



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**  
Câmpus de São José do Rio Preto

Ana Paula Reis Santana

**Solventes Eutéticos Naturais Profundos (NADES) para o emprego  
em análise elementar por técnicas com fonte de plasma**

São José do Rio Preto  
2021

Ana Paula Reis Santana

**Solventes Eutéticos Naturais Profundos (NADES) para o emprego  
em análise elementar por técnicas com fonte de plasma**

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Química, junto ao Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, *campus* de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES

Orientador: Prof. Dr. Mario Henrique Gonzalez  
Coorientadores: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Clarice Dias Britto do Amaral e Prof. Dr. Paulo Clairmont Feitosa de Lima Gomes

São José do Rio Preto  
2021

S232s

Santana, Ana Paula Reis

Solventes eutéticos naturais profundos (NADES) para o emprego em análise elementar por técnicas com fonte de plasma / Ana Paula Reis Santana. -- São José do Rio Preto, 2021

114 f. : il., tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto

Orientador: Mario Henrique Gonzalez

Coorientadora: Clarice Dias Britto do Amaral

1. Preparo de amostras (Química). 2. Química verde. 3. Extração por solventes. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Ana Paula Reis Santana

**Solventes Eutéticos Naturais Profundos (NADES) para o emprego  
em análise elementar por técnicas com fonte de plasma**

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Química, junto ao Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, *campus* de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES

Comissão Examinadora

Prof. Dr. Mario Henrique Gonzalez  
UNESP – *campus* de São José do Rio Preto  
Orientador

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Rita de Araujo Nogueira  
EMBRAPA – Unidade São Carlos

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Clésia Cristina Nascentes  
UFMG – *campus* de Belo Horizonte

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Elma Neide Vasconcelos Martins Carrilho  
UFSCar – *campus* de Araras

Prof. Dr. Joaquim de Araújo Nóbrega  
UFSCar – *campus* de São Carlos

São José do Rio Preto  
09 de dezembro de 2020

*Dedico este trabalho aos meus pais Ubaldo e Roseli e ao meu irmão Paulo Henrique, por sempre acreditarem que eu seria capaz de atingir meus objetivos.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado força e sabedoria para superar as dificuldades, e realizar mais essa etapa da minha vida.

Aos meus pais Roseli e Ubaldo, por todo amor, apoio, e por não ter deixado me abalar pelas dificuldades encontradas no caminho, ao meu irmão Paulo Henrique por sempre estar me incentivando.

Ao Renato, por todo apoio, carinho, amor e compreensão.

Ao meu orientador, professor Dr. Mario Henrique Gonzalez pelas orientações e acompanhamento da nossa pesquisa e por toda paciência e compreensão que teve comigo. Muito obrigada por sua amizade, por acreditar em mim e por todo conhecimento transmitido. Saiba que você é um exemplo para mim.

Aos meus coorientadores professores Dr. Paulo C. F. L. Gomes e Dr<sup>a</sup>. Clarice D. B. Amaral por serem sempre atenciosos e prestativos, além de todo conhecimento transmitido.

Às professoras Dr<sup>a</sup>. Andrea P. Oliveira e Dr<sup>a</sup>. Clarice D. B. Amaral pelo apoio na escrita dos nossos artigos e total disponibilidade em contribuir com o trabalho com seus conhecimentos.

Ao Daniel e ao Jorge por todos seus ensinamentos de bancada e ajuda, que foram primordiais para este trabalho. Agradeço também aos Prof. Dr. Edenir R. P. Filho e Prof. Dr. Mauricio Boscolo pela provisão das instalações dos laboratórios do Grupo de Análise Instrumental Aplicada (GAIA) e Laboratório de Sucroquímica e Química Analítica (LSQA), respectivamente.

A todos do Grupo de Inovação em Química Analítica Verde (GIQAV) pela troca de experiências, ajuda e conhecimentos. Em especial ao Henrique, Josiane, Luan, Nathalia e Taciana pela amizade e momentos de risadas durante todos esses anos de convivência.

À professora Dr<sup>a</sup>. Ana Rita de A. Nogueira, da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) pela disponibilização das amostras utilizadas no desenvolvimento do trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, à qual agradeço.

Agradeço à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento do projeto sob processos 2019/22113-8, 2017/18531-3 e 2015/08873-9.

Agradeço ao Instituto Nacional de Tecnologias Alternativas para Detecção, Avaliação Toxicológica e Remoção de Micropoluentes e Radioativos (INCT- DATREM) pelo financiamento do projeto sob processos Fapesp 14/509454 e CNPq 465571/2014-0.

À UNESP/IBILCE pela oportunidade da realização deste trabalho e conceder o espaço físico, ensino público de qualidade para o progresso dos meus estudos.

A todos os professores que de alguma maneira compartilharam seus conhecimentos, e dessa forma contribuíram e colaboraram para a minha formação.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, os meus sinceros agradecimentos!

## RESUMO

Atualmente há um grande interesse no desenvolvimento de métodos analíticos que minimizem o uso de reagentes, solventes e energia. Este é um dos objetivos da química verde e seus princípios estão cada vez mais inseridos nos procedimentos de preparo de amostras. Os Solventes Eutéticos Naturais Profundos (do inglês, NADES) são produtos das interações de ácidos orgânicos e açúcares por meio de ligações de hidrogênio e interações do tipo Van der Waals, oferecendo vantagens como baixa toxicidade, biodegradabilidade, sustentabilidade e preparação simples. Neste contexto, esta tese teve como objetivo a síntese dos NADES à base de xilitol, ácido cítrico, ácido málico e água por três diferentes métodos, além da caracterização e avaliação das suas propriedades físico-químicas. Posteriormente, os NADES produzidos foram utilizados em diferentes técnicas de extração e tipos de amostras para a determinação elementar por espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente (do inglês, ICP-MS) e espectrometria de emissão ótica com plasma acoplado indutivamente (do inglês, ICP OES). Por meio de um planejamento de misturas restrito foi otimizada a proporção de cada um dos precursores dos três solventes com base nos valores de densidade e viscosidade. As análises de infravermelho dos NADES indicaram o deslocamento das bandas carbonilas para maiores número de ondas, indicando a formação das ligações de hidrogênio e confirmando a formação dos NADES. Os termogramas dos NADES mostraram temperaturas de decomposição em torno de 170 °C, com número de etapas e temperatura de decomposição distintos em relação a seus materiais precursores, indicando a formação de um novo material, com comportamento térmico característico. Os três métodos de síntese estudados resultaram em solventes com características físico-químicas semelhantes. Quando utilizados para a extração de constituintes inorgânicos em amostras inorgânicas e biológicas, apresentaram recuperação na faixa de 80 % a 120 %, para os elementos estudados. Os resultados mostraram que os NADES são promissores para a extração elementar, além de serem compatíveis com técnicas com fonte de plasma. Os métodos propostos apresentaram-se em acordo aos princípios da Química Verde, exibindo vantagens como simplicidade operacional, uso de reagentes não voláteis e emprego de menores volumes de solvente extrator, sendo considerados uma alternativa válida aos métodos convencionais de preparo de amostra.

**Palavras-chave:** química analítica verde, extração, preparo de amostra, ICP-MS, ICP OES, MAE, UAE.

## ABSTRACT

Currently there is a strong interest in developing analytical methods that minimize the use of reagents, solvents, and energy. These points are the goal of green chemistry, and its principles are increasingly inserted into the sample preparation procedures. Natural Deep Eutectic Solvents (NADES) are products of the interactions of amino acids, organic acids, sugars through hydrogen bonds and Van der Waals interactions, offering advantages such as low toxicity, biodegradability, sustainability, and simple preparation. In this context, the aim of this thesis was to synthesize NADES based on xylitol, citric acid, malic acid, and water by three different methods and the characterization and evaluation of their physical-chemical properties. Subsequently, the NADES produced were used as solvents in different extraction techniques and in different types of samples for elementary determination by inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) and inductively coupled plasma-optical emission spectrometry (ICP OES). Finally, a mixture design was performed for the optimized proportion for each of the three solvents synthesized, and the solvents were selected based on density and viscosity values. The NADES infrared analysis indicated the displacement of the carbonyl bands to greater wavelengths, indicating the formation of hydrogen bonds and confirming the formation of NADES. Furthermore, the NADES thermograms showed decomposition temperatures around 170 °C, in which the number of decomposition steps and decomposition temperature were distinct from their precursor materials, indicating the formation of a new material with distinct characteristic thermal. The three synthesis methods resulted in solvents with similar physicochemical characteristics. The recoveries of the NADES extraction methods ranged from 80 % to 110 % for the studied elements. The results showed that NADES are promising for elemental extraction and being compatible with plasma-based techniques. Besides, the proposed methods were following the principles of Green Chemistry, showing advantages such as operational simplicity, use of non-volatile reagents, and lower extractor solvent volumes. Therefore, it can be considered a valid alternative to conventional sample preparation methods.

**Keywords:** green analytical chemistry, extraction, sample preparation, ICP-MS, ICP OES, MAE, UAE.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Número de publicações desde 1998 para “green\* chemistry”, segundo o *Web of Science*®.....5
- Figura 2.** Número de publicações nos últimos 10 anos para “Deep Eutectic Solvent” OR “Natural Deep Eutectic Solvent”, segundo o *Web of Science*®.....9
- Figura 3.** Mapa bibliométrico de co-ocorrência de palavras-chave a partir de 2762 resultados e 60 palavras chave mais importantes..... 10
- Figura 4.** As 10 áreas mais relevantes de publicações nos últimos 5 anos para “Deep Eutectic Solvent” OR “Natural Deep Eutectic Solvent”, segundo o *Web of Science*®. .... 13
- Figura 5.** Resumo gráfico para síntese de NADES por três diferentes métodos e técnicas de caracterização destes solventes. ....23
- Figura 6.** NADES sintetizados por aquecimento e agitação no qual os componentes são as misturas de ácido cítrico: xilitol: água (Ac-Xil), ácido málico: xilitol: água (Am-Xil) e ácido cítrico: ácido málico: água (Ac-Am), com razão molar de 1: 1: 10, respectivamente. ....27
- Figura 7.** NADES sintetizado a partir de ácido cítrico, ácido málico com 6 mols de água após 7 dias. ....28
- Figura 8.** Espectro de infravermelho dos precursores e NADES sintetizados usando diferentes métodos com (A) ácido cítrico e xilitol (Ac-Xil), (B) ácido málico e xilitol (Am-Xil) e (C) ácido cítrico e ácido málico (Ac-Am). ....31
- Figura 9.** Termogravimetria (TG) e termogravimetria derivada (DTG) dos precursores e NADES sintetizados usando diferentes métodos com (A1 e A2) ácido cítrico e xilitol (Ac-Xil), (B1 e B2) ácido málico e xilitol (Am-Xil) e (C1 e C2) ácido cítrico e ácido málico (Ac-Am). ....34
- Figura 10.** Resumo gráfico para a metodologia do uso de NADES no preparo de amostra de matrizes vegetais.....40

<b>Figura 11.</b> Espectro de infravermelho dos precursores e NADES sintetizados usando (A) ácido cítrico e ácido málico (Ac-Am), (B) ácido málico e xilitol (Am-Xil) e (C) ácido cítrico e xilitol (Ac-Xil). .....	47
<b>Figura 12.</b> Análises térmicas de (A) TG, (B) DTG e (C) DSC dos NADES sintetizados utilizando ácido cítrico e xilitol (Ac-Xil), ácido málico e xilitol (Am-Xil) e ácido cítrico e ácido málico (Ac-Am) .....	48
<b>Figura 13.</b> Resumo gráfico para a metodologia do uso de NADES no preparo de amostra de matrizes inorgânicas.....	60
<b>Figura 14.</b> Valores de recuperação (%) para As, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P e Zn (média ± desvio padrão, n= 3) para os métodos de digestão assistida por radiação micro-ondas (MW-AD), extração assistida por ultrassom (UAE) e extração por banho de aquecimento empregando NADES Ac-Xil e Ac-Am para as amostras A) fosfato de rocha (RM-Agro E2003a) e B) suplemento mineral (RM-Agro E2001a)...	68
<b>Figura 15.</b> Resumo gráfico para a metodologia do uso de planejamento de mistura para a otimização da síntese dos NADES. ....	76
<b>Figura 16.</b> Planejamento de mistura restrito para a síntese de três NADES de misturas diferentes: água: ácido cítrico (componente 1): xilitol (componente 2) (Ac-Xil); água: ácido málico (componente 1): xilitol (componente 2) (Am-Xil) e água: ácido cítrico: (componente 1): ácido málico (componente 2) (Ac-Am). ....	78
<b>Figura 17.</b> Modelo de superfícies de resposta para NADES (A) ácido cítrico: xilitol: água (Ac-Xil); (B) ácido málico: xilitol: água (Am-Xil) e (C) ácido cítrico: ácido málico: água (Ac-Am). ....	85
<b>Figura 18.</b> Gráfico de valores observados vs. valores teóricos dos dados obtidos com o planejamento de mistura para NADES (A) ácido cítrico: xilitol: água (Ac-Xil); (B) ácido málico: xilitol: água (Am-Xil) e (C) ácido cítrico: ácido málico: água (Ac-Am) para modelo quadrático. ....	87

**Figura 19.** Resíduos do modelo quadrático proposto para o planejamento de mistura para NADES (A) ácido cítrico: xilitol: água (Ac-Xil); (B) ácido málico: xilitol: água (Am-Xil) e (C) ácido cítrico: ácido málico: água (Ac-Am). .....88

**Figura 20.** Espectro de infravermelho dos precursores e NADES sintetizados após a condição otimizada selecionada usando (A) ácido cítrico: xilitol: água (Ac-Xil); (B) ácido málico: xilitol: água (Am-Xil) e (C) ácido cítrico: ácido málico: água (Ac-Am)..89

**Figura 21.** Valores de recuperação (%) para As, Cd, Hg, Pb, Se e V (média  $\pm$  desvio padrão, n= 3) em amostras de tecido vegetal e biológico usando digestão ácida por radiação micro-ondas (MW-AD), extração assistida por ultrassom (UAE) e extração assistida por radiação micro-ondas (MAE) usando NADES Ac-Xil, NADES Am-Xil e NADES Ac-Am. ....95

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Os 12 princípios da Química Analítica Verde propostos por Gałuszka, Migaszewski & Namieśnik (2013).....6
- Tabela 2.** Estrutura química e algumas características dos ácido cítrico e ácido málico e do xilitol que são componentes dos NADES. ....24
- Tabela 3.** Valores de densidade e viscosidade dos NADES sintetizados determinados a temperatura de 24 °C (média ± desvio padrão, n=3).....37
- Tabela 4.** Parâmetros instrumentais para as análises por ICP OES para a determinação de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P e Zn. ....43
- Tabela 5.** Parâmetros instrumentais e do método para as análises por ICP-MS para a determinação de <sup>75</sup>As e <sup>111</sup>Cd no modo padrão. ....44
- Tabela 6.** Valores de faixa analítica de trabalho, correlação linear, desvio padrão relativo, limite de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ) dos métodos digestão ácida assistida por radiação micro-ondas (MW-AD) e método de extração assistida por ultrassom (UAE) com NADES Ac-Xil, NADES Am-Xil e NADES Ac-Am para determinação em ICP OES.....51
- Tabela 7.** Valores de faixa analítica de trabalho, correlação linear, desvio padrão relativo, limite de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ) dos métodos digestão ácida assistida por radiação micro-ondas (MW-AD) e método de extração assistida por ultrassom (UAE) com NADES Ac-Xil, NADES Am-Xil e NADES Ac-Am para determinação em ICP-MS.....52
- Tabela 8.** Determinação de As, Ca, Cd, K, Mn, P e Zn (média ± desvio padrão, n = 3) em amostra de folhas de tomate (NIST 1573a) usando digestão ácida por radiação micro-ondas (MW-AD) e método de extração assistida por ultrassom (UAE) com NADES Ac-Xil, NADES Am-Xi, NADES Am-Xil e NADES Ac-Am.....54
- Tabela 9.** Determinação of As, Cd, K, Mn, Na, P e Zn (média ± desvio padrão, n = 3) em amostra de folhas de espinafre (NIST 1579a) usando digestão ácida por radiação

micro-ondas (MW-AD) e método de extração assistida por ultrassom (UAE) com NADES Ac-Xil, NADES Am-Xi, NADES Am-Xil e NADES Ac-Am.....55

**Tabela 10.** Determinação de As, Ca, Cd, Cu, Fe, K, Mg, Mn e P (média  $\pm$  desvio padrão, n = 3) em amostra forrageira (RM-Agro E1001a) usando digestão ácida por radiação micro-ondas (MW-AD) e método de extração assistida por ultrassom (UAE) com NADES Ac-Xil, NADES Am-Xi, NADES Am-Xil e NADES Ac-Am. ....56

**Tabela 11.** Parâmetros instrumentais para as análises por ICP OES para a determinação de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P e Zn. ....63

**Tabela 12.** Parâmetros instrumentais para as análises por ICP-MS para a determinação de  $^{75}\text{As}$ ,  $^{111}\text{Cd}$  e  $^{52}\text{Cr}$  no modo de colisão com discriminação por energia cinética (KED). ....64

**Tabela 13.** Valores de faixa analítica de trabalho, correlação linear, desvio padrão relativo, limite de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ) obtidos com o emprego da digestão ácida assistida por radiação micro-ondas (MW-AD) e NADES Ac-Xil e NADES Ac-Am para a determinação por ICP OES.....66

**Tabela 14.** Valores de faixa analítica de trabalho, correlação linear, desvio padrão relativo, limite de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ) obtidos com o emprego da digestão ácida assistida por radiação micro-ondas (MW-AD) e NADES Ac-Xil e NADES Ac-Am para a determinação por ICP-MS. ....67

**Tabela 15.** Concentrações (média  $\pm$  desvio padrão, n = 3) e recuperações (%) de As, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P e Zn em amostras de fosfato de rocha (RM-Agro E2003a) empregando digestão ácida assistida por radiação micro-ondas (MW-AD), extração assistida por ultrassom (UAE) e extração em banho de aquecimento utilizando NADES Ac-Xil e NADES Ac-Am.....70

**Tabela 16.** Concentrações determinadas (média  $\pm$  desvio padrão, n = 3) e recuperações (%) de Ca, Cd, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn em amostras de suplemento mineral (RM-Agro E2001a) empregando digestão ácida assistida por radiação micro-ondas (MW-AD), extração assistida por ultrassom (UAE) e extração em banho de aquecimento utilizando NADES Ac-Xil e NADES Ac-Am. ....72

<b>Tabela 17.</b> Parâmetros instrumentais para as análises por ICP-MS para a determinação de <sup>75</sup> As, <sup>111</sup> Cd, <sup>202</sup> Hg, <sup>208</sup> Pb, <sup>82</sup> Se e <sup>51</sup> V. ....	81
<b>Tabela 18.</b> Valores de densidade e viscosidade dos experimentos A a J para as três misturas diferentes. NADES Ac-Xil: ácido cítrico (componente 1), xilitol (componente 2) e água; NADES Am-Xil: ácido málico (componente 1), xilitol (componente 2) e água; NADES Ac-Am: ácido cítrico (componente 1) e ácido málico (componente 2) e água. ....	84
<b>Tabela 19.</b> Valores de faixa analítica de trabalho, correlação linear, desvio padrão relativo, limite de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ) dos métodos digestão ácida assistida por radiação micro-ondas (MW-AD) e métodos utilizando NADES Ac-Xil, NADES Am-Xil e NADES Ac-Am, determinados por ICP-MS.....	91
<b>Tabela 20.</b> Concentrações de As, Cd, Hg, Pb, Se e V (média ± desvio padrão, n=3) em amostras de tecido vegetal e biológico usando digestão ácida por radiação micro-ondas (MW-AD), extração assistida por ultrassom (UAE) e extração assistida por radiação micro-ondas (MAE) usando NADES Ac-Xil, NADES Am-Xil e NADES Ac-Am. ....	94
<b>Tabela 21.</b> Recuperações (%) de As e Cd (média ± desvio padrão, n= 3) utilizando NADES (1: 1: 10 mol) em procedimentos de UAE mostrados na seção 4 e NADES (proporção otimizado por meio do planejamento de mistura restrito) em procedimentos de MAE e UAE mostrados nesta seção. ....	97

## LISTA DE ABREVIATURAS

**AADES:** Solvente eutético profundo a base de aminoácidos (do inglês, *amino acid-based deep eutectic solvent*)

**ANOVA:** Análise de variância (do inglês, *analysis of variance*)

**ANVISA:** Agência Nacional de Vigilância Sanitária

**ATR-FTIR:** Espectroscopia de reflexão total atenuada no infravermelho com transformada de Fourier (do inglês, *Attenuated total reflectance-Fourier transform infrared*)

**ATSDR:** Agência para o registro de substâncias tóxicas e doenças (do inglês, *agency for toxic substances and disease registry*)

**BCR-280 R:** Material de referência certificado de sedimento de lago produzido pelo *Joint Research Centre* (JRC)

**CRM:** Material de referência certificado (do inglês, *certified reference material*)

**CRM CS-M3:** Material de referência certificado de cogumelo produzido pelo *Institute of Nuclear Chemistry and Technology*, Polônia.

**CRM SLRS-5:** Material de referência certificado de água ribeirinha produzido pelo *National Research Council* (NRC), Canadá

**CRO:** Voltagem aplicada ao quadrupolo da célula de colisão e reação (do inglês, *cell rod off set*)

**DES:** Solvente eutético profundo (do inglês, *deep eutectic solvent*)

**DORM-4:** Material de referência certificado de proteína de peixe produzido pelo *National Research Council* (NRC), Canadá

**DSC:** Calorimetria exploratória diferencial (do inglês, *differential scanning calorimetry*)

**DTG:** Termogravimetria derivada (do inglês, *derivative thermogravimetry*)

**Embrapa:** Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária.

**ERM BD 150:** Material de referência certificado de leite em pó lago produzido pelo *Joint Research Centre* (JRC)

**ETAAS:** Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (do inglês, *electrothermal atomic absorption spectrometry*)

**FAAS:** Espectrometria de absorção atômica com chama (do inglês, *flame atomic absorption spectrometry*)

**HBA:** Receptor de ligações de hidrogênio (do inglês, *hydrogen bond acceptor*)

**HBD:** Doador de ligações de hidrogênio (do inglês, *hydrogen bond donor*)

**HDES:** Solvente eutético profundo hidrofóbico (do inglês, *hydrophobic deep eutectic solvent*)

**ICP-MS:** Espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente (do inglês, *inductively coupled plasma-mass spectrometry*)

**ICP OES:** Espectrometria de emissão ótica com plasma acoplado indutivamente (do inglês, *inductively coupled plasma-optical emission spectrometry*)

**ILs:** Líquidos iônicos (do inglês, *ionic liquids*)

**INMETRO:** Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia

**IPEN:** Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares

**KED:** Discriminação por Energia Cinética (do inglês, *kinetic energy discrimination*)

**LIBS:** Espectrometria de emissão ótica com plasma induzido por laser (do inglês, *laser-induced breakdown spectroscopy*)

**LLE:** Extração líquido-líquido (do inglês, *liquid-liquid extraction*)

**LOD:** Limite de detecção (do inglês, *limit of detection*)

**LOQ:** Limite de quantificação (do inglês, *limit of quantification*)

**LPME:** microextração em fase líquida (do inglês, *liquid phase microextraction*)

**MAE:** Extração assistida por radiação micro-ondas (do inglês, *microwave-assisted extraction*)

**MDES:** Solvente eutético profundo magnético (do inglês, *magnetic deep eutectic solvent*)

**MW-AD:** Digestão ácida assistida por radiação micro-ondas (do inglês, *microwave-assisted acid digestion*)

**NADES:** Solvente eutético natural profundo (do inglês, *natural deep eutectic solvent*)

**NADES Ac-Am:** NADES sintetizados a partir de ácido cítrico e ácido málico

**NADES Ac-Xil:** NADES sintetizados a partir de ácido cítrico e xilitol

**NADES Am-Xil:** NADES sintetizados a partir de ácido málico e xilitol

**NCS ZC 73033:** Material de referência certificado de cebola verde produzido pelo *National Analysis Centre for Iron and Steel (NACIS)*, China.

**NIST:** *National Institute of Standards and Technology*

**NIST 1547:** Material de referência certificado de folhas de pêssago produzido pelo NIST

**NIST 1573a:** Material de referência certificado de folhas de tomate produzido pelo NIST

**NIST 1579a:** Material de referência certificado de folhas de espinafre produzido pelo NIST

**NIST SRM 1577b:** Material de referência certificado de fígado bovino produzido pelo NIST

**OES:** Espectrometria de emissão ótica (do inglês, *optical emission spectrometry*)

**PTFE:** Politetrafluoretileno

**QRO:** Voltagem aplicada ao quadrupolo analisador de massas (do inglês *quadrupole rod offset*)

**RPq:** Relacionado à voltagem aplicada às hastes do quadrupolo

**R %:** Porcentagem de recuperação

**RF:** Potência de radiofrequência (do inglês, *radiofrequency power*)

**RM-2011/207:** Material candidato a material de referência de peixe produzido pelo IPEN

**RM-Agro E2001a:** Material de referência de suplemento mineral produzido pela Embrapa

**RM-Agro E2003a:** Material de referência de fosfato de rocha produzido pela Embrapa

**RM-Agro E1001a:** Material de referência de *Brachiaria Brizantha cv. Marandu* produzido pela Embrapa

**RM-Agro E3001a:** Material de referência de fígado bovino produzido pela Embrapa

**RSD:** Desvio de padrão relativo (do inglês, *relative standard deviation*)

**SRM 2709a:** Material de referência certificado de solo produzido pelo NIST

**TG:** Análise termogravimétrica (do inglês, *thermogravimetric analysis*)

**THEDES:** Solvente eutético profundo terapêutico (do inglês, *therapeutic deep eutectic solvent*)

**UA-LPME:** microextração de fase líquida assistida por ultrassom (do inglês, *ultrasound-assisted liquid phase microextraction*)

**UAE:** Extração assistida por ultrassom (do inglês, *ultrasound-assisted extraction*)

**UCT:** Tecnologia de célula universal (do inglês *Universal cell technology*)

**UNSCCUR:** Conferência científica da organização das Nações Unidas sobre a conservação e utilização de recursos (do inglês, *United Nations Scientific Conference on the Conservation and Use of Resources*)

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA &amp; OBJETIVOS</b> .....	4
<b>2.1 Revisão Bibliográfica</b> .....	4
2.1.1 Química Verde e Química Analítica Verde .....	4
2.1.2 Solventes para o preparo de amostra .....	7
2.1.3 Solventes eutéticos naturais profundos (NADES) .....	8
2.1.4 Extração assistida por ultrassom (UAE) e extração assistida por radiação micro-ondas (MAE) utilizando solventes eutéticos naturais profundos (NADES) ..	15
2.1.5 Técnicas com fonte de plasma .....	18
<b>2.2 Objetivos</b> .....	21
2.2.1 Objetivo Geral .....	21
2.2.2 Objetivos específicos .....	21
2.2.2.1 <i>Objetivos específicos da Seção 3</i> .....	21
2.2.2.2 <i>Objetivos específicos da Seção 4</i> .....	21
2.2.2.3 <i>Objetivos específicos da Seção 5</i> .....	22
2.2.2.4 <i>Objetivos específicos da Seção 6</i> .....	22
<b>3. SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS NADES POR DIFERENTES MÉTODOS</b> .....	23
<b>3.1 Materiais e métodos</b> .....	23
3.1.1 Reagentes e Amostras .....	23
3.1.2 Síntese dos solventes eutéticos naturais profundos (NADES) por diferentes métodos .....	24
3.1.2.1 <i>Síntese por agitação e aquecimento</i> .....	25
3.1.2.2 <i>Síntese assistida por ultrassom</i> .....	25
3.1.2.3 <i>Síntese assistida por micro-ondas</i> .....	25

3.1.3 Caracterização físico-química dos solventes eutéticos naturais profundos (NADES) .....	25
3.1.3.1 <i>Espectrometria de Infravermelho (do inglês, ATR-FTIR)</i> .....	25
3.1.3.2 <i>Termogravimetria (TG)</i> .....	26
3.1.3.3 <i>Viscosidade e densidade</i> .....	26
<b>3.2. Resultados e discussão</b> .....	26
3.2.1 Síntese dos solventes eutéticos naturais profundos (NADES) .....	26
3.2.2 Caracterização dos solventes eutéticos naturais profundos (NADES) .....	31
<b>3.3 Conclusão</b> .....	38
<b>4. NADES NO PREPARO DE AMOSTRA DE MATRIZES VEGETAIS</b> .....	40
<b>4.1 Materiais e métodos</b> .....	40
4.1.2 Reagentes e Amostras .....	40
4.1.3 Procedimentos experimentais .....	41
4.1.2.1 <i>Preparação dos solventes eutéticos naturais profundos (NADES)</i> .....	41
4.1.2.2 <i>Caracterização dos solventes eutéticos naturais profundos (NADES)</i> .....	41
4.1.3 Solventes eutéticos naturais profundos (NADES) em preparo de amostra ..	42
4.1.3.1 <i>Digestão ácida assistida por radiação micro-ondas (MW-AD)</i> .....	42
4.1.3.2 <i>Extração assistida por ultrassom (UAE)</i> .....	42
4.1.4 Análise por técnicas com fonte de plasma .....	42
4.1.4.1 <i>Determinação de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P e Zn por espectrometria de emissão ótica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES)</i> .....	42
4.1.4.2 <i>Determinação de As e Cd por espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS)</i> .....	43
4.1.4.3 <i>Avaliação dos parâmetros de desempenho</i> .....	44
<b>4.2 Resultados e discussão</b> .....	46
4.2.1 Síntese e caracterização dos solventes eutéticos naturais profundos (NADES) .....	46
4.2.2 Aplicação em matrizes vegetais para análise elementar .....	49

<b>4.3 Conclusão</b> .....	59
<b>5. NADES NO PREPARO DE AMOSTRA DE MATRIZES INORGÂNICAS</b> .....	60
<b>5.1 Materiais e métodos</b> .....	60
5.1.1 Reagentes e amostras.....	60
5.1.2 Síntese dos solventes eutéticos naturais profundos (NADES) .....	61
5.1.3 Digestão ácida assistida por radiação micro-ondas (MW-AD).....	61
5.1.4 Extração assistida por ultrassom (UAE) com solventes eutéticos naturais profundos (NADES) .....	62
5.1.5 Extração por banho de aquecimento com solventes eutéticos naturais profundos (NADES) .....	62
5.1.6 Determinação de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P e Zn por espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES) .....	62
5.1.7 Determinação de As, Cd e Cr por espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS) .....	63
5.1.8 Avaliação dos parâmetros de desempenho .....	64
<b>5.2 Resultados e discussão</b> .....	65
<b>5.3 Conclusão</b> .....	75
<b>6. USO DE PLANEJAMENTO DE MISTURA PARA A OTIMIZAÇÃO DA SÍNTESE DOS NADES</b> .....	76
<b>6.1 Materiais e métodos</b> .....	77
6.1.1 Reagentes e Amostras .....	77
6.1.2 Síntese de solventes eutéticos naturais profundos (NADES) .....	77
6.1.2.1 <i>Síntese de solventes eutéticos naturais profundos (NADES) por planejamento de mistura</i> .....	77
6.1.2.2 <i>Caracterização dos solventes eutéticos naturais profundos (NADES)</i> .....	78
6.1.3 Preparo de amostra e análises utilizando espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS).....	79
6.1.3.1 <i>Digestão ácida assistida por radiação micro-ondas (MW-AD)</i> .....	79
6.1.3.2 <i>Extração assistida por ultrassom (UAE)</i> .....	79

6.1.3.3 <i>Extração assistida por radiação micro-ondas (MAE)</i> .....	79
6.1.3.4 <i>Determinação de As, Cd, Hg, Pb, Se e V por ICP-MS</i> .....	80
6.1.4 <i>Avaliação dos parâmetros de desempenho</i> .....	81
<b>6.2 Resultados e discussão</b> .....	82
6.2.1 <i>Síntese dos solventes eutéticos naturais profundos (NADES) por planejamento de mistura restrito</i> .....	82
6.2.2 <i>Desempenho do método analítico</i> .....	90
6.2.3 <i>Aplicação dos solventes eutéticos naturais profundos (NADES) para análise elementar de materiais de planta e tecidos biológicos</i> .....	93
<b>6.3 Conclusão</b> .....	99
<b>7. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	101
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	102

## 1. INTRODUÇÃO

O preparo de amostra é uma etapa de extrema importância em um procedimento analítico, pois perdas dos analitos ou contaminações podem comprometer o resultado final da análise (ROCHA et al., 2013; TOBISZEWSKI et al., 2009). Em análises de amostras com baixas concentrações com propriedades químicas distintas e matrizes complexas, há a necessidade de uma etapa de preparo de amostra que minimize os problemas de contaminação, perdas ou conversão dos analitos durante a análise química (NAZARIO et al., 2017). Os problemas de interferências nas determinações analíticas também devem ser considerados devido às baixas concentrações dos analitos e a introdução de outras espécies oriundas do preparo de amostra. (OLIVEIRA, 2003).

Além disso, há um interesse no desenvolvimento de métodos analíticos que minimizam custos com reagentes químicos e energia (KOEL, 2016). Este é um dos objetivos da química verde, e sua incorporação está cada vez mais inserida no preparo de amostra, que é a etapa que consome os maiores volumes de reagentes além de elevada produção de resíduos químicos (PÉREZ & ESCANDAR, 2016; ARMENTA, GARRIGUES & DE LA GUARDIA, 2015). A química verde prioriza a redução e substituição de reagentes e solventes tóxicos, reciclagem de solventes, preparo mínimo de amostra, uso de microssistemas e desenvolvimento de métodos mais simples (KOEL, 2016).

A digestão ácida assistida por radiação micro-ondas (do inglês, MW-AD) é um dos procedimentos mais utilizados na etapa de preparo de amostra para determinação de elementos inorgânicos, e consiste na absorção da radiação micro-ondas pela amostra e por meio dos fenômenos de migração iônica e rotação de dipolos há um rápido aumento da temperatura que aliada à presença de reagentes oxidantes converte amostras sólidas em soluções líquidas (MORAES et al., 2019). O uso do ácido nítrico diluído na MW-AD se mostra eficiente devido a uma série de reações, resultando na regeneração do ácido nítrico e conseqüentemente no aumento da temperatura do meio reacional (ROCHA et al., 2013). Além disso, o peróxido de hidrogênio pode ser utilizado como um agente oxidante auxiliar, devido a formação de  $H_2O$  e  $O_2$  por meio da sua decomposição e também atua como oxidante da matéria orgânica, ocasionando na melhoria da eficiência e decomposição (MATUSIEWICZ, 2003). Essa alternativa apresenta vantagens como o uso de menores volumes de

ácido, melhor controle dos brancos analíticos, menor acidez residual e menor teor de sólidos dissolvidos (MORAES et al., 2019).

As técnicas convencionais de extração sólido-líquido utilizam grandes volumes de solventes orgânicos e geralmente demoradas, com isso a extração assistida por ultrassom (do inglês, UAE) e a extração assistida por radiação micro-ondas (do inglês, MAE) são técnicas promissoras para acelerar e simplificar o preparo de amostra (RUTKOWSKA, NAMIESNIK & KONIECZKA, 2017; DE LA CALLE & COSTAS-RODRÍGUEZ, 2017). A UAE emprega menores volumes de solventes e tempos de extração, condizentes com os princípios da química verde (RUTKOWSKA, NAMIESNIK & KONIECZKA, 2017). A MAE é uma técnica de preparo de amostras em consolidação devido a vantagens como menores tempos de extração, alta eficiência, redução ou inexistência de perdas e contaminações (DE LA CALLE & COSTAS-RODRÍGUEZ, 2017).

Em todos estes procedimentos experimentais, digestão ou extração, os solventes apresentam um papel crucial na etapa de preparo de amostra por meio da dissolução de sólidos, transferência de massa e extração de analitos desejáveis (PŁOTKA-WASYLKA et al., 2017). Devido a sua importância em um procedimento de extração, a seleção de um solvente no preparo de amostra é baseada na solubilidade e estabilidade do analito e na interação com a matriz da amostra (DE LA CALLE & COSTAS-RODRÍGUEZ, 2017).

Os solventes eutéticos profundos (do inglês, DES) são misturas de um sal (principalmente sais de amônio) com outro composto que possa realizar ligações de hidrogênio e apresentam ponto de fusão significativamente inferior aos seus componentes individuais (ABBOTT et al., 2013). Quando os compostos que constituem os DES são constituintes celulares abundantes como ácidos orgânicos, açúcares ou derivados de colina, os DES são denominados solventes eutéticos naturais profundos (do inglês, NADES) (CHOI et al., 2011; DAI et al., 2013). As vantagens relacionadas aos NADES são o uso de precursores amplamente disponíveis, preparação fácil, baixa toxicidade, biodegradabilidade, pressão de vapor desprezível, ampla faixa de estado líquido, alto poder de solubilização e baixo custo (ESPINO et al., 2016; DAI et al., 2013; FERNÁNDEZ et al., 2018).

As interações intermoleculares entre os compostos precursores resultam em diferentes propriedades físico-químicas desses solventes (ESPINO et al., 2016; DAI et al., 2013; FERNÁNDEZ et al., 2018). Portanto, é possível ajustar suas propriedades,

incluindo viscosidade e densidade, variando a proporção de seus precursores, permitindo inúmeras abordagens ao uso dos métodos de extração (ESPINO et al., 2016; DAI et al., 2013; FERNÁNDEZ et al., 2018). A grande parcela de aplicações dos NADES (e DES) está relacionada à extração de analitos orgânicos, como ácidos fenólicos, hidrocarbonetos e compostos fenólicos (FERNÁNDEZ et al., 2018, ESPINO et al., 2016; CUNHA & FERNANDES, 2018; LI & ROW, 2019).

Há poucos trabalhos na literatura que relatam uso de NADES ou DES para a extração de analitos inorgânicos (GONZALEZ, CHOI & VERPOORTE, 2020; SOCAS-RODRÍGUEZ et al., 2020). Destes trabalhos com análise elementar há uma pequena parcela que utiliza técnicas com fonte de plasma. O plasma é uma fonte de excitação que apresenta energia suficiente para promover a excitação da grande parcela dos elementos, além de promover maior sensibilidade e ampla faixa de trabalho (NOVAES et al., 2016). Tanto a espectrometria de emissão ótica com plasma acoplado indutivamente (do inglês, ICP OES) quanto a espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente (do inglês, ICP-MS) são técnicas multielementares, contemplando mais uma vez os preceitos da química analítica verde. Todavia, a última apresenta maior sensibilidade (THOMAS, 2013).

