



Universidade Estadual de Campinas  
Instituto de Química

# **Construção de um Sistema de Análise Automático em Fluxo Monossegmentado acoplado a um Forno de Microondas**

**Aluno: Ismael Pereira Chagas**  
**Orientador: Jarbas José Rodrigues Rohwedder**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Instituto de Química da  
Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título de  
Mestre em Química – Área de Química Analítica –

Agosto de 2001

**UNICAMP**  
**BIBLIOTECA CENTRAL**  
**SEÇÃO CIRCULANTE**

UNIDADE	BP
Nº CHAMADA T/UNICAMP	C346c
V	
TOMADA DE	48225
PILA	16,837102
C	<input type="checkbox"/>
D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	16/04/02
Nº CPD	

CM00166251-1

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE QUÍMICA  
UNICAMP**

BIB ID 236334

C346c	<p>Chagas, Ismael Pereira</p> <p>Construção de um sistema de análise automático em fluxo monossegmentado acoplado a um forno de microondas / Ismael Pereira Chagas. -- Campinas, SP: [s.n], 2001.</p> <p>Orientador: Jarbas José R.Rohwedder.</p> <p>Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química.</p> <p>1. Ácido acetilsalicílico. 2. Demanda química de oxigênio. 3. Microondas. 4. Análise em fluxo monossegmentado. I. Rohwedder, Jarbas José Rodrigues. II. Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química. III. Título.</p>
-------	---

## Agradecimentos

---

Agradeço a Deus Nosso Pai, Jesus e a seus mensageiros

Agradeço aos meus pais, Aécio e Irene, por todo apoio, incentivo e carinho que me deram no decorrer de todo esse período e de toda a minha vida.

Agradeço a Gislaine, amor da minha vida, que muito me ensinou em tão pouco tempo.

Agradeço a toda minha família e familiares, que em algum momento, estiveram comigo nessa etapa.

Agradeço ao Prof. Jarbas Rohwedder, por todas as oportunidades que me ofereceu desde o início, pela orientação, pela paciência e por muitas outras coisas.

Agradeço aos professores Ronei Jesus Poppi, Francisco Krug, Luiz Manoel Aleixo, Marco Aurélio Zezzi Arruda, Maria Isabel Fontes Jardim, Celio Pasquini, Ivo Raimundo Jr. que colaboraram para o melhoramento do trabalho.

Agradeço aos amigos do laboratório Fernando, Yonehara, Bitão, Celeste, Márcia, Fernanda, Cláudia, Andrea, Gilberto, Gilmar.

Ao Luiz Alexandre (Shaolim), pela integração do meu sinal, ao comandante Emerson e Simone (Simon's Quest) pela ajuda no sistema de fluxo.

Agradeço aos funcionários da biblioteca, da secretaria, da informática e das oficinas do Instituto de Química que colaboraram de alguma maneira neste trabalho.

Agradeço aos amigos Evandro (Zoca), Samuel (Game Master), Sandro, Daniele, Heloísa, Patrícia e a muitos outros, que sempre estiveram comigo.

Agradeço aos Masters of Orion, Renato Guchardi, Pedro Vazquez e Ricardo Ferreira.

Agradeço a George Lucas por ter inventado Star Wars e ter criado Darth Vader.

Agradeço a Von Newman, e todo seu trabalho.

Agradeço a equipe do M.A.M.E.

Agradeço a Francisco Candido Xavier e muitos outros.

Agradeço a Rocket Launcher Foundation, pela colaboração e apoio militar logístico, infraestrutura, soldados, equipamento e serviços.

Agradeço ao CNPq pela bolsa.

Agradeço a Microsoft e ao Bill Gates pelos inúmeros problemas que me proporcionou.

Aos entregadores de pizza e software. (sem eles a sobrevivência é impossível)

## **Resumo**

---

# **Construção de um Sistema de Análise Automático em Fluxo Monossegmentado acoplado a um Forno de Microondas**

**Aluno:** Ismael Pereira Chagas

**Orientador:** Jarbas José Rodrigues Rohwedder

Neste trabalho foi desenvolvido um sistema de fluxo monossegmentado acoplado ao forno de microondas. O equipamento foi construído visando a máxima mecanização, onde após a etapa de digestão, a mistura reacional é conduzida diretamente ao detector.

Todo o sistema foi construído no laboratório sendo controlado por um computador compatível com IBM-PC/486 através de um programa escrito em Visual Basic 3.

O sistema foi avaliado quantificação de ácido acetilsalicílico em medicamento. Dentro da cavidade do forno, o AAS é hidrolisado em meio alcalino e posteriormente complexado em meio ácido com  $\text{Fe}^{2+}$  em linha, sendo monitorado em 525 nm. O erro encontrado para a determinação de AAS quando comparado ao método de referência foi inferior a 5% com precisão melhor que 99%. Comparando os resultados obtidos pelo método padrão com o método desenvolvido, verificou-se pelo teste t que, com 95 % de confiança, os dados não foram significativamente diferentes entre si.

O sistema também foi avaliado para a determinação da DQO, onde a matéria orgânica foi oxidada com  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  em meio fortemente ácido ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) utilizando a energia de microonda para o aquecimento da mistura reacional. Monitorando-se a absorbância a 445 nm determinou-se espectrofotometricamente a quantidade de Cr (VI) consumido. Os resultados encontrados, quando comparados ao método padrão, mostraram erros inferiores a 4% e com precisão melhor de 99%. A técnica apresenta uma boa concordância quando comparada com os valores obtidos pelo método padrão e pode ser aplicado para uma ampla faixa de teor de DQO desde 250 mg/L a 5000 mg/L  $\text{O}_2$ (DQO).

## Abstract

---

### **Construction of an Automatic Analysis System for Monosegmented Flow Injection coupled in a Microwave Oven**

**Author:** Ismael Pereira Chagas

**Advisor:** Jarbas José Rodrigues Rohwedder

A Monosegmented Flow Injection system coupled to a microwave oven was constructed. The equipment was made to operate with full mecanization, so that after the digestion step, the mixture was direct toward detection.

The whole system was made at authors laboratory and it was controlled by a personal computer IBM-PC486 compatible with a software written in Visual Basic 3.

The system evaluated the quantity of acetyl salycilic acid in drugs. In the microwave oven, the acetyl salycilic acid was submitted to hidrolisis and the product of this reaction was complexed on line with  $Fe^{2+}$  and monitored at 525 nm. The error found was less than 5% with relative standard deviation less than 1%. Comparing our results with the standard method, there was no significant difference at 95% confiance level.

The system were used for determination of Chemical Oxigen Demand (COD) in waste waters samples. The organic matter was oxiged with  $K_2Cr_2O_7$  in  $H_2SO_4$ , by using the microwave digestion. No reacted Cr (IV) was determined at 445 nm. The results obtained were in good agreement with the standard method, showing errors less than 4% with better precision than 1%. The system may be used with COD values from 250 mg/L to 5000 mg/L  $O_2$ .

# Curriculum Vitae

---

## **Ismael Pereira Chagas**

### Formação Acadêmica

- Cursando Pós Graduação (Programa de Mestrado) no Instituto de Química - UNICAMP. Início: março de 1999.
- Bacharel em Química Tecnológica - Instituto de Química - UNICAMP - Campinas (SP). Período: (1995 à 1998)
- Técnico em Química - Escola Técnica Conselheiro Antônio Prado (ETECAP), Campinas SP. (1991 à 1994)

### Estágios e Atividades de Pesquisa

- Bolsa de pós-graduação – Mestrado – CNPq – Instituto de Química – UNICAMP- *“Construção de um Amostrador automático para Injeção em Fluxo Monossegmentado com Digestão em Microondas”* – abril/1999 à abril/2001.
- Bolsa de Iniciação Científica e Tecnológica – CNPq – Instituto de Química – UNICAMP *“Desenvolvimento de um Programa Computacional para o Ensino de Análises em Fluxo”* Período: julho/1997 à agosto/1998.
- Estágio Escola Técnica Estadual Conselheiro Antônio Prado - Laboratório de Corrosão. Período : de 1/março a 31 dezembro

### Comunicações Apresentadas em Congressos

- I. P. Chagas, Jarbas J. R. Rohwedder ,*“Utilização de um Sistema de Análise em Fluxo Monossegmentado acoplado ao Forno de Microondas para Determinação de AAS”*, 24a. Reunião Anual da SBQ, Poços de Caldas, MG, 2001, QA-055
- I. P. Chagas, I. M. Raimundo Jr., Jarbas J. R. Rohwedder , *“Desenvolvimento de um Programa Computacional para o Ensino de*

Análises em Fluxo, VI Congresso Interno de Iniciação Científica, UNICAMP, novembro 1998

- I. P. Chagas, I. M. Raimundo Jr., Jarbas J. R. Rohwedder , “Desenvolvimento de um Programa Computacional para o Ensino de Análises em Fluxo, 21a. Reunião Anual da SBQ, Poços de Caldas, MG, 1998, ED-062
- I. P. Chagas, Paulo Cesar. A. de Oliveira”, “*Computação Gráfica Aplicada ao Ensino da Corrosão no Brasil*”, 18º Congresso Brasileiro de Corrosão, Rio de Janeiro, 1995, Livro de resumo T72

### **Cursos**

- “*Introdução ao UNIX*” – Centro Nacional de Processamento de Alto Desempenho – CENAPAD – 2001
- “*Tópicos Especiais em Química Analítica: Preparo de Amostra*”-1º Semestre 2000
- “*Instrumentação e Automação em Química Analítica*” - 1º Semestre 2000
- “*Construção de Criação de Personagens e Cenários Virtuais*” – Autodesk SIBGRAPI 99 - 1999
- “*e-Business ao seu Alcance*” – IBM – 1999.
- “*Tópicos Especiais em Química Analítica: Quimiometria*” – 1º Semestre 1999
- “*Computação em Química*” - 1º Semestre 1999.
- “*Tópicos Especiais em Química Analítica: Preparo de Amostras*” – 1º Semestre 2000.

# Índice

---

Lista de Figuras	XIV
Lista de Tabelas	XVII
1.Introdução	1
2. Fornos de microondas	4
2.1 A energia de microondas	4
2.1.1 Equipamento	6
2.1.2 Magnetron	7
2.2 Uso de microondas no preparo de amostras	8
2.3 Acoplamento de forno de microondas em sistemas de fluxo	8
3.Ácido Acetilsalicílico	11
3.1 Propriedades	11
3.2 Métodos para determinação do AAS	12
4. Demanda química de oxigênio	14
5. Objetivos	18
6. Parte Experimental	19
6.1 A instrumentação	19
6.2 Circuito eletrônico de controle	20
6.2.1 Fonte de Alimentação	20
6.2.2 Circuito para acionamento de motores de passo e válvulas solenóides	21
6.2.3 Circuito para controle do forno de microondas	24
6.2.4 Chave óptica	25
6.2.5 Circuito do detector	27
6.3 Sistema de Injeção em Fluxo Monossegmentado	29
6.4 Programa de Controle	31
6.5 Calibração do Forno de microondas	33

7. Determinação do Ácido Acetilsalicílico	34
7.1 Reagentes e Soluções	34
7.2 Determinação de AAS pelo método padrão. Titulação do excesso de NaOH	34
7.3 Determinação de AAS espectrofotometricamente utilizando hidrólise por microondas em batelada.	34
7.3.1 Otimização das condições de hidrólise em batelada	35
7.3.2 Construção da curva analítica espectrofotométrica em batelada	35
7.3.3 Determinação espectrofotométrica em medicamento utilizando hidrólise por microondas em batelada	36
7.4 Determinação de AAS utilizando Análise por Injeção em Fluxo Monossegmentado acoplado à forno de microondas.	36
7.4.1 Otimização do sistema em fluxo	36
7.4.2 Otimização do tempo de hidrólise em fluxo	36
7.4.3 Construção de uma curva analítica de AAS espectrofoto-métrica em fluxo	37
7.4.4 Determinação espectrofotométrica de AAS em medicamento utilizando o sistema de Análise por Injeção em Fluxo Monossegmentado acoplado à forno de microondas.	37
8. Determinação da Demanda Química de Oxigênio	38
8.1 Soluções e reagentes	38
8.2 Otimização do sistema	38
8.3 Construção de uma curva analítica para DQO	38
8.4 Determinação de DQO em amostras de efluentes	39
9. Resultados e Discussão	40
9.1 Calibração do forno de microondas	40
9.2 Determinação de Ácido acetilsalicílico	42
9.2.1 Análise de AAS pelo método padrão	42
9.2.2 Análise de AAS utilizando hidrólise por microondas e	42

detecção espectrofotométrica em batelada	
9.2.3 Determinação de AAS utilizando hidrólise por microondas no sistema de fluxo	44
9.2.3.1 Otimização do tempo de hidrólise	44
9.2.3.2 Determinação de AAS em medicamento	48
9.3 Determinação da Demanda Química de Oxigênio em amostras de Efluentes	49
9.3.1 Sensibilidade de resposta do detector variando-se a concentração de dicromato	52
9.3.2 Otimização do tempo de digestão	53
9.3.3 Construção da curva analítica de calibração	54
9.3.4 Análise de amostras	56
10. Conclusões	58
11. Referências Bibliográficas	61

## **Lista de Figuras**

---

Figura 2.1: Espectro Eletromagnético	4
Figura 2.2: Vista interior de um forno de microondas contendo suas partes principais.	6
Figura 2.3: A radiação de microondas produzida no magnetron é direcionada através do guia de onda e espalhada no interior do forno de microondas através do espalhador de ondas.	6
Figura 2.4: Esquema interno do magnetron	7
Figura 3.1: Fórmula estrutural do ácido acetilsalicílico (AAS)	11
Figura 3.2: Mecanismo de hidrólise alcalina do AAS	12
Figura 6.1: Esquema Geral da Instrumentação	19
Figura 6.2: Imagem da instrumentação desenvolvida	19
Figura 6.3: Esquema elétrico da fonte simétrica de $\pm 12\text{ V} / 1^{\text{A}}$	21
Figura 6.4: Circuito de multiplexação dos sinais TTL da interface paralela comercial PC-Lab 711	22
Figura 6.5: Transistor TIP 121 utilizado como elemento de potência C = Coletor, B = base e E = emissor	23
Figura 6.6: Pinagem da chave analógica 4016 $V_{\text{dd}}$ = tensão de alimentação $V_{\text{ss}}$ = tensão de alimentação Pino 1 e 2 são conectados ao painel frontal do forno. Pino 3 sinal do computador. As demais chaves seguem o mesmo padrão.	24
Figura 6.7: A)Esquema eletrônico do sensor óptico (opto-switch). B)Posicionamento do sensor óptico em um tubo de Teflon em um MSFA.	26
Figura 6.8: Circuito utilizado para amplificar o sinal proveniente do opto (sensor óptico) e, posteriormente, enviá-lo ao computador via interface eletrônica.	26
Figura 6.9: Esquema do detector espectrofotométrico utilizado no sistema proposto.	27
Figura 6.10 : Esquema elétrico do detector e do circuito de amplificação	28

e atenuação do sinal do fotodiodo

Figura 6.11: Celas de detecção em fluxo construída em Teflon grafitado. A cela A foi empregada para determinação de AAS possuindo um caminho óptico de 8 mm e a cela B foi empregada para determinação da DQO apresentando um caminho óptico de 25 mm. 29

Figura 6.12: Esquema dos sistema de fluxo. V1, V2 e V3 são válvulas solenóides, A e B são pontos de mistura de reagentes no monossegmento. R1 e R2 são reagentes. L1 e L2 são alças de ar. L é a alça de amostragem. D é o detector espectrofotométrico. 30

Figura 6.13: Tela principal do programa para controle da instrumentação com suas respectivas funções 31

Figura 6.14: A) Diagrama de blocos do programa desenvolvido para controle da instrumentação na determinação de AAS B) Diagrama de blocos do programa para controle da instrumentação na determinação da DQO. 32

Figura 6.15: Disposição dos béqueres dentro da cavidade do forno de microondas 33

Figura 9.1: Gráfico de potência real em função da potência nominal (Potência Nominal =  $0,00614 + 1,55 \times$  Potência Real) 41

Figura 9.2: Região de maior e menor evaporação de água no interior da cavidade do forno de microondas. 41

Figura 9.3: Reação de hidrólise do AAS seguido da complexação do ânion salicilato com ferro (III) 42

Figura 9.4: Variação da absorbância em função do tempo de aquecimento no forno de microondas utilizando 320 Watts de potência. 43

Figura 9.5: Curva analítica de AAS utilizando hidrólise com forno de microondas e posterior complexação do salicilato com Fe III em batelada. Absorbância =  $(0,006 \pm 0,03) + (1,55 \pm 0,04) \times$  Concentração/(g/L) 44

Coefficiente de Correlação (R) = 0,998

Figura 9.6: Transmitância do complexo Fe-salicilato em função do tempo 45

de digestão

- Figura 9.7: Comportamento do salicilato de sódio com a variação do tempo de digestão no forno de Microondas 46
- Figura 9.8: Comportamento do sinal do complexo salicilato-Fe(III) para diferentes concentrações de AAS 47
- Figura 9.9: Curva analítica de AAS empregando-se o sistema por fluxo monossegmentado. Intensidade (UA) =  $(147 \pm 21) + (284 \pm 17) \times$  47  
Concentração/(g/L) Coeficiente de correlação = 0,998
- Figura 9.10: Comportamento do sinal para determinação da DQO 51
- Figura 9.11: Sistema de Injeção em Fluxo Monossegmentado utilizado para determinação da DQO 51
- Figura 9.12: Variação do sinal integrado em função da concentração de dicromato em meio ácido, onde a área é expressa por unidades arbitrárias (UA) 52
- Figura 9.13: Variação do sinal integrado (área) em função do tempo de digestão para glicose 53
- Figura 9.14: Variação do sinal integrado (área) em função do tempo de digestão para oxalato de sódio 54
- Figura 9.15: Curva analítica para DQO empregando Glicose como solução padrão. (Área =  $17,1 \pm 0,05 - 0,0018 \pm 6,0 \times 10^{-5} \times$  massa( $mO_2/L$ )) 55
- Figura 9.16: Curva analítica para DQO empregando Oxalato de Sódio como solução padrão. Oxalato de sódio:(Área =  $19,1 \pm 0,15 - 0,0017 \pm 5 \times 10^{-5}$  55  
massa( $mO_2/L$ ))
- Figura 9.17: Provável mecanismo para a mistura da amostra e o reagente (ácido sulfúrico/dicromato). 57

## **Lista de Tabelas**

---

Tabela 2.1: Valor da $\tan \delta$ (absorção de energia de microondas) de alguns materiais	5
Tabela 6.1: Combinação das trilhas do cartão localizado no painel frontal do forno de microonda e suas funções correspondentes. Os números de 2 a 9 indicam a % de potência utilizada.	25
Tabela 9.1: Variação da temperatura da água para diferentes potências do forno de microondas.	40
Tabela 9.2: Comparação do teor de AAS em medicamento obtida pelos métodos padrão (titulação), espectrofotométrico em batelada e Análise por Injeção em Fluxo Monossegmentado assistido por Microonda.	48
Tabela 9.3: Comparação dos Resultados entre o método padrão e o método por Fluxo Monossegmentado para o teor de DQO nas amostras	56

# 1. Introdução

---

O grande avanço da Eletrônica e da Computação, nas últimas décadas, permitiu um grande desenvolvimento da instrumentação analítica, permitindo que muitos laboratórios tivessem recursos que antes eram considerados sofisticados [1].

As técnicas de amostragem e de preparação de amostras, entretanto não acompanharam esse progresso, embora se tenha também observado o seu desenvolvimento [2,3].

A transformação de uma amostra em uma forma apropriada, para análise, pode se tornar um processo tedioso e demorado, como por exemplo, diluição, separação, dissolução e digestão. Dependendo do caso, alguns desses procedimentos, ou até todos, são realizados em uma determinação analítica, aumentando também a introdução de erros no resultado final. De todos os procedimentos para a preparação da amostra, a digestão é uma das mais utilizadas. A digestão é um procedimento que requer muito tempo e dependendo do tipo de amostra e da análise, pode gerar uma grande quantidade de gases e resíduos. Uma forma de aquecimento alternativa como o uso de energia de radiação microonda, pode diminuir sensivelmente o tempo de preparo de amostra quando comparada ao aquecimento convencional [2,3].

