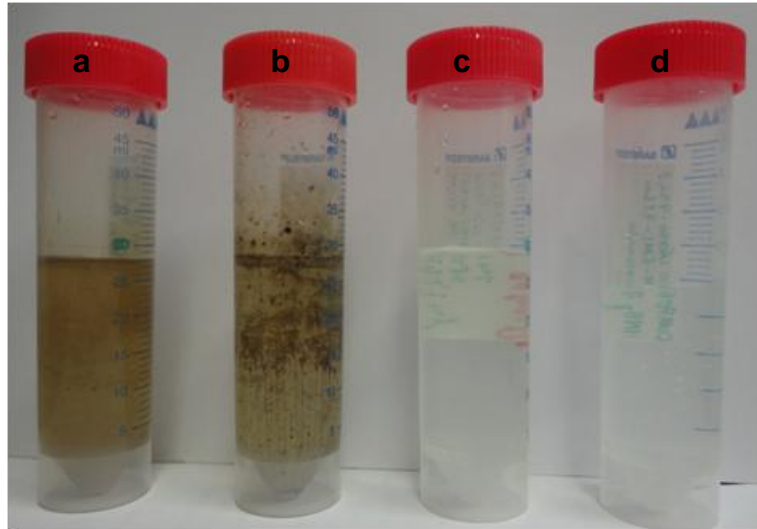


**Figura 15.** Influência da fase gasosa na eficiência de decomposição de leite em pó integral (500 mg) com  $HNO_3$  2 mol  $L^{-1}$ . As barras representam os valores de RCC após a decomposição, para atmosfera interna do frasco reacional com: (■) pressão de  $O_2$ ; (□) pressão de Ar; e, (■) sem adição de  $O_2$  ou Ar (ar à pressão atmosférica, 1 bar, 21% de  $O_2$ ). As linhas representam a acidez residual para os resultados obtidos com a atmosfera interna do frasco reacional com: (●) pressão de  $O_2$ ; (▲) pressão de Ar; e, (◆) sem adição de  $O_2$  ou Ar (ar à pressão atmosférica, 1 bar, 21% de  $O_2$ ).

Pode-se observar que a eficiência de decomposição da amostra de leite em pó integral com solução de  $\text{HNO}_3$   $2 \text{ mol L}^{-1}$  não foi afetada pela pressão de oxigênio no frasco de decomposição. No entanto, quando a pressão de oxigênio foi igual ou menor que 5 bar, notou-se uma tendência na redução da eficiência de decomposição da amostra pela solução de  $\text{HNO}_3$  utilizada, evidenciada pelo aumento do resultado para RCC.

Adicionalmente, quando a atmosfera interna do frasco de digestão foi pressurizada com 20 bar de Ar (Figura 15, barra em branco), a decomposição da amostra foi incompleta. O digerido final obtido com estas condições apresentou uma coloração levemente marrom na solução, além de material sólido aderido as paredes do frasco. Este resultado, obtido com a utilização de pressão de Ar corrobora o mecanismo de regeneração do  $\text{HNO}_3$  por dois motivos: (i) a utilização do frasco reacional inicialmente pressurizado não foi o fator que contribuiu para o aumento da ação oxidante da solução diluída de  $\text{HNO}_3$ ; (ii) a presença de um gás inerte não resultou na mesma eficiência de decomposição obtida com a mesma pressão de  $\text{O}_2$ , possivelmente por não permitir o ciclo de regeneração do  $\text{HNO}_3$  (explicado pela sequência de reações apresentadas nas Equações de 2 a 5 (*item 2.3.1 Reações de regeneração do ácido nítrico*)). Ademais, com base nos resultados obtidos pelas diferentes composições de fase gasosa no interior do frasco de digestão, pode-se verificar que o mecanismo de regeneração do  $\text{HNO}_3$  é dependente de uma quantidade mínima de oxigênio. Quando o sistema foi pressurizado com 5 e 2,5 bar de  $\text{O}_2$  (0,48 e 0,24 g de  $\text{O}_2$ , respectivamente), a decomposição da matéria orgânica foi menos eficiente (RCC = 25,3 e 54,3%, respectivamente). De forma semelhante, baixa eficiência de decomposição foi obtida sem adição de pressão de oxigênio, com atmosfera de ar (21%, 0,02 g de  $\text{O}_2$ ). O aspecto final dos digeridos obtidos pela decomposição de leite em pó integral com diferentes composições da atmosfera interna do frasco reacional podem ser observados na Figura 16.





**Figura 16.** Aspecto dos digeridos finais para decomposição de leite em pó com diferentes composições da atmosfera interna do frasco de digestão: a) sem adição de  $O_2$  (ar à pressão atmosférica, 1 bar, 21% de  $O_2$ ); b) com adição de Ar (20 bar); c) com adição de  $O_2$  (20 bar); e, d) 7,5 bar  $O_2$ .

A Figura 15 (linha) mostra também os resultados obtidos para a determinação da acidez residual nas amostras de leite em pó integral decompostas com solução  $2 \text{ mol L}^{-1}$  de  $HNO_3$  sob diferentes composições de fase gasosa. O valor de acidez residual, independente da composição da fase gasosa do frasco reacional, ficou entre 23,2 e 10,7% (obtidos com 15 bar de  $O_2$  e 20 bar de Ar, respectivamente). Neste caso, os valores de acidez residual não apresentaram relação com a eficiência de decomposição, uma vez que apresentaram valores semelhantes para eficiências de decomposição completamente diferentes. Este aspecto é um indicativo de que uma quantidade mínima de oxigênio é necessária para garantir uma boa eficiência de decomposição quando se trabalha com soluções tão diluídas quanto  $2 \text{ mol L}^{-1}$  de  $HNO_3$ , contudo o  $O_2$  em excesso não influenciou a eficiência de decomposição.

O estudo das diferentes composições da atmosfera interna do frasco reacional (ar,  $O_2$  e Ar) foi feito também para a amostra de fígado bovino (500 mg). Da mesma forma como observado para o estudo da concentração da solução de  $HNO_3$ , os resultados na avaliação da composição da fase gasosa para decomposição da amostra de fígado bovino foram semelhantes aos obtidos para a amostra de leite em pó. Estes resultados podem ser observados na Tabela 5.

**Tabela 5.** Resultados obtidos para a eficiência de decomposição de fígado bovino (500 mg) com solução de  $\text{HNO}_3$  2 mol  $\text{L}^{-1}$  com diferentes composições de fase gasosa.

Composição da fase gasosa		RCC, %	Aspecto da solução final	Acidez residual, %
O <sub>2</sub>	5 bar	27,6 ± 3,3	límpido	20,7 ± 0,8
	10 bar	22,5 ± 3,6	límpido	23,7 ± 1,6
	15 bar	18,8 ± 4,8	límpido	14,9 ± 0,3
	20 bar	25,8 ± 4,3	límpido	19,9 ± 1,0
ar*	1 bar	-	material sólido suspenso	17,4 ± 0,1
Ar	20 bar	-	material sólido suspenso	19,3 ± 0,2

\* sem modificação da atmosfera interna do frasco antes de seu fechamento para a decomposição (21% de O<sub>2</sub>)

Com solução de  $\text{HNO}_3$  2 mol  $\text{L}^{-1}$ , a oxidação da amostra de fígado bovino não foi eficiente quando a decomposição foi feita fechando o frasco à pressão atmosférica ( $\approx$  1 bar de ar, com 21% de O<sub>2</sub> antes da decomposição). Assim como observado para a amostra de leite em pó integral, a ineficiência de decomposição pode ser atribuída a pouca quantidade de oxigênio presente no interior do frasco reacional (21%, 0,02 g de O<sub>2</sub>), o que não contribui para o mecanismo de regeneração do  $\text{HNO}_3$ , que permitiria o uso de solução ácida tão diluída quanto a que foi avaliada. A decomposição também foi incompleta quando o frasco de decomposição foi pressurizado com Ar (20 bar), o que pode ser explicado pela ausência de oxigênio no frasco reacional, impossibilitando a ocorrência da reação de regeneração. Como pode ser observado, foi possível decompor 500 mg de fígado bovino com solução de  $\text{HNO}_3$  2 mol  $\text{L}^{-1}$  com a utilização de pressão de O<sub>2</sub> superior a 5 bar ( $>$  0,48 g de O<sub>2</sub>), mantendo praticamente a mesma eficiência de decomposição obtida com o uso de soluções mais concentradas.

Considerando os resultados obtidos para a decomposição das amostras de leite em pó integral e fígado bovino, com a utilização de diferentes composições da atmosfera interna do frasco reacional (pressão de O<sub>2</sub> de 2,5 a 20 bar, ar a pressão atmosférica e 20 bar de Ar), é possível inferir que a reação de regeneração do ácido nítrico é dependente de uma quantidade mínima de oxigênio disponível no interior do frasco de digestão. Ademais, a decomposição das amostras de leite em pó integral e fígado bovino apresentaram perfis de pressão ao longo do procedimento

de decomposição semelhantes entre si, o que é um indício de que ambas as amostras apresentem comportamento semelhante quando a decomposição é feita com solução diluída de  $\text{HNO}_3$ .

#### **4.1.2.1 Avaliação da acidez residual em função das diferentes composições da fase gasosa do frasco reacional**

Com base nos resultados preliminares, o aumento da ação oxidante de soluções diluídas de  $\text{HNO}_3$  está relacionado com as reações de regeneração que ocorrem em fase gasosa, pela oxidação do NO pelo  $\text{O}_2$ . Mesmo com soluções tão diluídas quanto  $2 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{HNO}_3$ , a decomposição da matéria orgânica foi eficiente. Além disso, foi evidenciado que a quantidade de  $\text{O}_2$  é importante e que pode ser dependente da massa de amostra utilizada e das características da matriz a ser decomposta. No entanto, estes aspectos podem ser vistos de forma mais pronunciada quando a decomposição é feita sob condições que inviabilizam a ocorrência das reações de regeneração do  $\text{HNO}_3$ .

Neste sentido, foi feito um estudo para se verificar a eficiência de decomposição utilizando diferentes concentrações de  $\text{HNO}_3$  (2, 3, 7 e  $14 \text{ mol L}^{-1}$ ) sob atmosfera de argônio (7,5 bar). Nesta condição, foi assumido que não há condições para a regeneração do  $\text{HNO}_3$  e, portanto, a quantidade de ácido que permaneceu nos digeridos finais foi utilizada como parâmetro de comparação para a quantidade de  $\text{HNO}_3$  que efetivamente participa da oxidação da matéria orgânica. Os resultados para este estudo foram comparados com aqueles obtidos para as decomposições feitas sem a modificação da atmosfera interna do frasco (com atmosfera de ar, 1 bar) e pressão de  $\text{O}_2$  (20 bar), onde se supõe que ocorra a regeneração do  $\text{HNO}_3$ . A determinação da quantidade de matéria de  $\text{HNO}_3$  (número de moles) presentes em solução após a decomposição da amostra foi feita pela determinação da acidez residual nos digeridos finais de cada condição. A determinação da quantidade de matéria presente no frasco reacional antes da reação foi feita pela determinação da acidez residual nos brancos, uma vez que no branco não há reação de oxidação da matéria orgânica e assume-se que a quantidade de matéria de  $\text{HNO}_3$  permanece inalterada. Considerando o volume de solução utilizado para a decomposição da amostra (6 mL), a quantidade de matéria

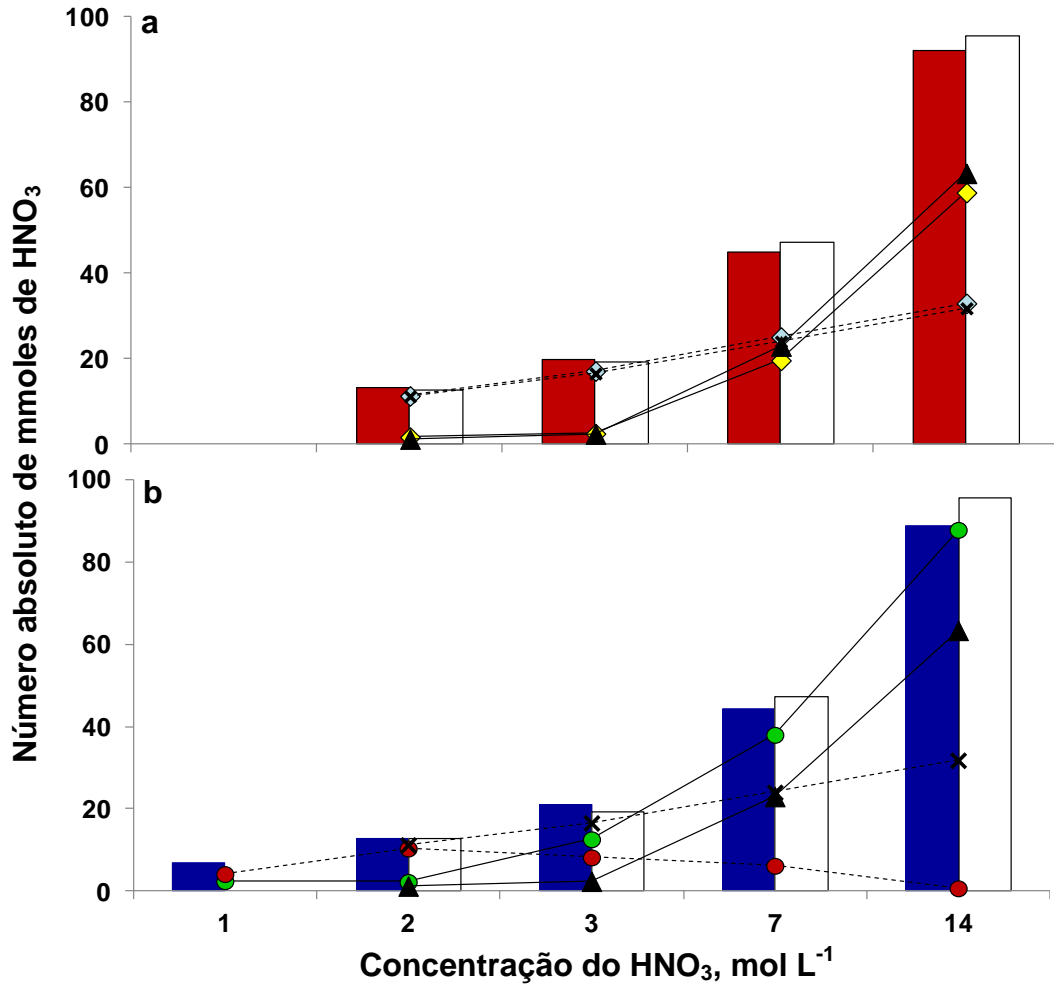
de HNO<sub>3</sub> teórico para as concentrações de 1, 2, 3, 7 e 14 mol L<sup>-1</sup> de HNO<sub>3</sub> é de 6,2, 13,4, 18,5, 43,2 e 86,4 mmoles, respectivamente. Estes valores calculados apresentaram concordância com os valores obtidos na titulação dos brancos.

Em um primeiro momento foi feita a decomposição de 500 mg de leite em pó integral com soluções de HNO<sub>3</sub> 2, 3, 7 e 14 mol L<sup>-1</sup>, com atmosfera de 7,5 bar de Ar. Nesta condição, a quantidade de matéria encontrada nos brancos analíticos foi de 12,7, 19,2, 47,2 e 95,4 mmoles (HNO<sub>3</sub> 2, 3, 7 e 14 mol L<sup>-1</sup>, respectivamente). Considerando que a acidez residual nos digeridos finais foi devida ao HNO<sub>3</sub>, os valores obtidos foram de 1,4, 2,5, 23,1 e 63,5 mmoles quando a decomposição foi feita com solução 2, 3, 7 e 14 mol L<sup>-1</sup> de HNO<sub>3</sub>, respectivamente. A diferença da quantidade de matéria de HNO<sub>3</sub> entre o valor determinado no branco (sem reação com matéria orgânica) e a acidez residual presente nos digeridos finais (remanescente da reação de oxidação da matéria orgânica), após a decomposição com atmosfera de Ar (supostamente sem reação de regeneração), foi considerado como a quantidade de matéria de HNO<sub>3</sub> consumidos para a decomposição da matéria orgânica sem reação de regeneração do ácido (Tabela 6). Neste caso, 31,9 e 24,1 mmoles de HNO<sub>3</sub> foram consumidos quando soluções de 14 e 7 mol L<sup>-1</sup> de HNO<sub>3</sub> foram utilizadas para decomposição da amostra (boa eficiência de decomposição, RCC de 5,9 ± 0,8 e 7,0 ± 0,5%, respectivamente). Quando soluções 3 e 2 mol L<sup>-1</sup> de HNO<sub>3</sub> foram utilizadas para decomposição da amostra com atmosfera de Ar, a decomposição não foi completa (RCC > 60%) e o número de moles consumido foi de 19,7 e 11,3 mmoles, respectivamente. Resultado semelhante foi obtido quando a decomposição foi feita sem modificação da atmosfera interna antes do fechamento do frasco (com pressão atmosférica, ar, ≈ 1 bar), como pode ser observado na Figura 17a. Ambas as decomposições apresentaram o mesmo comportamento referente à acidez residual nos digeridos finais e praticamente a mesma quantidade de matéria de HNO<sub>3</sub> consumida.

No entanto, quando a decomposição foi feita com pressão de 20 bar de O<sub>2</sub>, a quantidade de matéria de HNO<sub>3</sub> foi consideravelmente maior em comparação com atmosfera de Ar. Como pode ser observado na Figura 17b, a diferença entre o número de moles iniciais (determinado no branco) e a acidez residual nos digeridos finais (moles de HNO<sub>3</sub> remanescentes em solução) foi de 10,5, 8,3, 6,3 e 0,8 mmoles, para a decomposição com soluções 2, 3, 7 e 14 mol L<sup>-1</sup> de HNO<sub>3</sub>, respectivamente. Cabe ressaltar que, nestas condições, a oxidação da matéria

---

orgânica foi eficiente mesmo com solução  $2 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{HNO}_3$ , apresentando baixos valores de RCC. Como determinado para a decomposição com atmosfera de Ar (sem reação de regeneração do  $\text{HNO}_3$ ), a acidez residual foi relativamente inferior à acidez obtida nos digeridos finais provenientes da decomposição com pressão de inicial de  $\text{O}_2$ . Comparando a mesma concentração de da solução de  $\text{HNO}_3$  (mesmo número de moles iniciais) para ambos os procedimentos de decomposição (com atmosfera de Ar e pressão de  $\text{O}_2$ ), pode-se atribuir o aumento na acidez residual nos digeridos finais da decomposição com pressão de  $\text{O}_2$  à reação de regeneração do  $\text{HNO}_3$ . Ademais, observar-se uma decomposição eficiente da amostra quando o sistema foi pressurizado com  $\text{O}_2$ , mesmo para as concentrações de 3 e  $2 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{HNO}_3$ . A mesma eficiência de decomposição não foi observada quando o frasco de decomposição foi pressurizado com Ar ou foi fechado à pressão atmosférica (sem pressão de  $\text{O}_2$ ).



**Figura 17.** Quantidade de HNO<sub>3</sub> (em 6 mL de solução de HNO<sub>3</sub>) presente após a decomposição de 500 mg de leite em pó integral para: a) decomposição com atmosfera de Ar (□) e sem pressão de O<sub>2</sub> (■); e b) decomposição com atmosfera de Ar (□); e pressão de O<sub>2</sub> (■). As linhas intermitentes representam a acidez residual dos digeridos finais obtidos com: atmosfera de Ar (▲); atmosfera de ar (◆); e, com pressão de O<sub>2</sub> (●). As linhas pontilhadas representam a diferença entre o número de moles iniciais (barras) e o número de moles com base na acidez residual dos digeridos finais (linhas intermitentes) para: (-x-) atmosfera de Ar; (◆) atmosfera de ar; e, (●) pressão de O<sub>2</sub>.

Os resultados observados na Figura 17 foram sumariados na Tabela 6.

**Tabela 6.** Acidez residual (número de moles em 6 mL de solução), de acordo com a composição da fase gasosa do frasco de decomposição.

HNO <sub>3</sub> , mol L <sup>-1</sup>	Quantidade inicial, QI (mmoles de HNO <sub>3</sub> )			Quantidade residual, QR (mmoles de HNO <sub>3</sub> )			QI-QR (mmoles de HNO <sub>3</sub> )		
	Composição da fase gasosa			Composição da fase gasosa			Composição da fase gasosa		
	Ar	ar	O <sub>2</sub>	Ar	ar	O <sub>2</sub>	Ar	ar	O <sub>2</sub>
1	-	-	6,8	-	-	2,5	-	-	4,3
2	12,7	13,2	12,8	1,4	1,8	2,4	11,4	11,4	10,5
3	19,2	19,9	21,0	2,5	2,6	12,7	16,7	17,2	8,3
7	47,3	45,0	44,4	23,1	19,8	38,1	24,1	25,2	6,3
14	95,4	92,1	88,8	63,5	59,0	88,0	31,9	33,1	0,8

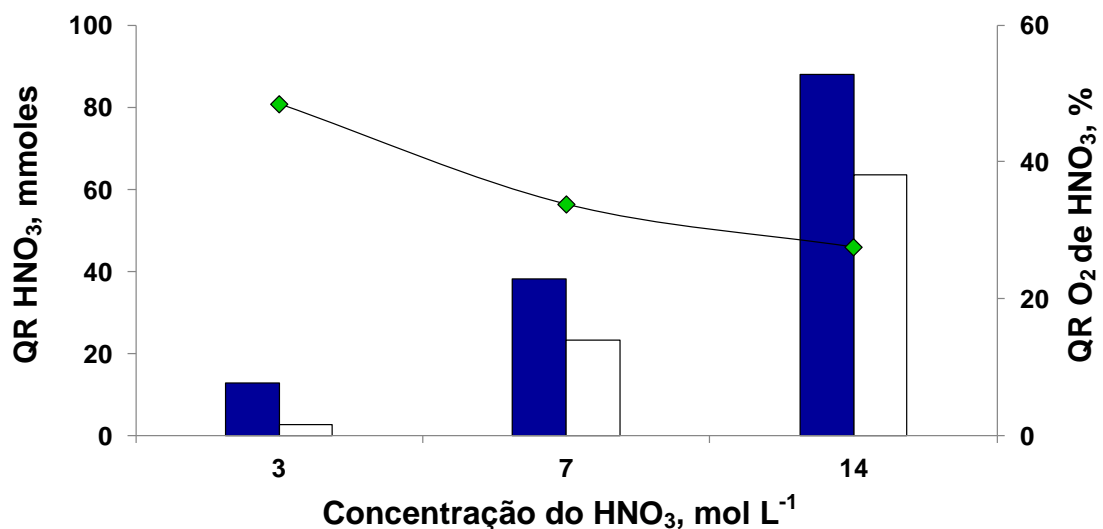
Conforme relatado na literatura,<sup>15,16</sup> um dos critérios para que a regeneração do  $\text{HNO}_3$  ocorra está relacionado com uma quantidade suficiente de  $\text{O}_2$  em fase gasosa na atmosfera interna do frasco de decomposição. Com base nos resultados obtidos de acidez residual, para a decomposição de leite em pó integral sob diferentes composições de fase gasosa (ar, Ar e  $\text{O}_2$ ), pode-se inferir que o aumento observado na acidez residual para as decomposições feitas com pressão de  $\text{O}_2$  pode ser o resultado da ocorrência da reação de regeneração do  $\text{HNO}_3$ . Como observado para as decomposições com atmosfera de Ar e ar, quando a concentração de  $\text{HNO}_3$  foi inferior a  $7 \text{ mol L}^{-1}$  ( $2$  e  $3 \text{ mol L}^{-1}$ ,  $19,2$  e  $12,7$  mmoles de  $\text{HNO}_3$ , respectivamente) a decomposição da matéria orgânica não foi eficiente. Nas mesmas condições, inclusive com concentrações de  $2$  e  $3 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{HNO}_3$ , uma boa eficiência de decomposição foi obtida para o sistema pressurizado com  $\text{O}_2$  (RCC de  $20,6 \pm 0,8$  e  $17,6 \pm 0,6\%$ , respectivamente). Nos casos em que houve a utilização do  $\text{O}_2$ , a manutenção da eficiência de decomposição da matéria orgânica pode estar relacionada com a quantidade de moléculas de  $\text{HNO}_3$  geradas dentro do frasco reacional, promovida pela reação de regeneração.

A acidez residual sempre foi maior quando a decomposição foi feita com pressão de  $\text{O}_2$ , como pode ser observado na Figura 18 (barras). Quando a acidez residual dos digeridos finais provenientes da decomposição com pressão de  $\text{O}_2$  (QR  $\text{O}_2$ ) e com pressão de Ar (QR Ar) foi comparada, pode-se observar uma relação percentual crescente da acidez residual (QR  $\text{O}_2$ ) com a diminuição da concentração de  $\text{HNO}_3$  (Figura 18, linha). Esta relação foi calculada pela diferença entre a acidez residual da decomposição feita com  $\text{O}_2$  e da decomposição feita com Ar (QR  $\text{O}_2 - \text{QR Ar}$ ) para as concentrações de  $3$ ,  $7$  e  $14 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{HNO}_3$ . A acidez residual para decomposição feita com pressão de Ar representou uma condição de decomposição na ausência da reação de regeneração do  $\text{HNO}_3$ . A diferença entre a quantidade de matéria da acidez residual (QR  $\text{O}_2 - \text{QR Ar}$ ) foi relacionada à quantidade de matéria inicial proveniente da decomposição feita com pressão de  $\text{O}_2$  (QI  $\text{O}_2$ ). Desta forma, a tendência crescente na acidez residual observada para a decomposição feita com pressão de  $\text{O}_2$  (descontando a acidez da decomposição com Ar) pode estar relacionada com a formação preferencial de NO quando soluções diluídas de  $\text{HNO}_3$  são utilizadas para decomposição da matéria orgânica, favorecendo a reação de regeneração. Quando soluções mais concentradas de  $\text{HNO}_3$  são utilizadas, a formação de  $\text{NO}_2$  é observada de forma mais significativa.



Estes resultados são concordantes com os dados encontrados na literatura<sup>13,16</sup> e podem ser considerados um indício de que a reação de regeneração do ácido seja favorecida com a diminuição da concentração do HNO<sub>3</sub> utilizado para a decomposição da amostra.

Desta forma, a acidez residual proveniente da decomposição com pressão de Ar (sem reação de regeneração) pode ser considerada como referência da participação do HNO<sub>3</sub> na oxidação da matéria orgânica (QI – QR = consumo de HNO<sub>3</sub>). Neste caso, a diferença entre a quantidade inicial (QI) e a quantidade residual (QR) de HNO<sub>3</sub>, para decomposição com O<sub>2</sub>, pode ser uma evidência de que a existência da reação de regeneração do HNO<sub>3</sub> possa ser dependente da presença de O<sub>2</sub> na fase gasosa do frasco de decomposição.

