



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de São José do Rio Preto

Thomas Amaral Brito

**Estratégias de preparo de amostras empregando solventes eutéticos profundos
naturais para determinação de contaminantes inorgânicos em amostras vegetais e
alimentícias**

São José do Rio Preto – SP

2022

Thomas Amaral Brito

Estratégias de preparo de amostras empregando solventes eutéticos profundos naturais para determinação de contaminantes inorgânicos em amostras vegetais e alimentícias

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre 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. Mário Henrique Gonzalez

Coorientadora: Profa. Dra. Geórgia Labuto

São José do Rio Preto – SP

2022

B862e	Brito, Thomas Amaral Estratégias de preparo de amostras empregando solventes eutéticos profundos naturais para determinação de contaminantes inorgânicos em amostras vegetais e alimentícias / Thomas Amaral Brito. -- São José do Rio Preto, 2022 90 p. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto Orientador: Mário Henrique Gonzalez Coorientadora: Geórgia Labuto 1. Química analítica verde. 2. Preparo de amostras. 3. Solventes Eutéticos. 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.

Thomas Amaral Brito

Estratégias de preparo de amostras empregando solventes eutéticos profundos naturais para determinação de contaminantes inorgânicos em amostras vegetais e alimentícias

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre 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. Mário Henrique Gonzalez
UNESP – Campus de São José do Rio Preto
Orientador

Profª. Dra. Gisele Simone Lopes
UFC – Universidade Federal do Ceará.

Prof. Dr. Paulo Clairmont Feitosa de Lima Lopes
UNESP – Campus de Araraquara.

São José do Rio Preto – SP

4 de outubro de 2022

AGRADECIMENTOS

Inicialmente agradeço a Deus pela força, vigor, vida, oportunidades e obstáculos presentes nessa etapa que permitiram meu crescimento como pessoa e discente.

Aos meus Pais, Joaquim e Eliana, pelo apoio fundamental e incondicional, orações, amor, sacrifício, paciência, carinho, conforto e, principalmente, pela confiança depositada ao longo desses anos.

Ao meu orientador, Prof. Mario Henrique Gonzalez pela orientação, confiança, ensinamentos, empatia, paciência e motivação nos momentos difíceis.

A minha amiga/mãe Elisabeth Salinas, por todo apoio emocional, psicológico, risadas, amizade, orações, exemplo, fé e oportunidade de aprender muito em várias áreas da música.

Aos meus amigos que fizeram parte da minha jornada, Gabriel (Ramirão), Patrick e Álvaro pelo companheirismo, risadas e todas as experiências compartilhadas.

Ao meu amigo/irmão Gabriel (Ramirão), que desde a época do ensino médio tem me motivado e acompanhado meu crescimento e desenvolvimento nessa trajetória. E além disso, mesmo com a distância mantemos nosso laço de amizade mais firme e forte.

Ao meu amigo Patrick, pela amizade, confiança, pelas conversas bizarras, incentivos, motivação e risadas.

Aos amigos do Grupo de Inovação em Química Analítica Verde, com os quais trabalhei e apreendi muito, em especial à Nathalia e à Sabrina, que sempre se propuseram a ajudar no que fosse preciso no desenvolvimento do trabalho. Agradeço pelas oportunidades, aprendizados, amizade e companheirismo.

Ao IBILCE pela oportunidade de desenvolver esta pesquisa na pós-graduação em Química e ao Departamento de Química e Ciências Ambientais (DQCA), além dos docentes que partilharam seus conhecimentos ao longo de anos de pesquisa que desenvolvi, e aos técnicos e servidores.

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.

RESUMO

O desenvolvimento de métodos baseados na química analítica verde (QAV) tem atraído atenção nos últimos anos, priorizando a miniaturização de métodos, a diminuição do consumo de reagentes, a eficiência energética e a redução do uso de compostos tóxicos. O emprego de solventes é crucial para o preparo de amostras, havendo uma necessidade do desenvolvimento de novos compostos que sejam ambientalmente amigáveis, e que atendam às necessidades analíticas de cada método. Os solventes eutéticos profundos naturais (NADES) surgiram com enorme potencial de aplicação devido as suas vantagens como baixa toxicidade, propriedades físico-químicas possivelmente moduláveis, baixo custo e simples preparação. Neste trabalho, sintetizou-se NADES a partir de misturas de ácido málico, ácido cítrico, xilitol e água por agitação e aquecimento nas proporções definida por um planejamento de misturas previamente realizado, avaliando as propriedades de densidade e viscosidade. Os valores de densidade ($1,25 \pm 0,01$ e $1,26 \pm 0,01$ g mL⁻¹) e viscosidade ($7,54 \pm 0,03$ e $5,20 \pm 0,01$ mPa s) para os solventes AC-Xil e AC-AM, foram obtidos, respectivamente. Estes solventes foram empregados em métodos assistidos por radiação micro-ondas e ultrassom (MAE e UAE, respectivamente) para determinações de As, Cd, Cr e Pb por espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) em amostra vegetal. A partir do planejamento Doehlert a condição ótima para MAE utilizando NADES AC-Xil e NADES AC-AM para extração de As, Cd e Pb no modo padrão e As no modo KED (vazão de 2,0 mL min⁻¹ de He), sendo temperatura (100 °C), tempo de extração (40 min) e razão m v⁻¹ (40:1) com os valores otimizados. Para o método UAE escolheu-se a condição de 40 minutos, 40 °C e razão m v⁻¹ de 30:1. A aplicação da condição otimizada para cada método resultou em recuperações na faixa de 66,8 - 84,3 % para MAE (As, Cd e Pb) e 95,7 - 109,5 % para UAE (As) em amostra de capim forrageira, enquanto que para as amostras alimentícias os valores foram menores que o LOD. Os valores determinados para LODs e LOQs empregando NADES, em geral, foram superiores aos valores para MW-AD por conta do aumento do sinal analítico ocasionado por reações de transferência de carga entre o analito e espécies de carbono no plasma. Os métodos avaliados mostraram-se em consonância com os princípios da química analítica verde uma vez que foram considerados ambientalmente amigáveis devido a avaliação pelas métricas Eco escala analítica e GAPI.

Palavras chaves: Química analítica verde. NADES. Composição inorgânica. ICP MS.

ABSTRACT

The development of methods based on green analytical chemistry (QAV) had attracted attention in recent years prioritizing method miniaturization, reducing reagent consumption, energy efficiency, and reducing the use of toxic compounds. The use of solvents is crucial for sample preparation, and there is a need to develop new compounds that are environmentally friendly that meet the analytical needs of each method. Natural deep eutectic solvents (NADES) have emerged with enormous potential for application due to their advantages such as low toxicity, possibly modifiable physicochemical properties, low cost and simple preparation. In this work, NADES were synthesized from mixtures of malic acid, citric acid, xylitol and water by stirring and heating in the proportions defined by a previously mixture planning evaluating the properties of density and viscosity. The values of density (1.25 ± 0.01 and 1.26 ± 0.01 g mL⁻¹) and viscosity (7.54 ± 0.03 and 5.20 ± 0.01 mPa s) for the solvents AC-Xil and AC-AM were obtained, respectively. These solvents were used in microwave and ultrasound-assisted methods (MAE and UAE, respectively) for determination of As, Cd, Cr and Pb by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) in plant and food samples. From the Doehlert design, the optimal condition for MAE was reached using NADES AC-Xil and NADES AC-AM for extraction of As, Cd and Pb in standard mode and As in KED mode (flow rate of 2.0 mL min⁻¹ of He), being temperature (100 °C), extraction time (40 min) and m v⁻¹ ratio (40:1) the optimized values. For the UAE method, the condition of 40min, 40 °C and 30:1 was chosen. The application of the optimized condition for each method resulted in recoveries in the range of 66.8 - 84.3 % for MAE (As, Cd and Pb) and 95.7 - 109.5 % for UAE (As) in a forage grass sample while whereas for the food samples the values were lower than the LOD. The values determined for LODs and LOQs using NADES, in general, were higher than the values for MW-AD due to the increase in the analytical signal caused by charge transfer reactions between the analyte and carbon species in the plasma. The methods evaluated were in line with the principles of green analytical chemistry since they were considered environmentally friendly due to evaluation by the Analytical Eco scale and GAPI metrics.

Keywords: Green analytical Chemistry. Natural deep eutectic solvents (NADES). Inorganic elements. ICP MS.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Número de publicações nos últimos 10 anos para o termo “green* chemistry”, segundo o Web of Science©	19
Figura 2 - Número de publicações nos últimos 10 anos, no Brasil, para "green chemistry", segundo o Web of Science©	20
Figura 3 - Número de publicações nos últimos dez anos para “Deep Eutectic Solvent” OR “Natural Deep Eutectic Solvent”, segundo o Web of Science©	24
Figura 4– Valores de recuperação (%) para As obtidos no método UAE para amostra de MRC Marandú utilizando solvente extrator: a) NADES 1 (AC-Xil); b) NADES 2 (AC-AM)	42
Figura 5 – Valores de recuperação (%) para Pb obtidos no método UAE para amostra de MRC Marandú utilizando solvente extrator: a) NADES 1 (AC-Xil); b) NADES 2 (AC-AM).	49
Figura 6 – Valores de recuperação (%) para Cd obtidos no método UAE para amostra de MRC Marandú utilizando solvente extrator: a) NADES 1 (AC-Xil); b) NADES 2 (AC-AM).	51
Figura 7 - Gráficos de Pareto para os efeitos padronizados para recuperação de As KED 2 (%) obtidos para UAE empregando: a) NADES 1 e b) NADES 2.....	53
Figura 8 - Superfícies de respostas e gráficos de contorno para recuperação (%) de As KED 2 em função do tempo, temperatura e razão m/V para UAE utilizando: a) NADES 1 (AC-XIL) e b) NADES 2 (AC-AM).	55
Figura 9 - Valores de recuperação (%) para As obtidos no método MAE para amostra de MRC Marandú utilizando solvente extrator: a) NADES 1 (AC-Xil); b) NADES 2 (AC-AM)	56
Figura 10 - Valores de recuperação (%) para Cr obtidos no método MAE para amostra de MRC Marandú utilizando solvente extrator: a) NADES 1 (AC-Xil); b) NADES 2 (AC-AM)	60
Figura 11 - Valores de recuperação (%) para Cd obtidos no método MAE para amostra de MRC Marandú utilizando solvente extrator: a) NADES 1 (AC-Xil); b) NADES 2 (AC-AM)	63
Figura 12 - Valores de recuperação (%) para Pb obtidos no método MAE para amostra de MRC Marandú utilizando solvente extrator: a) NADES 1 (AC-Xil); b) NADES 2 (AC-AM)	65

Figura 13- Gráficos de Pareto para os efeitos padronizados para recuperação de As KED 2 (%) obtidos para MAE empregando: a) NADES 1 e b) NADES 2.....	67
Figura 14 - Gráficos de Pareto para os efeitos padronizados para recuperação de Pb (%) obtidos para MAE empregando: a) NADES 1 e b) NADES 2.....	68
Figura 15 - Gráficos de Pareto para os efeitos padronizados para recuperação de Cd (%) obtidos para MAE empregando NADES 2.	70
Figura 16- Superfícies de respostas e gráficos de contorno para recuperação (%) de a) As KED 2 e b) Pb em função do tempo, temperatura e razão m/V para MAE utilizando NADES 1 (AC-XIL).....	71
Figura 17- Superfícies de respostas e gráficos de contorno para recuperação (%) de a) As KED 2, b) Pb e c) Cd em função do tempo, temperatura e razão m/V para MAE utilizando NADES 2 (AC-AM).....	72
Figura 18 - Pictogramas obtidos para MAE, UAE e MW-AD empregando a métrica GAPI.....	78

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - 12 Princípios da Química Analítica Verde.....	18
Tabela 2- Propriedades e estrutura molecular dos precursores dos NADES	31
Tabela 3– Matriz do tipo Doehlert – Fatores e níveis avaliados empregando extração assistida por radiação ultrassônica.....	33
Tabela 4 – Matriz do tipo Doehlert – Fatores e níveis avaliados empregando extração assistida por radiação micro-ondas.....	35
Tabela 5 - Condições Operacionais do ICP-MS para determinação de ^{75}As , ^{111}Cd , ^{52}Cr e ^{208}Pb	36
Tabela 6 – Valores de densidade e viscosidade para os NADES 1 e 2 a 25 °C	37
Tabela 7– Comparação entre valores de viscosidade (à 25°C) e teor de água de DES e NADES relatados na literatura	40
Tabela 8 - Concentrações e recuperações (%) de As no material certificado Marandú no modo padrão do ICP-MS e modo KED com diferentes vazões de He para otimização do método de preparo de amostra UAE utilizando NADES 1 (AC-Xil).....	44
Tabela 9 - Concentrações e recuperações (%) de As no material certificado Marandú no modo padrão do ICP-MS e modo KED com diferentes vazões de He para otimização do método de preparo de amostra UAE utilizando NADES 2 (AC-AM)	45
Tabela 10 - Concentrações e recuperações (%) de Cr no material certificado Marandú no modo padrão do ICP-MS e modo KED com diferentes vazões de He para otimização do método de preparo de amostra UAE utilizando NADES 1 (AC-Xil).....	47
Tabela 11 - Concentrações e recuperações (%) de Cr no material certificado Marandú no modo padrão do ICP-MS e modo KED com diferentes vazões de He para otimização do método de preparo de amostra UAE utilizando NADES 2 (AC-AM)	48
Tabela 12 - Concentrações e recuperações (%) de Pb no material certificado Marandú para otimização do método de preparo de amostra UAE utilizando NADES 1 (AC-Xil) e NADES 2 (AC-AM).....	50
Tabela 13 - Concentrações e recuperações (%) de Cd no material certificado Marandú para otimização do método de preparo de amostra UAE utilizando NADES 1 (AC-Xil) e NADES 2 (AC-AM).....	52
Tabela 14 - Condições ótimas pré-determinadas para UAE empregando NADES 1 e 2 para extração de As (vazão 2,0 mL min ⁻¹ de He para KED).	54

Tabela 15 - Concentrações e recuperações (%) de As no material certificado Marandú no modo padrão do ICP-MS e modo KED com diferentes vazões de He para otimização do método de preparo de amostra MAE utilizando NADES 1 (AC-Xil).....	57
Tabela 16 - Concentrações e recuperações (%) de As no material certificado Marandú no modo padrão do ICP-MS e modo KED com diferentes vazões de He para otimização do método de preparo de amostra MAE utilizando NADES 2 (AC-AM).....	58
Tabela 17- Concentrações e recuperações (%) de Cr no material certificado Marandú no modo KED com diferentes vazões de He para otimização do método de preparo de amostra MAE utilizando NADES 1 (AC-Xil).....	61
Tabela 18 - Concentrações e recuperações (%) de Cr no material certificado Marandú no modo KED com diferentes vazões de He para otimização do método de preparo de amostra MAE utilizando NADES 2 (AC-AM)	62
Tabela 19 - Concentrações e recuperações (%) de Cd no material certificado Marandú para otimização do método de preparo de amostra MAE utilizando NADES 1 e 2.	64
Tabela 20 - Concentrações e recuperações (%) de Pb no material certificado Marandú para otimização do método de preparo de amostra MAE utilizando NADES 1 e 2.	66
Tabela 21 - Condições ótimas pré-determinadas para MAE empregando NADES 1 e 2 para extração de As (KED 2), Pb e Cd.	70
Tabela 22 - Concentrações de As, Cd e Pb (média $\pm$ desvio padrão) e recuperações empregando os métodos otimizados MAE e UAE utilizando NADES 1 e 2.....	74
Tabela 23 - Valores obtidos para limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), coeficiente de correlação linear (r), desvio padrão relativo (%), faixa dinâmica para os métodos propostos (MAE, UAE e MW-AD) para As.....	76
Tabela 24 - Valores obtidos para limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), coeficiente de correlação linear (r), desvio padrão relativo (%), faixa dinâmica para os métodos propostos (MAE, UAE e MW-AD) para Cd.....	76
Tabela 25 - Valores obtidos para limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), coeficiente de correlação linear (r), desvio padrão relativo (%), faixa dinâmica para os métodos propostos (MAE, UAE e MW-AD) para Pb.	76

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

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)

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

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)

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

DTG: Termogravimetria derivada (do inglês, derivative thermogravimetry)

Embrapa: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária.