O uso do aquecimento por microondas na Química teve início em meados dos anos 70 e aumentou consideravelmente devido ao favorecimento cinético de reações químicas e por melhorar a eficiência do processo de digestão. Procedimentos convencionais de digestão que levariam horas podem ser reduzidos a alguns minutos. Adicionalmente, os procedimentos com microondas são simples, seguros, reduzem o risco de contaminação e são aplicáveis a amostras de diversas origens [2,3].

As microondas são radiações eletromagnéticas que provocam o movimento das partículas em solução pela migração de íons e/ou rotações nos dipolos, causadas pelo elevado número de vezes que o campo eletromagnético

se alterna. Num forno de microondas caseiro e convencional para fins analíticos, o campo se alterna  $4,9 \times 10^9$  por segundo. Devido ao mecanismo de "stress" induzido, a interação entre as microondas e as partículas provocam o aquecimento da amostra [4,5].

Deve-se salientar que o aquecimento só acontece se houver a presença de moléculas polares ou íons em solução.

As microondas possuem frequências que variam de 300 a 300.000 MHz. Quatro delas são utilizadas na área industrial e científica, sendo que a mais comum é de  $2450 \pm 13$  MHz, sendo inclusive a empregada nos fornos caseiros e para fins analíticos. A potência típica irradiada varia de 600 a 1200 W (fornos com 2 magnetron) e em cinco minutos, aproximadamente, 180 J podem ser transferidos pelo forno de microondas para uma amostra [4,5].

A incorporação de microondas em um sistema de análises em fluxo oferece uma grande vantagem, quando comparada aos demais métodos. Das diversas configurações de sistemas de fluxo, a amostra pode ser introduzida no forno em um fluxo contínuo (FIA ou monossegmento) ou em sistema com parada de fluxo ("stopped flow"), e após a etapa de digestão, a amostra segue diretamente ao detector [2].

A análise por fluxo monossegmentado é uma variante dos sistemas de injeção em fluxo, com diferença de que a introdução de uma amostra em um fluido carregador é segmentada por 2 bolhas de ar, produzindo uma região chamada monossegmento. A amostra é então transportada, recebendo os reagentes e posteriormente alcança o sistema de detecção. A mistura dos reagentes é realizada dentro do monossegmento [6].

A análise por fluxo monossegmentado apresenta as principais vantagens do sistema de análises por injeção em fluxo, como simplicidade, alta taxa de amostragem e pouca ou nenhuma dispersão da amostra [6].

O acoplamento do sistema de análise por fluxo monossegmentado a um forno de microondas, além de promover uma sensível redução no tempo total de digestão, pode ser automatizado, reduzindo o tempo de preparação de

amostras e conseqüentemente o tempo de análise. Além disso, o sistema pode reduzir a contaminação por agentes externos, melhorar a exatidão da medida e precisão da análise e promover uma economia de reagentes.

## 2. Fornos de Microondas

### 2.1 A Energia de Microondas

A microonda é uma radiação eletromagnética que provoca o movimento das espécies em solução pela migração de íons e/ou rotações dipolo, causados pelo elevado número de vezes em que o campo eletromagnético se alterna (no forno caseiro que opera a 2450 MHz, isso acontece  $4,9 \times 10^9$  vezes por segundo), existindo uma ressonância entre a onda e as partículas [4,5].

O atrito intermolecular provocado pela migração e rotação das espécies provoca o aquecimento e não causa mudanças na estrutura molecular. Para que haja o aquecimento é necessário então a presença de moléculas polares e de íons em solução.

As microondas estão compreendidas no espectro eletromagnético entre os comprimentos de onda de 0,01 e 1 m e frequências entre 300 e 300.000 MHz. (Figura 2.1) [4,5].

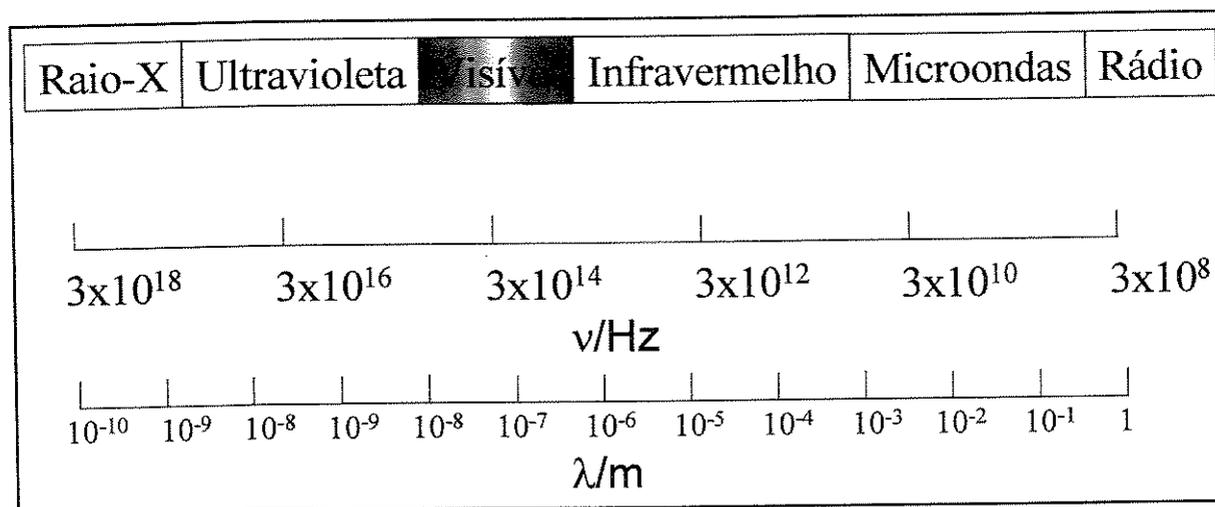


Figura 2.1: Espectro Eletromagnético [4]

As microondas são muito utilizadas em telecomunicações, transmissões de rádio e radar, sendo que existe uma frequência específica legalmente determinada conforme a aplicação. Para evitar interferências com outros sistemas, os fornos de microondas de uso industrial e doméstico operam em

$9,15 \times 10^8$  ,  $2,45 \times 10^9$ ,  $5,8 \times 10^9$  e  $2,2125 \times 10^{10}$  Hz. Destas, a frequência de  $2,450 \times 10^9$  Hz é a mais utilizada inclusive nos fornos caseiros [4,5].

Os fatores que influenciam o aquecimento pela energia de microondas são concentração iônica das espécies, tamanho dos íons, mobilidade iônica e carga iônica, além das propriedades físicas da solução, como viscosidade, temperatura e polarizabilidade das partículas.

A absorção da energia de microondas por um determinado material pode ser expressa através da grandeza  $\tan \delta$ , que relaciona, através de um modelo, o grau de polarização de uma molécula e a eficiência da molécula converter energia em calor, entre outros parâmetros. Quanto maior o valor de  $\tan \delta$ , maior a capacidade do material converter a energia de microondas em calor [4].

Exemplos de materiais que possuem diferentes capacidades para absorver a energia de microondas ( $\tan \delta$ ) podem ser observados na Tabela 2.1.

**Tabela 1:** Valor da  $\tan \delta$  (absorção da energia de microondas) de alguns materiais

Material	$\tan \delta$
Polietileno	0,0003
PTFE	0,00015
PFA	0,00015
Água (líquida)	0,157
Água (sólida)	0,0009
NaCl <sub>aq</sub> 0,5 mol/L	0,62
Metanol	0,640
Etileno Glicol	1,000

### 2.1.1 Equipamento

Um forno de microondas convencional [4] possui seis componentes básicos: gerador de microondas (magnetron), guia de ondas, espalhador de ondas, cavidade do forno, fonte de energia e ventilador (Figura 2.2).

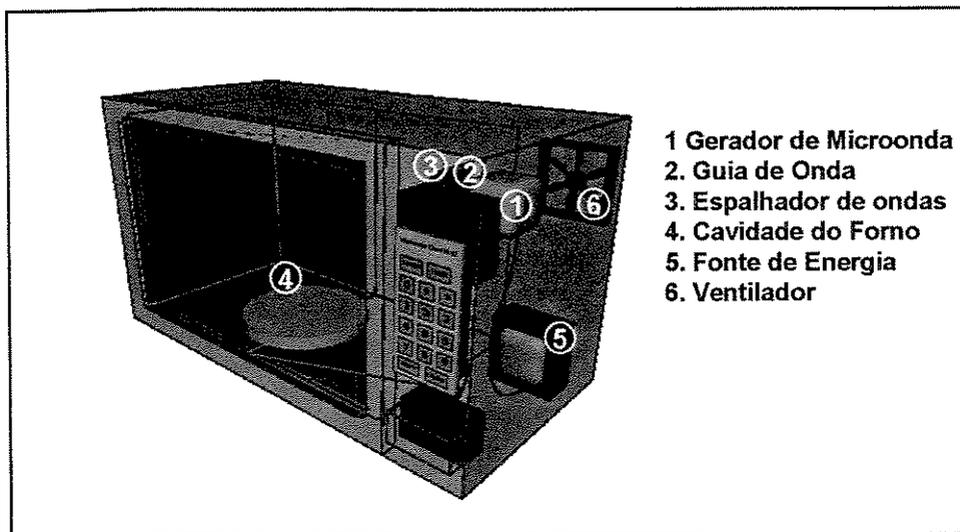


Figura 2.2: Vista interior de um forno de microondas contendo suas partes principais.

As microondas produzidas pelo magnetron são conduzidas através do guia de ondas até a cavidade, por onde são distribuídas, em várias direções pelo espalhador de ondas, sendo absorvidas pelas amostras (Figura 3.3).

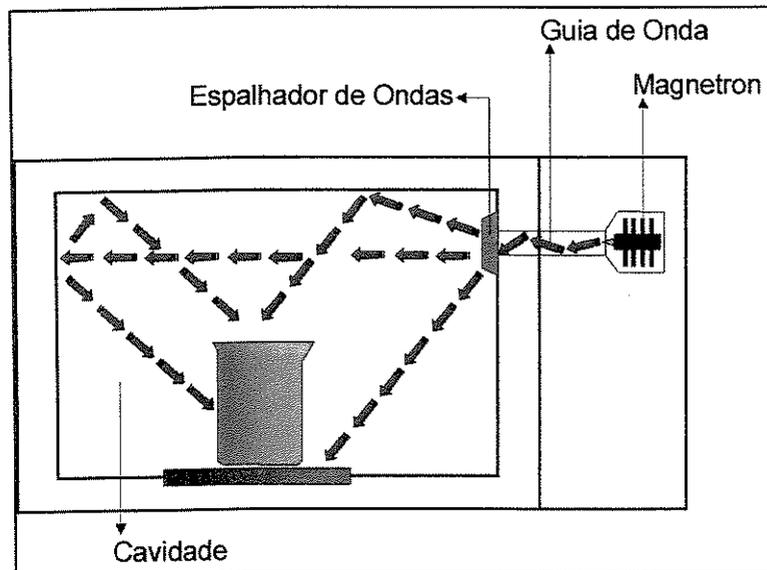


Figura 2.3: Esquema da radiação de microondas produzida no magnetron sendo direcionada através do guia de onda e distribuída no interior do forno de microondas através do espalhador de ondas.

### 2.1.2 Magnetron

O magnetron [4] é um dispositivo que converte a corrente elétrica alternada em microondas. É constituído por um tubo circular simétrico com um ânodo cilíndrico em sua cavidade e com um cátodo no eixo. (Figura 2.4)

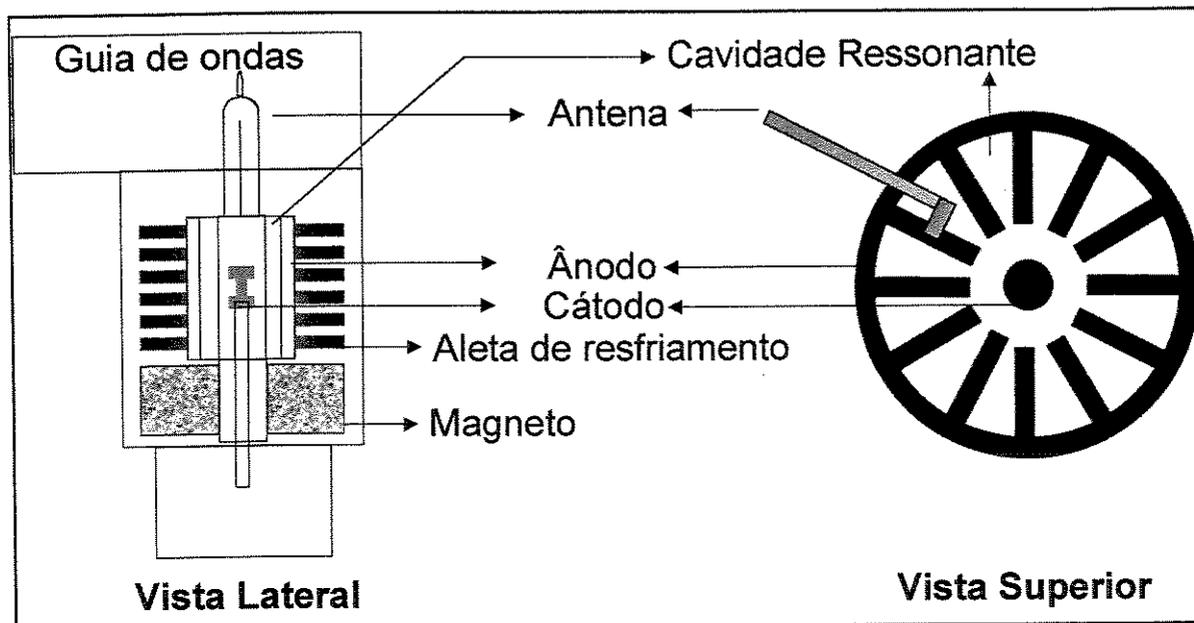


Figura 2.4: Esquema interno do magnetron[4]

O funcionamento do magnetron é baseado no movimento de elétrons sob a influência de campos elétrico e magnético. Uma diferença de potencial constante é aplicada entre o ânodo e o cátodo e um campo magnético é produzido por um eletromagneto. Essa fonte é constituída por um transformador de alta voltagem, um diodo especial e um capacitor que servem para converter a voltagem típica da rede (110-220 V) em uma voltagem de aproximadamente 3000 V. O magnetron converte esta alta voltagem em microondas com uma frequência desejada, normalmente 2450 MHz.

Os elétrons são emitidos do cátodo e acelerados em direção ao ânodo pela diferença de potencial entre eles. A energia dos elétrons é convertida em microondas em uma série de cavidades ressonantes presentes na estrutura do ânodo e emitidas através da antena para o guia de ondas.

## **2.2 Uso de microondas no preparo de amostras**

O primeiro trabalho publicado utilizando energia de microondas foi realizado em 1975, onde Abu-Samra e colaboradores utilizaram a energia de microondas para o preparo de amostras de origem biológica, utilizando um forno com potência de 600 watts e uma mistura mineralizadora constituída de ácido nítrico e ácido perclórico [7].

Desde então ocorreu um rápido desenvolvimento do uso da energia de microondas para várias técnicas, tais como a digestão de uma grande variedade de amostras (materiais sintéticos, geológicos, biológicos, alimentos, ambientais, carvão e cinzas, metais), na síntese de compostos orgânicos e inorgânicos, no processamento de cerâmicas, na esterilização, na extração por solvente, em aplicações bioquímicas, etc [2,8].

Um motivo relevante para a popularização dos processos de digestão por microondas foi o desenvolvimento de fornos planejados para o uso em laboratório.

Entre as vantagens da utilização das microondas estão a redução do tempo de digestão, a diminuição de perda de analito e consumo de reagentes e a minimização da contaminação da amostra que ocorre normalmente nos processos convencionais [4,5].

## **2.3 Acoplamento de fornos de microondas em sistemas de fluxo.**

O acoplamento de fornos de microondas em sistemas de fluxo oferece uma série de vantagens. Permite uma automação completa das operações, reduzindo o demorado tempo entre a digestão e a determinação, protege a amostra de agentes externos e aumenta a segurança do operador, permitindo que a amostra digerida possa ser diretamente conduzida ao detector [2].

O primeiro trabalho envolvendo o acoplamento de um forno de microondas a um sistema de fluxo foi proposto por Burguera e Burguera em

1986, onde os autores desenvolveram um sistema para determinação de cobre, zinco e ferro em amostras de sangue. As amostras eram mineralizadas em um sistema de fluxo passando por um forno de microondas e a determinação dos metais era realizada diretamente por espectrofotometria de absorção atômica acoplado ao sistema [9].

Conforme a configuração do sistema de fluxo, a amostra pode ser inserida através de método de fluxo contínuo ("continuous flow") ou de fluxo interrompido ("stopped Flow") e seguir diretamente para o detector. Em uma segunda configuração a amostra injetada é transportada até uma unidade de microondas, misturada com o reagente, digerida e resfriada, seguindo para o detector, podendo as medidas serem efetuadas "on-line" ou "off-line", utilizando diversas técnicas de detecção [2,5].

Devido a uma falta de homogeneidade na distribuição das microondas dentro da cavidade de fornos domésticos, testes de evaporação de água são utilizados para escolher a melhor posição para localizar a bobina de reação em fluxo. Também frascos com água são colocados dentro da cavidade para absorver o excesso da potência gerado, evitando danos ao magnetron [10].

A digestão de amostras em fornos de microondas, acoplados em sistemas de fluxo, apresentam algumas dificuldades como a formação de bolhas (devido ao aquecimento), a liberação de gases e a falta de homogeneidade na distribuição das microondas dentro da cavidade do forno. A liberação de gases provoca um aumento da pressão e conseqüentemente a oscilação da vazão do sistema interferindo no sinal analítico [11].

A diminuição da potência e o tempo de funcionamento do forno podem auxiliar na redução da formação de bolhas, e sistemas de descompressão [12], banho de resfriamento [13] e separador gás-líquido [14] são usados para a desgaseificação da amostra.

Embora a formação de bolhas provoque uma série de interferências, Haswell e Barclay [12] demonstraram a importância de uma interface gás-

líquido para uma digestão ácida eficiente e que a formação de um fluxo segmentado diminui a dispersão da amostra durante a digestão.

Foi proposto por Bouhsain [15] e colaboradores um sistema por injeção em fluxo para hidrólise alcalina, acelerada por microondas, para determinação de paracetamol em produtos farmacêuticos. O método se baseava na hidrólise alcalina em linha do paracetamol, complexando o produto da hidrólise, o p-aminofenol com quinolol na presença de  $KIO_4$ . O produto, azul indofenol, possui máxima absorção em 608 nm. Pérez e Haswell utilizaram um forno de microondas, acoplado a um sistema por injeção em fluxo, para saponificação de vitamina A com KOH 30%. O retinol resultante foi detectado espectrofotometricamente em 325 nm [16].

## 3. Ácido Acetilsalicílico

### 3.1 Propriedades

O ácido acetilsalicílico, AAS, também conhecido como aspirina (marca registrada da Bayer, embora sua utilização para designar comprimidos de AAS esteja consagrado no uso comum) é uma das substâncias mais utilizadas em todo o mundo em virtude do seu potencial valor terapêutico. É um fármaco analgésico, antiinflamatório e antipirético. É utilizado para alívio da dor moderada e febre. É a base dos analgésicos antipiréticos, sendo usado para tratamento de cefaléias, neuralgias, mialgias, infarto do miocárdio e outras dores [17,18].

O ácido acetilsalicílico apresenta a fórmula molecular  $C_9H_8O_4$ , massa molar 180,16 g/mol e temperatura de fusão de 135°C. Apresenta-se como um pó cristalino branco ou cristais brancos geralmente laminares ou aciculares da mesma cor. É inodoro e estável ao ar, mas na presença de umidade hidrolisa-se em ácido salicílico e ácido acético. É ligeiramente solúvel em água (1 g em 300 mL de água a 25° C), facilmente solúvel em etanol (1g em 5 mL), solúvel também em éter e clorofórmio.

Sua fórmula estrutural pode ser observada na Figura 3.1.

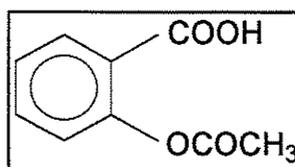


Figura 3.1: Fórmula estrutural do AAS

O ácido acetilsalicílico é um éster fenílico substituído e pode sofrer hidrólise originando ácido salicílico e ácido acético [17,18]. O mecanismo desta reação em meio alcalino pode ser representado na Figura 3.2.