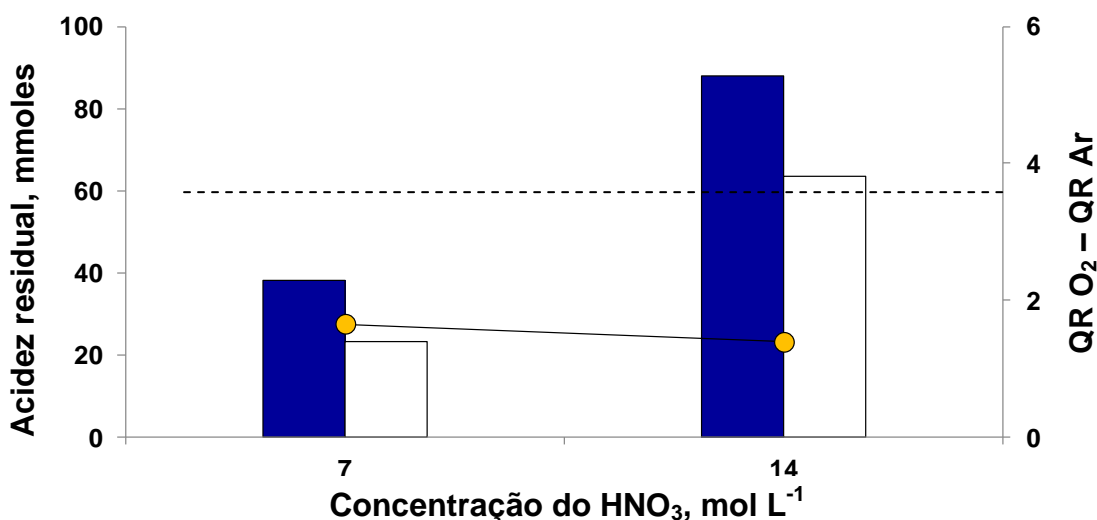


**Figura 18.** Quantidade residual (QR O<sub>2</sub>) para a decomposição com pressão de O<sub>2</sub> (■) em comparação com quantidade residual (QR Ar) para a decomposição com atmosfera de Ar (□). A linha (◆) estabelece uma relação percentual entre as decomposições feitas com atmosfera de O<sub>2</sub> e atmosfera de Ar [=100\*(QR O<sub>2</sub> – QR Ar)/QI O<sub>2</sub>].

Tendo em vista que, independentemente da composição da fase gasosa no interior do frasco de decomposição, a quantidade de HNO<sub>3</sub> necessária para a decomposição de 500 mg de leite em pó integral seja sempre a mesma, o excesso de acidez residual nos digeridos finais obtidos na decomposição com pressão inicial de O<sub>2</sub> pode ser atribuído à reação de regeneração do HNO<sub>3</sub>. Portanto, o baixo consumo calculado de HNO<sub>3</sub>, quando o sistema foi pressurizado com O<sub>2</sub>, pode ser o

resultado da regeneração do ácido durante a decomposição da amostra. O que possibilita uma decomposição eficiente, quando soluções diluídas de  $\text{HNO}_3$  são utilizadas, é a possibilidade da reação de regeneração do ácido em suprir a baixa quantidade de  $\text{HNO}_3$  inicialmente presente no frasco de decomposição.

Estes resultados evidenciam que, por menor que seja a quantidade de  $\text{HNO}_3$  introduzida no frasco reacional, o ácido pode ser regenerado para promover uma decomposição eficiente da matéria orgânica, desde que exista  $\text{O}_2$  suficiente em fase gasosa. No entanto, quando foi utilizada a solução  $1 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{HNO}_3$ , mesmo com o frasco pressurizado com 20 bar de  $\text{O}_2$ , a decomposição da amostra não foi eficiente, o que é um indício de que somente a maior pressão de  $\text{O}_2$  não seja suficiente para a oxidação completa da matéria orgânica com solução diluída de  $\text{HNO}_3$ . Além disso, a pressurização com  $\text{O}_2$  para decomposição de leite em pó integral com  $\text{HNO}_3$  resultou em uma redução de 3,5 vezes na quantidade de ácido necessária, mantendo uma boa eficiência de decomposição (redução de  $7 \text{ mol L}^{-1}$  para  $2 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{HNO}_3$ , com pressão inicial de Ar e de  $\text{O}_2$ , respectivamente). Comparando-se a acidez residual dos dois procedimentos de decomposição, com  $\text{O}_2$  e com Ar, pode-se observar um fator de aproximadamente 1,5 (Figura 19, linha contínua). Este fator representa a diferença entre a acidez residual obtida nos digeridos finais pela decomposição com o frasco pressurizado com  $\text{O}_2$  (QR  $\text{O}_2$ ), em relação à acidez residual da decomposição com Ar (sem reação de regeneração, QR Ar).



**Figura 19.** Acidez residual para os digeridos finais da decomposição com (■) pressão de O<sub>2</sub> e (□) pressão de Ar. A linha (●) representa a diferença entre a acidez residual para decomposição com Ar e com O<sub>2</sub> (QR O<sub>2</sub> - QR Ar). A linha pontilhada (---) representa a redução na quantidade de HNO<sub>3</sub> para decomposição com pressão de O<sub>2</sub>.

A diferença encontrada experimentalmente (redução de 3,5 vezes na quantidade de HNO<sub>3</sub> utilizada) não foi semelhante à diferença na acidez residual obtida nos digeridos finais (acidez com pressão de O<sub>2</sub> 1,5 vezes a acidez com pressão de Ar). Esta diferença pode ser atribuída ao fato de que a reação de regeneração, responsável pelo aumento na acidez residual (com base na quantidade inicial de HNO<sub>3</sub>), pode ocorrer em ciclos consecutivos, o que permite o sistema reacional trabalhar com quantidades ainda menores de HNO<sub>3</sub>. Estes ciclos de regeneração devem acontecer enquanto houver O<sub>2</sub> e NO em fase gasosa. Desta forma, pode-se supor que o aumento da eficiência de decomposição da solução de HNO<sub>3</sub> 2 mol L<sup>-1</sup> seja uma consequência do mecanismo de regeneração que ocorre dentro do frasco reacional.

#### 4.1.3 Determinação de metais nas amostras de leite em pó e fígado bovino após decomposição com HNO<sub>3</sub> diluído e pressão de O<sub>2</sub>

Após a otimização da concentração de HNO<sub>3</sub> e a quantidade de O<sub>2</sub> necessários para decompor as amostras de leite em pó integral e fígado bovino, foi possível utilizar solução de HNO<sub>3</sub> 2 mol L<sup>-1</sup> com eficiência de decomposição semelhante à obtida com emprego do ácido concentrado. No entanto, para que esta eficiência fosse obtida, foi necessária a pressurização do frasco de decomposição com uma quantidade mínima de 7,5 e 5 bar de O<sub>2</sub> para as amostra de leite em pó integral e fígado bovino, respectivamente. Desta forma, a avaliação da exatidão do método de decomposição proposto foi feita pela determinação de metais em CRM de leite em pó (Tabela 7) e CRM de fígado e músculo bovino (Tabela 8).

**Tabela 7.** Concentração de metais em CRMs de leite em pó por ICP OES e por ICP-MS (Cd, Co e Pb) (média e desvio padrão em µg g<sup>-1</sup>, n = 5, 500 mg de amostra, 2 mol L<sup>-1</sup> HNO<sub>3</sub> e 7,5 bar O<sub>2</sub>).

Analitos	NIST 1549 (Leite em pó desnatado)		BCR 151 (Leite em pó desnatado)	
	Valor certificado	Valor encontrado	Valor certificado	Valor encontrado
Ca	13000 ± 500	13218 ± 1040	-	11844 ± 102
Cd	0,0005 ± 0,0002	< 0,05	0,101 ± 0,008	0,100 ± 0,001
Co	0,0041*	< 0,008	-	0,027 ± 0,005
Cu	0,7 ± 0,1	0,63 ± 0,09	5,23 ± 0,08	5,24 ± 0,02
Fe	1,78 ± 0,10	1,82 ± 0,13	50,1 ± 1,3	48,7 ± 1,5
K	16900 ± 300	17101 ± 466	-	16390 ± 366
Mg	1200 ± 300	1195 ± 61	-	1229 ± 59
Mn	0,26 ± 0,6	0,235 ± 0,040	-	0,269 ± 0,012
Mo	0,34*	0,310 ± 0,015	-	0,314 ± 0,018
Na	4970 ± 100	5183 ± 847	-	4202 ± 210
Pb	0,019 ± 0,003	< 1,15	2,002 ± 0,026	1,92 ± 0,09
Zn	46,1 ± 2,2	46,9 ± 0,4	-	49,7 ± 2,5

\* valor informado (não certificado)

A concordância obtida entre os valores (teste *t-student*, P < 0,05) certificados e os valores obtidos para a concentração de metais nos CRMs possibilitou a avaliação de que a quantidade de matéria orgânica remanescente nos

digeridos finais (RCC < 22 e 28% para leite em pó integral e fígado bovino, respectivamente) não representou interferência durante a etapa de determinação de metais por ICP OES. Ademais, não foi observada influência da acidez dos digeridos finais. Este resultado já era esperado, visto que a acidez apresentada pela amostra, após o procedimento de decomposição, pode ser considerada baixa evitando interferências (acidez residual menor do que 14%, referente à solução 2 mol L<sup>-1</sup> de HNO<sub>3</sub>). Além disso, foi feito um ajuste do teor de ácido para que a curva de calibração utilizada na etapa de determinação apresentasse a mesma acidez encontrada nos digeridos finais.

**Tabela 8.** Concentração de metais em CRMs de fígado e músculo bovino por ICP OES e por ICP-MS (Cd, Co e Pb) (média e desvio padrão em µg g<sup>-1</sup>, n = 5, 500 mg de amostra, 2 mol L<sup>-1</sup> HNO<sub>3</sub> e 5 bar O<sub>2</sub>).

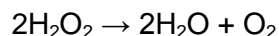
Analitos	NIST 1577 (Fígado bovino)		NIST 8414 (Músculo Bovino)	
	Valor certificado	Valor encontrado	Valor certificado	Valor encontrado
Ca	124 ± 6	129 ± 6	145 ± 20	143 ± 8
Cd	0,27 ± 0,04	0,276 ± 0,020	0,013 ± 0,011	0,010 ± 0,003
Co	0,18*	0,201 ± 0,009	0,007 ± 0,003	< 0,008
Cu	193 ± 10	185 ± 2	2,84 ± 0,45	2,75 ± 0,11
Fe	268 ± 8	260 ± 7	71,2 ± 9,2	70,8 ± 1,8
K	9700 ± 130	9340 ± 860	15170 ± 370	15048 ± 312
Mg	604 ± 9	592 ± 3	960 ± 95	944 ± 23
Mn	10,3 ± 1,0	9,90 ± 0,52	0,37 ± 0,09	0,377 ± 0,013
Mo	3,4*	3,39 ± 0,08	0,08 ± 0,06	< 0,44
Na	2430 ± 130	2307 ± 243	2100 ± 80	2213 ± 136
Pb	0,34 ± 0,08	0,331 ± 0,019	0,38 ± 0,24	0,365 ± 0,029
Zn	130 ± 13	137 ± 2	142 ± 14	139 ± 1

\* valor informado (não certificado)

#### 4.1.4 Avaliação do uso de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> como reagente auxiliar

Como relatado em alguns trabalhos na literatura, o HNO<sub>3</sub> normalmente é utilizado em associação ao H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,<sup>49,80</sup> que é um forte oxidante e auxilia na

decomposição da matéria orgânica. Ademais, apesar da melhora na eficiência de decomposição pela presença do  $\text{H}_2\text{O}_2$  ser, muitas vezes, relacionada unicamente a sua ação oxidante sobre a matéria orgânica,<sup>20,65</sup> a decomposição catalítica deste reagente libera oxigênio gasoso, conforme a Equação 7.<sup>89</sup>



**Equação 7**

Com base nesta dissociação, a utilização de  $\text{H}_2\text{O}_2$  foi avaliada para os estudos da diminuição da quantidade de  $\text{HNO}_3$  utilizada na decomposição de leite em pó integral e fígado bovino. Este estudo foi feito com a concentração de  $\text{HNO}_3$  previamente estabelecida ( $2 \text{ mol L}^{-1}$ ) e com massa de amostra de 500 mg. Inicialmente, o  $\text{H}_2\text{O}_2$  foi utilizado em conjunto com oxigênio (pressão de 7,5 e 5 bar de  $\text{O}_2$  para leite em pó integral e fígado bovino, respectivamente). O mesmo estudo foi feito sem a utilização de oxigênio, utilizando-se somente o  $\text{H}_2\text{O}_2$  como reagente auxiliar na decomposição da amostra com solução  $2 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{HNO}_3$ . Em um segundo momento, buscou-se uma condição em que fosse possível reduzir a quantidade de  $\text{HNO}_3$  utilizada pelo aumento da quantidade de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , sem a utilização de pressões de oxigênio.

#### 4.1.4.1 Utilização do $\text{H}_2\text{O}_2$ associado ao uso do $\text{O}_2$

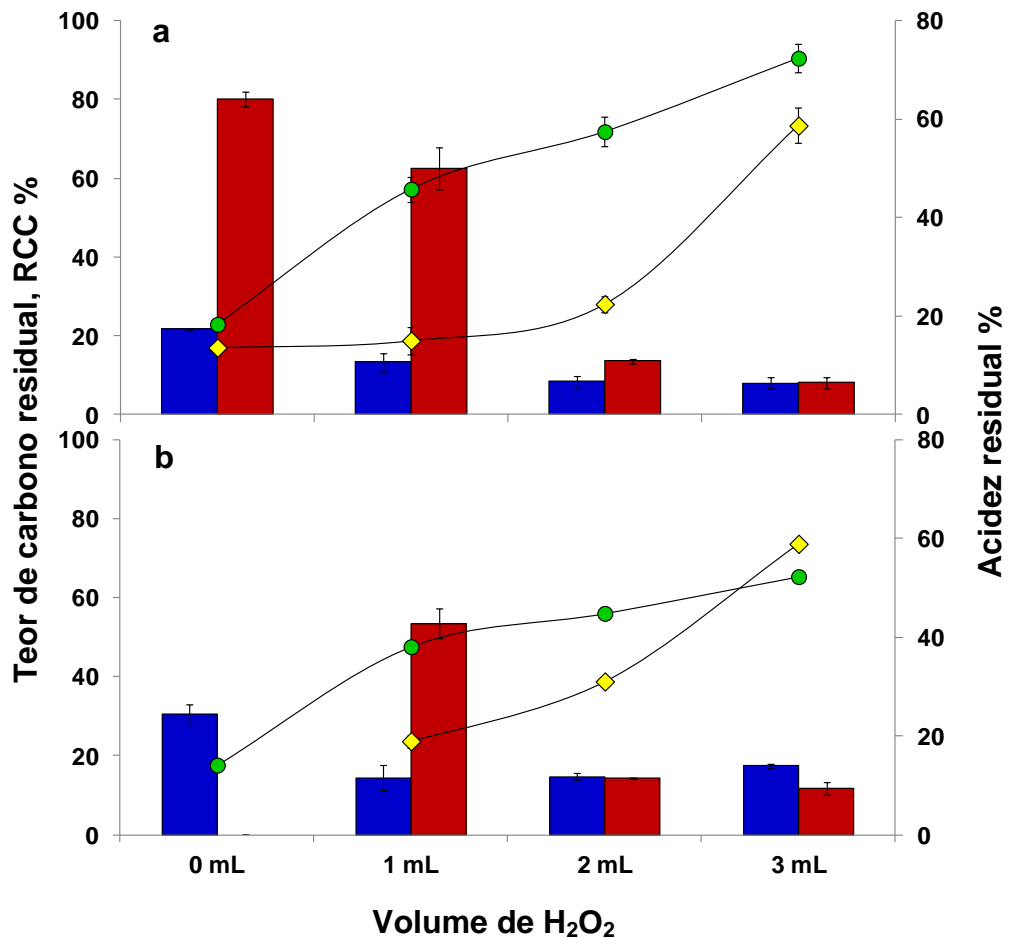
A avaliação da influência do  $\text{H}_2\text{O}_2$  como reagente auxiliar foi feita pela adição de 0, 1, 2 e 3 mL ao frasco de decomposição. É válido lembrar que o volume selecionado de  $\text{H}_2\text{O}_2$  não alterou o volume de solução utilizada no interior do frasco reacional, que foi mantido em 6 mL de solução  $2 \text{ mol L}^{-1}$   $\text{HNO}_3$ . O volume de  $\text{H}_2\text{O}_2$  adicionado foi associado à pressão de 7,5 bar de  $\text{O}_2$  (condição otimizada para a amostra de leite em pó integral) e 5 bar de  $\text{O}_2$  (condição otimizada para a amostra de fígado bovino). Adicionalmente, os mesmos parâmetros referentes às diferentes quantidades de  $\text{H}_2\text{O}_2$  foram avaliados sem a utilização de pressão de oxigênio.

Os resultados para este estudo podem ser observados na Figura 20. Inicialmente, foi feito o estudo da utilização de  $\text{H}_2\text{O}_2$  para a amostra de leite em pó

<sup>89</sup> Bancroft, W. D., Murphy, N. F., *The Journal of Physical Chemistry* 39 (1934) 377-398.

integral. A decomposição da amostra com o sistema pressurizado com 7,5 bar de  $O_2$ , sem a adição de  $H_2O_2$ , resultou em RCC de  $21,7 \pm 0,1\%$ . Porém, pode-se observar uma melhora significativa na eficiência de decomposição quando 1, 2 e 3 mL de  $H_2O_2$  foram adicionados ao sistema pressurizado, resultando em RCC com valores de  $13,4 \pm 2,3$ ,  $8,4 \pm 1,5$  e  $8,0 \pm 1,4\%$ , respectivamente (Figura 20 a, barras em azul). Isto representa uma melhora de aproximadamente 50% na eficiência de decomposição da amostra quando 2 ou 3 mL de  $H_2O_2$  foram adicionados ao sistema pressurizado. Com o uso de 1 mL de  $H_2O_2$  e pressão de  $O_2$ , a eficiência de decomposição foi similar à obtida somente com  $O_2$  (sem  $H_2O_2$ ). Porém, quando a decomposição foi feita sem pressão de  $O_2$  (ar, 1 bar), a oxidação da matéria orgânica foi ineficiente quando 1 mL de  $H_2O_2$  foi adicionado ao frasco reacional (RCC de  $62,4 \pm 5,3\%$ ), resultando em um digerido final com aspecto amarelado e com material sólido em suspensão. Sem o uso de pressão de  $O_2$ , baixos valores de RCC foram obtidos somente quando 2 ou 3 mL de  $H_2O_2$  foram adicionados à mistura reacional (RCC de  $13,6 \pm 0,6$  e  $8,1 \pm 1,4\%$ , respectivamente).

Nos resultados obtidos para a determinação da acidez residual com a utilização de  $H_2O_2$ , nos digeridos finais obtidos após as decomposições com e sem pressão de  $O_2$  (Figura 20a, linhas), pode ser observado que a acidez residual aumentou quando o  $H_2O_2$  foi adicionado em maiores quantidades. Para a decomposição feita com pressão de  $O_2$ , a acidez aumentou de  $18,3 \pm 0,5\%$  para  $72,3 \pm 2,8\%$  quando 0 e 3 mL de  $H_2O_2$  foram utilizados, respectivamente (Figura 20a, linhas com pontos verdes). Um comportamento semelhante foi obtido quando o sistema não foi pressurizado com  $O_2$ , e a acidez residual aumentou de  $13,6 \pm 0,3\%$  para  $58,7 \pm 3,6\%$  quando  $H_2O_2$  foi utilizado em volumes de 0 e 3 mL, respectivamente (Figura 20a, linhas com pontos amarelos).



**Figura 20.** Influência de diferentes volumes de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> como reagente auxiliar na de composição de a) leite em pó integral e b) fígado bovino (500 mg). A decomposição foi feita com solução 2 mol L<sup>-1</sup> HNO<sub>3</sub> contendo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (6 mL de volume total em todos os casos): (■) RCC referente à decomposição com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e pressão de O<sub>2</sub>; (■) RCC referente à decomposição somente com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; (●) acidez residual referente à decomposição com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e pressão de O<sub>2</sub>; e, (◆) acidez residual referente à decomposição somente com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

A decomposição da amostra de fígado bovino com utilização de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, com pressão de O<sub>2</sub> (5 bar) e sem pressão de O<sub>2</sub> (ar, 1 bar), resultou em um comportamento semelhante ao obtido pela amostra de leite em pó integral. Os resultados referentes à eficiência de decomposição (RCC) e acidez residual podem ser observados na Figura 20b (barras e linhas, respectivamente). Os valores referentes à determinação do RCC e da acidez residual estão apresentados na Tabela 9, para a decomposição com diferentes quantidades de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, com adição de O<sub>2</sub> e sem adição de O<sub>2</sub> (ar à pressão atmosférica, 21% de O<sub>2</sub>).



**Tabela 9.** Resultados de RCC e acidez residual para decomposição de fígado bovino (500 mg) com solução 2 mol L<sup>-1</sup> HNO<sub>3</sub> com adição de diferentes volumes de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , mL	Carbono residual, %		Acidez residual, %	
	ar, 1 bar	O <sub>2</sub> , 5 bar	ar, 1 bar	O <sub>2</sub> , 5 bar
0	-	27,6 ± 3,3	-	20,7 ± 0,8
1	53,5 ± 3,7	14,5 ± 3,3	19,0 ± 0,2	38,1 ± 1,1
2	14,3 ± 0,1	14,7 ± 1,0	31,0 ± 1,3	44,8 ± 1,2
3	11,6 ± 1,6	17,4 ± 0,5	58,8 ± 0,2	52,3 ± 0,5

De acordo com os resultados obtidos para a decomposição das amostras de leite em pó integral e fígado bovino, com a utilização de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> como reagente auxiliar de decomposição, percebe-se que o aumento na quantidade de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> melhorou a eficiência de decomposição das amostras. Além disso, o efeito do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, quando somado à pressão de O<sub>2</sub>, aumentou a eficiência de decomposição somente até certo volume de reagente. No caso das amostras em estudo, com pressão de O<sub>2</sub>, volumes maiores do que 2 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> não aumentaram a eficiência de decomposição. Para ambas as amostras, com o volume de 2 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> adicionado ao sistema de decomposição pressurizado, a eficiência de decomposição foi aumentada em, aproximadamente, 50% em relação à decomposição feita somente com pressão de O<sub>2</sub>. Outrossim, quando a decomposição foi feita com 2 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, sem pressão de O<sub>2</sub>, a eficiência de decomposição foi praticamente a mesma obtida no sistema pressurizado com adição de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (RCC de 13,6 ± 0,6 e 14,3 ± 0,1% para leite em pó integral e fígado bovino, respectivamente). O aumento na eficiência de decomposição das amostras pela adição de volumes de pelo menos 2 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, mesmo quando empregado sem pressão de O<sub>2</sub>, pode estar relacionada ao mecanismo de regeneração do HNO<sub>3</sub>. Como observado na Figura 20, o efeito do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi mais significativo sobre a eficiência de decomposição quando a quantidade deste reagente foi aumentada (2 mL ou mais). O aumento na quantidade de peróxido foi proporcional ao aumento na acidez residual nos digeridos finais, tanto para a decomposição com pressão de O<sub>2</sub>, quanto para a decomposição feita sem pressão de O<sub>2</sub>. Este aumento na eficiência de decomposição, associado ao aumento na acidez residual, pode estar relacionado com o mecanismo de regeneração do HNO<sub>3</sub>, uma vez que a reação de decomposição do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> resulta na liberação de O<sub>2</sub> em fase gasosa (Equação 7, *item*

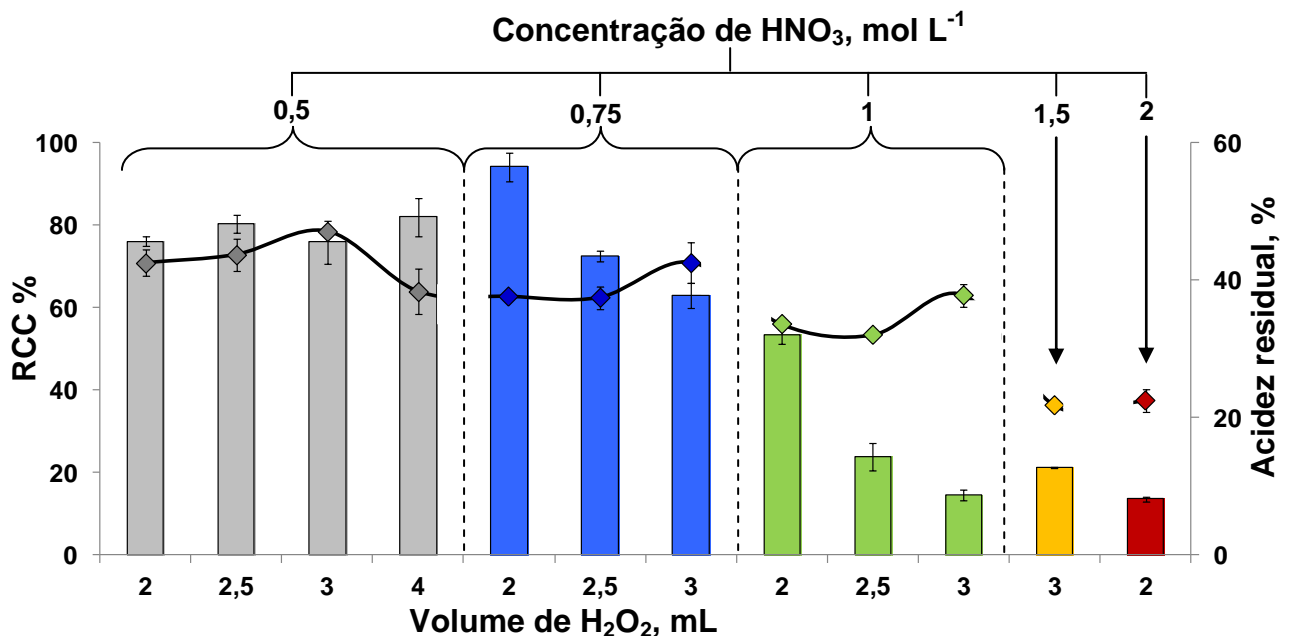
4.1.4 Avaliação do uso de  $H_2O_2$  como reagente auxiliar). Neste caso, além da ação oxidante, é possível considerar que o  $H_2O_2$  pode ser empregado como uma fonte alternativa de  $O_2$  para melhorar a eficiência de decomposição de métodos que empregam  $HNO_3$  diluído.