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

GAC: Química analítica verde (do inglês, Green Analytical Chemistry)

GAPI: Índice de procedimento analítico verde (do inglês, Green Analytical procedure Index)

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

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

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

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

ILs: Líquidos iônicos (do inglês, ionic liquids)

INMETRO: Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia

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

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

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

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

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

NADES: Solvente eutético profundo natural (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

NEMI: Índice Nacional de métodos ambientais (do inglês National Environmental Methods Index)

POM: Microscopia óptica polarizada (do inglês Polarized optical microscopy)

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

QV: Química verde.

RPq: Relacionado à voltagem aplicada às hastes do quadrupolo.

R%: Porcentagem de recuperação.

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

RGB: Vermelho, verde e azul (do inglês, red, green, blue).

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

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

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

WAC: Química analítica Branca (do inglês, White analytical chemistry).

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	14
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
2.1. Química verde e química analítica verde.....	17
2.2. Contaminantes inorgânicos.....	21
2.3. Solventes eutéticos naturais profundos (NADES).....	23
2.4. Métodos de preparo de amostra.....	27
3. OBJETIVO	29
4. MATERIAIS E MÉTODO.....	30
4.1. Vidrarias, reagentes e amostras	30
4.2. Síntese e caracterização dos NADES	31
4.3. Medidas de densidade e viscosidade.....	32
4.4. Otimização dos métodos UAE e MAE por meio de planejamentos do tipo Doehlert.....	32
4.5. Digestão ácida assistida por radiação micro-ondas (MW-AD).....	35
4.6. Determinação elementar por ICP-MS.....	36
4.7. Avaliação dos parâmetros de desempenho	37
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
5.1. Determinação de viscosidade e densidade	37
5.2. Otimização e aplicação de métodos verdes de preparo de amostras empregando NADES.....	41
5.2.1. Extração assistida por Ultrassom (UAE).....	42
5.2.2. Extração assistida por radiação micro-ondas (MAE)	56
6. CONCLUSÃO	80
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	81
REFERÊNCIAS	82

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

Devido a problemática da contaminação por metais tóxicos e outros compostos nocivos ao ambiente e a saúde humana, instituições e órgãos mundiais passaram a dar importância a alternativas de diminuição ou eliminação do uso desses compostos em larga escala. Essa preocupação foi notada, principalmente, por conta de reuniões e acordos internacionais com temática ambiental, visando a sustentabilidade e menores emissões de poluentes tóxicos no ambiente, sendo a Convenção de Estocolmo de 2001 um dos principais marcos históricos em relação a problemática ambiental (YILMAZ, 2019).

A mudança no cenário para análises sustentáveis se intensificou a partir dos anos 1990 com várias publicações relacionadas a sustentabilidade em processos químicos. Um grande marco foi a publicação de Anastas e Warner (1998) com o “primeiro manual” de Química Verde. Este trabalho foi e é utilizado até hoje em vários setores da sociedade (industrial, ecológico, educacional e político). Segundo Anastas (1999), a Química Verde pode ser definida como “o uso de técnicas e metodologias químicas que buscam reduzir ou eliminar o uso ou geração de matérias-primas, produtos, solventes, reagentes, etc, que são perigosos para a saúde humana e para o ambiente”. Esses princípios propõem mudanças comportamentais que são desejadas na indústria química para alcançar a sustentabilidade e enfatizam a diminuição ou eliminação do impacto que compostos perigosos possam causar no ambiente (ANASTAS, 1999; ANASTAS P. & KIRCHOFF, 2002; PLOTKA-WASYLKA, 2021).

Uma das subáreas mais ativa da química verde é a de desenvolvimento de solventes sustentáveis (ESPINO et al., 2016). Idealmente, seria interessante a implementação de métodos livres de solventes, porém, devido a aspectos físico-químicos, como a dissolução de sólidos, transferência de massa e calor no equilíbrio químico e em etapas de extração, purificação e separação, o emprego de solventes torna-se inevitável (ESPINO, et al., 2016), quando não se têm uma técnica de análise direta adequada disponível. Sendo assim, há um grande interesse no desenvolvimento de novos solventes que apresentem baixo impacto ambiental e que atendam às necessidades da análise química e aos padrões de qualidade laboratorial (GHANDI, 2014; ARMENTA et al, 2008). Podemos citar dois grupos de solventes que emergiram como candidatos a solventes ambientalmente amigáveis, os líquidos iônicos (LI) e os solventes eutéticos profundos (DES).

Ambos os solventes atraíram atenção por conta de suas propriedades únicas. Geralmente são saís a temperatura ambiente, líquidos a temperaturas inferiores a 100 °C e apresentam pressão de vapor insignificante. Além disso, aspectos como viscosidade, densidade, hidrofobicidade e hidrofiliicidade podem ser ajustados de acordo com a seleção apropriada do cátion e do ânion, garantindo uma vasta aplicação em reações químicas e enzimáticas (GHANDI, 2014; VISSER, et al., 2000; MAKOS, 2020).

Os LIs foram, num primeiro momento, classificados como solventes verdes por não apresentarem características de inflamabilidade, de volatilidade, por serem recicláveis, possuírem elevado potencial de solvência e de estabilidade térmica (WELTON, 1999; MEINE, et al., 2010). Embora os LIs sejam amplamente utilizados como solventes e catalisadores de reações, a literatura relata problemas relacionados a biodegradabilidade, toxicidade e estabilidade de subprodutos gerados, de acordo com os precursores químicos empregados, além de alguns dos LIs terem elevado custo de síntese (CANAL, et al., 2006; AGGARWAL, et al., 2002, MAKOS, 2020).

Para reverter estas desvantagens, estudos foram desenvolvidos em busca de alternativas de solventes que possuíssem as propriedades semelhantes ao dos LIs, mas sem as desvantagens relatadas. Uma nova geração de solventes chamados solventes eutéticos profundos (DES, do inglês Deep Eutectic Solvents) foram desenvolvidos. (HULSBOSCH, et al., 2016; MARÍA, 2014). A disseminação de estudos envolvendo os DES iniciou-se no começo dos anos 2000, quando foram relatadas as características físico-químicas destes (ABBOTT et al., 2001).

Os DES são geralmente uma mistura de dois ou três saís, também chamados de precursores, que possuem interações de hidrogênio entre si, ou seja, são constituídos de uma espécie doadora (HBD) dessas ligações de hidrogênio e outra aceptora (HBA), formando-se uma mistura eutética com ponto de fusão abaixo do apresentado por cada precursor individualmente, diferenciando-os dos LIs (WANG, et al., 2015; DAI, 2013). As primeiras misturas eutéticas foram feitas a partir de haletos orgânicos, como saís de amônio, juntamente a um composto orgânico HBD podendo ser amidas, aminas, álcoois e ácidos carboxílicos. Existe um interesse crescente relatado pela literatura nos DES pois suas aplicações são amplas, abrangendo áreas como: eletroquímica, biocatálise, síntese inorgânica e principalmente em organocatálise (FLORINDO et al., 2019).

Posteriormente, vários precursores para DES começaram a ser investigados e novos estudos desenvolveram sínteses a partir de metabólitos primários naturais e/ou compostos celulares, como aminoácidos, ácidos orgânicos, açúcares e derivados naturais

de colina. Quando estes precursores dos DES são oriundos dessas fontes naturais, são chamados de solventes eutéticos profundos naturais (NADES, do inglês Natural Deep Eutetic Solvents). Esses compostos são formados, igualmente aos DES, por ligação de hidrogênio entre um precursor que atua como HBD e outro HBA desta ligação, em conjunto com outras interações intermoleculares como van der Waals e forças eletrostáticas (ESPINO et al., 2016). Os NADES apresentam baixa toxicidade, biodegradabilidade e estabilidade. Além disso, o processo de síntese é simples e economicamente viável em comparação com os líquidos iônicos (ABBOTT, et al., 2013; IMPERATO, et al., 2005).

A síntese de solventes ambientalmente amigáveis impacta diretamente em outro campo de estudo da química verde, que são os métodos de preparo de amostras. Nessa etapa podem ocorrer perdas dos analitos, contaminações que afetam o resultado da análise, ademais, é a etapa que consome maiores volumes de reagentes e produz a maior parte dos resíduos químicos (ROCHA et al., 2013; TOBISZEWSKI et al., 2009). Além disso, processos de extração geralmente usam solventes orgânicos voláteis e tóxicos, representando perigo a saúde humana e ao ambiente. Por conta disso os DES se tornaram candidatos promissores para substituí-los (ANASTAS,1999; ANASTAS P. & KIRCHOFF, 2002; DE ALMEIDA PONTES et al., 2021).

Desta forma, o presente estudo descreve a aplicação de diferentes NADES a base de ácido málico, ácido cítrico, xilitol e água utilizando metodologias verdes de preparo de amostras, sendo elas a extração assistida por radiação micro-ondas (MAE) e extração assistida por ultrassom (UAE). A aplicação foi baseada em um planejamento fatorial do tipo Doehlert para avaliação da melhor condição de extração para As, Cd, Cr e Pb mediante determinação dos teores por ICP-MS. É válido ressaltar que a síntese e caracterização dos solventes foram previamente otimizadas por Santana e colaboradores (2020). A formação do solvente a partir de ligações de hidrogênio foi avaliada por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier, calorimetria diferencial exploratória, termogravimetria, densidade e viscosidade. As medidas de densidade e viscosidade foram realizadas novamente com o intuito de avaliar se os valores estavam coerentes com os descritos por Santana et al. (2020), indicando a formação do solvente eutético.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Química verde e química analítica verde

Estima-se que o conceito de química analítica verde surgiu a partir de 1987, num congresso em Paris (Euroanalysis VI) onde Malissa apresentou as primeiras ideias sobre mudanças em diretrizes da química analítica com abordagens históricas e conceitos ecológicos. Essas ideias corroboraram as de Pimentel que, em 1985, dissertou sobre o impacto da química na saúde do planeta e como os efeitos das práticas analíticas no ambiente deveriam ser pensados (ARMENTA et al., 2008).

Por conta disso, a preocupação ambiental com relação a química e o ambiente se intensificou a partir da década de 90, evidenciada a partir de 1995 com publicações relacionadas a: i) redução no uso de solventes para o pré-tratamento de amostras; ii) a redução de solventes tóxicos empregados nas medições; iii) o desenvolvimento de métodos analíticos diretos ou alternativos; iv) a miniaturização e automação dos sistemas de medição para evitar perdas; v) o desenvolvimento de compostos seguros; vi) o desenvolvimento de condições reacionais que visam obtenção de maior rendimento e a menor geração de subprodutos e vii) a minimização do consumo de energia (ANASTAS, 1999; ANASTAS & KIRCHOFF, 2002; PRADO, 2003; ARMENTA et. al, 2008).

A implementação dos princípios da QV na química analítica é muito importante pois suas ferramentas permitem a detecção, medição e monitoramento de contaminantes (ANASTAS & KIRCHOFF, 2002). Gałuszka e colaboradores desenvolveram uma releitura dos princípios da Química Verde propostos por Anastas e Warner a fim de adequá-los a química analítica. O resultado foi a publicação dos chamados “12 Princípios da Química Analítica Verde”, descritos na Tabela 1 abaixo:

Tabela 1 - 12 Princípios da Química Analítica Verde

Número	Princípio
1	Técnicas analíticas diretas devem ser priorizadas a fim de evitar pré-tratamento de amostras
2	Buscar tamanho e quantidades mínimas de amostras
3	Realização de medições <i>in situ</i>
4	Integração de processos e operações analíticas
5	Seleção de métodos miniaturizados e automatizados
6	Evitar formação de derivados
7	Diminuição do volume de resíduos e tratamento de forma apropriada
8	Priorizar métodos de análise multielementares
9	Minimização do uso de energia
10	Utilização de reagentes oriundos de fontes renováveis
11	Eliminação ou substituição de reagentes tóxicos
12	Aumento da segurança do operador

Fonte: Elaborado pelo autor

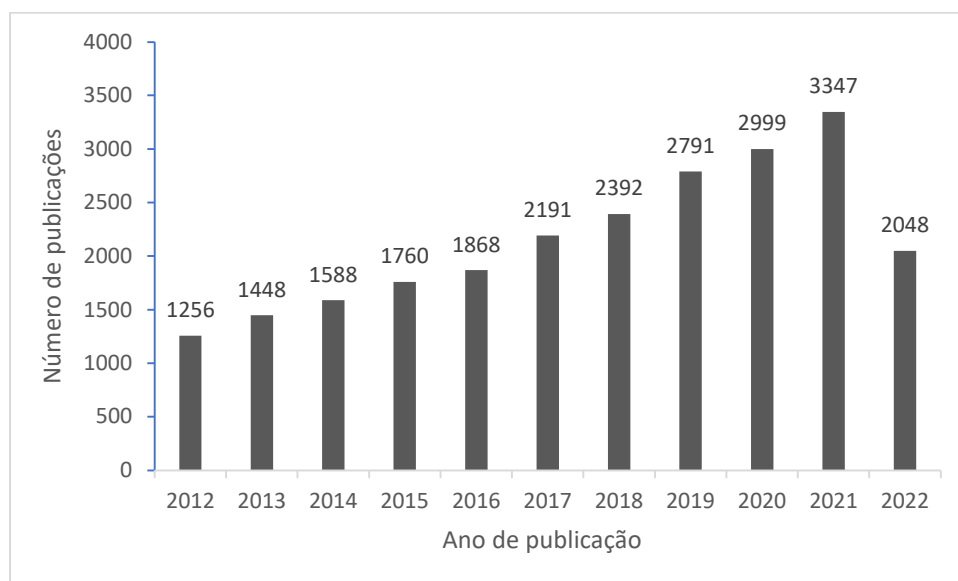
Geralmente, “compostos” (reagentes/produtos/resíduos) perigosos apresentam certas propriedades físico-químicas como: explosividade, inflamabilidade e corrosividade. Além disso podem provocar efeitos tóxicos agudos e/ou crônicos, vários tipos de câncer e danos ao DNA. Esses compostos podem causar desde intoxicação de plantas e animais até danos na atmosfera, depleção de recursos ambientais e mudanças climáticas (ANASTAS, 1999).