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA & OBJETIVOS

Nesta seção é apresentada uma revisão bibliográfica demonstrando a importância da Química Verde e também da Química Analítica Verde nos estudos relacionados ao preparo de amostras e ao desenvolvimento de solventes verdes. Além disso, um levantamento sobre os solventes eutéticos profundos (do inglês, DES) e solventes eutéticos profundos naturais (do inglês, NADES), suas características e aplicações na área analítica será apresentado. Ao final dessa seção são expostos os objetivos gerais e específicos da tese.

### 2.1 Revisão Bibliográfica

#### 2.1.1 Química Verde e Química Analítica Verde

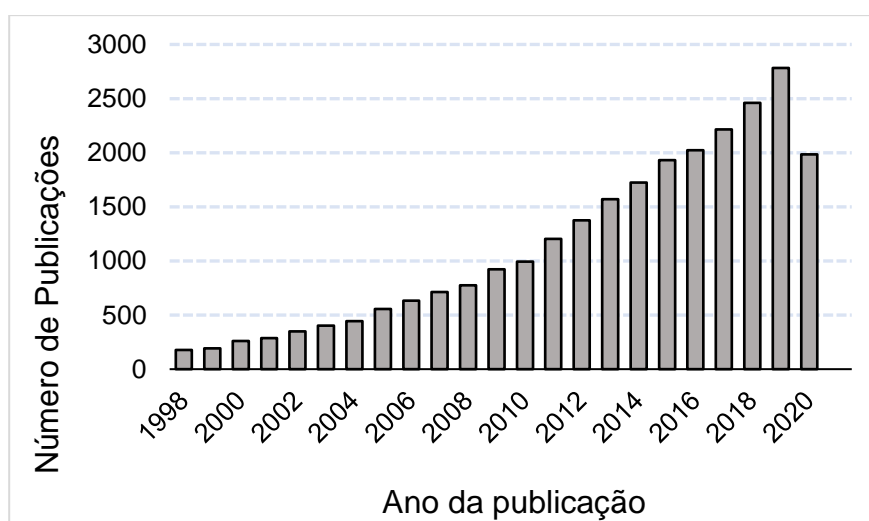
A preocupação com questões ambientais devido ao crescimento dos processos industriais ocorreu gradualmente, com os primeiros indícios na década de 1940 (FARIA & FÁVARO, 2011). As questões ambientais começaram a ter uma maior atenção a partir de 1949 por meio da Conferência Científica da Organização das Nações Unidas sobre a Conservação e Utilização de Recursos (do inglês, UNSCCUR) nos Estados Unidos. Em paralelo a outros eventos com a temática de meio ambiente, Cathcart (1990) apresentou uma discussão referente ao crescimento das atividades das industriais químicas irlandesas e provavelmente foi a primeira vez que o termo “Química Verde” foi usado na literatura (MARCO et al., 2019).

Anastas & Williamson (1996) abordaram a Química Verde com a filosofia que é usada atualmente. Segundo Anastas (1999), o principal objetivo da Química Verde é a redução ou até mesmo a eliminação da geração de resíduos tóxicos visando a minimização dos impactos ambientais, prezando pela saúde dos operadores. Anastas & Warner (1998) publicaram o que é considerado o primeiro manual de Química Verde no qual havia a proposta de 12 princípios, no que conhecemos hoje como “Os 12 princípios da Química Verde”.

Assim, a Química Verde vem conquistando cada vez mais espaço nas pesquisas, além do uso da química para a prevenção da poluição ambiental (FARIA & FÁVARO, 2011). Desde a publicação de Anastas & Warner (1998) referente aos “12

Princípios da Química Verde”, o número de publicações tratando dessa temática aumentou de forma expressiva como apresentado na Figura 1 com base em pesquisa on-line realizada dia 20 de setembro de 2020 no banco de dados do site *Web of Science*®, buscando pelo termo “*green\* chemistry*”.

**Figura 1.** Número de publicações desde 1998 para “*green\* chemistry*”, segundo o *Web of Science*®.



Fonte: elaborado pela autora.

É de conhecimento a importância da utilização dos 12 princípios da Química Verde para o desenvolvimento de métodos analíticos com a finalidade de diminuição dos impactos ambientais por meio da redução ou eliminação do uso e geração de substâncias perigosas nas etapas da sequência analítica (ANASTAS, 1999). Desse modo, houve a adaptação desses princípios a fim de se adequar à química analítica, surgindo o conceito de Química Analítica Verde. Contudo, somente em 2013 houve uma adaptação para os “12 princípios da Química Analítica Verde”, que estão descritos na Tabela 1 (GAŁUSZKA, MIGASZEWSKI & NAMIEŚNIK, 2013).

**Tabela 1.** Os 12 princípios da Química Analítica Verde propostos por Gałuszka, Migaszewski & Namieśnik (2013).

<b>Número</b>	<b>Princípio</b>
1	Sempre que possível aplicar técnicas analíticas diretas para evitar tratamento da amostra.
2	Tamanho mínimo da amostra e número mínimo de amostras possível.
3	Sempre que possível realizar medições <i>in situ</i> .
4	A integração de processos e operações analíticas que economiza energia e reduz o uso de reagentes.
5	Sempre que possível utilizar métodos automatizados e miniaturizados.
6	Sempre que possível evitar os processos de derivatização.
7	A geração de um grande volume de resíduos deve ser evitada e deve ser fornecida uma gestão adequada dos resíduos químicos.
8	Os métodos multielementares ou multiparâmetros são preferidos.
9	O uso de energia deve ser minimizado.
10	Reagentes obtidos de fonte renovável devem ser preferidos.
11	Os reagentes tóxicos devem ser eliminados ou substituídos.
12	Aumento da segurança do operador.

Fonte: elaborado pela autora.

Portanto, novas metodologias analíticas estão sendo desenvolvidas com diferentes estratégias como a miniaturização, análise direta com menores

manipulações de amostra, métodos de análise multielementares, substituição de reagentes tóxicos, redução do consumo de reagentes e solventes, geração de menores quantidades de resíduos, menores consumo energia e menores risco para operador (GAŁUSZKA; MIGASZEWSKI & NAMIEŚNIK, 2013). Tais estratégias tem mostrado um progresso na consciência ambiental no qual está intimamente ligada na preservação de ecossistemas e a contribuição na proteção do meio ambiente e na segurança do operador (ARMENTA; GARRIGUES & DE LA GUARDIA, 2015).

### 2.1.2 Solventes para o preparo de amostra

A etapa de preparo de amostra é primordial para uma análise precisa e é considerada a etapa mais demorada da sequência analítica, pois inclui procedimentos como homogeneização, extração, digestão, limpeza e pré-concentração (VIAN et al., 2017). Uma vez que tais procedimentos necessitam do uso de elevado volume de solventes, há um grande interesse no desenvolvimento de alternativas menos tóxicas por meio da redução (ou eliminação) ou até mesmo a substituição de solventes tradicionais perigosos (ERYTHROPEL, et al., 2018; PACHECO-FERNÁNDES & PINO, 2019).

Normalmente, a amostra deve ser convertida em uma forma apropriada para a determinação do analito alvo. Embora algumas técnicas permitam a análise direta do sólido, como por exemplo, a espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por laser (do inglês, LIBS), a grande parcela das medidas instrumentais ainda envolve a introdução de uma amostra na forma de solução (ROCHA et a, 2019).

Portanto, os solventes representam um papel fundamental na etapa de preparo da amostra (PŁOTKA-WASYLKA et al., 2017). Solventes convencionais com baixa massa molecular e alta volatilidade apresentam um maior potencial de exposição ocupacional, aumentando o risco, pois muitos possuem propriedades tóxicas (ERYTHROPEL, et al., 2018). Por essas razões, a minimização do uso de solvente ou ainda a substituição tem sido uma área ativa na química verde (VIAN et al., 2017; PŁOTKA-WASYLKA et al., 2017; ERYTHROPEL, et al., 2018; ARMENTA; GARRIGUES & DE LA GUARDIA, 2015).

Quando se trata da definição de um solvente verde apenas é considerada a sua origem, e aspectos relacionados a sua síntese não são levados em consideração (ARMENTA et al., 2017). É extremamente difícil um solvente atender todos os

requisitos verdes, como prevenção de resíduos, eficiência energética, uso de matéria-prima renovável e baixa toxicidade e biodegradação (WYPYCH & WYPYCH, 2019).

Todavia, fatores como concentração e volume do solvente devem ser considerados para classificar um solvente como ambientalmente amigável em um procedimento analítico (ARMENTA et al., 2017). Além disso, o termo “solvente verde” é relativo, pois a química verde foi definida por Anastas & Warner (1998) como redução de danos e não como processos que não causam danos. Portanto, um novo solvente pode ser denominado verde quando é “mais verde” em comparação com um outro solvente que deve ser substituído (HÄCKL & KUNZ, 2018).

### 2.1.3 Solventes eutéticos naturais profundos (NADES)

Os solventes eutéticos profundos (do inglês, DES) são formados por misturas de sais de amônio, um composto receptor de ligação de hidrogênio (do inglês, HBA), com um composto doador de ligação de hidrogênio (do inglês, HBD) dando origem à uma mistura que forma um sistema eutético líquido na temperatura ambiente e com ponto de fusão abaixo do apresentado por cada precursor individualmente (ABBOTT et al., 2003). Quando a mistura de dois componentes apresenta um ponto de fusão menor comparado aos reagentes avaliados individualmente, há o ponto eutético. (SMITH, VAN NESS & ABBOTT, 1949).

Com o objetivo de aumentar o número de combinações assim como ampliar suas aplicações, além dos compostos sintéticos, os DES começaram a ser preparados a partir de compostos naturais encontrados como metabólicos comuns nas células, tais como ácidos orgânicos, açúcares, ureia ou derivados de colina. Portanto, surgiu uma subclasse desse tipo de solvente, os solventes eutéticos naturais profundos (do inglês, NADES) (CHOI et al., 2011; DAI et al., 2013).

Combinações de cloreto de colina e seus derivados (atuando como HBA) como glicose, xilitol, ribitol, ácido cítrico, ácido málico, ácido oxálico, ácido tartárico, ácido propanoico, frutose (atuando como HBD) são os principais exemplos relatados na literatura na preparação dos NADES (ESPINO et al., 2016, FERNÁNDEZ et al., 2018, DAI et al., 2013).

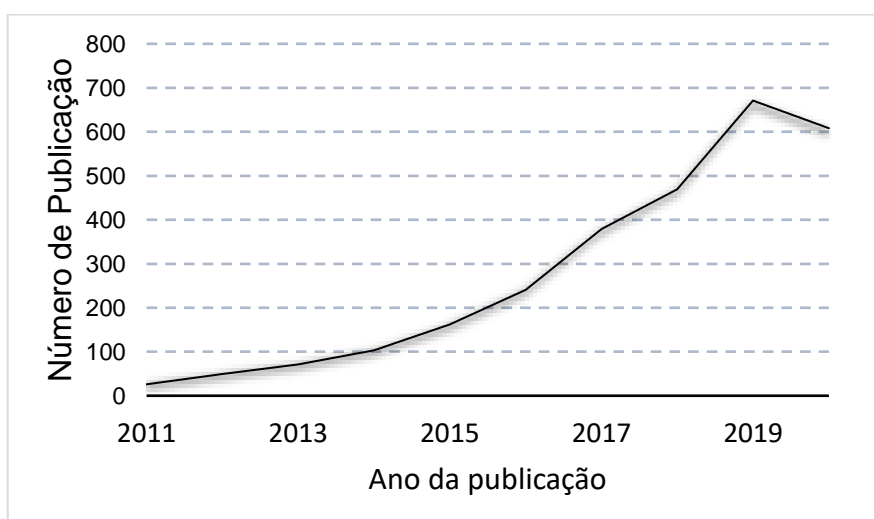
O xilitol é um álcool de açúcar pentose usado como um substituto de açúcar na indústria alimentícia por apresentar baixa caloria. Também apresenta aplicações importantes nas indústrias farmacêuticas e alimentícias devido a suas propriedades

edulcorantes e inibição do crescimento microbiano (MÄKINEN, 2000). O ácido málico é um ácido orgânico que é encontrado naturalmente em maçã e pêra. É muito empregado na indústria alimentícia como acidulante, aromatizante e estabilizante e aditivo e na indústria farmacêutica é utilizado na higienização e tratamento de queimaduras (JENSEN, 2007). O ácido cítrico é amplamente utilizado na indústria alimentar como um aditivo natural seguro e também na indústria farmacêutica como anticoagulante, mascarador de sabor. Além disso, há estudos da utilização do ácido cítrico em biopolímeros, aplicações biomédicas além do uso ambientalmente correto para a remoção de metais (DHILLON et al., 2011).

Os NADES são encontrados em plantas e estão envolvidos na biossíntese e armazenamento de uma grande parcela de metabólitos celulares insolúveis em água. Além disso, apresentam um papel fundamental na proteção de plantas em condições extremas de seca ou frio. Nessas condições, as células podem sobreviver formando NADES e as últimas moléculas de água são retidas fortemente, consequentemente evitando a sua perda (CHOI et al., 2011).

Em relação aos DES e NADES, essa é uma área recente de pesquisa e nos últimos 10 anos o número de publicações referente a esta classe de solventes aumentou de forma significativa, como mostra a Figura 2. A pesquisa foi realizada no banco de dados do site *Web of Science*®, buscando pelo termo “*Deep Eutectic Solvent*” OR “*Natural Deep Eutectic Solvent*”, no dia 20 de setembro de 2020.

**Figura 2.** Número de publicações nos últimos 10 anos para “*Deep Eutectic Solvent*” OR “*Natural Deep Eutectic Solvent*”, segundo o *Web of Science*®.



Fonte: elaborado pela autora.



É possível observar na Figura 3 que há um interesse entre estudos relacionados aos solventes eutéticos como extratores por meio da relação entre as palavras “*Deep Eutectic Solvent*” e “*extraction*” no *cluster* azul. Estudos de propriedades como viscosidade e densidade são importantes, pois permitem inúmeras abordagens dos métodos de extração (ESPINO et al., 2016; DAI et al., 2013), e o ajuste de tais propriedades é possível por meio da variação do tipo e também da proporção dos precursores dos NADES. O interesse do estudo da viscosidade e densidade dos NADES pode ser notado na correlação entre as palavras “*Deep Eutectic Solvent*”, “*density*”, “*densities*” e “*viscosity*” no *cluster* vermelho.

Os DES surgiram com uma alternativa para usufruir das propriedades dos líquidos iônicos (do inglês, ILs), tais como pressão de vapor insignificante, boa estabilidade térmica e alto poder de extração para diferentes analitos, além de serem mais ambientalmente amigáveis (SINGH & SAVOY, 2020; GHANDI, 2014; DE MARÍA, et al., 2017). Os DES não devem ser vistos como um ILs de baixo custo, uma vez que os DES são misturas e não compostos (MARTINS, PINHO & COUTINHO, 2018).

Uma das principais vantagens dos NADES é a facilidade da sua preparação, sem etapas de purificação, uma vez que para prepará-los basta misturar pelo menos dois componentes, HBD e HBA (PAIVA et al., 2014; SOCAS-RODRÍGUEZ et al., 2020). Além disso, esse tipo de solvente é considerado de baixo custo em razão da maior disponibilidade dos seus precursores (GONZALEZ, CHOI & VERPOORTE, 2020; SOCAS-RODRÍGUEZ et al., 2020).

As três principais metodologias descritas de preparação dos NADES são a síntese por aquecimento e agitação, por evaporação e pelo método de liofilização (SOCAS-RODRÍGUEZ et al., 2020). Esses métodos demonstram variação de tempo de aquecimento e temperatura, proporção dos componentes e o volume de água empregado.

O método de aquecimento e agitação consiste na mistura de dois componentes com quantidades calculadas de água e esta solução formada é colocada em agitação e aquecimento em banho maria até 50 °C até a formação de um líquido transparente (DAI et al., 2013). Diferentes NADES cujo precursores foram cloreto de colina: glicerina: água e cloreto de colina: glicerina foram sintetizados a 50 °C e agitação magnética por aproximadamente 30 minutos (LAPEÑA et al., 2019). Diferentes combinações de cloreto de colina, ácido láctico, glicerol, propilenoglicol, frutose, lisina,

ácido málico, prolina foram usadas para síntese de diferentes NADES em agitação e aquecimento a 70 °C (FUNARI et al., 2019).

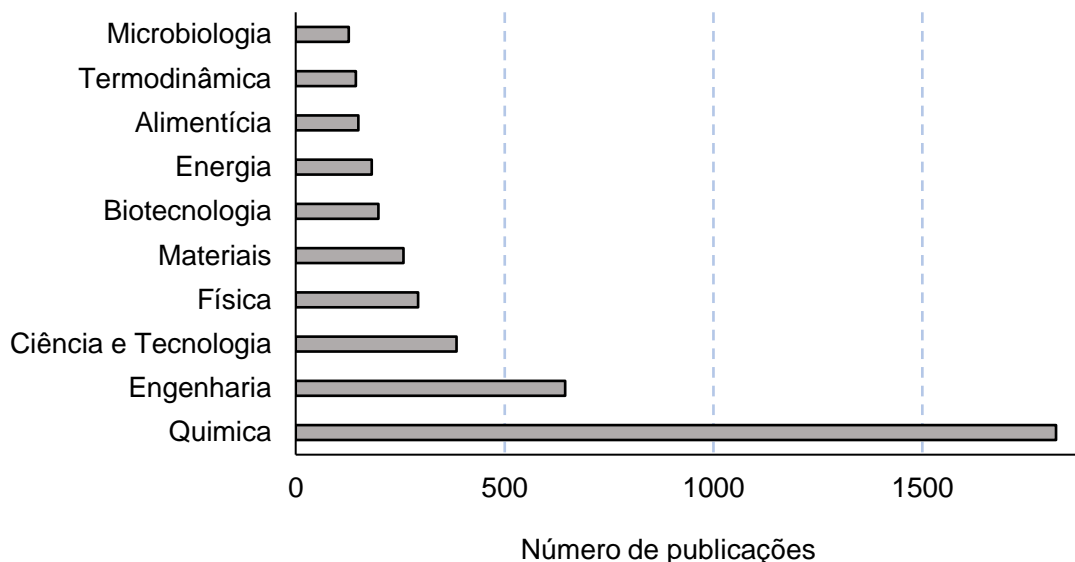
No método de evaporação, os componentes são dissolvidos em água e evaporados a 50 °C em evaporador rotativo e o líquido obtido é colocado em dessecador até atingir massa constante (DAI et al., 2013). Os mesmos autores sintetizaram mais de cem combinações de NADES por esse método, obtendo um líquido homogêneo e viscoso. Martins et al., (2014) sintetizaram oito diferentes NADES combinando cloreto de colina, sucrose, xilose, glucose, ácido cítrico e ácido tartárico com diferentes proporções molares e porcentagem de água pelo método de evaporação a 50 °C até a formação de um líquido viscoso e homogêneo.

O método de liofilização consiste em congelar e em seguida liofilizar uma solução com os precursores, obtendo um líquido viscoso e claro (GUTIÉRREZ et al., 2009). O método de liofilização permite uma síntese a baixa temperatura, evitando a degradação térmica dos componentes (JEONG et al., 2015; NAM et al., 2015). NADES a base de cloreto de colina combinado com diferentes açúcares e ácidos orgânicos foram sintetizados por meio de liofilização e, de trinta combinações realizadas, somente 12 foram bem sucedidas (NAM et al., 2015).

O número de combinações é praticamente ilimitado e as propriedades dos NADES são devido a sua composição (DAI et al., 2013), sendo difícil prever quais proporções molares darão origem a um NADES (PAIVA et al., 2014). A composição e as propriedades físicas, térmicas, químicas ou até mesmo biológicas necessitam ser caracterizadas. As interações intermoleculares entre compostos precursores (envolvendo ligações de hidrogênio, forças de Van der Waals e interações eletrostáticas) resultam em diferentes propriedades físico-químicas desses solventes de baixo custo (ESPINO et al., 2016; DAI et al., 2013; FERNÁNDEZ et al., 2018).

Devido as suas consideráveis vantagens em relação aos outros tipos de solventes, há uma ampla aplicação dos NADES nas mais variadas áreas, como mostra a Figura 4. A pesquisa foi realizada no banco de dados do site *Web of Science*®, buscando pelo termo “*Deep Eutectic Solvent*” OR “*Natural Deep Eutectic Solvent*”, no dia 20 de setembro de 2020.

**Figura 4.** As 10 áreas mais relevantes de publicações nos últimos 5 anos para “*Deep Eutectic Solvent*” OR “*Natural Deep Eutectic Solvent*”, segundo o *Web of Science*©.



Fonte: elaborado pela autora.

Dentro da química, os NADES oferecem uma oportunidade para estudos e desenvolvimento nas mais diversas áreas: extração para análise elementar (GHANEMI, et al., 2014; MATONG et al., 2017) ou orgânica (WEI et al., 2015; ZHANG, TANG & ROW, 2014; CUI et al., 2015), síntese orgânica e catálise (PAWAR, JARAG & SHANKARLING, 2011; MOBINIKHALEDI & ARIMI, 2013; HAWKINS & HANDY, 2013), polímeros (MARTINS et al., 2014), eletroquímica (ZHENG et al., 2014; HAERENS, et al., 2009), especiação química (ALTUNAY, ELIK & GÜRKAN, 2019; PANHWAR, TUZEN & KAZI, 2017; YILMAZ & SOYLAK, 2016) e nanotecnologia (YIN et al., 2020). Além disso, estudos mostram eficiência dos NADES na área alimentícia, cosmética e farmacêutica em processos de extração e separação (LI et al., 2016; RADOŠEVIĆ et al., 2016; TOMÉ et al., 2018).

Industrialmente, há uma importante aplicação dos NADES para obtenção de extratos vegetais comercializados pela marca *Eutectys*<sup>TM</sup> do grupo *Naturex*. Segundo a própria marca, trata-se de um solvente composto de seis diferentes extratos botânicos com propriedades restauradoras e antienvhecimento que foram submetidos ao processo de eutectigênese. A eutectigênese é um processo de extração patenteado que consiste na introdução de um material biológico (que inclui folha de oliveira, flor de açafraão, cavalinha, flor de cerejeira e outros ingredientes) no

NADES a temperatura de até 60 °C que, após filtração, o extrato derivado de vegetal obtido é utilizado em cosméticos (LAVAUD et al., 2016).

Outras subclasses dos solventes eutéticos estão surgindo com a finalidade de aumentar suas possibilidades de aplicações. Os solventes eutéticos profundos terapêuticos (do inglês, THEDES) emprega como precursor pelo menos um ingrediente farmacêutico ativo, utilizando por exemplo lidocaína, ibuprofeno, ácido acetilsalicílico, ácido benzóico e ácido fenilacético (AROSO et al., 2017; DUARTE et al., 2017). O interesse nesses solventes é devido ao aumento da solubilidade, permeabilidade e absorção das drogas (TOMÉ et al., 2018). Estudos mostraram que THEDES à base de cloreto de colina e mentol aumentaram a solubilidade e permeabilidade quando complexados com ácido acetilsalicílico, ácido benzóico e ácido fenilacético, sugerindo que esses sistemas proporcionam uma entrega mais eficiente (DUARTE et al., 2017).

Solventes eutéticos profundos a base de aminoácidos (do inglês, AADES) são uma subclasse na qual pelo menos um dos seus precursores são aminoácidos, sendo a prolina o componente mais usual (RAHMAN et al., 2020). Os AADES tem sido utilizado principalmente em aplicações biológicas como bioconversão e biocatálise (RAHMAN et al., 2020).

Quando se adiciona aos precursores  $\text{FeCl}_4^-$  (íon tetracloroferrato), o produto resultante é um solvente eutético profundo magnético (do inglês, MDES). Os MDES apresentam uma susceptibilidade a campos magnéticos externos, podendo ser isolado de modo fácil e rápido por separação magnética no preparo da amostra (KHEZELI & DANESHFAR, 2017; PIAO et al., 2021). Além disso, o uso do MDES permite minimizar a aglomeração das partículas e conseqüentemente aumentar a eficiência de extração (SHISHOV, et al., 2020).

Com a finalidade de aumentar a eficiência de extração de analitos apolares de soluções aquosas, surgindo os solventes eutéticos profundos hidrofóbicos (do inglês, HDES) (DWAMENA, 2019; LEE, JUNG & PARK, 2019). Os primeiros HDES relatados são constituídos de mentol e ácidos naturais ou sais de amônio quaternários com ácido decanoico (RIBEIRO et al., 2015; VAN OSCH et al., 2015). Os HDES são uma alternativa de substituição de solventes orgânicos ou ILs hidrofóbico de alto custo que vem crescendo gradativamente na área de extração líquido-líquido (do inglês, LLE) e microextração em fase líquida (do inglês, LPME) (LEE, JUNG & PARK, 2019).

#### 2.1.4 Extração assistida por ultrassom (UAE) e extração assistida por radiação micro-ondas (MAE) utilizando solventes eutéticos naturais profundos (NADES)

A extração é um dos principais procedimentos no preparo de amostras no qual a seleção de uma técnica adequada depende de fatores como simplicidade, custo, toxicidade e praticidade, além da disponibilidade instrumental (TOBISZEWSKI et al., 2009). Os métodos de extração em amostras sólidas permitem a transferência do analito para a fase líquida por meio de mecanismos de desorção, difusão ou solvatação e o solvente extrator deve ser selecionado considerando as características da matriz e dos analitos (DEAN & CRESSWELL, 2002).

O potencial de extração dos NADES pode estar relacionado a sua capacidade de formação de ligação de hidrogênio com os analitos orgânicos (ESPINO et al., 2016). Muitas questões ainda devem ser estudadas referentes ao desempenho dos NADES na extração elementar. É desejável que um solvente não apresente elevada viscosidade devido a sua menor difusividade (DWAMENA, 2019). Além disso, é importante que o solvente não seja degradado à temperatura ambiente, pois não poderia ser aquecido e utilizado na etapa de preparo de amostra (SANTANA et al., 2019a).

A otimização dos parâmetros de um procedimento de extração como tempo de aquecimento e temperatura, proporção dos componentes e o uso dos NADES em combinação com outras técnicas verdes, como extração assistida por ultrassom (do inglês, UAE) ou ainda extração assistida por radiação micro-ondas (do inglês, MAE) são alternativas para a obtenção de resultados satisfatórios (ESPINO et al., 2016).

A UAE consiste na ação de ondas mecânicas com frequências maiores que 20 kHz (não audíveis por humanos), no qual a sonificação de um líquido por meio dessas ondas leva ao fenômeno da cavitação acústica (KORN et al., 2019; MASON & LORIMER, 2002). A cavitação acústica consiste na nucleação, crescimento e colapso de microbolhas em líquidos formadas durante a exposição do meio reacional (RUTKOWSKA, NAMIESNIK & KONIECZKA, 2017). O colapso dessas microbolhas gera perturbações significativas, refletindo em áreas pontuais de alta pressão e temperatura, e também a formação de microjatos (VINATORU, MASON & CALINESCU, 2017). Tais microjatos são responsáveis pela erosão da matriz sólida, favorecendo a dispersão do solvente no meio reacional por meio do aumento da área superficial, e conseqüentemente facilitando o processo de extração (KORN et al.,

2019; VINATORU, MASON & CALINESCU, 2017). No geral, mecanismos de cavitação, fragmentação, erosão, efeito sonoro-capilar, sonoporação, estresse de cisalhamento local e destruição de texturação também agem na UAE, cuja eficiência provavelmente ocorre devido à uma combinação desses efeitos (CHEMAT et al., 2017).

Nos últimos anos há um interesse no uso do UAE devido a uma série de vantagens como a redução do tempo de extração, alta eficiência, baixo consumo de reagentes, minimização de riscos de contaminação quando a amostra é preparada diretamente no frasco e aumento da segurança do operador devido ao procedimento geralmente ser conduzido à temperatura ambiente (KORN et al., 2019).

Entretanto, os mesmos autores relatam limitações relacionadas com a robustez, pois a distribuição da intensidade ultrassônica no interior da cavidade do banho não é homogênea podendo variar conforme o volume do solvente extrator, material do frasco, número e posição de frascos expostos simultaneamente a irradiação. Apesar da UAE oferecer tempos curtos de extração, há a diminuição da frequência analítica, uma vez que o número de frascos inseridos no banho simultaneamente é limitado (VINATORU, MASON & CALINESCU, 2017).

Yilmaz & Soylak (2016) utilizaram microextração de fase líquida assistida por ultrassom (do inglês, UA-LPME) como DES composto de cloreto de colina e fenol para a determinação de Cr (III) e (V) em amostras de água por espectrometria de absorção atômica com chama (do inglês, FAAS). Arain, Yilmaz & Soylak, (2016) utilizaram também UA-LPME em material de referência certificado (do inglês, CRM) de cebola verde (NCS ZC 73033) para a determinação de Co utilizando DES a base de cloreto de colina e fenol como solvente extrator. Nestes casos há desvantagem do uso do fenol como um dos componentes das sínteses dos DES por ser considerado tóxico e cancerígeno, afetando a sobrevivência e reprodução dos organismos marítimos como também a saúde humana (DAVÍ & GNUDI, 1999; WOLFF et al., 2015).

Matong et al., (2017) utilizaram o UAE para a determinação de As, Cr, Mo, Sb, Se e V em amostras de solo utilizando NADES formado por cloreto de colina e ácido oxálico (proporção molar 1:2). O sobrenadante foi analisado por espectrometria de emissão ótica com plasma acoplado indutivamente (do inglês, ICP OES) e obtiveram recuperações na faixa de 99 % – 102 %.

Amostras de água e alimentos foram submetidas a UAE usando DES a base de cloreto de colina e diferentes HBD e posteriormente analisados por espectrometria

de absorção atômica com atomização eletrotérmica (do inglês, ETAAS). Material de referência certificado de água (CRM SLRS-5) e cogumelo (CRM CS-M3) foram analisados e o método de adição e recuperação foi submetido em amostras reais, com recuperações aceitáveis (PANHWAR et al., 2018).

Procedimento de UAE empregando DES a base de cloreto de colina e ácido láctico foi aplicado na extração de Fe em amostras de fígado de ovinos, bovinos e de frango utilizando FAAS para detecção. A exatidão do método proposto foi verificada por testes em CRM de fígado bovino (NIST SRM 1577b). O método apresentou resultados satisfatórios, com recuperações superiores a 95 % e limite de detecção (do inglês, LOD) igual a  $0,026 \mu\text{g mL}^{-1}$  (YILMAZ & SOYLAK, 2015).

Apesar da extração assistida por radiação micro-ondas (do inglês, MAE) ter surgido 35 anos depois da UAE, é uma técnica que vem ganhando destaque nos últimos anos (VINATORU, MASON & CALINESCU, 2017). Os fenômenos decorrentes da absorção da radiação na frequência de micro-ondas proporcionam um rápido aumento da temperatura (KINGSTON & HASWELL, 1997). A oscilação do campo elétrico na frequência da radiação micro-ondas induz um alinhamento dos polos das moléculas, ocorrendo a dissipação de energia micro-ondas em forma de calor, e conseqüentemente aquecendo a solução (KINGSTON & HASWELL, 1997). O mecanismo de transferência de energia da radiação micro-ondas envolve a absorção de energia direta pelo material aquecido, promovendo dessa forma um aquecimento uniforme e seletivo (KINGSTON & HASWELL, 1997).

O solvente é um parâmetro de suma importância para a MAE e por isso há muitos estudos relacionados a diferentes solventes como água, ácidos, ILs, DES (ou NADES). O solvente para a MAE deve ser selecionado com base na solubilidade do analito de interesse, interação com a matriz da amostra e constante dielétrica. Solventes com altas constantes dielétricas absorvem fortemente a energia de micro-ondas e, portanto, aumentam a eficiência da extração (DE LA CALLE & COSTAS-RODRÍGUEZ, 2017).

A MAE oferece vantagens como menores tempos de extração, alta eficiência, maior segurança e condições de trabalho para os operadores devido ao desligamento instantâneo (VINATORU, MASON & CALINESCU, 2017). Além disso, é possível a extração de diferentes espécies químicas sem afetar a estrutura em diferentes tipos de matrizes ambientais e biológicas (VINATORU, MASON & CALINESCU, 2017; DE LA CALLE & COSTAS-RODRÍGUEZ, 2017).

Ghanemi et al., (2014) utilizaram MAE com NADES a base de cloreto de colina e ácido oxálico em CRM de proteína de peixe para a determinação de Cu, Zn, Ni e Fe e obtendo recuperações acima de 96 %. A MAE foi utilizada para a extração de compostos fenólicos em *Cajanus cajan* obtendo recuperações variando 96 a 102 % com parâmetros de temperatura, tempo, relação solvente e sólido otimizados (WEI et al., 2015). DES de cloreto de colina e hexadienol foi utilizado como solvente extrator em MAE em raízes de plantas para a determinação de genisteína e apigenina e gínestina com parâmetros de tempo, temperatura e relação líquido e sólido otimizados e recuperações entre 98 e 100 % (CUI et al., 2015).

### 2.1.5 Técnicas com fonte de plasma

Quando se trata de quantificação de analitos inorgânicos, as técnicas espectrométricas são alternativas viáveis. Na espectrometria de emissão ótica (do inglês, OES) a detecção da radiação eletromagnética emitida pelos átomos e íons (no estado gasoso) excitados é realizada nas regiões do espectro eletromagnético visível e ultravioleta e infravermelho próximo. Uma fonte de alta energia é utilizada para a conversão do átomo no seu estado excitado, no qual o elétron mais externo é promovido para um orbital de mais alta energia. Quando o elétron retorna para o orbital de mais baixa energia é emitido um fóton de frequência específica. Esse feixe de radiação é encaminhado para o policromador, no qual ocorre a seleção do comprimento de onda específico para ser quantificado (SKOOG, et al., 2014).

A excitação dos elementos a serem analisados é realizada por meio do plasma induzido de argônio. O plasma é um gás parcialmente ionizado de alta temperatura (8000 até 10000 K). Para a formação do plasma, um fluxo de argônio (variando de 8 a 20 mL  $\text{min}^{-1}$ ) flui através da tocha (combinação de três tubos concêntricos de quartzo), que está envolvida em uma bobina de indução e alimentada por um gerador de rádio-frequência. A bobina produz uma fagulha responsável pela promoção dos primeiros elétrons e a geração de íons. Os íons resultantes e seus elétrons associados interagem com o campo magnético oscilante de alta frequência e tal interação leva a um movimento anelar fechado formando o plasma (SKOOG, et al., 2014; KRUG et al., 2001).

O argônio é usado para a formação do plasma devido ao seu alto potencial de ionização, que é superior a maioria dos elementos da tabela periódica, maior

estabilidade e eficiência de decomposição de óxidos (diminuindo interferências). Além disso, comparado aos outros gases nobres, o argônio apresenta o menor custo. (NOVAES et al., 2016; GIL et al., 2007; AYDIN, AYDIN & HAMAMCI, 2013).

Apesar de não ser uma técnica espectroscopia, a espectrometria de massas também vem se tornando cada vez mais usual para análise elementar. A espectrometria de massa com plasma acoplado indutivamente (do inglês, ICP-MS) apresenta como fonte de excitação o plasma acoplado indutivamente, porém utiliza o espectrômetro de massas para a separação dos íons formados com base na razão massa/carga ( $m/z$ ) (THOMAS, 2013). O analisador de massas, geralmente é composto por hastes cilíndricas opostas entre si que formam um campo magnético onde haverá a passagem dos íons. A voltagem é ajustada de acordo com os íons de certa  $m/z$ , criando uma trajetória estável para que haja uma travessia do analisador até o detector (THOMAS, 2013).

As técnicas de ICP-MS e ICP OES apresentam algumas diferenças e similaridades. Ambas as técnicas são multielementares, porém o ICP-MS é mais sensível que o ICP OES (TYLER, 1994). O uso de técnicas com fonte de plasma e introdução de amostra pelo sistema de nebulização pneumática é sujeito a interferências matriciais, tendo como consequência o efeito de transporte de amostras (EVANS & GIGLIO, 1993; KRUG et al., 2001). O efeito de transporte é ocasionado pela diminuição do sinal analítico devido por exemplo a um aumento da viscosidade ou ainda a composição da matriz (THOMAS, 2013; KRUG et al., 2001). Em amostras com alta viscosidade haverá uma maior dificuldade na formação das gotículas no nebulizador e na separação pela câmara de nebulização, consequentemente reduzindo o sinal analítico (THOMAS, 2013; KRUG et al., 2001).

O uso de altas concentrações de ácidos na etapa de preparo de amostra também ocasiona uma interferência matricial. Soluções ácidas concentradas além de serem mais viscosas, ocasionam a diminuição da temperatura do plasma e consequentemente diminuem a eficiência de ionização (FIALHO, PEREIRA & NÓBREGA, 2011; TODOLÍ & MERMET, 1999). O efeito de transporte também pode ser ocasionado pela alta concentração de carbono, afetando a estabilidade do plasma (SUN, et al., 2000; EVANS & GIGLIO, 1993; GRINDLAY et al., 2013).

As interferências físicas acontecem quando há o uso de amostras com um alto teor de sólido dissolvido. O alto teor de sólido dissolvido pode danificar o sistema de introdução de amostra, diminuir a vida útil da tocha ou ainda ocasionar em uma

diminuição no sinal devido a problemas durante o transporte (KARANDASHEV et al., 2016).

ICP-MS foi utilizado para a determinação total de Cu, Mn, Mo e Zn em amostras de cevada após o procedimento de extração com agitação em vórtex por 30 minutos utilizando NADES a base de cloreto de colina. Os valores de desvio de padrão relativo (do inglês, RSD) variaram entre 0,52 a 2,36 % enquanto que os valores de LOD foram entre 0,05 a 1,2  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Método de adição e recuperação foi utilizado para a avaliação da exatidão, obtendo recuperações entre 90 a 103 % (OSOWSKA & RUZIK, 2019).

Cinco diferentes NADES a base de cloreto de colina foram preparados e utilizados como solventes extratores em amostras de leite em pó e fórmula infantil, e os extratos foram analisados em ICP OES para a determinação de Zn. Os autores utilizaram CRM de leite em pó (ERM BD 150) para a avaliação da exatidão do método que posteriormente foi aplicado em amostras reais com recuperações variando entre 73 a 106 % com LOD de 4,2  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Além disso, as curvas de calibração foram preparadas em meio de NADES para compatibilização de matriz (KURT, BAĞDA & ALTUNDAĞ, 2020).

Para a extração de Cu em amostras de sedimentos foi utilizado DES a base de diferentes combinações de cloreto de colina com ureia e ácido oxálico. Para a avaliação da exatidão do método foi utilizado CRM de sedimento de lago (BCR-280R). Os LOD e limite de quantificação (do inglês, LOQ) foram de 1,2  $\mu\text{g L}^{-1}$  e 3,97  $\mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente. O método proposto foi aplicado em amostras reais de sedimento de rios e lagos (BAĞDA et al., 2017).