#### 4.1.4.2 Redução da concentração de $HNO_3$ com aumento da concentração de $H_2O_2$

O emprego do  $H_2O_2$  aumentou a eficiência de decomposição das amostras de leite em pó integral e fígado bovino. Ademais, o emprego deste reagente possibilitou a decomposição das amostras, de forma eficiente, mesmo sem a adição do  $O_2$  no frasco reacional. Além da ação do  $H_2O_2$  como agente oxidante da matéria orgânica, o aumento da eficiência de decomposição da solução  $2 \text{ mol L}^{-1}$  de  $HNO_3$  pode estar associado, também, à reação de regeneração do ácido promovida pela liberação de  $O_2$  quando o  $H_2O_2$  é decomposto no meio reacional. Desta forma, como o  $H_2O_2$  pode contribuir para a regeneração do  $HNO_3$ , além de aumentar a acidez residual quando seu volume é aumentado, buscou-se uma condição em que fosse possível reduzir a concentração de  $HNO_3$  pelo aumento do volume de  $H_2O_2$  adicionado ao frasco de decomposição. Neste caso, volumes de 2, 2,5, 3 e 4 mL de  $H_2O_2$  foram utilizados e a concentração de  $HNO_3$  foi diminuída de 2, 1,5, 1, 0,75 e  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ .

Portanto, a otimização do volume adequado de  $H_2O_2$  para redução da concentração de  $HNO_3$  foi primeiramente avaliada para a amostra de leite em pó integral (500 mg, Figura 21). Conforme otimização anterior, onde a condição com emprego de 2 mL de  $H_2O_2$  e solução  $2 \text{ mol L}^{-1}$  de  $HNO_3$  foi considerada a mais adequada (RCC foi de  $13,6 \pm 0,6\%$ ), o estudo subsequente foi feito com solução  $1,5 \text{ mol L}^{-1}$  de  $HNO_3$  e 2 mL de  $H_2O_2$ . Nesta condição, a decomposição resultou em digeridos finais límpidos, com RCC de  $21,2 \pm 0,1\%$  e acidez residual foi de  $22,4 \pm 1,6\%$ . No entanto, a mesma eficiência de decomposição com solução  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$  de  $HNO_3$  não foi observada com adição de 2 mL de  $H_2O_2$  (RCC foi de  $53,3 \pm 2,1\%$  e acidez residual de  $33,5 \pm 0,7\%$ ) e os digeridos finais apresentavam um aspecto amarelado. Porém, quando a quantidade de  $H_2O_2$  foi aumentada para 2,5 e 3 mL, um aspecto límpido foi obtido para os digeridos finais (RCC foi de  $23,8 \pm 3,2$  e

14,5 ± 1,3%, respectivamente) e a acidez residual aumentou de 32,0 ± 0,1% para 37,8 ± 1,6%, respectivamente. Quando soluções mais diluídas de HNO<sub>3</sub> foram empregadas para a decomposição, não foi obtida a mesma eficiência de decomposição. Com a utilização de solução 0,75 mol L<sup>-1</sup> de HNO<sub>3</sub>, os digeridos finais apresentaram um aspecto amarelado e o valor de RCC variou de 94,2 ± 3,4% a 63,0 ± 3,2% para adições de 2 a 3 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> respectivamente (acidez residual igual a 37,6 ± 1,6 e 42,6 ± 2,9%, respectivamente). A decomposição com solução 0,5 mol L<sup>-1</sup> de HNO<sub>3</sub> não foi eficiente, mesmo com adição de 4 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (RCC de 82,1 ± 4,6%) e os digeridos finais apresentaram aspectos amarelados. Portanto, para a amostra de leite em pó integral, a quantidade de 3 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> associada com solução 1 mol L<sup>-1</sup> de HNO<sub>3</sub> resultou em uma boa eficiência de decomposição (RCC de 14,5 ± 1,3%; acidez residual de 37,8 ± 1,6%). Nesta condição, foi possível obter melhor eficiência de decomposição em relação aquela obtida pela utilização de somente O<sub>2</sub> como reagente auxiliar na decomposição com HNO<sub>3</sub> diluído (7,5 bar de O<sub>2</sub> e 2 mol L<sup>-1</sup> HNO<sub>3</sub>, RCC de 21,7 ± 0,1%). Neste caso, cabe destacar que a concentração de HNO<sub>3</sub> necessária para a decomposição da amostra foi 2 vezes menor (1 mol L<sup>-1</sup> de HNO<sub>3</sub>).



**Figura 21.** Influência da quantidade de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em função da diminuição da concentração da solução de HNO<sub>3</sub> para decomposição de 500 mg de leite em pó integral. Os valores obtidos para RCC estão evidenciados na forma de barras e a acidez residual na forma de linhas: (■) HNO<sub>3</sub> 2 mol L<sup>-1</sup>; (■) HNO<sub>3</sub> 1,5 mol L<sup>-1</sup>; (■) HNO<sub>3</sub> 1 mol L<sup>-1</sup>; (■) HNO<sub>3</sub> 0,75 mol L<sup>-1</sup> e (■) HNO<sub>3</sub> 0,5 mol L<sup>-1</sup>.

Para a decomposição de fígado bovino (500 mg), foi observado um comportamento semelhante ao observado para a amostra de leite em pó integral. Os resultados mostrados na Tabela 10, indicam que o aumento na quantidade de  $\text{H}_2\text{O}_2$  resultou em uma decomposição mais eficiente. Uma condição de compromisso entre o valor do RCC e a quantidade de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , foi obtida com o uso da solução  $1,5 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{HNO}_3$  com 2,5 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (RCC =  $11,8 \pm 1,3\%$ ; acidez residual =  $36,8 \pm 2,6\%$ ). Nesta condição, a eficiência de decomposição foi quase 20% superior em relação à eficiência obtida pela utilização de somente  $\text{O}_2$  como reagente auxiliar na decomposição com  $\text{HNO}_3$  diluído (5 bar de  $\text{O}_2$  e  $2 \text{ mol L}^{-1}$ , respectivamente, RCC de  $27,6 \pm 3,3\%$ ), além de possibilitar o emprego de solução  $1,5 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{HNO}_3$ .

**Tabela 10.** Efeito do volume de  $\text{H}_2\text{O}_2$  na decomposição de 500 mg de fígado bovino com soluções diluídas de  $\text{HNO}_3$ .

$\text{HNO}_3$ , $\text{mol L}^{-1}$	$\text{H}_2\text{O}_2$ , mL	Parâmetros avaliados	
		RCC, %	Acidez, %
0,75	4,0	$81,7 \pm 6,7$	$56,8 \pm 1,3$
1,0	2,0	$52,8 \pm 8,3$	$34,3 \pm 0,9$
	2,5	$47,9 \pm 4,5$	$27,0 \pm 3,4$
	3,0	$40,0 \pm 1,2$	$38,7 \pm 2,0$
1,5	2,0	$23,0 \pm 2,2$	$21,7 \pm 1,1$
	2,5	$11,8 \pm 1,3$	$36,8 \pm 2,6$
	3,0	$11,3 \pm 0,5$	$47,5 \pm 0,7$
2,0	2,0	$14,3 \pm 0,1$	$31,0 \pm 1,3$

Pode-se observar que a utilização de  $\text{H}_2\text{O}_2$  resultou em decomposições mais eficientes do que o método empregando somente  $\text{O}_2$ . Apesar de muitos fatores estarem relacionados a esta melhora, alguns aspectos podem induzir à participação do  $\text{O}_2$  proveniente do  $\text{H}_2\text{O}_2$  na reação de regeneração do  $\text{HNO}_3$ . Uma evidência da participação do  $\text{H}_2\text{O}_2$  na reação de regeneração do  $\text{HNO}_3$  está relacionada com o aumento da acidez residual quando a quantidade de  $\text{H}_2\text{O}_2$  foi aumentada. Em soluções ácidas, o  $\text{H}_2\text{O}_2$  pode atuar como agente oxidante do  $\text{HNO}_2$ , resultando na formação do  $\text{HNO}_3$ .<sup>89</sup> Ademais, quando a concentração do ácido utilizado foi menor

do que 1,0 e 1,5 mol L<sup>-1</sup> de HNO<sub>3</sub> para leite em pó integral e fígado bovino, respectivamente, por maior que fosse a quantidade de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> presente no meio reacional, a matéria orgânica não foi eficientemente decomposta. Esta informação pode ser utilizada para explicar que a ação oxidante do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> isoladamente não foi suficiente para oxidar as amostras, o que corrobora a participação do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> como uma fonte adicional de O<sub>2</sub> para a reação de regeneração do HNO<sub>3</sub>.

#### **4.1.5 Determinação de metais nas amostras de leite em pó e fígado bovino decompostas com HNO<sub>3</sub> diluído e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**

Após as otimizações feitas acerca da concentração de HNO<sub>3</sub> e quantidade de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, necessárias para decompor as amostras de leite em pó integral e fígado bovino, foi possível utilizar uma solução de HNO<sub>3</sub> em concentrações inferiores a 1,5 mol L<sup>-1</sup> para ambas as amostras, com eficiência semelhante àquela com emprego do ácido concentrado. No entanto, para que esta eficiência fosse obtida, foi necessária a adição de 3 e 2,5 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ao frasco de decomposição, para oxidação de leite em pó integral (HNO<sub>3</sub> 1 mol L<sup>-1</sup>) e fígado bovino (HNO<sub>3</sub> 1,5 mol L<sup>-1</sup>), respectivamente. Empregando tais condições, a exatidão do método de decomposição proposto foi avaliada pela determinação de metais em CRM de leite em pó e fígado bovino (Tabela 11).

**Tabela 11.** Resultados obtidos para a concentração de metais em CRMs de leite em pó (NIST 1549) e fígado bovino (NIST 1577) por ICP OES e por ICP-MS (Cd, Co e Pb) (média e desvio padrão em  $\mu\text{g g}^{-1}$ , n = 5).

Analito	NIST 1549 (Leite em pó desnatado)		NIST 1577 (Fígado bovino)	
	Valor certificado	Valor encontrado	Valor certificado	Valor encontrado
Ca	13000 $\pm$ 500	13005 $\pm$ 986	124 $\pm$ 6	112 $\pm$ 10
Cd	0,0005 $\pm$ 0,0002	< 0,004	0,27 $\pm$ 0,04	0,287 $\pm$ 0,019
Co	0,0041*	< 0,005	0,18*	0,214 $\pm$ 0,007
Cu	0,7 $\pm$ 0,1	< 0,71	193 $\pm$ 10	181 $\pm$ 12
Fe	1,78 $\pm$ 0,10	1,62 $\pm$ 0,14	268 $\pm$ 8	245 $\pm$ 21
K	16900 $\pm$ 300	15457 $\pm$ 1269	9700 $\pm$ 130	10028 $\pm$ 914
Mg	1200 $\pm$ 300	1178 $\pm$ 380	604 $\pm$ 9	595 $\pm$ 15
Mn	0,26 $\pm$ 0,60	0,263 $\pm$ 0,013	10,3 $\pm$ 1,0	9,63 $\pm$ 0,88
Mo	0,34*	0,27 $\pm$ 0,08	3,4*	0,329 $\pm$ 0,022
Na	4970 $\pm$ 100	4614 $\pm$ 431	2430 $\pm$ 130	2498 $\pm$ 148
Pb	0,019 $\pm$ 0,003	0,015 $\pm$ 0,003	0,34 $\pm$ 0,08	0,341 $\pm$ 0,070
Zn	46,1 $\pm$ 2,2	43,2 $\pm$ 2,3	130 $\pm$ 13	135 $\pm$ 13

Através da determinação de metais nos CRM, foi possível verificar que a quantidade de matéria orgânica remanescente e a acidez residual nos digerido finais não resultou em interferências nas técnicas utilizadas. Além disso, foi possível verificar a exatidão do procedimento proposto pela concordância que os valores encontrados apresentaram com os valores obtidos pelo procedimento de decomposição proposto (teste *t-student*,  $P < 0,05$ ).

#### 4.1.6 Parâmetros de desempenho para a decomposição com $\text{HNO}_3$ diluído e utilização de $\text{O}_2$ e $\text{H}_2\text{O}_2$ como reagentes auxiliares

Os principais parâmetros de desempenho observados para a decomposição com solução diluída de  $\text{HNO}_3$  e utilização de  $\text{O}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}_2$  como reagentes auxiliares podem ser observados na Tabela 12.

**Tabela 12.** Parâmetros de desempenho para a decomposição de leite em pó integral e fígado bovino com HNO<sub>3</sub> diluído e utilização de O<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> como reagentes auxiliares.

Amostra	Parâmetros de desempenho				
	Fase gasosa	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , mL	HNO <sub>3</sub> , mol L <sup>-1</sup>	RCC, %	Acidez Residual
Leite em pó	ar	0	7	8,7	43,9
	O <sub>2</sub> , 7,5 bar	0	2	21,7	13,2
	ar	3	1	14,5	37,8
Fígado bovino	ar	0	7	17,5	49,7
	O <sub>2</sub> , 5 bar	0	2	27,6	20,7
	ar	2,5	1,5	11,8	36,8

De acordo com os resultados obtidos, verificou-se a possibilidade de utilização de soluções diluídas de HNO<sub>3</sub> para decomposição das amostras de leite em pó integral e fígado bovino. Quando nenhum reagente auxiliar foi adicionado ao frasco de decomposição, foi possível utilizar solução 7 mol L<sup>-1</sup> de HNO<sub>3</sub> obtendo-se valores de RCC de 8,7 e 17,5% para as amostras de leite em pó integral e fígado bovino, respectivamente. Com a utilização de O<sub>2</sub> como reagente auxiliar (7,5 e 5 bar de O<sub>2</sub> para leite em pó integral e fígado bovino), foi possível diluir ainda mais o reagente utilizado. Neste caso, a decomposição das amostras de leite em pó integral e fígado bovino foi feita com solução 2 mol L<sup>-1</sup> de HNO<sub>3</sub>, representando uma redução de 3,5 vezes na quantidade de ácido utilizado em relação a decomposição sem o emprego de O<sub>2</sub>. No entanto, a condição que resultou em menor quantidade de HNO<sub>3</sub> necessária para a decomposição das amostras foi aquela com o emprego de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> como reagente auxiliar. Neste caso, foi possível decompor as amostras de leite em pó integral com solução 1 mol L<sup>-1</sup> de HNO<sub>3</sub> com a adição de 3 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (RCC de 14,5%) e fígado bovino com solução 1,5 mol L<sup>-1</sup> de HNO<sub>3</sub> com a adição de 2,5 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (RCC de 11,8%). Estes resultados representam uma condição de decomposição de leite em pó integral e fígado bovino com redução, respectivamente, de 7 e 4,7 vezes a quantidade de HNO<sub>3</sub> que foi necessária para a decomposição sem a utilização de reagentes auxiliares.

## 4.2 Avaliação da influência do aquecimento assistido por radiação micro-ondas para a decomposição por via úmida com HNO<sub>3</sub> diluído

Além da quantidade de O<sub>2</sub> disponível no frasco reacional, pode-se encontrar na literatura trabalhos que relacionam o aumento na eficiência do HNO<sub>3</sub> diluído com o gradiente de temperatura existente no frasco reacional no início do aquecimento assistido por radiação micro-ondas.<sup>15,16</sup> Conforme relatado, a fase gasosa no interior do frasco reacional não absorve efetivamente a radiação micro-ondas comparativamente a líquidos.<sup>8</sup> Neste caso, a diferença de temperatura entre a fase líquida e a fase gasosa resultaria em uma condição ideal para que os produtos da reação de regeneração do HNO<sub>3</sub> retornassem para a fase líquida através da condensação nas paredes do frasco de reação. Ademais, este fenômeno somente poderia ser observado quando o aquecimento do frasco reacional fosse promovido pela interação da radiação micro-ondas com o sistema reacional, uma vez que o aquecimento convencional resultaria em um aquecimento homogêneo das duas fases presentes no interior do frasco de decomposição.

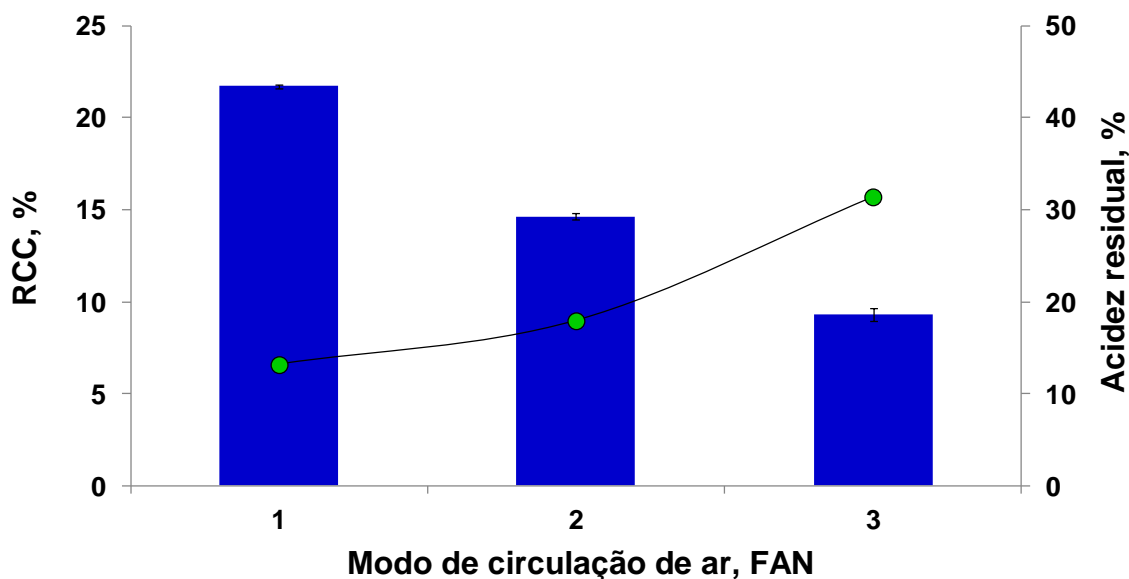
Com base nesta premissa, foi feito um estudo para avaliar a influência do gradiente de temperatura durante a etapa de decomposição. Como ambas as amostras apresentaram comportamento semelhante para os parâmetros avaliados, este estudo foi feito com base nas condições previamente otimizadas para a amostra de leite em pó integral, com a utilização somente de oxigênio como reagente auxiliar de decomposição (2 mol L<sup>-1</sup> HNO<sub>3</sub>, 7,5 bar de O<sub>2</sub>, 500 mg de amostra). Primeiramente, a decomposição com emprego do ácido diluído foi feita com passagem forçada de ar pela parte externa do frasco de quartzo durante a etapa de aquecimento assistido por micro-ondas, na tentativa de induzir um maior gradiente de temperatura. Adicionalmente, a magnitude do gradiente de temperatura, existente durante a etapa de decomposição, foi determinada pela obtenção de imagens térmicas da superfície do frasco reacional ao longo de determinados períodos de aquecimento e, também, durante a etapa de resfriamento.



#### 4.2.1 Decomposição com passagem forçada de ar na parte externa do frasco de decomposição durante a etapa de aquecimento

De acordo com a literatura,<sup>86</sup> a circulação de ar na parte externa do frasco reacional, durante a etapa de aquecimento micro-ondas, contribui para a redução da pressão parcial do solvente, uma vez que auxilia na dissipação do excesso de temperatura.<sup>86</sup> Este aspecto pode favorecer a decomposição da matéria orgânica em quantidades superiores a 0,3 g, por exemplo. Neste caso, a circulação de ar forçada na parte externa do frasco de decomposição resulta em melhor eficiência de decomposição, pois a pressão total do sistema será dependente, de forma mais significativa, do CO<sub>2</sub> formado pela oxidação da matéria orgânica (produto da oxidação da matéria orgânica). A pressão parcial ( $p$ ) do CO<sub>2</sub> será mais significativa do que a pressão parcial do solvente (resultado da evaporação do solvente), favorecendo a oxidação da matéria orgânica.

Neste contexto, foi avaliada a influência dos modos de circulação de ar FAN 2 e 3, durante a etapa de aquecimento micro-ondas, sobre a eficiência de decomposição de leite em pó integral com HNO<sub>3</sub> diluído. A eficiência de decomposição foi avaliada pela determinação do RCC nos digeridos finais. Os resultados obtidos através das decomposições com circulação de ar forçada (FAN 2 e 3) foram comparados com a eficiência de decomposição obtida na decomposição com modo de circulação de ar convencionalmente empregado no forno de micro-ondas utilizado neste estudo (FAN 1). Quando a decomposição foi feita com circulação de ar forçado, pode-se observar uma melhora significativa na eficiência de decomposição. O RCC obtido para os digeridos finais com o modo FAN 2 foi de  $14,6 \pm 0,2\%$ , enquanto RCC de  $9,3 \pm 0,3\%$  foi obtido para o modo FAN 3. Para o modo de circulação de ar FAN 1, o valor de RCC de  $21,7 \pm 0,1\%$  foi obtido, como pode ser observado na Figura 22 (barras).



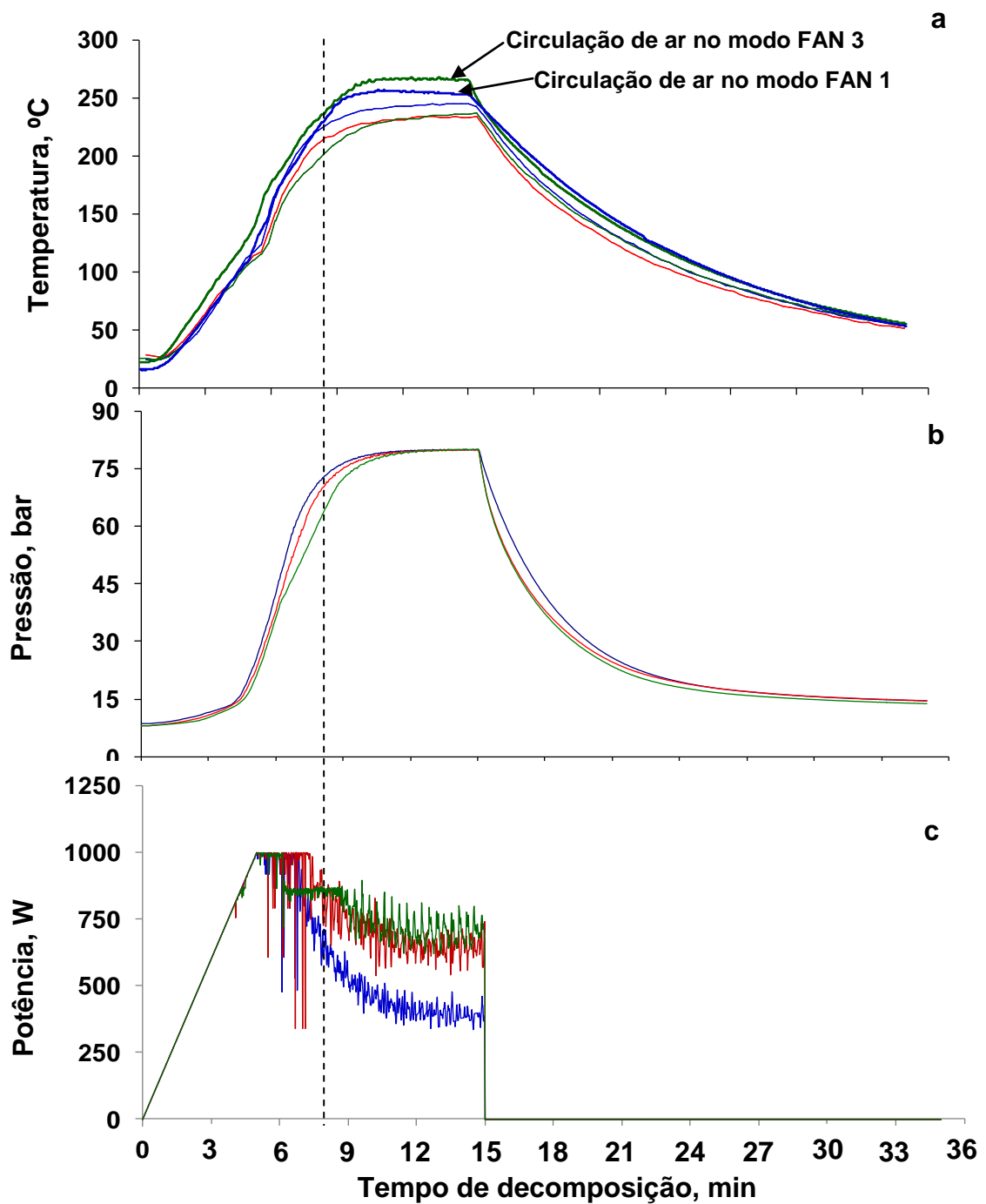
**Figura 22.** Efeito da passagem de ar forçada (FAN 1, 2 e 3) sobre a eficiência de decomposição de leite em pó integral (500 mg) com solução 2 mol L<sup>-1</sup> de HNO<sub>3</sub> pressurizado com 7,5 bar de O<sub>2</sub>.

Estes resultados estão de acordo com as informações encontradas na literatura, que relacionam o aumento na eficiência de decomposição com a dissipação do excesso de temperatura do frasco reacional, resultando em um aumento mais gradativo na pressão e possibilitando que o sistema mantenha a irradiação com micro-ondas por mais tempo (maior intensidade de radiação micro-ondas sobre a solução). Desta forma, com o calor sendo trocado, a temperatura do frasco de decomposição diminui e a solução utilizada para oxidação da matéria orgânica recebe uma quantidade maior de micro-ondas. Esta característica potencializa a ação oxidante do HNO<sub>3</sub>, uma vez que o aumento da temperatura na fase líquida depende da interação da radiação micro-ondas com a solução. Ainda, a manutenção da potência de irradiação de micro-ondas do forno utilizado depende de alguns fatores, como a pressão máxima de operação do sistema (80 bar) e a taxa de aumento de pressão inferior a 0,8 bar s<sup>-1</sup>. Desta forma, para que a quantidade de ondas irradiadas não seja minimizada, o controle da pressão do frasco pode garantir máxima absorção da radiação e, conseqüentemente, máxima transferência de energia para a solução oxidante. Como resultado, tem-se que a pressão máxima do sistema é influenciada, principalmente, pela formação de CO<sub>2</sub> (produto da decomposição da matéria orgânica) e não pela pressão parcial exercida pelos vapores liberados pela evaporação do solvente utilizado ( $\rho_{\text{ácido nítrico}}$  e  $\rho_{\text{água}}$ ).