No entanto, a química analítica verde enfrenta desafios no que faz menção à sinergia entre os aspectos sustentáveis e as necessidades dos métodos de validação como sensibilidade, seletividade, limites de detecção e de quantificação, robustez, precisão e

eficiência. E também com aspectos práticos (custos, impacto social e geográfico) em relação aos dados, materiais, reagentes, resíduos gerados, custo de energia e tempo de análise. O ideal seria encontrar um equilíbrio entre os parâmetros de validação e o aspecto sustentável do método (GALUSKA, 2013; NOWAK et al., 2021; PLOTKA-WASYLKA et al., 2021).

A química verde tem sido reconhecida internacionalmente pelos benefícios que tem agregado ao ambiente, saúde humana e processos industriais. Os métodos analíticos verdes têm atraído muita atenção desde o ano 2000, isso pode ser observado pelo aumento considerável de trabalhos publicados a cada ano (ANASTAS e KIRCHOFF, 2002; ARMENTA, 2008; GALUSKA, 2013; ARMENTA et al., 2015). Foi possível observar que o número de publicações tratando dessa temática aumentou de forma considerável, como apresentado na Figura 1, elaborada com base em pesquisa online realizada dia 07 de setembro de 2022 no banco de dados do site Web of Science®, buscando pelo termo “green* chemistry”.

Figura 1- Número de publicações nos últimos 10 anos para o termo “green* chemistry”, segundo o Web of Science®

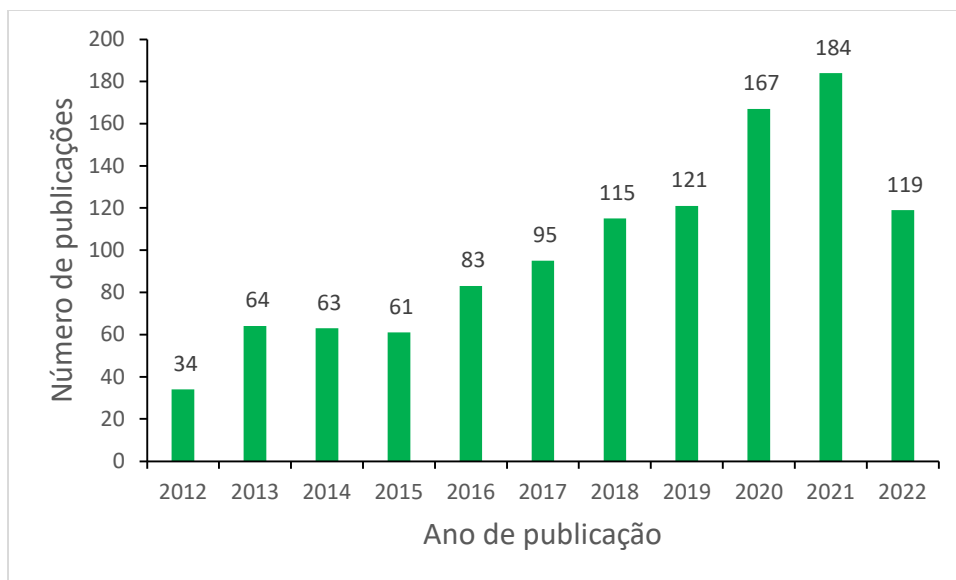


Fonte: Elaborado pelo autor

No Brasil, estudos envolvendo esta área estão sendo desenvolvidos e ganhando espaço de forma significativa nos últimos anos (GOMES et al., 2018). Isso pode ser observado na Figura 2. Apesar de serem poucas publicações em comparação ao montante publicado ao redor do mundo, foi notável o crescimento da produção científica empregando os princípios da química verde no Brasil, e foi observado também um

aumento significativo no número de trabalhos relacionados a química verde nos últimos dez anos no Brasil.

Figura 2 - Número de publicações nos últimos 10 anos, no Brasil, para "green chemistry", segundo o Web of Science©



Fonte: Elaborado pelo autor

Estudos e inovações estão sendo realizados para aprimorar conceitos estabelecidos pela química analítica verde para que possam atender as necessidades que análises exigem. Nowak e colaboradores (2021) elaboraram um conceito e um algoritmo considerado como extensão da química analítica verde, chamado de “Química analítica branca” (WAC, do inglês White analytical chemistry). A ideia da WAC está baseada em 12 princípios que buscam avaliar o método em três categorias principais representadas pelas cores vermelho, verde e azul (RGB, do inglês Red, Green e Blue).

A cor vermelha representa critérios analíticos como escopo de aplicação, limites de detecção, de quantificação, precisão e eficiência. A cor verde está relacionada com a toxicidade dos reagentes, geração de resíduos, eficiência energética, impactos ambientais e segurança do operador e a cor azul direciona-se a aspectos práticos, como relação entre custo, eficiência e tempo, requisitos como tempo de análise, fluxo de trabalho e facilidade operacional. Os 12 princípios são divididos igualmente entre as cores (quatro princípios de cada), que ao serem misturadas formam a cor branca, ou seja, significa a escolha de um método balanceado. A aplicação do algoritmo é feita por uma planilha elaborada pelos autores, que apresentaram informações sobre como aplicar os conceitos da WAC.

Ainda existem outras formas de avaliar o quão “verde” um método analítico é. Entre essas métricas que podemos citar o NEMI, GAPI e Analytical Eco Scale (SAJID, M., & PLOTKA-WASYLKA, J. 2022). O NEMI (do inglês, National Environmental Methods Index) é uma das primeiras ferramentas utilizadas para determinar a viabilidade ambiental de procedimentos analíticos, consiste na aplicação de critérios como forma de identificar métodos químicos que usam solventes mais verdes e que minimizam a geração de resíduos (KEITH et. al, 2007; TOBISZEWSKI, M., 2015).

A Analytical Eco Scale é uma das ferramentas mais utilizadas e funciona a partir de um sistema de penalidades. O método inicia com 100 pontos que podem diminuir a medida que estiverem em desacordo com os parâmetros avaliados pela métrica. A partir da eco-scale é possível avaliar de forma simples, a toxicidade dos solventes, consumo energético e geração de resíduos (GALUSKA et al., 2012; SAJID, M., & PLOTKA-WASYLKA, J. 2022).

O GAPI (do inglês, Green analytical procedure index) é uma ferramenta elaborada por Plotka-Wasyłka em 2018 cujo objetivo é analisar o caráter ambiental de um método analítico que se busca aplicar. O GAPI é reconhecido por ser uma das ferramentas mais completas para avaliação de quão “verde” um método analítico é. Possui um excelente diferencial pois abrange desde as etapas de amostragem até a determinação final, com isso é possível identificar “pontos fracos” do método, riscos ambientais através de uma visualização gráfica simples de pentagramas coloridos de verde, amarelo e/ou vermelho (GAMAL et al., 2021).

A utilização de uma ou mais métricas é de suma importância no desenvolvimento de novos compostos sustentáveis, no caso dos solventes, e também na otimização de novas metodologias analíticas.

2.2. Contaminantes inorgânicos

Para Okereafor (2020), o termo “contaminante inorgânico” é utilizado para descrever “qualquer espécie de origem natural que não pode ser degradado ou destruído, mas que sua toxicidade é conhecida para humanos”. Por mais que alguns elementos sejam essenciais à vida humana em baixas quantidades (Fe, Zn, Cu, Cr, Co, Mn), existem outros que apresentam toxicidade em qualquer nível de concentração, como Pb, Ni, Cd, As e Hg. Por exemplo, de um lado tem-se íons de Fe (II) que participam do processo de respiração e transporte de oxigênio entre tecidos e de outro, existem íons de As (III, V) podem inibir a respiração mitocondrial, causar câncer e morte celular (FERREIRA et al,

2019). Mesmo que esses contaminantes inorgânicos estejam presentes de forma natural na crosta terrestre, a contaminação do ambiente e exposição humana é majoritariamente resultado de atividades antropogênicas, com ênfase nas indústrias: de tintas, alimentícias, tecnológicas, farmacológicas, de insumos agrícolas, metalúrgicas, mineradoras, dentre outras (GÖK et al, 2008; OKEREAFOR et al, 2020).

Os contaminantes inorgânicos podem produzir efeitos deletérios quando ingeridos durante um longo período, mesmo que em baixas concentrações. Eles podem afetar a regulação da pressão osmótica, interações eletrostáticas e cofatores que realizam suporte para estabilizar macromoléculas e enzimas, ou seja, afetam intrinsecamente os processos bioquímicos do indivíduo exposto (ARMENTA et al, 2008; TOKALIOGLU et al, 2010). Além disso, a presença excedente desses elementos no ambiente pode: intensificar sua acumulação nos diversos compartimentos ambientais (água, solo, ar e sedimento), contaminar reservas de água potável e causar bioacumulação em animais, micro-organismos aquáticos e plantas. Logo, cereais, vegetais e outras fontes de nutrientes relacionadas ao solo se tornam vias de exposição, porém, os contaminantes também podem ser inseridos em alimentos durante processamentos industriais ou por manuseio inadequado (OKEREAFOR et al, 2020; JI et al, 2021; RÓMAN-OCHOA et al, 2021).

O arsênio é um semimetal que pode ser encontrado naturalmente no ambiente sob formas inorgânicas, como arsenito (As^{+3}), que é a sua forma mais tóxica, e arsenato (As^{+5}). E sob formas orgânicas, como o ácido dimetilarsínico (DMA) e ácido monometilarsônico (MMA), que são menos tóxicas em relação as espécies iônicas. As espécies derivadas de arsênio podem provocar inibição do DNA mitocondrial, afetando a síntese de adenosina-tri-fosfato (ATP), mutações no DNA, além de câncer e morte celular (OKEREAFOR, 2020). Não obstante, a exposição crônica ao As pode provocar danos ao fígado, bexiga, ao trato gastrointestinal e pode ser absorvido pelo organismo principalmente por alimentos contaminados devido a sua capacidade de bioacumulação em tecidos animais e vegetais (FERREIRA, 2019).

O cádmio pode ser encontrado em rochas sob a forma de sulfetos que ao serem queimados formam óxidos. O Cd apresenta toxicidade similar ao mercúrio, pode provocar danos ao fígado, rim, placenta, cérebro e ossos. Os efeitos mais comuns a intoxicação por Cd são náuseas, dores abdominais, vômito, fraqueza muscular e em casos extremos pode causar morte e edemas nos pulmões afetando os alvéolos e bronquíolos. Espécies de Cd também já foram associadas a osteoporose e infarto cerebrovascular (OKEREAFOR, 2020).

O chumbo está presente em uma série de processos industriais, como síntese de óleos, tintas, mineração, agroquímicos, etc. É um dos contaminantes que pode permear pela cadeia alimentar devido ao seu aspecto bioacumulativo e biomagnificativo. O Pb pode causar danos a plantas, solo e organismos. Os efeitos tóxicos são amplos, desde dores abdominais, vertigem, fraqueza muscular até hipertensão, danos neurológicos e psicose. A principal via de exposição ao Pb seria por inalação e ingestão de água e alimentos contaminados. Ao ser ingerido, o Pb reduz a síntese proteica, afeta ossos, sistema cardiovascular e órgãos reprodutores a nível de exposição crônica (KUMAR; OKEREAFOR, 2020).

O cromo ocorre naturalmente na forma de óxidos, em dois estados de oxidação, trivalente e hexavalente. O íon Cr (III) é mais estável que o Cr (VI), este por sua vez apresenta toxicidade mais elevada. As espécies de Cr podem causar câncer no trato respiratório, necrose, alterações bioquímicas no plasma sanguíneo e uma série de efeitos deletérios assim como os metais supracitados. As principais vias de exposição do Cr são por via dérmica e inalação de vapores tóxicos, estes relacionados principalmente a funcionários de indústrias, por exemplo. Os quais que estão expostos diretamente a vapores de Cr (SAFETY, 2011).

2.3. Solventes eutéticos naturais profundos (NADES)

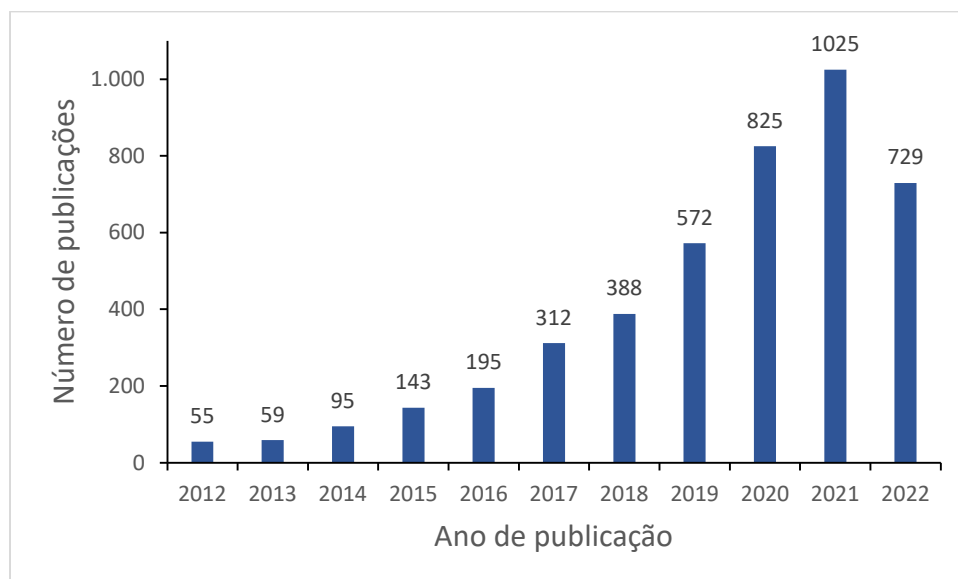
Os solventes eutéticos profundos (DES) surgiram a partir do ano 2000, e são formados por dois precursores sendo, um doador de ligações de hidrogênio (HBD) e outro aceitor de ligações de hidrogênio (HBA). Essa interação ocorre juntamente a forças de Van der Waals e forças eletrostáticas (DAI et al., 2013). Geralmente a mistura é formada por um sal de amônio quaternário (HBA) com algum outro composto HBD que possui grupos álcoois, carboxílicos, amins ou amidas. A interação entre os componentes HBD e HBA resulta na diminuição da força eletrostática e portanto, na redução do ponto de fusão da mistura a um valor inferior à dos precursores separados (ABBOTT et al., 2003).