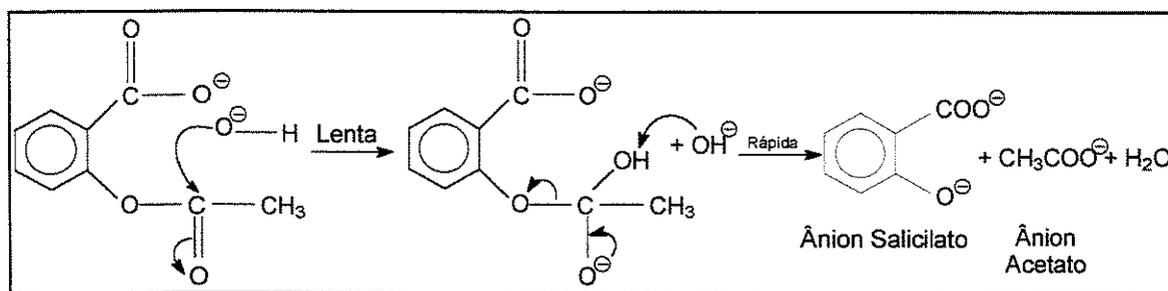


Figura 3.2: Mecanismo de hidrólise alcalina do AAS

### 3.2 Métodos para determinação do AAS

O método recomendado na Farmacopéia Brasileira [19] para determinação do AAS é o método volumétrico por uma titulação ácido-base de retorno. A amostra é tratada com um excesso de hidróxido de sódio, aquecida por 10 minutos, para finalizar a hidrólise, e o excesso de hidróxido de sódio é titulado com uma solução padronizada de ácido clorídrico. Este procedimento tem sido substituído por cromatografia líquida de alta eficiência.

Diversas técnicas foram propostas para determinação de AAS, sendo elas potenciométricas [20], espectrometria UV [20], colorimétricas [20,21] e termométrica [22].

Sanyal [23] determinou o ácido acetilsalicílico em comprimidos com base na reação de hidrólise alcalina. A amostra foi dissolvida em metanol, hidrolisada com NaOH, aquecida a  $30^\circ\text{C}$  por 15 min e acidificada com HCl. Foi empregado o comprimento de onda de 302 nm para monitorar o ácido salicílico formado.

Outra reação que tem sido empregada na determinação quantitativa de ácido acetilsalicílico é da formação do complexo Fe(III)-salicilato (reação de Trinder). O complexo é medido em 525 nm, em pH 2,5-3,0 [24].

Um sistema FIA de zonas coalescentes baseada na injeção de 2 amostras simultâneas foi desenvolvido por Lopez-Fernandez e colaboradores [25] para a determinação simultânea de ácido salicílico e ácido acetilsalicílico em fármacos, com uma taxa de amostragem de 20 determinações/h.

O complexo formado entre o Fe III e o ácido salicílico foi monitorado fotometricamente a 520 nm.

## 4. Demanda química de oxigênio (DQO)

---

A determinação da quantidade de matéria orgânica presente em uma amostra de água é muito importante para avaliar o seu nível de contaminação [26].

Normalmente, a degradação da matéria orgânica necessita de oxigênio e a quantidade de matéria orgânica presente em uma amostra pode ser estimada pela quantidade de oxigênio necessária para sua oxidação. Quando esse valor é obtido por reações bioquímicas (provocada por microorganismos) é denominada de *Demanda Bioquímica de Oxigênio* (DBO). Quando é obtida através de reações químicas de oxidação, essa quantidade recebe o nome de *Demanda Química de Oxigênio* (DQO) [26].

A DQO apresenta uma série de vantagens em relação a DBO, como velocidade, reprodutibilidade e simplicidade.[26]

O método de referência para a determinação da DQO consiste na oxidação da matéria orgânica, contida na água, pela adição de uma quantidade conhecida de agente oxidante ( $K_2Cr_2O_7$ ), refluxo em frasco aberto e a titulação do excesso de oxidante.[27,28]

Este método, entretanto, apresenta algumas desvantagens:

1. O tempo de análise é muito longo, considerando-se 2 horas para a etapa de digestão e mais o tempo necessário para a titulação.
2. Várias operações unitárias são necessárias na análise, aumentando a probabilidade da inserção de erros.
3. Uso de  $Ag_2SO_4$  ou  $HgSO_4$ , utilizados como catalisadores.
4. A presença de certas espécies inorgânicas ( $Cl^-$ ,  $NO_2^-$ ,  $Fe^{2+}$ ) causam interferência no método.

Jirka e Carter [29] introduziram um método semi-micro automático onde a digestão se processava em tubos de vidro selados. Eles utilizaram a mesmas concentrações de amostra e reagente e o mesmo tempo de digestão utilizado no método de referência, sendo feita a determinação do Cr III colorimetricamente ao invés do Cr IV. Neste método, diminuiu-se o consumo

de reagentes e as digestões eram mais completas, uma vez que não se perdiam os componentes voláteis. Entretanto, a turbidez da mistura reacional provocada pela presença de material particulado, presentes em algumas amostras, aumentavam a absorbância provocando erros na determinação. Para se evitar esse efeito, Himebaugh e Smith [30] desenvolveram um método onde o excesso de oxidante era determinado por titulação convencional com Fe(II) e ferroína. Edwards e Smith [31] substituíram a titulação convencional por determinações eletroquímicas, inclusive potenciométrica. Essas modificações permitiram uma taxa de amostragem de 20 amostras/h e uma precisão superior ao método original, porém com a desvantagem de apresentar o longo tempo de digestão de 2 horas.

A desvantagem do longo tempo utilizado para as análises quantitativas manuais foram compensadas pelo desenvolvimento de um método por Análise em Injeção em Fluxo (FIA) para determinação de DQO.

Os primeiros estudos efetuados para determinação da DQO de amostras de água utilizando FIA foram realizados por Korenaga e colaboradores [32-36], utilizando permanganato ou dicromato como oxidante, tubos de PTFE como bobina digestora e um banho a 100 °C. Amostras e reagentes eram bombeados até o digestor. A saída da bobina era conectada a um espectrofotômetro equipado com uma célula de fluxo e a absorbância medida em 525 nm. O método permitia uma frequência analítica de 20 amostras/hora.

Appleton e colaboradores [37] utilizaram um sistema FIA comercial aumentando a temperatura de digestão para 160°C, utilizando um banho de óleo, e aumentaram a concentração do H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, conseguindo uma frequência analítica de 18 amostras/hora.

A Análise por Fluxo Segmentado (SFA), cujo nome correto deveria ser MSFA segundo a recomendação da IUPAC, foi empregada por Tian e Wu, onde a amostra foi injetada entre 2 bolhas de ar. Eles utilizaram uma

solução de  $\text{KMnO}_4$  em solução de ácido sulfúrico e utilizaram glicose como padrão, utilizando um banho de óleo na etapa de aquecimento. Utilizando a segmentação, eles diminuíram a dispersão e conseqüentemente o tempo de residência, permitindo uma taxa de amostragem de 80 amostras/hora quando o volume injetado era pequeno.[38]

Os métodos de fluxo apresentam uma frequência analítica muito superior ao método de referência. Entretanto, existe uma grande diferença entre o tempo de digestão no método convencional (2 horas) e os métodos de fluxo (alguns minutos). Isso significa que a quantidade de energia em cada caso é muito diferente, sendo que em alguns casos a oxidação da matéria orgânica pode não ser completa. Devido a isso, outros sistemas de aquecimento são empregados, como a radiação microondas, pois esta é muito mais eficiente e rápida que os métodos convencionais. [26]

Jardim e Rohwedder [39] propuseram um método utilizando forno de microondas para a etapa de digestão fazendo uso de uma cela uma hermeticamente fechada de Teflon. O tempo de digestão foi de 7 minutos, para amostras contendo 500 a 5000  $\text{mg/L.O}_2$ .

Cuesta e Canals [26] desenvolveram um método por FIA para determinação da DQO que consiste primeiramente na etapa de digestão pelo forno de microondas. Numa segunda etapa, uma resina de troca aniônica retém o  $\text{Cr(VI)}$ , que não se reduziu, e numa terceira etapa, esta é eluída da resina, sendo determinado por espectroscopia de absorção atômica. A potência do forno de microondas, a vazão da amostra durante a etapa de digestão e o volume da amostra foram os parâmetros estudados. O método permitiu uma frequência analítica de 50 amostras /h, permitindo uma faixa de determinação entre 25 e 5000  $\text{mg O}_2/\text{L}$ .

Balconi [40] e colaboradores determinaram a DQO em um sistema FIA com membrana de permeação utilizando uma forno de microondas na etapa de digestão para aumentar a velocidade da etapa de oxidação e um espectrofotômetro como detector. Ele estudou a influência da potência do

forno de microondas, as faixas de concentração, a precisão e o limite de detecção. O sistema permitiu um tempo de digestão de 7 minutos contra 20 minutos nos outros sistemas de fluxo, permitindo uma taxa de amostragem de 10 amostras/horas. Entretanto, a cela de permeação não removia totalmente as bolhas o que causava um alto nível de ruído no sistema.

## 5. Objetivos

---

O objetivo deste trabalho foi a construção de um sistema automatizado de Análise por Injeção em Fluxo Monossegmentado fazendo uso da energia de microonda para promover a hidrólise ou digestão da amostra, onde após a etapa de hidrólise ou digestão a amostra é diretamente transportada até o detector.

A avaliação da instrumentação foi realizada efetuando-se a quantificação do ácido acetilsalicílico de aspirinas e a determinação da demanda química de oxigênio de amostras de água.

O projeto envolveu ainda a mecanização do sistema proposto através do uso de um sistema eletrônico, construído no próprio laboratório, sendo este utilizado para o controle e obtenção dos dados através de um micro computador. O gerenciamento do sistema foi feito através de um programa computacional desenvolvido em Visual Basic 3.0.

## 6. Parte Experimental

### 6.1 A instrumentação

A instrumentação desenvolvida neste trabalho para a Análise por Injeção em Fluxo Monossegmentado, acoplado ao forno de microondas, é esquematizada na Figura 6.1. Ela consiste em um microcomputador PC/486DX2 responsável por controlar todo o sistema por meio de uma interface paralela PC-Lab 711 S ligada a um circuito eletrônico de controle, o qual administra os demais dispositivos do sistema [41,42].

Uma imagem da instrumentação construída pode ser observada na Figura 6.2.

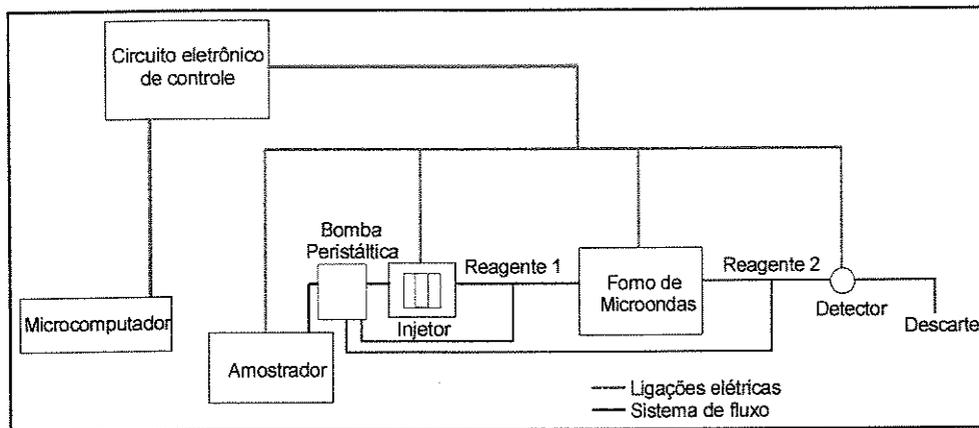


Figura 6.1: Esquema Geral da Instrumentação

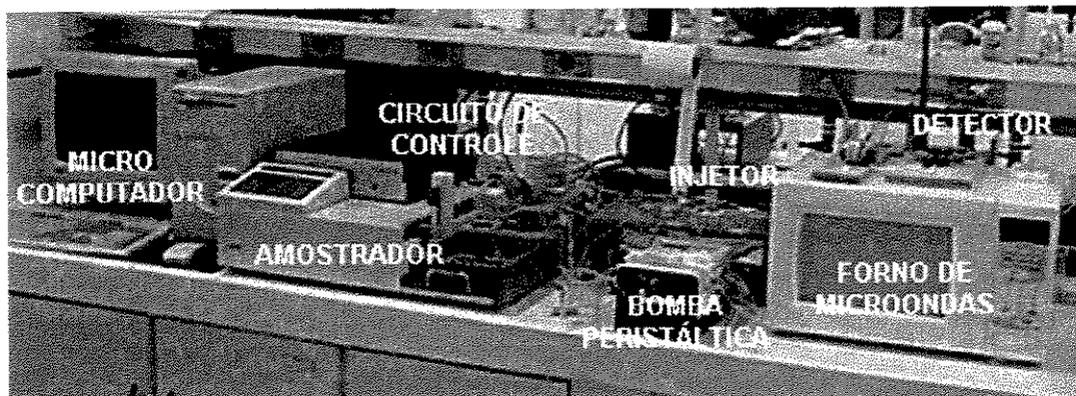


Figura 6.2: Imagem da instrumentação desenvolvida

A instrumentação pode ser dividida nas seguintes partes:

- 1) **Circuito eletrônico de controle:** contém todos os circuitos eletrônicos necessários para o controle da instrumentação, multiplexação dos sinais digitais da interface paralela e condicionamento de sinais provenientes do espectrofotômetro
- 2) **Micromputador:** responsável pelo controle do sistema através de um programa computacional escrito em Visual Basic 3.0.
- 3) **Amostrador automático:** braço mecânico com movimento XYZ utilizado para selecionar amostras a serem injetadas no sistema
- 4) **Bomba Peristáltica:** responsável pela propulsão da solução da amostra, dos reagentes e do fluido carregador no sistema de fluxo
- 5) **Detector:** fotômetro construído a partir de um LED e um fotodiodo.
- 6) **Forno de Microondas:** responsável pela etapa de hidrólise ou de digestão da amostra.

## **6.2) Circuito Eletrônico de Controle**

O circuito eletrônico de controle pode ser dividido nas seguintes partes:

- 6.2.1) Fonte de alimentação
- 6.2.2) Circuito para acionamento de motores de passo e válvulas solenóides
- 6.2.3) Circuito para controle do forno de microondas
- 6.2.4) Circuito para o monitoramento de sensores ópticos
- 6.2.5) Circuito do detector

### **6.2.1) Fonte de alimentação**

As seguintes fontes de alimentação foram construídas:

- A) Fonte de 24V / 3A, para alimentação do motor de passo do injetor automático.
- B) Fonte simétrica de  $\pm 5V/1A$ , para a alimentação dos circuito eletrônico digital.

C) Fonte simétrica de  $\pm 12\text{V}/1\text{A}$  para alimentação do circuito analógico, optos e motores de passo do amostrador automático.

Para cada fonte foi utilizado um transformador diferente. A Figura 6.3 mostra o esquema eletrônico da fonte de alimentação simétrica de  $\pm 12$  volts. Para as demais fontes, o circuito eletrônico é semelhante, sendo que em cada caso, o regulador de tensão (7812) mostrado na Figura 6.3 foi substituído por um 7805, para a fonte de 5 V, e 7824 para a fonte de 24 volts. O mesmo ocorre para os transformadores sendo utilizados 5 e 24 V para cada uma das fontes empregadas no sistema.

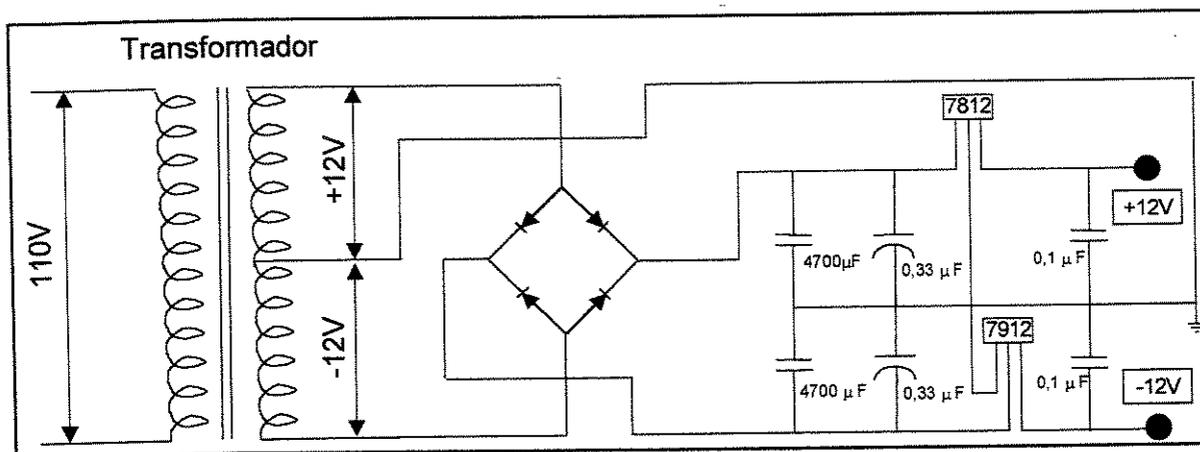


Figura 6.3: Esquema elétrico da fonte simétrica de  $\pm 12\text{ V} / 1\text{A}$

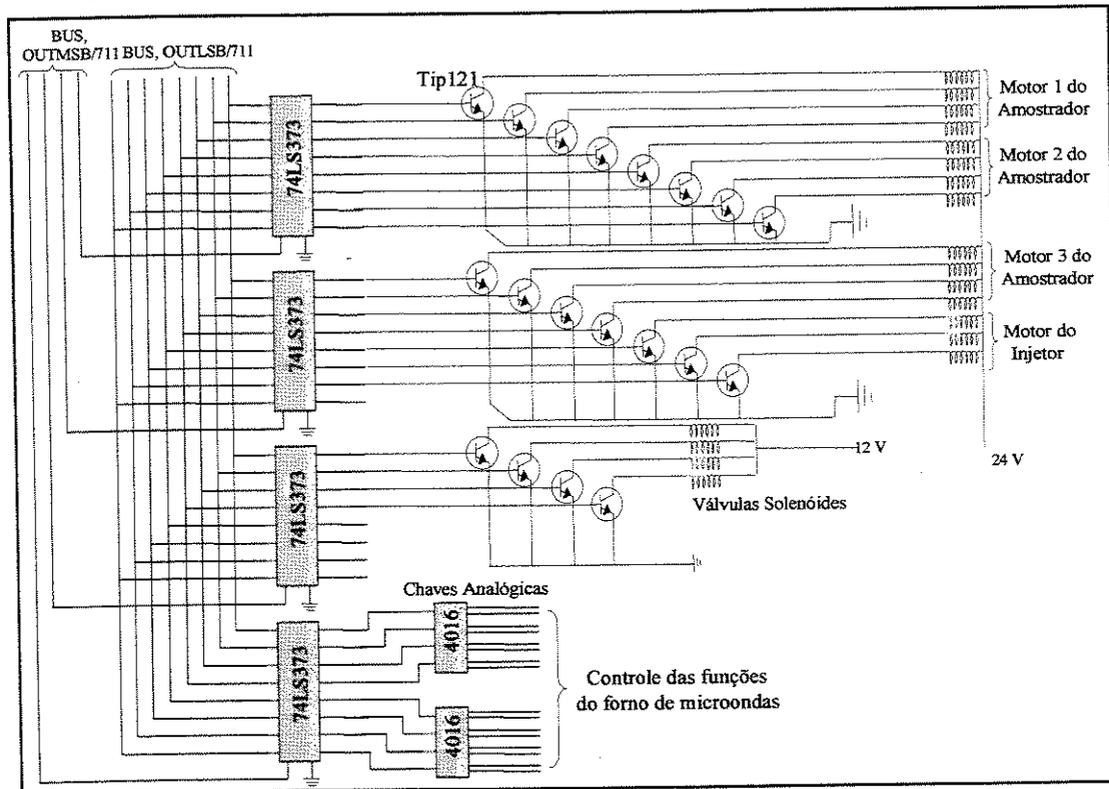
### 6.2.2) Circuito para acionamento do motores de passo e das válvulas solenóides

Os sinais lógicos TTL provenientes da interface 711S foram multiplexados por um conjunto de CI 74LS373 denominado de “latches”. Estes “latches” são responsáveis, em último caso, pelo acionamento dos motores de passos da válvula solenóide e do forno de microondas.