Adicionalmente, a acidez residual nos digeridos finais obtidos pelas decomposições com circulação de ar forçado (FAN 2 e 3) foi comparada com acidez após decomposição feita no modo convencional (FAN 1), como pode ser observado na Figura 22 (linhas). Quando a circulação de ar foi aumentada, a acidez residual também aumentou, passando de  $13,2 \pm 0,3\%$  (FAN 1) para  $18,0 \pm 1,1\%$  e  $31,4 \pm 2,4\%$  (FAN 2 e 3, respectivamente). Este aumento na acidez residual, promovido pelo aumento na circulação de ar na parte externa do frasco reacional durante a etapa de aquecimento, pode estar relacionado com a regeneração do  $\text{HNO}_3$ . Como todos os parâmetros reacionais e instrumentais (exceto a circulação de ar) foram mantidos e o aumento na eficiência de decomposição associado ao aumento na acidez residual nos digeridos finais pode ser explicado pela reabsorção dos produtos gasosos da reação de regeneração pela fase líquida. Este comportamento resultaria em uma maior efetividade da reação de regeneração do  $\text{HNO}_3$ , aumentando sua ação oxidante no meio reacional. Estes resultados estão em concordância com os resultados apresentados em trabalhos anteriores,<sup>15,16</sup> que relacionam o aumento na eficiência de decomposição do  $\text{HNO}_3$  diluído com a reação de regeneração, promovida pela presença de um gradiente de temperatura no frasco de decomposição nos estágios iniciais da etapa de aquecimento micro-ondas.

Os resultados acima descritos podem, também, ser explicados pelos perfis dos gráficos de temperatura, pressão e potência de irradiação micro-ondas, como mostra a Figura 23. Quando o tempo de aquecimento de, aproximadamente, 7,5 min foi atingido, observou-se a maior diferença de temperatura e pressão para os procedimentos de decomposição com diferentes modos de circulação de ar (Figura 23, linha vertical). Neste tempo de aquecimento, a diferença de temperatura entre FAN 1 e 2 foi de aproximadamente  $15\text{ }^\circ\text{C}$  ( $202$  e  $187\text{ }^\circ\text{C}$ , respectivamente), enquanto que  $24\text{ }^\circ\text{C}$  de diferença foram observados para os modos FAN 1 e 3 ( $202$  e  $178\text{ }^\circ\text{C}$ , respectivamente, Figura 23a). Na Figura 23b pode ser observada uma diferença de  $5,8\text{ bar}$  na pressão para os modos FAN 1 e 2 ( $65,1$  e  $59,3\text{ bar}$ , respectivamente) e  $13,1\text{ bar}$  para os modos FAN 1 e 3 ( $65,1$  e  $52,0\text{ bar}$ , respectivamente). A relação entre a potência de radiação micro-ondas, irradiada em função do tempo, para as decomposições feitas nos modos FAN 1, 2 e 3 pode ser vista na Figura 23c. Pode-se notar que na decomposição feita no modo de circulação de ar FAN 1, a potência começa a ser controlada (menor do que  $1000\text{ W}$ )

logo após o término da rampa de aquecimento (5 min). No entanto, quando os modos FAN 2 e 3 foram utilizados, a potência permaneceu mais tempo em 1000 W. Além disso, pode-se notar que para o modo FAN 3, a intensidade de potência irradiada foi superior até o final da reação. Este resultado contribui para a idéia de que a utilização de uma circulação de ar forçada, induzindo um maior gradiente de temperatura no interior do frasco reacional, reduz a pressão parcial exercida pelo solvente ao reduzir a temperatura no interior do frasco de decomposição. Este efeito possibilita a decomposição mais efetiva da matéria orgânica, uma vez que a contribuição total para a pressão do sistema pode ser atribuída de forma mais significativa à  $p_{\text{dióxido de carbono}}$ . Ademais, a quantidade de energia transferida para o meio reacional é muito maior, pois a irradiação com micro-ondas no modo FAN 3 foi superior às demais na maior parte do ciclo de aquecimento, o que representa maior transferência de energia para a mistura reacional, mesmo com o frasco de decomposição com temperaturas relativamente mais baixas (FAN 1, 2 e 3, com área do gráfico de potência integrada de 496, 607 e 623 kW s<sup>-1</sup>, respectivamente).



**Figura 23.** Gráficos de a) temperatura, b) pressão e c) potência, obtidos durante a decomposição feita com circulação de ar nos modos FAN 1 (—), FAN 2 (—) e FAN 3 (—) durante a etapa de aquecimento micro-ondas. A linha vertical (---) representa o tempo de 7,5 min de aquecimento para a decomposição de leite em pó integral (500 mg) com solução 2 mol L<sup>-1</sup> de HNO<sub>3</sub> com pressão de O<sub>2</sub> (7,5 bar, inicial). Os gráficos foram obtidos diretamente do software do equipamento (Multiwave 3000, software versão v1.27).

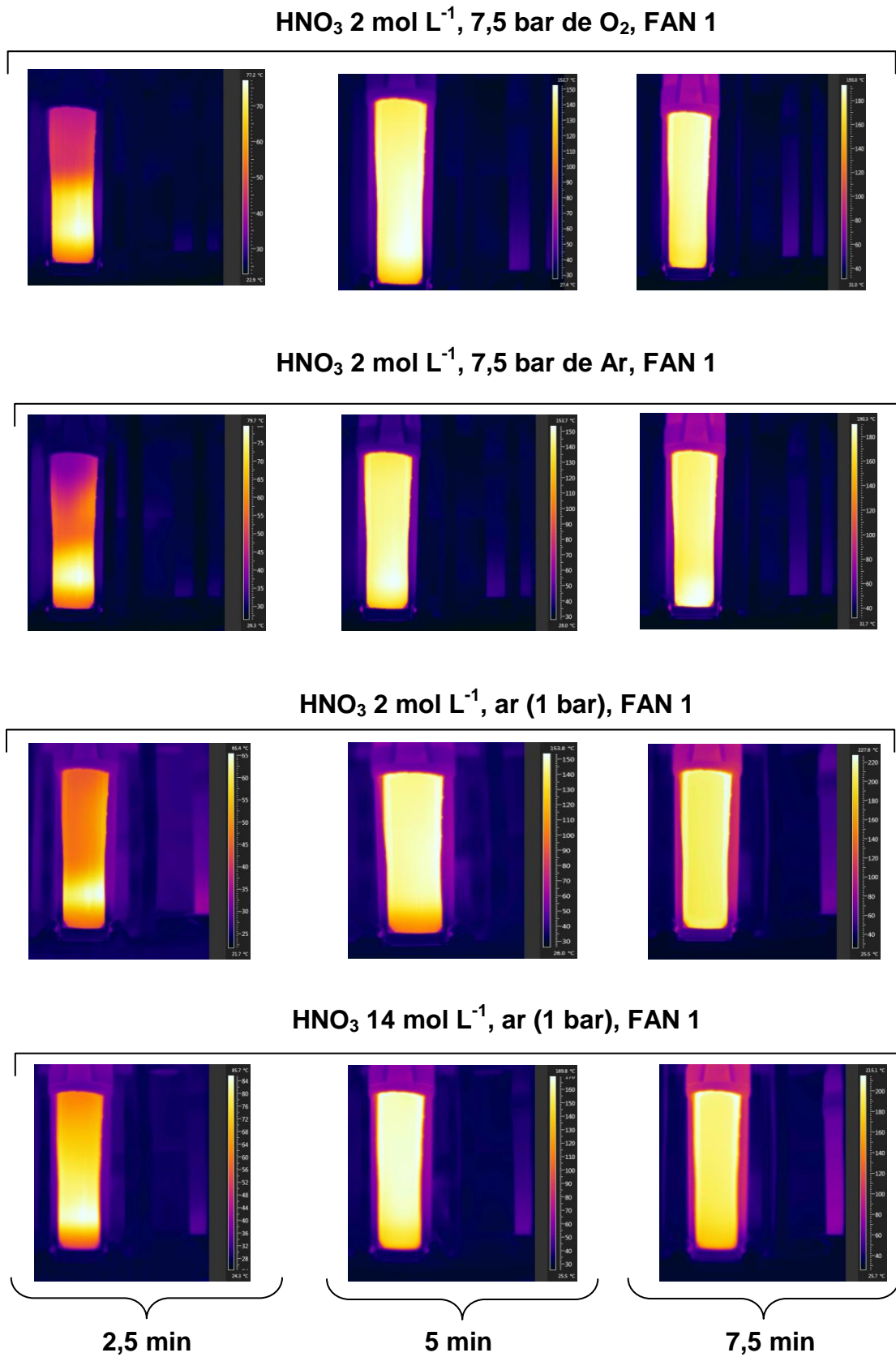
Além disso, foi utilizado o sensor de temperatura (T-probe) para avaliar a temperatura que a solução atinge durante o ciclo de aquecimento com os modos de circulação de ar FAN 1 e 3. O sensor de temperatura foi posicionado no interior do frasco de decomposição através da utilização de uma tampa que possui um tubo de imersão, possibilitando a medição da temperatura diretamente na interface solução/fase gasosa (item 3.5.4.1 *Avaliação da decomposição com passagem forçada de ar na parte externa do frasco de decomposição durante a etapa de aquecimento*). Ao contrário do que foi observado pela medição de temperatura com o sensor de temperatura externo ao frasco de quartzo (sensor de temperatura por infravermelho, localizado na cavidade do forno de micro-ondas), a temperatura da solução durante o ciclo de aquecimento com modo de circulação de ar FAN 3 foi superior àquela apresentada quando o frasco de decomposição foi aquecido com circulação de ar no modo FAN 1 (Figura 23a, linhas em destaque). No entanto, a maior temperatura obtida, quando o aquecimento com radiação micro-ondas é feito com circulação de ar no modo FAN 3, pode ser uma consequência da maior intensidade de radiação que entrou em contato com a solução dentro do frasco de decomposição. Esta suposição pode ser confirmada através da integração da área do gráfico de potência ( $\text{kW s}^{-1}$ ), que aumentou com o aumento da intensidade de circulação de ar (FAN 1, 2 e 3, com área do gráfico de potência integrada de 496, 607 e  $623 \text{ kW s}^{-1}$ , respectivamente). Neste caso, pode-se inferir que a melhor eficiência de decomposição obtida pelo procedimento feito com modo de circulação de ar FAN 3 seja uma consequência do aumento da incidência de micro-ondas na solução.

#### **4.2.2 Avaliação do gradiente de temperatura por termografia**

De acordo com os resultados obtidos no estudo da influência da intensidade da circulação de ar na parte externa do frasco reacional sobre a eficiência de decomposição, pode-se concluir que a redução da temperatura do frasco reacional contribui para aumentar a eficiência de métodos assistidos por radiação micro-ondas. Além da diminuição das pressões parciais dos solventes utilizados e da maior incidência de radiação micro-ondas sobre a mistura reacional, a intensificação do gradiente de temperatura (modo de circulação de ar FAN 2 e 3) pode ter

contribuído para o aumento da eficiência das reações de regeneração do  $\text{HNO}_3$  pela maior absorção dos produtos gasosos da reação pela fase líquida. Desta forma, a avaliação do gradiente de temperatura foi feita por termografia com a utilização de uma câmera de infravermelho.

A obtenção das imagens por termografia no infravermelho foram feitas, inicialmente, antes da exposição do sistema reacional à radiação micro-ondas (tempo zero) e após 2,5, 5 e 7,5 min de aquecimento assistido por radiação micro-ondas. Neste caso, foram feitas avaliações com soluções de  $\text{HNO}_3$   $14 \text{ mol L}^{-1}$  (FAN 1, ar à pressão atmosférica, 1 bar) e  $2 \text{ mol L}^{-1}$ , nas seguintes condições: (i) FAN 1, com atmosfera interna do frasco de decomposição com ar (1 bar), Ar (7,5 bar) e  $\text{O}_2$  (7,5 bar); e, (ii) FAN 2 e 3, com atmosfera interna do frasco de decomposição com Ar (7,5 bar) e  $\text{O}_2$  (7,5 bar). Quando a mistura reacional foi exposta à radiação micro-ondas (Figura 24), observou-se um intenso gradiente de temperatura em 2,5 min de aquecimento. Quando a amostra foi submetida a 5 e 7,5 min de exposição à radiação micro-ondas, a termografia não mostra nitidamente o gradiente de temperatura existente. Nestes casos, a temperatura foi medida com auxílio do software da câmera de infravermelho, o qual informou a temperatura existente ao longo do frasco de decomposição com base na emissividade previamente determinada para o quartzo.



**Figura 24.** Termografia por infravermelho obtida após etapa de aquecimento assistido por micro-ondas de 2,5 min (coluna da esquerda), 5 min (coluna do centro) e 7,5 min (coluna da direita), em diferentes concentrações de HNO<sub>3</sub> e composição de fase gasosa.



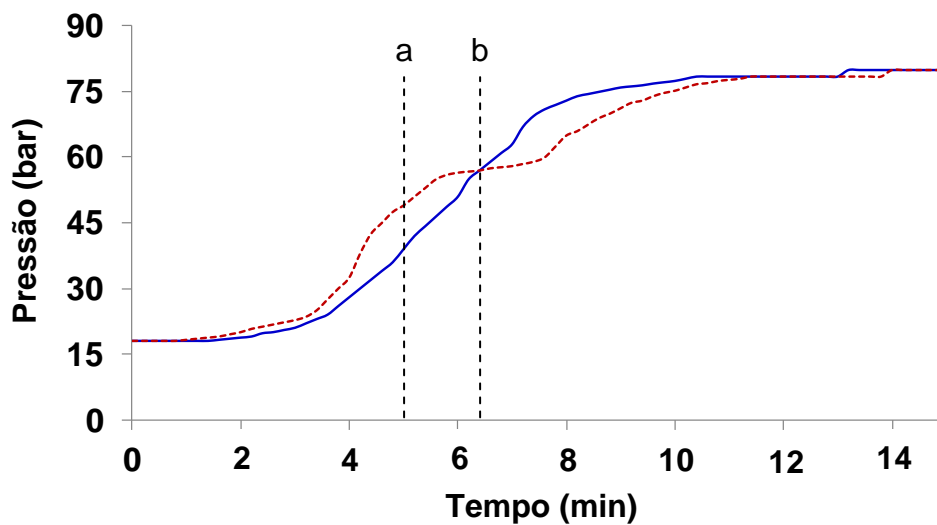
Os valores determinados pela termografia podem ser observados na Tabela 13. O gradiente de temperatura ( $\Delta T$ , °C), foi sempre representado pela diferença entre a temperatura da fase líquida e a temperatura da fase gasosa ( $T_{\text{fase líquida}} - T_{\text{fase gasosa}}$ ). No tempo de aquecimento de 2,5 min, a temperatura da fase líquida está abaixo da temperatura de ebulição do  $\text{HNO}_3$  (121 °C, à pressão atmosférica<sup>43</sup>). Neste tempo, a fase líquida apresentou temperatura superior à fase gasosa para todas as condições avaliadas ( $\Delta T$  de 21,9 e 33,6 °C, decomposição com  $\text{HNO}_3$  2 mol  $\text{L}^{-1}$  e pressão de  $\text{O}_2$  e decomposição com  $\text{HNO}_3$  14 mol  $\text{L}^{-1}$  e pressão de 1 atm, respectivamente). Quando a mistura reacional foi aquecida por 5 min, o gradiente de temperatura foi menor para a decomposição feita com  $\text{HNO}_3$  2 mol  $\text{L}^{-1}$  e pressão de  $\text{O}_2$  e Ar ( $\Delta T$  de 14,1 e 12,3 °C, respectivamente). No entanto, para as decomposições feitas sob pressão atmosférica, a fase gasosa apresentou temperatura superior a da fase líquida ( $\Delta T$  de -38,6 e -18,9 °C, para decomposição com  $\text{HNO}_3$  2 e 14 mol  $\text{L}^{-1}$ , respectivamente). Quando o tempo de decomposição foi de 7,5 min, somente a condição de decomposição com  $\text{HNO}_3$  2 mol  $\text{L}^{-1}$  e pressão de Ar apresentou temperatura da fase líquida superior a da fase gasosa. Neste tempo de aquecimento foi observada uma inversão dos valores de temperatura entre a fase líquida (mais fria) e a fase gasosa (mais quente) para as demais condições de decomposição.

**Tabela 13.** Temperatura nos tempos de 2,5, 5 e 7,5 min de aquecimento assistido por radiação micro-ondas. Foram avaliadas as condições experimentais com  $\text{HNO}_3$  2 mol  $\text{L}^{-1}$  (7,5 bar de  $\text{O}_2$ , 7,5 bar de Ar e ar à pressão atmosférica, 1 bar) e  $\text{HNO}_3$  14 mol  $\text{L}^{-1}$  (ar à pressão atmosférica).

Tempo de aquecimento, min	Temperatura da fase líquida, °C	Temperatura da fase gasosa, °C	$\Delta T$ , °C	$\text{HNO}_3$ , mol $\text{L}^{-1}$	Fase gasosa
2,5	75,7	42,1	33,6	2	7,5 bar de $\text{O}_2$
	78,5	38,5	40,0	2	7,5 bar de Ar
	73,4	50,4	23,0	2	ar (1 bar)
	84,9	63,0	21,9	14	ar (1 bar)
5	152,7	138,6	14,1	2	7,5 bar de $\text{O}_2$
	152,5	140,2	12,3	2	7,5 bar de Ar
	109,5	148,1	- 38,6	2	ar (1 bar)
	147,1	166,0	- 18,9	14	ar (1 bar)
7,5	180,8	185,8	- 5,0	2	7,5 bar de $\text{O}_2$
	188,1	176,3	11,8	2	7,5 bar de Ar
	205,6	210,4	- 4,8	2	ar (1 bar)
	176,0	199,0	- 23,0	14	ar (1 bar)

O gradiente de temperatura ao longo do frasco de decomposição existe somente enquanto existir um baixo número de moléculas na fase gasosa. Quando a concentração de gases aumenta, a interação da radiação micro-ondas com a fase gasosa pode resultar em aquecimento. Neste caso, a concentração de moléculas em fase gasosa pode aumentar por dois motivos: o primeiro está relacionado com a oxidação da matéria orgânica, com formação de  $\text{CO}_2$  e  $\text{NO}$ ; o segundo motivo está relacionado ao aumento da temperatura da solução que, ao ultrapassar a temperatura de ebulição do solvente utilizado, resulta no aumento da pressão do sistema. Além disso, como pode ser observado para as reações feitas com o frasco fechado à pressão atmosférica (ar. 1 bar), tanto para soluções 2 mol  $\text{L}^{-1}$  de  $\text{HNO}_3$  quando para o  $\text{HNO}_3$  14 mol  $\text{L}^{-1}$ , a fase gasosa apresentou temperaturas mais elevadas a partir de 5 min. No entanto, quando o  $\text{HNO}_3$  2 mol  $\text{L}^{-1}$  foi utilizado com o frasco pressurizado com  $\text{O}_2$ , a fase gasosa somente apresentou temperaturas

superiores às da fase gasosa a partir de 7,5 min. Com base nestes resultados, é possível inferir que o maior tempo de aquecimento por radiação micro-ondas, necessário para que a fase gasosa atingisse temperaturas iguais ou superiores à da fase líquida, seja o resultado do menor número de moléculas em fase gasosa como consequência da reação de regeneração do ácido. Este aspecto pode ser evidenciado pela análise dos perfis de pressão para as decomposições feitas com solução  $2 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{HNO}_3$ , com o frasco pressurizado com  $\text{O}_2$  e com pressão de Ar (Figura 25).



**Figura 25.** Perfil de pressão no interior dos frascos para as decomposições feitas com 20 bar de  $\text{O}_2$  (linha em azul) e 20 bar de Ar (linha pontilhada em vermelho). Decomposição de 500 mg de leite em pó integral com solução  $2 \text{ mol L}^{-1}$   $\text{HNO}_3$ . As linhas verticais representam (a) 5 min e (b) 6,4 min de aquecimento.

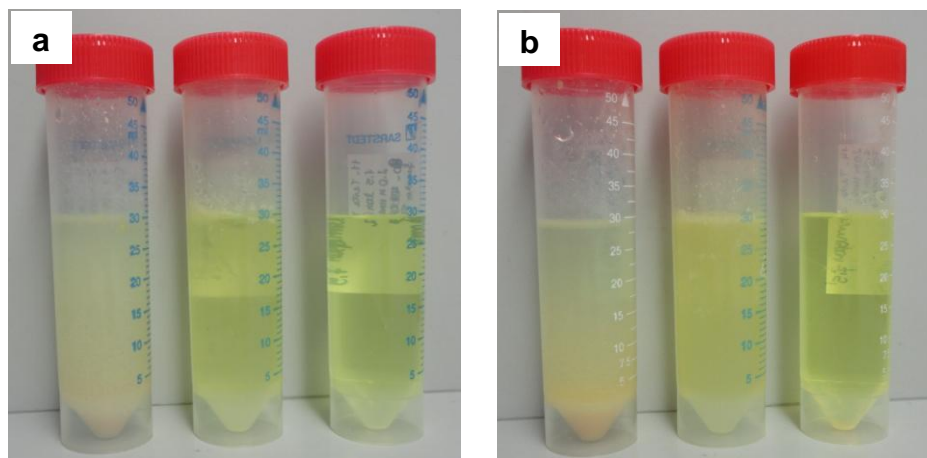
Considerando que a reação de regeneração do  $\text{HNO}_3$  resulta em uma alteração na quantidade de moléculas na fase gasosa, o perfil da pressão no interior do frasco pode ser alterado com as diferentes composições da fase gasosa. Na Figura 25 é possível observar que, no início do aquecimento (até aproximadamente 6 min), a oxidação da matéria orgânica (que leva à modificação da pressão) ocorre mesmo quando o frasco reacional foi pressurizado com Ar. No entanto, com o frasco reacional pressurizado com Ar (Figura 25, linha pontilhada em vermelho), a taxa de aumento da pressão aumenta mais rápido do que a taxa de aumento de pressão com o sistema pressurizado com  $\text{O}_2$  (Figura 25, linha azul). Em aproximadamente 5 min de decomposição, a pressão do frasco reacional era de 36

e 48 bar para decomposição feita com O<sub>2</sub> e Ar, respectivamente. A menor pressão obtida para o frasco com atmosfera pressurizada com O<sub>2</sub> pode estar relacionada à reação de regeneração do HNO<sub>3</sub> que, de acordo com as Equações 3 e 4 (p. 34), resulta em um consumo das espécies gasosas formadas pela decomposição da matéria orgânica e reabsorção em fase líquida dos produtos formados. Ademais, para os tempos de aproximadamente 6 a 11 min de decomposição, pode-se observar uma inversão nos perfis de pressão. A digestão feita com pressão de O<sub>2</sub> apresentou uma tendência linear no aumento da pressão, que somente foi mudada quando a pressão do sistema se aproximou da pressão máxima de trabalho do frasco de decomposição (80 bar). Por outro lado, a pressão do sistema aumentou de modo diferente, com incrementos discretos, quando a decomposição foi feita com pressão de Ar, o que pode ter sido causado pela reação lenta de oxidação da matéria orgânica devido à ausência do processo de regeneração dentro do frasco reacional. Estes diferentes perfis de pressão, como resultado da pressurização do frasco de decomposição com O<sub>2</sub> e com Ar, são um indício de que a composição da fase gasosa, assim como a regeneração do HNO<sub>3</sub>, podem exercer influências sobre o gradiente de temperatura como resultado da diferente concentração de moléculas na fase gasosa do frasco de decomposição.

Além disso, como observado para as decomposições feitas com HNO<sub>3</sub> 2 mol L<sup>-1</sup> com pressão inicial de O<sub>2</sub> e ar (1 atm), a temperatura na fase gasosa foi menor quanto maior a disponibilidade de O<sub>2</sub> na fase gasosa, o que pode estar relacionado com a reação de regeneração do HNO<sub>3</sub>. De acordo com os dados termodinâmicos de formação de NO<sub>2</sub>(g) ( $\Delta_f H^\circ = +33,18 \text{ kJ mol}^{-1}$ ),<sup>70</sup> esta é uma reação endotérmica (absorve calor da vizinhança) que pode ser favorecida com o aumento da temperatura no interior do frasco reacional. Neste caso, para que o equilíbrio da reação de formação de NO<sub>2</sub> seja deslocado no sentido de formação dos produtos, a vizinhança (fase gasosa do frasco de reação) deve fornecer calor à reação. Desta forma, quanto maior a formação de NO<sub>2</sub>, maior será a quantidade de calor absorvido, resultando em uma diminuição da temperatura da fase gasosa do frasco reacional. Este comportamento pode ser o responsável pela temperatura na fase gasosa ser menor que as demais para o sistema inicialmente pressurizado com O<sub>2</sub>. Além disso, o comportamento divergente obtido para decomposição com HNO<sub>3</sub> 14 mol L<sup>-1</sup> (ar, 1 atm) pode ser explicado pela saturação da fase gasosa com espécies CO<sub>2</sub>(g) ( $\Delta_f H^\circ = -393,51 \text{ kJ mol}^{-1}$ ),<sup>70</sup> cuja formação resulta na liberação de

calor (reação exotérmica), uma vez que a oxidação da matéria orgânica ocorre sem a necessidade de regeneração do  $\text{HNO}_3$ . O comportamento adverso apresentado para a decomposição com pressão de Ar pode ser explicado pela velocidade mais lenta de oxidação da matéria orgânica (baixa taxa de formação de  $\text{CO}_2$ ), uma vez que a solução de  $\text{HNO}_3$   $2 \text{ mol L}^{-1}$  não possui poder oxidante suficiente para oxidar a matéria orgânica na ausência de  $\text{O}_2$  em fase gasosa.

Ao término de cada etapa de aquecimento, os digeridos finais foram coletados e comparados (Figura 26). Pode-se observar que, mesmo em 7,5 min de aquecimento com pressão de 7,5 bar de  $\text{O}_2$ , a solução de  $\text{HNO}_3$   $2 \text{ mol L}^{-1}$  não foi eficiente na decomposição da matéria orgânica. Este resultado pode ser considerado uma evidência de que a decomposição da matéria orgânica, baseada na reação de regeneração do  $\text{HNO}_3$  não é instantânea, necessitando de mais tempo para ocorrer de forma mais significativa. No caso de soluções diluídas, a decomposição da matéria orgânica depende da efetividade desta reação para aumentar a ação do oxidante utilizado.



**Figura 26.** Aspecto dos digeridos finais obtidos após 2,5, 5 e 7,5 min de aquecimento (da esquerda para a direita, respectivamente). As decomposições foram feitas com 500 mg de leite em pó integral, 6 mL de solução  $2 \text{ mol L}^{-1}$   $\text{HNO}_3$  e pressão de 7,5 bar de a)  $\text{O}_2$  e b) Ar.