O termo NADES foi apresentado por Choi e colaboradores (2011) e se aplica a alguns tipos de DES formados a partir de fontes naturais e constituintes celulares, como açúcares, ácidos orgânicos, álcoois, derivados de colina, aminoácidos, dentre outros (ESPINO et al., 2016). Os NADES apresentam vantagens como síntese simples sem necessidade de etapas de purificação ou separação, perfis de toxicidade aceitáveis, volatilidade desprezível, baixo custo, menor consumo energético de síntese, elevada estabilidade térmica e são considerados sustentáveis e biodegradáveis. Esses fatores são

muito importantes do ponto de vista ambiental e econômico, além de atender os critérios estabelecidos pela Química Verde. As propriedades físico-químicas dos NADES, como densidade, viscosidade e polaridade, são ajustáveis dependendo dos precursores utilizados.

Apesar dos estudos de NADES e DES serem recentes, existe um crescente e notável interesse da comunidade científica em relação a essa classe de solventes, como pode ser observado na Figura 3 a partir de uma pesquisa realizada no banco de dados do site Web of Science®, buscando pelo termo “Deep Eutectic Solvent” OR “Natural Deep Eutectic Solvent”, em 07 de setembro de 2022.

Figura 3 - Número de publicações nos últimos dez anos para “Deep Eutectic Solvent” OR “Natural Deep Eutectic Solvent”, segundo o Web of Science®



Fonte: elaborado pelo autor

A escolha dos componentes é de grande importância e deve-se levar em consideração a quantidade de grupos doadores e receptores de ligação de hidrogênio presentes na estrutura química, pois estes influenciam significativamente a estabilidade dos NADES, ou seja, estruturas ricas em grupos hidroxilas, carboxilas e carboxílicos permitem a formação de mais ligações de hidrogênio e consequentemente aumenta a estabilidade dos solventes (DAI et al., 2013; ESPINO et al., 2016).

Neste trabalho foram sintetizados NADES a partir de combinações entre os ácidos orgânicos málico e cítrico juntamente ao xilitol. O xilitol ($C_5H_{12}O_5$) é um poliálcool de estrutura aberta que é um adoçante muito utilizado na indústria alimentícia como substituto da sacarose principalmente por ser menos calórico. Além disso, é obtido

da xilose, que é considerada uma “molécula de plataforma” (tradução livre) no sentido de que é possível obter uma série de moléculas como: xilitol, propilenoglicol, etilenoglicol, glicerol, ácido láctico e uma mistura de hidroxifuranos (DELGADO ARCAÑO et al., 2020).

O ácido cítrico é um ácido tricarboxílico ($C_6H_8O_7$) e um metabólito comum em plantas, animais e está presente em sucos de frutas. Também é muito utilizado na indústria como anticoagulante, mascador de sabor, também possui aplicações biomédicas (ANGUMEENAL, A. R., & VENKAPPAVVA, D., 2013). O ácido málico $C_4H_6O_5$ é um ácido dicarboxílico encontrado principalmente em frutas como maçã e pêra. Também apresenta aplicações na indústria alimentícia como aromatizante, acidulante e como aditivo alimentar e, por fim, possui um grande potencial em aplicações biotecnológicas e farmacêuticas na regeneração e higienização de ferimentos (LEE J. W., 2011).

As combinações de componentes para formação de NADES e DES são praticamente ilimitadas e, portanto, oferecem uma série de oportunidades no desenvolvimento de métodos analíticos. Por conta da sua versatilidade, velocidade de preparo e capacidade de extração, é perceptível que existe um interesse crescente na comunidade científica em relação a esses solventes, evidenciado no amplo registro de publicações em extrações de compostos orgânicos e inorgânicos, biocatálise, análise de materiais, análises eletroquímicas, biotecnologia, sistemas de entrega de medicamentos, dentre outros (ESPINO et al., 2016; FLORINDO et al., 2019; SHAFIE et al., 2019; HAQ et al., 2021).

De Almeida Pontes e colaboradores (2021) aplicaram DES a base de cloreto de colina (HBA) e ácido carboxílicos (cítrico, málico, malônico e acético) com adição de água para extração de compostos fenólicos em folhas de oliveira. Após o preparo dos solventes por agitação e aquecimento, os pesquisadores avaliaram densidade, viscosidade e capacidade de extração dos DES por UHPLC-MS. A capacidade de extração dos DES foi comparada com a extração por etanol, um solvente muito utilizado nesse tipo de análise. Constatou-se que os DES, com 50% de água e à 54 °C, extraíram duas vezes mais compostos fenólicos que o etanol, com destaque para o solvente [Ch]Cl:ácido acético que extraiu 15% de oleuropeína a mais que o etanol.

Chen e colaboradores (2021) extraíram flavonoides em duas espécies de *Rubia* (*Rubia truppeliana* e *R. cordifolia*) com DES a base de cloreto de colina e ácidos málico e láctico, glicerol, glicose e ureia por UAE. A determinação foi feita por espectrofotometria na região do UV-Visível. Após a avaliação das propriedades das

misturas estudadas, concluiu-se que a mistura eutética [Ch]Cl:ácido láctico apresentou menor viscosidade e notou-se que o solvente penetrou de forma mais efetiva no tecido vegetal, ou seja, possibilitou maior eficiência de extração. Além disso foi observado que o rendimento da extração aumentou com a adição de água (no intervalo de 10-30 % em relação a massa de solvente) e superou a extração utilizando etanol.

Um estudo publicado por Sukor e colaboradores (2021) relatou a aplicação de UAE juntamente a DES para extração de ácido tânico em cascas de cebola. Os DES foram formados a partir de cloreto de colina e ureia na razão molar 1:1. A análise foi realizada por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas de tempo de voo (LC-QTOF/MS). O solvente eutético apresentou capacidade de extração superior ao solvente convencional empregado. O DES extraiu $641,16 \pm 0,01 \text{ ug g}^{-1}$ de ácido tânico, enquanto o metanol extraiu $368,99 \pm 0,02 \text{ ug g}^{-1}$.

Popovic e colaboradores (2022) sintetizaram NADES a partir de cloreto de colina, frutose, ácido málico, ureia e com 20% de teor de água (proporção molar 1:1) para extração de polifenóis em bagaço de cereja azeda por HPLC-PDA. Os solventes foram sintetizados por agitação e aquecimento, radiação ultrassônica e radiação micro-ondas. Os pesquisadores conseguiram sintetizar NADES em cerca de 30 segundos utilizando um micro-ondas doméstico. A extração foi realizada pelos três métodos e comparada com um solvente convencional. Os resultados indicaram excelente capacidade de extração dos NADES para antocianinas por radiação micro-ondas com destaque para a mistura ChCl:ácido málico que foi 62,33 % mais eficiente que o solvente convencional.

Moreira e colaboradores (2020) realizaram a extração de As e Cd por NADES em amostras ambientais por ICP-MS. NADES a base de ácido málico, xilitol e água com extração por UAE. A precisão da extração foi avaliada a partir de comparação com outros métodos. As concentrações de Cd em peixe e molusco obtidas foram abaixo do limite de quantificação enquanto de As variaram entre $1,88\text{-}12,0 \text{ ug g}^{-1}$, excedendo os valores máximos recomendados.

Os métodos para determinação de contaminantes vêm sendo estudados juntamente a procedimentos de preparo de amostra, uma vez que essa é uma das etapas mais críticas e que afetam drasticamente o resultado analítico (ARMENTA et al., 2015; GONZALEZ et al., 2009, 2017; MOREIRA et al., 2020). E é possível observar que para aplicações de elementos inorgânicos ainda é pouco explorada na literatura, o que justifica este projeto de pesquisa e amplia tais usos destes solventes em tecido vegetal.

2.4. Métodos de preparo de amostra

A etapa de preparo de amostra é de extrema importância e quase que indispensável na maioria dos métodos analíticos. Nessa etapa, a qualidade dos resultados obtidos é sempre avaliada, sendo que é a principal fonte de erros sistemáticos e aleatórios. Os métodos de preparo de amostra mais utilizados incluem etapas de homogeneização, filtração, centrifugação, limpeza, extração, pré-concentração e ou derivatização (ARMENTA et al., 2015; GONZALEZ et al., 2017).

Métodos convencionais geralmente usam radiação micro-ondas (digestão ácida assistida por radiação micro-ondas – MWAD) para o aquecimento do solvente e da amostra por movimento de íons e de rotação de dipolos (MOLDOVEANU; DAVID, 2015). Além disso, essa técnica é muito utilizada por conta da diminuição significativa no volume de solventes e reagentes, baixos tempos de extração e consumo de energia e ainda, o emprego de frascos fechados resulta na redução ou inexistência de perdas por volatilização e contaminações, aumentando a eficiência de extração.

A radiação micro-ondas pode ser empregada com ácidos oxidantes ou misturas de ácido nítrico com peróxido de hidrogênio, sendo conhecida como digestão ácida assistida por radiação micro-onda (MW-AD). O HNO_3 é muito utilizado por apresentar manipulação simples e possuir elevada capacidade oxidante. A aplicação de ácidos diluídos tem atraído a atenção por conta da menor geração de resíduos, não necessitarem de fatores de diluição severos antes da determinação e apresentam resultados interessantes para extração de uma série de amostras (KRUG, 2001; GONZALEZ et al., 2009; MOREIRA et al., 2020). Gonzalez e colaboradores (2017) realizaram a determinação de impurezas ($^{75}\text{As}^+$, $^{65}\text{Cu}^+$, $^{52}\text{Cr}^+$, $^{58}\text{Ni}^+$, $^{208}\text{Pb}^+$ e $^{51}\text{V}^+$) em medicamentos e matérias-primas por ICP-MS. A extração foi realizada por radiação micro-ondas empregando ácido nítrico diluído (7 e 14 mol L^{-1}) (MW-AD) com posterior determinação por ICP-MS. Os valores de recuperação encontrados estão na faixa de 85,6-132 % com concentrações obtidas na faixa de $\mu\text{g kg}^{-1}$. Pinheiro e colaboradores (2019) aplicaram o método de digestão ácida assistida por radiação micro-ondas (MW-AD) como preparo de amostras de suplemento alimentar com soluções diluídas de ácido nítrico para posterior determinação de As, Cd, Hg e Pb por ICP-MS. Os pesquisadores utilizaram três métodos de calibração para correção de efeitos matriciais e aplicaram o planejamento fatorial do tipo Doehlert para avaliar os resultados de desejabilidade global com relação a acidez residual, carbono orgânico dissolvido e recuperações dos analitos. Foi possível

obter valores de recuperação na faixa de 82 a 125 % e os valores de As, Cd e Pb, em oito amostras das dez avaliadas, apresentaram valores menores que os limites estabelecidos pela legislação.

Para o desenvolvimento de metodologias por extração assistida por micro-ondas (MAE), a potência de radiação, a natureza do solvente e da amostra e a temperatura e pressão aplicadas são fatores que devem ser otimizados durante o procedimento analítico (ARMENTA; GARRIGUES; GUARDIA, 2015).

A extração assistida por ultrassom (UAE) é considerada uma excelente alternativa aos métodos convencionais. A extração é realizada a partir do efeito de cavitação acústica provocado pelas ondas ultrassônicas para romper os tecidos vegetais, quebrar a membrana celular e reduzir as limitações de transferência de massa. A sonicação favorece um contato eficiente entre o sólido e o agente extrator geralmente resulta em uma boa recuperação do analito (ARMENTA et al., 2015; ZENG, et al., 2017; SUKOR et al, 2021). A UAE está de acordo com os princípios da química verde, uma vez que usam baixas quantidades de solventes, menor tempo de extração, menor temperatura, facilitam a solubilidade do sólido e possibilitam maior reprodutibilidade experimental (RUTKOWSKA; NAMIESNIK; KONIECZKA, 2017).

A UAE empregando solventes eutéticos têm sido estudada principalmente na extração de compostos orgânicos em amostras líquidas, mas alguns trabalhos já empregam para amostras sólidas e extração de analitos inorgânicos (CUNHA; FERNANDES, 2018). Wu e colaboradores (2021) empregaram DES como solvente extrator em UAE para determinação de antioxidantes naturais em folhas de *Polygonum aviculare*. Turker e colaboradores (2021) relataram um método UAE para determinação de antocianinas em amostras de cenoura preta, mediante o uso de DESs a base de cloreto de colina e apresentou resultados satisfatórios de extração. Ji e colaboradores (2021) aplicaram solventes eutéticos hidrofóbicos a base de ácido láctico e derivados de colina em micro extração assistida por ultrassom (UAE) para determinação de arsênio e cádmio em amostras de vinho por espectroscopia de absorção atômica com chama (FAAS), e obtiveram limites de detecção satisfatórios e valores de recuperação na faixa de 90,6 – 103,6 %.

DES a base de cloreto de colina foram empregados em MAE para extração de compostos fenólicos em resíduos de cervejaria. Avaliou-se preliminarmente quatro DESs e sua eficiência na extração, sendo que os melhores resultados foram observados para o solvente cloreto de colina:glicerol. A partir do estudo preliminar, os parâmetros

para extração como temperatura, tempo, potência do micro-ondas e relação sólido-líquido foram estudados e otimizados. O solvente apresentou ótima eficiência de extração, melhor que o solvente orgânico metanol (80 % v v⁻¹) que já era utilizado (LÓPEZ-LINHARES, 2020).