ICP OES também foi utilizado por Bağda, Altundağ & Soylak (2017) para a quantificação de Mg em amostras de vegetais após o uso de NADES preparados a partir das combinações de cloreto de colina e ácidos orgânicos como solvente extrator. A exatidão do método proposto foi avaliada com o uso de CRM de folhas de tomate (CRM 1573a) com LOD na faixa de 0,34 a 1,23  $\mu\text{g L}^{-1}$  e coeficiente de correlação superior a 0,99. Além disso, as concentrações de manganês nos extratos foram determinadas com a tocha em modo radial e amostrador automático.

Matong et al., (2017) utilizaram ICP OES para a determinação de As, Cr, Mo e Sb em amostras de solos após um procedimento de UAE utilizado NADES formados a partir de cloreto de colina e ácido oxálico. CRM de solo (SRM 2709a) foi utilizado para a verificação da exatidão do método, obtendo recuperações acima de 99 %, como LOD variando de 0,3 a 0,07  $\mu\text{g g}^{-1}$  e RSD abaixo de 2,7 %.

## 2.2 Objetivos

### 2.2.1 Objetivo Geral

Realizar a síntese de NADES empregando diferentes misturas de ácido cítrico, ácido málico, xilitol e água por três diferentes métodos. Caracterizar e avaliar suas propriedades físico-químicas. Utilizar os NADES produzidos como solventes em diferentes técnicas de extração e tipos de amostras para a determinação elementar por ICP-MS e ICP OES. E por fim, por meio de um planejamento de misturas, otimizar a proporção de cada um dos precursores dos três solventes com base nos valores de densidade e viscosidade e utilizar esses solventes nas técnicas de UAE e MAE para amostras de tecido vegetal e animal para a determinação de As, Cd, Hg, Pb, Se e V por ICP-MS.

### 2.2.2 Objetivos específicos

#### 2.2.2.1 *Objetivos específicos da Seção 3*

- Sintetizar NADES utilizando diferentes misturas de ácido málico, ácido cítrico, xilitol e água por três diferentes métodos: agitação e aquecimento, síntese assistida por micro-ondas e síntese assistida por ultrassom;
- Caracterizar os NADES sintetizados pelos diferentes métodos por meio de infravermelho, termogravimetria (do inglês, TG), densidade e viscosidade;
- Avaliar os efeitos dos diferentes precursores e diferentes métodos na síntese dos NADES e
- Comparar os métodos de síntese no quesito ambientalmente amigável por meio da *Eco-Scale*.

#### 2.2.2.2 *Objetivos específicos da Seção 4*

- Sintetizar três NADES por diferentes combinações de ácido málico, ácido cítrico, xilitol e água pelo método de agitação e aquecimento;
- Caracterizar os NADES por meio de infravermelho, TG, calorimetria exploratória diferencial (do inglês, DSC), densidade e viscosidade;

- Aplicar os NADES sintetizados como solventes extratores em UAE em amostras de tecido vegetal para a determinação de As, Ca, Cd, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P e Zn por ICP OES e ICP-MS e
- Comparar os resultados obtidos com a MW-AD.

#### 2.2.2.3 *Objetivos específicos da Seção 5*

- Sintetizar dois NADES por diferentes combinações de ácido málico, ácido cítrico, xilitol e água pelo método de agitação e aquecimento;
- Aplicar os NADES sintetizados como solventes extratores em UAE e extração por aquecimento em amostras de fosfato de rocha e suplemento mineral para a determinação de As, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P e Zn por ICP OES e ICP-MS e
- Comparar os resultados obtidos com a MW-AD.

#### 2.2.2.4 *Objetivos específicos da Seção 6*

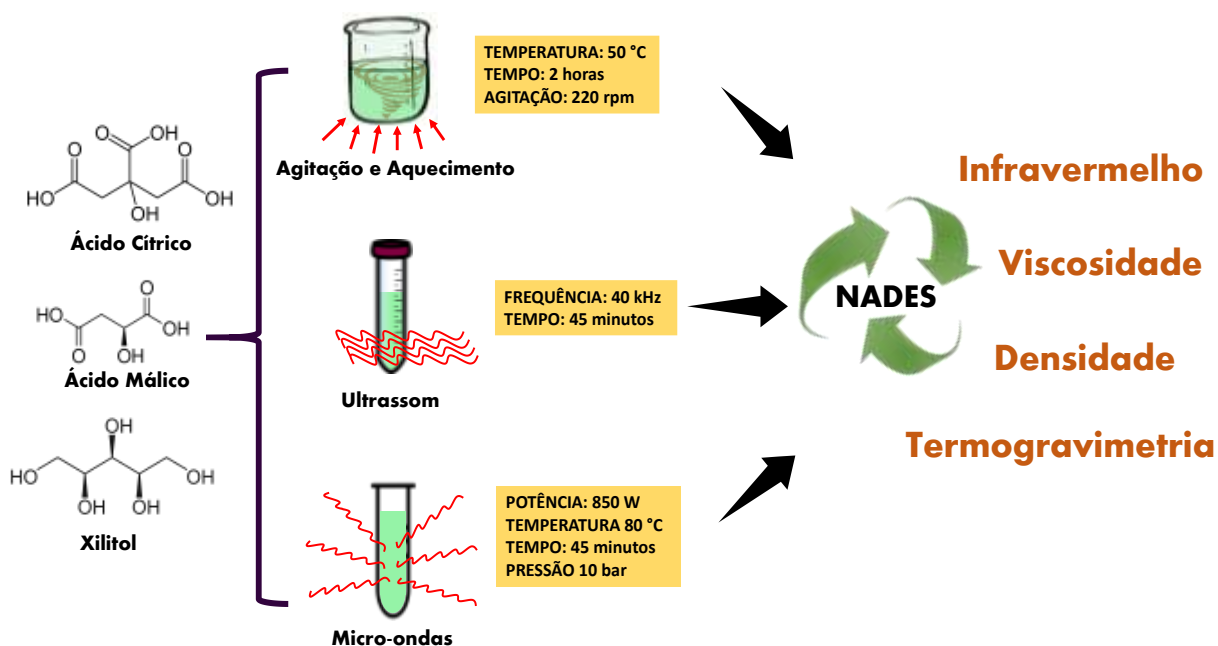
- Otimizar a síntese de três NADES a base das combinações de água: ácido cítrico: xilitol (Ac-Xil); água: ácido málico: xilitol (Am-Xil) e água: ácido cítrico: ácido málico (Ac-Am) por planejamento de mistura restrito;
- Aplicar os NADES sintetizados e otimizados como solventes extratores em UAE e MAE em materiais vegetais e tecidos biológicos para a determinação de As, Cd, Pb, Se e V por ICP-MS;
- Comparar os resultados obtidos com MW-AD e
- Comparar os procedimentos UAE, MAE e MW-AD no quesito ambientalmente amigável por meio da *Eco-Scale* analítica.

### 3. SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS NADES POR DIFERENTES MÉTODOS

Nesta seção é apresentado o estudo da síntese dos NADES à base de xilitol, ácido cítrico, ácido málico e água, por três diferentes métodos: agitação e aquecimento, assistida por ultrassom e assistida por radiação micro-ondas, incluindo a caracterização e avaliação das propriedades físico-químicas dos solventes sintetizados (Figura 5). A partir desses estudos foi publicado o seguinte trabalho:

A.P.R. Santana, J.A. Mora-Vargas, T.G.S. Guimarães, C.B.D. Amaral, A. Oliveira, M.H. Gonzalez, Sustainable synthesis of natural deep eutectic solvents (NADES) by different methods, **Journal of Molecular Liquids**, v. 293, p. 111452, 2019 <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2019.111452>.

**Figura 5.** Resumo gráfico para síntese de NADES por três diferentes métodos e técnicas de caracterização destes solventes.



Fonte: adaptado de Santana *et al.*, 2019a.

#### 3.1 Materiais e métodos

##### 3.1.1 Reagentes e Amostras

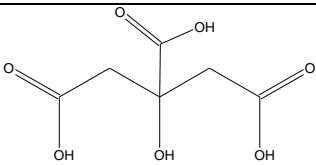
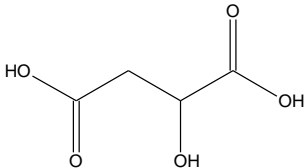
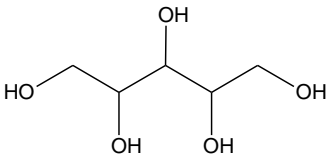
As vidrarias utilizadas nos experimentos foram previamente descontaminadas e desmineralizadas por 24 h em banho ácido contendo HNO<sub>3</sub> 10 % (v v<sup>-1</sup>), seguido de

lavagem completa com água ultrapura. Para a síntese dos NADES foram utilizados ácido cítrico de 99,5 % de pureza, DL-ácido málico de 99 % de pureza, xilitol de 99 % de pureza (todos da Sigma-Aldrich, MO, EUA) e água ultrapura. A água ultrapura (18 MΩ cm) gerada a partir de um sistema de purificação Milli-Q (ICW-3000, Merck KGaA, Darmstadt, Alemanha) foi usada para a síntese dos NADES.

### 3.1.2 Síntese dos solventes eutéticos naturais profundos (NADES) por diferentes métodos

As sínteses dos NADES empregaram misturas de ácido cítrico: ácido málico: água (Ac-Am), ácido cítrico: xilitol: água (Ac-Xil) e ácido málico: xilitol: água (Am-Xil). Para cada combinação foi considerada a razão molar de 1: 1: 10, respectivamente. Na Tabela 2 são apresentadas a estrutura e algumas características dos componentes empregados para a síntese dos NADES.

**Tabela 2.** Estrutura química e algumas características dos ácido cítrico e ácido málico e do xilitol que são componentes dos NADES.

Componente	Estrutura	Massa Molar (g mol <sup>-1</sup> )	Ponto de Fusão (°C)	Características
Ácido cítrico		192,2	153	Pó cristalino branco
Ácido málico		134,1	130	Pó cristalino branco
Xilitol		152,2	92	Pó cristalino branco

Fonte: elaborado pela autora.

### 3.1.2.1 Síntese por agitação e aquecimento

A síntese dos NADES foi baseada no método descrito por Dai et al., (2013), no qual as misturas descritas na Seção 3.1.2 foram colocadas em béqueres com tampa e aquecidas em banho-maria por 2 h a temperatura de 50 °C, sob agitação magnética a 220 rpm (AccuPlate Hotplate Stirrer, Labnet, Edison, NJ, EUA). O tempo de síntese foi ajustado para obtenção de um líquido límpido. Os solventes resultantes foram caracterizados e armazenados em dessecador, à temperatura ambiente

### 3.1.2.2 Síntese assistida por ultrassom

As misturas descritas na Seção 3.1.2 foram homogeneizadas em vórtice por cerca de 1 min, seguido de tratamento em banho ultrassônico (Modelo Q3.0 / 40A, Eco-Sonics, Indaiatuba, SP, Brasil) por 30 min. As misturas foram novamente homogeneizadas usando agitação do vórtex, seguido de novo no banho ultrassônico por mais 15 min. Os solventes foram caracterizados e armazenados em dessecador, à temperatura ambiente.

### 3.1.2.3 Síntese assistida por micro-ondas

As misturas descritas na Seção 3.1.2 foram homogeneizadas por cerca de 1 min usando extrator vórtex, seguido de tratamento em um reator de micro-ondas (Monowave 300, Anton Paar GmbH, Graz, Áustria) por 45 min a temperatura de 80 °C, operado a 850 W e 600 rpm. A temperatura e a pressão dentro do reator foram controladas e um fluxo de ar constante (cerca de 10 bar de pressão), o que garantiu o controle rígido das condições de síntese. Após a síntese, os NADES foram caracterizados e armazenados em dessecador, à temperatura ambiente.

## 3.1.3 Caracterização físico-química dos solventes eutéticos naturais profundos (NADES)

### 3.1.3.1 Espectrometria de Infravermelho (do inglês, ATR-FTIR)

Os espectros de infravermelho dos NADES sintetizados pelos três métodos, bem como dos precursores, foram obtidos utilizando um espectrômetro de infravermelho com transformada de Fourier (modelo Spectrum Two, PerkinElmer, Shelton, CT, EUA) com resolução de 4 cm<sup>-1</sup>, média da acumulação de 30 varreduras,

com espectrogramas obtidos por refletância total atenuada (do inglês, ATR) na faixa de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ .

### 3.1.3.2 Termogravimetria (TG)

As análises de decomposição térmica dos solventes sintetizados pelos três métodos, bem como dos precursores, foram realizadas por meio da termogravimetria (do inglês, TG), utilizando um instrumento TGA 4000 (PerkinElmer, Shelton, CT, EUA). Aproximadamente 10 mg das amostras, sob atmosfera de  $\text{N}_2$  (20  $\text{mL min}^{-1}$ ) foram aquecidas de 25 a 500  $^{\circ}\text{C}$ , a uma taxa de 10  $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ .

### 3.1.3.3 Viscosidade e densidade

As medidas das densidades dos NADES sintetizados pelos três diferentes métodos foram realizadas volumetricamente a 24  $^{\circ}\text{C}$ , por meio de picnômetro calibrado com água e balança analítica com precisão de  $\pm 0,0001$  g (Gehaka, Modelo AG200, São Paulo, Brasil). As medidas de viscosidades dos solventes sintetizados pelos diferentes métodos foram realizadas por meio de um viscosímetro Cannon-Fenske calibrado com água. As medidas de densidade e viscosidade foram determinadas em triplicata e os dados investigados por análise de variância (do inglês, ANOVA) com nível de confiança de 95 % utilizando o *software Statistica*®.

## 3.2. Resultados e discussão

### 3.2.1 Síntese dos solventes eutéticos naturais profundos (NADES)

Os NADES adequados para aplicação como solventes extratores necessitam ser estáveis à temperatura ambiente e a pressão atmosférica. Portanto, é necessário que estes apresentem uma mistura líquida e homogênea e que não haja precipitação (NAM et al., 2015). Na Figura 6 estão apresentados os NADES sintetizados pelo método de aquecimento e agitação por meio das combinações Ac-Xil, Am-Xil e Am-Ac.

Estudos anteriores avaliaram diferentes proporções molares de água (4, 6, 8 e 10 mol) na síntese dos NADES. No entanto, devido à alta viscosidade dos solventes obtidos com as menores proporções de água, foi selecionada a razão molar de 10

mols de água em razão a futuras aplicações dos NADES como solvente extrator, além da estabilidade a temperatura ambiente.

**Figura 6.** NADES sintetizados por aquecimento e agitação no qual os componentes são as misturas de ácido cítrico: xilitol: água (Ac-Xil), ácido málico: xilitol: água (Am-Xil) e ácido cítrico: ácido málico: água (Ac-Am), com razão molar de 1: 1: 10, respectivamente.



Fonte: elaborado pela autora.

Após 7 dias, o NADES Ac-Am de proporção 6 mols de água apresentou a formação de gel (Figura 7). A estabilidade dos NADES está relacionada com a razão molar dos seus precursores. Dai et al., (2013) sintetizaram NADES usando cloreto de colina e glicose nas razões molares 2:1; 1:1; 1:4 e 2:5 e foi observado que em alguns casos houve a formação gradual de um sólido cristalino após a síntese, portanto não sendo estável. A formação do sólido cristalino foi atribuída ao fato do íon cloreto formar duas ligações de hidrogênio com dois grupos hidroxila da glicose, se comportando de maneira semelhante a um NADES sintetizado a partir do cloreto de colina e um ácido carboxílico (DAI et al., 2013).

Estudos anteriores mostraram que a combinação de ácido succínico com cloreto de colina não formava um líquido estável, porém quando o cloreto de colina foi combinado com ácido málico, ácido cítrico e ácido tartárico houve a formação de um solvente estável. Segundo os autores, a presença de grupos hidroxilas ou carbonila

permite um maior número de ligações de hidrogênio e, conseqüentemente, aumento da estabilidade (DAI et al., 2013).

**Figura 7.** NADES sintetizado a partir de ácido cítrico, ácido málico com 6 mols de água após 7 dias.



Fonte: elaborado pela autora.

Porém, não é apenas o número de grupos capazes de realizar ligações de hidrogênio que influencia na formação e estabilidade dos NADES. O NADES formado pelas combinações de galactose e cloreto de colina não foi estável, enquanto que NADES a base de cloreto de colina e glicose se apresentou estável. Neste caso, os autores acreditam que a diferença esteja relacionada ao impedimento estérico das estruturas dos componentes (DAI et al., 2013). NADES a base de cloreto de colina combinado com diferentes açúcares e ácidos orgânicos foram sintetizados por meio de liofilização. Das trinta combinações realizadas, somente doze foram bem-sucedidas (NAM et al., 2015). Portanto o número de grupos doadores e receptores de ligações de hidrogênios, a estrutura espacial destes grupos e a posição das ligações de hidrogênios influenciam, significativamente, na formação e estabilidade dos NADES (DAI et al., 2013).

Os principais métodos descritos na literatura para síntese de NADES são baseados em agitação e aquecimento, liofilização, evaporação (SOCAS-RODRÍGUEZ et al., 2020). A síntese assistida por radiação micro-ondas assim como

a síntese assistida por ultrassom são métodos ainda pouco explorados (ESPINO et al., 2016; TOMÉ et al., 2018; SANTANA et al., 2019a).

O uso de radiação micro-ondas na formação dos NADES é promissora devido a sínteses mais fáceis e com menores tempos. A redução do tempo de síntese ocasiona uma diminuição significativa do consumo de energia, que é um dos princípios da química verde (ANASTAS & WARNER, 1998). Na síntese dos NADES assistida por radiação micro-ondas, os precursores são irradiados em um sistema fechado com potência e temperatura controladas. A radiação interage com o material, causando rotação dipolo que leva a colisões entre as moléculas e entre os HBD e HBA, resultando em aquecimento dielétrico que diminui o tempo de síntese (GOMEZ et al., 2018; ZHU & HANG, 2013).

Na síntese assistida por ultrassom as ondas sonoras causam o fenômeno de cavitação, que consiste na formação e colapso de bolhas produzidas pela solução (RUTKOWSKA, NAMIESNIK & KONIECZKA, 2017). Quando a bolha atinge um tamanho crítico e implode, ocorre a liberação de calor e pressão muito elevados em um curto intervalo de tempo (RUTKOWSKA, NAMIESNIK & KONIECZKA, 2017). A energia liberada auxilia nas interações entre os componentes HBD e HBA, levando à formação do NADES. O uso das ondas ultrassônicas proporciona uma síntese rápida e eficiente (SANTANA et al., 2019a).

A busca por métodos com menor consumo de energia é um dos objetivos da química verde (ANASTAS & WARNER, 1998). Desse modo, parâmetros como potência do equipamento, tempo de síntese e volume de solvente sintetizado foram considerados para o cálculo do consumo de energia elétrica para a síntese do NADES para os diferentes métodos estudados (Equação 1).

$$\text{Consumo (kWh)} = \frac{((\text{Potência (W)}) \cdot (\text{tempo (h)})) / 1000}{\text{Volume (mL)}} \quad (\text{Equação 1})$$

onde Consumo (kWh) é o consumo de energia elétrica para a síntese, Potência (W) corresponde à do equipamento, tempo (h) da síntese e Volume (mL) de solvente sintetizado.

O consumo de energia elétrica para a síntese dos NADES foi de 0,014 kWh mL<sup>-1</sup> para o método de aquecimento e agitação; 0,106 kWh mL<sup>-1</sup> para o método

assistido por radiação micro-ondas e 0,006 kWh mL<sup>-1</sup> para o método assistido por ultrassom. Em termos de aproveitamento de energia, a síntese auxiliada por ultrassom foi a mais ecológica, com aproximadamente 130 % menor consumo de energia em comparação ao método de aquecimento e agitação.

O método *Eco-Scale* foi proposto como um critério objetivo de medida para produção de solventes, inclui o uso de precursores de baixo custo, síntese em temperatura ambiente, alto rendimento e segurança para o operador e o meio ambiente (AKEN, STREKOWSKI & PATINY, 2006). O cálculo para a pontuação baseado na *Eco-Scale* está mostrado abaixo, na Equação 2:

$$\text{Eco - Scale} = 100 - \sum \text{Penalidades} \quad (\text{Equação 2})$$

onde as penalidades estão relacionadas com custo, temperatura, tempo, segurança do método da síntese do solvente e também rendimento.

Para a síntese dos NADES por agitação e aquecimento houve a penalidade de 3 pontos devido ao uso de aquecimento por mais de 1 h. A síntese dos NADES assistida por radiação micro-ondas obteve penalidades devido ao uso da radiação micro-ondas, uso de regulador de pressão, aquecimento abaixo de 1 h e uso de vidraria especial (tubos de quartzo para a síntese), descontando no total de 6 pontos. E por fim, a síntese assistida por ultrassom obteve penalidade de 3 pontos devido ao uso da radiação de ultrassom e tempo síntese abaixo de 24 h.

Portanto, as pontuações da *Eco-Scale* determinadas para os NADES sintetizado por diferentes métodos foram 97 para síntese por aquecimento e agitação, 94 para a síntese assistida por radiação de micro-ondas e 97 para síntese assistida por ultrassom. Pontuações acima de 75 representam um excelente procedimento verde baseada na *EcoScale* (AKEN, STREKOWSKI & PATINY, 2006).

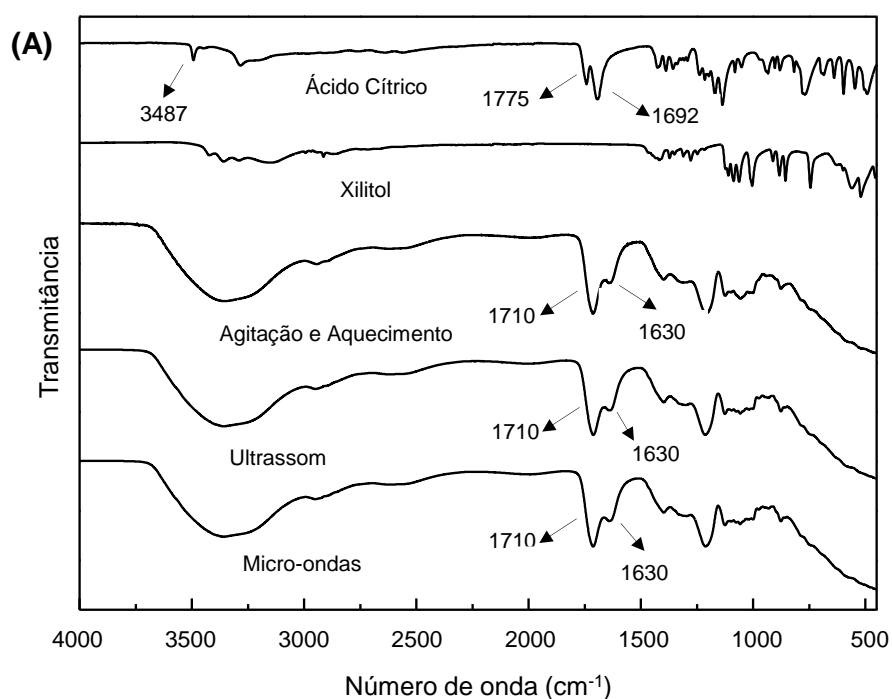
Apesar dos métodos de síntese dos NADES assistida por radiação de micro-ondas e ultrassom se mostrarem rápidos e eficientes, o método de síntese por agitação e aquecimento ofereceu vantagens de facilidade, simplicidade e capacidade de produzir maiores volumes de solventes.

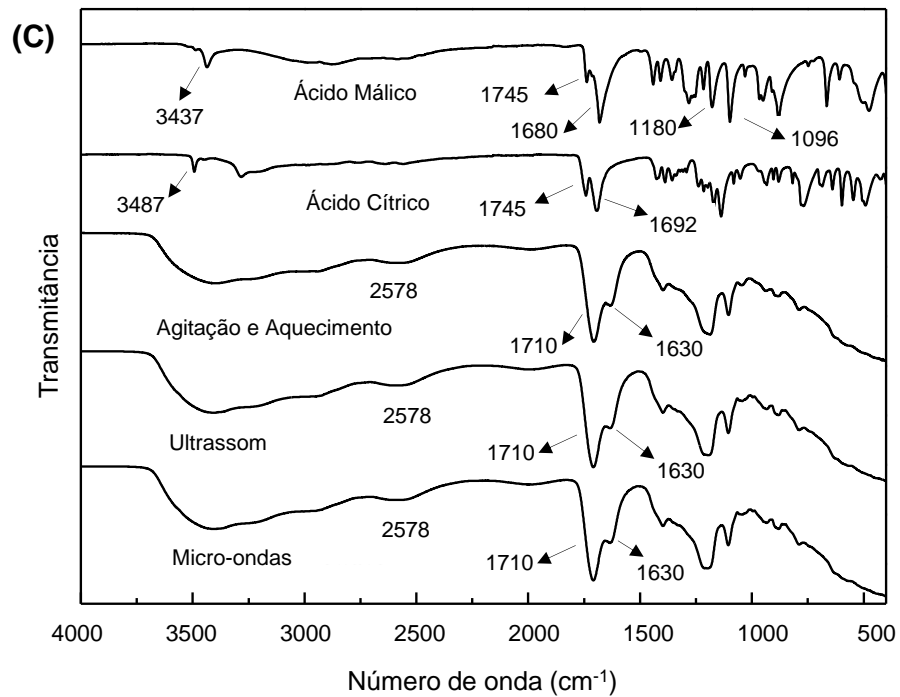
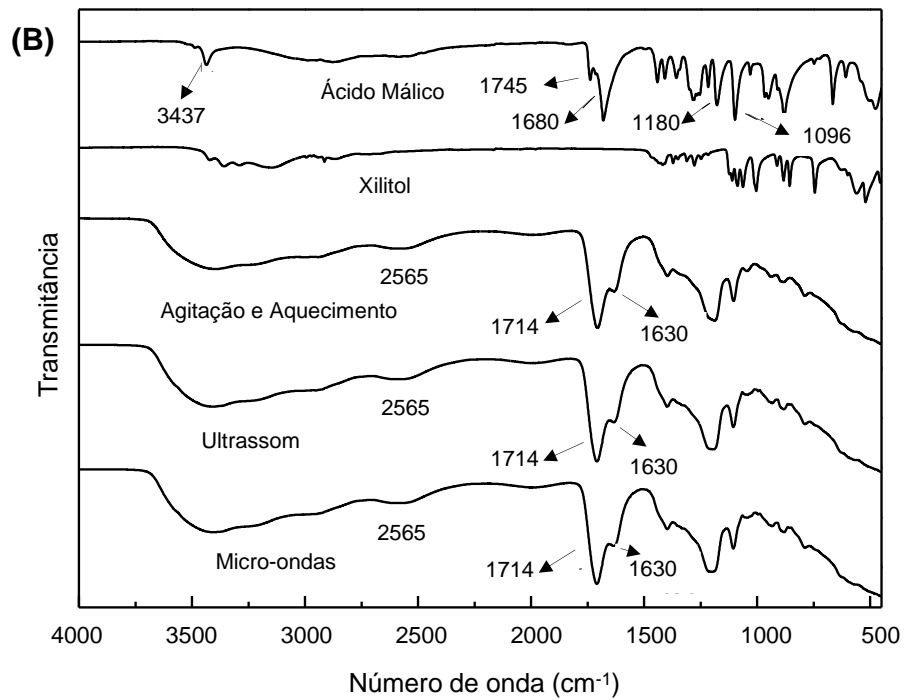
### 3.2.2 Caracterização dos solventes eutéticos naturais profundos (NADES)

A técnica de espectrometria na região do infravermelho tem como objetivo auxiliar na identificação dos grupos funcionais químicos. Embora o espectro de infravermelho seja característico da molécula, há alguns grupos que apresentam bandas com frequência semelhante independente da estrutura da molécula (SILVERSTEIN, WEBSTER & KIEMLE, 2015). Além da identificação dos grupos funcionais, as análises por infravermelho foram realizadas para a identificação da formação de ligações de hidrogênio.

A formação de um solvente eutético é caracterizada pelas interações intermoleculares (forças de interação de Van der Waals, e, principalmente, ligações de hidrogênio) que podem ser realizadas devido à presença de grupos carboxílicos e hidroxilas dos reagentes precursores (RIBEIRO et al., 2015). A Figura 8 mostra os espectros de infravermelho dos NADES sintetizados, assim como dos seus precursores e suas bandas características.

**Figura 8.** Espectro de infravermelho dos precursores e NADES sintetizados usando diferentes métodos com (A) ácido cítrico e xilitol (Ac-Xil), (B) ácido málico e xilitol (Am-Xil) e (C) ácido cítrico e ácido málico (Ac-Am).





Fonte: adaptado de Santana *et al.*, 2019a.

No espectro de infravermelho do ácido cítrico pode ser observada uma banda estreita de absorção em  $3487 \text{ cm}^{-1}$ , referente ao grupo hidroxila (-OH) livre de álcool que não participa de ligação de hidrogênio (SILVERSTEIN, WEBSTER e KIEMLE,

2015). Além disso, bandas em  $1745\text{ cm}^{-1}$  e  $1692\text{ cm}^{-1}$  são correspondentes ao grupo carbonila (C=O) e ao estiramento C-O-H (GHORPADE; YADAV; DIAS, 2016).

No espectro do ácido málico verifica-se uma banda em  $3437\text{ cm}^{-1}$  que caracteriza o grupo -OH do álcool livre, ou seja, que não realiza ligações de hidrogênio (SILVERSTEIN, WEBSTER e KIEMLE, 2015). Observa-se também uma banda de alongamento C=O em  $1680\text{ cm}^{-1}$  e C-O-H em  $1745\text{ cm}^{-1}$ , constatado também por Barańka et al., (2003). Verificou-se uma banda em  $1180\text{ cm}^{-1}$  referente ao grupo  $\text{CH}_2$  do ácido málico, como foi observado também por Dai et al., (2015). Outra banda em  $1096\text{ cm}^{-1}$  pode ser observada e segundo Barańka et al., (2003) está relacionada com as vibrações do grupo  $\text{CH}_2$  com sobreposição de bandas OH e C-O.

Além da identificação dos grupos funcionais dos reagentes de partida, os espectros de infravermelho forneceram evidências de interações intermoleculares entre os mesmos. Mjalli et al., (2017) sintetizaram DES a base de cloreto de colina, brometo de tetra-n-butilamônio, etanolamina e brometo de metila trifenilfosfato. A confirmação da síntese foi realizada através das análises dos espectros de infravermelho, observando a preservação das principais bandas características dos materiais constituintes com pequenos desvios.

Os espectros de infravermelho do NADES sintetizado pelos três diferentes métodos apresentaram os mesmos perfis, mantendo as bandas características dos precursores com pequenos desvios. Independentemente do método de síntese, os três NADES apresentaram banda de absorção intensa entre  $3330$  e  $3440\text{ cm}^{-1}$ , correspondendo ao alongamento -OH devido a presença de água (GHAEDI et al., 2017). A banda de absorção em  $1630\text{ cm}^{-1}$  foi devido à deformação angular dos grupos -OH das moléculas de água presentes no NADES (DURAND et al., 2013).

A banda de absorção correspondente ao alongamento C=O, que foi observada para todos os NADES, foi deslocada para maiores número de ondas, em comparação com os espectros para os reagentes iniciais, independentemente do método de síntese. Para o NADES Ac-Xil houve um deslocamento de  $1692\text{ cm}^{-1}$  para  $1710\text{ cm}^{-1}$ ; para o NADES Am-Xil um deslocamento de  $1680\text{ cm}^{-1}$  para  $1714\text{ cm}^{-1}$  e para o NADES Ac-Am um deslocamento de para  $1710\text{ cm}^{-1}$ . O deslocamento da banda de absorção sugere um aumento na densidade eletrônica do oxigênio carbonílico, podendo ser justificado pela formação de ligações de hidrogênio (XU et al., 2005, DAI et al., 2015).

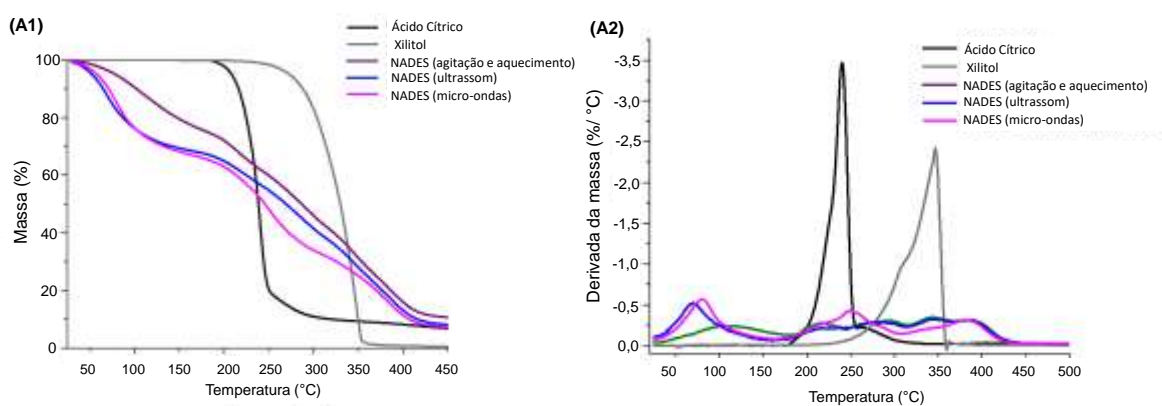
Resultados similares também foram observados por Ribeiro et al., 2015 na síntese de DES a base de mentol e ácido acético, no qual o espectro de infravermelho

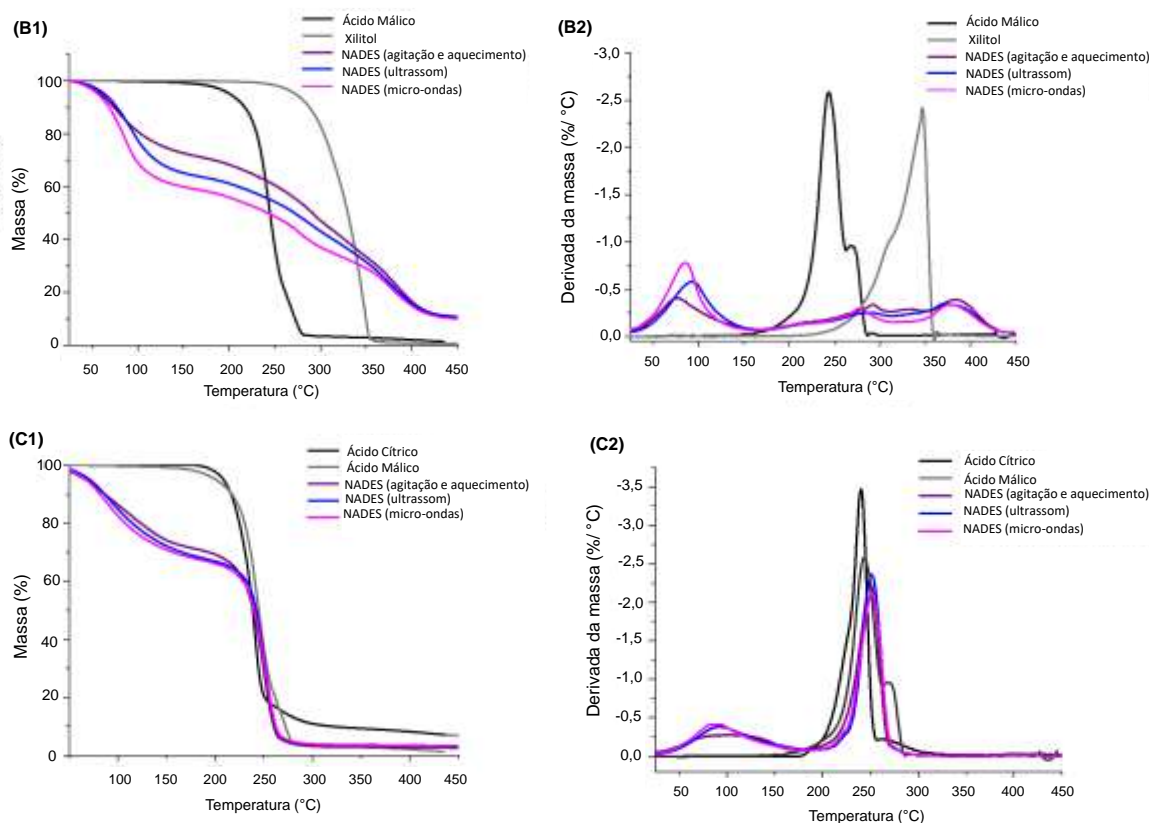
mostrou um deslocamento da banda da carbonila em  $1693\text{ cm}^{-1}$  para  $1735\text{ cm}^{-1}$ . Espectros de infravermelho de NADES sintetizados a partir de ácido málico e prolina mostraram um deslocamento da banda de absorção referente ao grupo C=O para número de ondas maiores (DAI et al., 2015).

Além disso, a presença de um deslocamento de uma banda de -OH para número de onda entre  $2550$  e  $2000\text{ cm}^{-1}$  também é uma indicação da formação de ligações de hidrogênio (BARÁŃKA et al. 2003). As vibrações de alongamento -OH podem ser afetadas pelas ligações de hidrogênio (MARÉCHAL, 2007). De modo semelhante, Dai et al., (2015) observaram  $\nu_{\text{OH}}$  em  $2450\text{ cm}^{-1}$  em NADES a base de prolina e ácido málico.

Quando um material é aquecido, a sua estrutura pode sofrer alterações térmicas como decomposição ou mudança de fase. Assim, o estudo da estabilidade térmica dos solventes é importante, pois fornece informações sobre a temperatura na qual um solvente pode ser empregado sem sofrer tais alterações (GHAEDI et al., 2017). As propriedades térmicas dos NADES foram avaliadas por meio de análises termogravimétricas (do inglês, TG) e a sua derivada (do inglês, DTG). Os resultados são mostrados na Figura 9.

**Figura 9.** Termogravimetria (TG) e termogravimetria derivada (DTG) dos precursores e NADES sintetizados usando diferentes métodos com (A1 e A2) ácido cítrico e xilitol (Ac-Xil), (B1 e B2) ácido málico e xilitol (Am-Xil) e (C1 e C2) ácido cítrico e ácido málico (Ac-Am).





Fonte: adaptado de Santana *et al.*, 2019a.

A Figura 9.A apresenta os termogramas obtidos para os NADES Ac-Xil, juntamente com os termogramas para os precursores. A primeira fase de perda de massa ocorreu por volta de 100 °C, com aproximadamente de 30 % de perda devido à presença de água (WANG *et al.*, 2015). A decomposição térmica do NADES Ac-Xil ocorreu em várias etapas, com perda de massa por volta de 60 % entre 165 °C e 450 °C, atribuída à decomposição dos precursores. Os NADES Ac-Xil obtidos pelos três métodos de síntese apresentaram decomposição em torno de 165 °C, indicando a temperatura máxima de trabalho desses solventes.