A interface 711 S permite até 16 linhas de controle de entrada e de saída. No sistema desenvolvido, são necessários o emprego de 27 linhas de controle de saída. Desta forma, o sinal proveniente da interface foi

multiplexado para 32 linhas através de um “latch” 74373, permitindo que a interface pudesse controlar os 27 dispositivos tais como motores de passo, válvulas solenóides e forno de microondas.

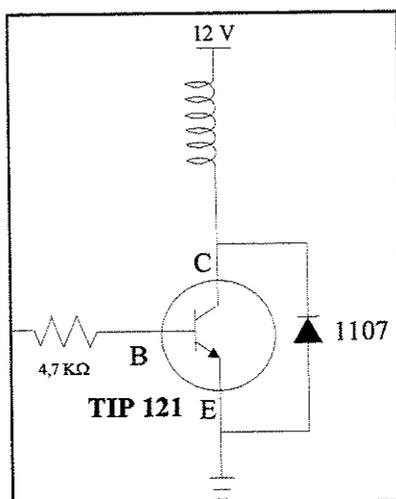
O diagrama eletrônico empregado para multiplexar as saídas da interface 711S, permitindo assim o controle dos 27 dispositivos do sistema proposto, pode ser observado na Figura 6.4.



**Figura 6.4:** Circuito de multiplexação dos sinais TTL da interface paralela PC-Lab 711

No caso das válvulas solenóides e dos motores de passo, além das tensões apropriadas, é necessário também fornecer correntes suficientes para o bom funcionamento destes dispositivos. Neste caso, correntes superiores a 80 mA são drenadas, necessitando o uso de transistores de potência, uma vez que os latches fornecem apenas correntes máximas na ordem de 5 mA. Desta forma, o transistor TIP-121 foi utilizado como elemento de potência, operando como uma chave (Figura 6.5), onde, recebendo um sinal do computador via

“latch” em sua base, permite ou não a passagem de corrente, conseqüentemente acionando ou desligando o motor de passo e a válvula solenóide. O mesmo raciocínio pode ser empregado para o forno de microondas, uma vez que as chaves analógicas (4016) operam de forma semelhante ao transistor.



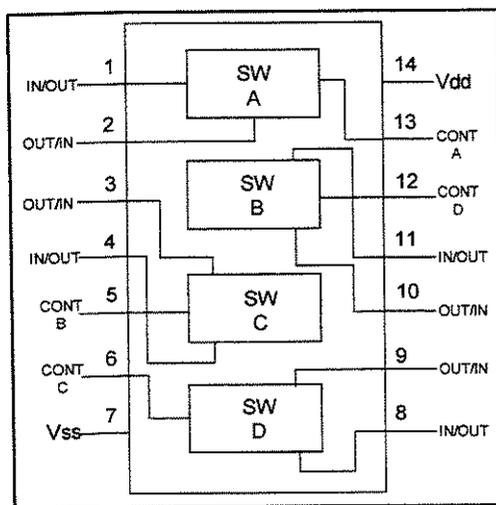
**Figura 6.5:** Transistor TIP 121 utilizado como transistor de potência: C = Coletor, B = base e E = emissor

Todos os motores utilizados para a construção do injetor e amostrador, são do tipo de passo e para ativá-los, uma tensão é fornecida a cada uma das bobinas em uma determinada seqüência, de forma a promover sua rotação. Para esse controle, uma seqüência de sinais digitais (trem de pulso) são enviados à base de cada transistor pelo computador, acionando cada bobina em uma ordem prestabelecida pelo programa computacional fazendo o motor girar em sentido horário ou anti-horário. Cada um dos 3 motores presentes no amostrador possui 4 bobinas, portanto são necessários 4 transistores por motor. No caso do injetor, são necessários apenas 3 transistores, uma vez que este motor possui apenas 3 bobinas.

### 6.2.3) Circuito para controle do forno de microondas

O controle das funções do forno de microondas é ativado por um cartão de circuito impresso (teclas) localizado no painel frontal. A seleção da função desejada pelo usuário é normalmente feita através de um toque na tecla desejada. Este toque faz com que duas trilhas conectem-se dentro do cartão, ativando a função desejada, tal como a potência, ligar, desligar, entre outras. Para permitir o controle do forno de microondas pelo microcomputador foi necessário o emprego de 2 chaves analógicas (4016, 4 chaves por pacote). As chaves analógicas são diretamente conectadas nas trilhas das funções que vão ser utilizadas, e elas serão responsáveis por conectarem o circuito selecionado, permitindo que o computador controle as funções do forno.

A Figura 6.6 mostra a pinagem da chave analógica 4016 e a Tabela 6.1 mostra a relação entre a função do forno de microondas e as trilhas utilizadas no seu painel frontal. A relação das trilhas com a função correspondente foi obtida desmontando-se o painel, ligando-se a um multímetro e verificando-se quais dos circuitos eram acionados para cada toque do usuário.



**Figura 6.6:** Pinagem da chave analógica: 4016 Vdd = tensão de alimentação; Vss=tensão de alimentação; Pino 1 e 2 são conectados ao painel frontal do forno. Pino 3 controlado por computador. As demais chaves seguem o mesmo padrão.

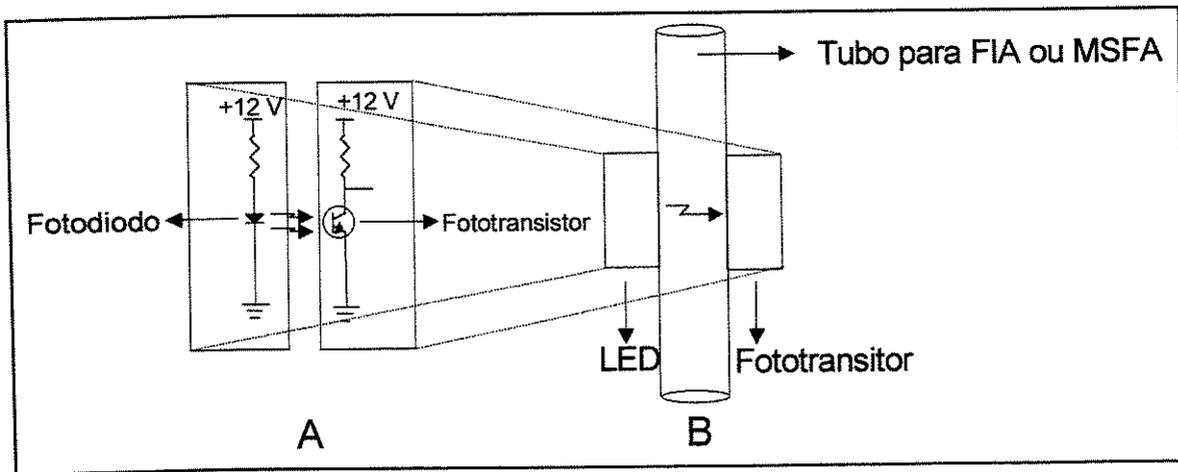
**Tabela 6.1:** Combinação das trilhas do cartão localizado no painel frontal do forno de microondas e suas funções correspondentes. Os números de 2 a 9 indicam a % de potência utilizada.

Função	Combinação das trilhas
Potência	1x8
5	1x6
9	5x6
Ligar	5x10
Desligar	5x11
3	4x7
7	3x6
2	3x7

#### 6.2.4) Chave Óptica

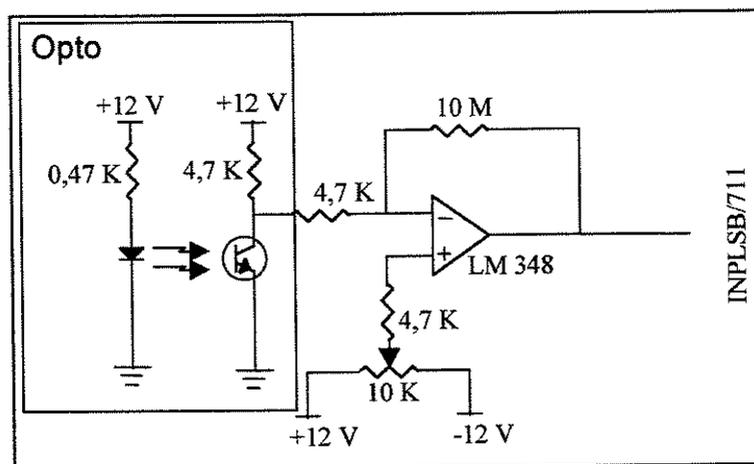
Um detector óptico (“opto-switch” ou simplesmente opto) é um dispositivo formado por um diodo emissor de luz (LED), operando na região do infravermelho próximo, acoplado a um fototransistor (Figura 6.7A).

Esse sensor óptico, com ajuda de um circuito eletrônico, pode ser ajustado de tal forma que quando colocado em um sistema de fluxo monossegmentado, como mostra a Figura 6.7 B, possa distinguir diferenças no índice de refração, devidas a alguma substância que passe pelo tubo ou de uma bolha de ar, que altera a intensidade da luz que alcança o fototransistor.



**Figura 6.7:** A) Esquema eletrônico do sensor óptico (opto). B) Posicionamento do sensor óptico (opto-switch) em um tubo de PTFE em um MSFA.

Os optos foram utilizados no sistema desenvolvido para monitorar a passagem de bolhas de ar no sistema MSFA. Para o ajuste de detecção de uma bolha de ar ou do fluido carregador do sistema foi necessária a construção de um circuito de amplificação do sinal gerado pelo fototransistor para posteriormente ser enviado para o computador via interface eletrônica. O esquema do circuito pode ser observado na Figura 6.8.



**Figura 6.8:** Circuito utilizado para amplificar o sinal proveniente do sensor óptico e, posteriormente, enviá-lo ao computador via interface eletrônica.

A saída deste circuito é ligada à entrada TTL da interface 711 S. Quando ocorrem mudanças do sinal devido à passagem de uma bolha de ar ou do fluido carregador, ocorre uma mudança no nível de sinal de alto (5V) para baixo (0V) ou vice versa, sendo este monitorado pelo programa do computador. Desta forma, o computador pode monitorar o evento que está ocorrendo e, posteriormente, pode executar um evento correlacionado, como por exemplo, ativar uma válvula solenóide, um motor de passo ou promover a injeção de reagente, entre outros.

### 6.2.5) Circuito do Detector

O sistema de detecção foi montado utilizando um LED e um fotodiodo. Quando ocorre alguma variação da luz emitida pela fonte devido a uma absorção causada pela passagem da amostra, a corrente elétrica do fotodiodo é alterada, sendo este sinal monitorado pelo computador (Figura 6.8)

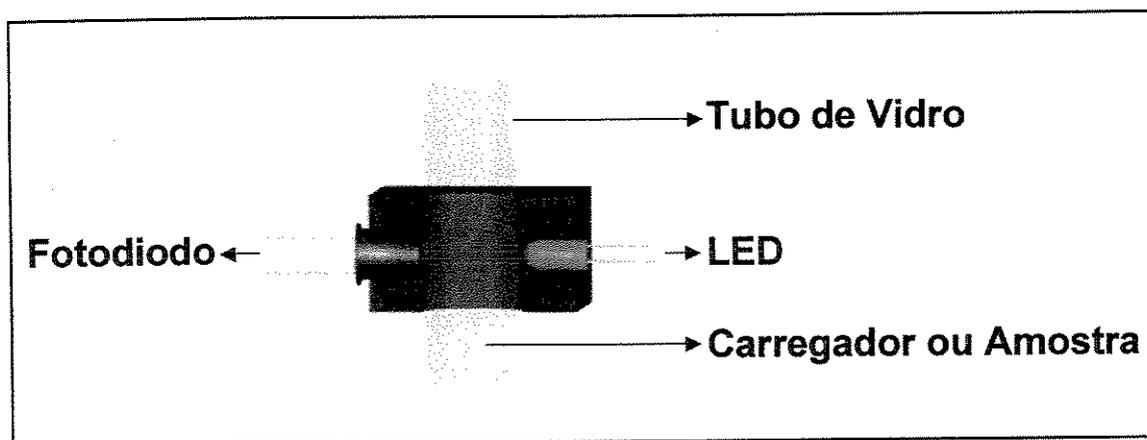
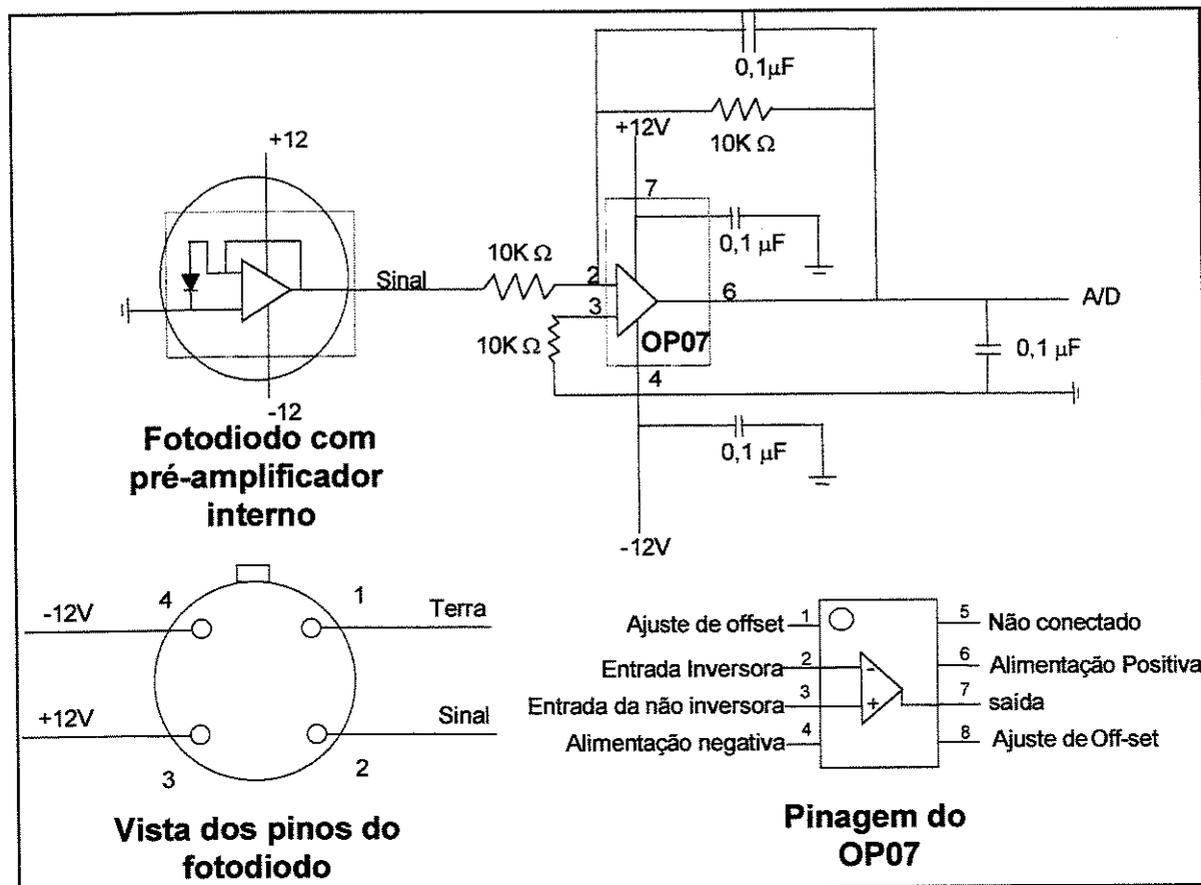


Figura 6.9: Esquema do detector espectrofotométrico utilizado no sistema proposto.

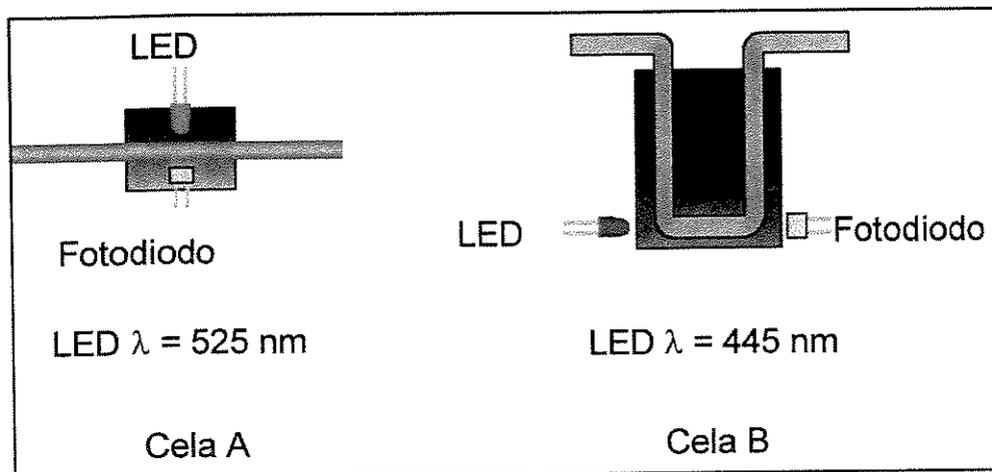


**Figura 6.10** : Esquema elétrico do detector utilizado e do circuito de amplificação e atenuação do sinal do fotodiodo

Apesar do fotodiodo já possuir um pré amplificador interno, um circuito de amplificação externo foi acoplado no sentido de condicionar o sinal de forma apropriada para posteriormente envia-lo para a interface (Figura 6.10). A saída desse circuito está diretamente acoplada na interface, na entrada do conversor A/D, que permite a conversão do sinal analógico para digital. Desta forma, é possível fazer as leituras da variação do sinal do fotodiodo diretamente pelo microcomputador, para posterior tratamento dos dados.

Dois modelos de cela de detecção foram empregados. A cela utilizada para a determinação de AAS consistia num tubo de vidro cujo caminho óptico era determinado pelo diâmetro interno do tubo empregado, no caso, 8 mm de diâmetro. A outra cela empregada foi utilizada para determinação da DQO e

consistia em um tubo em U de mesmo diâmetro (8 mm), cujo caminho óptico foi de 19 mm (para aumentar a sensibilidade da detecção). Os dois modelos de cela podem ser observados na Figura 6.11.



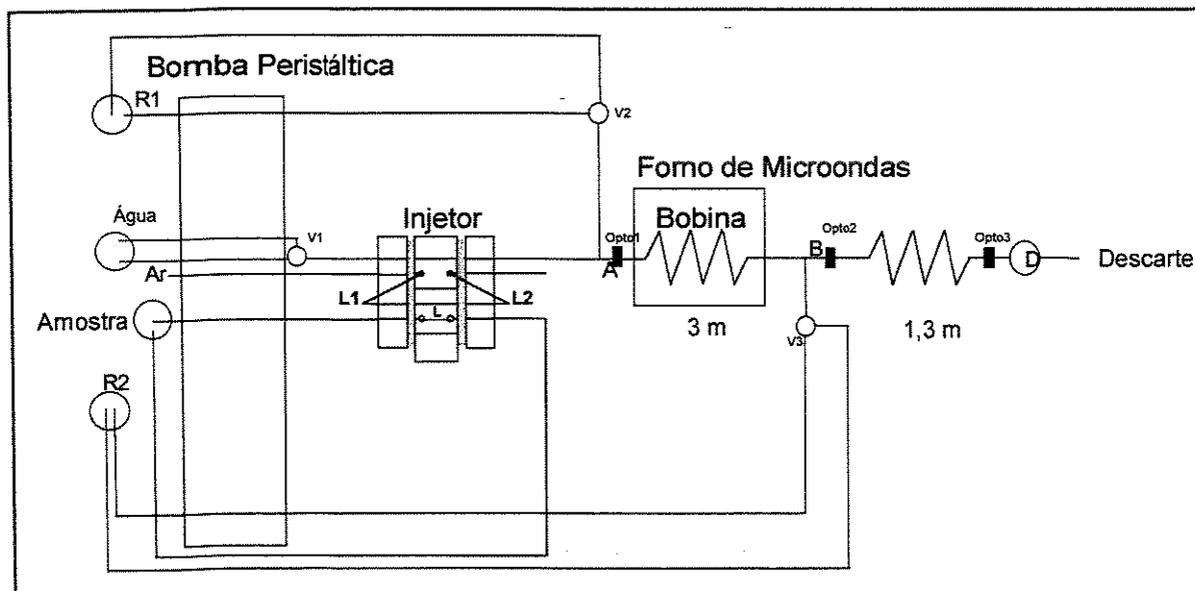
**Figura 6.11:** Celas de detecção contínua em Teflon grafitado. A cela A foi empregada para determinação de AAS apresenta um caminho óptico de 8 mm (diâmetro interno) e a cela B foi empregada para determinação da DQO apresentando um caminho óptico de 19 mm.