Ku Ren e colaboradores (2021) utilizaram DES a base de cloreto de colina como solvente extrator juntamente com MAE para extrair lignina e hemicelulose de madeira, com o intuito de facilitar a inserção de um polímero de imida na estrutura da madeira para melhorar as suas propriedades como supressão de fogo e isolamento térmico. O procedimento foi eficiente e rápido, e a modificação da madeira foi realizada com sucesso e as propriedades do material foram aprimoradas.

Craveiro e colaboradores (2021), sintetizaram dois NADES a partir da combinação de glicose:ureia:prolina na proporção molar de 1:1:1 e prolina:glicose na proporção molar de 5:3. A síntese foi realizada por agitação e aquecimento com posterior caracterização físico-química dos solventes por FTIR-ATR, calorimetria diferencial de varredura e microscopia óptica polarizada com o intuito de comprovar a formação dos NADES. Os solventes foram aplicados como agentes de preservação criogênicos em células a partir de monitoramento por DSC e apresentaram potencial satisfatório devido a baixa toxicidade em relação a outros solventes, alteração de temperatura de cristalização e do tamanho dos cristais.

Como pôde ser observado, existe uma crescente pesquisa de métodos verdes de extração baseados nos princípios da GAC. Esse aumento de publicações tem influenciado mudanças em conceitos e práticas analíticas (ARMENTA et al., 2015), e para aplicações em analitos inorgânicos o campo de pesquisa ainda é incipiente e está em expansão. Por conta disso, o presente trabalho buscou aprimorar a aplicação de NADES, que são solventes que atendem os requisitos da química analítica verde, buscando a eliminação e/ou redução de reagentes tóxicos nas análises juntamente a um alto potencial de atuarem como solventes extratores.

3. OBJETIVO

O objetivo do presente estudo foi a aplicação de solventes eutéticos naturais profundos à base de ácido málico, ácido cítrico, xilitol e água em processos de extração em métodos verdes (MAE e UAE) para determinação de As, Cd, Cr e Pb por espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS) em amostras vegetais e alimentícias.

4. MATERIAIS E MÉTODO

4.1. Vidrarias, reagentes e amostras

As vidrarias, frascos, tubos, ponteiros e outros materiais que foram utilizados na parte experimental deste trabalho foram previamente lavados com Extran®, detergente livre de metais e em seguida, descontaminados em banho ácido contendo HNO₃ 10 % (v v⁻¹) por 24 horas e enxaguados com água deionizada (18,2 MΩ cm) purificada em sistema Milli-Q® (ICW-300, Merck KgaA, Alemanha) e secos a temperatura ambiente. Ácido nítrico foi previamente subdestilado em sistema de subebulição (subCLEAN PTFE, Milestone, 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 otimização dos métodos de preparo de amostras e avaliação da acurácia dos resultados foi avaliada mediante o uso do material de referência (MRC) de capim-forrageira *Brachiaria brizantha* cv. Marandú (EMBRAPA, FO-01/2012) produzido pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa, Brasil).

Soluções padrão individuais contendo 1000 ± 2 mg L⁻¹ para arsênio, cádmio e chumbo e 1001 ± 4 mg L⁻¹ para cromo (Fluka® Analytical traceCERT® CRMs for ICP-MS) em HNO₃ 1 % v v⁻¹ (Sigma Aldrich EUA). Essas soluções foram empregadas no preparo das soluções padrão para a construção das curvas analíticas de calibração. As soluções foram preparadas a partir de diluições simultâneas e a curva linear de trabalho para as soluções de calibração foi de 0,1 a 15 µg L⁻¹.

4.2. Síntese e caracterização dos NADES

Os NADES foram sintetizados empregando água ultrapura, DL- ácido málico, ácido cítrico e xilitol a partir de proporções previamente otimizadas e caracterizadas (SANTANA et al., 2020). A Tabela 2 apresenta as estruturas moleculares e propriedades destes reagentes.

Tabela 2- Propriedades e estrutura molecular dos precursores dos NADES

Reagentes	Pureza	Peso molecular	Densidade	Estrutura molecular
Ácido cítrico	99,5	192,12	1,66	
DL -Ácido málico	99,0	134,09	1,61	
Xilitol	99,0	152,15	1,52	

Fonte: Elaborado pelo autor

Foram sintetizados dois solventes a partir dos precursores apresentados, sendo o NADES 1 formado por ácido cítrico, xilitol e água (AC:Xil) e o NADES 2 formado por ácido málico, ácido cítrico e água (AM:AC). A proporção dos precursores para síntese dos solventes foi determinada em razão massa/massa ($m\ m^{-1}$), sendo 42:13:45 para o NADES 1 (para ácido cítrico, xilitol e água, respectivamente) e 42:13:45 para o NADES 2 (para ácido cítrico, ácido málico e água, respectivamente). Estes valores foram escolhidos a partir do planejamento de misturas descrito por Santana e colaboradores (2020) que avaliou a melhor proporção dos precursores para síntese dos solventes considerando as respostas densidade e viscosidade.

A síntese foi realizada por meio de agitação magnética a 220 rpm e 50°C por 2h conforme o método descrito por DAI e colaboradores (2013) e Santana (2019). Após o líquido límpido e transparente ser formado, colocou-se o solvente em tubos cônicos que foram identificados e armazenados em dessecador à temperatura ambiente.

4.3. Medidas de densidade e viscosidade

Medidas de densidade e viscosidade foram realizadas para todos os NADES sintetizados, as medições foram realizadas em triplicata.

As densidades dos solventes foram determinadas em picnômetro previamente calibrado com água a 25 °C e balança analítica com precisão de $\pm 0,0001$ g (Modelo AG200, Gehaka, Brasil). Os valores foram determinados pelo cálculo de densidade, conforme apresentado na Equação 1, sendo m (em g) é a massa e v (em mL) é o volume de NADES.

$$\text{Densidade } (p) = \frac{m}{v} \quad \text{Equação (1)}$$

As medições de viscosidade dos NADES foram realizadas empregando um viscosímetro Cannon-Fenske calibrado com água, a uma temperatura de 25 °C. Os valores foram determinados por meio da Equação 2, sendo d_1 e t_1 são a densidade e o tempo de fluxo da água, d_2 e t_2 são a densidade e o tempo de fluxo dos NADES e η representa o valor da viscosidade da água a 25 °C.

$$\text{Viscosidade } (\mu) = \frac{d_1.t_1}{d_2.t_2} \cdot \eta \quad \text{Equação (2)}$$

4.4. Otimização dos métodos UAE e MAE por meio de planejamentos do tipo Doehlert

Planejamentos experimentais do tipo Doehlert foram utilizados para avaliar os efeitos das variáveis tempo de extração (min), temperatura (°C) e razão entre massa de amostra por volume de solvente extrator – razão m/v – (mg mL^{-1}) na extração de As, Cd, Cr e Pb em amostras de tecido vegetal (MRC Marandú) em condições MAE e UAE. Três repetições no ponto central foram realizadas para estimar o erro aleatório e avaliar superfícies de respostas. Para realização da MAE foram considerados sete níveis fatoriais para a variável temperatura (80, 90, 100, 110, 120, 130 e 140 °C), cinco níveis fatoriais para a variável tempo (30, 40, 50, 60 e 70 minutos) e três níveis fatoriais para a variável m/V (40:1, 60:1, 80:1 mg mL^{-1}).

Para UAE foram considerados sete níveis fatoriais para a variável tempo (10, 20, 30, 40, 50, 60 e 70 minutos), cinco níveis fatoriais para a variável temperatura (30, 35, 40, 45 e 50 °C) e três níveis fatoriais para a variável m/v (10:1, 30:1, 50:1 mg mL^{-1}). A exatidão do método (% de recuperação) foi considerada com resposta aos planejamentos experimentais. No total foram realizados 15 experimentos para cada

método de preparo de amostras estudado, utilizando dois diferentes NADES, de forma randômica. A Tabela 3 apresenta os valores das variáveis estudadas para UAE.

Tabela 3– Matriz do tipo Doehlert – Fatores e níveis avaliados empregando extração assistida por radiação ultrassônica.

Matriz do tipo Doehlert						
Extração assistida por radiação ultrassônica (UAE)						
Experimento	Fatores codificados			Fatores não codificados		
	Tempo (min)	Temperatura (° C)	Razão m/v (mg mL ⁻¹)	Tempo (min)	Temperatura (° C)	Razão m/v (mg mL ⁻¹)
1	0	0	0	40	40	30:1
2	0	0	0	40	40	30:1
3	0	0	0	40	40	30:1
4	1	0	0	40	50	30:1
5	0,5	0,866	0	70	45	30:1
6	0,5	0,289	0,817	50	45	50:1
7	-1	0	0	40	30	30:1
8	-0,5	-0,866	0	10	35	30:1
9	-0,5	-0,289	-0,817	30	35	10:1
10	0,5	-0,866	0	10	45	30:1
11	0,5	-0,289	-0,817	30	45	10:1
12	-0,5	0,866	0	70	35	30:1
13	0	0,577	-0,817	60	40	10:1
14	-0,5	0,289	0,817	50	35	50:1
15	0	-0,577	0,817	20	40	50:1

Fonte: Elaborado pelo autor

A UAE foi realizada mediante a pesagem das massas de amostras pré-determinadas pelo planejamento Doehlert (sendo escolhidos 50, 150 e 250 mg para as

razões m/V 10:1, 30:1 e 50:1, respectivamente) e adição posterior a tubos cônicos de 15 mL seguida de adição de 5 mL de cada NADES sintetizado individualmente referente ao planejamento estudado. Essa mistura foi submetida ao banho ultrassônico (Eco-Sonics, Modelo Q3.0/40A, Indaiatuba, SP, Brasil) na frequência 40kHz pelo tempo determinado pelo planejamento experimental. As misturas obtidas foram avolumadas para 10 mL com água deionizada e centrifugadas por 10 min a 4000 rpm. O sobrenadante foi separado empregando papel de filtro quantitativo de porosidade de 25 μ m e gramatura de 80 g m⁻². Antes da análise por ICP-MS, os extratos foram diluídos 10 vezes.

Para a realização da MAE adicionou-se em frascos de politetrafluoretileno (PTFE) as massas de amostras pré-determinadas pelo planejamento Doehlert (sendo escolhidos 200, 300 e 400 mg para as razões m/v 40:1, 60:1 e 80:1, respectivamente) e 5 mL de NADES. As misturas foram submetidas à radiação micro-ondas (AntonPaar, modelo Multiwave GO, GmbH, Áustria) empregando o programa de aquecimento: (i) dois minutos até alcançar a temperatura de aquecimento pré-determinada pelo planejamento; (ii) permanência durante o tempo e temperatura pré-determinados pelo planejamento e (iii) resfriamento para 50 °C.

As misturas obtidas foram avolumadas para 10 mL com água deionizada e centrifugadas por 10 min a 4000 rpm. O sobrenadante foi separado empregando papel de filtro quantitativo (J. Prolab, Brasil) de porosidade de 25 μ m e gramatura de 80 g m⁻². Antes da análise por ICP-MS, os extratos obtidos por MAE para o MRC foram diluídos, volumetricamente, 10 vezes. A Tabela 4 apresenta as variáveis e os níveis aplicados para a MAE.

Tabela 4 – Matriz do tipo Doehlert – Fatores e níveis avaliados empregando extração assistida por radiação micro-ondas

Extração assistida por micro-ondas (MAE)						
Experimento	Fatores codificados			Fatores não codificados		
	Tempo (min)	Temperatura (° C)	Razão m/v (mg mL ⁻¹)	Tempo (min)	Temperatura (° C)	Razão m/v (mg mL ⁻¹)
1	0	0	0	40	110	60:1
2	0	0	0	40	110	60:1
3	0	0	0	40	110	60:1
4	1	0	0	60	110	60:1
5	0,5	0,866	0	50	140	60:1
6	0,5	0,289	0,817	50	120	80:1
7	-1	0	0	20	110	60:1
8	-0,5	-0,866	0	30	80	60:1
9	-0,5	-0,289	-0,817	30	100	40:1
10	0,5	-0,866	0	50	80	60:1
11	0,5	-0,289	-0,817	50	100	40:1
12	-0,5	0,866	0	30	140	60:1
13	0	0,577	-0,817	40	130	40:1
14	-0,5	0,289	0,817	30	120	80:1
15	0	-0,577	0,817	40	90	80:1

Fonte: Elaborado pelo autor

4.5. Digestão ácida assistida por radiação micro-ondas (MW-AD)

As digestões ácidas foram realizadas em forno micro-ondas com cavidade de 850 W de potência (AntonPaar, modelo Multiwave GO, GmbH, Áustria) em frascos fechados de PTFE. Aproximadamente 100mg de amostra foi digerida com adição de HNO₃ 7 mol L⁻¹ (Sigma-Aldrich, EUA) e 2 mL de H₂O₂ 30 % v v⁻¹ (Sigma-Aldrich,

EUA), utilizando o seguinte programa de aquecimento: (i) 10 min de aquecimento até 190 °C; (ii) 40 min de permanência a 190 °C e (iii) resfriamento para 50 °C (SANTANA et al., 2020). Após as digestões, os digeridos e os brancos foram avolumados para 25mL antes da análise por ICP-MS. O Método foi realizado em triplicata e os resultados foram expressos com média $\pm$ desvio padrão.

4.6. Determinação elementar por ICP-MS

Para a determinação dos isótopos ^{75}As , ^{111}Cd , ^{52}Cr e ^{208}Pb em modo padrão e KED (para ^{75}As e ^{52}Cr) utilizou-se o equipamento ICP-MS (NexION 300X, PerkinElmer, EUA) com nebulizador Meinhard concêntrico, câmara de nebulização ciclônica e tocha de quartzo com tubo injetor de quartzo (2,0 mm). A nebulização convencional foi usada e a vazão do gás nebulizador e o alinhamento da tocha foram ajustados de acordo com as recomendações do fabricante. O ICP-MS modelo NexION 300X empregado neste trabalho é equipado com uma célula que se utiliza a estratégia de discriminação por energia cinética (KED), utilizada para corrigir interferências espectrais. Os valores escolhidos de vazões de He foram escolhidos com base nos trabalhos relatados acima, e na Tabela 5 estão apresentadas as condições de operação do ICP-MS.