Os termogramas obtidos para os NADES Am-Xil e seus componentes estão mostrados na Figura 9.B. Como anteriormente, as amostras apresentaram perda de massa em torno de 30 % em 100 °C, devido à perda de água do solvente (WANG *et al.*, 2015). A decomposição térmica dos NADES Am-Xil por diferentes métodos iniciou em aproximadamente 160 °C em várias etapas e finalizando em 410 °C com uma perda em torno de 60 % de massa. E no caso dos NADES Ac-Am o termograma (Figura 9C) mostrou uma perda de água em torno de 100 °C (WANG *et al.*, 2015), e posteriormente uma decomposição térmica iniciando em torno de 180 °C até 310 °C, com perda em aproximadamente 60 % de massa.

Por meio das análises de TG é possível também verificar a formação dos NADES comparando os termogramas dos solventes com os componentes individuais (SOCAS-RODRÍGUEZ et al., 2020). Os NADES sintetizados pelos diferentes métodos apresentaram números diferentes de etapas de decomposição em comparação com o número de etapas dos seus precursores, provavelmente devido às interações intermoleculares que ocorreram durante a formação do solvente (HAZ et al., 2016).

O NADES Ac-Am foi o que apresentou maior estabilidade térmica, com temperatura de decomposição iniciando em 185 °C. Grupos carboxílicos são bons doadores de ligações de hidrogênio, com uma alta habilidade de estabelecer esse tipo de interação intermolecular (RIBEIRO et al., 2015). Os NADES preparados pelos três diferentes métodos apresentaram termogramas semelhantes com alguns deslocamentos (especialmente NADES sintetizado pelo método de aquecimento) atribuídos provavelmente a uma menor presença de água no solvente (SAVI et al., 2019).

A análise térmica dos NADES pode ser algo complexo, pois há inúmeros fatores envolvidos na sua formação influenciando suas propriedades térmicas. Fatores como a natureza do HBD, interações intermoleculares, proporção da água, número de átomos de carbono da cadeia principal dos precursores, tipos e posições das ligações de hidrogênio influenciam na sua estabilidade térmica (GHAEDI, et al., 2017; HAZ et al., 2016)

Materiais precursores com cadeias de carbono mais longas proporcionam maior estabilidade térmica nos solventes eutéticos resultantes, comparado com precursores de cadeias mais curtas e estruturas semelhantes, provavelmente devido à capacidade de um maior número de interações intermoleculares, conforme relatado por Ghaedi et al., (2017). O aumento da capacidade de interações intermoleculares (principalmente ligações de hidrogênio) leva ao aumento da estabilidade térmica em decorrência de interações mais fortes entre as moléculas e, conseqüentemente, à necessidade de maior quantidade de energia para interrompê-las. As forças das ligações de hidrogênio de um solvente eutético variam com a existência de ligações de hidrogênio mais fortes ou mais fracas que podem competir entre si, alterando a estabilidade térmica (ZHU et al., 2016).

Os valores de densidade e viscosidade obtidos para os três NADES são apresentados na Tabela 3. A investigação dessas propriedades físicas é importante para um melhor entendimento sobre esses solventes, assim como de suas potenciais

aplicações, visto que são considerados possíveis substitutos para os líquidos iônicos (do inglês, ILs) (ABBOTT et al., 2004).

**Tabela 3.** Valores de densidade e viscosidade dos NADES sintetizados determinados a temperatura de 24 °C (média  $\pm$  desvio padrão, n=3).

<b>Densidade (g mL<sup>-1</sup>)</b>			
	NADES Ac-Xil	NADES Am-Xil	NADES Ac-Am
Agitação e Aquecimento	1,3130 $\pm$ 0,0001	1,2860 $\pm$ 0,0001	1,3260 $\pm$ 0,0002
Ultrassom	1,2995 $\pm$ 0,0001	1,2546 $\pm$ 0,0001	1,3066 $\pm$ 0,0001
Micro-ondas	1,3019 $\pm$ 0,0002	1,2515 $\pm$ 0,0002	1,3070 $\pm$ 0,0001
<b>Viscosidade (mPa.s)</b>			
	NADES Ac-Xil	NADES Am-Xil	NADES Ac-Am
Agitação e Aquecimento	11,09 $\pm$ 0,21	9,54 $\pm$ 0,08	9,24 $\pm$ 0,06
Ultrassom	11,32 $\pm$ 0,31	9,66 $\pm$ 0,02	9,24 $\pm$ 0,04
Micro-ondas	11,34 $\pm$ 0,16	9,66 $\pm$ 0,09	8,93 $\pm$ 0,09

Fonte: adaptado de Santana *et al.*, 2019a.

A análise de variância (do inglês, ANOVA) com fator único para cada um dos conjuntos de dados (aquecimento e agitação, métodos assistidos por ultrassom e micro-ondas) revelou que não houve uma diferença significativa nos valores de densidade e viscosidade em um intervalo de 95 % de confiança. Assim, os NADES sintetizados pelos três diferentes métodos apresentaram as mesmas características físico-químicas, independentemente do método adotado. Conseqüentemente, são indícios que os tipos de interações entre os componentes são os mesmos.

Propriedades como viscosidade e densidade dependem de fatores como da natureza química dos componentes e também das interações intermoleculares (LIU et al., 2018). As ligações de hidrogênio levam a líquidos altamente estruturados e devido a essas interações fortes formam cavidades nas suas estruturas, e, conseqüentemente, aumentam as densidade e viscosidade (DAI et al., 2015; SOCAS-RODRÍGUEZ et al., 2020).

Quanto maior o número de grupos capazes de realizar interações do tipo ligação de hidrogênio, maior a viscosidade dos DES e NADES (CASTRO et al., 2018), como pode ser observado nos resultados apresentados na Tabela 3. A adição da água

ou aumento da temperatura promove uma diminuição nos valores de densidade e viscosidade dos NADES (DAI et al., 2015; SAVI et al., 2019).

A inserção da água na composição dos NADES leva a redução da densidade devido ao enfraquecimento das ligações de hidrogênio e forças de Van der Waals entre os precursores, conseqüentemente aumentando seu volume molar (GHAEDI et al., 2017). A utilização de um teor de água acima de 50 % (v v<sup>-1</sup>) no preparo de solventes eutéticos enfraquece significativamente as interações intermoleculares levando a perda de suas propriedades físico-químicas, especialmente nos NADES sintetizados com cloreto de colina (DAI et al., 2015).

O teor de água também influencia a viscosidade dos NADES, onde um maior percentual de água reduz a viscosidade devido ao enfraquecimento das ligações de hidrogênio entre os reagentes, havendo uma diminuição da resistência interna das moléculas (ZHAO et al., 2015; DAI et al., 2015; LIU et al., 2018). A grande parcela dos estudos relatados na literatura descreve NADES com altas viscosidades devido a pequena adição de volume de água. Dai et al., (2015) sintetizaram NADES variando a proporção molar dos componentes (ácido málico / alanina ou ácido málico / betaína) de 1 a 3 mol, enquanto a quantidade de água adicionada variou de 1 a 4 mol, resultando em NADES com viscosidade de aproximadamente 2,0.10<sup>5</sup> mPa.s. Altamash et al., 2018 sintetizaram NADES com quantidade de água variando de 0,7 a 5,4 % (m m<sup>-1</sup>), apresentando valores de viscosidade entre 86,1 e 251 mPa.s.

Entretanto, no presente trabalho os NADES foram sintetizados usando 10 mol de água (aproximadamente 36 % m m<sup>-1</sup>), resultando em solventes com viscosidades mais baixas, em comparação com outros sintetizados com tipos semelhantes de combinações de precursores. Gomez et al., (2019) produziram variados NADES a partir de ácido málico à 25 °C com viscosidade variando entre 9,2 a 12 mPa.s com adição de 40 % (m m<sup>-1</sup> de água). Enquanto que para diferentes NADES sintetizados a partir de ácido cítrico na mesma temperatura a viscosidade variou entre 10,0 a 12,9 mPa.s, também com adição de 40 % (m m<sup>-1</sup>) de água, resultados semelhantes deste trabalho.

### 3.3 Conclusão

Solventes eutéticos naturais profundos (do inglês, NADES) à base de ácido cítrico, ácido málico e xilitol foram sintetizados por três métodos diferentes e suas

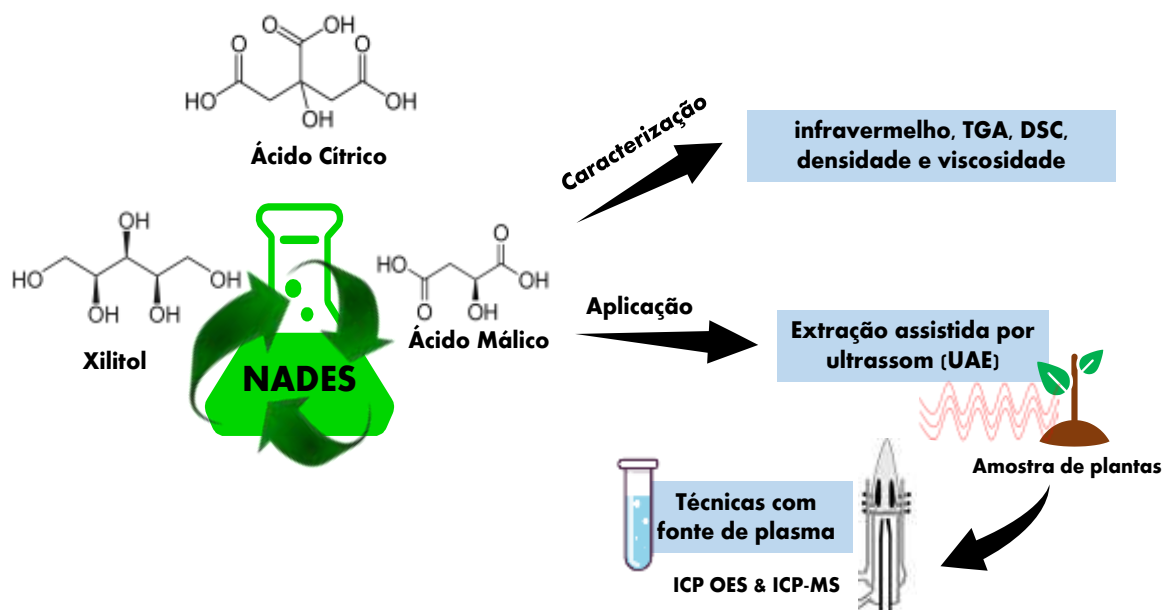
características físico-químicas foram comparadas. Os espectros de infravermelho mostraram perfis semelhantes para os solventes formados pelos diferentes métodos de síntese, assim como os perfis de decomposição térmica e as temperaturas iniciais de decomposição também foram semelhantes, no qual a temperatura de decomposição dos NADES Ac-Xil foi de 165 °C, NADES Am-Xil foi de 160 °C e NADES Ac-Am foi de 180 °C. Os valores de densidade e viscosidade não apresentaram diferenças significativas entre os métodos de síntese, evidenciando que os NADES obtidos apresentavam as mesmas características físico-químicas. Os resultados indicaram que as técnicas de síntese de NADES assistidas por ultrassom e por micro-ondas foram rápidas e eficientes, mostrando-se promissoras como novos métodos para a síntese de NADES. No entanto, o método de síntese por agitação e aquecimento ofereceu as vantagens de facilidade de uso, simplicidade e a capacidade de produzir maiores volumes de solventes.

## 4. NADES NO PREPARO DE AMOSTRA DE MATRIZES VEGETAIS

Nesta seção é apresentada o estudo da síntese dos NADES a base de xilitol, ácido cítrico, ácido málico e água pelo método de agitação e aquecimento e a sua caracterização. Posteriormente, os NADES foram empregados na extração assistida por ultrassom (do inglês, UAE) em matrizes vegetais para extração de As, Ca, Cd, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P e Zn e análise por ICP OES e ICP-MS (Figura 10). A partir destes estudos foi publicado o seguinte trabalho:

A.P.R. Santana, D.F. Andrade, J.A. Mora-Vargas, C.D.B. Amaral, A. Oliveira, M.H. Gonzalez, Natural deep eutectic solvents for sample preparation prior to elemental analysis by plasma-based techniques. *Talanta*, v. 199, p. 361-369, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.07.031>

**Figura 10.** Resumo gráfico para a metodologia do uso de NADES no preparo de amostra de matrizes vegetais.



Fonte: adaptado de Santana *et al.*, 2019b.

### 4.1 Materiais e métodos

#### 4.1.1 Reagentes e Amostras

As vidrarias, materiais plásticos e demais materiais utilizados nos experimentos foram previamente descontaminados e desmineralizados por 24 h em banhos ácidos

com HNO<sub>3</sub> 10 % (v v<sup>-1</sup>), seguidos de três lavagens com água ultrapura. Todos os reagentes usados foram de grau analítico. As soluções foram preparadas usando água ultrapura (18 MΩ cm) de um sistema Milli-Q (Merck KGaA, ICW-3000, Darmstadt, Hessen, Alemanha). Ácido nítrico (J. T. Baker, Philipsburg, NJ, EUA) foi previamente purificado usando um sistema de sub-ebulição (Milestone, PTFE SubCLEAN, BG, Itália). Os NADES foram sintetizados usando ácido cítrico de 99,5 % de pureza (Sigma-Aldrich, MO, EUA), ácido DL-málico de 99 % de pureza (Sigma-Aldrich, MO, EUA), xilitol de 99 % de pureza (Sigma-Aldrich, MO, EUA) em água ultrapura. A exatidão do método foi avaliada usando materiais de referência certificados (do inglês, CRM) de folhas de tomate (NIST 1573a), folhas de espinafre (NIST 1570a) obtidos do *National Institute of Standards and Technology* (do inglês, NIST) e material de referência de forrageira (*Brachiaria Brizantha cv. Marandu*, EMBRAPA, RM-Agro E1001a).

#### 4.1.2 Procedimentos experimentais

##### 4.1.2.1 Preparação dos solventes eutéticos naturais profundos (NADES)

Os NADES sintetizados por agitação e aquecimento, cujo procedimento de síntese foi descrito Na seção “Síntese e caracterização dos NADES por diferentes métodos” (Seção 3.1.2.1, página 25) foram empregados na presente Seção.

##### 4.1.2.2 Caracterização dos solventes eutéticos naturais profundos (NADES)

A caracterização dos NADES, bem como dos seus precursores por meio dos espectros de infravermelho, análise termogravimétrica (do inglês, TG), medidas de densidade e viscosidade foram realizadas segundo os procedimentos descritos na seção anterior (3.1.3 Caracterização físico-química dos solventes eutéticos naturais profundos (NADES), página 25).

As análises calorimétricas exploratórias diferenciais (do inglês, DSC) dos NADES sintetizados foram efetuadas por meio de um instrumento de Calorimetria Varredura Diferencial (PerkinElmer, DSC 8000, Shelton, CT, EUA), com aquecimento de aproximadamente 8 mg da amostra em cadinho de alumínio, sob fluxo de N<sub>2</sub> (20 mL min<sup>-1</sup>), na faixa de temperatura 0 a 500 ° C, a uma taxa de 10 °C min<sup>-1</sup>.

#### 4.1.3 Solventes eutéticos naturais profundos (NADES) em preparo de amostra

##### 4.1.3.1 Digestão ácida assistida por radiação micro-ondas (MW-AD)

A digestão ácida assistida por radiação micro-ondas (do inglês, MW-AD) foi usada como método padrão para determinação da concentração total. Os valores obtidos pela MW-AD foram comparados aos determinados nas extrações com os NADES. As digestões ácidas foram realizadas em um forno de micro-ondas em frascos fechados de politetrafluoretileno (PTFE) (Anton Paar, Model Multiware PRO GmbH, Graz, Austria). Aproximadamente 200 mg das amostras estudadas foram digeridas utilizando 6,0 mL de ácido nítrico 7 mol L<sup>-1</sup> e 2,0 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30 % (m v<sup>-1</sup>), com o seguinte programa de aquecimento: I) rampa de aquecimento de 10 min para atingir 100 °C e permanência durante 10 min; II) rampa de aquecimento de 10 min de 100 a 160 °C e permanência por 10 min; III) resfriamento a 50 °C por 10 min. Após a digestão, os volumes finais das amostras e brancos foram ajustados para 25 mL com água ultrapura (GONZALEZ et al., 2009).

##### 4.1.3.2 Extração assistida por ultrassom (UAE)

Aproximadamente 90 mg das amostras foram colocadas em tubos cônicos de 50 mL, seguida da adição de 9,0 mL de cada NADES sintetizado individualmente e esta mistura foi submetida ao um banho ultrassônico (Eco-Sonics, Modelo Q3.0/40A, Indaiatuba, SP, Brasil) na frequência de 40 kHz por 45 min. Após a extração, foram adicionados 6,0 mL de água ultrapura, em seguida centrifugada por 5 min a 4000 rpm. O sobrenadante foi separado por filtração utilizando papel filtro com dos poros de 25 µm e gramatura de 80 g m<sup>-2</sup> para evitar entupimento durante as análises. Posteriormente, os sobrenadantes foram analisados por ICP OES e ICP-MS. Todas as extrações foram realizadas em triplicatas (SANTANA et al., 2019b).

#### 4.1.4 Análise por técnicas com fonte de plasma

##### 4.1.4.1 Determinação de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P e Zn por espectrometria de emissão ótica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES)

As análises dos extratos diluídos foram realizadas usando ICP OES (iCAP 7000 instrument, Thermo Fisher Scientific, Madison, WI, EUA). A Tabela 4 apresenta os parâmetros instrumentais e linhas de emissão selecionadas para as análises. Para a

geração do plasma foi utilizado gás argônio (99,996 %, White Martins-Praxair, Sertãozinho, SP, Brasil). A curva de calibração para as análises dos extratos foi realizada em meio de NADES 1 % (v v<sup>-1</sup>), enquanto que a curva de calibração para as análises dos digeridos foi realizada em meio de ácido nítrico 1 % (v v<sup>-1</sup>).

**Tabela 4.** Parâmetros instrumentais para as análises por ICP OES para a determinação de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P e Zn.

Parâmetros Instrumentais	Condições de Operação
Potência de radiofrequência (RF) aplicada (kW)	1,15
Tempo de integração de baixos comprimentos de onda (s)	15
Tempo de integração de altos comprimentos de onda (s)	5
Fluxo de introdução da amostra (mL min <sup>-1</sup> )	2,1
Tempo de estabilização (s)	5
Vazão do gás auxiliar (L min <sup>-1</sup> )	0,5
Vazão do gás de nebulização (L min <sup>-1</sup> )	0,7
Vazão do gás do plasma (L min <sup>-1</sup> )	12
Replicadas	3
Elementos e linhas de emissão monitorados (nm)	Ca(II) 393,366 <sup>b</sup> ; Cu(I) 327,396 <sup>a</sup> ; Fe(II) 238,204 <sup>b</sup> ; K(I) 766,490 <sup>b</sup> ; Mg(II) 279,553 <sup>b</sup> ; Mn(II) 257,610 <sup>a</sup> ; Na(I) 589,592 <sup>b</sup> ; P(I) 117,495 <sup>a</sup> ; Zn(I) 213,856 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>Modo de visão axial, <sup>b</sup>Modo de visão radial.

Fonte: adaptado de Santana *et al.*, 2019b.

#### 4.1.4.2 Determinação de As e Cd por espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS)

As análises dos extratos diluídos para a determinações de As e Cd foram realizadas por ICP-MS (modelo NexION 300X Perkin-Elmer, Shelton, CT, EUA) equipado com a tecnologia de célula universal (*Universal Cell Technology™* UCT). O sistema de introdução de amostra é equipado com nebulizador concêntrico, uma câmara ciclônica e uma tocha de quartzo com um tubo injetor de quartzo (2,0 mm d.i.).

Os parâmetros instrumentais foram otimizados antes das análises e os isótopos analisados foram  $^{75}\text{As}$  e  $^{111}\text{Cd}$  no modo padrão. Na Tabela 5 são apresentadas as configurações instrumentais bem como os parâmetros de aquisição de dados. Para a geração do plasma foi utilizado gás argônio (99,996 %, White Martins-Praxair, Sertãozinho, SP, Brasil). A curva de calibração para as análises dos extratos foi realizada em meio de NADES 1 % (v v<sup>-1</sup>), enquanto que a curva de calibração para as análises dos digeridos foi realizada em meio de ácido nítrico 1 % (v v<sup>-1</sup>).

**Tabela 5.** Parâmetros instrumentais e do método para as análises por ICP-MS para a determinação de  $^{75}\text{As}$  e  $^{111}\text{Cd}$  no modo padrão.

Parâmetros Instrumentais	
Potência de radiofrequência (RF)	1600 W
Vazão de gás no plasma	18 L min <sup>-1</sup>
Vazão do gás auxiliar	1,2 L min <sup>-1</sup>
Vazão do gás do nebulizador	0,7 L min <sup>-1</sup>
Parâmetros do Método	
Número de varreduras ( <i>Sweeps</i> )	50
Número de leituras ( <i>Readings</i> )	1
Número de replicatas	3
Tempo de espera ( <i>Dwell time</i> )	25 segundos
Faixa de calibração	0,1 – 15 µg L <sup>-1</sup>

Fonte: adaptado de Santana *et al.*, 2019b.

#### 4.1.4.3 Avaliação dos parâmetros de desempenho

Para as análises foram preparadas curvas de calibração a partir de uma solução estoque de 1000 mg L<sup>-1</sup> dos elementos inorgânicos (Sigma-Aldrich, MO, EUA). A exatidão do método foi avaliada usando materiais de referência certificados (do inglês, CRM) e materiais de referência citados na seção 4.1.1. O fator de recuperação foi calculado segundo a equação 3 (INMETRO, 2016):

$$R (\%) = \frac{C_{determinada}}{C_{certificada}} \cdot 100 \quad (\text{Equação 3})$$

onde  $C_{\text{determinada}}$  é a concentração determinada pelo método e  $C_{\text{certificada}}$  é a concentração declarada no CRM e também no material de referência

A precisão normalmente é expressa pelo desvio padrão relativo (do inglês, RDS), calculado segundo a equação 4 (INMETRO, 2016; ANVISA, 2017):

$$\text{RSD (\%)} = \frac{Dp}{\text{CMD}} \cdot 100 \quad (\text{Equação 4})$$

onde  $Dp$  é o desvio padrão das medidas e  $\text{CMD}$  corresponde a concentração média determinada pelo equipamento.

O limite de detecção (do inglês, LOD) corresponde a menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectado, mas não necessariamente quantificado, sob as condições experimentais estabelecidas (ANVISA, 2017). Enquanto que o limite de quantificação (do inglês, LOQ) corresponde a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas (ANVISA, 2017). Os valores de LOD e LOQ são calculados segundo as equações 5 e 6, respectivamente (INMETRO, 2016).

$$\text{LOD} = \frac{Dp}{CA} \cdot 3 \quad (\text{Equação 5})$$

$$\text{LOQ} = \frac{Dp}{CA} \cdot 10 \quad (\text{Equação 6})$$

onde  $Dp$  é o desvio padrão das medidas de dez medidas de brancos analíticos e  $CA$  é o coeficiente angular da curva de calibração.

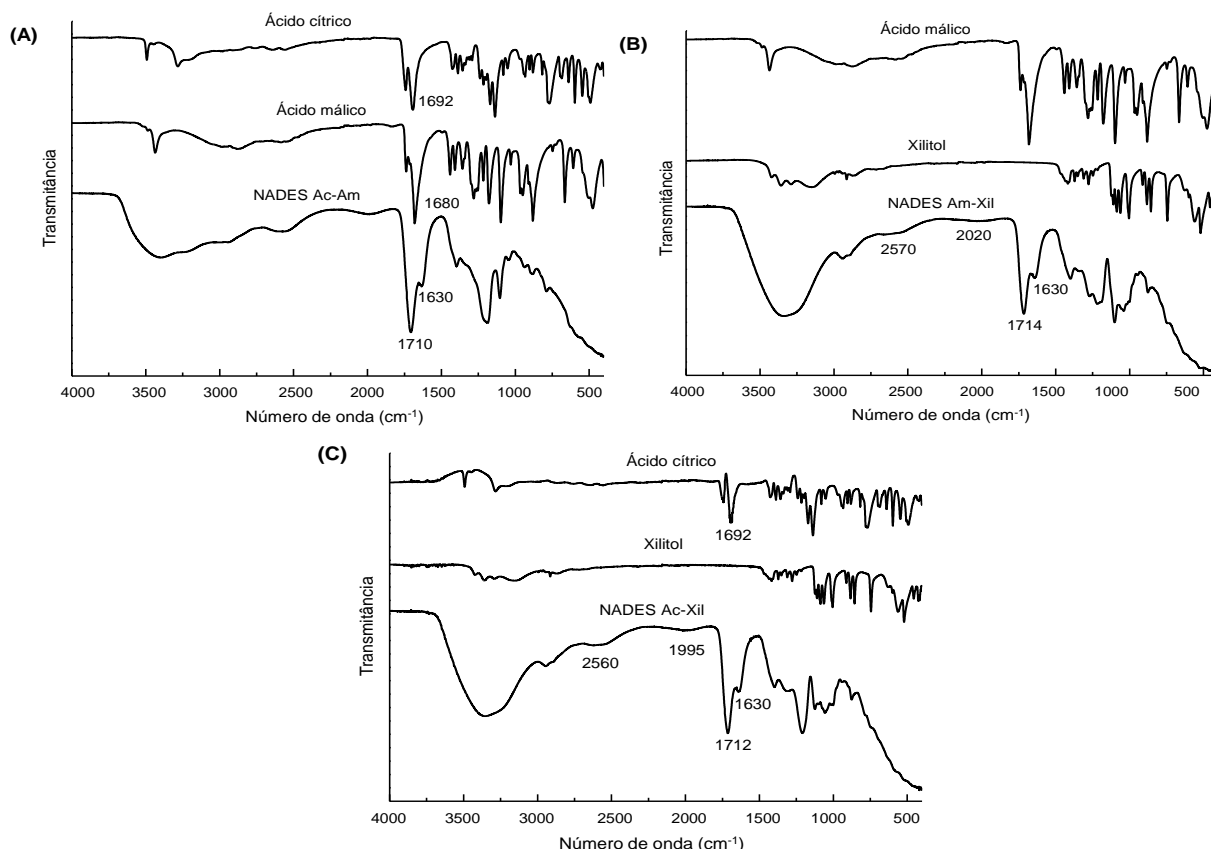
## 4.2 Resultados e discussão

### 4.2.1 Síntese e caracterização dos solventes eutéticos naturais profundos (NADES)

NADES formados por uma mistura homogênea, líquida, sem formação de precipitado e estável em temperatura ambiente e pressão atmosférica são adequados para o uso em preparo de amostra (ESPINO et al., 2016; NAM et al., 2015). Estudos mostraram que há casos de combinações para DES que não formam um líquido em temperatura ambiente e conseqüentemente são inviáveis para a aplicação como solvente extrator (DAI et al., 2013). O aumento da proporção de água para a síntese de NADES pode oferecer algumas vantagens como redução do tempo, da temperatura de preparo de amostra e também a diminuição da viscosidade (DAI et al., 2013). No entanto, uma diluição elevada resultará em uma perda de ligações de hidrogênio responsáveis por interações intermoleculares e das propriedades dos NADES para extração (GUTIÉRREZ et al., 2009).

A análise da espectroscopia de infravermelho do NADES (Figura 11) revelou a presença de grupos funcionais nas estruturas dos solventes sintetizados com desvios, indicativo dessas interações características dos NADES (MJALLI et al., 2017). Os resultados referentes a análise do infravermelho já foram discutidos na seção “Síntese e caracterização dos NADES por diferentes métodos” (Seção 3.2.2, página 31).

**Figura 11.** Espectro de infravermelho dos precursores e NADES sintetizados usando (A) ácido cítrico e ácido málico (Ac-Am), (B) ácido málico e xilitol (Am-Xil) e (C) ácido cítrico e xilitol (Ac-Xil).



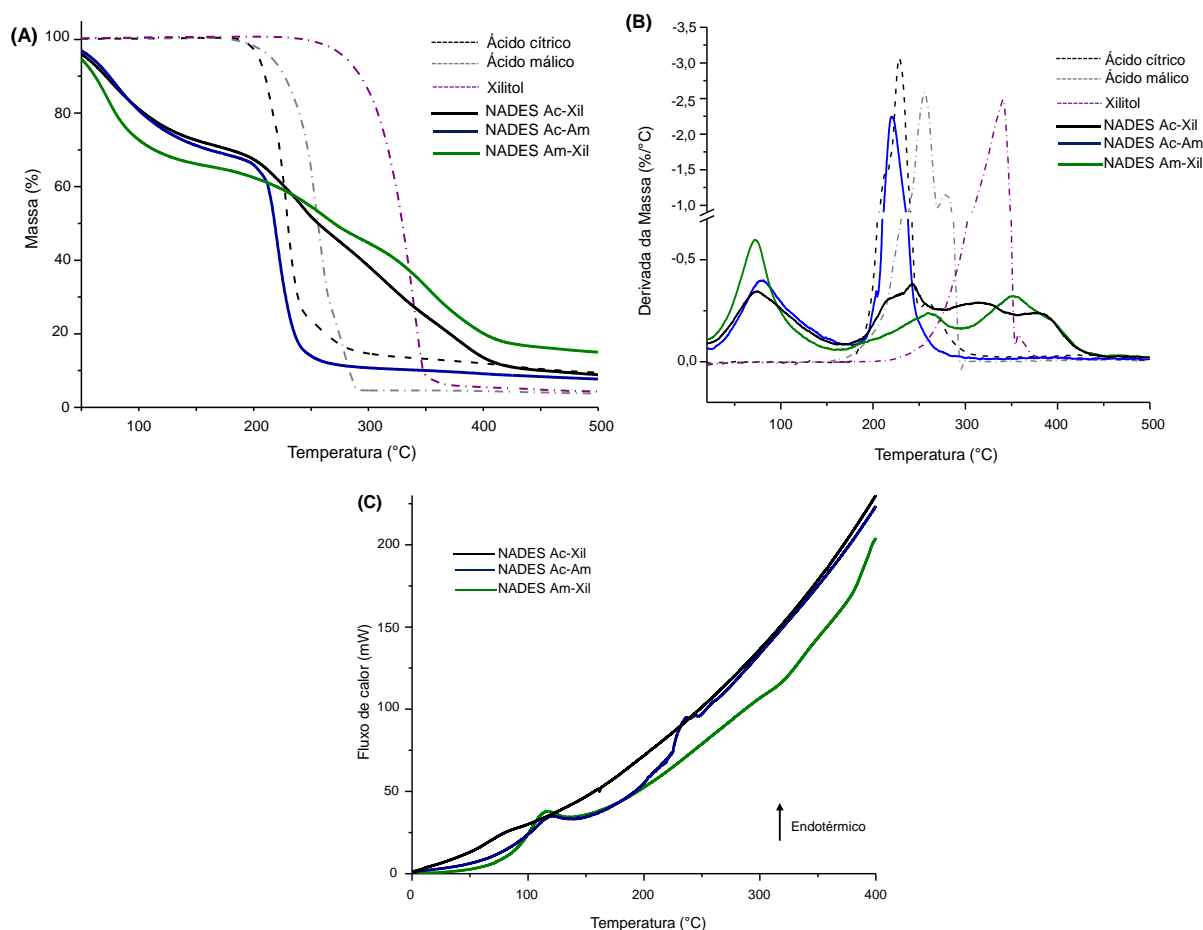
Fonte: adaptado de Santana *et al.*, 2019b.

As propriedades térmicas dos NADES sintetizados foram investigadas por meio de análises térmicas (Figura 12). O estudo da estabilidade térmica dos NADES é importante quando sua aplicação às altas temperaturas são requeridas, como por exemplo em procedimentos assistidos por radiação micro-ondas, onde temperaturas podem variar de 180 °C a 220 °C (GHANEMI *et al.*, 2014; NÓBREGA *et al.*, 2002; MATUSIEWICK *et al.*, 2014), podendo limitar a utilização desses solventes. Alguns dos resultados referentes a análise termogravimétrica já foram anteriormente discutidos na seção “Síntese e caracterização dos NADES por diferentes métodos” (Seção 3.2.2, página 31).

A decomposição térmica dos NADES ocorreu em várias etapas, como pode ser observado na Figura 11.A e 11.B. O NADES Ac-Am apresentou um pico de decomposição em 219 °C, referente a decomposição do ácido cítrico (que apresenta um pico em 228 °C). O NADES Am-Xil apresentou um pico de decomposição a 266

°C, referente ao ácido málico tem um pico de decomposição a 256 °C. E por fim, o NADES Ac-Xil apresentou um pico de decomposição a 316 °C, relacionado ao xilitol no qual seu pico de decomposição é de 340 °C. Os picos de decomposição dos NADES são próximos aos HBDs com deslocamentos, conforme relatado por Shahbaz et al., (2011) e também observado neste trabalho.

**Figura 12.** Análises térmicas de (A) TG, (B) DTG e (C) DSC dos NADES sintetizados utilizando ácido cítrico e xilitol (Ac-Xil), ácido málico e xilitol (Am-Xil) e ácido cítrico e ácido málico (Ac-Am)



Fonte: adaptado de Santana *et al.*, 2019b.

Perfil térmico dos NADES também foi investigado usando DSC, como mostra a Figura 11.C. Os NADES sintetizados apresentaram eventos endotérmicos entre 80 e 115 °C, que podem ser atribuídos à vaporização da água. Não foi possível observar o ponto de fusão dos NADES na faixa de temperatura estudada pelo DSC, sugerindo que o ponto de fusão esteja abaixo de 0 °C.

As densidades e viscosidades determinadas dos NADES já foram anteriormente apresentadas e previamente discutidas na seção “Síntese e caracterização dos NADES por diferentes métodos” (Seção 3.2.2, página 31). Essas propriedades podem ser ajustadas com a adição de diferentes volumes de água, permitindo que as propriedades físico-químicas se adaptem à aplicação desejada (GONZALEZ, CHOI & VERPOORTE, 2020; SOCAS-RODRÍGUEZ et al., 2020).

A viscosidade é um parâmetro importante dos NADES, sendo um dos principais obstáculos à sua aplicação, uma vez que a alta viscosidade resulta em lenta transferência de massa durante os processos de extração (CUNHA & FERNANDES, 2018; FERNÁNDEZ et al., 2018; ZAINAL-ABIDIN, et al., 2017).

A viscosidade é um fator que afeta a representatividade da amostra no plasma. Um aumento da viscosidade está associado ao aumento da tensão superficial, ocasionando na diminuição da eficiência do transporte de amostra para o plasma pelo sistema de introdução de amostra. A viscosidade da solução afeta a formação de *spray* no nebulizador, bem como a separação das gotículas na câmara de nebulização. Soluções com alta viscosidade produzem gotas maiores e em menores quantidades em comparação com soluções menos viscosas. Portanto, essas gotas se diferem das gotas formadas a partir de soluções de calibração constituídas por meio aquoso com viscosidade próxima à da água pura, a 25 °C. Essas diferenças entre o extrato e as soluções de calibração, em termo de perfil de gotículas e padrão de nebulização podem levar a erros e à falsa conclusão de que a extração foi menos eficiente para um NADES com maior viscosidade, quando na verdade houve a introdução de um menor volume de solução (THOMAS, 2013).

Desse modo, houve um cuidado ao preparar as curvas de calibração assim como a realização das diluições das amostras antes das análises em ICP OES e ICP-MS para evitar complicações devido a diferença de viscosidade. Além disso, as medidas dos extratos digeridos e os extratos de NADES foram realizadas em curvas de calibração em meio diferentes, ácido nítrico e NADES, respectivamente.

#### 4.2.2 Aplicação em matrizes vegetais para análise elementar

Os três NADES sintetizados foram avaliados em termos das recuperações obtidas na extração de As, Ca, Cd, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P e Zn das amostras de plantas por UAE, com determinação dos analitos utilizando técnicas de plasma (ICP

OES e ICP-MS). Os valores obtidos usando os três solventes foram comparados com aqueles obtidos usando a técnica padrão de MW-AD.

Uma metodologia analítica necessita incluir a avaliação de parâmetros nas análises para garantir a qualidade dos resultados obtidos. Tais parâmetros são ferramentas indispensáveis para a validação de um método analítico. A avaliação dos parâmetros de desempenho é essencial para a obtenção de dados analíticos confiáveis (THOMPSON, STEPHEN & WOOD, 2002). Para isso os métodos analíticos desenvolvidos devem fornecer informações sobre linearidade, faixa analítica de trabalho, LOD, LOQ, coeficiente de variação (precisão) e fator de recuperação (exatidão) (INMETRO, 2016). As Tabelas 6 e 7 mostram os requisitos indicados pelo órgão INMETRO e os dados obtidos pelas análises de ICP OES e ICP-MS, respectivamente.

**Tabela 6.** Valores de faixa analítica de trabalho, correlação linear, desvio padrão relativo, limite de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ) dos métodos digestão ácida assistida por radiação micro-ondas (MW-AD) e método de extração assistida por ultrassom (UAE) com NADES Ac-Xil, NADES Am-Xil e NADES Ac-Am para determinação em ICP OES.

Parâmetro de Validação	INMETRO	Obtido por MW-AD	Obtido por UAE NADES Ac-Xil	Obtido por UAE NADES Am-Xil	Obtido por UAE NADES Ac-Am
Faixa de trabalho	Abranger as concentrações que serão avaliadas		0,05 a 30 mg L <sup>-1</sup> para Cu, Fe, Na, Mn e Zn 0,5 a 80 mg L <sup>-1</sup> para Ca, Mg, P e K		
Coefficiente de Correlação Linear (Linearidade)	0,90 – 0,99	1,00	1,00	1,00	1,00
Desvio Padrão Relativo (Precisão)	Menor que 15 %	< 11 %	> 15 %	> 15 %	< 13 %
Limite de Detecção (LOD) (mg kg <sup>-1</sup> )	Menores possíveis	0,31 a 9,11.10 <sup>-2</sup>	0,25 a 6,98.10 <sup>-2</sup>	0,16 a 7,45.10 <sup>-2</sup>	0,21 a 5,22.10 <sup>-2</sup>
Limite de Quantificação (LOQ) (mg kg <sup>-1</sup> )	Menores possíveis	0,10 a 0,30	0,83 a 0,23	0,53 a 0,25	0,70 a 0,18

Fonte: elaborado pela autora.

**Tabela 7.** Valores de faixa analítica de trabalho, correlação linear, desvio padrão relativo, limite de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ) dos métodos digestão ácida assistida por radiação micro-ondas (MW-AD) e método de extração assistida por ultrassom (UAE) com NADES Ac-Xil, NADES Am-Xil e NADES Ac-Am para determinação em ICP-MS.