### **6.3) Sistema de Injeção em Fluxo Monossegmentado**

O esquema básico do sistema de fluxo monossegmentado desenvolvido pode ser observado na Figura 6.12.

A amostra é aspirada para a alça de amostragem L e posteriormente injetada entre duas bolhas da ar, cujos volumes são definidos no fluido carregador pelas alças L1 e L2. A amostra percorre o sistema até o primeiro opto (ponto A), e, simultaneamente, a primeira bolha de ar alcança o opto1 ativando o sistema para a injeção do reagente no monossegmento através da válvula 2. Posteriormente, o monossegmento alcança a bobina de digestão dentro do forno de microondas sendo este acionado por um tempo pré-determinado. Alcançado o período de tempo desejado, o forno é desligado. Ao sair do forno é injetado um segundo reagente (ponto B, controlado pelo opto 2) na mistura reacional através da válvula 3. Após esta etapa, a

amostra segue para o detector sendo iniciada sua leitura pelo computador. Os reagentes R1 e R2 estão em constante refluxo e são utilizados apenas quando é observada a passagem de uma bolha de ar no opto 1 ou 2. O volume injetado destes reagentes é controlado pelo tempo de abertura da válvula 2 e 3. A válvula 1 é utilizada quando é necessário fazer uma parada de fluxo da amostra dentro do forno. O opto 3 é utilizado apenas para disparar o processo de aquisição de dados do fotômetro, sendo este processo iniciado quando a 1ª bolha de ar que separa a amostra do carregador alcança este opto.



**Figura 6.12:** Esquema do Sistema de Fluxo. V1, V2 e V3 são válvulas solenóides de 3 vias, A e B são pontos de mistura de reagentes no monossegmento. R1 e R2 são reagentes. L1 e L2 são alças de ar. L é a alça de amostragem. D é o detector espectrofotométrico.

Todo o sistema foi montado utilizando tubos de Teflon, com diâmetro interno de 1,6 mm. Uma bomba peristáltica Ismatec, modelo IPC-N-8 foi utilizada para o bombeamento do fluido. A bomba também foi controlada pelo microcomputador utilizando a interface de comunicação RS-232. O volume de amostra do monossegmento foi de 60  $\mu\text{L}$ , determinado pela

pesagem do líquido contido na alça de amostragem. As alças utilizadas para as bolhas de ar apresentam um volume de 120  $\mu\text{L}$ .

#### 6.4) Programa de controle

Um programa computacional, escrito em Visual Basic 3.0, foi desenvolvido para o controle do sistema proposto. O programa apresenta uma série de rotinas que permitem controlar independentemente cada dispositivo do sistema, tais como as válvulas solenóides, a leitura do detector, o forno microondas, o injetor, o amostrador e realizar a coleta de dados. Dentro do programa também estão inseridos comandos para gerenciar uma seqüência completa de eventos, como a aspiração da amostra, tempo de digestão e uma série de outras funções.

A tela principal do programa pode ser visualizada na Figura 6.13. As seqüências completas de instruções utilizadas para controle da instrumentação para hidrólise de AAS e para determinação da DQO podem ser observadas no diagrama de bloco da Figura 6.14.

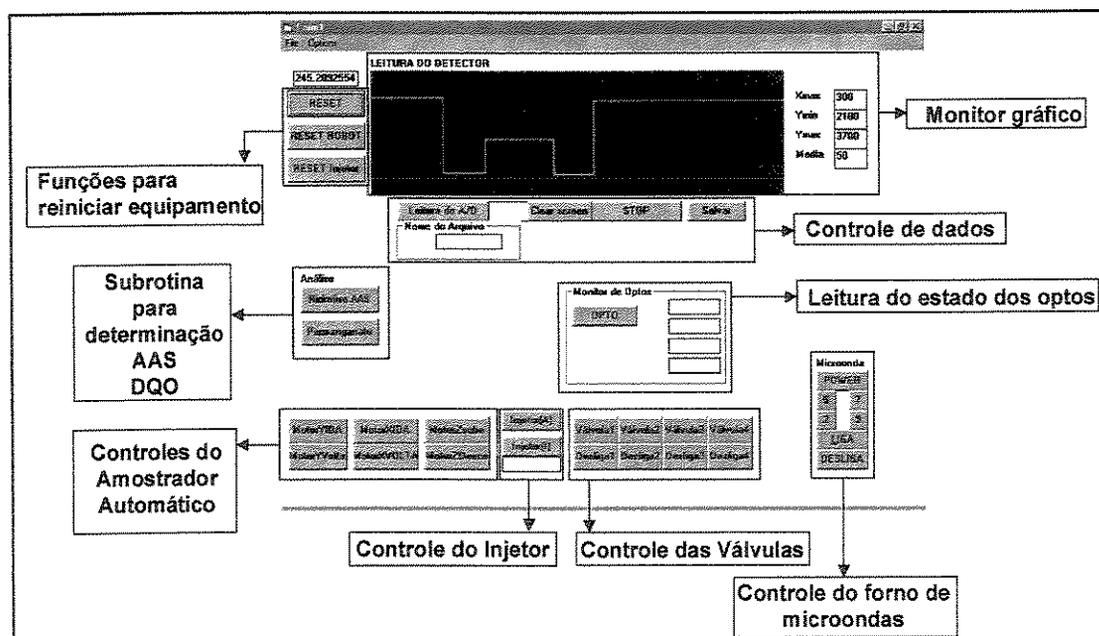
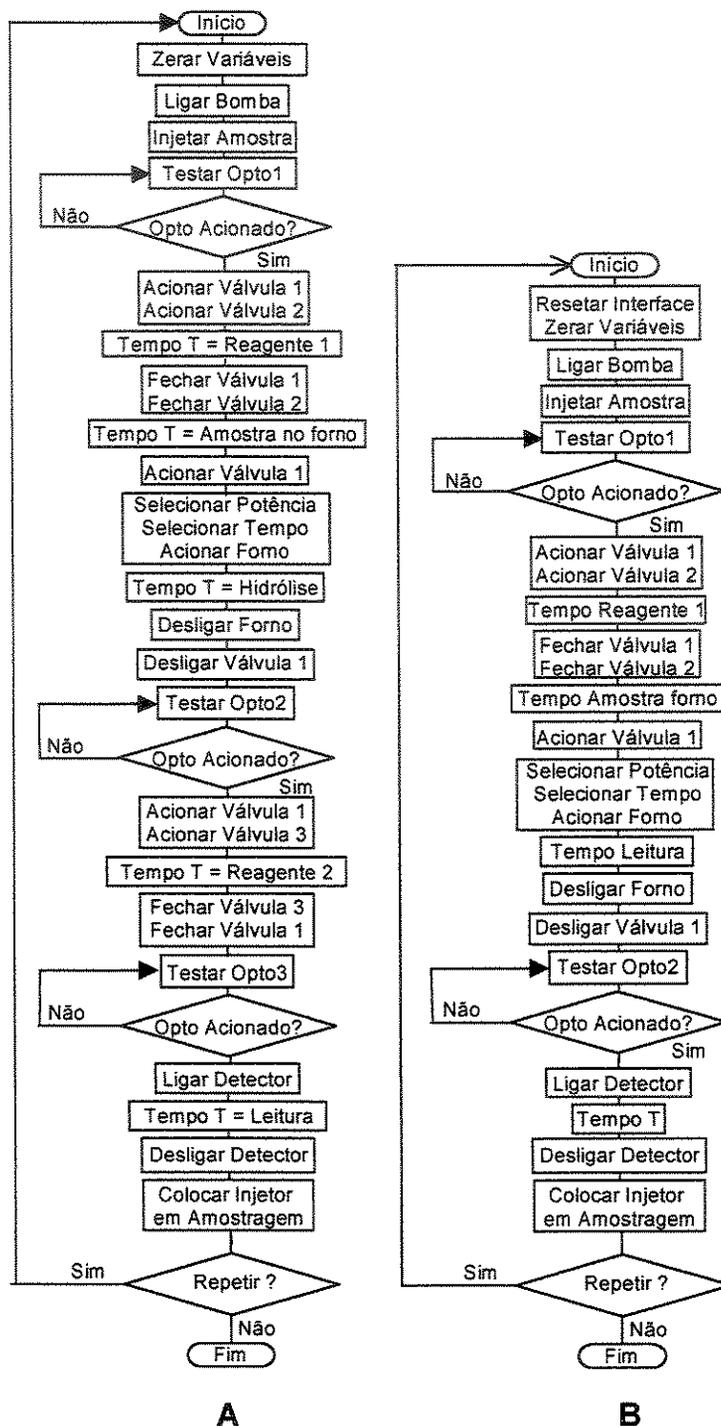


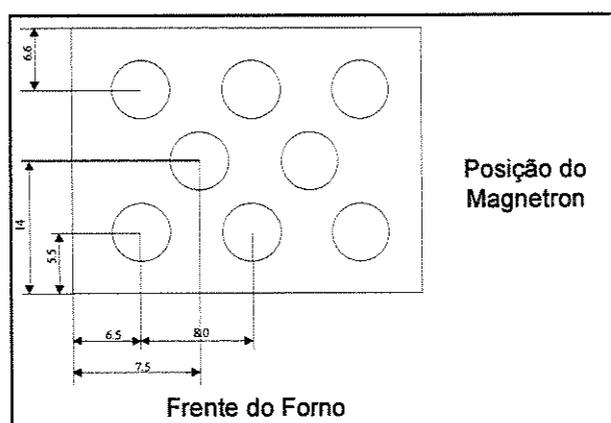
Figura 6.13: Tela principal do programa para controle da instrumentação com suas respectivas funções.



**Figura 6.14:** A) Diagrama de blocos do programa desenvolvido para controle da instrumentação na determinação de AAS; B) Diagrama de blocos do programa para controle da instrumentação na determinação da DQO.

### 6.5) Calibração do Forno de Microondas

A calibração do forno de microondas foi realizada em duas etapas. A primeira etapa consistiu em determinar qual a região do forno em que ocorre maior absorção da energia de microondas[10]. Isso foi feito posicionando-se béqueres com massa conhecida de água (foi utilizado aproximadamente 100 g de água) e deixando o forno ligado por 2 e 3 minutos, medindo-se a variação de massa. A disposição dos béqueres dentro do forno pode ser observada na Figura 6.15.



**Figura 6.15:** Disposição dos béqueres dentro da cavidade do forno de microondas

A segunda etapa consistiu na calibração da potência transferida, colando-se 1000 mL de água em um béquer, medida em balão volumétrico e determinando-se a temperatura inicial. Colocou-se o béquer dentro do forno de microondas, ajustando-o para 100 % de potência e deixando-o ligado por 2 minutos. Após isso mediu-se a temperatura final da água. Realizou-se o procedimento em triplicata para 100 % de potência e efetuou-se o mesmo procedimento para as potências de 80, 60, 40 e 20 %. O forno de microondas utilizado foi um forno doméstico CCE modelo M-17.

## **7. Determinação do Ácido Acetilsalicílico**

### **7.1 Reagentes e soluções**

Para a hidrólise do AAS, preparou-se uma solução estoque de NaOH cuja concentração é  $0,500 \text{ mol.L}^{-1}$ , uma solução estoque de HCl  $1,000 \text{ mol.L}^{-1}$  e uma solução de  $2,0 \text{ g/L}$  de AAS. Preparou-se também uma solução de  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$   $0,01 \text{ mol/L}$  em  $\text{HNO}_3$   $0,4 \text{ mol/L}$ . As soluções foram condicionadas em frascos de polietileno e a solução de NaOH foi padronizada com biftalato de potássio.

### **7.2 Determinação pelo método de referência. Titulação do excesso de NaOH**

A determinação do ácido acetilsalicílico (AAS) através do método de referência da Farmacopéia Brasileira[19] foi feito através da titulação do excesso de hidróxido de sódio que não reagiu com o referido ácido.

No caso, trituraram-se oito comprimidos de aspirina (aproximadamente  $600 \text{ mg}$ ) em um almofariz, homogeneizando-se o pó. Em seguida, pesou-se  $1,5000 \text{ g}$  dessa amostra, transferindo-a para um erlenmeyer de  $250 \text{ mL}$ . Adicionou-se uma alíquota de  $50,00 \text{ mL}$  de uma solução de NaOH de  $0,500 \text{ mol/L}$ . Promoveu-se o aquecimento por  $20$  minutos em chapa de aquecimento, titulando-se em seguida com uma solução de HCl  $1,000 \text{ mol/L}$  utilizando fenolftaleína como indicador. A determinação foi realizada em triplicata sendo que o mesmo procedimento foi realizado para o branco.

Outros seis comprimidos foram pesados e triturados independentemente e, para cada uma dessas amostras, uma massa de  $200 \text{ mg}$  de aspirina foi pesada e transferida para um erlenmeyer. Adicionou-se uma alíquota de  $10,00 \text{ mL}$  de solução de NaOH  $0,5000 \text{ mol/L}$ , deixando-se  $10$  minutos em aquecimento brando sobre uma chapa elétrica e titulou-se o excesso de NaOH

com HCl 1,000 mol/L. Efetuou-se o procedimento em duplicata. Paralelamente efetuou-se um branco nas mesmas condições.

### **7.3 Determinação de AAS espectrofotometricamente utilizando hidrólise por microondas em batelada**

O AAS pode ser determinado espectrofotometricamente através da sua hidrólise em meio alcalino, complexando-se o salicilato formado com íons Fe(III) formando-se uma solução de coloração violeta. Neste procedimento, o aquecimento convencional por chapa elétrica foi substituído por forno de microondas.

#### **7.3.1 Otimização das condições de hidrólise em batelada**

Em um erlenmeyer de 100 mL foram adicionados 10 mL de solução de AAS 0,2 g/L e 10 mL de uma solução de NaOH 0,200 mol/L. Em seguida, o erlenmeyer foi colocado no forno de microondas e este acionado no por um intervalo de tempo e uma determinada potência. Após a hidrólise, adicionou-se 10 mL de uma solução de  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$  0,01 mol/L em  $\text{HNO}_3$  0,4 mol/L, colocando-se a mistura em uma cubeta de 1 cm de caminho óptico, medindo-se a absorvância a 525 nm em um espectrofotômetro Fento 432 devidamente calibrado. Para a escolha do tempo de digestão e da potência mais apropriados, fixou-se a potência do forno em 100 %, e variou-se o tempo de hidrólise entre 20 e 90 segundos. Após isso, fixou-se o tempo em 150 segundos, variando-se a potência do forno em 20, 50 e 70%, monitorando-se a absorvância e a turbulência do aquecimento.

#### **7.3.2 Construção da curva analítica espectrofotométrica em batelada**

Prepararam-se soluções de AAS (P.A) de concentrações entre 0,25 e 1,2 g/L. Efetuou-se a hidrólise em duplicata de cada uma delas como descrito anteriormente (7.3.1) utilizando 320 watts de potência real do forno durante 50 s. Após a hidrólise e adição do reagente contendo  $\text{Fe}^{3+}$ , as absorvâncias

das soluções foram medidas em um espectrofotômetro. A partir dos dados obtidos construiu-se uma curva analítica.

### **7.3.3 Determinação espectrofotométrica de AAS em medicamento utilizando hidrólise por microondas em batelada**

Foram preparadas soluções de concentração 1,00 g/L com as mesmas amostras de aspirinas utilizadas anteriormente. Efetuando-se o mesmo procedimento que 7.3.1, obteve-se a absorbância de cada uma das amostras, calculando-se a quantidade de AAS de na aspirina.

## **7.4 Determinação de AAS utilizando análise por injeção em fluxo monossegmentado acoplado a forno de micro-ondas.**

### **7.4.1 Otimização do sistema em fluxo**

Para a otimização do sistema de fluxo tomou-se uma solução de AAS 1,0 g/L de e uma solução de NaOH 0,2 mol/L, mantendo-se a mesma razão de amostra e reagentes que o procedimento para determinação de AAS em batelada.

Injetaram-se volumes de solução de AAS de 40, 60, 80 e 120  $\mu\text{L}$  entre duas bolhas de ar, de mesmo volume, verificando-se a estabilidade do monossegmento durante todo o percurso de fluxo.

Variou-se também a vazão do fluido carregador entre 0,025 mL/s até 0,060 mL/s.

Após esta etapa otimizou-se a potência do forno fixando-se um tempo de 1 minuto e verificando-se a estabilidade do monossegmento.

### **7.4.2 Otimização do tempo de hidrólise em fluxo**

Fixando-se a potência real do forno de microondas em 320 W, injetou-se um volume de 60  $\mu\text{L}$  de uma solução de AAS de 1,00 g/L entre duas bolhas de ar no sistema de fluxo, misturando-se em seguida no ponto A,

indicado na Figura 6.12, o mesmo volume de uma solução de NaOH 0,2 mol/L. O monossegmento foi bombeado para o interior da cavidade do forno de microondas, onde existe uma bobina de PTFE de 3m de comprimento. O fluxo era interrompido pelo fechamento da válvula 1 (Figura 6.12) e o forno era ativado no intervalo de tempo compreendido entre 20 e 300 s. Passado esse período, a válvula 1 era aberta. Quando o monossegmento alcança o opto 2 (ponto B - Figura 6.12), é injetado um volume de 60  $\mu\text{L}$  de  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$  0,01 mol/L em  $\text{HNO}_3$  0,4 mol/L. Em seguida, o monossegmento passa por uma bobina de 1 m de comprimento, ocorrendo a mistura dos reagentes, sendo posteriormente medida a variação da transmitância ( $\lambda = 525 \text{ nm}$ ) no detector. A vazão do carregador foi de  $3 \text{ mL min}^{-1}$ .

#### **7.4.3 Construção de uma curva analítica de AAS espectrofotométrica em fluxo**

Injetou-se um volume de 60  $\mu\text{L}$  de diferentes concentrações de AAS compreendidas entre 0,50 e 2,00 g/L, no sistema monossegmentado e injetou-se o mesmo volume de uma solução de NaOH 0,2 mol/L. O procedimento é semelhante ao descrito anteriormente, mas fixando-se o tempo de hidrólise em 80 s.

#### **7.4.4 Determinação espectrofotométrica de AAS em medicamento utilizando o sistema de Análise por Injeção em Fluxo Monossegmentado acoplado à forno de microondas.**

Os mesmos comprimidos de aspirina triturados em 7.2 foram utilizados para se preparar soluções de concentração de 1,00 g/L. Essas soluções foram injetadas no sistema de fluxo monossegmentado, procedendo-se a determinação como descrito em 7.4.3.

## **8. Determinação da Demanda Química de Oxigênio**

---

### **8.1 Soluções e reagentes**

Foi preparada uma solução estoque  $5 \times 10^{-2}$  mol/L de dicromato de potássio em ácido sulfúrico 18 mol/L contendo 0,03 mol/L de catalisador  $\text{Ag}_2\text{SO}_4$ .

Preparou-se uma solução de 5,00 g/L de D-glicose e uma solução de 39 g/L de oxalato de sódio. As demais concentrações foram preparadas por diluição da solução estoque utilizando sempre água destilada.

### **8.2 Otimização do sistema**

Injetaram-se volumes de amostra entre 60 e 120  $\mu\text{L}$  injetando o mesmo volume de reagente, verificando-se a estabilidade do monossegmento até a etapa de digestão, e variando-se, também, a vazão do fluido carregador entre 0,025 mL/s e 0,060 mL/s.

Em seguida, injetaram-se diferentes volumes de reagentes para um mesmo volume de solução de glicose, observando a diferença entre o sinal com e sem a etapa de digestão, buscando otimizar a razão amostra/reagente.

Variou-se a posição da injeção do reagente no monossegmento contendo a amostra pela alteração da posição do sensor óptico verificando a eficiência de mistura entre amostra e reagente com base na reprodutibilidade do sinal analítico.