Tabela 5 - Condições Operacionais do ICP-MS para determinação de ^{75}As , ^{111}Cd , ^{52}Cr e ^{208}Pb

Parâmetros instrumentais	
Potência de radiofrequência (W)	1600
Vazão do gás no plasma (L min^{-1})	18
Vazão do gás auxiliar (L min^{-1})	1,2
Vazão do gás de nebulização (mL min^{-1})	0.7
Voltagem de entrada (V)	-3,00
Voltagem de saída (V)	-32,00
CRO ^a (V)	-15,00
QRO ^b (V)	-12,00
Parâmetros do método	
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 ^c (V)	0,25
Vazões do gás da cela de colisão (mL min^{-1})	2,0; 2,2 e 3,0
Intervalo de calibração ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0,1-15
Isótopos analisados	^{75}As , ^{111}Cd , ^{52}Cr e ^{208}Pb

^a CRO (*Cell Rod Offset*): voltagem aplicada ao quadrupolo da cela de colisão.

^b QRO (*Quadrupole Rod Offset*): voltagem aplicada ao quadrupolo analisador de massas.

^c RPq: está relacionado a voltagem aplicada as hastes do quadrupolo.

Fonte: elaborado pelo autor.

4.7. Avaliação dos parâmetros de desempenho

Curvas de calibração externa foram preparadas por diluições consecutivas a partir de soluções estoque de ⁷⁵As, ¹¹¹Cd, ⁵²Cr e ²⁰⁸Pb 1000 ± 2 mg L⁻¹ (Sigma-Aldrich, EUA). A curva de calibração para análise dos extratos foi preparada em meio de NADES 1 % (v v⁻¹), enquanto que a curva para análise dos digeridos foi preparada em meio de HNO₃ 1 % (v v⁻¹), visando garantir a compatibilização de matriz. Os parâmetros de exatidão (% de recuperação) e precisão (RSD) foram avaliados empregando os MRCs apresentados no tópico 4.1. A recuperação (em %) foi calculada conforme apresentado na equação 3, enquanto que o RSD foi calculado baseando-se na equação 4 (INMETRO, 2020).

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

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

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Determinação de viscosidade e densidade

Os valores de densidade e viscosidade medidos para os dois NADES estão apresentados na Tabela 6 abaixo.

Tabela 6 – Valores de densidade e viscosidade para os NADES 1 e 2 a 25 °C

Solvente	Densidade (g mL ⁻¹) ^a	Viscosidade (mPa s) ^a
NADES 1 (AC-XIL)	1,25 ± 0,01	7,54 ± 0,03
NADES 2 (AC-AM)	1,26 ± 0,01	5,20 ± 0,01

Fonte: Elaborado pelo autor.

^aMédia ± desvio padrão (n =3).

Os NADES, assim como os DES, apresentam valores de densidade e viscosidade superiores ao da água em temperatura ambiente por conta da extensa rede de ligações de hidrogênio que afetam diretamente a mobilidade de espécies livres em meio ao solvente eutético. Uma das limitações de aplicações dos solventes eutéticos pode ser a viscosidade e densidade elevadas em alguns casos, por conta da sua estrutura e forças que atuam em meio ao solvente (MARTINS et al., 2018; QIN et al., 2020).

Estudos relatam que a adição de água favorece a diminuição da viscosidade, melhora a seletividade da extração devido a diminuição da resistência interna das moléculas, além de aumentar o rendimento e diminuir custos. No entanto, o excesso de água afeta negativamente o desempenho da extração pois pode quebrar a estrutura molecular dos NADES. Além disso, pode-se optar pela variação dos precursores dos DES e suas razões molares ou pelo aumento da temperatura do sistema (DAI et al., 2015; ESPINO et al., 2016; SAVI et al., 2019; DE ALMEIDA PONTES et al., 2021).

A proporção de água de 45% m m⁻¹ foi escolhida por conta do trabalho realizado por Dai (2015) e Santana (2020) que evidenciaram o enfraquecimento das interações entre as moléculas de HBA e HBD pela competição por ligações de hidrogênio, pela adição de água no sistema NADES acima de 50% (m m⁻¹). À medida em que a água foi adicionada no sistema, as ligações de hidrogênio entre os precursores dos DES foram rompidas, resultando na dissociação dos compostos precursores em água, alterando as propriedades físico-químicas do DES (ESPINO et al., 2016; ZHEKENOV et al., 2017).

As principais variáveis que podem afetar a estabilidade, densidade e viscosidade do solvente são: tamanho das moléculas, estrutura, intensidade das forças intermoleculares dos precursores, temperatura, proporção e porcentagem de água. Uma pequena mudança de proporção de um precursor ou a adição de água pode gerar uma mistura eutética com viscosidade próxima a um solvente orgânico, uma pasta gelatinosa ou até pode ocorrer formação de sólidos (ZHANG et al., 2012; GUO et al., 2013). Dai e colaboradores (2013) observaram que diferentes razões molares dos precursores dos NADES podem afetar a estabilidade do solvente, e descreveu que NADES de glicose-cloreto de colina à razão 2:5 teve um comportamento estável, enquanto que para as proporções 2:1, 1:1 ou 1:4 apresentaram gradual surgimento de precipitado.

Ribeiro e colaboradores (2015) ao sintetizarem DES a base de mentol (HBA) e ácidos láurico, acético, láctico e pirúvico (HBD) constataram que a adição de água pode aumentar ou diminuir a viscosidade dependendo dos precursores envolvidos na mistura. A presença de água aumentou a viscosidade para misturas de mentol com: ácido láurico

e acético; enquanto que para a mistura com ácido láctico e pirúvico a reposta foi oposta, a viscosidade diminuiu.

É preferível que os solventes extratores apresentem menores valores de densidade e viscosidade por conta dos fenômenos de transferência de massa em relação ao soluto alvo. Solventes com alta viscosidade levam a uma menor taxa de transferência de massa e desempenho insatisfatório de extração por conta da menor difusividade e mobilidade das moléculas. Ao trabalhar com amostras de matriz vegetal, a alta viscosidade dificulta a difusão do solvente na matriz e resulta em baixa eficiência de extração (DWAMENA, 2019; FUAD et al., 2021).

Além disso, ao trabalhar com técnicas de plasma, a viscosidade está associada a representatividade da amostra no plasma durante o processo de introdução de amostra. No caso, um líquido mais viscoso implica em maior tensão superficial e redução de eficiência de transporte da amostra para o plasma e na formação das gotículas no nebulizador (KRUG, 2001). Porém, isso pode ser desconsiderado neste projeto pois os NADES não foram inseridos diretamente no ICP-MS, trabalhou-se com diluições próximas a 1 % de NADES (v v⁻¹) e, dessa forma, os precursores estão diluídos em solução (DAI et al., 2015).

O NADES 1 apresentou maior viscosidade em relação ao NADES 2 possivelmente devido a estrutura dos precursores. O ácido cítrico apresenta maior número de grupos carboxílicos para interagir com os grupos hidroxílicos do xilitol. Existem relatos na literatura que evidenciaram aumento de estabilidade do líquido e consequentemente aumento de viscosidade para NADES formados a partir de ácidos orgânicos e açúcares (DAI et al., 2013; SAVI et al., 2019). Ao comparar-se combinações de NADES contendo cloreto de colina como HBA e ácidos orgânicos, percebeu-se que a viscosidade foi maior em NADES à base de ácido, em comparação com NADES à base de álcool (FUAD et al., 2021).

Os NADES preparados neste trabalho apresentaram valores de viscosidade menores ao serem comparados com outros NADES comentados na literatura atual (ver Tabela 7) devido a presença de 45 % (em m m⁻¹) do seu teor em água.

Tabela 7– Comparação entre valores de viscosidade (à 25°C) e teor de água de DES e NADES relatados na literatura

DES/NADES	Viscosidade (mPa s)	Teor de água (em m m ⁻¹)	Referência
AC-Xil ¹	7,54	45	Este trabalho
AC-AM ²	5,20	45	Este trabalho
AC-Xil ¹	10,71	45	SANTANA et al. (2020)
AC-AM ²	7,92	45	SANTANA et al. (2020)
AM-Xil ³	7,63	45	SANTANA et al. (2020)
[Ch]Cl-AC ⁴	84.58**	20	ALMEIDA PONTES (2021)
[Ch]Cl-AA ⁵	6.83**	20	ALMEIDA PONTES (2021)
Fru-[Ch]Cl ⁶	280.8*	7.84	DAI et al. (2013)
Fru-Gli-Sac ⁷	720*	22.0	DAI et al. (2013)
Xil-[Ch]Cl ⁸	86.1*	11.17	DAI et al. (2013)
Ala-AM ⁹	165,71	25	GUIMARÃES et al. (2022)

Fonte: Elaborado pelo autor.

*Viscosidade à 40 °C; **Viscosidade à 50°C; ¹Ácido cítrico-xilitol; ²Ácido cítrico-ácido málico; ³Ácido málico-xilitol; ⁴ChCl-AC: cloreto de colina-ácido cítrico; ⁵ChCl-AA: cloreto de colina-ácido acético; ⁶Fru-ChCl: frutose-cloreto de colina; ⁷Frutose-glicose-sacarose; ⁸Xil-ChCl: xilitol-cloreto de colina; ⁹β-alanina-ácido málico.

Santana e colaboradores (2020) sintetizaram três NADES, sendo misturas de ácido cítrico-xilitol (AC-Xil), ácido málico-xilitol (AM-Xil) e ácido cítrico-ácido málico (AC-AM), todos com 45 % (em m m⁻¹) em água. Os valores de viscosidade obtidos pelos autores foram 10,71 ± 0,07 mPa s para NADES AC-Xil, 7,92 ± 0,03 mPa s para NADES AC-AM e a menor viscosidade para NADES AM-Xil com valor de 7,63 ± 0,02 mPa s. Apesar da composição dos NADES 1 e 2 ser a mesma dos descritos por Santana e colaboradores (2020), observou-se pequena diminuição dos valores de viscosidade possivelmente relacionada a variáveis do processo de síntese relacionadas ao operador, como pesagem dos precursores e realização das medições. Por conta disso, o presente trabalho buscou aprimorar a aplicação de NADES devido ao seu alto potencial de atuarem como solventes extratores, mesmo com estas pequenas variações dos valores de viscosidade e densidade.

É válido pontuar que não apenas a água, mas a presença de grupos carboxílicos e hidroxílicos nas estruturas dos precursores influenciam também nas propriedades físico-químicas devido a sua capacidade de formar ligações de hidrogênio (DAI et al, 2013; RIBEIRO et al., 2015; SAVI et al., 2019; SANTANA et al., 2019).

O interesse pelos NADES como solventes de extração vem crescendo como uma das aplicações mais promissoras, pois espera-se que os NADES forneçam um melhor rendimento de extração, e diminua ou substitua o uso de solventes orgânicos, causam impacto ambiental e resíduos de maior toxicidade quando comparado aos solventes sustentáveis (DOLDLOVA et al. 2021; FUAD et al., 2021). E pelo fato de serem considerados solventes moduláveis, se faz necessário estudar os parâmetros que influenciam suas propriedades, com ênfase na viscosidade e na densidade. A grande parte dos DES exibiram viscosidades relativamente altas à temperatura ambiente ($> 100 \text{ mPa s}$) (ZHANG et al., 2012; DAI et al., 2015; ESPINO et al., 2016).

5.2. Otimização e aplicação de métodos verdes de preparo de amostras empregando NADES

As etapas de preparo de amostras são essenciais na determinação de elementos inorgânicos para amostras ambientais, porém consomem alto volume de reagentes e energia. Dessa forma, com o intuito de minimizar a produção de resíduos tóxicos e diminuir o consumo de reagentes tóxicos, a aplicação dos NADES como solventes extratores é vista como um grande potencial para o desenvolvimento de novos métodos analíticos por conta de suas propriedades moduláveis, capacidade de solvatação e características ambientalmente amigáveis (ESPINO et al., 2016; MOREIRA et al., 2020).

A principal propriedade dos NADES como solventes de extração está relacionada à capacidade deles em formar ligações de hidrogênio com o analito de interesse, pois atuam como ácidos de Lewis na presença de grupos doadores de elétrons e, dessa forma, realizam a extração do analito da amostra para a solução de NADES (SANTANA et al., 2019a). Serão apresentados abaixo resultados obtidos com a aplicação de NADES à base de ácido cítrico, ácido málico, xilitol e água como solventes na extração assistida por micro-ondas (MAE) e extração assistida por ultrassom (UAE) de As, Cd, Cr e Pb determinados por ICP-MS em amostra de capim forrageira cv. Marandú.

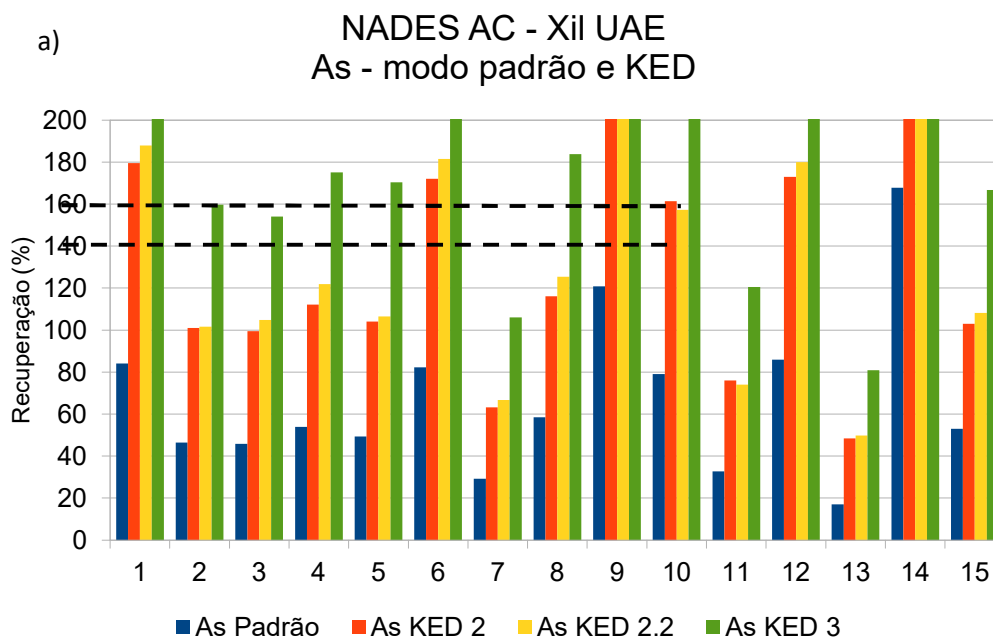
Um planejamento fatorial do tipo Doehlert visou otimizar as melhores condições experimentais para um dado problema. Os planejamentos de experimentos são muito importantes pois possibilitam: a avaliação de interações sinérgicas ou antagônicas entre as variáveis estudadas, conhecimento da quantidade de experimentos que deverão ser realizados e além disso possibilitam a menor geração de resíduos químicos para alcançar um determinado objetivo. Dessa forma foi possível afirmar que existe relação