Parâmetro de Validação	INMETRO	Obtido por UAE MW-AD	Obtido por UAE NADES Ac-Xil	Obtido por UAE NADES Am-Xil	Obtido por UAE NADES Ac-Am
Faixa de trabalho	Abranger as concentrações que serão avaliadas	0,1 a 15 µg L <sup>-1</sup>			
Coefficiente de Correlação Linear (Linearidade)	0,90 – 0,99	0,99	0,99	0,99	0,99
Desvio Padrão Relativo (Precisão)	Menor que 15 %	< 7 %	< 5 %	< 11 %	< 14 %
Limite de Detecção (LOD) (mg kg <sup>-1</sup> )	Menores possíveis	6,25.10 <sup>-3</sup> (As) e 3,75.10 <sup>-3</sup> (Cd)	3,87.10 <sup>-3</sup> (As) e 2,51.10 <sup>-3</sup> (Cd)	4,75.10 <sup>-3</sup> (As) e 5,25.10 <sup>-3</sup> (Cd)	6,08.10 <sup>-3</sup> (As) e 3,25.10 <sup>-3</sup> (Cd)
Limite de Quantificação (LOQ) (mg kg <sup>-1</sup> )	Menores possíveis	2,31.10 <sup>-2</sup> (As) e 1,14.10 <sup>-2</sup> (Cd)	1,29.10 <sup>-2</sup> (As) e 8,36.10 <sup>-3</sup> (Cd)	1,58.10 <sup>-2</sup> (As) e 1,75.10 <sup>-2</sup> (Cd)	2,02.10 <sup>-2</sup> (As) e 9,75.10 <sup>-3</sup> (Cd)

Fonte: elaborado pela autora.

Os valores das concentrações dos analitos determinados por técnicas de fonte de plasma e suas recuperações estão apresentadas nas Tabelas 8-10, dando destaque para os valores que atendem à faixa aceitável de 80-110 % para concentrações em  $\text{mg kg}^{-1}$  e 95-105 % para as concentrações em porcentagem (INMETRO, 2016).

O preparo de amostra utilizando o método MW-AD resultou em valores de recuperações na faixa de 80 a 119 % para as amostras de folha de tomate e folha de espinafre. Enquanto que as recuperações para as amostras de forrageira foram entre 75 % e 76 % para As e Cd, respectivamente e, 81 % a 108 % para os demais elementos. Esses resultados estão de acordo com estudos realizados anteriormente utilizando digestão ácida com radiação micro-ondas em frascos fechados para esse tipo de amostra, que apresenta vantagens como minimização de contaminação e perdas por volatilização (SYMEZYCHA-MADEJA, 2017; SANTOS et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2016).

A utilização do NADES Ac-Xil resultou em recuperações satisfatórias para As, Cd e Na (folha de espinafre) e As, Ca, Cu, K, Mg (amostra de forrageira). Para o NADES Am-Xil as recuperações na faixa aceitável foram obtidas para Cd, Mn e Zn (folha de tomate), Cd, Mn e Zn (folha de espinafre) As, Ca, Cd, Fe, K e Mg (amostra de forrageira). O NADES Ac-Am forneceu resultados satisfatórios para os elementos Cd e Zn (folha de tomate), Cd, Na e Zn (folha de espinafre) e Ca, Cd, K e Mg (amostra de forrageira).

**Tabela 8.** Determinação de As, Ca, Cd, K, Mn, P e Zn (média  $\pm$  desvio padrão, n = 3) em amostra de folhas de tomate (NIST 1573a) usando digestão ácida por radiação micro-ondas (MW-AD) e método de extração assistida por ultrassom (UAE) com NADES Ac-Xil, NADES Am-Xi, NADES Am-Xil e NADES Ac-Am.

<b>FOLHAS DE TOMATE</b>									
Elementos	Valores Certificados	MW-AD		NADES Ac-Xil		NADES Am-Xil		NADES Ac-Am	
		Valores determinados	R (%)	Valores determinados	R (%)	Valores determinados	R (%)	Valores determinados	R (%)
As	0,112 $\pm$ 0,004 (mg kg <sup>-1</sup> )	0,134 $\pm$ 0,003 (mg kg <sup>-1</sup> )	120	0,266 $\pm$ 0,011 (mg kg <sup>-1</sup> )	> 120	0,128 $\pm$ 0,011 (mg kg <sup>-1</sup> )	114	0,173 $\pm$ 0,027 (mg kg <sup>-1</sup> )	>120
Ca	5,05 $\pm$ 0,09 (%)	4,7 $\pm$ 0,5 (%)	93	3,6 $\pm$ 0,1 (%)	72	3,2 $\pm$ 0,1 (%)	<70	3,55 $\pm$ 0,1 (%)	70
Cd	1,52 $\pm$ 0,04 (mg kg <sup>-1</sup> )	1,60 $\pm$ 0,68 (mg kg <sup>-1</sup> )	105	1,73 $\pm$ 0,08 (mg kg <sup>-1</sup> )	114	1,41 $\pm$ 0,07 (mg kg <sup>-1</sup> )	93	1,56 $\pm$ 0,07 (mg kg <sup>-1</sup> )	103
K	2,70 $\pm$ 0,05 (%)	2,50 $\pm$ 0,03 (%)	92	2,33 $\pm$ 0,03 (%)	86	2,3 $\pm$ 0,1 (%)	86	2,4 $\pm$ 0,1 (%)	87
Mn	246 $\pm$ 8 (mg kg <sup>-1</sup> )	198 $\pm$ 18 (mg kg <sup>-1</sup> )	80	184 $\pm$ 10 (mg kg <sup>-1</sup> )	75	201 $\pm$ 9 (mg kg <sup>-1</sup> )	82	180 $\pm$ 14 (mg kg <sup>-1</sup> )	73
P	0,216 $\pm$ 0,004 (%)	0,20 $\pm$ 0,01 (%)	93	0,134 $\pm$ 0,004 (%)	<70	0,14 $\pm$ 0,01 (%)	<70	0,15 $\pm$ 0,01 (%)	72
Zn	30,9 $\pm$ 0,7 (mg kg <sup>-1</sup> )	31 $\pm$ 2 (mg kg <sup>-1</sup> )	99	45 $\pm$ 2 (mg kg <sup>-1</sup> )	>120	26 $\pm$ 2 (mg kg <sup>-1</sup> )	85	33 $\pm$ 2 (mg kg <sup>-1</sup> )	106

Fonte: adaptado de Santana *et al.*, 2019b.

**Tabela 9.** Determinação de As, Cd, K, Mn, Na, P e Zn (média  $\pm$  desvio padrão, n = 3) em amostra de folhas de espinafre (NIST 1579a) usando digestão ácida por radiação micro-ondas (MW-AD) e método de extração assistida por ultrassom (UAE) com NADES Ac-Xil, NADES Am-Xi, NADES Am-Xil e NADES Ac-Am.

FOLHAS DE ESPINAFRE									
Elementos	Valores Certificados	MW-AD		NADES Ac-Xil		NADES Am-Xil		NADES Ac-Am	
		Valores determinados	R (%)	Valores determinados	R (%)	Valores determinados	R (%)	Valores determinados	R (%)
As	0,068 $\pm$ 0,012 (mg kg <sup>-1</sup> )	0,081 $\pm$ 0,002 (mg kg <sup>-1</sup> )	119	0,068 $\pm$ 0,002 (mg kg <sup>-1</sup> )	101	0,117 $\pm$ 0,07 (mg kg <sup>-1</sup> )	>120	0,290 $\pm$ 0,076 (mg kg <sup>-1</sup> )	>120
Cd	2,89 $\pm$ 0,07 (mg kg <sup>-1</sup> )	2,35 $\pm$ 0,17 (mg kg <sup>-1</sup> )	81	3,26 $\pm$ 0,11 (mg kg <sup>-1</sup> )	113	2,56 $\pm$ 0,27 (mg kg <sup>-1</sup> )	89	2,86 $\pm$ 0,08 (mg kg <sup>-1</sup> )	99
K	2,90 $\pm$ 0,05 (%)	2,8 $\pm$ 0,3 (%)	95	2,4 $\pm$ 0,2 (%)	83	2,3 $\pm$ 0,2 (%)	80	2,59 $\pm$ 0,09 (%)	89
Mn	75,9 $\pm$ 1,9 (mg kg <sup>-1</sup> )	60 $\pm$ 6 (mg kg <sup>-1</sup> )	80	32 $\pm$ 4 (mg kg <sup>-1</sup> )	<70	60,8 $\pm$ 0,3 (mg kg <sup>-1</sup> )	80	52 $\pm$ 2 (mg kg <sup>-1</sup> )	<70
Na	1,82 $\pm$ 0,04 (%)	1,9 $\pm$ 0,2 (%)	104	1,5 $\pm$ 0,1 (%)	95	1,6 $\pm$ 0,3 (%)	90	1,9 $\pm$ 0,1 (%)	105
P	0,52 $\pm$ 0,01 (%)	0,54 $\pm$ 0,05 (%)	104	0,30 $\pm$ 0,01 (%)	<70	0,30 $\pm$ 0,02 (%)	<70	0,38 $\pm$ 0,01 (%)	74
Zn	82 $\pm$ 3 (mg kg <sup>-1</sup> )	72 $\pm$ 8 (mg kg <sup>-1</sup> )	88	51 $\pm$ 4 (mg kg <sup>-1</sup> )	<70	90 $\pm$ 13 (mg kg <sup>-1</sup> )	109	67 $\pm$ 6 (mg kg <sup>-1</sup> )	82

Fonte: adaptado de Santana *et al.*, 2019b.

**Tabela 10.** Determinação de As, Ca, Cd, Cu, Fe, K, Mg, Mn e P (média  $\pm$  desvio padrão, n = 3) em amostra forrageira (RM-Agro E1001a) usando digestão ácida por radiação micro-ondas (MW-AD) e método de extração assistida por ultrassom (UAE) com NADES Ac-Xil, NADES Am-Xi, NADES Am-Xil e NADES Ac-Am.

(continua)

<b>FORRAGEIRA</b>									
Elementos	Valores certificados	MW-AD		NADES Ac-Xil		NADES Am-Xil		NADES Ac-Am	
		Valores determinados	R (%)	Valores determinados	R (%)	Valores determinados	R (%)	Valores determinados	R (%)
As	1,69 $\pm$ 0,70 (mg kg <sup>-1</sup> )	1,28 $\pm$ 0,02 (mg kg <sup>-1</sup> )	76	1,41 $\pm$ 0,34 (mg kg <sup>-1</sup> )	84	1,76 $\pm$ 0,09 (mg kg <sup>-1</sup> )	104	6,36 $\pm$ 0,10 (mg kg <sup>-1</sup> )	> 120
Ca	0,44 $\pm$ 0,06 (%)	0,46 $\pm$ 0,01 (%)	105	0,41 $\pm$ 0,03 (%)	94	0,42 $\pm$ 0,02 (%)	96	0,49 $\pm$ 0,02 (%)	111
Cd	19,2 $\pm$ 5,1 (mg kg <sup>-1</sup> )	14,92 $\pm$ 1,29 (mg kg <sup>-1</sup> )	75	22,43 $\pm$ 0,58 (mg kg <sup>-1</sup> )	113	20,71 $\pm$ 0,82 (mg kg <sup>-1</sup> )	104	20,74 $\pm$ 0,51 (mg kg <sup>-1</sup> )	104
Cu	4,0 $\pm$ 0,7 (mg kg <sup>-1</sup> )	2,7 $\pm$ 0,2 (mg kg <sup>-1</sup> )	<70	4,1 $\pm$ 0,9 (mg kg <sup>-1</sup> )	103	5,0 $\pm$ 1,0 (mg kg <sup>-1</sup> )	>120	5,6 $\pm$ 0,6 (mg kg <sup>-1</sup> )	>120
Fe	91 $\pm$ 13 (mg kg <sup>-1</sup> )	74 $\pm$ 3 (mg kg <sup>-1</sup> )	81	19 $\pm$ 4 (mg kg <sup>-1</sup> )	<70	84 $\pm$ 6 (mg kg <sup>-1</sup> )	92	38 $\pm$ 5 (mg kg <sup>-1</sup> )	<70
K	1,20 $\pm$ 0,24 (%)	1,11 $\pm$ 0,03 (%)	93	1,20 $\pm$ 0,04 (%)	100	1,14 $\pm$ 0,03 (%)	95	1,17 $\pm$ 0,02 (%)	97
Mg	0,295 $\pm$ 0,044 (%)	0,319 $\pm$ 0,008 (%)	108	0,272 $\pm$ 0,020 (%)	92	0,283 $\pm$ 0,002 (%)	96	0,313 $\pm$ 0,007 (%)	105

**Tabela 10.** Determinação de As, Ca, Cd, Cu, Fe, K, Mg, Mn e P (média  $\pm$  desvio padrão, n = 3) em amostra forrageira (RM-Agro E1001a) usando digestão ácida por radiação micro-ondas (MW-AD) e método de extração assistida por ultrassom (UAE) com NADES Ac-Xil, NADES Am-Xi, NADES Am-Xil e NADES Ac-Am.

(conclusão)									
<b>FORRAGEIRA</b>									
Elementos	Valores certificados	MW-AD		NADES Ac-Xil		NADES Am-Xil		NADES Ac-Am	
		Valores determinados	R (%)	Valores determinados	R (%)	Valores determinados	R (%)	Valores determinados	R (%)
P	0,065 $\pm$ 0,019 (%)	0,066 $\pm$ 0,002 (%)	101	0,046 $\pm$ 0,001 (%)	70	0,050 $\pm$ 0,002 (%)	74	0,053 $\pm$ 0,001 (%)	81

Fonte: adaptado de Santana *et al.*, 2019b.

A aplicação da análise de variância com fator único (do inglês, ANOVA) para cada conjunto de dados (folhas de tomate, folhas de espinafre e amostras de forragem) mostrou que as concentrações dos analitos obtidos utilizando os três NADES não apresentaram uma diferença significativa (em um nível de confiança de 95 %). Porém, quando comparado esses valores obtidos pelos métodos usando os NADES aos valores obtidos pelo método de referência (MW-AD) uma diferença significativa entre os valores de recuperação (em um nível de confiança de 95%) foi observado, sugerindo a existência de diferentes tipos de interações entre os NADES e o analito na matriz.

É importante ressaltar que as amostras avaliadas são matrizes complexas contendo altos teores de sílica. Consequentemente, alguns elementos podem estar fortemente ligados aos componentes dos tecidos vegetais, dificultando sua liberação em solução. Isso poderia explicar as recuperações de fósforo inferiores a 70 % nas amostras de folhas de tomate e espinafre (BOLIN & STAMBERG, 1944).

Estudos anteriores pelo grupo de pesquisa indicaram que os NADES sintetizados se mostraram promissores para o uso em procedimentos de extração de elementos inorgânicos em diferentes tipos de amostra. Um trabalho realizado em parceria com Moreira et al. (2020), no qual foi aplicado o NADES Am-Xil como solvente extrator em UAE (mesmo procedimento descrito nesta seção) para a extração de As e Cd em amostras de peixes e moluscos e determinação por ICP-MS apresentou recuperações na faixa de 82 a 108 %, com LOD de 0,10 e 12,7  $\mu\text{g L}^{-1}$  para As e Cd, respectivamente.

Gonzalez, Choi & Verpoorte (2020) relataram que os NADES são uma classe de solventes não considerados universais e sim solventes altamente seletivos e moduláveis. No presente caso, sugere-se um estudo mais detalhado com foco na etapa de preparo de amostra a fim de otimizar as melhores condições para o procedimento de extração dos analitos. Além disso, foi aplicada a condição otimizada pelo equipamento para a quantificação dos analitos estudados. Portanto, a modificação de algumas variáveis poderia ser aplicada para o aumento da sensibilidade e consequentemente a melhoria da determinação de alguns dos analitos que não apresentaram recuperações aceitáveis.

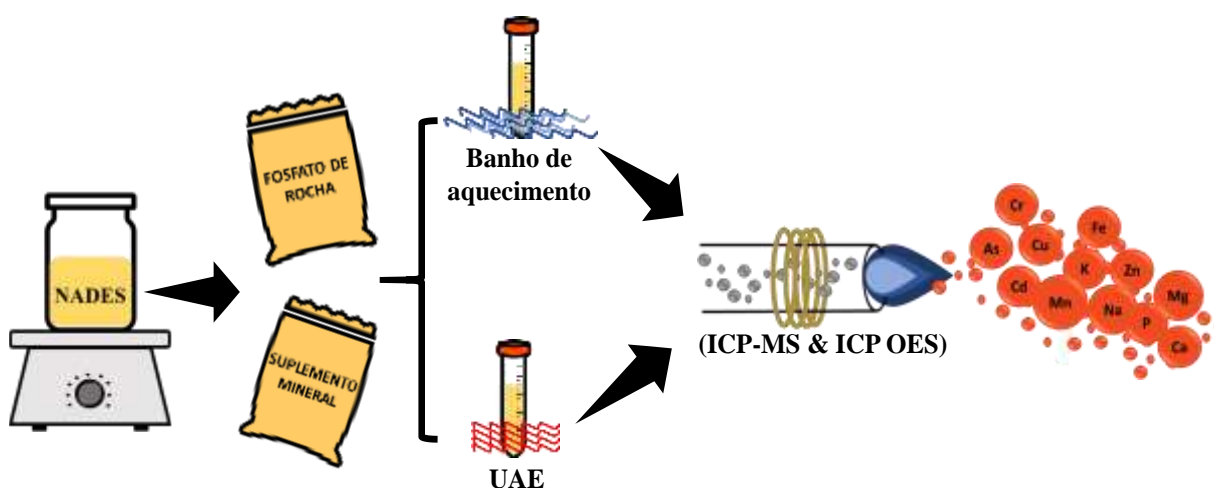
### 4.3 Conclusão

Nesta seção foi proposta um método UAE utilizando NADES para a extração de elementos inorgânicos presentes em matrizes vegetais. O procedimento proposto se mostrou simples na etapa de preparo de amostra, uso de equipamentos de menor custo, além do emprego com reagentes mais acessíveis na síntese dos solventes. A MW-AD, aqui utilizada como padrão, apresentou recuperações de 80 % a 119 %, exceto para As e Cd em amostras de forrageira. As eficiências para a extração por UAE variaram entre os diferentes NADES. NADES Ac-Xil apresentaram recuperações satisfatórias para As, Cd e Na (folha de espinafre) e As, Ca, Cu, K e Mn (forrageira). Recuperações aceitáveis foram obtidas para Cd, Mn e Zn (folha de tomate); Cd, Mn e Zn (folha de espinafre) e As, Ca, Cd, Fe, K, Mg e Mn (forrageira). Enquanto que NADES Ac-Am se mostrou eficiente para a extração de Cd e Zn (folhas de tomate); Cd, Na e Zn (folhas de espinafre) e Cd, K, Mg e Mn (forrageira). Neste estudo, pode-se observar uma diferença significativa nos valores de concentração obtidas utilizando o método de extração com NADES e MW-AD, possivelmente devido que a interação química entre o analito e os NADES é diferente quando comparada com o método de preparo de amostra ácido convencional.

## 5. NADES NO PREPARO DE AMOSTRA DE MATRIZES INORGÂNICAS

Nesta seção é apresentada outra aplicação de dois NADES, um composto de ácido cítrico, ácido málico e água (Ac-Am) e outro ácido málico, xilitol e água Am-Xil), ambos na proporção molar 1: 1: 10 como solventes em procedimentos de UAE e em extração em banho por aquecimento em amostras de suplemento mineral e fosfato de rocha, para extração de As, Cd, Ca, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P e Zn, determinados por ICP OES e ICP-MS (Figura 13). Esta seção resultou na redação e submissão do manuscrito intitulado "Solventes eutéticos naturais profundos (NADES) no preparo de amostras de rocha fosfática e suplemento mineral para determinação elementar por técnicas de plasmas" para a revista Química Nova em outubro 2020.

**Figura 13.** Resumo gráfico para a metodologia do uso de NADES no preparo de amostra de matrizes inorgânicas.



Fonte: elaborado pela autora.

### 5.1 Materiais e métodos

#### 5.1.1 Reagentes e amostras

As vidrarias utilizadas nos experimentos foram previamente descontaminadas e desmineralizadas em banhos ácidos contendo 10 % (v v<sup>-1</sup>) de HNO<sub>3</sub> por 24 h, seguido de lavagem completa com água ultrapura. Água ultrapura (18 MΩ cm - ICW-3000, Merck KGaA, Darmstadt, Alemanha) foi usada para preparar todas as soluções. O procedimento de digestão ácida assistida por radiação micro-ondas (do inglês, MW-

AD) foi realizado com  $\text{HNO}_3$  (Sigma-Aldrich, MO, EUA) previamente purificado usando um sistema de destilação abaixo do ponto de ebulição (Milestone, PTFE SubCLEAN, BG, Itália) e 30 % (m v<sup>-1</sup>),  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Sigma-Aldrich, MO, EUA). Para a síntese dos NADES foram utilizados ácido cítrico (Sigma-Aldrich, 99,5 % de pureza), DL-ácido málico (Sigma-Aldrich, 99 % de pureza), xilitol (Sigma-Aldrich, 99 % de pureza) e água ultrapura. A exatidão do método foi avaliada usando materiais de referência de suplemento mineral (RM-Agro E2001a) e fosfato de rocha (RM-Agro E2003a). Os materiais de referência foram produzidos pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) (NOGUEIRA et al., 2016; SILVA, SOUZA & NOGUEIRA, 2018).

#### 5.1.2 Síntese dos solventes eutéticos naturais profundos (NADES)

Dois tipos diferentes de NADES foram sintetizados usando as seguintes combinações de componentes: ácido málico: xilitol: água (Am-Xil) e ácido cítrico: ácido málico: água (Ac-Am). Os NADES sintetizados por agitação e aquecimento, cujo procedimento de síntese e caracterização foi descrita na seção “Síntese e caracterização dos NADES por diferentes métodos” (Seção 3.1.2.1, página 25) foram empregados na presente seção.

#### 5.1.3 Digestão ácida assistida por radiação micro-ondas (MW-AD)

Para a determinação dos teores totais dos elementos estudados, a digestão ácida assistida por radiação micro-ondas (do inglês, MW-AD) foi empregada como método padrão para comparação com os valores das extrações com o emprego dos NADES. As digestões foram realizadas em um forno micro-ondas (Multiware PRO – Anton Paar GmbH, Graz, Austria). Aproximadamente 200 mg de amostras foram digeridas em frascos fechados com 6 mL (7 mol L<sup>-1</sup>) de ácido nítrico e 2 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (30 % m v<sup>-1</sup>) empregando o seguinte programa de aquecimento: I) rampa de aquecimento até 190 °C por 20 min; II) permanência a 190 °C por 20 min e III) resfriamento até 50 °C por 10 min. Após a digestão, as amostras e os brancos tiveram seus volumes ajustados quantitativamente com água ultrapura para 25 mL (SILVA, SOUZA & NOGUEIRA, 2018; KANE & HALL, 2006).

#### 5.1.4 Extração assistida por ultrassom (UAE) com solventes eutéticos naturais profundos (NADES)

Aproximadamente 100 mg de amostras de suplemento mineral (Embrapa, RM-Agro E2001a) e fosfato de rocha (Embrapa, RM-Agro E2003a), foram pesadas diretamente em tubos cônicos de 50 mL. O método de UAE foi o mesmo utilizado descrito na seção “NADES no preparo de amostra de matrizes vegetais” (Seção 4.1.3.2, página 42) (Santana et al., 2019a; SANTANA et al., 2020).

#### 5.1.5 Extração por banho de aquecimento com solventes eutéticos naturais profundos (NADES)

Aproximadamente 100 mg de amostras de suplemento mineral (RM-Agro E2001a) e fosfato de rocha (RM-Agro E2003a), foram pesadas diretamente em tubos cônicos de 50 mL, sendo a seguir adicionados 9,0 mL de cada um dos NADES (sintetizados individualmente) e a mistura submetida a banho de aquecimento (EVLAB, Modelo B.M.EV:O15, Londrina, PR, Brasil) na temperatura de 60 °C por 45 min, sem agitação. Após a etapa de extração, adicionou-se 4 mL de água ultrapura e o extrato foi centrifugado a 4000 rpm por 5 min. O sobrenadante foi separado por filtração utilizando papel filtro com dos poros de 25 µm e gramatura de 80 g m<sup>-2</sup> para evitar entupimento durante as análises. Posteriormente, os sobrenadantes foram analisados por ICP OES e ICP-MS. Todas as extrações foram realizadas em triplicatas.

#### 5.1.6 Determinação de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P e Zn por espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES)

Os extratos foram diluídos e analisados por ICP OES (iCAP 7000, Thermo Fisher Scientific, Madison, WI, EUA). Na Tabela 11 estão os parâmetros instrumentais e as linhas de emissão selecionadas para determinação de cada analito monitorado. A curva de calibração para as análises dos extratos foi realizada em meio de NADES 1 % (v v<sup>-1</sup>), enquanto que a curva de calibração para as análises dos digeridos foi realizada em meio de ácido nítrico 1 % (v v<sup>-1</sup>).

**Tabela 11.** Parâmetros instrumentais para as análises por ICP OES para a determinação de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P e Zn.

Parâmetros Instrumentais	Condições de Operação
Potência de radiofrequência (RF) aplicada (kW)	1,15
Tempo de integração de baixos comprimentos de onda (s)	15
Tempo de integração de altos comprimentos de onda (s)	5
Fluxo de introdução da amostra (mL min <sup>-1</sup> )	2,1
Tempo de estabilização (s)	5
Vazão do gás auxiliar (L min <sup>-1</sup> )	0,5
Vazão do gás de nebulização (L min <sup>-1</sup> )	0,7
Vazão do gás do plasma (L min <sup>-1</sup> )	12
Replicadas	3
Elementos e linhas de emissão monitorados (nm)	Ca II 396,847 <sup>b</sup> , Cu I 327,396 <sup>a</sup> , Fe II 238,204 <sup>a</sup> , K I 766,490 <sup>b</sup> , Mg II 280,270 <sup>a</sup> , Mn II 259,373 <sup>a</sup> , Na I 589,592 <sup>b</sup> , P I 177,495 <sup>a</sup> , e Zn I 213,856 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>Modo de visão axial.

<sup>b</sup>Modo de visão radial.

Fonte: elaborado pela autora.

#### 5.1.7 Determinação de As, Cd e Cr por espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS)

Os extratos foram diluídos e analisados por ICP-MS (modelo NexION 300X Perkin-Elmer, Shelton, CT, EUA) equipado com a tecnologia de célula universal (*Universal Cell Technology*<sup>TM</sup> UCT). O sistema de introdução de amostra é equipado com nebulizador concêntrico, uma câmara ciclônica e uma tocha de quartzo com um tubo injetor de quartzo (2,0 mm d.i.). Os parâmetros instrumentais foram otimizados antes das análises e os isótopos analisados foram <sup>75</sup>As, <sup>111</sup>Cd e <sup>52</sup>Cr no modo de colisão com discriminação por energia cinética (do inglês, KED) como estratégia de correção a base de gás hélio. A Tabela 12 mostra as configurações instrumentais e os parâmetros de aquisição de dados. A curva de calibração para as análises dos

extratos foi realizada em meio de NADES 1 % (v v<sup>-1</sup>), enquanto que a curva de calibração para as análises dos digeridos foi realizada em meio de ácido nítrico 1 % (v v<sup>-1</sup>).

**Tabela 12.** Parâmetros instrumentais para as análises por ICP-MS para a determinação de <sup>75</sup>As, <sup>111</sup>Cd e <sup>52</sup>Cr no modo de colisão com discriminação por energia cinética (KED).

<b>Parâmetros Instrumentais</b>	
Potência de radiofrequência (W)	1600
Vazão do gás no plasma (L min <sup>-1</sup> )	18
Vazão do gás auxiliar (L min <sup>-1</sup> )	1,2
Vazão do gás de nebulização (mL min <sup>-1</sup> )	0.7
Voltagem de entrada (V)	-3,00
Voltagem de saída (V)	-32,00
CRO <sup>a</sup> (V)	-15,00
QRO <sup>b</sup> (V)	-12,00
<b>Parâmetros do Método</b>	
Número de varreduras por leitura (varreduras)	50
Leituras (replicatas)	1
Número de leituras (leituras)	3
Tempo de espera (s)	25
Gás de colisão	He
RPq <sup>c</sup> (V)	0,25
Vazão do gás da cela de colisão (mL min <sup>-1</sup> )	3,0
Intervalo de calibração (µg L <sup>-1</sup> )	0,1-15
Isótopos analisados	<sup>75</sup> As, <sup>111</sup> Cd e <sup>52</sup> Cr

<sup>a</sup>CRO (*Cell Rod Offset*): voltagem aplicada ao quadrupolo da cela de colisão.

<sup>b</sup>QRO (*Quadrupole Rod Offset*): voltagem aplicada ao quadrupolo analisador de massas.

<sup>c</sup>RPq: está relacionado a voltagem aplicada as hastes do quadrupolo.

Fonte: elaborado pela autora.

#### 5.1.8 Avaliação dos parâmetros de desempenho

Soluções padrão para as curvas de calibração foram preparadas a partir de de soluções estoque de 1000 mg L<sup>-1</sup> dos elementos químicos (Sigma-Aldrich, MO, EUA)

por diluições consecutivas com água ultrapura. A exatidão do método foi avaliada usando materiais de referência citados na seção 5.1.1. O fator de recuperação foi calculado segundo a equação 3, a precisão foi expressa pelo RSD e calculado por meio da equação 4, valores de LOD foram calculados por meio da equação 5, enquanto que os LOQ foram calculados usando a equação 6 (INMETRO, 2016). Todas as equações citadas estão descritas na seção “NADES no preparo de amostra de matrizes vegetais” (Seção 4.1.4.3, página 44)

## **5.2 Resultados e discussão**

Como foi discutido na seção anterior a respeito da importância da avaliação de parâmetros de desempenho, as Tabelas 13 e 14 mostram os requisitos indicados pelo INMETRO e os dados obtidos pelas análises por ICP OES e ICP-MS, respectivamente para linearidade, faixa analítica de trabalho, LOD, LOQ e desvio padrão relativo (precisão).

**Tabela 13.** Valores de faixa analítica de trabalho, correlação linear, desvio padrão relativo, limite de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ) obtidos com o emprego da digestão ácida assistida por radiação micro-ondas (MW-AD) e NADES Ac-Xil e NADES Ac-Am para a determinação por ICP OES.

<b>Parâmetro de Validação</b>	<b>INMETRO</b>	<b>Obtido por MW-AD</b>	<b>Obtido por NADES Ac-Am</b>	<b>Obtido por NADES Ac-Xil</b>
Faixa de trabalho	Abranger as concentrações que serão avaliadas	0,05 a 60 mg L <sup>-1</sup> para Ca, Mg e Zn e 0,5 a 80 mg L <sup>-1</sup> para Cu, Fe, K, Mn, Na e P		
Coefficiente de Correlação Linear (Linearidade)	0,90 – 0,99	1,00	1,00	1,00
Desvio Padrão Relativo (Precisão)	Menor que 15 %	< 6 %	< 11 %	< 15 %
Limite de Detecção (LOD) (mg kg <sup>-1</sup> )	Menores possíveis	0,21 a 8,22.10 <sup>-2</sup>	0,45 a 7,68.10 <sup>-2</sup>	0,16 a 2,45.10 <sup>-2</sup>
Limite de Quantificação (LOQ) (mg kg <sup>-1</sup> )	Menores possíveis	0,73 a 2,77.10 <sup>-2</sup>	1,5 a 0,24	0,55 a 8.16.10 <sup>-2</sup>

Fonte: elaborado pela autora.

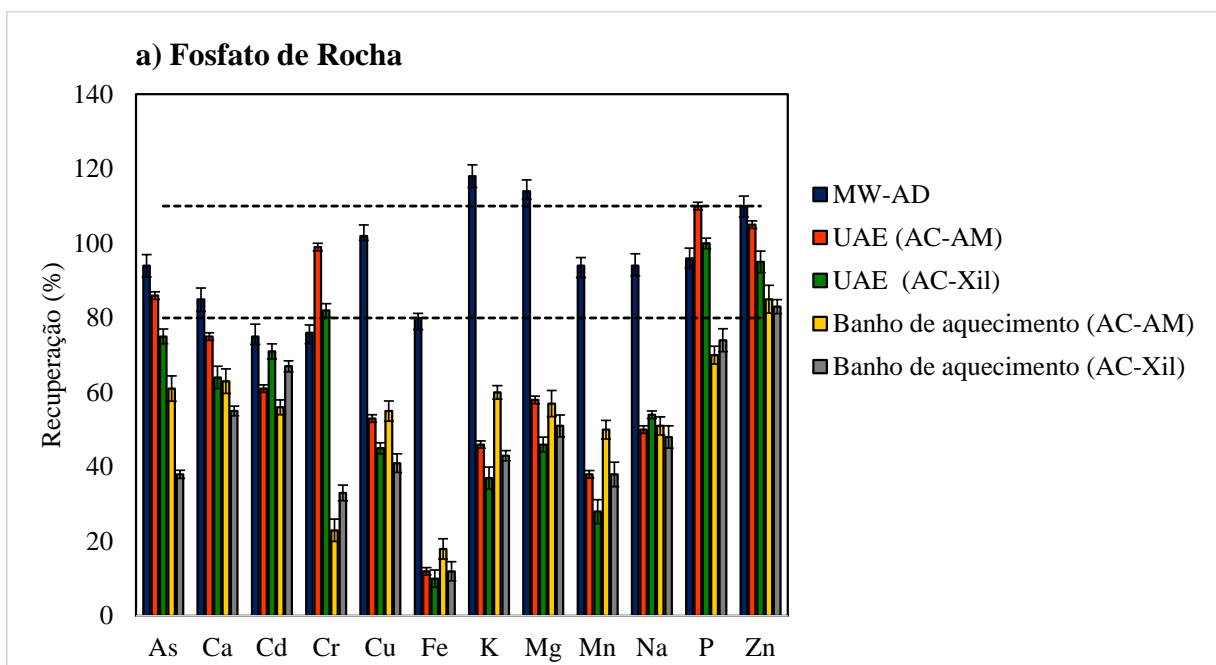
**Tabela 14.** Valores de faixa analítica de trabalho, correlação linear, desvio padrão relativo, limite de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ) obtidos com o emprego da digestão ácida assistida por radiação micro-ondas (MW-AD) e NADES Ac-Xil e NADES Ac-Am para a determinação por ICP-MS.

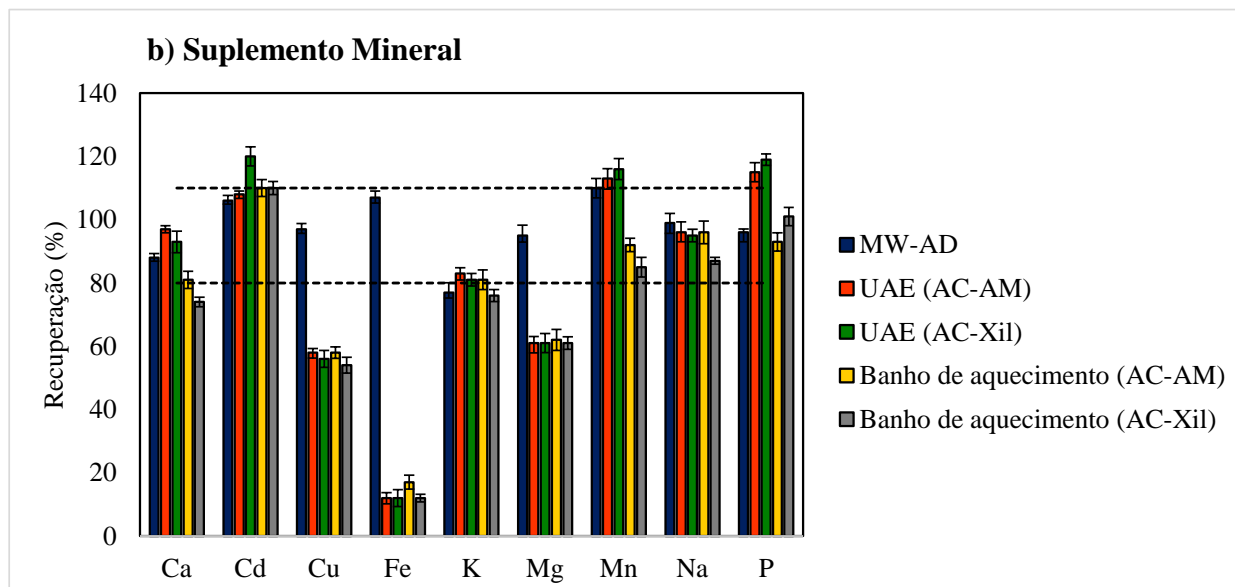
<b>Parâmetro de Validação</b>	<b>INMETRO</b>	<b>Obtido por MW-AD</b>	<b>Obtido por NADES Ac-Am</b>	<b>Obtido por NADES Ac-Xil</b>
Faixa de trabalho	Abranger as concentrações que serão avaliadas		0,1 a 15 µg L <sup>-1</sup>	
Coefficiente de Correlação Linear (Linearidade)	0,90 – 0,99	0,99	0,99	0,99
Desvio Padrão Relativo (Precisão)	Menor que 15 %	< 5	< 11	> 15
Limite de Detecção (LOD) (mg kg <sup>-1</sup> )	Menores possíveis	1,48.10 <sup>-2</sup> a 8,82.10 <sup>-3</sup>	1,68.10 <sup>-2</sup> a 1,96.10 <sup>-3</sup>	1,38.10 <sup>-2</sup> a 4,02.10 <sup>-3</sup>
Limite de Quantificação (LOQ) (mg kg <sup>-1</sup> )	Menores possíveis	4,93.10 <sup>-2</sup> a 2,94.10 <sup>-2</sup>	5,42.10 <sup>-2</sup> a 6,54.10 <sup>-3</sup>	4,61.10 <sup>-2</sup> a 1,35.10 <sup>-2</sup>

Fonte: elaborado pela autora.

As Tabelas 15 e 16 apresentam as concentrações certificadas e os resultados obtidos para os analitos avaliados empregando MW-AD, UAE e extração por banho de aquecimento para as amostras de fosfato de rocha e suplemento mineral, respectivamente. Os resultados de recuperação obtidos empregando o método padrão (MW-AD) nas amostras de suplemento mineral foram de 88 % (para Ca) a 110 % (para Mn), com exceção para potássio com 77 % de recuperação. Para as amostras de fosfato de rocha, a MW-AD apresentou recuperações entre 80 e 110 %, exceto para Cd e Cr com 75 e 76 % de recuperação, respectivamente. Foram consideradas aceitáveis as recuperações na faixa de 80 a 110 %, que estão apresentadas na Figura 14 (INMETRO, 2016).

**Figura 14.** Valores de recuperação (%) para As, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P e Zn (média  $\pm$  desvio padrão, n= 3) para os métodos de digestão assistida por radiação micro-ondas (MW-AD), extração assistida por ultrassom (UAE) e extração por banho de aquecimento empregando NADES Ac-Xil e Ac-Am para as amostras A) fosfato de rocha (RM-Agro E2003a) e B) suplemento mineral (RM-Agro E2001a).