Como observado no estudo anterior (*item 4.2.1 Decomposição com passagem forçada de ar na parte externa do frasco de decomposição durante a etapa de aquecimento*), a utilização dos modos de circulação de ar FAN 2 e 3 resultaram em uma melhor eficiência de decomposição da amostra de leite em pó integral. Desta forma, para verificar se este melhora na eficiência de decomposição

também está relacionada com o aumento no gradiente de temperatura ao longo do frasco de decomposição, foram obtidas imagens térmicas para as decomposições com solução  $2 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{HNO}_3$  com pressão de 7,5 bar de  $\text{O}_2$ , nos modos FAN 2 e 3. Como pode ser observado na Tabela 14, quando a amostra foi submetida a 2,5 min de aquecimento com radiação micro-ondas, o gradiente de temperatura ao longo do frasco reacional diminuiu de  $33,6 \text{ }^\circ\text{C}$  (FAN 1) para  $29,9$  e  $14,4 \text{ }^\circ\text{C}$  (FAN 2 e 3, respectivamente). No tempo de 5 min, a temperatura na fase líquida e na fase gasosa diminuiu proporcionalmente, não havendo mudança significativa no gradiente de temperatura. Para o tempo de 7,5 min de aquecimento, a temperatura em ambas as fases também foi menor, quando comparada com a decomposição no modo FAN 1. Ademais, observou-se o mesmo perfil de inversão do gradiente de temperatura que havia sido observado no modo FAN 1 (para a mesma solução de  $\text{HNO}_3$  e pressão de  $\text{O}_2$ ), e a fase gasosa apresentou temperaturas superiores às apresentadas na fase líquida.

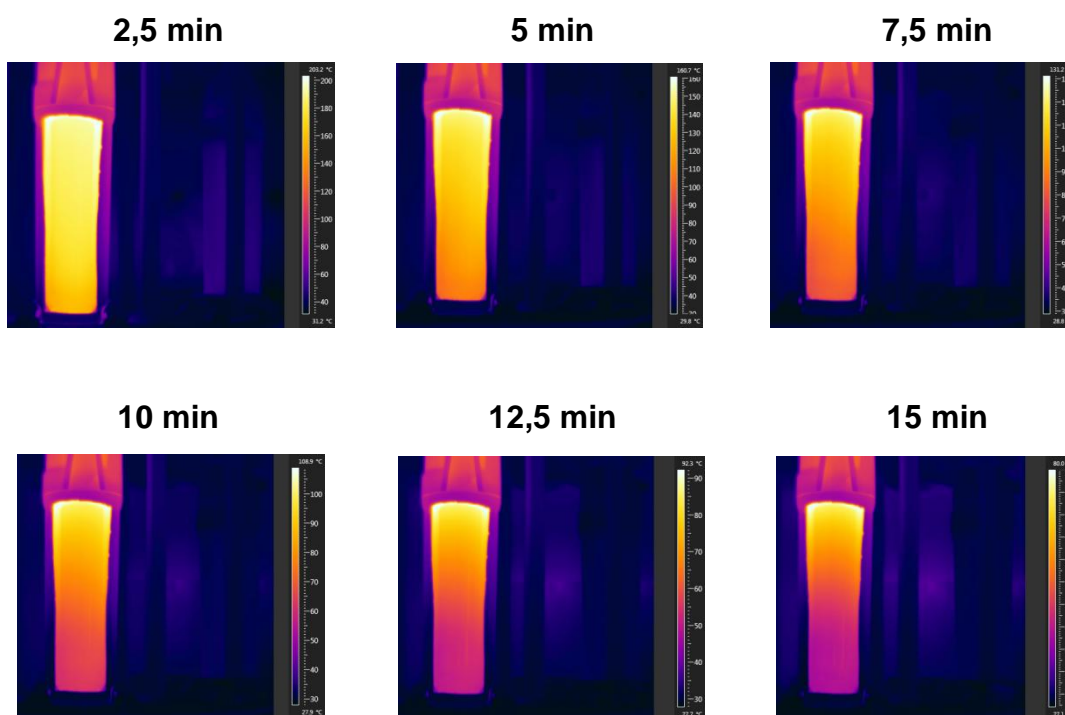
**Tabela 14.** Temperatura nos tempos de 2,5, 5 e 7,5 min de aquecimento assistido por radiação micro-ondas, nos modos de circulação de ar FAN 1, 2 e 3. A decomposição foi feita com 500 mg de amostra e solução  $2 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{HNO}_3$ , pressurizado com  $\text{O}_2$  (7,5 bar de  $\text{O}_2$ ).

Tempo de aquecimento, min	T. fase líquida, $^\circ\text{C}$	T. fase gasosa, $^\circ\text{C}$	$\Delta T$ , $^\circ\text{C}$	Exaustão (FAN)
2,5	75,7	42,1	33,6	1
	70,5	40,6	29,9	2
	71,0	56,6	14,4	3
5,0	152,7	138,6	14,1	1
	147,3	130,4	16,9	2
	128,5	115,5	13,0	3
7,5	180,8	185,8	- 5,0	1
	169,3	176,8	- 7,5	2
	156,0	162,9	- 6,0	3

Estes resultados indicam que a melhora na eficiência de decomposição com soluções diluídas de  $\text{HNO}_3$ , observadas quando uma circulação de ar mais intensa é feita na parte externa do frasco reacional, não pode estar relacionada unicamente

com o gradiente de temperatura. A melhor eficiência de decomposição observada deve ter sido provocada pela redução das pressões de vapor do  $\text{HNO}_3$  e da  $\text{H}_2\text{O}$ , causada pela redução da temperatura no sistema reacional, como foi discutido anteriormente (*item 4.2.1 Decomposição com passagem forçada de ar na parte externa do frasco de decomposição durante a etapa de aquecimento*).

A medição da temperatura na fase líquida e na fase gasosa mostrou que o gradiente de temperatura ao longo do frasco reacional existe somente em tempos de aquecimento menores ao intervalo de 5 a 7,5 min de aquecimento. O aspecto visual dos digeridos finais indica que a decomposição da matéria orgânica não foi eficiente nos tempos de aquecimento avaliados, uma vez que as mesmas apresentaram um aspecto fortemente amarelado. Como forma de elucidar melhor o estudo da influência do gradiente de temperatura sobre a reação de regeneração do  $\text{HNO}_3$ , foi feita a obtenção de imagens por termografia no infravermelho durante a etapa de resfriamento (2,5, 5, 7,5, 10, 12,5 e 15 min), como pode ser observado na Figura 27.



**Figura 27.** Termografia por infravermelho obtida durante a etapa de resfriamento. A decomposição foi feita com 500 mg de leite em pó integral, solução  $2 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{HNO}_3$  e 7,5 bar de  $\text{O}_2$ .

No tempo de resfriamento de 2,5 min, a temperatura da fase líquida era de 159,9 °C e a temperatura da fase gasosa 190,6 °C ( $\Delta T$  de - 36,1 °C). No intervalo de resfriamento de 5 a 12,5 min, o gradiente de temperatura se manteve praticamente constante (- 36,1 a - 30,0 °C, respectivamente). No tempo de 15 min, a temperatura da fase líquida era de 44,0 °C e a da fase gasosa era de 70,6 °C ( $\Delta T$  de - 26,6 °C). Estes resultados indicam que, mesmo na etapa de resfriamento, a fase gasosa apresenta temperatura ligeiramente superior à da fase líquida. Isto é um indicativo de que a influência do gradiente de temperatura, para o mecanismo de regeneração, deve ser significativa até os primeiros 7,5 min de aquecimento. Ainda, durante este tempo de aquecimento com radiação micro-ondas (7,5 min) a decomposição da matéria orgânica foi incompleta. Desta forma, pode-se inferir que para uma eficiente decomposição da matéria orgânica, a regeneração do  $\text{HNO}_3$  deve existir ao longo de todo o ciclo de aquecimento.

Os resultados obtidos por termografia foram comparados com resultados obtidos pela medição da temperatura interna do frasco reacional com o auxílio de um termopar. Como pode ser observado na Tabela 15, a temperatura na fase líquida apresentou valores superiores aos obtidos para a fase gasosa. Estes resultados foram observados nas diferentes profundidades de imersão do termopar, seja na fase líquida (16 cm) ou na fase gasosa (12, 6 e 3 cm), para os diferentes tempos de aquecimento (2,5, 5 e 7,5 min). O gradiente de temperatura observado chegou a 28 °C (solução 2 mol L<sup>-1</sup> de  $\text{HNO}_3$ , 7,5 bar de  $\text{O}_2$ ) e 37 °C (solução 2 mol L<sup>-1</sup> de  $\text{HNO}_3$ , 7,5 bar de Ar) para 7,5 min de aquecimento por radiação micro-ondas, o que é divergente dos resultados obtidos por termografia (fase gasosa mais quente para 7,5 min de aquecimento com sistema pressurizado com  $\text{O}_2$ ).



**Tabela 15.** Temperatura nos tempos de 2,5, 5 e 7,5 min de aquecimento assistido por radiação micro-ondas. Foram avaliadas as condições experimentais para decomposição de 500 mg de leite em pó integral com 6 mL de solução de  $\text{HNO}_3$  2 mol  $\text{L}^{-1}$  (7,5 bar de  $\text{O}_2$ , 7,5 bar de Ar).

Pressão interna, bar	Imersão do termopar, cm	Temperatura, °C		
		Aquecimento, 2,5 min	Aquecimento, 5 min	Aquecimento, 7,5 min
$\text{O}_2$ , 7,5	3	33	91	174
	6	38	101	180
	12	51	106	186
	16	50	119	202
Ar, 7,5	3	28	83	165
	6	37	95	156
	12	47	110	177
	16	55	139	202

A diferença de temperatura existente entre a fase líquida e gasosa foi de, no máximo, 28 °C (5 e 7,5 min de aquecimento, sistema com pressão de  $\text{O}_2$ ) e 56 °C (5 min de aquecimento, sistema com pressão de Ar). Como observado anteriormente, a temperatura na fase gasosa para a decomposição com Ar após 7,5 min de aquecimento foi sempre inferior às temperaturas obtidas para a decomposição com pressão de  $\text{O}_2$ . Este resultado está de acordo com o resultado obtido por termografia, onde foi interpretado que as menores temperaturas obtidas para a decomposição com pressão de Ar podem ser resultantes da baixa velocidade de oxidação da matéria orgânica quando solução 2 mol  $\text{L}^{-1}$  de  $\text{HNO}_3$  foi utilizada na ausência de  $\text{O}_2$ .

Porém, um pequeno desvio em relação à temperatura medida pelo termopar e temperatura real do sistema é esperado. Ademais, este erro relativo pode ser mais pronunciado para medidas de temperatura em fase gasosa. O emprego de um termopar para medição de temperatura depende da transferência de calor que ocorre pelas colisões entre átomos e moléculas de uma substância, com subsequente transferência de energia para outra substância.<sup>90,91</sup> No caso da

<sup>90</sup> Sissom, L. E., Pitts, D. R., Luiz, A. M. Fenômenos de transporte, Guanabara Dois, 1988, 192 p.

<sup>91</sup> Dossat, R. J. Princípios de refrigeração, Hemus, 2004, Dossat, R. J., 896 p.

temperatura medida em um sistema binário (água-gás), aquecido por radiação micro-ondas, existe um número muito maior de colisões na interface líquido-sólido (solução de  $\text{HNO}_3$ -parede do tubo de imersão) do que na interface gás-sólido.<sup>70,85</sup> Ademais, o diâmetro interno do tubo de imersão utilizado era maior que o diâmetro externo do termopar. O espaço entre a parede do tubo de imersão e o termopar é preenchido por uma película de ar, que representa uma nova barreira para o equilíbrio térmico. Desta forma, para que a temperatura interna ao frasco reacional seja determinada, a energia térmica deve ser transferida da fase líquido/gás para a parede do tubo de imersão. Adicionalmente, esta energia deve atravessar o tubo de imersão por condução e ser transferida para a película de ar. Após, a energia deverá ser novamente transferida do ar para a parede do termopar. Esse mecanismo, combinado de transferência de calor (condução e convecção), resulta em uma perda de energia, que representará uma incerteza atrelada à medição da temperatura. Estes erros relacionados à medida da temperatura com o termopar devem ter sido menos pronunciados quando as temperaturas foram obtidas por termografia, uma vez que foi determinada a emissividade do quartzo, a distância de obtenção das imagens foi sempre a mesma e a luminosidade da sala e a umidade relativa do ar foram controladas durante as medições.

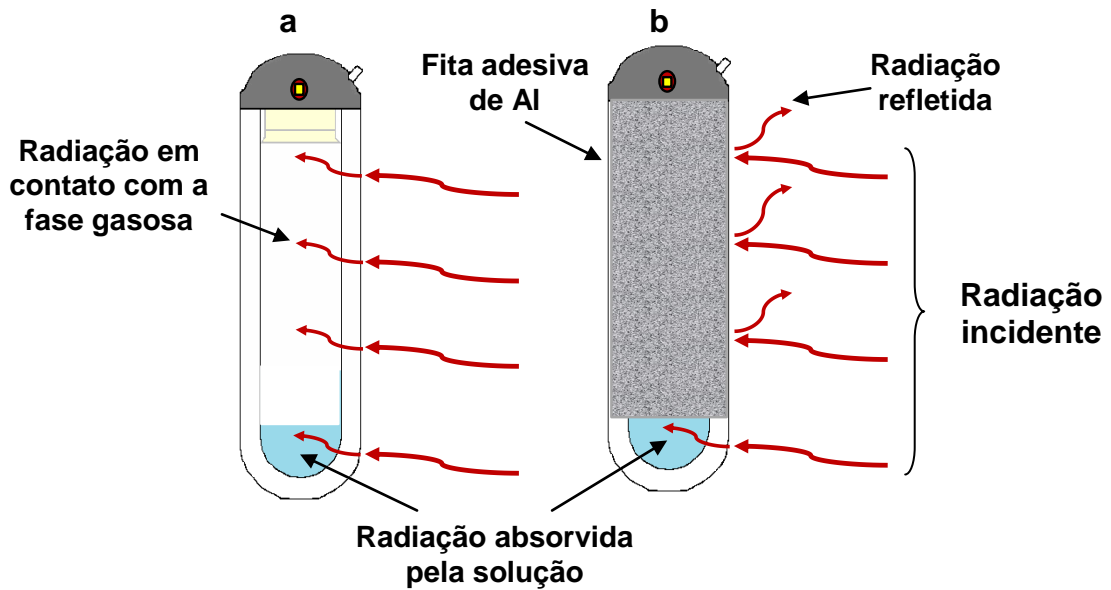
Mesmo assim, a temperatura medida por termografia e com o termopar não apresentaram diferenças significativas para as temperaturas medidas. A diferença entre os resultados obtidos em fase gasosa (comparação feita com o termopar imerso 6 cm), para tempo de aquecimento de 2,5 e 7,5 min foram inferiores a 6 °C (10 e 3%, respectivamente). Para o tempo de 5 min de aquecimento esta diferença foi de 37,6 °C. Esta diferença foi mais pronunciada quando a temperatura foi medida na fase líquida. Nesta condição, a diferença de temperatura foi inferior a 34 °C para todos os tempos de aquecimento. A termografia apresentou valores de temperatura superiores, para ambas as fases, quando os resultados foram comparados com os obtidos pelo termopar (com exceção do tempo de 7,5 min na fase líquida). Este resultado pode ser um indício da dificuldade de obtenção do equilíbrio térmico que deve ser estabelecido no sistema reacional, entre as fases líquido/sólido/gás/sólido ou gás/sólido/gás/sólido, para as medidas feitas com o termopar.

### 4.2.3 Avaliação da influência da interação da radiação micro-ondas com a fase gasosa durante a etapa de decomposição

Os resultados obtidos para o estudo do efeito do gradiente de temperatura (*item 4.2.1 Decomposição com passagem forçada de ar na parte externa do frasco de decomposição durante a etapa de aquecimento e 4.2.2 Avaliação do gradiente de temperatura por termografia*) não foram considerados conclusivos a respeito da influência deste parâmetro sobre o mecanismo de regeneração do  $\text{HNO}_3$ . No entanto, foi possível verificar que, além da reação de regeneração depender de uma quantidade mínima de  $\text{O}_2$  em fase gasosa, esta reação deve ocorrer ao longo de todo o tempo de aquecimento para que a amostra seja eficientemente decomposta.

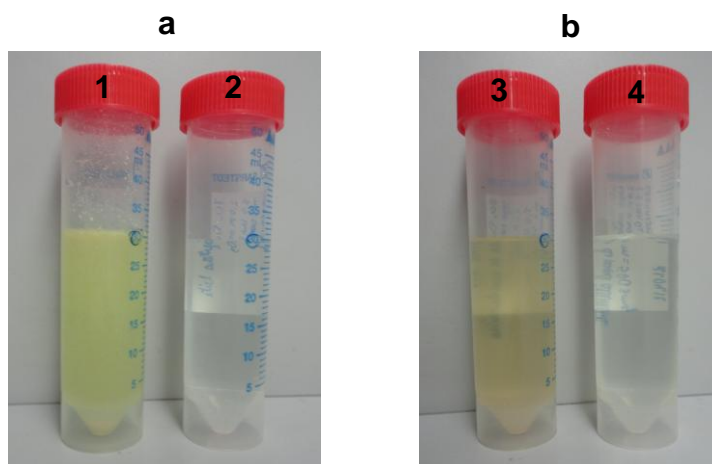
Desta forma, é possível supor que a eficiência de decomposição empregando a solução diluída de  $\text{HNO}_3$ , cujos resultados obtidos ao longo deste estudo relacionam à reação de regeneração, seja influenciada por algum efeito específico resultante da interação da radiação micro-ondas com o interior do frasco reacional. A hipótese referente à eficiência de decomposição apresentada por soluções diluídas de  $\text{HNO}_3$  ser dependente da interação da radiação micro-ondas já havia sido discutida na literatura.<sup>16</sup> No entanto, o efeito exercido pelas micro-ondas foi relacionado somente à presença do gradiente de temperatura no interior do frasco de decomposição, existente no início do ciclo de aquecimento.

Neste sentido, foi feito um estudo para avaliar a influência da interação da radiação micro-ondas, na fase gasosa do copo de quartzo, sobre a eficiência de decomposição. Para este estudo, o copo de quartzo foi recoberto com uma fita adesiva de alumínio somente na altura da fase gasosa. Tendo em vista que o alumínio é um material reflexivo à radiação micro-ondas, considerou-se que nessas condições a interação da radiação com a fase gasosa interna do frasco reacional seria muito reduzida (possibilidade de reflexões na base e cavidade do forno de micro-ondas). A Figura 28 mostra o recobrimento do frasco de quartzo e a interação da radiação com a solução. Desta forma, foi possível avaliar a influência da radiação micro-ondas somente (ou majoritariamente) com a fase líquida, sem que a radiação entrasse em contato com a fase gasosa. Este estudo foi feito com as condições previamente otimizadas para a decomposição de 500 mg de leite em pó integral (6 mL de solução  $2 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{HNO}_3$ ), somente com pressão de  $\text{O}_2$  (7,5 bar).



**Figura 28.** Esquema referente à interação da radiação micro-ondas com o copo de quartzo a) sem recobrimento de fita de alumínio e b) com recobrimento de fita de alumínio.

Em um primeiro momento, o sistema recoberto com fita de alumínio foi exposto à radiação micro-ondas de acordo com o programa de aquecimento utilizado neste estudo (rampa de 5 min de 0 a 1000 W, 10 min de irradiação micro-ondas a 1000 W, seguido de 20 min de resfriamento). Após 15 min de aquecimento com radiação micro-ondas, a amostra não apresentou sinal de decomposição, permanecendo praticamente inalterada. A temperatura máxima do frasco de decomposição foi de aproximadamente 135 °C. Além disso, o aumento de temperatura na solução permaneceu praticamente o mesmo até aproximadamente 120 °C (5 min de aquecimento) para as decomposições feitas com e sem o recobrimento com a fita de alumínio. Após este tempo, a temperatura do frasco reacional sem papel alumínio seguiu aumentando (até 280 °C, limite máximo de trabalho do forno de micro-ondas utilizado neste estudo) enquanto que a temperatura da solução presente no frasco de quartzo recoberto com a fita de alumínio praticamente não mudou. O aspecto dos digeridos finais pode ser observado na Figura 29a.

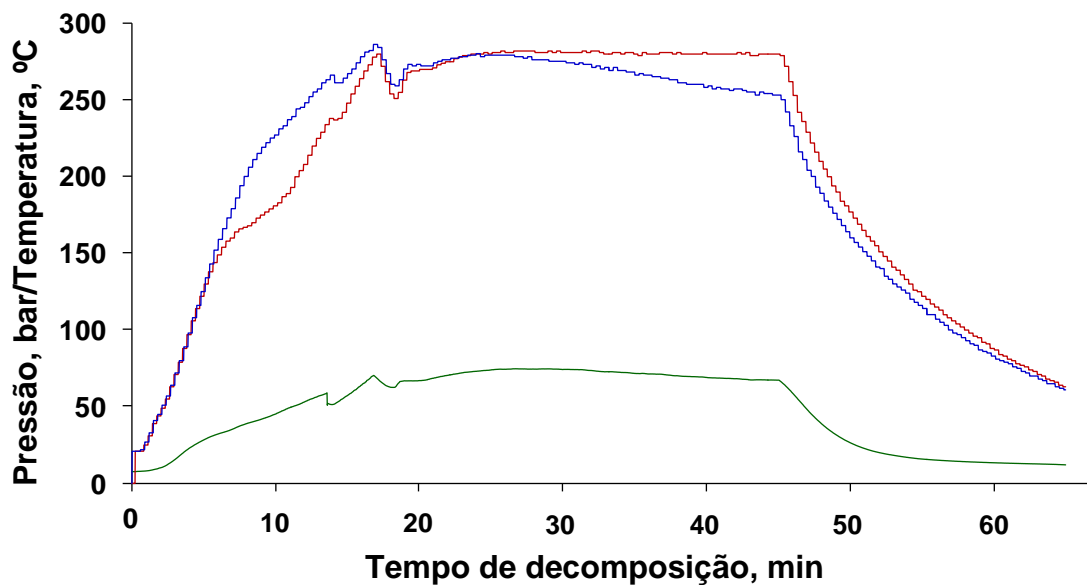


**Figura 29.** Digeridos finais para aquecimento de: a) 15 min e b) 45 min. 1) digestão com o frasco de quartzo recoberto com fita de alumínio (com pressão de 7,5 bar de  $O_2$ ); 2) digestão sem recobrimento com fita de alumínio (com pressão de 7,5 bar de  $O_2$ ); 3) digestão com recobrimento de fita de alumínio sem pressão de oxigênio; 4) digestão com recobrimento de fita de alumínio com pressão de 7,5 bar de  $O_2$ .

É importante salientar que, apesar de se utilizar todas as condições previamente otimizadas, a digestão da amostra de leite em pó não foi eficiente quando o frasco reacional foi recoberto com papel alumínio. Além da ausência de interação da radiação micro-ondas com a fase gasosa, outra possível causa para ineficiência de degradação da matéria orgânica pode estar relacionada com a baixa temperatura que o sistema alcançou ao longo do tempo de decomposição (15 min). Desta forma, o procedimento foi feito com um tempo de 45 min (5 min de rampa e 40 min de permanência na potência máxima de irradiação micro-ondas) para avaliar o tempo necessário para que a solução dentro do frasco reacional atingisse temperaturas mais elevadas. Este estudo foi feito somente com dois frascos de quartzo contendo a amostra; um recoberto com fita de alumínio e pressurizado com 7,5 bar de  $O_2$  e o outro sem pressurização (sob pressão atmosférica, 21% de  $O_2$ ). O aspecto final dos digeridos pode ser observado na Figura 29b.

Neste estudo, como somente dois frascos continham amostra, após aproximadamente 17 min de aquecimento, observou-se que ambos os frascos reacionais alcançaram temperaturas superiores a 270 °C (Figura 30). Ao final da decomposição, observou-se que a amostra que estava presente no frasco reacional sem pressão de  $O_2$  não apresentou uma decomposição eficiente da matéria

orgânica (RCC de 70%). Já a amostra decomposta sob pressão de  $O_2$ , apresentou um aspecto límpido, com RCC inferior a 10%. Este resultado pode ser uma consequência do longo tempo de aquecimento (45 min no total, com mais de 28 min com temperatura acima de  $270\text{ }^\circ\text{C}$ , Figura 30) combinado com uma atmosfera pressurizada com  $O_2$ . Ademais, é importante destacar que somente a maior temperatura de decomposição não é suficiente para a degradação da amostra com solução de  $HNO_3\ 2\ \text{mol L}^{-1}$ , o que pode ser utilizado como argumento para uma decomposição ineficiente obtida com o frasco sem pressão de  $O_2$ . Com relação à pressão, somente após 22 min a faixa de 70 bar foi ultrapassada. Este aumento gradativo de pressão pode estar relacionado com a baixa taxa de oxidação da matéria orgânica, resultando em uma menor contribuição do  $CO_2$  para a pressão total do sistema.



**Figura 30.** Variação da temperatura durante a decomposição assistida por micro-ondas com recobrimento parcial do frasco com papel alumínio. Tempo de aquecimento de 45 min. Perfil de temperatura referente ao frasco reacional com (—) 7,5 bar de  $O_2$  e (—) sem pressão de  $O_2$  (ar à pressão atmosférica, 1 bar, 21% de  $O_2$ , e; (—) perfil de pressão apresentado ao longo do procedimento de decomposição.