### **8.3 Construção de uma curva analítica para DQO**

A glicose e o oxalato de sódio são substâncias utilizadas como padrão na calibração de sistemas destinados a determinação da DQO. A glicose apresenta um DQO teórico de 1,067 g  $\text{O}_2$ /g glicose, ou seja, para cada grama

de glicose, é necessário o consumo de 1,067 g de oxigênio para total oxidação. Já o oxalato apresenta um DQO teórico de 0,1194 g O<sub>2</sub> / g oxalato de sódio.

Para a construção de uma curva analítica para DQO correspondente, preparou-se soluções com concentração na faixa de 0,25 a 5,00 g/L de glicose correspondendo 500 a 5500 mg O<sub>2</sub> / L, respectivamente. Também prepararam-se soluções de oxalato de sódio com concentração na faixa de 8 a 39 g/L, correspondendo a faixa de 940 a 4700 mg/L O<sub>2</sub>.

O oxidante utilizado para DQO foi preparado a partir de uma solução de dicromato de potássio  $5 \times 10^{-2}$  mol/L em ácido sulfúrico 18 mol/L e 0,002 mol do catalisador Ag<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> para cada 25 mL de solução de dicromato preparada.

Um volume de 60 µL de cada solução de glicose foi injetada em um monossegmento e um mesmo volume de reagente foi misturado ao monossegmento no ponto A da Figura 6.12. A amostra percorreu o sistema até a cavidade do forno onde este foi acionado por 40 segundos em potência máxima. Repetiu-se a determinação em triplicada.

Para a solução de oxalato, construiu-se a curva utilizando-se um volume de amostra de 300 µL e um volume de reagente de 30 µL. O tempo utilizado de digestão foi de 60 s. Repetiu-se o procedimento em triplicata para todas as soluções de oxalato.

#### **8.4 Determinação de DQO em amostras de efluentes**

Amostras de efluentes de esgoto doméstico e industrial foram injetadas diretamente após sua devida diluição, de tal forma que a quantidade de oxigênio a ser determinado estivesse dentro da curva de calibração. O volume utilizado da amostra no monossegmento foi de 60 µL e de reagente também 60 µL. As determinações foram realizadas em triplicata e comparadas ao método de referência [27,28].

## 9. Resultados e Discussão

### 9.1 Calibração do Forno de Microondas

A equação básica para a medida de potência em um forno de microondas pode ser obtida em função do calor específico, a pressão constante, de uma massa de água conhecida. A energia absorvida está relacionada com o tempo, a variação de temperatura, o calor específico e a massa através da equação [4]:

$$\text{Potência} / W = \frac{C_p \cdot m \cdot \Delta T}{t}$$

Onde :  $C_p$  = calor específico da água ( $4,184 \times 10^{-3} \text{ J kg}^{-1} \text{ K}^{-1}$ )

$m$  = massa de água

$\Delta T$  =  $T_{\text{final}} - T_{\text{inicial}}$

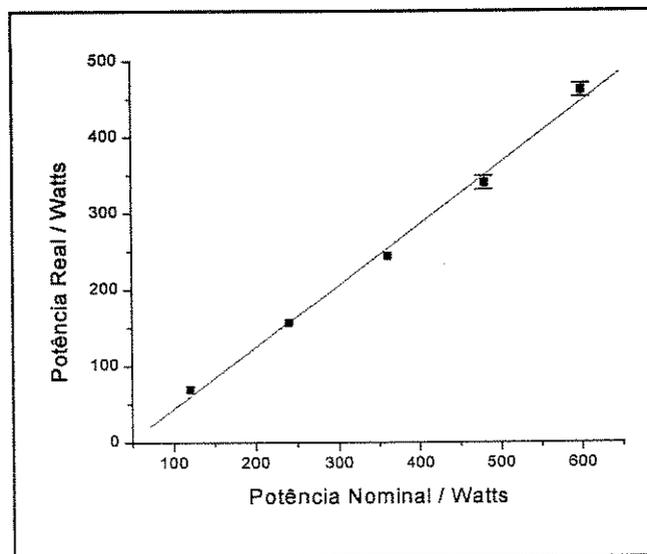
$t$  = tempo de aquecimento

Na Tabela 9.1 pode-se observar a variação de temperatura da água para o aquecimento em diversas potências do forno de microondas para um volume de 1000 mL de água.

Potência Nominal (%)	$\Delta T$ (°C)
100	13,3
80	9,5
60	7,0
40	4,5
20	2,0

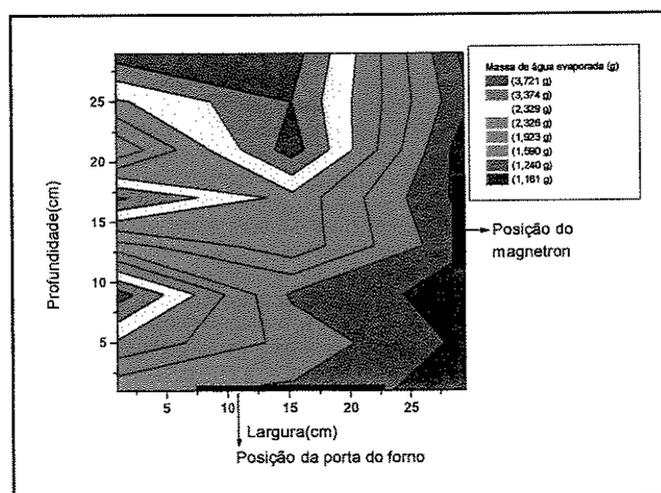
**Tabela 9.1:** Variação da temperatura da água para diferentes potências do forno de microondas.

O gráfico da *potência real* e a *potência nominal* obtida para o forno pode ser visualizado na Figura 9.1. Pode-se observar que, para uma potência nominal de 600 watts, foi encontrado um valor real de 460 W, o que representa uma diferença de 23% daquela indicada pelo fabricante.



**Figura 9.1:** Gráfico de potência real em função da potência nominal  
 ( $Potência\ Nominal = 0,00614 + 1,55 \times Potência\ Real$ )

Medindo-se a variação da quantidade de água evaporada, verificou-se que a região esquerda superior, representando a parte do fundo a esquerda da cavidade do forno é a região que apresenta maior absorção de radiação. Isso pode ser facilmente observado na Figura 9.2, que representa a perda de água por evaporação. Assim, observa-se que a energia de microonda não é distribuída de forma uniforme na cavidade do forno e que o aquecimento é influenciado pela posição da amostra no interior do forno.



**Figura 9.2:** Regiões de maior e menor evaporação de água no interior da cavidade do forno de microondas.

## 9.2 Determinação de Ácido Acetilsalicílico

### 9.2.1) Análise de AAS pelo método de referência. Titulação do excesso de NaOH

A Figura 9.3 mostra a equação química (A) da hidrólise do ácido acetilsalicílico, onde 1 mol de ácido acetilsalicílico é hidrolisado por 2 mols de hidróxido de sódio. O método de referência [22] baseia-se na determinação indireta de AAS através de titulação do excesso de NaOH não consumido. Este método, apesar de simples, apresenta o inconveniente de fornecer o primeiro resultado após aproximadamente 35 min, uma vez que o tempo necessário para etapa de hidrólise é de 30 minutos.

### 9.2.2) Análise de AAS utilizando hidrólise por microondas e detecção espectrofotométrica em batelada

Para a quantificação de AAS fez-se a detecção espectrofotométrica da quantidade de salicilato formado através da reação de hidrólise (9.3 A) e sua posterior complexação com o íon Fe(III) (9.3 B). O complexo apresenta uma coloração violeta escura, tendo máximo de absorção a 525 nm [19].

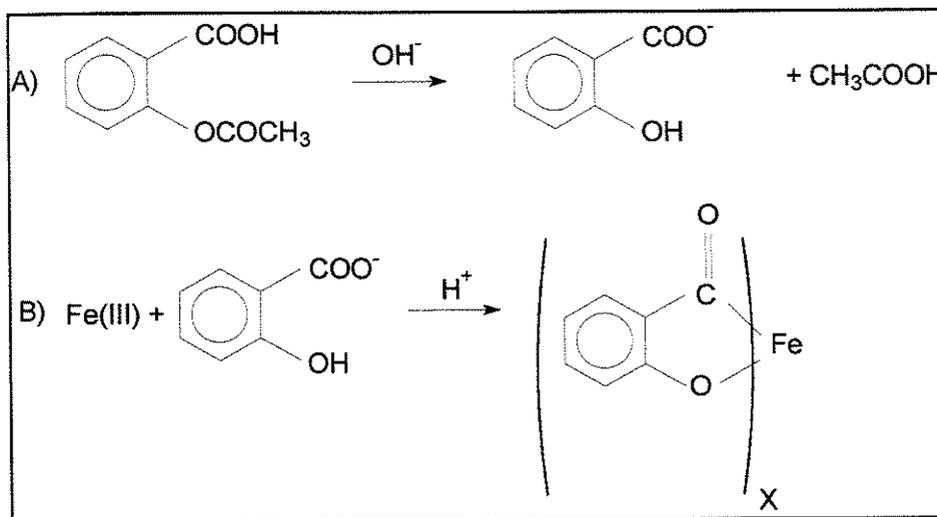
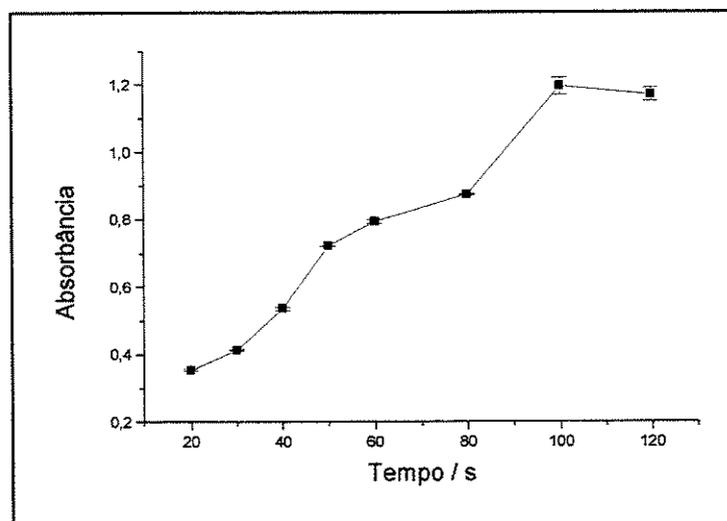


Figura 9.3: Reação de hidrólise do AAS (A) seguido da complexação do ânion salicilato com ferro (III) (B)

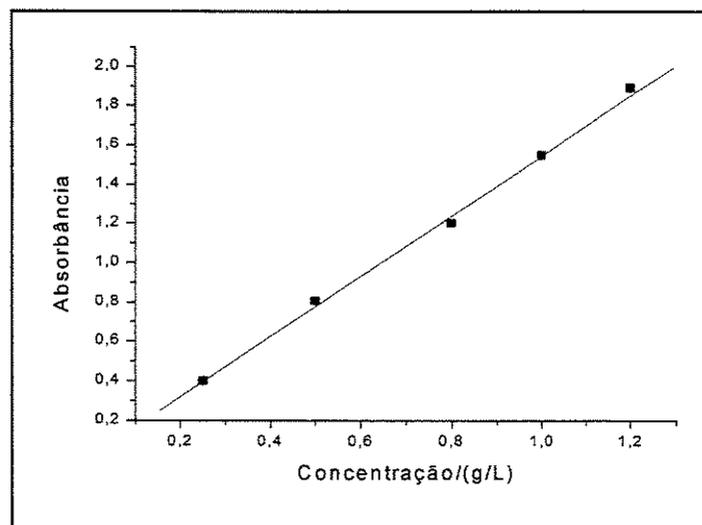
As condições mais apropriadas para a hidrólise do AAS foram encontradas fixando-se a potência do forno e variando-se o tempo de hidrólise e fixando o tempo e variando a potência do forno. A otimização destes parâmetros foi baseada no valor da absorbância encontrada após a etapa de complexação com Fe (III). Também foi considerado neste estudo o fato do aquecimento não ser violento, de tal forma a evitar perda de material devido a uma ebulição muito vigorosa.

Utilizando a potência máxima do forno, a mistura reacional entrava em violento aquecimento após 50 s, ocorrendo perda de material. As melhores condições para a hidrólise foram obtidas fixando a potência do forno em 320 watts e utilizando um tempo de aquecimento de 100 segundos (Figura 9.4), pois conseguiu-se um máximo da absorção, sem um aquecimento violento. Resultados semelhantes foram obtidos para as outras potências, mas utilizando um tempo de aquecimento superior,



**Figura 9.4:** Variação da absorbância em função do tempo de aquecimento no forno de microondas utilizando 320 Watts de potência.

Escolhida as condições de hidrólise, construiu-se uma curva analítica (Figura 9.5) relacionando a absorção do complexo formado com as concentrações de AAS.



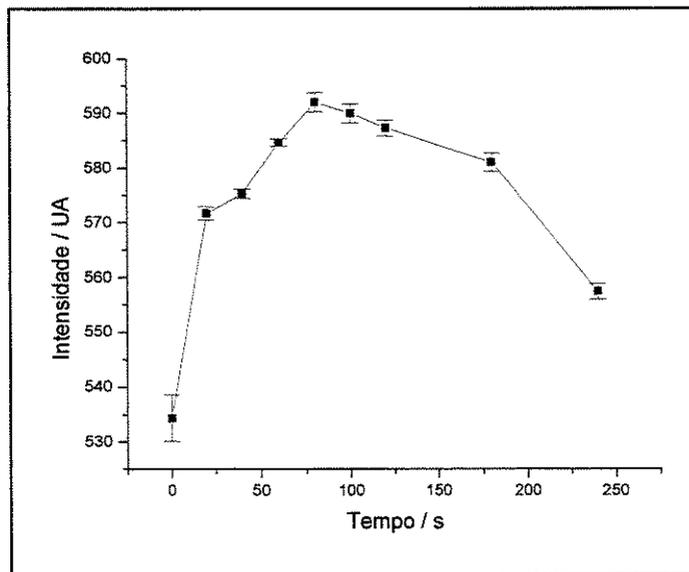
**Figura 9.5:** Curva analítica de AAS utilizando hidrólise com forno de microondas e posterior complexação do salicilato com Fe III em batelada. Absorbância =  $(0,006 \pm 0,03) + (1,55 \pm 0,04) \times \text{Concentração}/(\text{g/L})$  Coeficiente de Correlação (R) = 0,998

Com a curva analítica construída, efetuou-se a determinação de AAS de uma amostra de aspirina em aproximadamente 5 minutos, sendo obtida uma faixa de linearidade de resposta entre concentrações de 0,25 a 1,20 g/L de AAS.

### 9.2.3) Determinação de AAS utilizando hidrólise por microondas no sistema de fluxo.[13]

#### **9.2.3.1) Otimização do tempo de hidrólise**

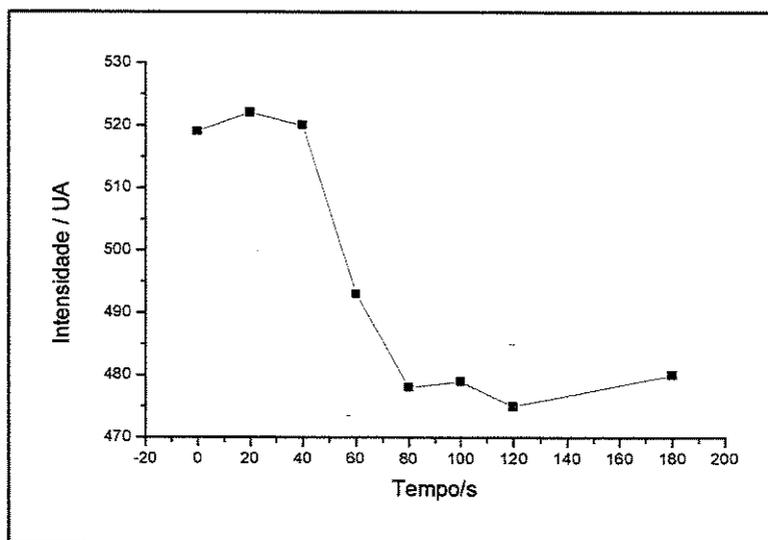
Para a otimização do tempo de hidrólise, fixou-se a potência real do forno de microondas em 320 watts, e injetou-se no sistema amostras de concentração de 2,0 g/L de AAS, variando-se o tempo de hidrólise. A curva obtida pode ser observada na Figura 9.6.



**Figura 9.6:** Transmitância do complexo Fe-salicilato em função do tempo de digestão

Fazendo-se apenas a mistura da amostra e reagente, não existe uma hidrólise completa, sendo que a eficiência da reação fica em torno 55 a 65%. Este valor é representado na figura pelo tempo zero de digestão. Assim, a eficiência de hidrólise para o sistema de fluxo sem aquecimento deve ficar em torno de 50%, entretanto, não é possível utilizar este valor e posteriormente efetuar uma correção pois, neste caso, a precisão é inferior a 15%. Com o aumento do tempo de exposição da radiação de microondas, observou-se (Figura 9.6) um aumento do sinal analítico devido à maior concentração do complexo salicilato-FeIII. Observa-se que a melhor eficiência da hidrólise ocorreu a um tempo de 80s, onde se obteve praticamente 100% de conversão de AAS para salicilato. A eficiência da reação é calculada passando-se os dados obtidos para absorção e correlacionando com a absorvidade molar encontrada pelo método em batelada. Com esses dados, determinou-se a quantidade de AAS que não hidrolisou e calculou-se a eficiência da reação. Pode-se observar também, que após esse tempo o sinal analítico diminui gradativamente, possivelmente por alguma decomposição do salicilato formado, diminuindo, assim, a concentração do complexo de ferro. Para

comprovar este fato, foi realizado o mesmo estudo, mas ao invés de se utilizar AAS, utilizou-se uma solução 2 g/L de salicilato de sódio. O comportamento do salicilato de sódio em função do tempo dentro do forno, pode ser observado na Figura 9.7.

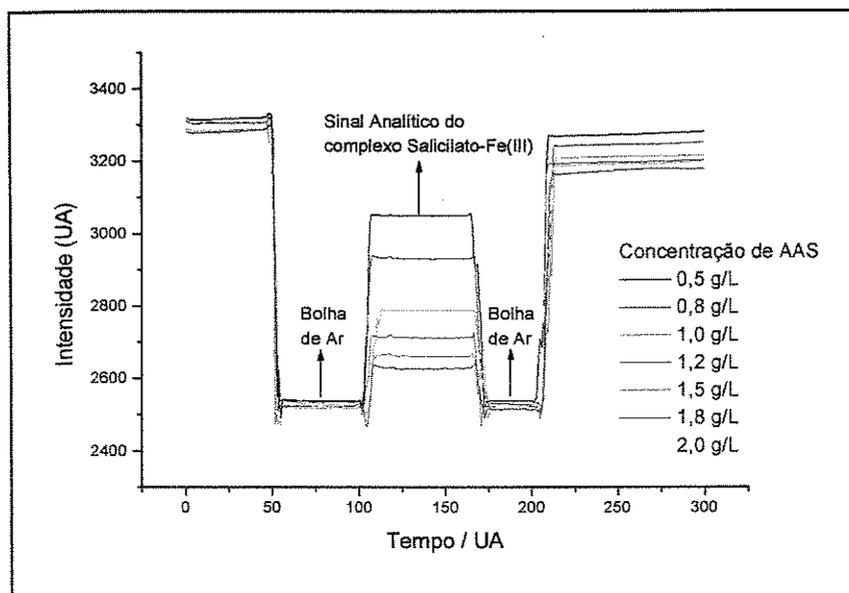


**Figura 9.7:** Comportamento do salicilato de sódio com a variação do tempo de digestão no forno de Microondas

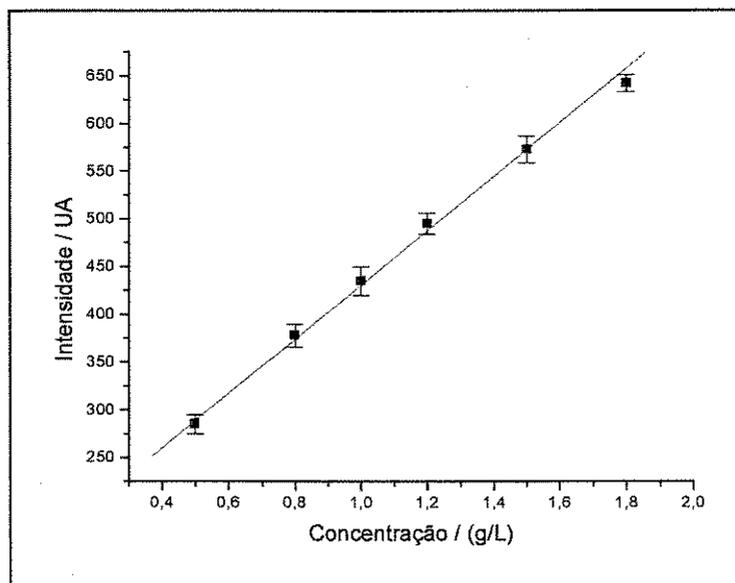
Pode-se observar pela Figura 9.7 que após um período de 60 segundos de aquecimento no forno, o sinal analítico começa a diminuir, possivelmente devido a uma degradação do salicilato por alguma reação secundária. A diferença do tempo observado para o início do decaimento do sinal para o salicilato (40 s) e para o AAS (80 s) deve estar relacionada com o mecanismo da reação, pois no caso do AAS, primeiro ocorre a hidrólise deste formando salicilato que posteriormente começa a se decompor. No caso da exposição direta do salicilato, este já se decompõe mais rapidamente.