Para o NADES Ac-Am usando o método de UAE foram obtidas recuperações satisfatórias para As, Cr, P e Zn em amostras de fosfato de rocha e de Ca, Cd, K e Na em amostras de suplemento mineral. Para o método de extração por banho de aquecimento utilizando o mesmo solvente extrator (NADES Ac-Am), observou-se recuperações em um intervalo aceitável apenas para Zn em amostras de fosfato de rocha e para Ca, Cd, K, Mn, Na e P em amostras de suplemento mineral.

O método UAE utilizando NADES Ac-Xil apresentou recuperações no intervalo aceitável para Ca, K e Na em amostras de suplemento mineral, enquanto para as amostras de fosfato de rocha para os elementos Cr, P e Zn. Porém, para o método de extração em aquecimento com o mesmo NADES, as recuperações variaram de 85 a 110 % para os elementos Cd, Mn, Na e P nas amostras de suplemento mineral. No caso das amostras de fosfato de rocha utilizando a técnica de extração com aquecimento, foi obtida recuperação satisfatória para Zn.

Em um contexto geral, as extrações por UAE apresentaram melhores resultados quando comparadas com as extrações por banho de aquecimento. A UAE tem se mostrado uma técnica efetiva para extração de uma grande parcela de analitos e em diferentes tipos de amostras, devido ao fenômeno de cavitação que favorece a transferência de calor (RUTKOWSKA, NAMIESNIK & KONIECZKA, 2017).

**Tabela 15.** Concentrações (média  $\pm$  desvio padrão, n = 3) e recuperações (%) de As, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P e Zn em amostras de fosfato de rocha (RM-Agro E2003a) empregando digestão ácida assistida por radiação micro-ondas (MW-AD), extração assistida por ultrassom (UAE) e extração em banho de aquecimento utilizando NADES Ac-Xil e NADES Ac-Am.

(continua)

**FOSFATO DE ROCHA**

Analito	Valor certificado* (mg kg <sup>-1</sup> )	NADES Ac-Am						NADES Ac-Xil			
		MW-AD		UAE		Banho de aquecimento		UAE		Banho de aquecimento	
		Valor obtido (mg kg <sup>-1</sup> )	R (%)	Valor obtido (mg kg <sup>-1</sup> )	R (%)	Valor obtido (mg kg <sup>-1</sup> )	R (%)	Valor obtido (mg kg <sup>-1</sup> )	R (%)	Valor obtido (mg kg <sup>-1</sup> )	R (%)
As	15,53 $\pm$ 7,25	14,5 $\pm$ 0,7	94	13,4 $\pm$ 1,5	86	9,4 $\pm$ 0,6	61	11,7 $\pm$ 0,1	75	5,9 $\pm$ 0,7	38
Ca	35,99 $\pm$ 5,64 <sup>a</sup>	30,5 $\pm$ 1,7 <sup>a</sup>	85	27,1 $\pm$ 2,6 <sup>a</sup>	75	22,6 $\pm$ 4,0 <sup>a</sup>	63	22,9 $\pm$ 1,7 <sup>a</sup>	64	19,9 $\pm$ 1,7 <sup>a</sup>	55
Cd	21,26 $\pm$ 3,02	16,0 $\pm$ 0,7	75	13,1 $\pm$ 1,4	61	11,8 $\pm$ 0,8	56	15,1 $\pm$ 0,3	71	14,2 $\pm$ 0,7	67
Cr	288,78 $\pm$ 18,91	219 $\pm$ 1	76	286 $\pm$ 3	99	66 $\pm$ 2	23	236 $\pm$ 1	82	95 $\pm$ 1	33
Cu	36,25 $\pm$ 12,65	36,9 $\pm$ 0,1	102	19,2 $\pm$ 0,1	53	19,8 $\pm$ 0,1	55	16,4 $\pm$ 0,1	45	14,8 $\pm$ 0,1	41
Fe	1708,60 $\pm$ 62,13	1360 $\pm$ 1	80	205 $\pm$ 1	12	301 $\pm$ 1	18	165 $\pm$ 1	10	205 $\pm$ 1	12
K	567,87 $\pm$ 51,71	670,9 $\pm$ 0,1	118	263 $\pm$ 0,1	46	342 $\pm$ 0,1	60	211 $\pm$ 0,1	37	244 $\pm$ 0,1	43

**Tabela 15.** Concentrações (média  $\pm$  desvio padrão, n = 3) e recuperações (%) de As, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P e Zn em amostras de fosfato de rocha (RM-Agro E2003a) empregando digestão ácida assistida por radiação micro-ondas (MW-AD), extração assistida por ultrassom (UAE) e extração em banho de aquecimento utilizando NADES Ac-Xil e NADES Ac-Am.

(conclusão)

**FOSFATO DE ROCHA**

Analito	Valor certificado* (mg kg <sup>-1</sup> )	NADES Ac-Am						NADES Ac-Xil			
		MW-AD		UAE		Banho de aquecimento		UAE		Banho de aquecimento	
		Valor obtido (mg kg <sup>-1</sup> )	R (%)	Valor obtido (mg kg <sup>-1</sup> )	R (%)	Valor obtido (mg kg <sup>-1</sup> )	R (%)	Valor obtido (mg kg <sup>-1</sup> )	R (%)	Valor obtido (mg kg <sup>-1</sup> )	R (%)
Mg	2695,87 $\pm$ 132,55	3064 $\pm$ 1	114	1567 $\pm$ 1	58	1534 $\pm$ 1	57	1333 $\pm$ 1	46	1377 $\pm$ 1	51
Mn	16,29 $\pm$ 6,90	15,3 $\pm$ 0,1	94	6,2 $\pm$ 0,1	38	8,2 $\pm$ 0,1	50	4,5 $\pm$ 0,1	28	6,2 $\pm$ 0,1	38
Na	5350,20 $\pm$ 273,43	5128 $\pm$ 1	94	2687 $\pm$ 1	50	2704 $\pm$ 1	51	2908 $\pm$ 1	54	2550 $\pm$ 0,1	48
P	14,27 $\pm$ 3,94 <sup>a</sup>	13,7 $\pm$ 0,8 <sup>a</sup>	96	15,7 $\pm$ 1,6 <sup>a</sup>	110	9,9 $\pm$ 0,9 <sup>a</sup>	70	14,2 $\pm$ 2,2 <sup>a</sup>	100	10,6 $\pm$ 0,9 <sup>a</sup>	74
Zn	277,91 $\pm$ 12,80	306 $\pm$ 1	110	289 $\pm$ 1	105	235 $\pm$ 1	85	265 $\pm$ 1	95	230 $\pm$ 1	83

<sup>a</sup>Concentrações em % m m<sup>-1</sup>.

\*Nogueira et al., 2016; Silva, Souza & Nogueira, 2018.

Fonte: elaborado pela autora.

**Tabela 16.** Concentrações determinadas (média  $\pm$  desvio padrão, n = 3) e recuperações (%) de Ca, Cd, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn em amostras de suplemento mineral (RM-Agro E2001a) empregando digestão ácida assistida por radiação micro-ondas (MW-AD), extração assistida por ultrassom (UAE) e extração em banho de aquecimento utilizando NADES Ac-Xil e NADES Ac-Am.

(continua)

SUPLEMENTO MINERAL											
Analito	Valor certificado* (g kg <sup>-1</sup> )	NADES Ac-Am						NADES Ac-Xil			
		MW-AD		UAE		Banho de aquecimento		UAE		Banho de aquecimento	
		Valor obtido (g kg <sup>-1</sup> )	R (%)	Valor obtido (g kg <sup>-1</sup> )	R (%)	Valor obtido (g kg <sup>-1</sup> )	R (%)	Valor obtido (g kg <sup>-1</sup> )	R (%)	Valor obtido (g kg <sup>-1</sup> )	R (%)
Ca	187,8 $\pm$ 36,3	167 $\pm$ 1	88	178 $\pm$ 2	97	152 $\pm$ 2	81	174 $\pm$ 1	93	138 $\pm$ 1	74
Cd	425,3 $\pm$ 76,37 <sup>a</sup>	450 $\pm$ 1 <sup>a</sup>	106	461 $\pm$ 2 <sup>a</sup>	108	470 $\pm$ 5 <sup>a</sup>	110	511 $\pm$ 1 <sup>a</sup>	120	465 $\pm$ 1 <sup>a</sup>	110
Cu	803,8 $\pm$ 86,5 <sup>b</sup>	776 $\pm$ 1 <sup>b</sup>	97	473 $\pm$ 1 <sup>b</sup>	58	463 $\pm$ 1 <sup>b</sup>	58	448 $\pm$ 1 <sup>b</sup>	56	436 $\pm$ 1 <sup>b</sup>	54
Fe	2729 $\pm$ 213 <sup>b</sup>	2914 $\pm$ 2 <sup>b</sup>	107	332 $\pm$ 1 <sup>b</sup>	12	452 $\pm$ 1 <sup>b</sup>	17	332 $\pm$ 1 <sup>b</sup>	12	331 $\pm$ 2 <sup>b</sup>	12
K	35,6 $\pm$ 4,3	27,3 $\pm$ 1,3	77	29,6 $\pm$ 0,1	83	28,9 $\pm$ 0,1	81	28,7 $\pm$ 0,2	81	28,9 $\pm$ 0,1	76
Mg	10,8 $\pm$ 2,7	10,3 $\pm$ 0,2	95	6,5 $\pm$ 0,2	61	6,7 $\pm$ 0,6	62	6,6 $\pm$ 0,8	61	6,6 $\pm$ 0,3	61

**Tabela 16.** Concentrações determinadas (média  $\pm$  desvio padrão, n = 3) e recuperações (%) de Ca, Cd, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn em amostras de suplemento mineral (RM-Agro E2001a) empregando digestão ácida assistida por radiação micro-ondas (MW-AD), extração assistida por ultrassom (UAE) e extração em banho de aquecimento utilizando NADES Ac-Xil e NADES Ac-Am.

(conclusão)											
SUPLEMENTO MINERAL											
Analito	Valor certificado* (g kg <sup>-1</sup> )	NADES Ac-Am						NADES Ac-Xil			
		MW-AD		UAE		Banho de aquecimento		UAE		Banho de aquecimento	
		Valor obtido (g kg <sup>-1</sup> )	R (%)	Valor obtido (g kg <sup>-1</sup> )	R (%)	Valor obtido (g kg <sup>-1</sup> )	R (%)	Valor obtido (g kg <sup>-1</sup> )	R (%)	Valor obtido (g kg <sup>-1</sup> )	R (%)
Mn	1571 $\pm$ 141 <sup>b</sup>	1744 $\pm$ 1 <sup>b</sup>	110	1775 $\pm$ 1 <sup>b</sup>	113	1445 $\pm$ 1 <sup>b</sup>	92	1820 $\pm$ 1 <sup>b</sup>	116	1328 $\pm$ 1 <sup>b</sup>	85
Na	80 $\pm$ 15	79 $\pm$ 1	99	77 $\pm$ 1	96	77 $\pm$ 1	96	76 $\pm$ 1	95	70 $\pm$ 1	87
P	84,5 $\pm$ 17,3	79,4 $\pm$ 0,4	96	97,1 $\pm$ 0,5	115	78,3 $\pm$ 0,4	93	100,2 $\pm$ 0,6	119	85,5 $\pm$ 0,9	101

<sup>a</sup>Concentrações em % m m<sup>-1</sup>.

<sup>b</sup>Concentrações em mg kg<sup>-1</sup>.

\* Nogueira et al., 2016; Silva, Souza & Nogueira, 2018.

Fonte: elaborado pela autora.

Os resultados obtidos pelos métodos propostos foram comparados com os valores de concentração determinados pelo método de referência (MW-AD), sendo observadas diferenças significativas ao nível de 95 % de confiança (*teste t* de Student) para alguns dos casos. A comparação desses resultados revelou diferenças significativas para alguns elementos, sugerindo diferentes interações químicas entre os NADES sintetizados e cada elemento avaliado (SANTANA et al., 2019b). Na extração das amostras de fosfato de rocha, os melhores resultados foram para As (UAE com NADES Ac-Am), Cr (UAE com NADES Ac-Am), P (UAE com NADES Ac-Xil) e Zn (UAE com NADES Ac-Xil e banho de aquecimento com NADES Ac-Xil). Em relação ao suplemento mineral, não foram observadas diferenças significativas para Ca (UAE com NADES Ac-Am e UAE com NADES Ac-Xil), Cd (UAE com NADES Ac-Am e banho de aquecimento com NADES Ac-Xil), K (UAE com NADES Ac-Am e banho de aquecimento com NADES Ac-Xil), Mn (UAE com NADES Ac-Am e banho de aquecimento com NADES Ac-Xil), Na (UAE com NADES Ac-Am, banho de aquecimento com NADES Ac-Xil e banho de aquecimento com NADES Ac-Am), e P para todos os métodos avaliados.

Porém para a maioria dos analitos foram observadas baixas recuperações (de 10 a 77 %) para ambas as amostras, indicando a necessidade de estudos de novas proporções dos precursores assim como a otimização das condições de extração dos analitos durante o preparo das amostras e também nos métodos de detecção. Matrizes inorgânicas são complexas e difíceis de serem digeridas ou realizar extração quantitativa dos analitos (KRUG et al., 2019). É válido ressaltar que até o presente momento não há relato na literatura de aplicação dessa classe de solventes em matrizes inorgânicas.

Além disso, estudos mostraram que os NADES não são considerados solventes universais, pelo contrário, são solventes altamente seletivos e moduláveis (GONZALEZ, CHOI & VERPOORTE, 2020). Isso sugere que a escolha de um método de síntese dos NADES e a proporção de seus reagentes também deve levar em consideração a matriz e o analito pois a existência de efeitos matriciais pode diminuir a eficiência de extração de alguns analitos (GONZALEZ, CHOI & VERPOORTE, 2020), fato comprovado com os resultados obtidos no presente estudo.

### 5.3 Conclusão

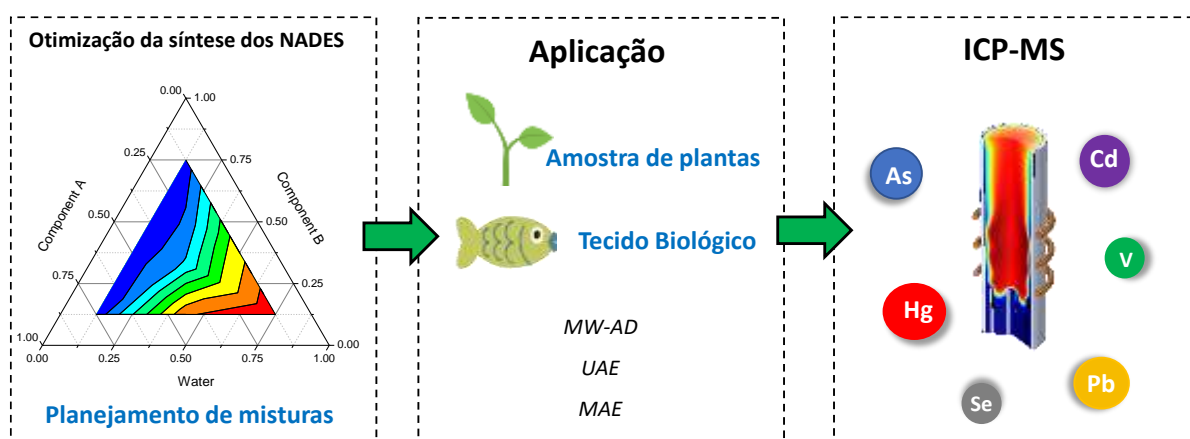
Nesta seção dois tipos de NADES foram preparados a partir da combinação de ácido málico, ácido cítrico, xilitol e água e, posteriormente, avaliados como possíveis solventes extratores de matrizes inorgânicas. A extração assistida por radiação ultrassônica (UAE) e a extração com banho de aquecimento mostraram-se como métodos eficientes para a extração seletiva de alguns dos analitos monitorados em amostras de fertilizante fosfatado e suplemento mineral. Os NADES se mostraram solventes seletivos, interagindo de maneira diferente com cada analito estudado em matrizes complexas. Não foi possível identificar um solvente ou método de extração ideal para determinação quantitativa de todos analitos simultaneamente nas matrizes avaliadas. Deve ser ressaltada a dificuldade existente na solubilização dos materiais inorgânicos avaliados, altamente refratários. Os resultados mostraram que os NADES são promissores para a extração de matrizes inorgânicas, além de serem compatíveis com técnicas com fonte de plasma. Além disso, os métodos propostos apresentaram-se em acordo aos princípios da Química Verde, exibindo vantagens como simplicidade operacional, uso de reagentes não voláteis e emprego de menores volumes de solvente extrator. Portanto, pode ser considerada uma alternativa aos métodos convencionais de preparo de amostras inorgânicas, como fosfato de rocha e suplemento mineral.

## 6. USO DE PLANEJAMENTO DE MISTURA PARA A OTIMIZAÇÃO DA SÍNTESE DOS NADES

Nesta seção é descrito o uso de planejamento de mistura para a otimização da síntese de três diferentes NADES usando ácido cítrico, ácido málico, xilitol e água. A proporção otimizada para cada um dos três solventes sintetizados foi selecionada com base nos valores de densidade e viscosidade. Os NADES com as proporções otimizadas foram caracterizados e posteriormente empregados como solventes em extração assistida por ultrassom (do inglês, UAE) e extração assistida por radiação micro-ondas (do inglês, MAE) em material vegetal e tecido biológico para a determinação de As, Cd, Hg, Pb, Se e V por ICP-MS. (Figura 15). A partir destes estudos foi publicado o seguinte trabalho:

A.P.R. Santana, D.A. Andrade, T.G.S. Guimarães, C.B.D. Amaral, A. Oliveira, M.H. Gonzalez, Synthesis of natural deep eutectic solvents using a mixture design for extraction of animal and plant samples prior to ICP-MS analysis, *Talanta*, v. 2016, p. 120956, 2020 <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.120956>

**Figura 15.** Resumo gráfico para a metodologia do uso de planejamento de mistura para a otimização da síntese dos NADES.



Fonte: adaptado de Santana *et al.*, 2020.

## 6.1 Materiais e métodos

### 6.1.1 Reagentes e Amostras

Os materiais utilizados nos experimentos foram previamente descontaminados e desmineralizados por 24 h em banho ácido contendo 10 % (v v<sup>-1</sup>) de HNO<sub>3</sub>, seguido três lavagens com água deionizada ultrapura. As soluções foram preparadas usando água ultrapura (18 MΩ cm) de um sistema Milli-Q (Merck KGaA, ICW-3000, Darmstadt, Hessen, Alemanha). O ácido nítrico (Sigma-Aldrich, MO, EUA) foi previamente purificado usando um sistema de sub-ebulição (Milestone, PTFE SubCLEAN, BG, Itália). Os NADES foram sintetizadas utilizando xilitol de 99 % de pureza (Sigma-Aldrich, MO, EUA), ácido cítrico de 99,5 % de pureza (Sigma-Aldrich, MO, EUA), ácido DL-málico de 99 % de pureza (Sigma-Aldrich, MO, EUA) em água ultrapura.

A exatidão dos métodos foi avaliada usando materiais de referência certificados (do inglês, CRM) de folhas de pêssigo (NIST 1547) e proteína de peixe (DORM-4) e os materiais de referência *Brachiaria Brizantha cv. Marandu* (Embrapa, RM-Agro E1001a) e fígado bovino (EMBRAPA, RM-Agro E3001a) produzidos pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa, Brasil) e tecido de peixe (RM-2011/207) produzido pelo Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN, CNEN / SP, Brasil).

### 6.1.2 Síntese de solventes eutéticos naturais profundos (NADES)

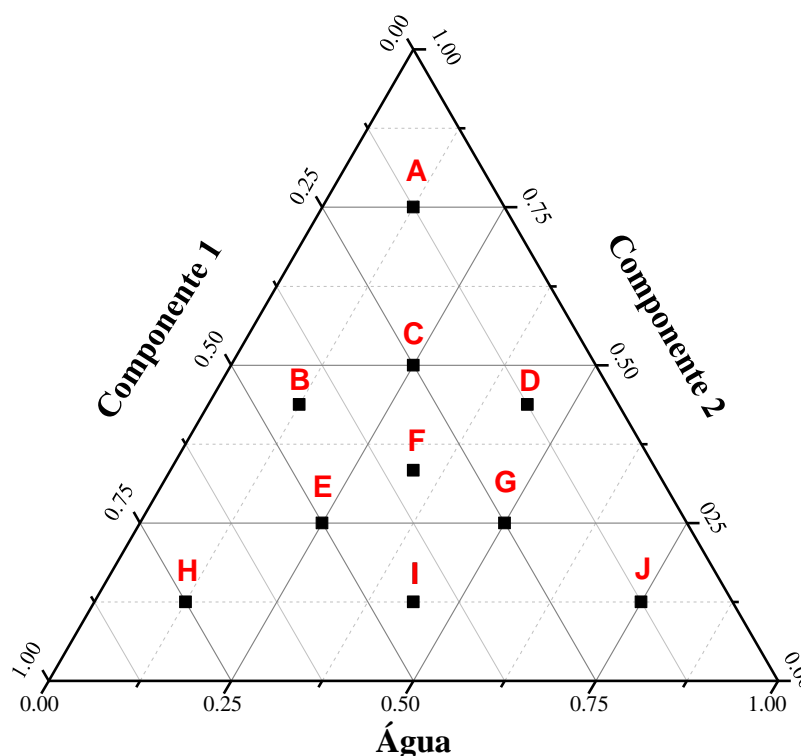
#### 6.1.2.1 Síntese de solventes eutéticos naturais profundos (NADES) por planejamento de mistura

As proporções dos componentes para a síntese do NADES estão de acordo com o planejamento de misturas restrito apresentado na Figura 16. Todos os componentes da mistura foram restringidos pelos limites superior e inferior pois a proporção dos valores máximo e mínimo para cada componente não é viável na síntese dos NADES. As proporções dos componentes estavam em porcentagem de massa (% m m<sup>-1</sup>). Neste espaço viável do experimento A a J (Figura 16) foi aplicado a três misturas diferentes: água: ácido cítrico (componente 1): xilitol (componente 2)

(Ac-Xil), água: ácido málico (componente 1): xilitol (componente 2) (Am-Xil), e água: ácido cítrico (componente 1): ácido málico (componente 2) (Ac-Am).

Ambos os componentes 1 e 2 foram misturados com água de acordo com as proporções do planejamento de misturas restrito (Figura 16) e o resultado de cada mistura foi aquecido em banho-maria por 2 h a 50 °C sob agitação magnética (AccuPlate Hotplate Stirrer, LAbNet, NJ, EUA) a 220 rpm. Os NADES sintetizados foram armazenados em dessecador até o uso. A síntese dos NADES por agitação e aquecimento foi baseada no método descrito por DAI et al., (2013).

**Figura 16.** Planejamento de mistura restrito para a síntese de três NADES de misturas diferentes: água: ácido cítrico (componente 1): xilitol (componente 2) (Ac-Xil); água: ácido málico (componente 1): xilitol (componente 2) (Am-Xil) e água: ácido cítrico: (componente 1): ácido málico (componente 2) (Ac-Am).



Fonte: adaptado de Santana *et al.*, 2020.

### 6.1.2.2 Caracterização dos solventes eutéticos naturais profundos (NADES)

As medidas de densidade e viscosidade foram realizadas para todas as combinações dos NADES sintetizados (experimentos A a J, Figura 16), total de 30 combinações diferentes. As densidades e viscosidades de cada uma dessas

combinações de NADES foram determinadas segundo os procedimentos descritos na seção 3.1.3 “Caracterização físico-química dos NADES”, página 25. Os espectros de infravermelho do NADES sintetizado usando as proporções otimizadas foram obtidos segundo os procedimentos descritos na seção 3.1.3 “Caracterização físico-química dos NADES”, página 25.

#### 6.1.3 Preparo de amostra e análises utilizando espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS)

Os NADES sintetizados por meio das proporções otimizadas (NADES Ac-Xil; NADES Am-Xil e NADES Ac-Am) foram utilizados como solventes extratores nas etapas de preparo de amostra descritas a seguir.

##### *6.1.3.1 Digestão ácida assistida por radiação micro-ondas (MW-AD)*

Para a determinação das concentrações dos elementos inorgânicos, as amostras foram submetidas ao procedimento de MW-AD antes da análise por ICP-MS. Aproximadamente 150 mg de cada amostra foram digeridos com 6,0 mL de HNO<sub>3</sub> (7,0 mol L<sup>-1</sup>) e 2,0 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30 % m v<sup>-1</sup>), em frascos fechados. O programa de aquecimento de micro-ondas (Multiwave PRO, Anton Paar GmbH, Graz, Áustria) foi o seguinte: I) rampa de aquecimento de 10 min até 190 °C, II) mantendo a 190 °C por 40 min, e III) resfriamento até 50 °C por 10 min. Após a digestão, as amostras e os brancos tiveram seus volumes ajustados quantitativamente com água ultrapura para 25 mL. O procedimento foi realizado em triplicata (GONZALEZ et al., 2009).

##### *6.1.3.2 Extração assistida por ultrassom (UAE)*

Aproximadamente 90 mg de amostras foram pesados diretamente em tubos cônicos de 50 mL. O método de UAE foi o mesmo utilizado descrito na seção “NADES no preparo de amostra de matrizes vegetais” (Seção 4.1.3.2, página 42) (Santana et al., 2019a; SANTANA et al., 2020).

##### *6.1.3.3 Extração assistida por radiação micro-ondas (MAE)*

Aproximadamente 90 mg das amostras e 9 mL de NADES foram colocados em vasos fechados. As misturas foram submetidas a irradiação de micro-ondas (Modelo

Multiwave PRO, Anton Paar GmbH, Graz, Áustria) usando o seguinte programa de aquecimento: I) rampa de aquecimento de 2 min até 100 °C, II) permanência a 100 °C por 18 min, e III) resfriamento até 50 °C por 10 min. O sobrenadante foi separado por filtração utilizando papel filtro com dos poros de 25 µm e gramatura de 80 g m<sup>-2</sup> para evitar entupimento durante as análises. Posteriormente, os sobrenadantes foram analisados por ICP-MS. Todas as extrações foram realizadas em triplicatas.

#### 6.1.3.4 Determinação de As, Cd, Hg, Pb, Se e V por ICP-MS

As análises dos digeridos e extratos diluídos foram realizadas usando ICP-MS (NexION 300X, PerkinElmer, Shelton, CT, EUA) equipado com a tecnologia de célula universal (*Universal Cell Technology*<sup>TM</sup> UCT). O sistema de introdução de amostra foi com nebulizador concêntrico, uma câmara ciclônica e uma tocha de quartzo com um tubo injetor de quartzo (2,0 mm d.i.). A taxa de vazão do gás nebulizador, o alinhamento da tocha e as tensões do quadrupolo foram ajustados de acordo com as recomendações do fabricante. Os parâmetros instrumentais foram otimizados antes das análises e os isótopos <sup>82</sup>Se e <sup>51</sup>V foram analisados no modo de colisão com discriminação por energia cinética (do inglês, KED) como estratégia de correção a base de gás hélio. Os isótopos <sup>75</sup>As, <sup>111</sup>Cd, <sup>202</sup>Hg e <sup>208</sup>Pb foram analisados no modo padrão. As condições de operação do ICP-MS são mostradas na Tabela 17. A curva de calibração para as análises dos extratos foi realizada em meio de NADES 1 % (v v<sup>-1</sup>), enquanto que a curva de calibração para as análises dos digeridos foi realizada em meio de ácido nítrico 1 % (v v<sup>-1</sup>).

**Tabela 17.** Parâmetros instrumentais para as análises por ICP-MS para a determinação de  $^{75}\text{As}$ ,  $^{111}\text{Cd}$ ,  $^{202}\text{Hg}$ ,  $^{208}\text{Pb}$ ,  $^{82}\text{Se}$  e  $^{51}\text{V}$ .

<b>Parâmetros Instrumentais</b>	
Potência de radiofrequência (W)	1600
Vazão do gás no plasma ( $\text{L min}^{-1}$ )	18
Vazão do gás auxiliar ( $\text{L min}^{-1}$ )	1,2
Vazão do gás de nebulização ( $\text{mL min}^{-1}$ )	0.7
Voltagem de entrada (V)	-3,00
Voltagem de saída (V)	-32,00
CRO <sup>a</sup> (V)	-15,00
QRO <sup>b</sup> (V)	-12,00
<b>Parâmetros do Método</b>	
Número de varreduras por leitura (varreduras)	50
Leituras (replicadas)	1
Número de leituras (leituras)	3
Tempo de espera (s)	25
Gás de colisão	He
RPq <sup>c</sup> (V)	0,25
Vazão do gás da cela de colisão ( $\text{mL min}^{-1}$ )	2,2 para $^{82}\text{Se}$ e $^{51}\text{V}$

<sup>a</sup>CRO (*Cell Rod Offset*): voltagem aplicada ao quadrupolo da cela de colisão.

<sup>b</sup>QRO (*Quadrupole Rod Offset*): voltagem aplicada ao quadrupolo analisador de massas.

<sup>c</sup>RPq: está relacionado a voltagem aplicada as hastes do quadrupolo.

Fonte: adaptado de Santana *et al.*, 2020.

#### 6.1.4 Avaliação dos parâmetros de desempenho

As curvas de calibração foram preparadas por diluições consecutivas de soluções padrão de concentração  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  dos analitos de interesse (Sigma-Aldrich, MO, EUA). A exatidão do método foi avaliada usando materiais de referência certificados (do inglês, CRM) e matérias de referências citados na seção 6.1.1. O fator de recuperação foi calculado segundo a equação 3, a precisão foi expressa pelo RSD, e calculado por meio da equação 4, valores de LOD foram calculados por meio da equação 5, enquanto que os LOQ foram calculados usando a equação 6 (INMETRO,

2016). Todas as equações citadas acima estão descritas na seção “NADES no preparo de amostra de matrizes vegetais” (Seção 4.1.4.3, página 44)

## 6.2 Resultados e discussão

### 6.2.1 Síntese dos solventes eutéticos naturais profundos (NADES) por planejamento de mistura restrito

Para se obter a melhor condição reacional, um total de 30 experimentos foi previamente realizado pelo planejamento de misturas restrito. Para se identificar a melhor proporção de cada NADES sintetizado, densidade e viscosidade foram monitorados em cada uma das misturas sintetizadas.

O planejamento de misturas apresenta ampla aplicação nos ramos da ciência, indústria e engenharia, por exemplo (MARCHEAFAVE et al., 2019; CORNELL, 2002). Usando o planejamento de misturas é possível verificar como as propriedades de interesse são afetadas pela variação das proporções dos componentes da mistura com apenas alguns experimentos (LEARDI et al., 2002). Conseqüentemente, um número mínimo de experimentos fornece menores volumes de reagentes e resíduos, menor gasto de energia e, portanto, ecologicamente correto. Além disso, a aplicação do planejamento de misturas, metodologia da superfície de resposta, leva à definição das composições mais apropriadas que atendem às propriedades especificadas para a aplicação desejada (LEARDI et al., 2002).

A proporção experimental de cada componente para a síntese dos NADES (experimentos A a J, Figura 16), bem como os valores de densidade e viscosidade para as três combinações avaliadas (total de 30 experimentos) são mostradas na Tabela 18. Densidade e viscosidade são características importantes que influenciam a eficiência do transporte de massa, conseqüentemente influenciando a eficiência de extração (RIBEIRO et al., 2015). NADES com baixa densidade e viscosidade são melhores solventes extratores devido principalmente à sua alta difusividade (DWAMENA, 2019). De fato, aumentar a difusividade causa um maior movimento das moléculas, melhorando a eficiência de extração (HUANG et al., 2017).

Quando se trata do uso de técnicas de plasma como ICP-MS, a viscosidade é um parâmetro importante na representatividade das amostras no plasma. Por

exemplo, o uso de solventes com alta viscosidade e tensão superficial reduz a eficiência de transporte da amostra para o plasma, devido ao efeito na formação de *spray* no nebulizador e a separação das gotículas na câmara de nebulização (THOMAS, 2013). Portanto, é importante monitorar esses parâmetros nesses novos solventes sintetizados, uma vez que podem influenciar diretamente tanto em procedimentos de extração quanto na determinação dos analitos alvos.

**Tabela 18.** Valores de densidade e viscosidade dos experimentos A a J para as três misturas diferentes. NADES Ac-Xil: ácido cítrico (componente 1), xilitol (componente 2) e água; NADES Am-Xil: ácido málico (componente 1), xilitol (componente 2) e água; NADES Ac-Am: ácido cítrico (componente 1) e ácido málico (componente 2) e água.

Experimento	Componente 1 (% m m <sup>-1</sup> )	Componente 2 (% m m <sup>-1</sup> )	Água (% m m <sup>-1</sup> )	Densidade <sup>a</sup> (mg L <sup>-1</sup> )			Viscosidade <sup>a</sup> (mPa.s)		
				NADES Ac-Xil	NADES Am- Xil	NADES Ac-Am	NADES Ac-Xil	NADES Am-Xil	NADES Ac-Am
A	12,5	75	12,5	- <sup>b</sup>	- <sup>b</sup>	- <sup>b</sup>	- <sup>b</sup>	- <sup>b</sup>	- <sup>b</sup>
B	43,75	43,75	12,5	- <sup>c</sup>	1,42 ± 0,02	- <sup>c</sup>	- <sup>c</sup>	- <sup>c</sup>	- <sup>c</sup>
C	25	50	25	1,28 ± 0,03	1,33 ± 0,02	1,39 ± 0,02	65,06 ± 0,96	71,36 ± 1,04	- <sup>c</sup>
D	12,5	43,75	43,75	1,25 ± 0,03	1,24 ± 0,02	1,18 ± 0,02	10,44 ± 0,12	7,63 ± 0,02	6,05 ± 0,25
E	50	25	25	1,38 ± 0,02	1,33 ± 0,01	1,40 ± 0,02	99,21 ± 1,31	50,45 ± 0,90	81,40 ± 1,03
F	33,33	33,33	33,33	1,33 ± 0,02	1,31 ± 0,02	1,35 ± 0,01	21,53 ± 1,81	18,45 ± 0,25	18,24 ± 0,16
G	25	25	50	1,22 ± 0,02	1,22 ± 0,02	1,26 ± 0,01	5,21 ± 0,03	4,22 ± 0,02	4,03 ± 0,03
H	75	12,5	12,5	- <sup>b</sup>	- <sup>b</sup>	- <sup>b</sup>	- <sup>b</sup>	- <sup>b</sup>	- <sup>b</sup>
I	43,75	12,5	43,75	1,29 ± 0,01	1,29 ± 0,02	1,30 ± 0,02	10,71 ± 0,07	8,31 ± 0,01	7,92 ± 0,03
J	12,5	12,5	75	1,07 ± 0,02	1,10 ± 0,02	1,13 ± 0,02	1,13 ± 0,03	1,36 ± 0,15	1,47 ± 0,06

<sup>a</sup> Média ± desvio padrão (n = 3).

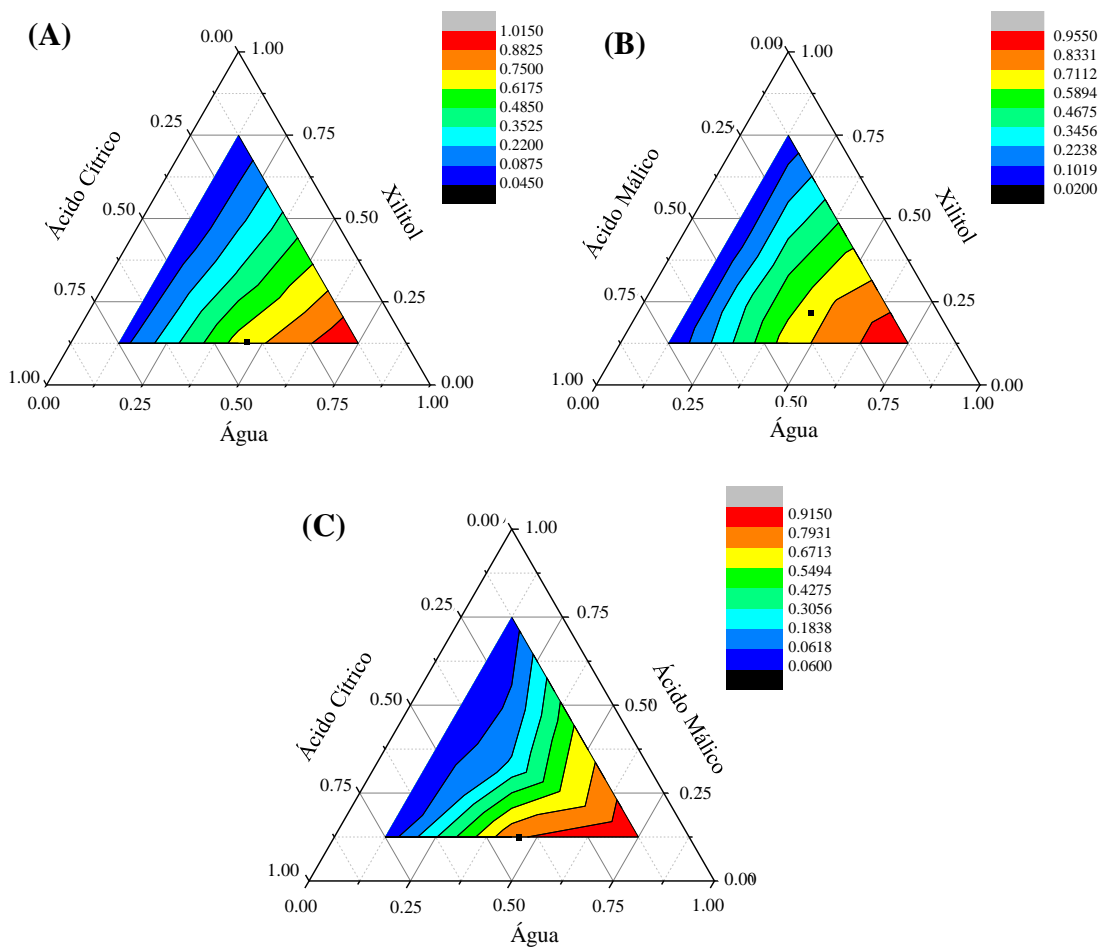
<sup>b</sup> Não houve a formação de um líquido homogêneo.

<sup>c</sup> Houve a formação um líquido homogêneo, mas a medição não foi possível devido aos altos valores de viscosidade ou densidade.

Fonte: adaptado de Santana *et al.*, 2020.

Ambas as respostas (valores de densidade e viscosidade) foram codificadas de 0 (resposta indesejada; alta densidade e viscosidade) a 1 (resposta desejada; baixa densidade e viscosidade) usando uma função de desejabilidade individual ( $d_i$ ). Desta forma, todos os valores foram combinados em uma única resposta ( $D$ , desejabilidade global) (COSTA, LOURENÇO & PEREIRA, 2011). As melhores proporções (em % m m<sup>-1</sup>) obtidas neste estudo foram 42: 13: 45 (ácido cítrico: xilitol: água), 34: 21: 45 (ácido málico: xilitol: água) e 42: 13: 45 (ácido cítrico: ácido málico: água). A Figura 17 mostra o modelo de superfície de resposta ajustada obtido para os três diferentes NADES sintetizados, nos quais os valores próximos a 1 mostram valores mais baixos de densidade e viscosidade e a proporção selecionada para cada solvente (ponto preto).