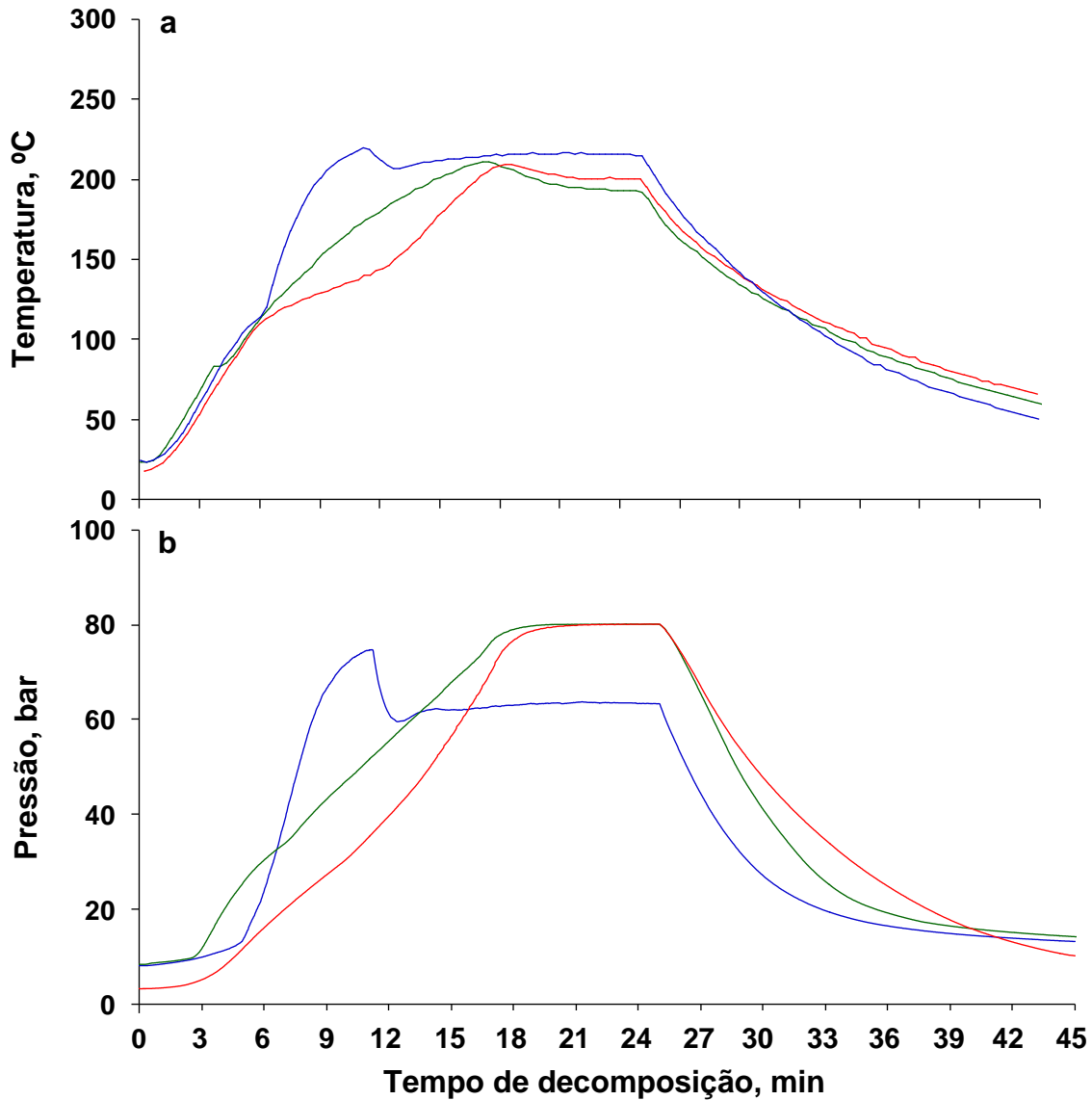
O procedimento de decomposição com 45 min de aquecimento resultou em uma boa eficiência de decomposição (RCC < 10%). No entanto, não foi possível observar a magnitude da influência da interação da radiação sobre a fase gasosa.

Desta forma, foi feito um estudo para se avaliar o efeito da interação da radiação micro-ondas com a fase gasosa do frasco reacional. Neste caso, foi feita uma decomposição sob as mesmas condições de temperatura máxima, tempo de permanência na temperatura máxima e pressão do sistema para as decomposições com pressão inicial de O<sub>2</sub> (7,5 bar). De acordo com os testes anteriores (15 min de aquecimento), observou-se que o sistema reacional alcançava a temperatura máxima em torno de 9 min (acima de 240 °C) e permanecia nesta temperatura por mais 6 min, até o término da decomposição (15 min).

Primeiramente, foi feito um estudo com todos os copos recobertos com fita de alumínio, contendo amostra (500 mg de leite em pó integral), 6 mL de solução 2 mol L<sup>-1</sup> de HNO<sub>3</sub> e pressão de O<sub>2</sub> (7,5 bar). Observou-se que em, aproximadamente, 17 min o sistema alcançou a temperatura máxima (220 °C) e o ciclo de aquecimento foi mantido por mais 8 min (25 min de aquecimento total). A pressão máxima obtida pelo sistema foi de 80 bar. Desta forma, estes parâmetros foram utilizados para limitar a temperatura máxima de operação do sistema, assim como a pressão, para a decomposição sem o recobrimento com fita de alumínio. Após o término do ciclo de aquecimento (25 min), ambos digeridos finais apresentaram um aspecto límpido. A determinação do RCC resultou em 20,9 ± 3,5% e 10,8 ± 1,3% para a decomposição com recobrimento com fita de alumínio e sem o recobrimento de fita de alumínio, respectivamente. Este resultado indica que a melhor eficiência de decomposição pode ter sido o resultado da interação da radiação micro-ondas com a fase gasosa. O mesmo procedimento de decomposição foi feito para decomposição com solução 2 mol L<sup>-1</sup> de HNO<sub>3</sub> sob pressão atmosférica (21% de O<sub>2</sub>), com recobrimento com fita. A temperatura obtida neste estudo foi, praticamente, a mesma obtida para o estudo com fita e pressão de O<sub>2</sub>. No entanto a decomposição foi ineficiente e resíduos sólidos permaneceram em suspensão nos digeridos finais.

Adicionalmente, os perfis de temperatura e pressão para os três testes feitos podem ser observados na Figura 31. Quando a decomposição foi feita com fita de alumínio (com pressão de O<sub>2</sub> e sem pressão de O<sub>2</sub> - somente ar à pressão atmosférica), o sistema demorou mais para atingir a temperatura máxima, em relação à decomposição sem a fita e com pressão de O<sub>2</sub>. No entanto, enquanto ambas as condições de decomposição com recobrimento do frasco de decomposição com fita de alumínio mantiveram pressão de 80 bar (dos 17 aos 25

min), a pressão para a decomposição sem recobrimento do frasco de quartzo atingiu um pico de 74 bar (aproximadamente 10 min) e baixou para 60 bar, mantendo esta pressão até o final do ciclo de aquecimento.



**Figura 31.** Perfil de a) temperatura e b) pressão, obtidos para decomposição (—) com pressão de O<sub>2</sub> sem recobrimento de fita de Al, (—) com pressão de O<sub>2</sub> e com recobrimento de fita de Al e (—) sem pressão de O<sub>2</sub> (ar à pressão atmosférica, 1 bar, 21% de O<sub>2</sub>) com recobrimento de fita de Al.

Quando a decomposição foi feita sem o recobrimento do frasco de quartzo com fita de alumínio (25 min de aquecimento), foi possível observar que a pressão do sistema foi consideravelmente menor, para uma mesma temperatura, quando



comparada com a decomposição com recobrimento de fita de alumínio (com pressão de O<sub>2</sub> e à pressão atmosférica). Comparando-se as duas condições com pressão inicial de O<sub>2</sub> (com e sem fita de alumínio), a decomposição da matéria orgânica apresentou eficiências diferentes (RCC de 20,9 ± 3,5% e 10,8 ± 1,3%, respectivamente). Esta melhor eficiência de decomposição, aliada a menor pressão no sistema (≈ 60 bar) para a decomposição feita sem o recobrimento do frasco de reação com a fita, pode estar relacionada com a redução de espécies em fase gasosa (para uma mesma temperatura máxima, 220 °C). Este resultado é muito semelhante ao observado no *item 4.1.2 (Avaliação da composição da fase gasosa com diferentes quantidades de O<sub>2</sub> e presença de gás inerte)*, onde a redução da pressão do frasco reacional, durante a etapa de aquecimento, com o sistema inicialmente pressurizado com 7,5 bar de O<sub>2</sub>, foi atribuída ao mecanismo de regeneração do HNO<sub>3</sub>.

Além disso, ao se monitorar as condições de temperatura e pressão (5 e 7,5 min de aquecimento) para as decomposições feitas com recobrimento com fita metálica (com pressão de O<sub>2</sub> e com ar à pressão atmosférica, 1 bar), assim como a decomposição sem o recobrimento com fita (com pressão de O<sub>2</sub>), os resultados induzem à conclusão de que a interação da radiação com a fase gasosa exerce influência sobre a reação de regeneração do ácido. Após aquecimento com radiação micro-ondas por 5 min, ambas as decomposições apresentaram temperaturas semelhantes (103, 100 e 106 °C) para decomposição com ar (1 bar), com pressão de O<sub>2</sub> - com recobrimento com fita metálica - e com pressão de O<sub>2</sub> - sem recobrimento com fita, respectivamente. No entanto as pressões foram completamente diferentes. Para as decomposições com recobrimento com fita metálica, as pressões foram de 14 e 26 bar para decomposição com ar (1 bar) e pressão de O<sub>2</sub>, respectivamente. Para a decomposição sem recobrimento com fita, a pressão foi de 14 bar. Nesta última condição, a baixa pressão do sistema (quando comparada com a decomposição com pressão de O<sub>2</sub> e recobrimento com fita de alumínio, no mesmo tempo e temperatura) pode ser o resultado de uma diminuição de espécies na fase gasosa do frasco de reação, o que pode ser explicado pela reação de regeneração do HNO<sub>3</sub>. Ademais, a baixa pressão do sistema para decomposição com fita e sem adição de pressão de O<sub>2</sub> (ar à pressão atmosférica, 1 bar, 21% de O<sub>2</sub>) pode estar relacionada com a baixa velocidade de oxidação da

matéria orgânica, resultando na menor formação de CO<sub>2</sub>, que é o principal contribuinte para a pressão total do sistema na temperatura avaliada.

Quando o tempo e aquecimento de 7,5 min foi monitorado, a pressão do sistema foi de 47 bar (168 °C) para decomposição feita com pressão de O<sub>2</sub> (sem fita de alumínio). Quando comparada com a mesma condição de pressão, com recobrimento com fita de alumínio, a pressão do sistema foi de 36 bar (135 °C). A decomposição com recobrimento com fita de alumínio e sem pressão de O<sub>2</sub> (1 atm) apresentou pressão e temperatura máximas durante o aquecimento por radiação micro-ondas de 21 bar e 116°C, respectivamente. De posse destes resultados, e considerando os sistemas avaliados com mesma pressão inicial de O<sub>2</sub> (7,5 bar), podem-se fazer duas observações acerca da interação da radiação micro-ondas com a fase gasosa: (i) a exposição da fase gasosa à radiação micro-ondas contribuiu para a reação de regeneração do HNO<sub>3</sub>, resultando em uma decomposição mais rápida com a formação de uma maior quantidade de produtos gasosos (relativo à mesma condição com fita de alumínio); e, (ii) a interação da radiação micro-ondas com a fase gasosa influenciou na decomposição da matéria orgânica (< RCC), resultando em diferentes perfis de temperatura e de pressão. Estas observações, acerca da eficiência de decomposição e pressão do frasco reacional, são convergentes com a teoria proposta da regeneração do HNO<sub>3</sub>. Desta forma, pode-se inferir que a incidência de ondas de micro-ondas sobre a fase gasosa exerce influência sobre a reação de regeneração do ácido.

Ademais, a suposição de que a velocidade da reação de regeneração pode ser influenciada pela radiação micro-ondas é reforçada pelos resultados da acidez residual nos digeridos finais. O digerido final da decomposição com frasco recoberto com fita apresentou acidez residual de  $10,9 \pm 0,1\%$ , enquanto que o digerido final da decomposição sem recobrimento apresentou acidez residual de  $24,3 \pm 1,5\%$ . A maior acidez residual encontrada no frasco reacional sem recobrimento com fita metálica pode ser atribuída à maior taxa reacional de regeneração do HNO<sub>3</sub> em um mesmo intervalo de tempo, quando comparado com o sistema com recobrimento. Uma possível explicação para os resultados observados acerca da influência da radiação micro-ondas sobre a reação de regeneração do HNO<sub>3</sub> pode estar relacionada com o mecanismo de formação da espécie NO<sub>2</sub> em fase gasosa.

Como pode ser observado na Equação 3 (p. 34), a reação de formação do NO<sub>2</sub> é uma reação trimolecular, uma vez que envolve a colisão de duas moléculas

de NO e uma molécula de O<sub>2</sub>. Neste caso, o mecanismo da reação de oxidação do NO pelo O<sub>2</sub> envolve a formação de um intermediário que é determinante para a formação dos produtos. Neste contexto, dois mecanismos podem ser aceitos.<sup>85</sup> O primeiro consiste na formação da espécie NO<sub>3</sub> em um primeiro momento para a subsequente formação de duas espécies NO<sub>2</sub>, conforme as Equações 8 e 9. A primeira etapa de reação rapidamente atinge o equilíbrio enquanto a segunda etapa da reação é mais lenta, sendo a etapa determinante da velocidade de reação.<sup>85</sup>



O segundo mecanismo proposto para a formação de NO<sub>2</sub> é baseado na formação do intermediário N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, conforme as Equações 10 e 11.<sup>85</sup> Admite-se que a espécie N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> está em equilíbrio na primeira etapa da reação. Isto implica que a concentração deste intermediário é independente do tempo de reação. Neste caso a velocidade de formação do NO<sub>2</sub> é dependente somente da concentração de N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e do O<sub>2</sub>.<sup>85</sup> Para que esta afirmação seja verdadeira, deve-se assumir que a velocidade de formação do intermediário (Equação 10) e a velocidade de consumo (Equação 11) sejam muito maiores que a velocidade de decomposição do N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Equação 10, reação inversa). Este mecanismo é normalmente o mais aceito e será considerado como base para as discussões seguintes.<sup>70,85</sup>



De acordo com a Equação 11, é possível deslocar o equilíbrio de reação no sentido de formação do NO<sub>2</sub> pelo aumento na concentração de O<sub>2</sub>, o que resulta no consumo instantâneo do intermediário de reação (N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) antes que ele se decomponha novamente em NO. Os dados experimentais obtidos pela avaliação da constituição da fase gasosa corroboram esta teoria, o que reforça a suposição da regeneração do HNO<sub>3</sub> dentro do frasco reacional. No entanto, pelo estudo feito com a utilização de fita de alumínio para recobrimento da parede externa do frasco de

decomposição, observou-se que a reação de regeneração pode ser afetada pela exposição da fase gasosa à radiação micro-ondas. Neste caso, somente a presença de O<sub>2</sub> na fase gasosa pode não ser suficiente para que a reação ocorra de forma significativa. Este aspecto foi observado quando a mistura reacional foi aquecida por 15 min. Quando a fase gasosa foi recoberta com fita, a amostra não foi eficientemente decomposta (Figura 29a). Após aquecimento por 25 min (frasco recoberto com fita metálica), a decomposição da amostra foi mais eficiente, mas, mesmo assim, os valores de RCC obtidos foram superiores ao obtidos para a mesma condição sem recobrimento com fita de alumínio. Somente após um longo tempo de aquecimento (45 min), a decomposição com recobrimento do frasco de reação apresentou uma decomposição eficiente, semelhante à obtida com exposição da fase gasosa à radiação micro-ondas.

Uma possível explicação para este comportamento pode estar relacionada com efeitos não térmicos associados à interação da radiação micro-ondas com a matéria, denominado efeito micro-ondas específico.<sup>92</sup> Este efeito não térmico promovido pela radiação micro-ondas pode ser explicado pela consideração dos parâmetros encontrados na equação de Arrhenius para a constante da velocidade química de reação (Equação 12).<sup>92,93</sup>

$$k = Ae^{-E_a/RT} \quad \text{Equação 12}$$

Um destes efeitos pode estar relacionado com o aumento na probabilidade de colisões moleculares efetivas, representado pelo termo  $A$ . A eficiência de colisão pode ser influenciada pela orientação mútua das moléculas polares que estão envolvidas na reação. Como o termo  $A$  é dependente da frequência de vibração dos átomos na interface de reação, a radiação micro-ondas pode afetar este parâmetro.<sup>93</sup> Considerando a reação de regeneração do HNO<sub>3</sub>, onde as espécies NO, N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e NO<sub>2</sub> estão envolvidas, a radiação micro-ondas poderia levar a um aumento na frequência de colisões efetivas, resultando no aumento da velocidade de reação.

Outra característica atribuída especialmente ao efeito da radiação micro-ondas está relacionada com a redução na energia de ativação da reação ( $E_a$ ).<sup>93</sup>

<sup>92</sup> de la Hoz, A., Diaz-Ortiz, A., Moreno, A., *Chemical Society Reviews* 34 (2005) 164-178.

<sup>93</sup> Perreux, L., Loupy, A., *Tetrahedron* 57 (2001) 9199-9223.

Neste caso, o termo  $E_a$  pode ser descrito como é a energia de Gibbs padrão de ativação ( $\Delta^*G^0$ ), relacionada com a energia de ativação necessária para que a reação resulte na formação dos produtos.<sup>85</sup> Este efeito é considerado o mais influente sobre a velocidade de reação do que o anteriormente descrito. Ao se considerar a contribuição da entalpia (H) e da entropia (S) para o valor de  $\Delta^*G^0$  ( $\Delta^*G^0 = \Delta^*H^0 - T\Delta^*S^0$ ), pode-se inferir que a modificação na entropia, provocada pela organização presente no meio reacional quando o aquecimento assistido por radiação micro-ondas é comparado ao aquecimento convencional (como consequência da polarização dipolar pela orientação das moléculas à componente elétrica da onda), seja a responsável pela diminuição da energia necessária para que a reação ocorra.<sup>93</sup> Além disso, o armazenamento da energia micro-ondas pelas moléculas (estado vibracional excitado) pode exercer influência sobre a entalpia da reação, contribuindo para a formação dos produtos.<sup>94</sup>

Outro efeito não térmico atribuído à radiação micro-ondas também pode estar relacionado à energia de ativação da reação.<sup>95</sup> Neste caso, considera-se que a reação seja completada quando as moléculas dos reagentes colidem com orientação geométrica apropriada para que a energia do estado de transição seja alcançada. Esta diferença de energia (energia de ativação) é a quantidade de energia que o sistema deve absorver para que a reação ocorra. Sendo assim, a radiação micro-ondas não possuiria efeito sobre a energia de ativação da reação, mas seria a responsável por proporcionar o *momentum* adequado (energia relacionada à posição) para superar a barreira energética imposta pela reação, resultando em reações mais rápidas do que as observadas pelos métodos com aquecimento convencional.<sup>94</sup>

No entanto, além dos possíveis efeitos cinéticos relacionados à interação da radiação micro-ondas com a fase gasosa do frasco de decomposição, a intensidade de radiação micro-ondas que efetivamente chegou à solução no interior do frasco reacional deve ser considerada. No interior da cavidade do forno de micro-ondas existe uma série de ondas com diferentes padrões de reflexão, que configuram uma distribuição não homogênea da radiação no interior da cavidade,<sup>96-98</sup> onde o rotor com os frascos contendo a amostra está sendo submetido ao aquecimento. Desta

<sup>94</sup> Galema, S. A., *Chemical Society Reviews* 26 (1997) 233-238.

<sup>95</sup> Bassyouni, F., Abu-Bakr, S., Rehim, M., *Research on Chemical Intermediates* 38 (2012) 283-322.

<sup>96</sup> Bizzi, C. A. et al., *Journal of the Brazilian Chemical Society* 22 (2011) 376-381.

<sup>97</sup> Sturm, G. S. J. et al., *International Journal of Heat and Mass Transfer* 55 (2012) 3800-3811.

<sup>98</sup> Chandra, U. Microwave heating, InTech, Rijeka, 2011, 370 p.

forma, como uma parte do frasco de decomposição foi recoberto com fita de alumínio, é possível que parte da radiação que supostamente entraria em contato com a solução tenha sido refletida, resultando em uma menor intensidade de transferência de energia para a solução utilizada para decomposição da matéria orgânica. Além disso, também pode ser considerado que exista a condensação de vapores nas paredes do frasco de decomposição que, por sua vez, podem interagir com a radiação micro-ondas.

De acordo com os resultados obtidos, os quais são concordantes com as informações encontradas na literatura, a interação da radiação micro-ondas com a fase gasosa resultou em uma melhor eficiência de decomposição quando soluções diluídas de  $\text{HNO}_3$  foram utilizadas para decomposição de amostras orgânicas com pressão de oxigênio. Os efeitos não térmicos atribuídos à radiação micro-ondas podem estar relacionados com as reações em fase gasosa envolvendo as espécies  $\text{NO}$  e  $\text{O}_2$ , assim como os possíveis intermediários de reação. Esta melhora na eficiência de decomposição pode ser provocada por efeitos cinéticos, induzidos pela interação da radiação micro-ondas com a fase gasosa do frasco de decomposição, ao invés de estar relacionada unicamente com o gradiente de temperatura existente nos minutos iniciais do aquecimento por radiação micro-ondas.

#### **4.3 Avaliação da decomposição assistida por radiação UV com $\text{HNO}_3$ diluído e utilização de $\text{O}_2$ e $\text{H}_2\text{O}_2$ como reagentes auxiliares**

Como foi discutido nos itens 4.1 (*Avaliação do método de decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas empregando  $\text{HNO}_3$  diluído com utilização de  $\text{O}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}_2$  como reagentes auxiliares*) e 4.2 (*Avaliação da influência do aquecimento assistido por radiação micro-ondas para a decomposição por via úmida com  $\text{HNO}_3$  diluído*), foi possível perceber que a decomposição com soluções diluídas de  $\text{HNO}_3$  apresentou melhor eficiência de decomposição quando os frascos foram pressurizados com  $\text{O}_2$ . Ainda, a utilização de  $\text{H}_2\text{O}_2$  além de apresentar boa eficiência de decomposição, possibilitou a decomposição das amostras de leite em pó integral e fígado bovino com concentrações ainda menores de  $\text{HNO}_3$ .

Adicionalmente, dentre as alternativas que propõem o uso de soluções diluídas para a decomposição de amostras, pode ser destacada a oxidação da matéria orgânica assistida por radiação UV (foto-oxidação).<sup>65</sup> Este método é, normalmente, utilizado para oxidação de carbono dissolvido em soluções, como no tratamento de água e efluentes,<sup>99,100</sup> determinação de metais em bebidas,<sup>101,102</sup> dentre outros.<sup>103-105</sup> Quando o emprego da foto-oxidação está associado à utilização de ácidos, como o HNO<sub>3</sub>, é possível decompor amostras sólidas, como alimentos<sup>67</sup> e plantas,<sup>106</sup> por exemplo. Uma das principais vantagens elencadas por esta forma de decomposição da matéria orgânica está relacionada à redução da quantidade de ácidos normalmente empregados ou, até mesmo, à decomposição sem a utilização de ácidos, sendo considerado um método menos prejudicial ao ambiente.<sup>65</sup>

A eficiência do método de decomposição com foto-oxidação é dependente da temperatura, do tempo de aquecimento, da concentração dos reagentes e do teor de carbono presente originalmente na amostra.<sup>31</sup> Neste sentido, foi feito um estudo para avaliar a decomposição de diferentes amostras (leite em pó desnatado, amido de batata e cloridrato de imipramina) com a utilização da oxidação assistida por radiação UV, associada à utilização de HNO<sub>3</sub> diluído com adição de O<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> como reagentes auxiliares de decomposição. Além disso, com base no trabalho desenvolvido por Knapp et al.,<sup>31</sup> foram utilizadas lâmpadas UV em associação ao sistema de decomposição fechado com aquecimento assistido por radiação micro-ondas e solução diluída de HNO<sub>3</sub>. A eficiência de decomposição foi quantificada pela determinação do RCC por ICP OES, com base no teor de carbono inicialmente presente na amostra (leite em pó desnatado, C = 40,2%; amido de batata, C = 35,0%; cloridrato de imipramina, C = 75,0%), determinado por análise elementar.

<sup>99</sup> Santos Melo, S. A. et al., *Química Nova* 32 (2009) 188-197.

<sup>100</sup> Pillai, K. C., Kwon, T. O., Moon, I. S., *Applied Catalysis B-Environmental* 91 (2009) 319-328.

<sup>101</sup> Brandao, G. C. et al., *Analytical Methods* 4 (2012) 855-858.

<sup>102</sup> dos Santos, W. N. L. et al., *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy* 64 (2009) 601-604.

<sup>103</sup> Dash, K., Rastogi, L., Arunachalam, J., *Analyst* 137 (2012) 668-674.

<sup>104</sup> Krishna, M. V. B. et al., *Atomic Spectroscopy* 32 (2011) 127-144.

<sup>105</sup> Krishna, M. V. B. et al., *Analytical Methods* 4 (2012) 1565-1572.

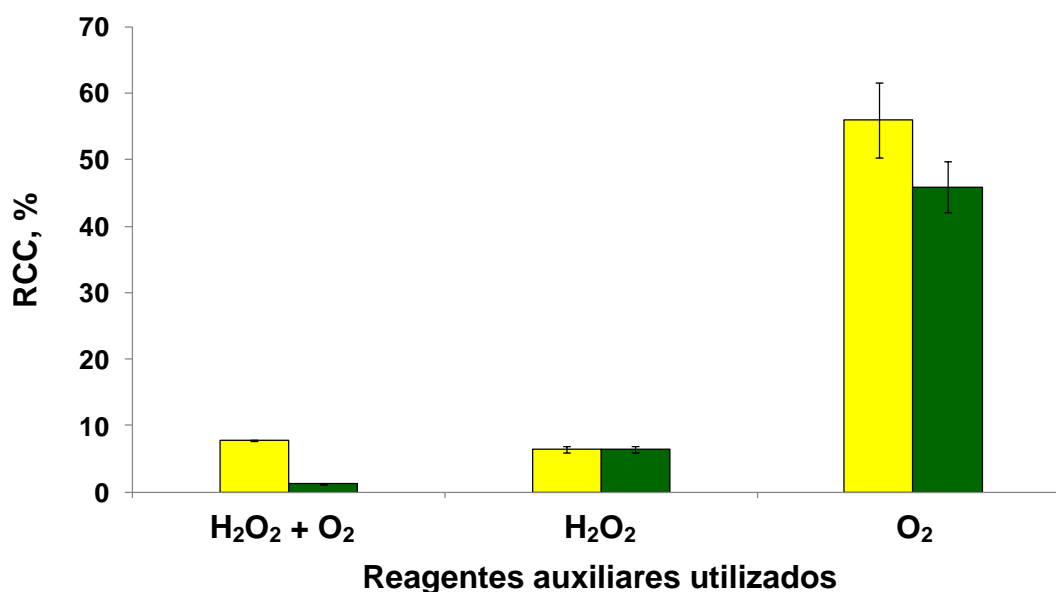
<sup>106</sup> Mireles, A. et al., *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 277 (2008) 441-449.

#### **4.3.1 Avaliação da influência da utilização da lâmpada de emissão de radiação UV para decomposição assistida por radiação micro-ondas com solução diluída de HNO<sub>3</sub> e utilização de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e O<sub>2</sub> como reagentes auxiliares**

Foi feita a avaliação da utilização de (i) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (2 mL), (ii) O<sub>2</sub> (20 bar), e (iii) da associação de ambos (2 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 20 bar de O<sub>2</sub>), como reagentes auxiliares de decomposição com utilização de solução 0,093 mol L<sup>-1</sup> de HNO<sub>3</sub> (100 µL de HNO<sub>3</sub> concentrado em 15 mL de solução). Todos os parâmetros acima mencionados foram avaliados com a utilização da lâmpada de emissão de radiação UV e, também, sem a presença da lâmpada.