Fixando o tempo de hidrólise do AAS em 80 segundos, que foi o tempo obtido para a melhor eficiência da hidrólise sem que ocorra a degradação do salicilato, construiu-se uma curva analítica. Variou-se a concentração da solução de AAS e mediu-se a variação de transmitância da mistura em função do branco.

Construiu-se uma curva analítica de AAS, utilizando-se o forno de microondas para sua hidrólise, como descrito em 7.4.3. Na Figura 9.8, pode-se observar o comportamento do sinal analítico em fluxo conforme a variação de concentração e, na Figura 9.9, é mostrada a curva analítica obtida.



**Figura 9.8:** Comportamento do sinal do complexo salicilato-Fe(III) para diversas concentrações de AAS



**Figura 9.9 :** Curva analítica de AAS empregando-se o sistema por fluxo monossegmentado.

$$\text{Intensidade (UA)} = (147 \pm 21) + (284 \pm 17) \times \text{Concentração (g/L)}$$

$$\text{Coeficiente de correlação} = 0,998$$

### 9.2.3.2) Quantificação de AAS em aspirina

Com base na curva analítica construída, fez-se a determinação da concentração de AAS em amostras de aspirina comparando os resultados com o método de referência e método em batelada com hidrólise assistida pelo forno de microondas. A comparação dos dados pode ser observada na Tabela 9.2 os quais representam a porcentagem em massa de AAS encontrada nos comprimidos pelos 3 diferentes métodos.

**Tabela 9.2:** Comparação da dosagem de AAS obtida pelos métodos padrão (titulação), espectrofotométrico em batelada e Análise por Injeção em Fluxo Monossegmentado assistido por Microonda.

Amostra	Método de referência (titulação) (%)*	Método Espectrofotométrico (%)**	Método Fluxo (%)**	Erro <sup>1</sup> (%)	Erro <sup>2</sup> (%)***
1	82,0±0,9	80,3±0,9	82±2	0,0	2,1
2	80,0±0,0	83,5±0,2	85±2	6,2	4,3
3	84,9±1,0	85,2±0,2	87±1	2,4	0,3
4	82,1±0,9	83,1±0,5	85±1	3,5	1,2
5	81,0±0,0	84,1±0,5	84±2	3,7	3,8
6	83,0±0,0	86,5±0,6	84±2	1,2	4,2
7	85,0±0,0	86,1±1,1	87±2	2,3	1,3

\*média de 2 determinações

\*\*média de 3 determinações

1.erro entre o método espectrofotométrico em batelada e o método de referência

2.erro entre o método de referência e o método em fluxo

Isso é confirmado realizando um teste  $F$  para comparar as variâncias do método de referência com o método de fluxo, não existindo uma diferença significativa entre a variância dos dois métodos considerando um nível de 5% de probabilidade. Desta forma, os métodos estão coerentes entre si.[43]

Comparando-se os resultados obtidos através de um teste  $t$  entre o método de referência da Farmacopéia Brasileira e o método desenvolvido,

verifica-se que com 95 % de confiança, os dados não foram significativamente diferentes entre si.

Pode-se observar que para os métodos espectrofotométricos, tanto em batelada como em fluxo, apresentam uma tendência em apresentar um valor mais alto em relação ao método de referência. O motivo deste resultado não foi determinado e este fato precisa de um estudo mais detalhado.

### 9.3 Determinação da Demanda Química de Oxigênio em Amostras de Efluentes

A demanda química de oxigênio (DQO) indica a massa de oxigênio que poderia ser consumida por meio de reações químicas de oxidação dos diversos compostos orgânicos presentes, sem a intervenção de microorganismos, indicando de maneira indireta a quantidade de matéria orgânica presente na água.

A determinação da DQO de uma amostra é feita através da oxidação de sua matéria orgânica em meio fortemente ácido e na presença de um catalisador. Como agente oxidante é utilizado o dicromato de potássio que apresenta uma coloração alaranjada, e como catalisador íons  $\text{Ag}^+$ . Também pode ser utilizado íons  $\text{Hg}^{2+}$ . Após a oxidação, o Cr(VI) é reduzida para Cr(III), de coloração verde. Monitorando-se no comprimento de onda de 445 nm, máxima absorção do dicromato, pode-se determinar espectrofotometricamente a quantidade de Cr (VI) consumido e relacionar com a quantidade de oxigênio necessário para oxidar a matéria orgânica da amostra. Pode-se exemplificar esta reação considerando-se a glicose como única substância presente no meio.



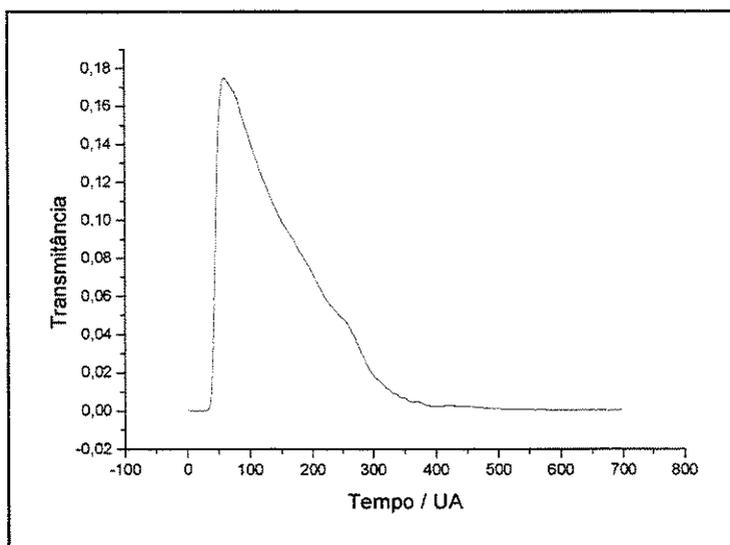
Foi testada a possibilidade de aplicação da instrumentação desenvolvida na determinação da DQO de amostras de efluentes industriais e domésticos. Para isso, foram necessários algumas modificações no sistema utilizado para a determinação de AAS. Assim, foi retirado o segundo ponto de injeção de reagente, uma vez que neste caso não ocorre uma segunda etapa de reação. Além disso, devido ao baixo coeficiente de absorvidade molar do Cr IV foi necessário o aumento do caminho óptico, substituindo-se a cela espectrofotométrica utilizada anteriormente (8mm de caminho óptico) por uma cela em forma de U com um caminho óptico de 19 mm, aumentando a sensibilidade do sistema.

Finalmente, a determinação do valor de DQO necessita de um aquecimento maior que para a hidrólise de AAS. Assim, foi necessário o uso do forno em sua potência máxima e por um tempo maior.

Essa digestão causou a formação de gases no interior do monossegmento ocorrendo uma multissegmentação do mesmo. Este fato impedia uma homogeneização da mistura reacional antes de alcançar o detector e conseqüentemente a precisão das medidas era muito baixa. Na tentativa de melhorar a precisão do sistema, foi adaptado antes do detector uma cela de permeação de Teflon® [44-46], como o objetivo de remover as bolhas de ar e reconstituir o monossegmento original (amostra+reagente).

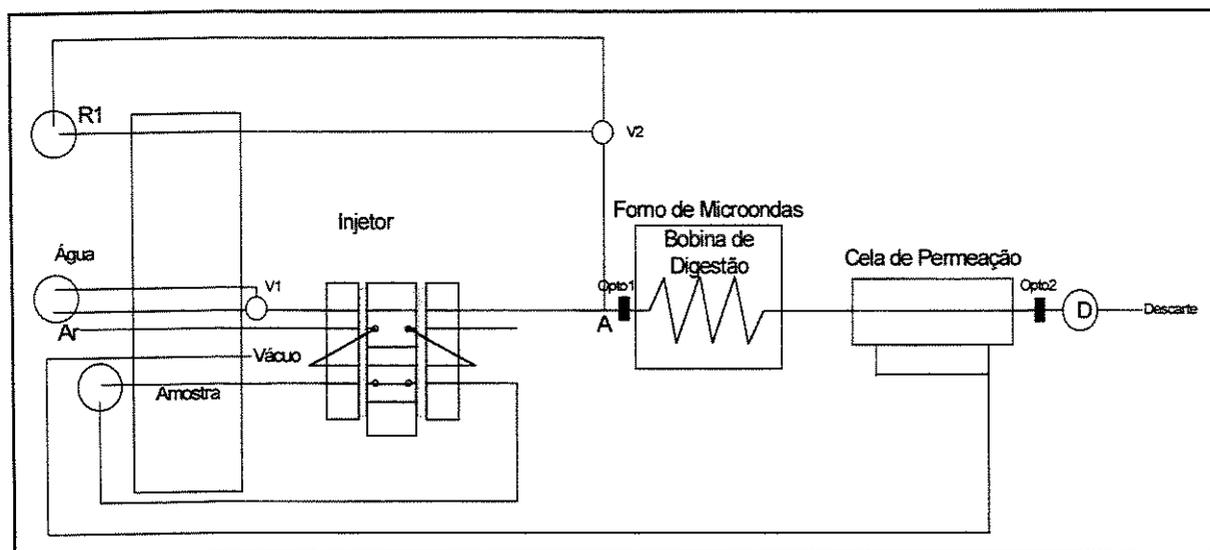
Mesmo conseguindo a total remoção das bolhas de ar a precisão observada ainda era baixa.

Este fato está relacionado com a multissegmentação, que ocorria de forma aleatória, na mistura reacional dentro da cavidade do forno em virtude da etapa de digestão. Isso não permitia uma correlação direta da concentração de Cr(VI) com a altura do pico. Assim, a forma mais apropriada para quantificação medida do sinal analítico, foi integrar todo o sinal transiente do pico resultante da passagem da mistura reacional pelo detector. (Figura 9.10). Desta forma, obteve-se uma melhor precisão das medidas.



**Figura 9.10:** Comportamento do sinal para determinação da DQO

O sistema final utilizado para a determinação de DQO se caracteriza inicialmente por um sistema MSFA e, na sua última etapa, após a remoção das bolhas de ar, como sendo um sistema FIA. (Figura 9.11).



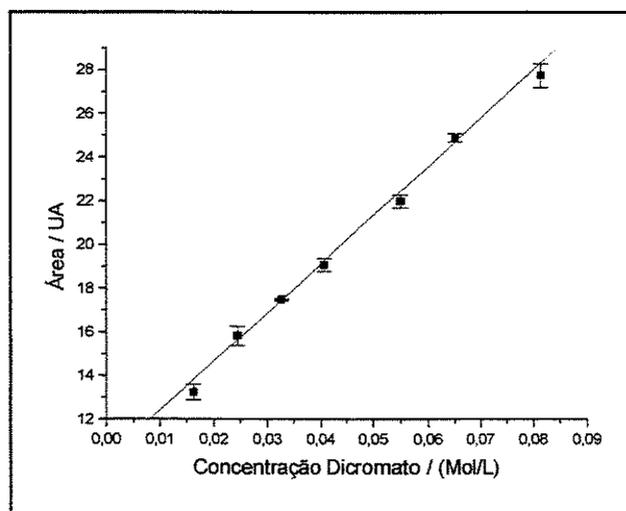
**Figura 9.11 :** Sistema de Injeção em Fluxo Monossegmentado utilizado para determinação da DQO

O reagente R1 é uma solução de dicromato de potássio em meio de ácido sulfúrico, com sulfato de prata como catalisador.

Um volume de 60  $\mu\text{L}$  de amostra é injetado no sistema de fluxo. A amostra percorre o tubo até atingir o ponto A, onde um opto 1 detecta a primeira bolha de ar e aciona a válvula V1 e V2, simultaneamente. Desta forma o fluxo do carregador é interrompido, sendo adicionado um volume de 60  $\mu\text{L}$  da solução de dicromato no monossegmento. O fluxo é reestabelecido (acionando V1 e V2), até o monossegmento atingir a cavidade do forno de microondas onde é novamente interrompido por V1. O forno é acionado por um período preestabelecido de tempo e então o fluxo é outra vez restabelecido. A amostra passa por uma cela de permeação para a remoção das bolhas de ar e/ou gás, formadas na etapa de digestão e, em seguida, passa pelo detector fotométrico, registrando o sinal analítico a 445 nm, correspondente à quantidade de dicromato que não reagiu.

### 9.3.1) Sensibilidade de resposta do detector variando-se a concentração de dicromato.

Preparou-se soluções com diversas concentrações de dicromato de potássio em meio ácido, para verificar a faixa de linearidade de resposta do detector. A variação de sinal obtido pode ser observado na Figura 9.12.



**Figura 9.12:** Variação do sinal integrado em função da concentração de dicromato em meio ácido, onde a área é expressa por unidades arbitrárias (UA)

Observando-se o comportamento do sinal, optou-se em trabalhar com uma concentração de 0,0814 mol/L de dicromato de potássio em ácido sulfúrico na solução oxidante. A partir desta concentração o  $K_2Cr_2O_7$  não se solubiliza mais na mistura ácida.

### 9.3.2) Otimização do tempo de digestão

Para a otimização do tempo de digestão, fixou-se a concentração de solução de glicose em 5 g/L, o volume injetado de amostra e do reagente em 60  $\mu$ L e utilizou-se a solução de dicromato de 0,0814 mol/L. Verificou-se a variação da área integrada em função do tempo de digestão (triplicata). A curva obtida pode ser observada na Figura 9.13.

Para a solução de oxalato de sódio, fixou-se o volume de amostra injetada em 300  $\mu$ L e injetou-se um volume de 30  $\mu$ L de reagente. A concentração da solução de oxalato de sódio utilizada foi de 39,0 g/L. Utilizou-se o mesmo procedimento descrito anteriormente para a solução de glicose (Figura 9.14).

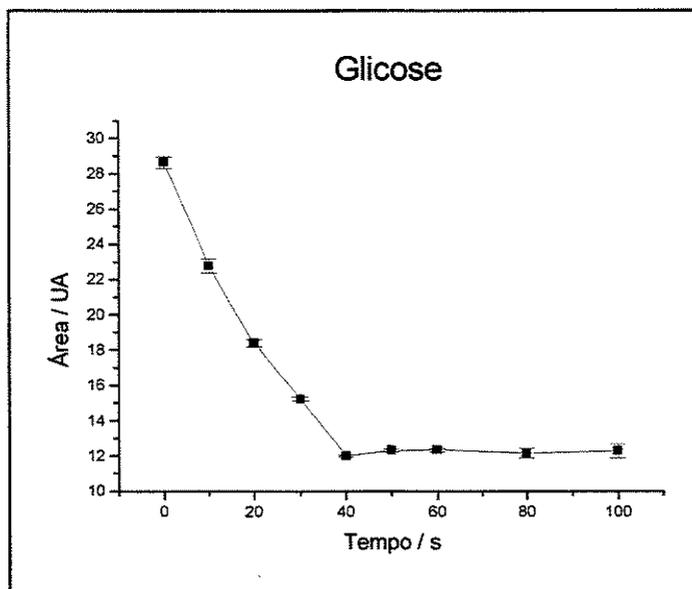
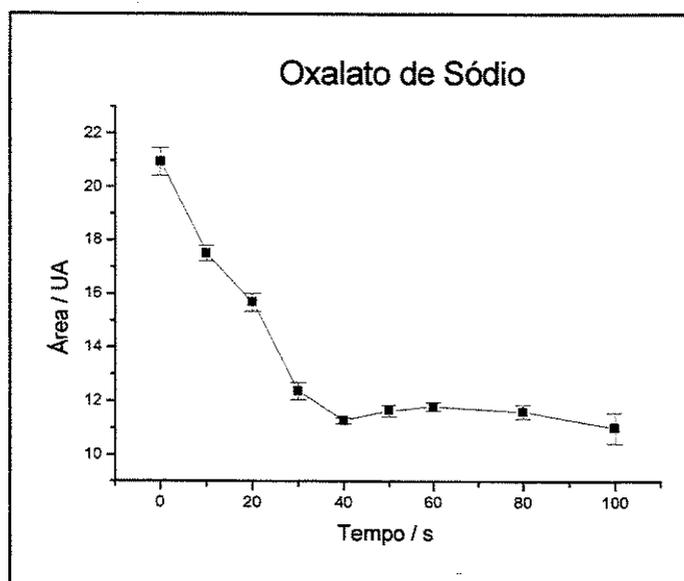


Figura 9.13: Variação do sinal integrado (área) em função do tempo de digestão para glicose

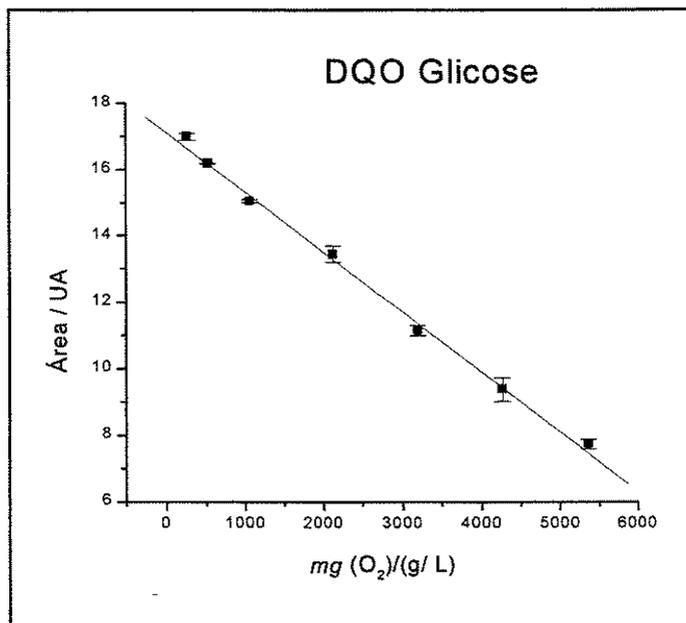


**Figura 9.14:** Variação do sinal integrado (área) em função do tempo de digestão para oxalato de sódio

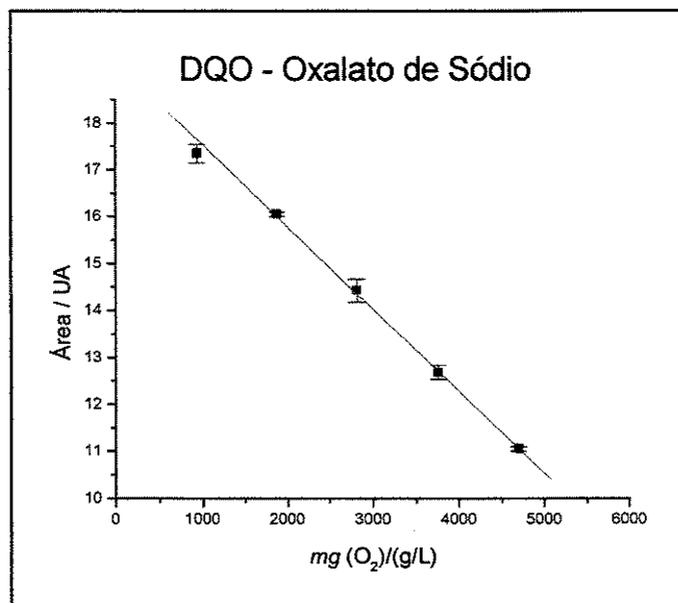
Observando-se os gráficos obtidos, tanto para a glicose como para o oxalato de sódio, concluiu-se que o melhor tempo de digestão encontrado foi de 40 s.