**Figura 17.** Modelo de superfícies de resposta para NADES (A) ácido cítrico: xilitol: água (Ac-Xil); (B) ácido málico: xilitol: água (Am-Xil) e (C) ácido cítrico: ácido málico: água (Ac-Am).

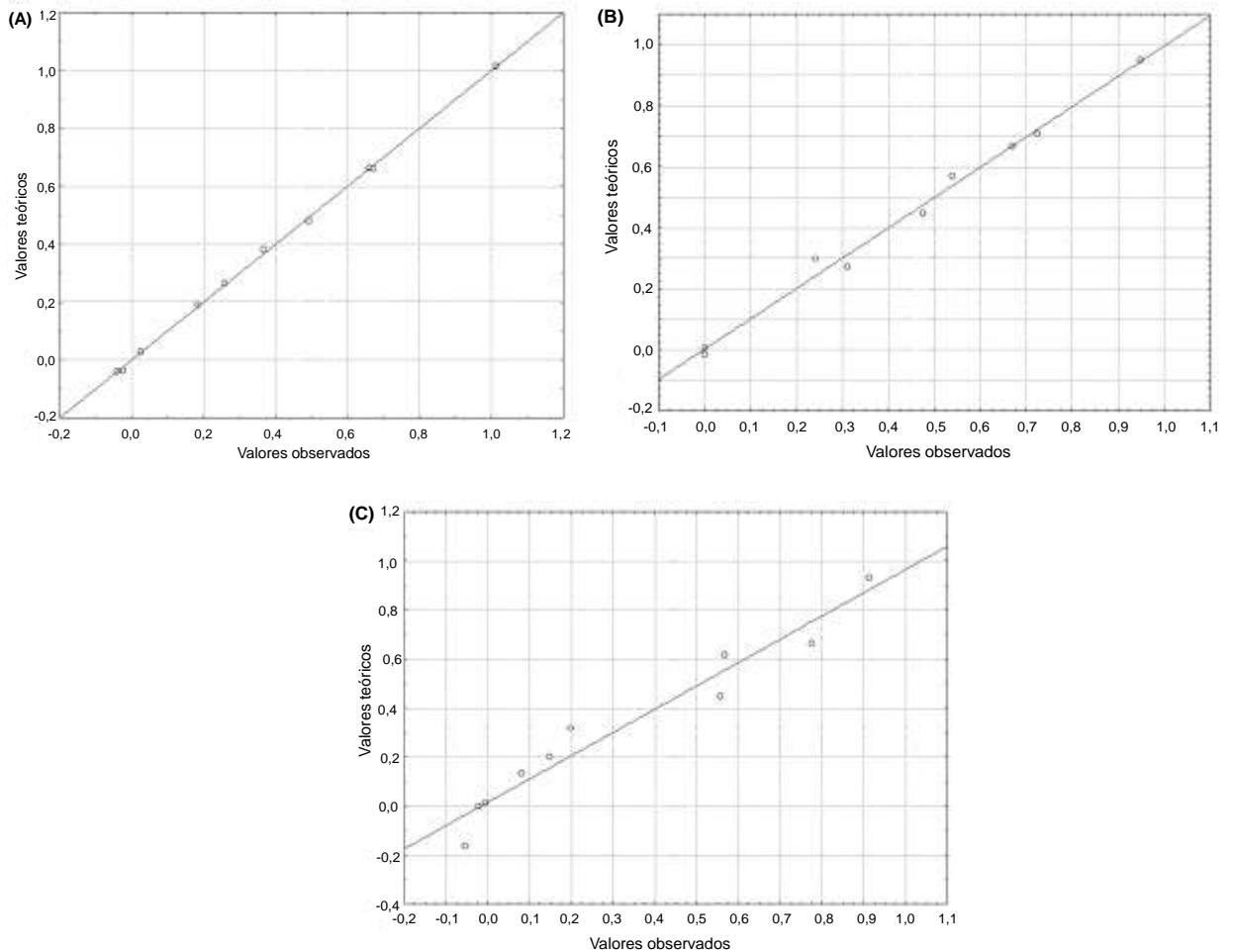


Fonte: adaptado de Santana *et al.*, 2020.

A porcentagem de 45 % m m<sup>-1</sup> de água foi selecionada para a síntese do NADES, de acordo com estudos de Dai et al., (2015). O uso de um teor de água acima de 50 % (m m<sup>-1</sup>) na síntese do NADES dificulta significativamente as interações intermoleculares de solventes eutéticos, especialmente aqueles sintetizados com cloreto de colina, levando à perda de suas propriedades físico-químicas (Dai et al., 2015).

A análise de variância (do inglês, ANOVA) para os dados obtidos com os planejamentos de mistura indicou um modelo quadrático com  $p < 0,05$ , o que significa que o modelo foi adequado. Os gráficos da Figura 18 mostram os valores observados vs. valores teóricos, pelos quais pode ser verificada boa concordância dos valores observados em relação aos valores previstos pelo modelo, o que indica que o modelo quadrático proposto está bem ajustado aos dados experimentais obtidos para todos os planejamentos. Além disso, os coeficientes de determinação ( $R^2$ ) foram superiores a 0,90 evidenciando uma correlação satisfatória para os três solventes em estudo (PEREIRA-FILHO, 2015).

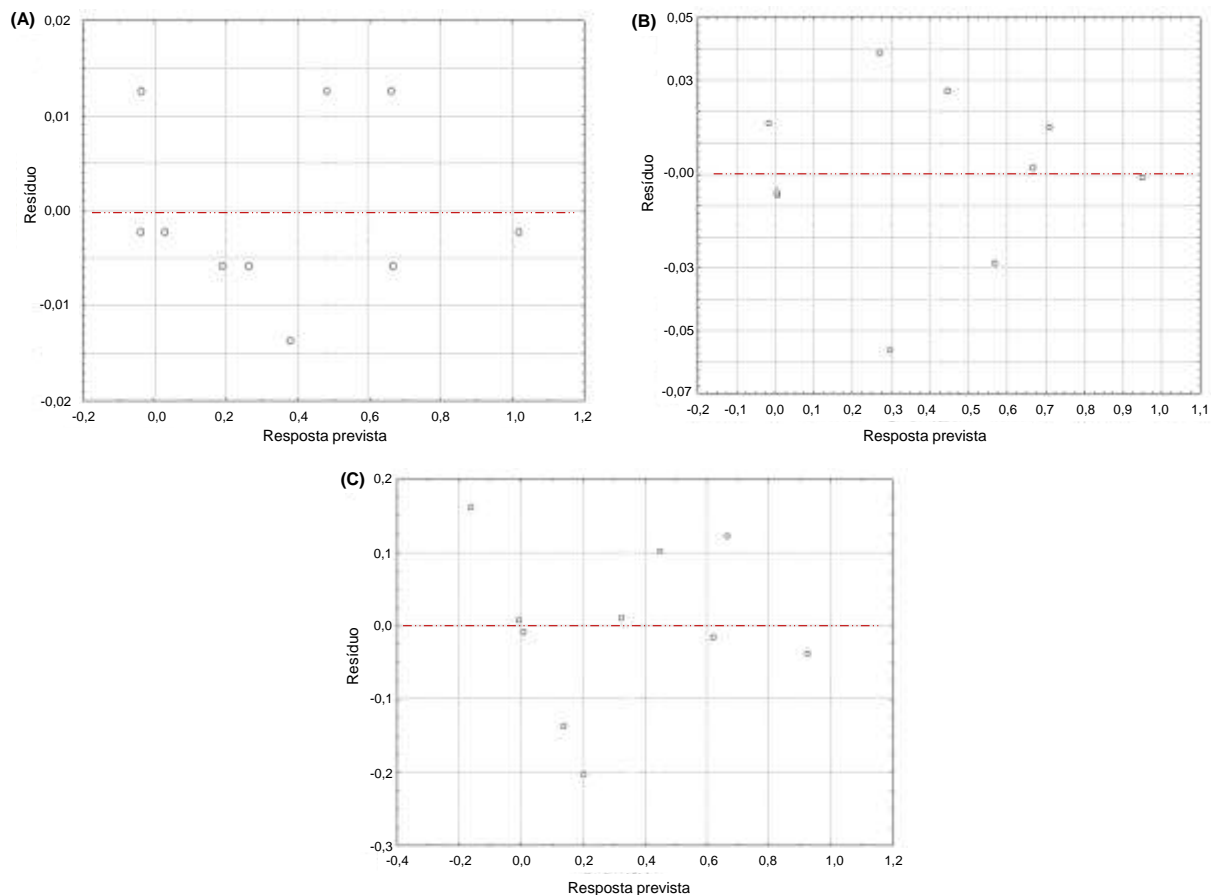
**Figura 18.** Gráfico de valores observados vs. valores teóricos dos dados obtidos com o planejamento de mistura para NADES (A) ácido cítrico: xilitol: água (Ac-Xil); (B) ácido málico: xilitol: água (Am-Xil) e (C) ácido cítrico: ácido málico: água (Ac-Am) para modelo quadrático.



Fonte: Elaborado pela autora.

Outro parâmetro avaliado foi o comportamento dos resíduos, mostrando que os valores teóricos vs. valores residuais apresenta aleatoriedade, ou seja, são homocedásticos (Figura 19) (PEREIRA-FILHO, 2015).

**Figura 19.** Resíduos do modelo quadrático proposto para o planejamento de mistura para NADES (A) ácido cítrico: xilitol: água (Ac-Xil); (B) ácido málico: xilitol: água (Am-Xil) e (C) ácido cítrico: ácido málico: água (Ac-Am).



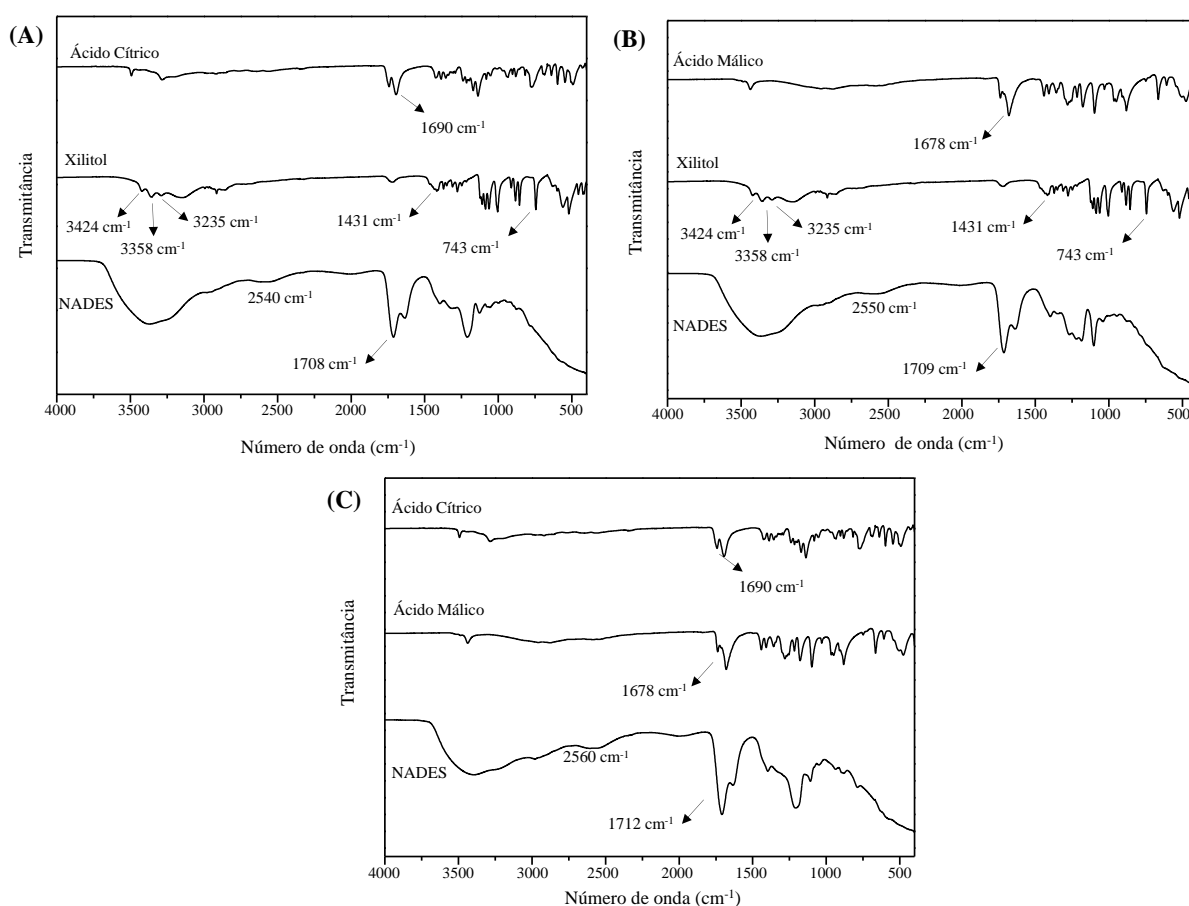
Fonte: Elaborado pela autora.

A presença de grupos carboxilas na composição resultou em uma mudança nos valores de densidade e viscosidade, uma vez que os grupos carboxilas apresentam uma capacidade de estabelecer ligações de hidrogênio (RIBEIRO et al., 2015). A preservação dos grupos funcionais precursores (grupos carboxílicos e hidroxila) no NADES sintetizado foi confirmada pela análise de infravermelho. A Figura 20 apresenta os espectros infravermelhos dos NADES sintetizados após a condição otimizada selecionada, assim como dos seus precursores.

Os resultados referentes a análise do infravermelho já foram discutidos na seção “Síntese e caracterização dos NADES por diferentes métodos” (Seção 3.2.2, página 31). Assim como nas seções anteriores, foram observados indicativos da formação de ligações de hidrogênios nas proporções selecionadas para cada combinação de NADES. Quando comparados os espectros de infravermelho dos

NADES sintetizados após a otimização das proporções pelo planejamento de mistura (Figura 20) com os espectros de infravermelho dos NADES sintetizados com a proporção 1: 1: 10 mol (componente 1: componente 2: água) na seção 3 (Figura 11) verifica-se um comportamento semelhante, com o deslocamento para maiores número de ondas da banda carbonila dos NADES comparado com os materiais de partida.

**Figura 20.** Espectro de infravermelho dos precursores e NADES sintetizados após a condição otimizada selecionada usando (A) ácido cítrico: xilitol: água (Ac-Xil); (B) ácido málico: xilitol: água (Am-Xil) e (C) ácido cítrico: ácido málico: água (Ac-Am).



Fonte: adaptado de Santana *et al.*, 2020.

Os espectros de infravermelhos mostraram o importante papel desempenhado pelos grupos carboxílicos no estabelecimento de ligações de hidrogênio. Isso corrobora os resultados nos gráficos de superfície de resposta obtidos para o NADES

(Figura 16), bem como a capacidade dos grupos carboxila de atuar como doadores de ligações de hidrogênio (RIBEIRO et al., 2015).

O espectro infravermelho do xilitol revelou bandas características das vibrações dos grupos -OH do açúcar e água adsorvida em  $3424\text{ cm}^{-1}$ ,  $3358\text{ cm}^{-1}$  e  $3235\text{ cm}^{-1}$ . Além disso, o espectro ainda apresentou um pico alongado em  $743\text{ cm}^{-1}$  que corresponde a uma deformação angular fora do plano do grupo -OH, ao mesmo tempo que uma banda em  $1431\text{ cm}^{-1}$  é revelada referente a deformação angular no plano (Figura 20.A e 20.B) (ARAFA, et al., 2016).

### 6.2.2 Desempenho do método analítico

Como foi discutido na seção 4 a importância da avaliação de parâmetros de desempenho, a Tabela 19 mostra os requisitos indicados pelo INMETRO e os dados obtidos pelas análises de ICP-MS para linearidade, faixa analítica de trabalho, LOD, LOQ e desvio padrão relativo (precisão) com os NADES preparados após a otimização.

**Tabela 19.** Valores de faixa analítica de trabalho, correlação linear, desvio padrão relativo, limite de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ) dos métodos digestão ácida assistida por radiação micro-ondas (MW-AD) e métodos utilizando NADES Ac-Xil, NADES Am-Xil e NADES Ac-Am, determinados por ICP-MS.

<b>Parâmetro de Validação</b>	<b>INMETRO</b>	<b>Obtido por MW-AD</b>	<b>Obtido por NADES Ac-Xil</b>	<b>Obtido por NADES Am-Xil</b>	<b>Obtido por NADES Ac-Am</b>
Faixa de trabalho	Abranger as concentrações que serão avaliadas	0,1 a 15 µg L <sup>-1</sup>			
Coeficiente de Correlação Linear (Linearidade)	0,90 – 0,99	0,99	0,99	0,99	0,99
Desvio Padrão Relativo (Precisão)	Menor que 15 %	< 10	< 11	> 15	> 15
Limite de Detecção (LOD) (µg kg <sup>-1</sup> )	Menores possíveis	3,74 a 0,01	1,83 a 8,00.10 <sup>-3</sup>	2,16 a 3,21.10 <sup>-3</sup>	2,66 a 0,02
Limite de Quantificação (LOQ) (µg kg <sup>-1</sup> )	Menores possíveis	8,10 a 0,04	6,11 a 0,03	8,7 a 0,01	7,98 a 0,06

Fonte: elaborado pela autora

Os resultados da Tabela 19 mostram uma melhora significativa dos valores de LOD quando se compara o método MW-AD com os métodos MAE e UAE com NADES. Por meio da ANOVA (com nível de confiança de 95 %), verificou-se que houve diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) nos valores de LOD dos métodos de MW-AD quando comparado com as extrações empregando NADES Ac-Xil, NADES Am-Xil e NADES Ac-Am.

Estudos mostram que a presença de carbono no plasma ocasiona no aumento do sinal analítico devido a *i*) reações de transferência de carga entre o analito e  $C^+$  ( $C^+ + M \rightarrow M^+ + C$ ), *ii*) melhoria na eficiência de transporte levando a produção de aerossóis menores e *iii*) alteração espacial da zona de densidade máxima de íons no plasma que afeta na passagem dos íons do plasma para o *sampler* cone (PETTINE et al., 2007; HU et al., 2004; DONATI, AMAIS & WILLIAMS, 2017). Tais efeitos matriciais foram observados para fontes de carbono inorgânicos (como sal de carbonato, por exemplo) e orgânico (álcool, ácido orgânico, por exemplo), e voláteis (metanol e acetona, por exemplo) (PETTINE et al., 2007; HU et al., 2004).

As reações de transferência de carga entre o analito e espécies de carbono carregadas (como  $C^+$ ,  $CO^+$ ,  $CO_2^+$ ,  $C_2^+$  e  $ArC^+$ ) no plasma podem ocorrer com elementos que apresentam altos potenciais de ionização (entre 9 e 11 eV), como é o caso por exemplo do As (9.79 eV) e Se (9,75 eV) e Hg (10,44 eV) (GRINDLAY et al., 2013; HU et al., 2004). Embora o potencial de ionização do Cd seja de 8,99 eV, pode haver reações de transferência de carga com outras espécies carregadas de carbono, melhorando de modo menos significativo o sinal analítico (GRINDLAY et al., 2013).

As reações de transferência de carga com as espécies de carbono ocasionam em um aumento da taxa de ionização devido a geração de uma maior população de átomos e íons dos analitos em estado excitado, levando ao aumento do sinal analítico (GRINDLAY et al. 2008). Portanto, o aumento da ionização de átomos do analito pode contribuir efetivamente para a melhora das figuras de mérito do método (DONATI, AMAIS & WILLIAMS, 2017).

### 6.2.3 Aplicação dos solventes eutéticos naturais profundos (NADES) para análise elementar de materiais de planta e tecidos biológicos

Após a otimização da síntese dos três NADES por diferentes combinações, esses solventes foram avaliados na extração em amostras vegetais e biológicas por meio de UAE e MAE para a determinação de As, Cd, Hg, Pb, Se e V por ICP-MS.

Segundo a Agência para o Registro de Substâncias Tóxicas e Doenças (do inglês, ATSDR), As, Cd, Pb e Hg estão entre os dez primeiros elementos considerados como uma ameaça significativa à saúde humana devido a sua toxicidade ou exposição humana. Embora selênio seja um elemento essencial, já é de conhecimento da sua toxicidade dependendo do seu nível de ingestão (D'LLIO et al., 2011), enquanto uma dieta baixa em V pode resultar em deficiências, incluindo retardo de crescimento e má formação óssea (JESUS, et al., 2013).

Para a determinação elementar de baixa concentração em amostras biológicas e vegetais, o uso do ICP-MS é recomendado devido a sua alta sensibilidade (HE et al., 2017). Além disso, ICP-MS oferece vantagens como análise rápida multielementar, ampla faixa linear, espectro simples, alta sensibilidade, além da possibilidade de acoplamento às técnicas de separação (THOMAS, 2013; HE et al., 2017).

Os resultados obtidos para os métodos propostos foram comparados com os valores determinados por MW-AD, considerado um método de preparo de amostra padrão. A Tabela 20 mostra os teores certificados para as amostras e resultados obtidos para todos os analitos avaliados usando MW-AD, UAE e MAE.

**Tabela 20.** Concentrações de As, Cd, Hg, Pb, Se e V (média  $\pm$  desvio padrão, n=3) em amostras de tecido vegetal e biológico usando digestão ácida por radiação micro-ondas (MW-AD), extração assistida por ultrassom (UAE) e extração assistida por radiação micro-ondas (MAE) usando NADES Ac-Xil, NADES Am-Xil e NADES Ac-Am.

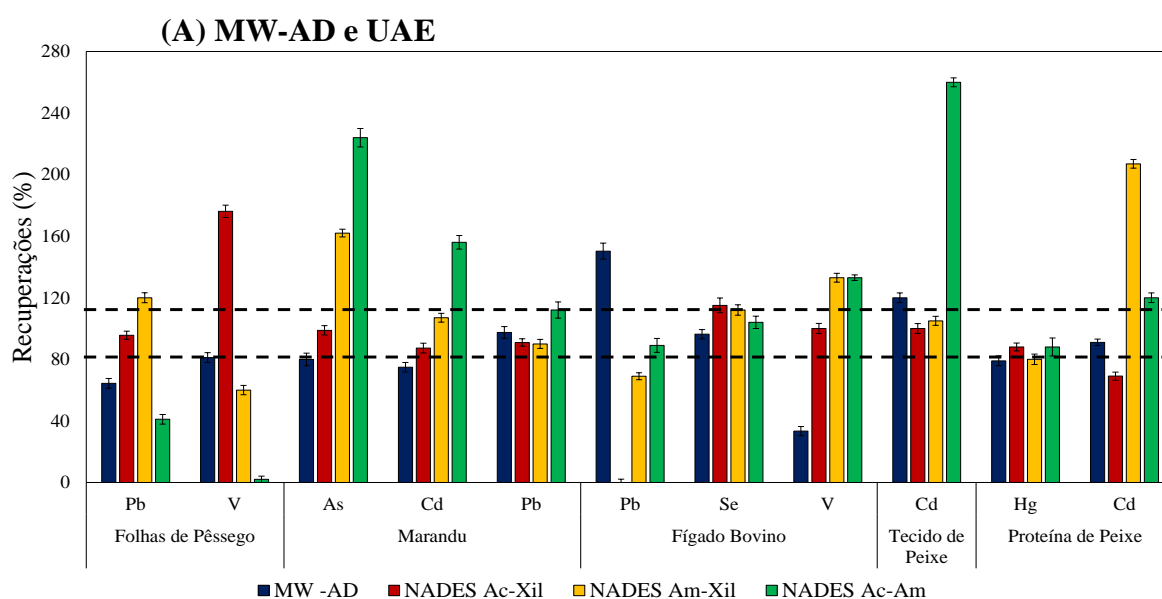
Amostras	Analitos (mg kg <sup>-1</sup> )	Valores Certificados	MÉTODO						
			MW-AD	UAE		MAE			
			NADES Ac-Xil	NADES Am-Xil	NADES Ac-Am	NADES Ac-Xil	NADES Am-Xil	NADES Ac-Am	
Folhas de pêssego	Pb	0,87 $\pm$ 0,018	0,56 $\pm$ 0,01	0,91 $\pm$ 0,07	1,05 $\pm$ 0,02	0,36 $\pm$ 0,01	1,05 $\pm$ 0,01	1,18 $\pm$ 0,02	0,70 $\pm$ 0,05
	V	0,37 $\pm$ 0,038	0,30 $\pm$ 0,01	0,21 $\pm$ 0,01	0,22 $\pm$ 0,01	0,01 $\pm$ 0,01	0,14 $\pm$ 0,01	0,24 $\pm$ 0,01	0,44 $\pm$ 0,01
Forrageira	As	1,69 $\pm$ 0,70	1,35 $\pm$ 0,04	1,71 $\pm$ 0,03	2,75 $\pm$ 0,25	3,80 $\pm$ 0,20	2,03 $\pm$ 0,14	1,75 $\pm$ 0,03	1,63 $\pm$ 0,04
	Cd	19,9 $\pm$ 5,1	14,9 $\pm$ 0,6	22,8 $\pm$ 0,1	21,3 $\pm$ 0,1	31,1 $\pm$ 0,1	21,3 $\pm$ 1,3	18,4 $\pm$ 0,1	19,1 $\pm$ 0,1
	Pb	4,0 $\pm$ 1,8	3,9 $\pm$ 0,1	4,4 $\pm$ 0,4	3,6 $\pm$ 0,1	4,5 $\pm$ 0,3	0,9 $\pm$ 0,2	5,1 $\pm$ 0,3	4,3 $\pm$ 0,2
Fígado Bovino	Pb ( $\mu$ g kg <sup>-1</sup> )	80,60 $\pm$ 7,83	121,12 $\pm$ 0,12	<LOQ <sup>a</sup>	55,82 $\pm$ 0,23	71,68 $\pm$ 0,65	<LOQ <sup>a</sup>	153,08 $\pm$ 0,11	40,70 $\pm$ 0,12
	Se	0,67 $\pm$ 0,11	0,64 $\pm$ 0,03	0,58 $\pm$ 0,01	0,75 $\pm$ 0,04	0,70 $\pm$ 0,04	1,20 $\pm$ 0,15	0,50 $\pm$ 0,03	0,60 $\pm$ 0,02
	V	0,03 $\pm$ 0,01	0,01 $\pm$ 0,01	0,03 $\pm$ 0,01	0,04 $\pm$ 0,01	0,04 $\pm$ 0,01	0,03 $\pm$ 0,01	0,03 $\pm$ 0,01	0,05 $\pm$ 0,02
Tecido de peixe	Cd	0,02 $\pm$ 0,002	0,02 $\pm$ 0,01	0,02 $\pm$ 0,01	0,02 $\pm$ 0,01	0,05 $\pm$ 0,01	0,03 $\pm$ 0,01	0,01 $\pm$ 0,04	0,36 $\pm$ 0,01
Proteína de peixe	Cd	0,299 $\pm$ 0,018	0,27 $\pm$ 0,01	0,43 $\pm$ 0,02	0,62 $\pm$ 0,02	0,36 $\pm$ 0,01	0,40 $\pm$ 0,02	<LOQ <sup>a</sup>	0,25 $\pm$ 0,01
	Hg	0,412 $\pm$ 0,036	0,32 $\pm$ 0,02	0,36 $\pm$ 0,03	0,33 $\pm$ 0,01	0,36 $\pm$ 0,05	0,39 $\pm$ 0,05	0,42 $\pm$ 0,01	0,37 $\pm$ 0,01

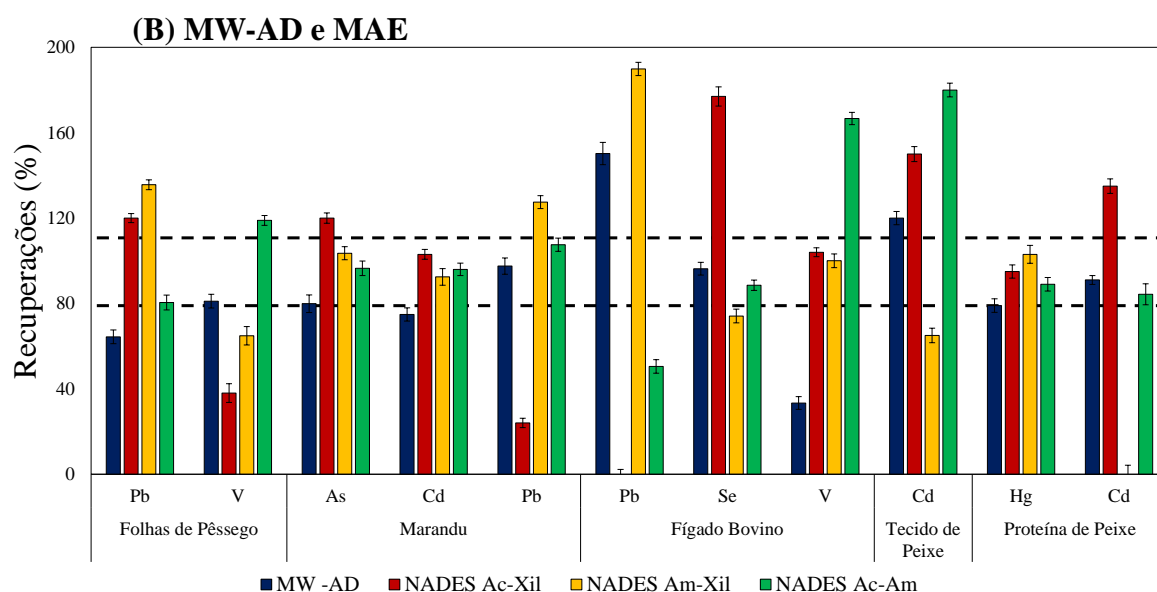
<sup>a</sup>Valores de LOQ: 1,64  $\mu$ g kg<sup>-1</sup> para Pb em fígado bovino (UAE com NADES Ac-Xil); 1,30  $\mu$ g kg<sup>-1</sup> para Pb em fígado bovino (MAE com NADES Ac-Xil) e 0,010  $\mu$ g kg<sup>-1</sup> para Cd em proteína de peixe (MAE com NADES Am-Xil).

Fonte: adaptado de Santana *et al.*, 2020.

O método de referência (MW-AD) mostrou de modo geral, recuperações aceitáveis no intervalo de 80 a 110 % (Figura 21) para a grande parcela dos analitos, exceto para Pb em folhas de pêssigo e fígado bovino, Cd em forrageira e tecido de peixe; e V em fígado bovino (INMETRO, 2016). Os métodos propostos (UAE e MAE) utilizando os três diferentes NADES também alcançaram recuperações aceitáveis dos elementos. O NADES Ac-Xil e o NADES Ac-Am foram os melhores solventes em combinação com os métodos de UAE e MAE, respectivamente.

**Figura 21.** Valores de recuperação (%) para As, Cd, Hg, Pb, Se e V (média  $\pm$  desvio padrão, n= 3) em amostras de tecido vegetal e biológico usando digestão ácida por radiação micro-ondas (MW-AD), extração assistida por ultrassom (UAE) e extração assistida por radiação micro-ondas (MAE) usando NADES Ac-Xil, NADES Am-Xil e NADES Ac-Am.





Fonte: adaptado de Santana *et al.*, 2020.

O NADES Ac-Xil combinado com o procedimento de UAE forneceu recuperações entre 80 % a 110 %, exceto para V em folhas de pêssago e Cd em proteínas de peixe. O uso do NADES Ac-Xil e MAE proporcionou recuperações satisfatórias para folhas de pessegueiro, forrageira e proteína de peixe, enquanto a baixa recuperação foi obtida para Pb em fígado bovino, em contraste com altas recuperações para V em fígado bovino e Cd em tecidos de peixes. As recuperações obtidas para proteína de peixes também foram consideradas aceitáveis, com valores variando de 80 a 103 % usando MAE e UAE. O uso do NADES Ac-Xil e MAE proporcionou recuperações satisfatórias para folhas de pêssago, forrageira e proteína de peixe, enquanto que baixas recuperações foram atingidas por Pb em fígado bovino. Em contraste foram obtidas altas recuperações para V em fígado bovino e folhas de pêssago e Cd em tecidos de peixes. As recuperações obtidas para proteína de peixe foram consideradas aceitáveis para Hg usando MAE e UAE.

Vanádio está presente principalmente nas raízes e folhas das plantas. Em nível subcelular, a parede celular é a principal organela onde o V se acumula (AIKELAIMU *et al.*, 2020). Processos de complexação do vanádio com compostos polares na parede celular da raiz (envolvendo espécies que apresentam grupos OH, NH<sub>2</sub> e COOH) reduz a quantidade de íons de vanádio livres (AIKELAIMU *et al.*, 2020). Isso pode fornecer uma explicação para a recuperação inferior a 80 % para V em folhas de pêssago ao usar o NADES Ac-Xil combinado com UAE. Portanto, a extração de V

fortemente ligado aos componentes do tecido de plantas requer um método mais agressivo, como o MAE. Os resultados indicaram que esses procedimentos de extração (UAE e MAE) com NADES foi uma combinação promissora para a extração elementar. Além disso, ICP-MS fornece maior sensibilidade em comparação com outras técnicas (THOMAS, 2013; HE et al., 2017).

Na seção 4 “NADES no preparo de amostra de matrizes vegetais” utilizou-se NADES com os mesmos precursores, porém com proporção diferente em UAE em amostras de tecido vegetal. A Tabela 21 mostra os resultados comparando as recuperações de As e Cd entre esta seção e a seção 4.

**Tabela 21.** Recuperações (%) de As e Cd (média  $\pm$  desvio padrão, n= 3) utilizando NADES (1: 1: 10 mol) em procedimentos de UAE mostrados na seção 4 e NADES (proporção otimizado por meio do planejamento de mistura restrito) em procedimentos de MAE e UAE mostrados nesta seção.

(continua)

<b>NADES (1: 1: 10 mol) em procedimentos de UAE mostrados na seção 4</b>					
<b>Dados</b>	<b>Amostra</b>	<b>Analito</b>	<b>NADES Ac-Xil</b>	<b>NADES Am-Xil</b>	<b>NADES Ac-Am</b>
1	Folha de	As	> 120 $\pm$ 1	114 $\pm$ 1	> 120 $\pm$ 1
	Tomate	Cd	114 $\pm$ 1	93 $\pm$ 2	103 $\pm$ 1
2	Folhas de	As	101 $\pm$ 2	> 120 $\pm$ 2	> 120 $\pm$ 2
	espinafre	Cd	110 $\pm$ 2	89 $\pm$ 1	99 $\pm$ 2
3	Forrageira	As	89 $\pm$ 1	104 $\pm$ 1	> 120 $\pm$ 1
		Cd	113 $\pm$ 1	104 $\pm$ 2	104 $\pm$ 2
<b>NADES (proporção otimizado por meio do planejamento de mistura restrito) em procedimentos de UAE mostrados nesta seção</b>					
<b>Dados</b>	<b>Amostra</b>	<b>Analito</b>	<b>NADES Ac-Xil</b>	<b>NADES Am-Xil</b>	<b>NADES Ac-Am</b>
4	Forrageira	As	99 $\pm$ 1	> 120 $\pm$ 1	> 120 $\pm$ 1
		Cd	87 $\pm$ 1	107 $\pm$ 1	> 120 $\pm$ 1

**Tabela 21.** Recuperações (%) de As e Cd (média  $\pm$  desvio padrão, n= 3) utilizando NADES (1: 1: 10 mol) em procedimentos de UAE mostrados na seção 4 e NADES (proporção otimizado por meio do planejamento de mistura restrito) em procedimentos de MAE e UAE mostrados nesta seção.

(conclusão)

**NADES (proporção otimizado por meio do planejamento de mistura restrito) em procedimentos de MAE mostrados nesta seção**

Dados	Amostra	Analito	NADES Ac-Xil	NADES Am-Xil	NADES Ac-Am
5	Forrageira	As	120 $\pm$ 1	104 $\pm$ 1	96 $\pm$ 1
		Cd	103 $\pm$ 1	92 $\pm$ 1	96 $\pm$ 1

Fonte: elaborado pela autora.

Avaliações estatísticas a partir da ANOVA (com intervalo de 95 % de confiança) foi aplicada a fim de verificar se houve diferenças estatisticamente significativas entre os valores obtidos pelos diferentes métodos. Dado um conjunto de dados (1,2,3,4 e 5) para cada tipo de NADES (Ac-Xil, Am-Xil e Ac-Am) e para cada analito separadamente (As e Cd), houve uma diferença significativa ( $p < 0,05$ ) nos valores das recuperações obtidos em todos os grupos avaliados. Portanto, houve uma influência na proporção dos NADES sintetizados nos resultados obtidos nos procedimentos de extração em um mesmo tipo de matriz, melhorando na maioria das vezes os valores de recuperação. Mais de 200 combinações diferentes foram relatadas na literatura para a síntese de NADES (e DES), apresentando uma variedade de características físico-químicas (GONZALEZ, CHOI & VERPOORTE, 2020).

O método da *Eco-scale* analítica foi empregado para avaliar o quão verde é considerado as metodologias propostas nesta seção. A *Eco-scale* analítica compara diferentes parâmetros e etapas em um procedimento analítico como amostragem (coleta de amostra, preservação, transporte e armazenamento), preparo de amostra, análise, calibração e validação de métodos analíticos (GAŁUSZKA et al., 2012). O cálculo para a pontuação baseado na *Eco-Scale* analítica está abaixo, na Equação 7:

$$\text{Eco - Scale Analítica} = 100 - \sum \text{Penalidades} \quad (\text{Equação 7})$$

onde as penalidades estão relacionadas com as etapas de um procedimento analítico como: custo, gasto energético, volume de reagente, tipo de reagente, geração de resíduo, condições da etapa de preparo de amostra.

Para o procedimento de MW-AD houve a penalidade do uso de ácido nítrico (4 pontos), uso de peróxido de hidrogênio (4 pontos), formação de vapor ácido (3 pontos), geração de resíduo ácido (5 pontos), gasto energético alto (2 pontos), uso do ICP-MS (1 ponto), segurança (2 pontos) e falta de tratamento do resíduo ácido (3 pontos). O procedimento de UAE adquiriu penalidades do uso de solventes NADES (1 ponto), uso do ICP-MS (1 ponto) e geração de resíduo (1 ponto). E por fim, o procedimento de MAE obteve penalidades devido ao uso de NADES (1 ponto), uso do ICP-MS (1 ponto), geração de resíduo (1 pontos) e gasto energético moderado (2 pontos).