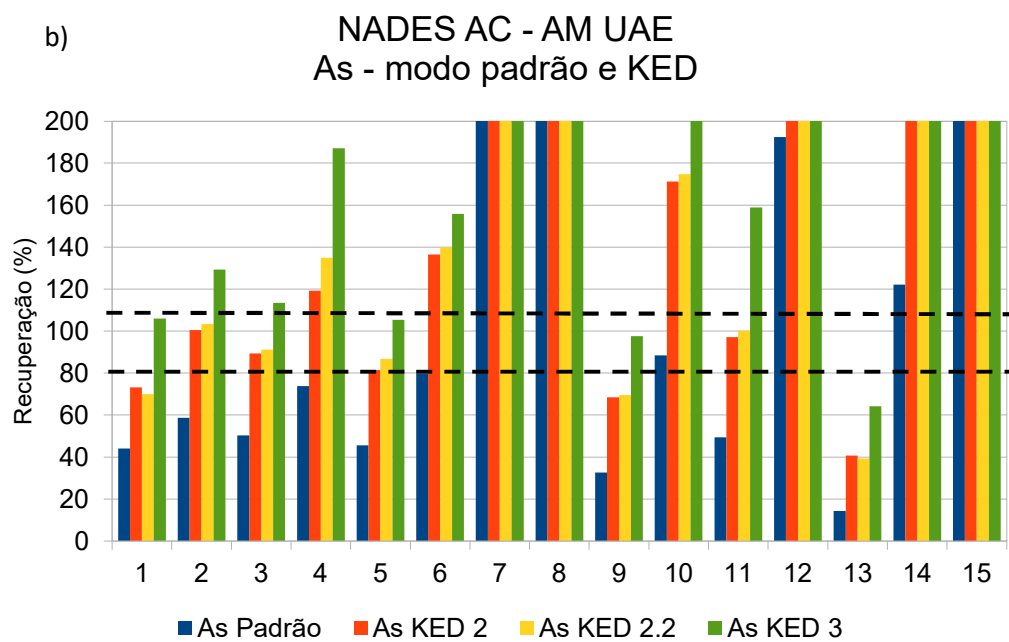
entre o uso de planejamentos experimentais com os princípios da química verde, pois ao considerar menos experimentos realizados implica-se num menor consumo de reagentes, tempo de análise além da redução de custos (GALUSKA et al., 2013; PEREIRA FILHO, 2018). O critério escolhido para otimização das condições experimentais foi a exatidão entre 80% e 110% conforme é estabelecido pelo INMETRO para concentrações em mg kg⁻¹, estando delimitado pela faixa tracejada nas figuras (INMETRO, 2020).

5.2.1. Extração assistida por Ultrassom (UAE)

Na figura 4 são apresentadas as recuperações de As obtidas após a execução dos planejamentos Doehlert (ver tabela 3), e nas tabelas 8 e 9 estão apresentadas a concentração certificada de As para o MRC Marandú e os resultados obtidos para extração de As empregando o método UAE para o NADES 1 e 2. O isótopo de ⁷⁵As foi analisado no modo padrão e utilizando o modo discriminação por energia cinética (KED) com três vazões diferentes de Hélio (2,0; 2,2; e 3,0 mL min⁻¹ de He).

Figura 4– Valores de recuperação (%) para As obtidos no método UAE para amostra de MRC Marandú utilizando solvente extrator: a) NADES 1 (AC-Xil); b) NADES 2 (AC-AM)





Fonte: Elaborado pelo autor

^aAs KED 2 – vazão de He = 2,0 mL min⁻¹.

^bAs KED 2.2 – vazão de He = 2,2 mL min⁻¹.

^cAs KED 3 – vazão de He = 3,0 mL min⁻¹.

Tabela 8 - Concentrações e recuperações (%) de As no material certificado Marandú no modo padrão do ICP-MS e modo KED com diferentes vazões de He para otimização do método de preparo de amostra UAE utilizando NADES 1 (AC-Xil)

MRC MARANDÚ - ⁷⁵ As									
NADES AC-XIL									
UAE									
Valor certificado (mg kg ⁻¹)	Experimento	As – Padrão		^a As KED 2		^b As KED 2.2		^c As KED 3	
		Valor obtido (mg kg ⁻¹)	R (%)	Valor obtido (mg kg ⁻¹)	R (%)	Valor obtido (mg kg ⁻¹)	R (%)	Valor obtido (mg kg ⁻¹)	R (%)
1,69 ± 0,70	1	1,4	84,0	3,0	179,5	3,2	187,9	4,4	258,1
	2	0,8	46,4	1,7	101,1	1,7	101,6	2,7	159,7
	3	0,8	45,9	1,7	99,5	1,8	104,7	2,6	154,0
	4	0,9	53,9	1,9	112,1	2,1	121,9	3,0	175,2
	5	0,8	49,3	1,8	104,0	1,8	106,5	2,9	170,4
	6	1,4	82,3	2,9	172,1	3,1	181,5	4,1	244,8
	7	0,5	29,2	1,1	63,2	1,1	66,7	1,8	106,0
	8	1,0	58,4	2,0	116,1	2,1	125,4	3,1	183,8
	9	2,0	120,8	3,8	221,7	4,0	233,9	4,9	291,2
	10	1,3	79,1	2,7	161,3	2,7	157,2	3,8	223,1
	11	0,6	32,8	1,3	76,0	1,3	74,0	2,0	120,6
	12	1,5	85,9	2,9	173,0	3,0	179,9	4,5	263,2
	13	0,3	16,9	0,8	48,4	0,8	49,7	1,4	80,9
	14	2,8	167,8	5,6	329,5	5,9	349,1	8,8	518,5
	15	0,9	53,0	1,7	102,9	1,8	108,1	2,8	166,7

Fonte: Elaborado pelo autor

^aAs KED 2 – vazão de He = 2,0 mL min⁻¹.

^bAs KED 2.2 – vazão de He = 2,2 mL min⁻¹.

^cAs KED 3 – vazão de He = 3,0 mL min⁻¹.

Tabela 9 - Concentrações e recuperações (%) de As no material certificado Marandú no modo padrão do ICP-MS e modo KED com diferentes vazões de He para otimização do método de preparo de amostra UAE utilizando NADES 2 (AC-AM)

MRC MARANDÚ - ⁷⁵ As									
NADES AC-AM									
UAE									
Valor certificado (mg kg ⁻¹)	Experimento	As – Padrão		^a As KED 2		^b As KED 2.2		^c As KED 3	
		Valor obtido (mg kg ⁻¹)	R (%)	Valor obtido (mg kg ⁻¹)	R (%)	Valor obtido (mg kg ⁻¹)	R (%)	Valor obtido (mg kg ⁻¹)	R (%)
1,69 ± 0,70	1	0,7	44,0	1,2	73,2	1,2	70,0	1,8	106,0
	2	1,0	58,7	1,7	100,4	1,7	103,3	2,2	129,3
	3	0,9	50,3	1,5	89,3	1,5	91,2	1,9	113,4
	4	1,2	73,8	2,0	119,2	2,3	135,0	3,2	187,1
	5	0,8	45,5	1,4	81,4	1,5	86,8	1,8	105,4
	6	1,3	79,8	2,3	136,4	2,4	139,8	2,6	155,8
	7	11,0	652,8	17,9	1.060,8	18,7	1.106,7	23,3	1.380,1
	8	7,0	411,5	11,4	677,2	12,3	730,0	16,6	980,2
	9	0,6	32,7	1,2	68,5	1,2	69,5	1,6	97,5
	10	1,5	88,5	2,9	171,3	3,0	174,8	4,6	271,4
	11	0,8	49,4	1,6	97,1	1,7	100,2	2,7	158,8
	12	3,3	192,4	6,3	374,4	6,4	378,5	8,7	513,3
	13	0,2	14,3	0,7	40,7	0,7	39,4	1,1	64,2
	14	2,1	122,1	4,0	238,4	4,2	247,7	6,1	361,1
	15	3,5	209,9	6,8	399,9	7,2	424,3	9,4	554,6

Fonte: Elaborado pelo autor

^aAs KED 2 – vazão de He = 2,0 mL min⁻¹.

^bAs KED 2.2 – vazão de He = 2,2 mL min⁻¹.

^cAs KED 3 – vazão de He = 3,0 mL min⁻¹.

Tanto o NADES 1 como o NADES 2 não apresentaram recuperações satisfatórias para ^{75}As em amostra vegetal ao empregar-se o modo padrão do equipamento no intervalo estudado, porém, foi possível observar que os valores de recuperação para As aumentaram ao utilizar-se a cela de colisão nas diferentes vazões empregadas, podendo-se destacar as recuperações obtidas nos experimentos 2, 3, 5 e 15 para o NADES 1 e experimentos 2, 3, 5 e 11 para NADES 2. Moreira e colaboradores (2020) realizaram a extração de As e Cd por NADES a base de ácido málico, xilitol e água com extração por UAE em amostras ambientais por ICP-MS. Além dos valores de recuperação obtidos na faixa de 85-120 %, os autores relataram que o uso do KED aumentou a sensibilidade para determinação de As, e que após introduzir uma fonte de carbono no plasma (NADES, por exemplo), a ionização de elementos com alto potencial de ionização (entre 9 e 11 eV) aumentaram por conta das reações de transferência de carga entre espécies de carbono. Os resultados apresentaram menores LOD e LOQ para As no modo KED (0,0127 e 0,0422 $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente) quando comparado com o modo padrão (0,0315 e 0,105 $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente).

Também foram observados valores de recuperação muito elevados (experimentos 7 e 8), que estão relacionados a formação, principalmente, de interferentes isobáricos formados no plasma.

Oliveira e colaboradores (2017) avaliaram a concentração de As em tilápias por ICP-MS utilizando cela de discriminação por energia cinética (KED). A partir do estudo de cinco vazões de He foi possível observar baixos LOD e LOQ, que foram similares aos valores obtidos no modo padrão de operação, sendo que o volume de He recomendado foi 2,0 mL min^{-1} , e de acordo com os resultados do presente trabalho, o mesmo volume de He proporcionou maiores recuperações para o analito As.

Os resultados obtidos para recuperação de Cr após a execução dos planejamentos Doehlert (tabela 3) estão representados nas tabelas 10 (NADES 1) e 11 (NADES 2) juntamente a concentração certificada de Cr para o MRC Marandú empregando o método UAE. O isótopo de ^{52}Cr foi analisado no modo padrão e utilizando o módulo de célula de colisão (KED) com três vazões diferentes de Hélio (2,0; 2,2; e 3,0 mL min^{-1} de He) para eliminar possíveis interferentes. Isso se faz necessário pelo fato de o principal interferente do ^{52}Cr ser resultado da interação do C com Ar ($^{40}\text{Ar } ^{12}\text{C}^+$). E como a curva de calibração foi preparada em NADES 1 %, os valores obtidos para o modo padrão não foram satisfatórios. Esse efeito foi observado por VERA e colaboradores (2021) para amostras ambientais na determinação de ^{52}Cr .

Tabela 10 - Concentrações e recuperações (%) de Cr no material certificado Marandú no modo padrão do ICP-MS e modo KED com diferentes vazões de He para otimização do método de preparo de amostra UAE utilizando NADES 1 (AC-Xil)

MRC MARANDÚ - ⁵² Cr							
		NADES AC-Xil					
		UAE					
Valor certificado (mg kg ⁻¹)	Experimento	^a Cr KED 2		^b Cr KED 2.2		^c Cr KED 3	
		Valor obtido (mg kg ⁻¹)	R (%)	Valor obtido (mg kg ⁻¹)	R (%)	Valor obtido (mg kg ⁻¹)	R (%)
3,30 ± 1,66	1	1,8	55,0	1,4	41,3	0,8	25,0
	2	1,7	51,4	1,2	36,4	0,1	3,1
	3	1,7	50,6	1,2	37,3	0,1	3,5
	4	2,0	61,9	1,5	45,4	0,1	4,3
	5	1,6	48,6	1,2	35,8	0,1	3,3
	6	2,1	63,8	1,5	46,8	0,2	4,9
	7	0,9	28,4	0,7	20,6	0,1	1,7
	8	1,7	50,5	1,2	37,1	0,1	3,0
	9	1,5	45,5	1,0	31,6	0,1	2,1
	10	2,5	76,8	1,8	54,6	0,1	4,5
	11	1,7	52,4	1,2	36,5	0,1	2,7
	12	2,6	79,8	1,9	56,7	0,2	5,2
	13	1,7	52,1	1,2	37,6	0,1	3,0
	14	2,7	81,4	2,0	59,3	0,2	5,5
	15	1,2	36,8	0,9	27,8	0,1	2,8

Fonte: Elaborado pelo autor

^aCr KED 2 – vazão de He = 2,0 mL min⁻¹.

^bCr KED 2.2 – vazão de He = 2,2 mL min⁻¹.

^cCr KED 3 – vazão de He = 3,0 mL min⁻¹.

Tabela 11 - Concentrações e recuperações (%) de Cr no material certificado Marandú no modo padrão do ICP-MS e modo KED com diferentes vazões de He para otimização do método de preparo de amostra UAE utilizando NADES 2 (AC-AM)

MRC MARANDÚ - ^{52}Cr							
NADES AC-AM							
UAE							
Valor certificado (mg kg ⁻¹)	Experimento	$^a\text{Cr KED 2}$		$^b\text{Cr KED 2.2}$		$^c\text{Cr KED 3}$	
		Valor obtido (mg kg ⁻¹)	R (%)	Valor obtido (mg kg ⁻¹)	R (%)	Valor obtido (mg kg ⁻¹)	R (%)
3,30 ± 1,66	1	1,2	35,5	0,9	28,2	0,8	22,7
	2	1,3	40,5	1,1	32,1	0,1	3,4
	3	1,4	42,4	1,2	35,9	0,1	3,6
	4	1,8	55,2	1,6	47,4	0,2	6,3
	5	1,5	44,3	1,2	35,7	0,1	4,1
	6	1,6	47,8	1,3	39,6	0,2	4,7
	7	1,1	33,7	0,8	25,6	0,1	2,6
	8	1,5	45,4	1,2	36,7	0,1	3,8
	9	1,5	44,3	1,1	33,5	0,1	3,2
	10	2,5	74,7	1,9	58,6	0,2	6,2
	11	1,7	51,0	1,3	39,5	0,1	4,3
	12	2,7	81,2	2,1	63,2	0,2	6,7
	13	1,7	51,5	1,3	39,9	0,1	3,9
	14	2,7	81,8	2,2	66,1	0,2	7,5
	15	1,4	43,1	1,1	34,3	0,1	4,0

Fonte: Elaborado pelo autor

$^a\text{Cr KED 2}$ – vazão de He = 2,0 mL min⁻¹.