Inicialmente, a amostra de leite em pó desnatado foi decomposta sem a utilização da lâmpada de emissão UV. Quando H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi adicionado isoladamente ao frasco de decomposição, ou mesmo com pressão de O<sub>2</sub>, uma boa eficiência de decomposição foi observada (RCC de 6,5 ± 0,5 e 7,2 ± 0,2%, respectivamente). No entanto, quando a decomposição foi feita somente com pressão de 20 bar de O<sub>2</sub>, a amostra não foi eficientemente decomposta (RCC de 55,9 ± 5,7%). Quando a decomposição foi assistida por radiação UV (com a lâmpada de emissão UV no interior do frasco de decomposição), pode-se observar praticamente o mesmo comportamento referente à eficiência de decomposição, exceto quando foi adicionado H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> juntamente com pressão de O<sub>2</sub>. Nesta condição, a eficiência de decomposição foi melhor e o RCC obtido foi de 1,2 ± 0,1%, como pode ser observado na Figura 32.





**Figura 32.** Eficiência de decomposição da amostra de leite em pó desnatado (100 mg) com a utilização da lâmpada de emissão UV (■) e sem a utilização da lâmpada (■) (solução 0,093 mol L<sup>-1</sup> de HNO<sub>3</sub>, com adição de 2 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e/ou 20 bar de O<sub>2</sub>).

Adicionalmente, o mesmo estudo foi feito para as amostras de amido de batata e cloridrato de imipramina. A amostra de cloridrato de imipramina apresentou o mesmo comportamento, referente à eficiência de decomposição, que fora discutido para a amostra de leite em pó desnatado. A condição de melhor eficiência de decomposição apresentou RCC de  $3,8 \pm 0,5\%$  (2 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e pressão de 20 bar de O<sub>2</sub>, com lâmpada de emissão de radiação UV). As demais condições, com utilização de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, apresentaram boa eficiência de decomposição, com valores para RCC entre  $5,2 \pm 1,0\%$  (com lâmpada, com adição de 2 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e  $9,4 \pm 1,6\%$  (sem lâmpada, com adição de 2 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e pressão de 20 bar de O<sub>2</sub>). A decomposição da amostra foi ineficiente quando o sistema foi pressurizado com 20 bar de O<sub>2</sub> (sem adição de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), mesmo com a utilização da lâmpada de emissão UV. Para a amostra de amido de batata, todas as condições apresentaram boa eficiência de decomposição, com RCC inferior a 1%. A única exceção foi a decomposição feita somente com pressão de O<sub>2</sub>, sem a utilização da lâmpada de emissão de radiação UV, que resultou em RCC de  $43,4 \pm 0,1\%$ . Os resultados de RCC obtidos para a decomposição das amostras de amido de batata e cloridrato de imipramina podem ser observados na Tabela 16.

**Tabela 16.** Avaliação do uso da lâmpada de emissão UV para decomposição assistida por radiação micro-ondas com HNO<sub>3</sub> diluído (0,093 mol L<sup>-1</sup>). Os valores de RCC estão apresentados em relação ao reagente auxiliar de decomposição utilizado: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 2 mL; ou O<sub>2</sub>, 20 bar.

Amostra	Decomposição	RCC em relação ao reagente auxiliar, %		
		H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + O <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	O <sub>2</sub>
Cloridrato de imipramina	Sem lâmpada UV	9,4 ± 1,6	7,2 ± 0,8	63,2 ± 3,0
	Com lâmpada UV	3,8 ± 0,5	5,2 ± 1,0	59,1 ± 3,2
Amido de batata	Sem lâmpada UV	4,8 ± 0,3	1,4 ± 0,2	43,4 ± 0,1
	Com lâmpada UV	0,9 ± 0,1	0,8 ± 0,1	0,4 ± 0,1

A utilização de solução diluída de HNO<sub>3</sub> (0,093 mol L<sup>-1</sup>), com a utilização de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e O<sub>2</sub> como reagentes auxiliares de decomposição, apresentou menores valores relativos de RCC quando a decomposição por via úmida, com aquecimento por irradiação micro-ondas, foi assistida por emissão de radiação UV. Além disso, pode ser observado que a adição de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sempre resultou em uma boa eficiência de decomposição. Quando a mistura reacional contendo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi irradiada com lâmpada de emissão de radiação UV, a decomposição foi mais eficiente do que quando a mesma condição foi avaliada sem lâmpada. Este fato pode ser atribuído à formação de espécies reativas, como a formação de oxigênio singlete, íons superóxido e, principalmente, a formação de radicais hidroxila, relacionados à decomposição do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pela ação da radiação UV ( $\text{H}_2\text{O}_2 + h\nu \rightarrow 2\text{OH}\cdot$ ).<sup>65</sup> No entanto, mesmo sem a utilização da lâmpada de emissão de radiação UV, boa eficiência de decomposição foi obtida quando H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi utilizado. Neste caso, considerando a utilização da lâmpada de emissão de radiação UV, é possível sugerir que o ganho de eficiência na oxidação da matéria orgânica pode ter sido pouco significativo para as matrizes avaliadas. É possível que somente o caráter oxidante do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, aliado à regeneração do HNO<sub>3</sub>, tenha sido suficiente para decompor as amostras com a solução 0,093 mol L<sup>-1</sup> de HNO<sub>3</sub>.

Quando a decomposição foi feita somente com pressão de O<sub>2</sub>, sem a utilização da lâmpada de emissão UV, nenhuma amostra foi eficientemente decomposta. Com a utilização da lâmpada de emissão de radiação UV, e pressurização com O<sub>2</sub>, obteve-se uma boa eficiência de decomposição somente para a amostra de amido de batata (RCC de 0,4 ± 0,1%). A radiação UV, ao entrar

em contato com  $O_2$ , forma espécies excitadas de  $O_2$  (oxigênio singleto), que são muito reativas e podem reagir com a matéria orgânica.<sup>64</sup> Além disso, a radiação UV pode induzir a formação de ozônio ( $O_2 + h\nu \rightarrow 2O + O_2 \rightarrow O_3$ ), que é um oxidante eficiente da matéria orgânica.<sup>64</sup> Porém, estes efeitos foram menos significativos para a decomposição das amostras do que os efeitos apresentados pela adição de  $H_2O_2$ . Este fato pode ser uma consequência das reações com o  $O_2$  ocorrem, principalmente, em fase gasosa, enquanto que a formação dos radicais hidroxila ocorre na solução que está em contato com a amostra em decomposição.

A utilização de  $H_2O_2$ , juntamente com pressão de  $O_2$ , resultou na melhor condição de decomposição para as amostra de leite em pó desnatado e cloridrato de imipramina, quando a decomposição foi feita com a lâmpada de emissão de radiação UV. Esta melhor eficiência de decomposição pode ser atribuída ao possível somatório de efeitos proporcionado pela utilização de  $H_2O_2$  e pressão de  $O_2$  como reagentes auxiliares, como a formação de espécies radicalares e à reação de regeneração do  $HNO_3$ , respectivamente.

Foi possível observar que os valores de RCC para os ensaios feitos com  $H_2O_2$  foram sempre inferiores aos resultados obtidos para as decomposições feitas somente com pressão de  $O_2$ . De acordo com os dados cinéticos para as espécies de  $O_3$  e  $OH\cdot$ , a constante de velocidade (k) para a reação entre o  $O_3$  e compostos aromáticos e fenólicos é na ordem de  $1$  a  $10^2$  e  $10^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , respectivamente. Considerando os mesmos compostos orgânicos, o valor de k para a reação entre os radicais hidroxila está na faixa de  $10^8$  a  $10^{10} \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ .<sup>107</sup> Valores semelhantes de k podem ser observados para outros grupos orgânicos, tais como os alcoóis, as cetonas, os compostos orgânicos nitrogenados,<sup>107</sup> dentre outros que constituem as amostras em estudo. Pode-se inferir por esses dados que a reação de oxidação da matéria orgânica por espécies oriundas da dissociação do  $H_2O_2$  ( $OH\cdot$ ) deve ocorrer muito mais rapidamente do que a observada pela ação de espécies provenientes do  $O_2$  ( $O_3$ ). É válido ressaltar que as espécies reativas são formadas de forma mais significativa pela ação catalítica da radiação UV, o que pode ser utilizado para explicar a melhor eficiência de decomposição apresentada quando a decomposição foi feita com a lâmpada de emissão de radiação UV.

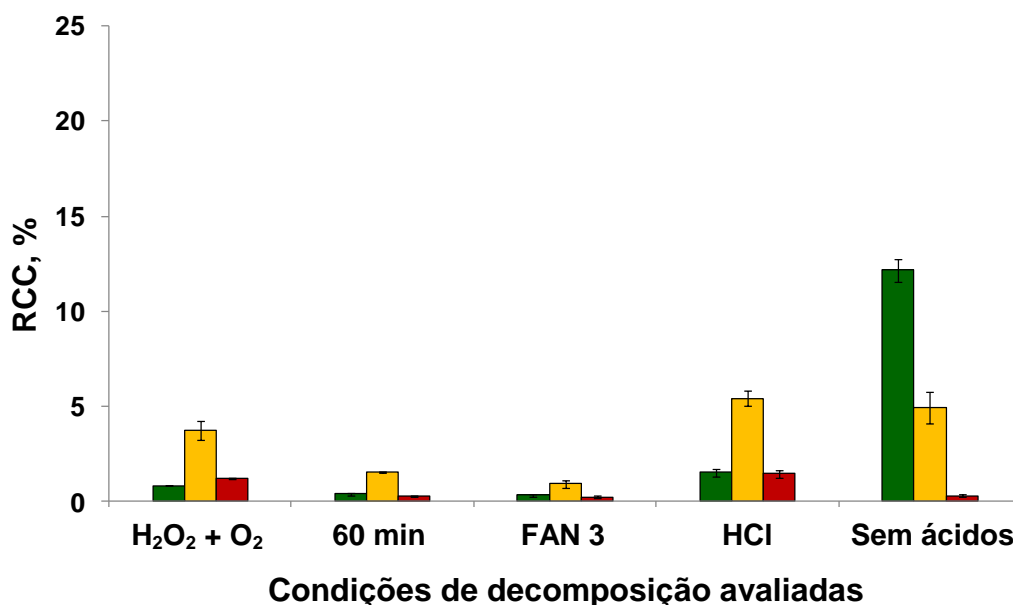
Portanto, de acordo com os dados obtidos pela determinação de RCC, a utilização da lâmpada de emissão de radiação UV proporcionou um aumento na

<sup>107</sup> Munter, H., *Proc. Estonian Acad. Sci. Chem.* 2 (2001) 59-80.

eficiência de decomposição. Tal comportamento pode ser explicado pela ação catalítica proporcionada pela radiação UV ao entrar em contato com espécies que possuem caráter oxidante, tais  $\text{HNO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  e  $\text{O}_2$ ,<sup>65</sup> o que facilita a oxidação dos compostos orgânicos presentes na amostra.

#### **4.3.2 Avaliação de parâmetros reacionais para a decomposição assistida por radiação UV com solução diluída de $\text{HNO}_3$ e utilização de $\text{H}_2\text{O}_2$ e $\text{O}_2$ como reagentes auxiliares**

Após a avaliação da eficiência de decomposição com a utilização de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e  $\text{O}_2$  como reagentes auxiliares para decomposição com solução diluída de  $\text{HNO}_3$  ( $0,093 \text{ mol L}^{-1}$ ), foi feita a avaliação de alguns parâmetros reacionais que podem influenciar no desempenho da lâmpada de emissão de radiação UV. Neste sentido, a decomposição com utilização de lâmpadas de emissão de radiação UV foi feita com os seguintes parâmetros: (i) tempo de aquecimento com radiação micro-ondas e emissão de radiação UV estendido para 60 min; (ii) decomposição com modo de circulação de ar FAN 3 durante a etapa de aquecimento; (iii) adição de 100  $\mu\text{L}$  de  $\text{HCl}$  ao frasco de decomposição; e, (iv) decomposição sem a utilização de ácidos. Estas condições de decomposição foram comparadas com a condição de decomposição previamente otimizada: solução  $0,093 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{HNO}_3$  com adição de 2 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e pressão de 20 bar de  $\text{O}_2$ , com utilização da lâmpada de emissão de radiação UV. Os resultados podem ser observados na Figura 33.



**Figura 33.** Avaliação da decomposição assistida por radiação UV com solução  $0,093 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{HNO}_3$  e utilização de 2 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e 20 bar de  $\text{O}_2$  como reagentes auxiliares para decomposição das amostras de: (■) amido de batata; (■) leite em pó desnatado; (■) cloridrato de imipramina.

Mantendo-se iguais as demais condições de decomposição utilizadas no estudo anterior, em um primeiro momento o tempo de decomposição foi estendido de 30 min para 60 min. Como pode ser observado na Figura 33, uma boa eficiência de decomposição foi obtida (RCC de  $0,4 \pm 0,1$ ,  $0,3 \pm 0,1$  e  $1,6 \pm 0,1\%$  para as amostras de amido de batata, leite em pó desnatado e cloridrato de imipramina, respectivamente), com menores valores de RCC em relação ao procedimento com tempo de decomposição de 30 min (RCC de  $0,9 \pm 0,1$ ,  $1,2 \pm 0,1$  e  $3,8 \pm 0,5\%$  para as amostras de amido de batata, leite em pó desnatado e cloridrato de imipramina, respectivamente). Esta redução de RCC, quando o tempo de decomposição foi estendido, pode ser atribuída à maior incidência de radiação UV sobre a mistura reacional, resultando na formação de mais espécies reativas e, possivelmente, aos efeitos relacionados à regeneração do  $\text{HNO}_3$  dentro do frasco de decomposição.

Quando a decomposição foi feita com o modo de circulação de ar FAN 3, no tempo de 30 min de aquecimento com lâmpada de emissão de radiação UV, os valores de RCC para a amostra de cloridrato de imipramina foram ainda menores (RCC de  $0,9 \pm 0,2$ ), enquanto que para as amostras de amido de batata e leite em

pó desnatado foram praticamente os mesmos ( $0,3 \pm 0,1\%$  para as amostras de amido de batata, leite em pó desnatado). Assim como comentado anteriormente (item 4.2.1 *Decomposição com passagem forçada de ar na parte externa do frasco de decomposição durante a etapa de aquecimento*) a decomposição assistida por radiação micro-ondas, com condições que resultem em uma menor temperatura do frasco durante a etapa de decomposição, apresentam melhores condições de decomposição da matéria orgânica. Com a redução da temperatura, observa-se uma redução da pressão parcial exercida pelos solventes utilizados. Neste caso, o aumento da pressão total do sistema será dependente, principalmente, da formação de  $\text{CO}_2$ . Como resultado, é possível aumentar a intensidade de radiação micro-ondas que incide sobre a mistura reacional. Tendo em vista que o início e a manutenção da irradiação UV pela lâmpada é feita pelo campo elétrico oscilante da radiação micro-ondas,<sup>31</sup> o aumento na intensidade de micro-ondas sobre o sistema de decomposição resulta em um aumento na eficiência de emissão da radiação UV. Desta forma, é possível que os efeitos promovidos pela radiação UV sejam intensificados quando o frasco de decomposição é resfriado pela passagem forçada de ar durante a etapa de aquecimento assistida por radiação micro-ondas.

Adicionalmente, a decomposição foi feita com a adição de HCl ( $100 \mu\text{L}$ , solução  $0,08 \text{ mol L}^{-1}$ ) à mistura reacional. Uma boa eficiência de decomposição foi observada para todas as amostras, no entanto os valores de RCC foram um pouco superiores aos determinados quando a decomposição foi feita somente com solução  $0,093 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{HNO}_3$ . Nesta condição, os valores de RCC foram de  $1,5 \pm 0,2$ ,  $1,5 \pm 0,2$  e  $5,4 \pm 0,4\%$  para as amostras de amido de batata, leite em pó desnatado e cloridrato de imipramina, respectivamente.

Por fim, avaliou-se a eficiência de decomposição com emissão de radiação UV sem a utilização de nenhum tipo de ácido. Neste caso, foi utilizado somente  $\text{H}_2\text{O}_2$  (2 mL) e pressão de  $\text{O}_2$  (20 bar), no tempo de aquecimento de 30 min (circulação de ar no modo FAN 1). Todas as amostras apresentaram um aspecto límpido ao final da decomposição, com valores de RCC relativamente baixos ( $12,2 \pm 0,6$ ,  $0,4 \pm 0,1$  e  $4,9 \pm 0,8\%$  para as amostras de amido de batata, leite em pó desnatado e cloridrato de imipramina, respectivamente). Estes resultados podem ser explicados pela formação de espécies reativas originadas pela ação catalítica da radiação UV sobre os reagentes utilizados ( $\text{H}_2\text{O}_2$  e  $\text{O}_2$ )<sup>2,65</sup> que, possivelmente,

atuaram de forma mais significativa para a oxidação da matéria orgânica do que a solução diluída de  $\text{HNO}_3$  utilizada ( $0,093 \text{ mol L}^{-1}$ ).

#### **4.3.3 Determinação de metais em amostras biológicas e CRMs após a decomposição assistida por radiação micro-ondas com utilização de lâmpada de emissão de radiação UV.**

Após as otimizações feitas acerca da utilização da lâmpada de emissão de radiação UV, a exatidão foi avaliada com base na determinação de metais nos CRM de leite em pó (BCR 151) e músculo bovino (NIST 8414), como pode ser observado na Tabela 17. Boa concordância foi obtida (teste *t-student*,  $P < 0,05$ ) entre os valores obtidos e os valores certificados para todos os elementos determinados, exceto para Fe. Para este elemento, baixas recuperações foram obtidas ( $< 60\%$  em relação ao valor certificado), o que pode ser devido à baixa concentração de  $\text{HNO}_3$  utilizada para a decomposição das amostras (solução de  $\text{HNO}_3$   $0,093 \text{ mol L}^{-1}$ ). Neste caso, foi feito um teste com a adição de  $100 \mu\text{L}$  de  $\text{HCl}$  (mantendo as mesmas condições previamente otimizadas) para a decomposição dos CRMs. Também foi avaliada uma solução  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{HNO}_3$  para a recuperação de Fe. Nestas duas condições avaliadas, os resultados obtidos para a determinação de Fe foram concordantes com os valores certificados (teste *t-student*,  $P < 0,05$ ), conforme resultados apresentados na Tabela 17.

Desta forma, foi feita a determinação de metais nas amostras avaliadas (amido de batata, leite em pó desnatado e cloridrato de imipramina) e os resultados foram comparados com os obtidos pela decomposição por via úmida, com emprego de  $\text{HNO}_3$  concentrado, para as amostras de amido de batata e leite em pó desnatado. A combustão iniciada por micro-ondas foi utilizada para decompor a amostra de cloridrato de imipramina. Os resultados para a determinação de metais podem ser observados na Tabela 18.

Nesse sentido, a comparação entre os LDs obtidos pela utilização dos diferentes reagentes empregados nas decomposições pode ser vista na Tabela 19.

**Tabela 17.** Resultados obtidos para metais por ICP OES e ICP-MS (Cd, Co e Pb) em CRMs de músculo bovino e leite em pó, para a decomposição com e sem lâmpada UV (empregando  $\text{HNO}_3$  0,093 mol L<sup>-1</sup>, com 2 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  30% e 20 bar de  $\text{O}_2$ ) (média e desvio padrão em  $\mu\text{g g}^{-1}$ , n = 5).

Analito	NIST 8414 ( <i>Bovine muscle</i> )			BCR 151 ( <i>Skim milk powder</i> )		
	Valor certificado	Valor encontrado*	Valor encontrado**	Valor certificado	Valor encontrado*	Valor encontrado**
Ca	145 ± 20	127 ± 14	131 ± 15	-	13501 ± 254	14288 ± 172
Cd	0,013 ± 0,011	0,011 ± 0,002		0,101 ± 0,008	0,091 ± 0,005	0,092 ± 0,008
Cu	2,84 ± 0,45	2,79 ± 0,10	2,73 ± 0,04	5,23 ± 0,08	5,32 ± 0,08	5,70 ± 0,34
Fe***	71,2 ± 9,2	66,7 ± 5,9	68,8 ± 0,6	51,1 ± 1,3	46,9 ± 4,4	47,3 ± 5,1
K	15170 ± 370	15030 ± 261	15001 ± 723	-	11130 ± 240	11090 ± 370
Mg	960 ± 95	922 ± 46	973 ± 47	-	1370 ± 28	1444 ± 20
Mo	0,08 ± 0,06	< 0,90	< 0,90	-	0,273 ± 0,019	0,263 ± 0,013
Mn	0,37 ± 0,09	0,396 ± 0,020	0,381 ± 0,019	-	0,293 ± 0,037	0,309 ± 0,015
Na	2100 ± 80	2054 ± 101	2161 ± 87	-	3587 ± 37	3609 ± 25
Pb	0,38 ± 0,24	0,348 ± 0,017	0,351 ± 0,017	2,002 ± 0,026	1,57 ± 0,34	1,56 ± 0,51
Zn	142 ± 14	136 ± 2	145 ± 2	-	52,1 ± 0,1	58,3 ± 1,2

\* decomposição feita com a utilização de lâmpada de emissão de radiação UV;

\*\* decomposição feita sem a utilização de lâmpadas de emissão de radiação UV;

\*\*\* determinação mediante adição de 100  $\mu\text{L}$  de HCl na etapa de decomposição.



**Tabela 18.** Determinação de metais por ICP OES e ICP-MS (Cd, Co e Pb) em amostras de leite em pó e amido de batata, para a decomposição com e sem lâmpada UV (empregando  $\text{HNO}_3$   $0,093 \text{ mol L}^{-1}$ , com 2 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  2 mL e 20 bar de  $\text{O}_2$ ) e para a decomposição empregando  $\text{HNO}_3$  concentrado (sem a adição de  $\text{O}_2$  ou  $\text{H}_2\text{O}_2$  e sem lâmpada UV). (média e desvio padrão em  $\mu\text{g g}^{-1}$ ,  $n = 5$ ).

Analito	Decomposição com UV		Decomposição sem UV		MW (decomposição $\text{HNO}_3$ conc.)	
	Leite em pó	Amido de batata	Leite em pó	Amido de batata	Leite em pó	Amido de batata
Ca	13298 ± 143	< LD	13201 ± 184	< LD	12974 ± 238	< LD
Cd	< 0,11	< 0,11	< 0,11	< 0,11	< 0,11	< 0,11
Co	< 0,034	< 0,034	< 0,034	< 0,034	< 0,034	< 0,034
Cu	< 0,87	< 0,87	< 0,87	< 0,87	< 0,87	< 0,87
Fe*	< 1,23	< 1,23	< 1,23	< 1,23	< 1,23	< 1,23
K	13051 ± 165	69,3 ± 3,8	13102 ± 232	72,3 ± 3,0	12854 ± 248	67,9 ± 2,5
Mg	1114 ± 42	27,7 ± 1,6	1188 ± 36	26,8 ± 1,4	1064 ± 60	25,6 ± 1,1
Mo	< 0,97	< 0,97	< 0,97	< 0,97	< 0,97	< 0,97
Mn	0,303 ± 0,013	0,066 ± 0,011	0,299 ± 0,008	0,057 ± 0,008	0,314 ± 0,009	0,063 ± 0,007
Na	4338 ± 349	68,2 ± 3,4	4321 ± 255	72,1 ± 2,3	4302 ± 115	71,5 ± 2,2
Pb	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15
Zn	40,0 ± 2,4	< LD	42,5 ± 2,2	< LD	38,5 ± 2,6	< LD

\* Determinação feita na condição de decomposição com adição de HCl (100  $\mu\text{L}$ ).

**Tabela 19.** Limites de detecção obtidos para os procedimentos de decomposição com a utilização de diferentes reagentes. Os cálculos foram feitos com base em 500 mg de amostra (exceto para lâmpada UV, 100 mg), que foi a máxima massa de amostra decomposta durante as otimizações.  $[(\text{Desvio padrão para 10 determinações do branco}) \times (3) + (\text{concentração do branco})] \times (\text{volume de aferição}) / (\text{massa de amostra})$ .

Condição de decomposição	Limite de detecção, $\mu\text{g g}^{-1}$											
	Ca	Cd*	Co*	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Mo	Na	Pb*	Zn
HNO <sub>3</sub> 2 mol L <sup>-1</sup> , com pressão de O <sub>2</sub>	0,81	0,004	0,008	0,18	0,11	0,59	0,01	0,02	0,44	0,11	0,003	0,07
HNO <sub>3</sub> 2 mol L <sup>-1</sup> e H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (2,5 mL)	1,24	0,004	0,008	0,02	0,04	3,71	0,03	0,02	0,88	17,13	0,008	0,10
HNO <sub>3</sub> 2 mol L <sup>-1</sup> e H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (3 mL)	1,29	0,004	0,008	0,04	0,04	3,70	0,04	0,02	0,89	20,91	0,007	0,11
HNO <sub>3</sub> 9,3 mmol L <sup>-1</sup> , H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (2 mL) - lâmpada UV	7,35	0,11	0,034	0,87	1,23	3,57	0,54	0,12	0,97	52,09	0,153	1,21

\* Elementos determinados por ICP-MS.