Portanto, as pontuações obtidas foram 75 pontos por amostra para MW-AD, 97 pontos por amostra para UAE e 96 pontos por amostra para MAE. Nesta abordagem, uma pontuação > 75 representa uma excelente análise verde, enquanto  $75 > x > 50$  representa uma aceitável análise verde (GAŁUSZKA et al., 2012). A diferença entre as pontuações para os métodos de UAE e MAE refletiu no consumo de energia, que foi  $x \leq 0,1$  kWh por amostra para UAE e  $x \leq 1,5$  kWh por amostra para MAE.

### 6.3 Conclusão

A utilização de um planejamento de mistura restrito para a otimização da síntese de NADES com base em xilitol, ácido cítrico e ácido málico mostrou ser uma estratégia ecologicamente correta, além de promissora. As proporções NADES (% m m<sup>-1</sup>) obtidas neste estudo foram NADES Ac-Xil com 42: 13: 45 (cítrico ácido: xilitol: água), NADES Am-Xil com 34: 21: 45 (ácido málico: xilitol: água) e NADES Ac-Am com 42: 13: 45 (ácido cítrico: ácido málico: água). A análise por espectroscopia de infravermelho dos NADES indicou a formação de ligações de hidrogênio entre os reagentes. NADES como fontes de carbono apresentou melhora na sensibilidade das análises devido à transferência de carga entre o analito e C<sup>+</sup> e(ou) outras espécies de

carbono. Os NADES se mostraram solventes promissores para a extração elementar em diferentes tipos de amostras, além de serem compatíveis com as técnicas de plasma. NADES Ac-Xil apresentou maiores números de recuperações aceitáveis no procedimento de UAE para Pb (folha de pêssago); As, Cd e Pb (forrageira); V (fígado); Cd (tecido de peixe) e Hg (proteína de peixe). Enquanto que NADES Ac-Am foi que obteve maiores quantidades de recuperações satisfatórias para procedimento de MAE de Pb (folhas de peixe); As, Cd e Pb (forrageira); Se (fígado bovino) e Cd e Hg (proteína de peixe). O Hg obteve recuperações entre 80 a 103 % considerando os 3 tipos de NADES assim como MAE e UAE. O uso da *Eco-scale* analítica mostrou que os métodos UAE e MAE foram excelentes procedimentos verdes, enquanto MW-AD foi uma análise verde aceitável.

## 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esta tese foca a síntese de solventes eutéticos naturais profundos (do inglês, NADES) à base de ácido cítrico, ácido málico e xilitol a partir de três distintos métodos. As análises de caracterização evidenciaram que os NADES obtidos pelas diferentes técnicas estudadas apresentaram as mesmas características físico-químicas. Além disso, a síntese assistida por ultrassom apresentou a mais ambientalmente amigável, com um gasto energético de 130 % inferior comparado com a síntese por agitação e aquecimento. Todavia, o método de síntese por agitação e aquecimento oferece as vantagens da facilidade de uso, simplicidade e capacidade de produzir volumes maiores de solventes.

Estudos utilizando NADES como solventes extratores em diferentes tipos de amostras (material vegetal, tecido biológico, fosfato de rocha, suplemento mineral) se mostraram promissores nos mais diferentes métodos de preparo de amostra (UAE, MAE, extração por aquecimento). Porém os NADES não podem ser considerados como um solvente universal, mas um solvente altamente seletivo, o que significa a necessidade da otimização para cada tipo de amostra e analito de interesse. Os métodos propostos se mostraram ambientalmente corretos e seguros segundo a *Eco-Scale* analítica.

Um planejamento de mistura restrito como uma estratégia de otimização para a síntese de NADES por meio da resposta de densidade e viscosidade se mostrou eficiente e também promissor, uma vez que até o presente momento ainda não há mais estudos utilizando tal estratégia. Além disso, o uso de planejamento de mistura engloba os princípios da química verde como uso de menores quantidades de reagentes e menores gerações de resíduo. Estudos estatísticos mostraram influência na proporção dos NADES sintetizados nos resultados obtidos nos procedimentos de extração em um mesmo tipo de matriz.

Em conclusão, as perspectivas futuras associadas à química analítica verde direcionam a continuidade de esforços voltados para a utilização dos NADES para a análise elementar.

## REFERÊNCIAS

ABBOTT, A. P. et al. Novel solvent properties of choline chloride/urea mixtures. **Chemical Communications**, v. 1, p. 70-71, 2003.

ABBOTT, A. P. et al. Deep eutectic solvents formed between choline chloride and carboxylic acids: Versatile alternatives to ionic liquids. **Journal of the American Chemical Society**, v. 126, p. 9142–9147, 2004.

ABBOTT, A. P. et al. Eutectic-based ionic liquids with metal-containing anions and cations. **Chemistry a European Journal**, v. 13, p. 6495–6501, 2007.

ABDEL-HALEEM, A. S. et al. Heavy metals and rare earth elements in phosphate fertilizer components using instrumental neutron activation analysis. **Applied Radiation and Isotopes**, v. 55, p. 569-573, 2001.

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY (ATSDR). **The ATSDR 2019 substance priority list**, 2019.

AIKELAIMU, A. et al. Review of plant- vanadium physiological interactions, bioaccumulation, and bioremediation of vanadium-contaminated sites. *Science of The Total Environment*, v. 712, p. 35637, 2020.

AKEN, K. V.; STREKOWSKI, L.; PATINY, L. EcoScale, a semi-quantitative tool to select an organic preparation based on economical and ecological parameters. **Beilstein Journal of Organic Chemistry**, n. 3, v. 2, p. 1-7, 2006.

ALTAMASH, T. et al. Gas solubility and rheological behavior study of betaine and alanine based on natural deep eutectic solvents (NADES). **Journal of Molecular Liquids**, v. 256, p. 286–295, 2018.

ALTUNAY, N.; ELIK, A.; GÜRKAN, R. Natural deep eutectic solvent-based ultrasound-assisted-microextraction for extraction, pre-concentration and analysis of methylmercury and total mercury in fish and environmental waters by spectrophotometry. **Food Additives e Contaminants: Part A**, v. 36, p. 1079-1097, 2019.

ANASTAS, P.T. Green Chemistry and the Role of Analytical Methodology Development. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 29, p. 167-175, 1999.

ANASTAS, P. T.; WARNER, J. C. **Green Chemistry: Theory and Practice**. Oxford University Press: New York, 1998.

ANASTAS, P. T.; WILLIAMSON, T. C. **Green Chemistry: Designing Chemistry for the Environment**. In: ACS SYMPOSIUM SERIES, Washington, 1996.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Resolução da diretoria colegiada RDC nº 166, de 24 de julho de 2017. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, n.º 141, 2017.

ARAFI, M. F. et al. Xylitol as a potential co-crystal co-former for enhancing dissolution rate of felodipine: preparation and evaluation of sublingual tablets. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 23, p. 454-463, 2016.

ARAIAN, M. B.; YILMAZ, E. Y.; SOYLAK, M. Deep eutectic solvent based ultrasonic assisted liquid phase microextraction for the FAAS determination of cobalt. **Journal of Molecular Liquids**, v. 224, p. 538-543, 2016.

ARMENTA, S.; GARRIGUES, S.; DE LA GUARDIA, M. The role of green extraction techniques in Green Analytical Chemistry. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 71, p. 2–8, 2015.

ARMENTA, S. et al. Chapter One - Green Analytical Chemistry: The Role of Green Extraction Techniques. In: IBÁÑEZ, E.; CIFUENTES, A. **Comprehensive Analytical Chemistry**. Amsterdam: Elsevier, 2017. p. 1-25.

AROSO, I. M. et al., Design of controlled release systems for THEDES—Therapeutic deep eutectic solvents, using supercritical fluid technology. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 492, p. 73-79, 2015.

AYDIN, I.; AYDIN, F.; HAMAMCI, C. Vanadium fractions determination in asphaltite combustion waste using sequential extraction with ICP-OES. **Microchemical Journal**, v. 108, p. 64–67, 2013.

BAĞDA, E.; ALTUNDAĞ, H.; SOYLAK, M. Highly Simple Deep Eutectic Solvent Extraction of Manganese in Vegetable Samples Prior to Its ICP-OES Analysis. **Biological Trace Element Research**, v. 179, p. 334-339, 2017.

BAĞDA, E. et al. A Novel Selective Deep Eutectic Solvent Extraction Method for Versatile Determination of Copper in Sediment Samples by ICP-OES. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 99, p. 264-269, 2017.

BANCROFT, W. D.; MURPHY, N. F. Oxidation and reduction with hydrogen peroxide. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 3, p. 377-398, 1935.

BARAŃKA, H. et al. Vibrational spectra of racemic and enantiomeric malic acids. **Journal of Raman Spectroscopy**, v. 34, n. 1, p. 68–76, 2003.

BARIN, J. S. Decomposição de materiais orgânicos por via úmida. In: KRUG, F. J.; ROCHA, F. R. P. **Métodos de Preparo de Amostras para Análise Elementar**. São Paulo: EditSBQ, 2019. p. 301-372.

BOLIN, D. W.; STAMBERG, O. E. Rapid digestion method for determination of phosphorus. **Industrial & Engineering Chemistry Analytical Edition**, v. 16, p. 345-345, 1944.

CASTRO, V. I. B. et al. Synthesis and Physical and Thermodynamic Properties of Lactic Acid and Malic Acid-Based Natural Deep Eutectic Solvents. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v. 63, p. 2548-2556, 2018.

CATHCART, C. Green chemistry in the emerald isle. **Chemistry and Industry (London)**, v. 5, p. 684-687, 1990.

CHEMAT, F. et al. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. **Ultrasonic Sonochemistry**, v. 34, p. 540-560, 2017.

CHOI, Y. H. et al. Are natural deep eutectic solvents the missing link in understanding cellular metabolism and physiology?. **Plant Physiology**, v. 156, p. 1701-1715, 2011.

CORNELL, J. A. **Experiments with mixtures: designs, models, and the analysis of mixture data**. 3rd ed. Wiley: New York, 2002.

COSTA, N. R.; LOURENÇO, J.; PEREIRA, Z. L. Desirability function approach: a review and performance evaluation in adverse conditions. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 107, p. 234-244, 2011.

CRAVEIRO, R. et al. Properties and thermal behavior of natural deep eutectic solvents. **Journal of Molecular Liquids**, v. 215, p. 534-540, 2016.

CUI, Q. et al. Deep eutectic solvent-based microwave-assisted extraction of genistin, genistein and apigenin from pigeon pea roots. **Separation and Purification Technology**, v. 150, p. 63-72, 2015.

CUNHA, S.C; FERNANDEZ, J. O. Extraction techniques with deep eutectic solvents, **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 105, p. 225-239, 2018

DAI, Y. et al. Natural deep eutectic solvents as new potential media for green technology, **Analytica Chimica Acta**, v. 766, p. 61-68, 2013.

DAI, Y. et al. Tailoring properties of natural deep eutectic solvents with water to facilitate their applications. *Food Chemistry*, v. 187, p. 14-19, **2015**.

DAVÌ, M. L.; GNUDI, F. Phenolic compounds in surface water. *Water Research*, v. 33, p. 3213-3219, 199.

DE LA CALLE, I.; COSTAS-RODRÍGUEZ, M. Microwaves for Greener Extraction. In: PENA-PEREIRA, F.; TOBISZEWSKI, M. **The Application of Green Solvents in Separation Processes**. Amsterdam: Elsevier, 2017. p. 253-300.

DE MARÍA, P. D. Chapter 6 - Ionic Liquids, Switchable Solvents, and Eutectic Mixtures. In: PENA-PEREIRA, F.; TOBISZEWSKI, F. **The Application of Green Solvents in Separation Processes**. Amsterdam: Elsevier, 2017. p. 139-154.

DEAN, J. R.; CRESSWELL, S. L. Extraction techniques for solid samples. In: PAWLISZYN, J. **Sampling and Sample Preparation for Field and Laboratory**. Amsterdam: Elsevier, 2002. p. 559-586.

DHILLON, G. S. et al. Recent Advances in Citric Acid Bio-production and Recovery. **Food and Bioprocess Technology**, v. 4, p. 505-529, 2011.

D'LLIO, S. et al. Dynamic reaction cell ICP-MS for determination of total As, Cr, Se and V in complex matrices: still a challenge? A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 698, p. 6-13, 2011.

DONATI, G. L.; AMAIS, R. S.; WILLIAMS, C. B. Recent advances in inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 32, p. 1283–1296, 2017.

DUARTE, A. R. C. et al. A comparison between pure active pharmaceutical ingredients and therapeutic deep eutectic solvents: Solubility and permeability studies. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 114, p. 296-304, 2017.

DURAND, E. et al. Towards a better understanding of how to improve lipase-catalyzed reactions using deep eutectic solvents based on choline chloride. **European Journal of Lipids Science and Technology**, v. 116 p. 16-23, 2013.

DWAMENA, A. K. Recent advances in hydrophobic deep eutectic solvents for extraction. **Separations**, v. 6, p. 9–24, 2019.

EL-SHEIKH, A. H. et al. Separation and flame atomic absorption spectrometric determination of total chromium and chromium (III) in phosphate rock used for production of fertilizer. **Talanta**, v. 116, p. 482-487, 2013.

ERYTHROPEL, H.C. et al. The Green ChemisTREE: 20 years after taking root with the 12 principles. **Green Chemistry**, v. 20, p. 1929–1961, 2018.

ESPINO, M. et al. Natural designer solvents for greening analytical chemistry. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 76, p. 126–136, 2016.

EVANS, E. H.; GIGLIO, J. J. Interferences in inductively coupled plasma mass spectrometry. A review. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 8, p. 1-18, 1993.

FARIA, L. A.; FÁVARO, D.I.T. Vinte anos de química verde: conquistas e desafios. **Química Verde**, n. 5, v. 34, p. 1089-1093, 2011.

FERNÁNDEZ, M. A. et al. Natural deep eutectic solvents- mediated extractions: The way forward for sustainable analytical developments. **Analytica Chimica Acta**, v. 1038, p. 1-10, 2018.

FIALHO, L. L.; PEREIRA, C. D.; NÓBREGA, J. A. Combination of cool plasma and collision-reaction interface for correction of polyatomic interferences on copper signals in inductively coupled plasma quadrupole mass spectrometry. **Spectrochimica Acta: part B: atomic spectroscopy**, v. 66, p. 389-393, 2011.

FUNARI, C. S. et al. Natural deep eutectic solvents and aqueous solutions as an alternative extraction media for própolis. **Food Research International**, v. 125, p. 108559, 2019.

GAŁUSZKA, A. et al. Analytical Eco-Scale for assessing the greenness of analytical procedures, **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 37, p. 61–72, 2012.

GAŁUSZKA, A.; MIGASZEWSKI, Z.; NAMIEŚNIK, J. The 12 principles of green analytical chemistry and the SIGNIFICANCE mnemonic of green analytical practices. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 50, p. 78-84, 2013.

GHAEDI, H. et al. Thermal stability and FT-IR analysis of phosphonium-based deep eutectic solvents with different hydrogen bond donors. **Journal of Molecular Liquids**, v. 242, p. 395–403, 2017.

GHANDI, K. A review of ionic liquids, their limits and applications. **Green Sustainable Chemistry**, v. 4, p. 44-53, 2014.

GHANEMI, K. et al. Ultra-fast microwave-assisted digestion in choline chloride-oxalic acid deep eutectic solvent for determining Cu, Fe, Ni and Zn in marine biological samples. **Analytical Methods**, v. 6, n. 6, p. 1774–1781, 2014.

GHORPADE, V. S.; YADAV, A. V.; DIAS, R. J. Citric acid crosslinked cyclodextrin/hydroxypropylmethylcellulose hydrogel films for hydrophobic drug delivery. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 93, p. 75–86, 2016.

GIL, R. A. et al. A novel on-line preconcentration method for trace molybdenum determination by USN-ICP OES with biosorption on immobilized yeasts. **Microchemical Journal**, v. 86, p. 156-160, 2007.

GÓMEZ, A. V. et al. Microwave-assisted extraction of soluble sugars from banana puree with natural deep eutectic solvents (NADES). **LWT- Food Science and Technology**, v. 107, p. 79-88, 2019.

GOMEZ, F. J. V. et al. A Greener Approach to Prepare Natural Deep Eutectic Solvents. **Chemistry Select**, v. 3, p. 6122–6125, 2018.

GONÇALVES, J. R.; GONÇALVES, R. M.; GONÇALVES, R. M. Cádmiu, Chumbo e Solubilidade do Fósforo em Suplementos Minerais Bovinos Comercializados em Goiás. **Revista Processos Químicos**, v. 4, p. 68-77, 2010.

GONZALEZ, M. H. et al. Microwave-assisted digestion procedures for biological samples with diluted nitric acid: Identification of reaction products. **Talanta**, v. 79, p. 396-401, 2009.

GONZALEZ, C. G.; CHOI, Y. H.; VERPOORTE, R. Chapter 19 - Preanalytical Treatments: Extraction With Deep Eutectic Solvents. In: POOLE, C. F. **Liquid-Phase Extraction**. Amsterdam: Elsevier, 2020. p. 565–590.

GRINDLAY, G. et al. Carbon-related matrix effects in inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 63, p. 234–243, 2008.

GRINDLAY, G. et al. A systematic study on the influence of carbon on the behavior of hard-to-ionize elements in inductively coupled plasma-mass spectrometry. **Spectrochimica Acta, Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 86, p. 42–49, 2013.

GUTIÉRREZ, M. C. et al. Freeze-drying of aqueous solutions of deep eutectic solvents: A suitable approach to deep eutectic suspensions of self-assembled structures. **Langmuir**, v. 25, p. 5509–5515, 2009.

HÄCKL, K.; KUNZ, W. Some aspects of green solvents. **Comptes Rendus Chimie**, v. 21, p. 572-580, 2018.

HAERENS, K. et al. The use of ionic liquids based on choline chloride for metal deposition: a green alternative?. **Journal Environmental Management**, v. 90, p. 3245-3252, 2009.

HAWKINS, I.; HANDY, S. T. Synthesis of aurones under neutral conditions using a deep eutectic solvent. **Tetrahedron**, v. 69, p. 9200–9204, 2013.

aHAZ, A. Thermal stability of selected deep eutectic solvents. **International Journal of Scientific Research**, v. 7, p. 14441–14444, 2016.

HE, M. et al. Advanced functional materials in solid phase extraction for ICP-MS determination of trace elements and their species – a review. **Analytica Chimica Acta**, v. 973, p. 1-24, 2017.

HU, Z. et al. Volatile organic solvent-induced signal enhancements in inductively coupled plasma-mass spectrometry: a case study of methanol and acetone. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 59, p. 1463-1470, 2004.

HUANG, Y. et al. Green and efficient extraction of rutin from tartary buckwheat hull by using natural deep eutectic solvents. **Food Chemistry**, v. 221, p. 1400-1405, 2017.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA (INMETRO). **Orientação sobre validação de métodos analíticos: documento de caráter orientativo: DOQ-CGCRE-008**. p.1-31, 2016.

JAN VAN ECK, N.; WALTMAN, L. Software survey: VOSviewer, a computer program for bibliometric mapping. **Scientometrics**, v. 84, p. 523–538, 2010.

JENSEN, W. B. The Origin of the Names Malic, Maleic, and Malonic Acid. **Journal Chemical Education**, v. 84, p. 924-927, 2007.

JEONG, K. M. et al. Tailoring and recycling of deep eutectic solvents as sustainable and efficient extraction media. **Journal of Chromatography A**, v. 1424, p. 10–17, 2015.

JESUS, A. M. D. et al. Sequential preconcentration using cloud point extraction: determination of vanadium and molybdenum in water and pharmaceutical samples using Flame Atomic Absorption Spectrometry. **Brazilian Journal of Analytical Chemistry**, v. 10, p. 476–480, 2013.

KANE, P. F.; HALL, W. L. Determination of arsenic, cadmium, cobalt, chromium, lead, molybdenum, nickel, and selenium in fertilizers by microwave digestion and inductively coupled plasma-optical emission spectrometry detection: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 89, p. 1447–1466, 2006.

KARANDASHEV, V. K. et al. Water analysis by inductively coupled plasma mass spectrometry. **Inorganic Materials**, n. 14, v. 52, p. 1391–1404, 2016.

KHEZELI, T.; DANESHFAR, A. Synthesis and application of magnetic deep eutectic solvents: Novel solvents for ultrasound assisted liquid-liquid microextraction of thiophene. **Ultrasonic Sonochemistry**, v. 38, p. 590-597, 2017.

KINGSTON, H. M.; HASWELL, S. J. **Microwave-enhanced Chemistry: Fundamentals, Sample Preparation, and Applications**. 1st ed. American Chemical Society: Washington, 1997.

KOEL, M. Do we need Green Analytical Chemistry?. **Green Chemistry**, v. 18, p. 923-931, 2016.

KRUG, F. J. et al. **Guia prático de perguntas e respostas sobre ICP-OES, ICP-MS e preparo de amostras**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/45709/guia-pratico-de-perguntas-e-respostas-sobre-icp-oes-icp-ms-e-preparo-de-amostras>. Acesso em 27 set. 2020.

KRUG, F. J. et al. Solubilização e decomposição e sólidos inorgânicos. In: KRUG, F. J.; ROCHA, F. R. P. **Métodos de Preparo de Amostras para Análise Elementar**. São Paulo: EditSBQ, 2019. p. 211-240.

KORN, M. et al. Ultrassons para o preparo de amostras. In: KRUG, F. J.; ROCHA, F. R. P. **Métodos de Preparo de Amostras para Análise Elementar**. São Paulo: EditSBQ, 2019. p. 183-207.

KURT, A.; BAĞDA, E.; ALTUNDAĞ, H. Development of deep eutectic solvent extraction method for extraction of Zn<sup>2+</sup> from powdered milk and baby formula samples and its determination by ICP-OES. **Journal of Iranian Chemical Society**, v. 15, p. 1359-1367, 2020.

LAPEÑA, D. et al. The NADES glyceline as a potential Green Solvent: A comprehensive study of its thermophysical properties and effect of water inclusion, **The Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 128, p. 164-172, 2019.

LAVAUD, A. et al. **Eutectic extraction solvents, extraction methods by eutectigenesis using said solvents, and extracts derived from said extraction methods**. n. WO 2016162703 A1. Depósito: 13. out. 2016. Disponível em: <https://patentimages.storage.googleapis.com/6a/f1/8e/b73cd355e5e5d3/WO2016162703A1.pdf>. Acesso em: 22 out. 2020.

LEARDI, R. Experimental design in chemistry: A tutorial. **Analytica Chimica Acta**, v. 652, p. 161–172, 2019.

LEE, J. JUNG, D. PARK, K. Hydrophobic deep eutectic solvents for the extraction of organic and inorganic analytes from aqueous environments. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 118, p. 853-868, 2019.

LI, N. et al. Development of greenbetaine based deep eutectic solvent aqueous two-phase system for the extraction of protein. **Talanta**, v. 152, p. 23–32, 2016.

LIU, Y. et al. Natural deep eutectic solvents: properties, applications, and perspectives. **Journal of Natural Products**, v. 81, v. 679–690, 2018.

MÄKINEN, K. K. The Rocky Road of Xylitol to its Clinical Application. **Journal of Dental Research**, v. 79, p. 1352–1355, 2000.

MARÇAL, W. S. et al. Lead Concentration in mineral salt mixtures used in beef cattle food supplementation in Brazil. **Veterinarski Arhiv**, v.69, n.6, p.349-355, 1999.

MARCHEAFAVE, G. G. et al. Experimental mixture design solvent effects on pigment extraction and antioxidant activity from *Coffea arabica* L. leaves. **Microchemical Journal**, v. 146, p. 713-721, 2019.

MARCO, B.A. Evolution of green chemistry and its multidimensional impacts: A review. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 27, p. 1-9, 2019.

MARÉCHAL, Y. 4 - infrared and related spectroscopies of H-bonded systems: Experimental point of view. In: Y. MARÉCHAL. **The hydrogen bond and the water molecule**. Amsterdam: Elsevier, 2007. p. 77–113.

MARTINS, M. et al. Enhanced performance of supercritical fluid foaming of natural-based polymers by deep eutectic solvents. **AIChE Journal**, v. 60, p. 3701–3706, 2014.

MARTINS, M. A. R.; PINHO, S. P.; COUTINHO, J. A. P. Insights into the Nature of Eutectic and Deep Eutectic Mixtures. *Journal of Solution Chemistry*, v. 48, p. 962-982, 2019.

MASON, T. J.; LORIMER, J. P. **Applied sonochemistry: Uses of power ultrasound in chemistry and processing**. 1st ed. Wiley VCH: Weinheim, 2002.

MATONG, J. M.; NYABA, L.; NOMNGONGO, P. N. Determination of As, Cr, Mo, Sb, Se and V in agricultural soil samples by inductively coupled plasma optical emission spectrometry after simple and rapid solvent extraction using choline chloride-oxalic acid deep eutectic solvent. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 135, p. 152–157, 2017.

MATUSIEWICZ, H. Wet digestion methods. In: MESTER, Z.; STURGEON, R. E. **Comprehensive Analytical Chemistry**. Amsterdam: Elsevier, 2003. p. 193-233.

MATUSIEWICZ, H. Systems for Microwave-Assisted Wet Digestion. IN: FLORES, E.M. M. **Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Determination**. Amsterdam: Elsevier, 2014. p. 77–98.

MJALLI, F. S. et al. Monoethanolamine-based deep eutectic solvents, their synthesis and characterization. **Fluid Phase Equilibria**, v. 448, p. 30–40, 2017.

MOARES, D. P. et al. Preparo de amostras assistido por radiação micro-ondas. In: KRUG, F. J.; ROCHA, F. R. P. **Métodos de Preparo de Amostras para Análise Elementar**. São Paulo: EditSBQ, 2019. p. 301-369.

MOBINIKHALEDI, A.; AMIRI, A. K. Natural eutectic salts catalyzed one-pot synthesis of 5-arylidene-2-imino-4-thiazolidinones. **Research on Chemical Intermediates**, v. 39, p. 1491-1498, 2013.

MOREIRA, L. S. et al. Enhanced extraction of arsenic and cadmium from environmental samples using a natural deep eutectic solvent and determination by inductively coupled plasma mass spectrometry. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 2, p. 1-12, 2020.

MORTVEDT, J. J. Cadmium Levels in Soils and Plants From Some Long-term Soil Fertility Experiments in the United States of America. **Journal Environmental Quality**, v. 16, p. 137-142, 1987.

NAM, M. W. et al. Enhanced extraction of bioactive natural products using tailor-made deep eutectic solvents: Application to flavonoid extraction from *Flos sophorae*. **Green Chemistry**, v. 17, p. 1718–1727, 2015.

Naturex: Naturex Group and the Personal Care Market. Disponível em: <https://cosmetics.specialchem.com/product/i-naturex-eutectys>. Acesso em 25 set. 2020.

NAZARIO, C. E. D. et al. New materials for sample preparation techniques in bioanalysis. **Journal of Chromatography B**, v. 1043, p. 81-95, 2017.

NÓBREGA, J. A. et al. Focused-microwave-assisted strategies for sample preparation. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 57 (2002) 1855–1876, 2002.

NOGUEIRA, A. R. A. et al. Embrapa's experience in the production and development of agriculture reference materials. **Journal of Physics. Conference Series (online)**, v. 733, p. 012005, 2016.

NOVAES, C. G. et al. A review of multivariate designs applied to the optimization of methods based on inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES). **Microchemical Journal**, v. 128, p. 331-346, 2016.

OLIVEIRA, E. Sample preparation for atomic spectroscopy: evolution and future trends. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 14, n. 2, p. 174-182, 2003.  
OLIVEIRA, R. M. et al. Evaluation of sample preparation methods for the determination of As, Cd, Pb, and Se in rice samples by GF AAS. **Microchemical Journal**, v. 124, p. 402–409, 2016.

OSOWSKA, N.; RUZIK, L. New Potentials in the Extraction of Trace Metal Using Natural Deep Eutectic Solvents (NADES). **Food Analytical Methods**, v. 12, p. 926-935, 2019.

PACHECO-FERNÁNDEZ, I.; PINO, V. Green solvents in analytical chemistry. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, v.18 p. 42-50, 2019.

PAIVA, A. et al. Natural Deep Eutectic Solvents – Solvents for the 21st Century. **ACS Sustainable Chemistry e Engineering**, v. 2, p. 1063-1071, 2014.

PANHWAR, A. H.; TUZEN, M.; KAZI, T. G. Ultrasonic assisted dispersive liquid-liquid microextraction method based on deep eutectic solvent for speciation, preconcentration and determination of selenium species (IV) and (VI) in water and food samples. **Talanta**, v. 175, p. 352-358, 2017.

PANHWAR, A. H. et al. Ultrasonic assisted deep eutectic solvent liquid–liquid microextraction using azadipyrromethene dye as complexing agent for assessment of chromium species in environmental samples by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Applied Organometallic Chemistry**, v. 32, p. e4319, 2018.

PAWAR, P. M.; JARAG, K. J.; SHANKARLING, G. S. Environmentally benign and energy efficient methodology for condensation: an interesting facet to the classical Perkin reaction. **Green Chemistry**, v. 13, p. 2130–2134, 2011.

PEREIRA-FILHO, E. R. **Planejamento fatorial em química: maximizando a obtenção de resultados**. EdUFSCAR: São Carlos, 2015.

PÉREZ, R. L.; ESCANDAR, G. M. Experimental and chemometric strategies for the development of Green Analytical Chemistry (GAC) spectroscopic methods for the determination of organic pollutants in natural waters. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, v. 4, p. 1-12, 2016.

PETTINE, M. et al. Dissolved inorganic carbon effect in the determination of arsenic and chromium in mineral waters by inductively coupled plasma-mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 599, p. 191–198, 2007.

PIAO, H. et al. Application of an *in-situ* formulated magnetic deep eutectic solvent for the determination of triazine herbicides in rice. **Talanta**, v. 222, p. 121527, 2021.

PŁOTKA-WASYLKA, J. et al. Extraction with environmentally friendly solvents. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 91, p. 12-25, 2017.

RADOŠEVIĆ, K. et al. Natural deep eutectic solvents as beneficial extractants forenhancement of plant extracts bioactivity. **LWT- Food Science and Technology**, v. 73, p. 45–51, 2016.

RAHMAN, M. S. et al. Formulation, structure, and applications of therapeutic and amino acid-based deep eutectic solvents: An overview. **Journal of Molecular Liquids**, v. -, p. 114745, 2020.

RIBEIRO, B. D. Menthol-based Eutectic Mixtures: Hydrophobic Low Viscosity Solvents. **ACS Sustainable Chemistry e Engineering**, v. 3, p. 2469-2477, 2015.

ROCHA, D. L. et al. Greening sample preparation in inorganic analysis. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 45, p. 79-92, 2013.

ROCHA, F. R. P. et al. Métodos de preparo de amostras para análise elementar. In: KRUG, F. J.; ROCHA, F. R. P. **Métodos de Preparo de Amostras para Análise Elementar**. São Paulo: EditSBQ, 2019. p. 21-39.

RUTKOWSKA, M.; NAMIEŚNIK, J.; KONIECZKA, P. Ultrasound-assisted extraction. In: PENA-PEREIRA, F.; TOBISZEWSKI, M. **The Application of Green Solvents in Separation Processes**. Amsterdam: Elsevier, 2017. p. 301–324.

SANTANA, A. P. R., et al. Sustainable synthesis of natural deep eutectic solvents (NADES) by different methods. **Journal of Molecular Liquids**, v. 293, p. 111452, 2019a.

SANTANA, A. P. R., et al. Natural deep eutectic solvents for sample preparation prior to elemental analysis by plasma-based techniques. **Talanta**, v. 199, p. 361-369, 2019b.

SANTANA, A. P. R., et al. Synthesis of natural deep eutectic solvents using a mixture design for extraction of animal and plant samples prior to ICP-MS analysis. **Talanta**, v. 2016, p. 120956, 2020.

SANTOS, H. M. et al. Microwave-assisted digestion using diluted HNO<sub>3</sub> and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> for macro and microelements determination in guarana samples by ICP OES. **Food Chemistry**, v. 273, p. 159–165, 2018.

SAVI, L. K. et al. Influence of temperature, water content and type of organic acid on the formation, stability and properties of functional natural deep eutectic solvents, **Fluid Phase Equilibria**, v. 488, p. 70–47, 2019.

SHAHBAZ, K. et al. Prediction of deep eutectic solvents densities at different temperatures, **Thermochimica Acta**, v. 515, p. 67–72, 2011.

SHISHOV, A. et al. Application of deep eutectic solvents in analytical chemistry. A review. **Microchemical Journal**, v. 135, p. 33-38, 2017.

SHISHOV, A. et al. Deep eutectic solvents are not only effective extractants. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 129, p. 115956, 2020.

SMITH, J. M.; VAN NESS, H. C.; ABBOTT, M. M. **Introdução à Termodinâmica da Engenharia Química**. 5<sup>o</sup> Edição ed. Davis, California, USA: LTC- Livros Técnicos e Científicos Editora S. A., 1949.

SILVA, C. S.; SOUZA, G. B.; NOGUEIRA, A. R. A. Preparation and characterization of phosphate rock as quality control material. **Accreditation and Quality Assurance**, v. 23, p. 39-45, 2018.

SILVERTSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 7 ed. LTC: Rio de Janeiro, 2015.

SINGH, S. K.; SAVOY, A. W. Ionic liquids synthesis and applications: An overview, **Journal of Molecular Liquids**, v. 297, p. 112038, 2020.

SKOOG, D. et al. **Fundamentos de química analítica**. 2 ed. Boston: Cengage Learning, 2014.

SOCAS-RODRÍGUEZ et al. Chapter 5 - Deep eutectic solvents. In: INAMUDDIN, ASIRI, A. M.; KANCH, S. **Green Sustainable Process for Chemical and Environmental Engineering and Science: Ionic Liquids as Green Solvents**. Amsterdam: Elsevier, 2020. p. 123–177.

SOETAN, K. O.; OLAIYA, C. O.; OYEWOLE, E. The importance of mineral elements for humans, domestic animals and plants - A review. **African Journal of Food Science**, v. 4, p. 200-222, 2010.

SUN, D.-H. et al. Determination of boron in serum, plasma and urine by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). Use of mannitol-ammonia as diluent and for eliminating memory effect. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 15, p. 257–261, 2000.

SZYMCZYCHA-MADEJA, A. Rapid method of element determination in rye crispbread by ICP OES. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 10, p. S3913–S3919, 2017.

THOMAS, R. **Practical guide to ICP-MS: a tutorial for beginners**. 3rd ed. CRC Press: New York, 2013.

THOMPSON, M., STEPHEN L. R., ELLISON, S. T. L. R., WOOD, R. Harmonized guidelines for singlelaboratory validation of methods of analysis. **Pure and Applied Chemistry**, v. 74, p. 835-855, 2002.

TOBISZEWSKI, M. et al. Green analytical chemistry in sample preparation for determination of trace organic pollutants. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 28, p. 943-951, 2009.

TODOLÍ, J.-L.; MERMET, J.-M. Acid interferences in atomic spectrometry: analyte signal effects and subsequent reduction. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 54, p. 895-929, 1999.

TOMÉ, L. I. N. et al. Deep eutectic solvents for the production and application of new materials. **Applied Materials Today**, v. 10, p. 30-50, 2018.

TOKARNIA, C. H.; DOBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V. Deficiências minerais em animais de fazenda, principalmente bovinos em regime de campo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 20, p. 127-138, 2000.

TYLER, G. ICP-MS, or ICP-AES and AAS? — A comparison. Varian, ICP-MS Instruments at work. Australia, 1994.

VAN OSCH, D. J. G. P. et al. Hydrophobic deep eutectic solvents as water-immiscible extractants. **Green Chemistry**, v. 17, p. 4518-4521, 2015.

VIAN, M. et al. Green solvents for sample preparation in analytical chemistry. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, v. 5, p. 44-48, 2017.

VINATORU, M.; MASON, T. J.; CALINESCU, I. Ultrasonically assisted extraction (UAE) and microwave assisted extraction (MAE) of functional compounds from plant materials. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 97, p. 159-178, 2017.

WANG, S. et al. Choline chloride/urea as an effective plasticizer for production of cellulose films. **Carbohydrate Polymers**, v. 117, p. 133–139, 2015.

WEI, Z. et al. Application of natural deep eutectic solvents for extraction and determination of phenolics in *Cajanus cajan* leaves by ultra performance liquid chromatography. **Separation and Purification Technology**, v. 149, p. 237–244, 2015.

WOLFF, M. S. et al. Environmental phenols and pubertal development in girls. **Environment International**, v. 84, p. 174–180, 2015.

WYPYCH, A.; WYPYCH, G. 1 - What does make solvents green?. In: WYPYCH, A.; WYPYCH. **Databook of Green Solvents (Second Edition)**. Amsterdam: Elsevier, 2019. p. 1-3.

XU, J. et al. Synthesis and self-assembly of donor - Spacer - Acceptor molecules. Liquid crystals formed by single-component “complexes” via Intermolecular hydrogen-bonding interaction. **Macromolecules**, v. 38, p. 1684–1690, 2005.

YILMAZ, E.; SOYLAK, M. Ultrasound assisted-deep eutectic solvent extraction of iron from sheep, bovine and chicken liver samples. **Talanta**, v. 136, p. 170-173, 2015.

YILMAZ, E.; SOYLAK, M. Ultrasound assisted-deep eutectic solvent based on emulsification liquid phase microextraction combined with microsample injection flame atomic absorption spectrometry for valence speciation of chromium (III/VI) in environmental samples. **Talanta**, v. 160, p. 680-685, 2016.

YIN, Z. et al. The Application of Carbon Nanotube/Graphene-Based Nanomaterials in Wastewater Treatment. **Small**, v. 16, p. 1902301, 2020.

ZAINAL-ABIDIN, M. H. et al. New horizons in the extraction of bioactive compounds using deep eutectic solvents: a review, **Analytica Chimica Acta**, v. 979, p. 1–23, 2017.

ZHANG, H.; TANG, B.; ROW, K. H. A green deep eutectic solvent-based ultrasound-assisted method to extract astaxanthin from shrimp byproducts. **Analytical Letters**, v. 47, p. 742–749, 2014.

ZHAO, B. Y. et al. Biocompatible deep eutectic solvents based on choline chloride: characterization and application to the extraction of rutin from *Sophora japonica*. **ACS Sustainable Chemistry e Engineering**, v. 3, p. 2746-2755, 2015.

ZHENG, Y. et al. The electrochemical behavior and determination of quercetin in choline chloride/urea deep eutectic solvent electrolyte based on abrasively immobilized multi-wall carbon nanotubes modified electrode. **International Journal Electrochemical Science**, v. 9, p. 238-248, 2014.

ZHU, S. et al. Vibrational analysis and formation mechanism of typical deep eutectic solvents: An experimental and theoretical study. **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, v. 68, p. 158–175, 2016

ZHU, X. H.; HANG, Q. M. Microscopical and physical characterization of microwave and microwave-hydrothermal synthesis products, **Micron**, v. 44, p. 21–44, 2013