### **9.3.3) Construção de uma curva analítica de calibração**

Após a otimização do sistema, construíram-se duas curvas analíticas, uma utilizando solução de glicose e outra com oxalato de sódio. Essas soluções são utilizadas como soluções-padrão empregadas para DQO e, portanto, foram empregadas na determinação de DQO nas amostras reais. Ambas as curvas foram construídas utilizando-se tempo de digestão de 40 s. Para a curva de glicose (Figura 9.15), injetaram-se 60  $\mu\text{L}$  de amostra e 60  $\mu\text{L}$  de reagente. Para a construção da curva de oxalato de sódio (Figura 9.16), injetaram-se 300  $\mu\text{L}$  de amostra e 30  $\mu\text{L}$  de reagente.



**Figura 9.15:** Curva analítica para DQO empregando Glicose como solução padrão. ( $\text{Área} = 17,1 \pm 0,05 - 0,0018 \pm 6,0 \times 10^{-5} \times \text{massa}(\text{mg/L O}_2)$ )



**Figura 9.16:** Curva analítica para DQO empregando Oxalato de Sódio como solução padrão. Oxalato de sódio: ( $\text{Área} = 19,1 \pm 0,15 - 0,0017 \pm 5 \times 10^{-5} \text{ massa}(\text{mg/L O}_2)$ )

### 9.3.4) Análise de amostras

Para a análise das amostras foi utilizada a curva analítica construída a partir da glicose (Figura 9.14). Se a curva empregada fosse a de oxalato de sódio, resultados semelhantes foram obtidos.

Foram analisadas amostras de efluentes da estação de tratamento de esgotos da cidade de Limeira e de efluente industrial da Cianamid. A análise da DQO pelo método de referência nas amostras fornecidas foram realizadas no laboratório da Engenharia Civil-UNICAMP.

**Tabela 9.3:** Comparação dos Resultados entre o método de referência e o método por Fluxo Monossegmentado para o teor de DQO nas amostras

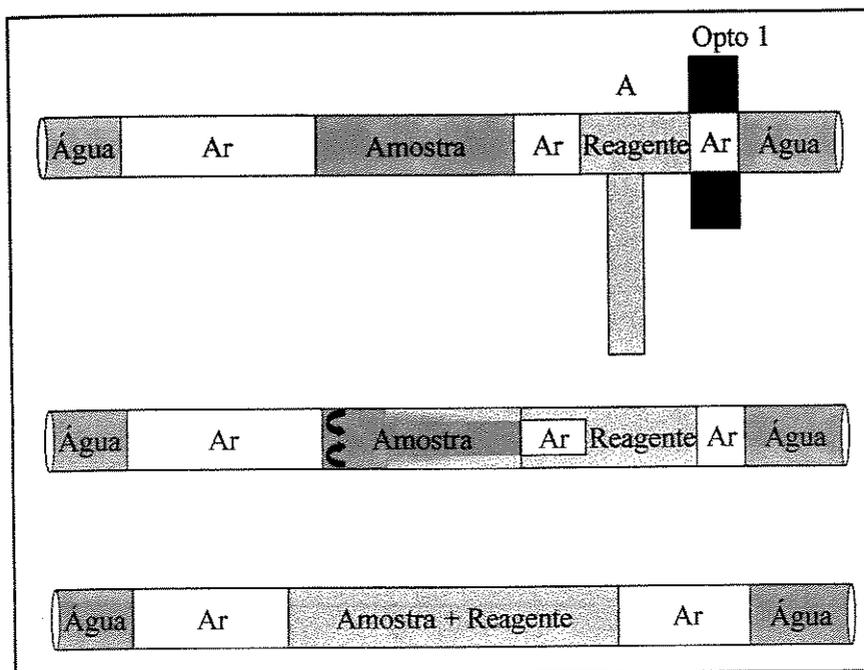
Amostra	DQO (padrão) mg O <sub>2</sub> /L	DQO (fluxo) mg O <sub>2</sub> /L *	Erro%
ETE Limeira (entrada)	1523	1482±4	3
ETE Limeira (compartimento 1)	561	543±5	3
ETE Limeira (compartimento 2)	445	438±4	2
ETE Limeira (estágio Final)	300	288±7	4
Cianamid 1	33320	32500±9	2
Cianamid 2	161700	159907±8	1

\* média correspondente a triplicata

Observa-se que a técnica apresenta uma boa concordância quando se comparam os resultados do método proposto com os valores obtidos pelo método de referência, podendo ser aplicada para uma ampla faixa de DQO desde 250 mgO<sub>2</sub>/L até 5000 mgO<sub>2</sub>/L, sendo 250 mg/L O<sub>2</sub> o limite de detecção.

Entre os fatores otimizados está a posição de injeção do reagente, para garantir uma boa mistura entre este e a amostra. A posição encontrada que garantiu a melhor eficiência de mistura foi obtida pela injeção do reagente 2 cm antes da amostra, ou seja no meio da primeira bolha de ar, como mostra a Figura 9.17. A homogeneização da amostra e reagente é facilitada por um filme de ácido sulfúrico formado nas paredes do tubo. Esse filme permitiu que ocorresse uma mistura mais eficiente entre a amostra e o

reagente, garantindo uma ótima homogeneização até a chegada da mistura na cavidade do forno.



**Figura 9.17:** Homogeneização da amostra com o Reagente

Outro fator importante, que teve de ser otimizado para garantir uma melhor precisão nos resultados, foi a saturação da cavidade do forno de microondas com vapor de água. Para isso, deixou-se um erlenmeyer de 250 mL com 100 mL de água, continuamente alimentado com uma vazão próxima à taxa de evaporação. Dessa maneira, o volume de água contido neste frasco se mantinha constante e a cavidade do forno saturada de vapor, melhorando a absorção da energia de microondas pela amostra e reagente [20]. Dentro do erlenmeyer foram adicionados pedaços de porcelana porosa para evitar superaquecimento localizado.

## 10. Conclusões

---

Ao sistema de fluxo monossegmentado foi acoplado um forno de microondas caseiro. O equipamento foi construído visando a um máximo de mecanização, onde após a etapa de digestão, a mistura foi conduzida diretamente ao detector, evitando sua manipulação pelo analista.

O sistema está limitado à utilização de amostras líquidas, sendo necessário, conforme a amostra, uma diluição ou uma filtração para evitar que partículas sólidas possam entupir o sistema de fluxo.

A determinação do teor de AAS em comprimidos de aspirina, utilizando a instrumentação desenvolvida, apresentou um erro percentual máximo de 6% quando comparado ao método padrão. Não existe uma multissegmentação do monossegmento quando se utiliza uma baixa potência do forno e pode-se aplicar um período mais prolongado de radiação em amostras que necessitam de aquecimento mais brando. A técnica possibilita uma taxa de amostragem de 12 amostras por hora.

O uso de energia da radiação microondas para a determinação da DQO de amostras de água mostrou-se um método promissor, quando comparada com o método de referência, principalmente na economia de reagentes e de tempo. Uma determinação pelo método padrão consome 3 horas de refluxo, enquanto que utilizando a energia de microondas essa mesma determinação consome apenas 5 minutos, sendo possível uma frequência analítica de 12 amostras/hora. A mistura do reagente com a amostra é facilitada pela formação de um filme de reagente nas paredes do tubo. Essa etapa conduz a uma melhor homogeneização entre o reagente e amostra, sendo fundamental para garantir uma boa exatidão e precisão na determinação do teor de DQO. O maior erro percentual encontrado para amostras reais foi de 4%.

Durante a etapa de digestão na determinação de DQO, existe uma multissegmentação aleatória do monossegmento da amostra dentro da bobina de digestão sendo necessária a utilização de uma cela de permeação para a retirada das bolhas de gás. Isso impediu que fosse utilizada a altura do pico

do sinal analítico obtido para a determinação do teor da DQO devido a uma dispersão heterogênea da mistura reacional. Foi então necessário integrar o sinal para obter melhor precisão nas medidas.

Os principais problemas encontrados na construção e uso da instrumentação estão relacionados no tempo necessário para a otimização do sistema. Essa otimização buscou encontrar a melhor relação entre concentração dos reagentes e amostra, volume injetado, melhor sensibilidade do detector, vazão, tempo de aquecimento (forno de microondas), adaptação do programa de controle, entre outros.

A instrumentação se mostrou apropriada para determinação em fluxo, principalmente nos casos onde uma exatidão muito grande não é exigida em detrimento do tempo de análise.

A principal vantagem do emprego da radiação de microondas está na diminuição do tempo de aquecimento, possibilitando que determinações que consomem muito tempo para serem concretizadas possam ser efetuadas em poucos minutos. Além dessa vantagem, o sistema pode ser adaptado ao um sistema FIA e ser totalmente automatizado, permitindo o monitoramento “on-line” de espécies presentes em amostras de água, efluentes industriais e fármacos.

Os métodos de determinação de diversos princípios ativos em fármacos necessitam de uma etapa de hidrólise a quente, catalisadas por meio ácido ou básico, para que possam ser quantificados. Entre eles pode-se citar as penicilinas, pilocarpina, procaína e atropina. Alguns desses métodos podem ser adaptados ao sistema, de forma que a hidrólise possa ser efetuada no forno de microondas e as espécies de interesse sejam determinadas em linha através da detecção espectrofotométrica [20].

Alguns Laboratórios industriais precisam de um método robusto e rápido para análise rotineira de águas e efluentes. Além da DQO, outros parâmetros importantes também precisam ser determinados, como alguns metais, nitrogênio total e fósforo total.

No caso da determinação de alguns metais, a presença de ácidos húmicos e fúlvicos pode interferir na determinação. Através do uso do aquecimento por microondas, essa matriz orgânica é destruída permitindo que eles sejam analisados.

O sistema poderia ser adaptado para realizar a determinação simultânea destes parâmetros (Fe, Mn, Co, Pb, amônia, fosfato), proporcionando uma instrumentação automatizada que pudesse fornecer de uma forma robusta e principalmente rápida uma série de informações sobre amostras de água e efluentes.

Outra adaptação para estudos futuros seria o emprego do sistema para amostras sólidas, onde a amostra pudesse ser diretamente introduzida no sistema, e a instrumentação se encarregasse de preparar uma suspensão ("slurry"), transportá-la para o interior do forno de microondas, e após o término da digestão, seguisse diretamente para a unidade de detecção, constituindo uma instrumentação totalmente mecanizada ou automatizada.

## 11. Referências Bibliográficas

---

1. Skoog, D. A. ; Leary, J. J.; *Principles of Instrumental Analysis*; 4<sup>th</sup> ed, Saunders College Publishing, Forth Worth, **1992**.
2. Burguera, M.; Burguera, J. L. ; *Microwave-assisted Sample Decomposition in Flow Analysis*; *Analytica Chimica Acta* **1998**, *366*, 630.
3. Arruda, M. A. Z. ; Santelli, R. E. ; *Mecanização no Preparo de Amostras: O Estado da Arte*; *Química Nova* **1997**, *20 (6)*, 638.
4. Zlotorzynski, A. ; *The Application of Microwave Radiation to Analytical and Enviromental Chemistry*, *Critical Reviews in Analytical Chemistry* **1995**, *25 (10)*, 43.
5. Burguera, M.; Burguera, J.L.; *Microwave sample pretreatment in analytical systems. A Review*; *Química Analítica*, 1996, *15*, 112.
6. Pasquini, C.; Oliveira, W. A ; *Monosegmented System for Continuous Flow Analysis. Spectrophotometric Determination of Chromium(IV), Ammonia, anda Phosphorus* ; *Analytical Chemistry* **1985**, *57*, 2575.
7. Abu-Samra, A.; Morris, J.S.; Koirtyohann, S.R.; *Wet Ashing of Some Biological Samples in a Microwave Oven*, *Analytical Chemistry*, **1975**, *47*,1475.
8. Jin, Q.; Liang, F.; Zhang, H.; Zhao, L.; Huan, Y.; Song, D.; *Application of Microwave Techniques in Analytical Chemistry*, *Trends in Analytical Chemistry* **1999**, *18 (7)*, 479.
9. Burguera, M.; Burguera, J. L.; *Flow Injection and Microwave-oven Sample Deecomposition for Detetermination of Copper, Zinc and Iron in Blood by Atomic Absorption Spectrometry* ; *Analytica Chim. Acta*, **1986**, *179*, 351.
10. Pereira Filho, E. R.; *Sistemas Mecanizados Acoplados a Forno de Microondas para a Mineralização em Linha de amostras de Interesse Alimentício: Determinação de Ferro e Cobalto*; Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas; **1999**.

11. Kingston, H. M.; Haswell, S. J.; *Microwave-enhanced chemistry*, Washington, American Chemical Society, **1997**.
12. Haswell, S.J.; Barclay, D.A.; *On-line Microwave Digestion of Slurry Samples with Direct Flame Atomic Absorption Spectrometric Elemental Detection*; *Analyst* **1992**, *117*, 117.
13. Carbonel, V.; Morales-Rubio, A.; Salvador, A.; D La Guardia, M.; Burguera, J.L.; Burguera, M.; *Atomic-absorption Spectrometric Analysis of Solids with On-line Microwave-assisted Digestion* ; *Journal Analytical Chemistry*, **1992**, *7*, 1085.
14. Hinkamp, S.; Schwedt, G.; *Determination of Total Phosphorus in Waters With Amperometric Detection by Coupling of Flow-Injection Analysis with Continuous Microwave Oven Digestion*; *Analytica Chimica Acta*, **1990**, *236*, 345.
15. Bouhsain, Z.; Garrigues, S.; Morales-Rubio, A. De la Guardia, M.; *Flow Injection Spectrophotometric Determination of Paracetamol in Pharmaceuticas by Means of On-line Microwave-assisted Hydrolysis and Reaction with 8-hydroxyquinoline (8-quinolinol)* ; *Analytica Chimica Acta*, **1996** , *59*, 330.
16. Pérez, E. L., Haswell, S. J.; *Developed of an FIA Method win on-line Microwave-assisted Saponification of Vitamin A to Retinol and Direct in-line Spectrophotometric Determination*; *Analytical Proceedings*, **1995**, *85*, 32.
17. Brody, T. M; Larner, J.; Minneman, K. P.; Neu, H. C.; *Farmacologia Humana* Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, **1988**.
18. Korolkovas, A ; Burckhalter, J. H. ; *Química Farmacêutica*; Guanabara Koogan **1988**.
19. *Farmacopéia Brasileira* ; Andrei Editora; 74-76 3ª ed , São Paulo.
20. Pereira, A. V.; *Aplicações de Forno de Microondas e de Reatores em Fase Sólida em Sistemas por Injeção em Fluxo*; Tese de Doutorado, Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos; **1999**.

21. Queiroz, Roldão Roosevelt Urzedo de; *Investigações envolvendo titulação termométrico catalítica* ; Tese de Doutorado, Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas; **1988**
22. Nakatani, Helena Shizuko.; *Implicações termodinâmicas e cinéticas na titulação termométrica catalítica de ácido salicílico em acetona*; Tese de Mestrado, Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas; **1991**.
23. Sanyal, A. K.; Dutta, A.; *Rapid and Selective Ultraviolet Spectrophotometry Assay of Aspirin in Complex Table Formulations*; J. Assoc. Offic. Anal. Chem.; **1996**, *79*, 1303.
24. Kelly, C. A. ; *Determination of the Decomposition of Aspirin* ; Journal Pharmaceutical Science, **1970**, *59*.
25. Lopez-Fernandez, J. M.; Luque-de-Castro, M. D.; Valcárcel, M.; *Automatic Continuous on-line Monitoring of Salicylic Acid and Acetylsalicylic Acid (aspirin) in Pharmaceuticals*". J. Autom. Chem., **1990**, *12*, 193.
26. Cuesta, A , Todoli, J.L., Canals, A.; *Flow injection method for the rapid determination of Chemical Oxygen Demand basedd on microwave digestion and chromium speciation in Flame Atomic Absortion Spectrometry*, Spectrochimica Acta **1996**, *Part B 51*, 1791.
27. APHA/AWWA/WPCF, *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 15<sup>th</sup> edition, New York, **1988**.
28. Nour, e. A. A.; "Procedimentos de Análises Físico-Químicas e Exames Microbiológicos para Águas de Abastecimento e Residuárias"; FEC-UNICAMP, **1996**.
29. Jirka, A.M.; Carter, M.J.; "Microsemiautomated Analysis of Surface and Wastewater for Chemical Oxygen Demand"; Anal. Chem. **1975**, *47*, 1397.
30. Himebaugh, D.R.; Smith, M.J.; "Semi-micro Tube Method for Chemical Oxygen Demand", Anal. Chem., **1979**, *1085*, 51.

31. Edwards. S.; Smith, M.J.; *"Rapid and Precise Method for the Determination of the Chemical Oxygen Demand of Factory Effluent Samples"* ;Analyst, **1984** 109 671.
32. Korenaga, T.; *A Flow Injections Analyzer For Chemical Oxygen Demand Using Potassium Permanganate*; Chem., Biomed., And Environ. Instrumentation, **1980**, 10(3), 273.
33. Korenaga, T.; *Flow Injection Analysis Using Potassium Permanganate an Approach For Measuring Chemical Oxygen Demand In Organic Wastes and Waters*; Anal. Lett., **1980**, 13, 1001.
34. Korenaga, T.; Ikatsu, H.; *Continuous-flow Injection Analysis of Aqueous Environmental Sampels for Chemical Oxigen Demand*; Analyst, **1981**, 106, 653.
35. Korenaga, T.; Ikatsu, H.; *The Determination of Chemical Oxygen Demand inf Wastewaters With Dichromate by Flow Injection Analysis*; Anal. Chim. Acta; **1982**, 141, 301.
36. Korenaga, T., Zhou, X.; Kimiko, O.; Moriwake, T.; Shinoda, S.; *The Rapid Determination Of Chemical Oxygen Demand in Waste Waters And Effluents by Flow Injection Analysis*. Anal. Chim. Acta, **1986**, 179, 269.
37. Appleton, J. M. H., Tyson, J. F., Mounce, R. P.; *The Rapid Determination of Chemical Oxygen Demand in Waste and Effluents By Flow Injection Analysis*; Anal. Chim. Acta, **1986** 179, 269.
38. Tian, L. Wu, S. ;*Determination of Chemical Oxygen Demand in Aqueous Environmental Sample by Segmented Flow-Injection Analysis*; Analytica Chimica Acta **1992**, 261, 301
39. Jardim, W.; Rohwedder, J.; *Chemical oxygen demand (COD) using microwave digestion*. Wat. Res. **1989**, 23, 1069.
40. Balconi, M.L.; Borgarello M.; Ferrroli, R.; Realini, F.; *Chemical Oxygen Demand Determination in Well and River Waters by Flow-Injection Analysis Using a Microwave Oven During the Oxidation Step*; Analytica Chimica Acta **1992**, 261 295.

41. Horowitz, P.; Hill, W. ; *The Art of Electronics*; Cambridge University Press, 1987.
42. Malcome-Lawes, D. J. ; *Microcomputers and Laboratory Instrumentation*; 2<sup>a</sup> Ed. ; Plenum Press , New York and London 1988.
43. Miller, J. C.; *Statistics for Analytical Chemistry*; Ellis Horwood Limited, 1984.
44. Pasquini, C.; Faria, L. C.; *Flow-Injection Determination of Ammonia in Kjeldahl Digests By Gas Diffusion And Conductometry*; *Analytica Chimica Acta* 1987, 193, 19.
45. Motomizu, S.; Tôei, K.; Kuwake, T.; Oshima, M.; *Gas-Diffusion Unit with Tubular Microporous Poly(tetrafluoroethylene) Membrane for Flow-Injection Determination of Carbon Dioxide*; *Anal. Chem*; 1987, 59, 2930.
46. Hinkamp, S.; Schewedt, G.; *Determination of total phosphorus in waters wit amperometric detection by coupling of flow-injection analysis with continuous microwave oven digestion*; *Anal. Chim. Acta*, 1990, 236, 345.
47. Maksimova, L.M. ; Morosanova, E.I.; Kuz'min, N.M., Zolotov, Yu.A ; *Segmented-flow analysis: On-line microwave sample processing for the analysis of natural waters* 1997, 357: (7), 946.