## 5 CONCLUSÕES

---

- (i) De um modo geral, o emprego de soluções diluídas de  $\text{HNO}_3$  pode ser uma alternativa viável para a etapa de decomposição de amostras biológicas por via úmida assistida por radiação micro-ondas. No entanto, a possibilidade de se trabalhar com soluções diluídas de  $\text{HNO}_3$ , depende de uma série de reações, envolvendo  $\text{O}_2$  como reagente, que resultariam na regeneração do  $\text{HNO}_3$  dentro do frasco reacional, aumentando sua ação oxidante. Neste sentido, a pressurização do frasco de decomposição com  $\text{O}_2$  possibilitou a decomposição das amostras com menores concentrações de  $\text{HNO}_3$  ( $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ , para ambas as amostras). Além disso, pôde-se observar que a possibilidade de redução da concentração do  $\text{HNO}_3$  está diretamente relacionada à presença de  $\text{O}_2$  em fase gasosa, e não com a pressão inicial em que o frasco é submetido antes da etapa de aquecimento. Tal fato foi evidenciado pela pressurização do frasco de decomposição com Ar, que resultou em uma decomposição ineficiente quando soluções diluídas de  $\text{HNO}_3$  foram utilizadas. Desta forma, além da pressão inicial não exercer influência sobre a eficiência de decomposição, a presença de Ar em fase gasosa não resultou na mesma eficiência de decomposição obtida quando soluções diluídas de  $\text{HNO}_3$  foram utilizadas com pressão de  $\text{O}_2$ . A decomposição com pressão de Ar possibilitou estimar a quantidade mínima de  $\text{HNO}_3$  necessária para a decomposição da matéria orgânica. Sendo assim, através da determinação da acidez residual, foi possível verificar a influência exercida pelo  $\text{O}_2$  sobre a eficiência de decomposição com soluções ácidas diluídas. Este último resultado reforçou a teoria que explica a viabilidade de decomposição de amostras com soluções diluídas de  $\text{HNO}_3$  pela presença das reações de regeneração. Resultados semelhantes aos obtidos nas avaliações feitas com pressão de  $\text{O}_2$  foram obtidos quando  $\text{H}_2\text{O}_2$  foi adicionado ao frasco de decomposição. Nesta etapa de avaliação, foi possível perceber que o aumento na quantidade de  $\text{H}_2\text{O}_2$  adicionado possibilitou que a decomposição fosse feita de forma eficiente com soluções ainda mais diluídas de  $\text{HNO}_3$  ( $1,0$  e  $1,5 \text{ mol L}^{-1}$

- de  $\text{HNO}_3$  para as amostra de leite em pó integral e fígado bovino, respectivamente). Além disso, o aumento na quantidade de  $\text{H}_2\text{O}_2$  adicionado resultou em um aumento na acidez residual, o que foi interpretado como um indício de que a ação deste reagente, nas condições utilizadas, seja semelhante à ação exercida pelo  $\text{O}_2$ : ou seja, fornecer  $\text{O}_2$  para a reação de regeneração de soluções diluídas de  $\text{HNO}_3$ .
- (ii) Ao se avaliar a influência exercida pela radiação micro-ondas sobre a eficiência de decomposição com soluções diluídas de  $\text{HNO}_3$ , principalmente a respeito do mecanismo de regeneração do ácido pela presença de  $\text{O}_2$ , foi possível perceber que uma série de fatores deve ser considerada. A passagem forçada de ar na parte externa do frasco de decomposição, na tentativa de gerar um maior gradiente de temperatura ao longo do frasco, resultou em melhores eficiências de decomposição. Além disso, a medição de temperatura por termografia mostrou que o gradiente de temperatura existe somente no início do aquecimento por radiação micro-ondas (tempo de aquecimento menor do 7,5 min), onde a decomposição da amostra não é eficiente. A avaliação da interação da radiação micro-ondas com a fase gasosa do frasco de decomposição, feita pelo isolamento da fase gasosa do frasco com fita de alumínio, resultou na decomposição da matéria orgânica de forma mais lenta do que a observada na decomposição com interação da radiação com a fase gasosa do frasco de decomposição. Desta forma, além dos efeitos térmicos, pode-se sugerir que a viabilidade do procedimento de decomposição com soluções diluídas de  $\text{HNO}_3$  também dependa de efeitos não térmicos, provenientes da interação da radiação micro-ondas com o sistema de decomposição.
- (iii) A utilização de lâmpadas de emissão de radiação UV foi considerada uma alternativa promissora para decomposição com soluções diluídas de  $\text{HNO}_3$ . A eficiência de decomposição pode ser melhorada com a utilização de reagentes auxiliares, como  $\text{H}_2\text{O}_2$  e  $\text{O}_2$ , os quais formam espécies altamente reativas pela ação da radiação UV, potencializando a ação oxidante da solução de  $\text{HNO}_3$  utilizada. Além disso, foi possível aumentar a eficiência de decomposição das amostras de amido de batata, leite em pó desnatado e cloridrato de imipramina pela modificação de alguns parâmetros, tais como: aumento do tempo de

---

decomposição e decomposição com passagem forçada de ar na parte externa do frasco de decomposição durante a etapa de aquecimento por radiação micro-ondas. Além disso, foi possível decompor as amostras sem a utilização de ácidos. Neste caso, a ação oxidante dos compostos gerados pela interação da radiação UV com os reagentes auxiliares, foi suficiente para a decomposição das amostras de amido de batata, cloridrato de imipramina e leite em pó desnatado. Estes resultados contribuem para o fato de que é possível se obter uma boa eficiência de decomposição mesmo quando soluções diluídas de  $\text{HNO}_3$  são utilizadas, resultando em menores custos de análise, menor geração de resíduos e, conseqüentemente, melhores parâmetros de desempenho para as técnicas de determinação de metais utilizada.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

1. Hoenig, M. Dry ashing, *in*: Z. Mester, R. Sturgeon (Eds.) *Sample Preparation for Trace Element Analysis*, Elsevier, Amsterdam, 2003, pp. 235-254.
2. Matusiewicz, H. Wet digestion methods, *in*: Z. Mester, R. Sturgeon (Eds.) *Sample Preparation for Trace Element Analysis*, Elsevier, Amsterdam, 2003, pp. 193-233.
3. Flores, E. M. M., Krug, F. J., Barin, J. S., Arruda, M. A. Z. Decomposição de materiais orgânicos por via úmida, *in*: F. J. Krug (Ed.) *Métodos de preparo de amostras: fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar*, Seção Técnica de Biblioteca-CENA/USP, Piracicaba, 2010, pp. 252-275.
4. Wurfels, M., Jackwerth, E., Stoeppler, M. Residues from biological materials after pressure decomposition with nitric acid.1. Carbon conversion during sample decomposition, *Analytica Chimica Acta* 226 (1989) 1-16.
5. Wurfels, M., Jackwerth, E., Stoeppler, M. Residues from biological materials after pressure decomposition with nitric acid. 2. Identification of the reaction products, *Analytica Chimica Acta* 226 (1989) 17-30.
6. Wurfels, M., Jackwerth, E., Stoeppler, M. Residues from biological materials after pressure decomposition with nitric acid. 3. Influence of the reaction products on inverse voltammetric element determination, *Analytica Chimica Acta* 226 (1989) 31-41.
7. Taylor, A., Branch, S., Day, M. P., Patriarca, M., White, M. Atomic spectrometry update. Clinical and biological materials, foods and beverages, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 26 (2011) 653-692.
8. Richter, R. C., Link, D., Kingston, H. M. S. Peer Reviewed: Microwave-Enhanced Chemistry, *Analytical Chemistry* 73 (2001) 30 A-37 A.
9. Zlotorzynski, A. The Application of Microwave Radiation to Analytical and Environmental Chemistry, *Critical Reviews in Analytical Chemistry* 25 (1995) 43-76.
10. Matusiewicz, H. Development of high-pressure closed-vessel systems for microwave-assisted sample digestion, *in*: H. M. Kingston, S. J. Haswell (Eds.) *Microwave-enhanced chemistry: fundamentals, sample preparation, and applications*, American Chemical Society, Washington, DC, 1997, pp. 353-369.
11. Kingston, H. M., Jassie, L. B. Microwave energy for acid decomposition at elevated temperatures and pressures using biological and botanical samples, *Analytical Chemistry* 58 (1986) 2534-2541.
12. Rocha, F. R. P., Teixeira, L. S. G., Nóbrega, J. A. Green Strategies in Trace Analysis: A Glimpse of Simple Alternatives for Sample Pretreatment and Analyte Determination, *Spectroscopy Letters* 42 (2009) 418-429.
13. Trevizan, L. C., Donati, G. L., Nogueira, A. R. A., Nóbrega, J. A. Microwave-assisted procedures for sample preparation: recent developments, *in*: M. A. Z. Arruda (Ed.) *Trends in sample preparation*, Nova Science Publishers, New York, 2007, pp. 29-52.

14. Nobrega, J. A., Trevizan, L. C., Araujo, G. C. L., Nogueira, A. R. A. Focused-microwave-assisted strategies for sample preparation, *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy* 57 (2002) 1855-1876.
15. Gonzalez, M. H., Souza, G. B., Oliveira, R. V., Forato, L. A., Nobrega, 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.
16. Castro, J. T., Santos, E. C., Santos, W. P. C., Costa, L. M., Korn, M., Nobrega, 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.
17. Kratochvil, B. Sampling and sample preservation for trace element analysis, in: Z. Mester, R. Sturgeon (Eds.) *Sample Preparation for Trace Element Analysis*, Elsevier, Amsterdam, 2003, pp. 1-21.
18. Flores, E. M. M. Procedimento combinado para decomposição e determinação de elementos-traço por espectrometria de absorção atômica e desenvolvimento de gerador de hidretos em microescala, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1997, 156 p.
19. Anderson, R. *Sample pretreatment and separation*, John Wiley & Sons, Chichester, 1991, 632 p.
20. Costa, A. C. S., Krug, F. J., Oliveira, E., Nobrega, J. A., Matias, T. B. Métodos de dissolução em ácidos e de fusão, in: F. J. Krug (Ed.) *Métodos de preparo de amostras: fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar*, Seção Técnica de Biblioteca-CENA/USP, Piracicaba, 2010, pp. 141-168.
21. Tahan, J. E., Granadillo, V. A., Sanchez, J. M., Cubillan, H. S., Romero, R. A. Mineralization of biological-materials prior to determination of total mercury by cold vapor atomic-absorption spectrometry, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 8 (1993) 1005-1010.
22. Magalhães, C. E. C., Flores, E. M. M., Krug, F. J., Barin, J. S., Mesko, M. F. Decomposição de materiais orgânicos por combustão, in: F. J. Krug (Ed.) *Métodos de preparo de amostras: fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar*, Seção Técnica de Biblioteca-CENA/USP, Piracicaba, 2010, pp. 185-251.
23. Flores, E. M. M., Barin, J. S., Mesko, M. F., Knapp, G. Sample preparation techniques based on combustion reactions in closed vessels - A brief overview and recent applications, *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy* 62 (2007) 1051-1064.
24. Mesko, M. F., Pereira, J. S. F., Moraes, D. P., Barin, J. S., Mello, P. A., Paniz, J. N. G., Nóbrega, J. A., Korn, M. G. A., Flores, E. M. M. Focused Microwave-Induced Combustion: A New Technique for Sample Digestion, *Analytical Chemistry* 82 (2010) 2155-2160.
25. Flores, E. M. M., Barin, J. S., Paniz, J. N. G., Medeiros, J. A., Knapp, G. Microwave-Assisted Sample Combustion: A Technique for Sample Preparation in Trace Element Determination, *Analytical Chemistry* 76 (2004) 3525-3529.
26. 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.

27. Souza, G. B., Carrilho, E., Oliveira, C. V., Nogueira, A. R. A., Nobrega, J. A. Oxygen bomb combustion of biological samples for inductively coupled plasma optical emission spectrometry, *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy* 57 (2002) 2195-2201.
28. Narasaki, H. Determination of trace mercury in milk products and plastics by combustion in an oxygen bomb and cold-vapour atomic absorption spectrometry, *Analytica Chimica Acta* 125 (1981) 187-191.
29. Barin, J. S., Flores, E. M. M., Knapp, G. Trends in sample preparation using combustion techniques, *in*: M. A. Z. Arruda, Trends in sample preparation, Nova Science Publishers, Inc., New York, 2007, pp. 53-82.
30. Bermejo-Barrera, P., Moreda-Pineiro, A., Bermejo-Barrera, A. Sample pre-treatment methods for the trace elements determination in seafood products by atomic absorption spectrometry, *Talanta* 57 (2002) 969-984.
31. Florian, D., Knapp, G. High-temperature, microwave-assisted UV digestion: A promising sample preparation technique for trace element analysis, *Analytical Chemistry* 73 (2001) 1515-1520.
32. Smith, F. E., Arsenault, E. A. Microwave-assisted sample preparation in analytical chemistry, *Talanta* 43 (1996) 1207-1268.
33. Capote, F. P., Luque de Castro, M. D. Ultrasound in analytical chemistry, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 387 (2007) 249-257.
34. Lima, E. C., Barbosa, F., Krug, F. J., Silva, M. M., Vale, M. G. R. Comparison of ultrasound-assisted extraction, slurry sampling and microwave-assisted digestion for cadmium, copper and lead determination in biological and sediment samples by electrothermal atomic absorption spectrometry, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 15 (2000) 995-1000.
35. Strenger, S., Hirner, A. V. Digestion of organic components in waste materials by high pressure ashing with infrared heating, *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* 371 (2001) 831-837.
36. Cava-Montesinos, P., Cervera, M. L., Pastor, A., de la Guardia, M. Room temperature acid sonication ICP-MS multielemental analysis of milk, *Analytica Chimica Acta* 531 (2005) 111-123.
37. Melaku, S., Gelaude, I., Vanhaecke, F., Moens, L., Dams, R. Comparison of pyrolysis and microwave acid digestion techniques for the determination of mercury in biological and environmental materials, *Microchimica Acta* 142 (2003) 7-12.
38. Maichin, B., Zischka, M., Knapp, G. Pressurized wet digestion in open vessels, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 376 (2003) 715-720.
39. Mermet, J. M. Focused-microwave-assisted reactions: atmospheric-pressure acid digestion, on-line pretreatment and acid digestion, volatile species production, and extraction, *in*: H. M. Kingston, S. J. Haswell (Eds.) Microwave-enhanced chemistry: fundamentals, sample preparation, and applications, American Chemical Society, Washington, DC, 1997, pp. 371-400.
40. Garraud, H., Robert, M., Quétel, C. R., Szpunar, J., Donard, O. F. X. Focused microwave-assisted digestion of biological reference materials for the determination of trace metals by ICP-MS, *Atomic Spectroscopy* 17 (1996) 183-185.
41. Pratt, K. W., Kingston, H. M., MacCrehan, W. A., Koch, W. F. Voltammetric and liquid chromatographic identification of organic products of microwave-assisted wet ashing of biological samples, *Analytical Chemistry* 60 (1988) 2024-2027.



42. Daniel, M. M., Batchelor, J. D., Rhoades, C. B., Jones, B. T. The effect of digestion temperature on matrix decomposition using a high pressure asher, *Atomic Spectroscopy* 19 (1998) 198-203.
43. Neas, E. D., Collins, M. J. Microwave heating: theoretical concepts and equipment design, *in*: H. M. Kingston, L. B. Jassie (Eds.) Introduction to microwave sample preparation: theory and practice, American Chemical Society, Washington, 1988, pp. 7-32.
44. Jackwerth, E., Würfels, M. Pressure digestion: apparatus, problems and applications, *in*: M. Stoepler (Ed.) Sampling and sample preparation: a practical guide for analytical chemists, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Berlin, 1997, pp. 142-154.
45. Knapp, G., Panholzer, F., Schalk, A., Kettisch, P. Pressure-controlled microwave-assisted wet digestion systems, *in*: H. M. Kingston, S. J. Haswell (Eds.) Microwave enhanced chemistry: fundamentals, sample preparation, and applications, American Chemical Society, Washington, 1997, pp. 423-451.
46. Knapp, G., Maichin, B., Baumgartner, U. Interferences in ICP-OES by organic residue after microwave-assisted sample digestion, *Atomic Spectroscopy* 19 (1998) 220-222.
47. Krushevska, A., Barnes, R. M., Amarasiriwardena, 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.
48. Krushevska, A., Barnes, R. M., Amarasiriwardena, C. J., Foner, H., Martines, L. Comparison of sample decomposition procedures for the determination of zinc in milk by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 7 (1992) 851-858.
49. Araujo, G. C. L., Gonzalez, M. H., Ferreira, A. G., Nogueira, A. R. A., Nobrega, 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.
50. Reid, H. J., Greenfield, S., Edmonds, T. E. Investigation of decomposition products of microwave digestion of food samples, *Analyst* 120 (1995) 1543-1548.
51. Nóbrega, J. A., Trevizan, L. C., Araújo, G. C. L., Nogueira, A. R. A. Focused-microwave-assisted strategies for sample preparation, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 57 (2002) 1855-1876.
52. Amarasiriwardena, D., Krushevska, A., Argentine, M., Barnes, R. M. Vapour-phase acid digestion of micro samples of biological material in a high-temperature, high-pressure asher for inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, *Analyst* 119 (1994) 1017-1021.
53. Araújo, G. C. L., Nogueira, A. R. A., Nóbrega, J. A. Microwave Single Vessel Acid-Vapor Extraction: Effect of Experimental Parameters on Co and Fe Determination in Biological Samples, *Microchimica Acta* 144 (2004) 81-85.
54. Araujo, G. C. L., Nogueira, A. R. A., Nobrega, J. A. Single vessel procedure for acid-vapour partial digestion in a focused microwave: Fe and Co determination in biological samples by ETAAS, *Analyst* 125 (2000) 1861-1864.
55. Matusiewicz, H. Acid vapour-phase pressure decomposition for the determination of elements in biological materials by flame atomic emission spectrometry, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 4 (1989) 265-269.

56. Matusiewicz, H., Sturgeon, R. E., Berman, S. S. Vapour-phase acid digestion of inorganic and organic matrices for trace element analysis using a microwave heated bomb, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 6 (1991) 283-287.
57. Trevizan, L. C., Nogueira, A. R. A., Nóbrega, J. A. Single vessel procedure for acid vapor partial digestion of bovine liver in a focused microwave: multielement determination by ICP-OES, *Talanta* 61 (2003) 81-86.
58. Santos, D. M., Pedroso, M. M., Costa, L. M., Nogueira, A. R. A., Nóbrega, J. A. A new procedure for bovine milk digestion in a focused microwave oven: gradual sample addition to pre-heated acid, *Talanta* 65 (2005) 505-510.
59. Achterberg, E. P., Braungardt, C. B., Sandford, R. C., Worsfold, P. J. UV digestion of seawater samples prior to the determination of copper using flow injection with chemiluminescence detection, *Analytica Chimica Acta* 440 (2001) 27-36.
60. Weinberg, H. S., Cook, S. J. Segmented flow injection, UV digestion, and amperometric detection for the determination of total cyanide in wastewater treatment plant effluents, *Analytical Chemistry* 74 (2002) 6055-6063.
61. Oms, M. T., Cerda, A., Cerda, V. Sequential injection system for on-line analysis of total nitrogen with UV-mineralization, *Talanta* 59 (2003) 319-326.
62. Limbeck, A. Microwave-assisted UV-digestion procedure for the accurate determination of Pd in natural waters, *Analytica Chimica Acta* 575 (2006) 114-119.
63. Leopold, K., Zierhut, A., Huber, J. Ultra-trace determination of mercury in river waters after online UV digestion of humic matter, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 403 (2012) 2419-2428.
64. Golimowski, J., Golimowska, K. UV-photooxidation as pretreatment step in inorganic analysis of environmental samples, *Analytica Chimica Acta* 325 (1996) 111-133.
65. Bendicho, C., Pena, F., Costas, M., Gil, S., Lavilla, I. Photochemistry-based sample treatments as greener approaches for trace-element analysis and speciation, *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 29 (2010) 681-691.
66. Gil, S., Lavilla, I., Bendicho, C. Greener analytical method for determination of thiomersal (sodium ethylmercurithiosalicylate) in ophthalmic solutions using sono-induced cold vapour generation-atomic absorption spectrometry after UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> advanced oxidation, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 22 (2007) 569-572.
67. Manjusha, R., Dash, K., Karunasagar, D. UV-photolysis assisted digestion of food samples for the determination of selenium by electrothermal atomic absorption spectrometry (ETAAS), *Food Chemistry* 105 (2007) 260-265.
68. Michael, D., Mingos, P., Baghurst, D. R. Fundamentals of microwave application, *in*: H. M. Kingston, S. J. Haswell (Eds.) *Microwave-enhanced chemistry: fundamentals, sample preparation, and applications*, American Chemical Society, Washington, 1997, pp. 3-53.
69. Ringmann, S., Boch, K., Marquardt, W., Schuster, M., Schlemmer, G., Kainrath, P. Microwave-assisted digestion of organoarsenic compounds for the determination of total arsenic in aqueous, biological, and sediment samples using flow injection hydride generation electrothermal atomic absorption spectrometry, *Analytica Chimica Acta* 452 (2002) 207-215.
70. Atkins, P. W., de Paula, J. *Físico-química - fundamentos*, LTC, 2003, 488 p.
71. *Fundamentals of Physics Extended*, 8th Ed, Wiley India Pvt. Limited, 2008, 1224 p.
72. Trevizan, L. C., Donadi, G. L., Nogueira, A. R. A., Nóbrega, J. A. Microwave-assisted procedures for sample preparation: recent developments, *in*: M. A. Z. Arruda (Ed.) *Trends in sample preparation*, Nova Science Publishers, New York, 2007, pp. 29-52.

73. Menezes, R. R., Souto, P. M., Kiminami, R. H. G. A. Sinterização de cerâmicas em microondas. Parte I: aspectos fundamentais, *Cerâmica* 53 (2007) 1-10.
74. Wurfels, M., Jackwerth, E., Stoeppler, M. About the problems of disturbances of inverse voltammetric trace analysis after pressure decomposition of biological samples, *Fresenius Zeitschrift Fur Analytische Chemie* 329 (1987) 459-461.
75. Dugenest, S., Olle, M., Ribes, A., Grenier-Loustalot, M. F. Chemical characterization of municipal solid waste incineration residue: Dissolution of elements with a microwave-dilute acids digestion technique compared to conventional methods, *Analisis* 26 (1998) 256-260.
76. Soriano, S., Netto, A. D. P., Cassella, R. J. Multivariate optimization of a microwave-assisted leaching procedure using dilute acid solutions, for FAAS determination of Cu, Fe, Mn, and Zn in multivitamin/multimineral supplements, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 387 (2007) 1113-1120.
77. Knapp, G. Der Weg zu leistungsfähigen Methoden der Elementspurenanalyse in Umweltproben, *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* 317 (1984) 213-219.
78. Todoli, 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.
79. Chow, P. Y. T., Chua, T. H., Tang, K. F., Ow, B. Y. Dilute acid digestion procedure for the determination of lead, copper and mercury in traditional Chinese medicines by atomic absorption spectrometry *Analyst* 120 (1995) 1221-1223.
80. Matusiewicz, H. Critical evaluation of the effectiveness of nitric acid oxidizing systems: Pressurized microwave-assisted digestion procedure, *Chemia Analityczna* 46 (2001) 897-905.
81. Matusiewicz, H., Stanisz, E. Evaluation of high pressure oxygen microwave-assisted wet decomposition for the determination of mercury by CVAAS utilizing UV-induced reduction, *Microchemical Journal* 95 (2010) 268-273.
82. Cotton, F. A., Wilkinson, G., Murillo, C. A., Bochmann, M. *Advanced Inorganic Chemistry*, 6 ed., John Wiley & Sons, 1999, 1356 p.
83. Atkins, P. W., Shriver, D. F. *Química inorgânica*, Bookman Companhia, 2008, 848 p.
84. Mesko, M. F. Combustão iniciada por microondas em sistema fechado para a decomposição de amostras biológicas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2004, 137 p.
85. McQuarrie, D. A., Simon, J. D. *Physical Chemistry: A Molecular Approach*, University Science Books, 1997, 1270 p.
86. Zischka, M., Kettisch, P., Schalk, A., Knapp, G. Closed vessel microwave-assisted wet digestion with simultaneous control of pressure and temperature in all vessels, *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* 361 (1998) 90-95.
87. *Multiwave 3000: Microwave sample preparation*, v1.27 ed., Anton Paar GmbH, Graz, 2003, 322 p.
88. Barin, J. S. Determinação de metais e não metais em produtos farmacêuticos após decomposição em sistema fechado por combustão iniciada por microondas Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2003, 115 p.
89. Bancroft, W. D., Murphy, N. F. Oxidation and Reduction with Hydrogen Peroxide, *The Journal of Physical Chemistry* 39 (1934) 377-398.
90. Sissom, L. E., Pitts, D. R., Luiz, A. M. Fenômenos de transporte: transmissão de calor, mecânica dos fluidos e transferência de massa, Guanabara Dois, 1988, 192 p.
91. Dossat, R. J. *Princípios de refrigeração*, Hemus, 2004, 896 p.

92. de la Hoz, A., Diaz-Ortiz, A., Moreno, A. Microwaves in organic synthesis. Thermal and non-thermal microwave effects, *Chemical Society Reviews* 34 (2005) 164-178.
93. Perreux, L., Loupy, A. A tentative rationalization of microwave effects in organic synthesis according to the reaction medium, and mechanistic considerations, *Tetrahedron* 57 (2001) 9199-9223.
94. Galema, S. A. Microwave chemistry, *Chemical Society Reviews* 26 (1997) 233-238.
95. Bassyouni, F., Abu-Bakr, S., Rehim, M. Evolution of microwave irradiation and its application in green chemistry and biosciences, *Research on Chemical Intermediates* 38 (2012) 283-322.
96. Bizzi, C. A., Barin, J. S., Hermes, A. L., Mortari, S. R., Flores, E. M. M. A Fast Microwave-Assisted Procedure for Loss on Drying Determination in Saccharides, *Journal of the Brazilian Chemical Society* 22 (2011) 376-381.
97. Sturm, G. S. J., Verweij, M. D., van Gerven, T., Stankiewicz, A. I., Stefanidis, G. D. On the effect of resonant microwave fields on temperature distribution in time and space, *International Journal of Heat and Mass Transfer* 55 (2012) 3800-3811.
98. Chandra, U. Microwave heating, InTech, Rijeka, 2011, 370 p.
99. Santos Melo, S. A., Trovo, A. G., Bautitz, I. R., Pupo Nogueira, R. F. Degradation of residual pharmaceutical by advanced oxidation processes, *Quimica Nova* 32 (2009) 188-197.
100. Pillai, K. C., Kwon, T. O., Moon, I. S. Degradation of wastewater from terephthalic acid manufacturing process by ozonation catalyzed with Fe<sup>2+</sup>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and UV light: Direct versus indirect ozonation reactions, *Applied Catalysis B-Environmental* 91 (2009) 319-328.
101. Brandao, G. C., Aureliano, M. D., Sauthier, M. C. D., dos Santos, W. N. L. Photo-oxidation using UV radiation as a sample preparation procedure for the determination of copper in fruit juices by flame atomic absorption spectrometry, *Analytical Methods* 4 (2012) 855-858.
102. dos Santos, W. N. L., Brandao, G. C., Portugal, L. A., David, J. M., Ferreira, S. L. C. A photo-oxidation procedure using UV radiation/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> for decomposition of wine samples - Determination of iron and manganese content by flame atomic absorption spectrometry, *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy* 64 (2009) 601-604.
103. Dash, K., Rastogi, L., Arunachalam, J. DNA quantification via traceable phosphorus measurement through microwave-assisted UV digestion-ion chromatography, *Analyst* 137 (2012) 668-674.
104. Krishna, M. V. B., Venkateswarlu, G., Sanjukta, A. K., Karunasagar, D. UV Photolysis Digestion Method for the Multielemental (Major to Ultratrace) Analysis of Liquid-based Dietary Supplements by ICP-MS and ICP-OES, *Atomic Spectroscopy* 32 (2011) 127-144.
105. Krishna, M. V. B., Rao, S. V., Murthy, V. S. N., Karunasagar, D. A simple UV-photolysis digestion method for the determination of fluoride in fluorine-containing drugs by ion-selective electrode and spectrophotometry techniques, *Analytical Methods* 4 (2012) 1565-1572.
106. Mireles, A., Solis, C., Lagunas-Solar, M. C., Pina, C., Flocchini, R. G., Sotelo, A., Navarrete, M. Enhanced trace element analysis of plant materials after accelerated pulsed UV digestion, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 277 (2008) 441-449.
107. Munter, H. Advanced oxidation process-current status and prospects, *Proc. Estonian Acad. Sci. Chem.* 2 (2001) 59-80.