$^b\text{Cr KED 2.2}$ – vazão de He = 2,2 mL min⁻¹.

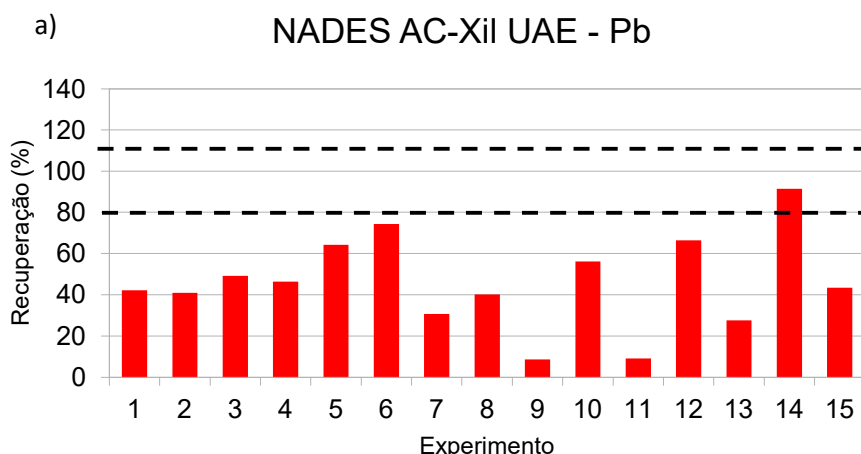
$^c\text{Cr KED 3}$ – vazão de He = 3,0 mL min⁻¹.

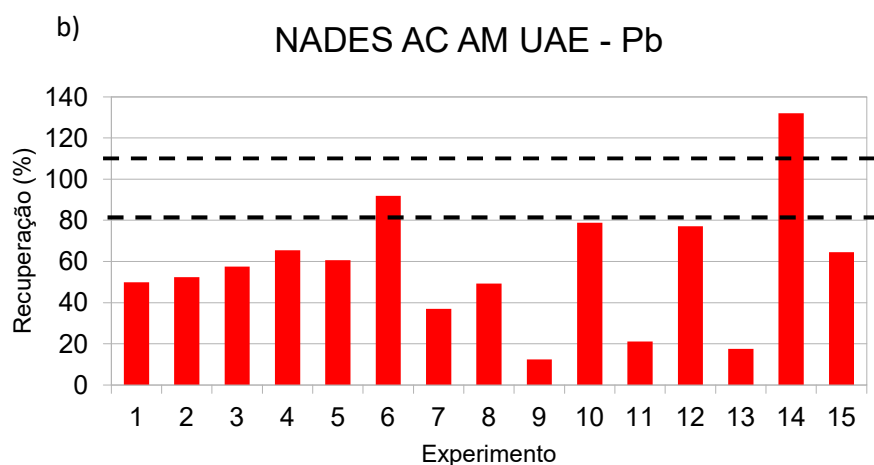
Conforme os valores de recuperação observados nas tabelas 10 e 11 foi perceptível que o aumento da vazão do gás He (Cr KED 3) diminuiu as recuperações para o analito. O KED pode diminuir o problema dos interferentes porém vazões maiores do gás implica em maiores quantidades de átomos de He que podem colidir com o analito de interesse e impedi-los de chegarem ao detector, diminuindo a recuperação (TYLER, 1994).

Apesar da maior parte dos resultados não estarem no intervalo desejado os solventes NADES 1 e 2 apresentaram recuperações aceitáveis para os experimentos 12 e 14 para Cr KED 2 empregando o NADES 1 (79,8 % e 81,4 %, respectivamente) e NADES 2 (81,2 % e 81,8 %, respectivamente). Além disso é válido pontuar que o analito Cr é difícil de ser determinado por conta dos interferentes e demais interações do analito com o meio (VERA et al., 2021)

As tabelas 12 e 13 trazem os valores de recuperação obtidos para Cd e Pb empregando o método UAE para o NADES 1 e 2, respectivamente. Os valores de recuperação obtidos ficaram fora da faixa desejada no intervalo estudado, porém alguns experimentos, como 14 para ^{208}Pb empregando NADES 1 (91,4 %) e o experimento 6 para o NADES 2 (91,9 %) (Figura 5) e o experimento 14 para ^{111}Cd para o NADES 1 (77,4 %) e NADES 2 (98,5 %) (Figura 6) foram aceitáveis.

Figura 5 – Valores de recuperação (%) para Pb obtidos no método UAE para amostra de MRC Marandú utilizando solvente extrator: a) NADES 1 (AC-Xil); b) NADES 2 (AC-AM).





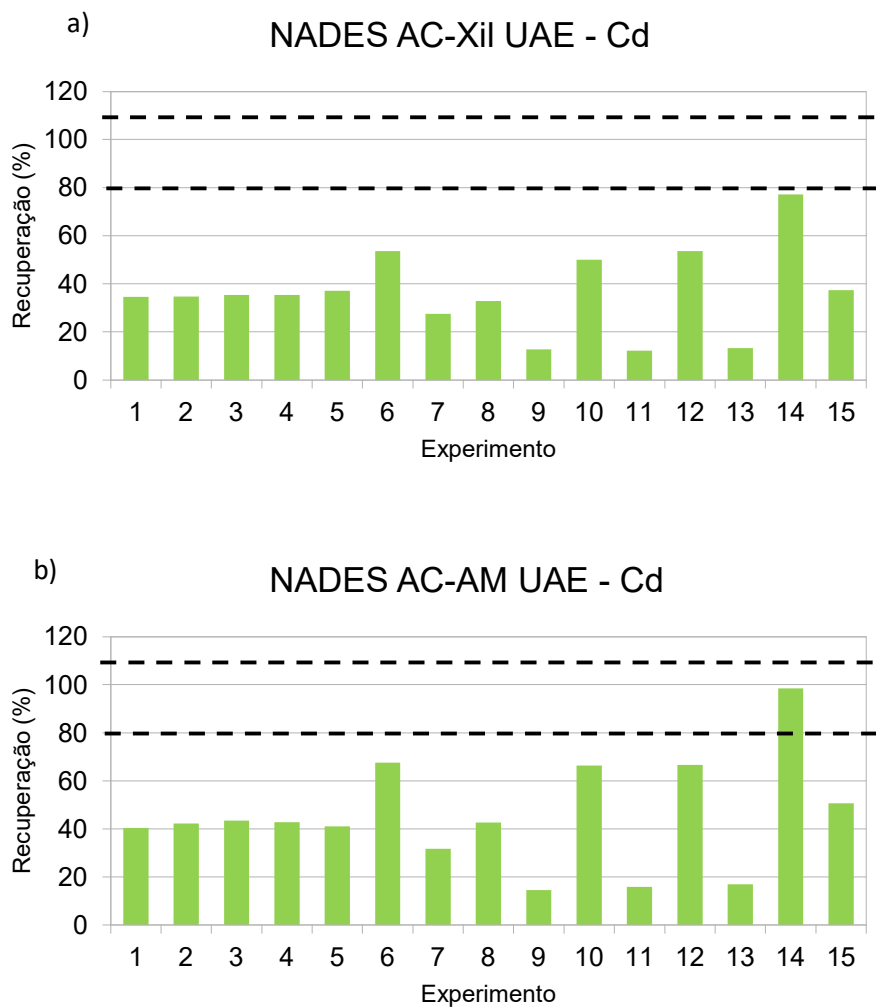
Fonte: Elaborado pelo autor

Tabela 12 - Concentrações e recuperações (%) de Pb no material certificado Marandú para otimização do método de preparo de amostra UAE utilizando NADES 1 (AC-Xil) e NADES 2 (AC-AM)

MRC MARANDÚ – ^{208}Pb					
		UAE			
Valor certificado (mg kg ⁻¹)	Experimento	NADES 1		NADES 2	
		Valor obtido (mg kg ⁻¹)	R (%)	Valor obtido (mg kg ⁻¹)	R (%)
4,0 ± 1,8	1	1,7	42,1	2,0	49,9
	2	1,6	41,0	2,1	52,4
	3	2,0	49,1	2,3	57,6
	4	1,9	46,3	2,6	65,4
	5	2,6	64,2	2,4	60,7
	6	3,0	74,4	3,7	91,9
	7	1,2	30,7	1,5	37,0
	8	1,6	40,2	2,0	49,3
	9	0,3	8,6	0,5	12,4
	10	2,2	56,1	3,2	78,8
	11	0,4	9,1	0,8	21,2
	12	2,7	66,3	3,1	77,1
	13	1,1	27,5	0,7	17,5
	14	3,7	91,4	5,3	132,0
	15	1,7	43,3	2,6	64,5

Fonte: Elaborado pelo autor

Figura 6 – Valores de recuperação (%) para Cd obtidos no método UAE para amostra de MRC Marandú utilizando solvente extrator: a) NADES 1 (AC-Xil); b) NADES 2 (AC-AM).



Fonte: elaborado pelo autor.

Tabela 13 - Concentrações e recuperações (%) de Cd no material certificado Marandú para otimização do método de preparo de amostra UAE utilizando NADES 1 (AC-Xil) e NADES 2 (AC-AM)

MRC MARANDÚ – ¹¹¹ Cd					
		UAE			
Valor certificado (mg kg ⁻¹)	Experimento	NADES 1		NADES 2	
		Valor obtido (mg kg ⁻¹)	R (%)	Valor obtido (mg kg ⁻¹)	R (%)
19,9 ± 5,1	1	6,9	34,6	8,0	40,4
	2	6,9	34,7	8,4	42,2
	3	7,0	35,4	8,6	43,4
	4	7,0	35,3	8,5	42,8
	5	7,4	37,1	8,2	41,0
	6	10,6	53,5	13,5	67,6
	7	5,5	27,5	6,3	31,7
	8	6,5	32,8	8,5	42,6
	9	2,5	12,6	2,9	14,5
	10	9,9	50,0	13,2	66,4
	11	2,4	12,2	3,2	15,9
	12	10,7	53,6	13,2	66,6
	13	2,6	13,2	3,4	16,9
	14	15,4	77,2	19,6	98,5
	15	7,4	37,3	10,1	50,6

Fonte: Elaborado pelo autor

Fuad e colaboradores (2021) relataram que a capacidade de extração do NADES pode variar dependendo da natureza dos compostos alvo e por vezes é difícil determinar qual combinação de precursores e proporções seria mais efetiva para um dado elemento ou composto. Mesmo que as recuperações não estivessem dentro da faixa adequada, a extração de Cd foi bem sucedida no trabalho realizado por Costa e colaboradores (2022), que aplicaram NADES a base de cloreto de colina e obtiveram êxito na extração de Cd por MAE em folhas de tomate, obtendo recuperações na faixa de 102%.

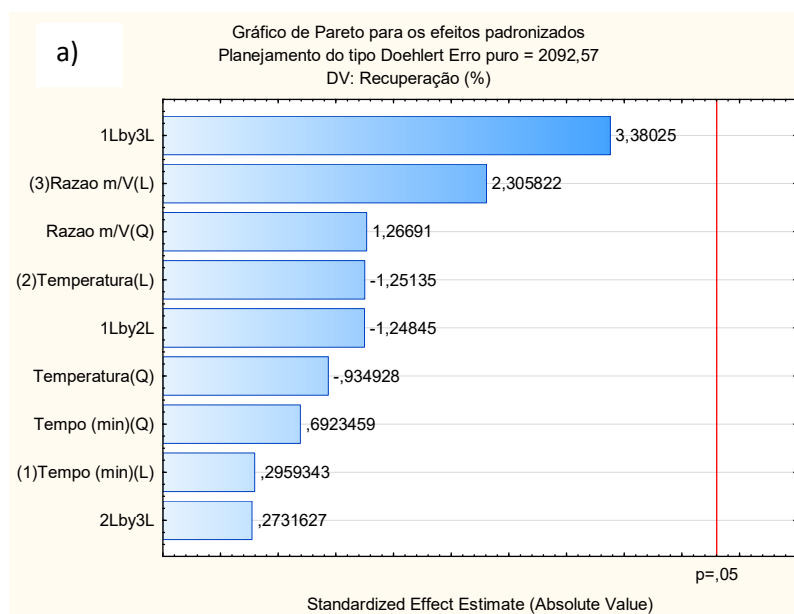
Além disso, os NADES são considerados solventes altamente seletivos e é possível que alguns não apresentem capacidade para extração de determinados analitos inorgânicos ou orgânicos (GONZALEZ, CHOI & VERPOORTE, 2020).

Outros fatores como efeitos matriciais, propriedades do analito de interesse, proporção dos precursores e temperatura afetam a extração de alguns analitos (SANTANA et al., 2019a; SANTANA et al., 2020). Dessa forma, com a finalidade da otimização de um único método UAE para extração elementar, continuamos os estudos de avaliações estatísticas apenas para extração de As empregando NADES 1 (AC-Xil) e

NADES 2 (AC-AM) juntamente a determinação empregando a cela de colisão com vazão de 2 mL min⁻¹ de He (As KED 2).

A significância das variáveis estudadas foi avaliada aplicando-se a análise de variância unilateral (ANOVA) em intervalo de confiança de 95%, sendo o modelo linear-quadrático foi adequado. Obteve-se valores de r^2 entre 64% empregando NADES 1 e 88% empregando NADES 2 para As KED 2 indicando que no máximo 36% das respostas em relação as variáveis não foram explicadas pelo modelo aplicado. Na Figura 7 estão os Gráficos de Pareto, utilizados para avaliação da significância das variáveis estudadas. Para o NADES 1, nenhuma variável se mostrou significativa, enquanto que para o NADES 2 todas as variáveis se mostraram significativas, inclusive a falta de ajuste do modelo, parâmetro que avalia a capacidade do modelo em descrever o comportamento das respostas.

Figura 7 - Gráficos de Pareto para os efeitos padronizados para recuperação de As KED 2 (%) obtidos para UAE empregando: a) NADES 1 e b) NADES 2





A partir dos gráficos de Pareto foi possível observar que o NADES 2 apresentou erro puro bem menor (187,62) em relação ao NADES 1 (2092,57), além de r^2 de 88%. Isso indicou que o modelo se ajustou melhor para as respostas obtidas para o NADES 2 na extração de As.

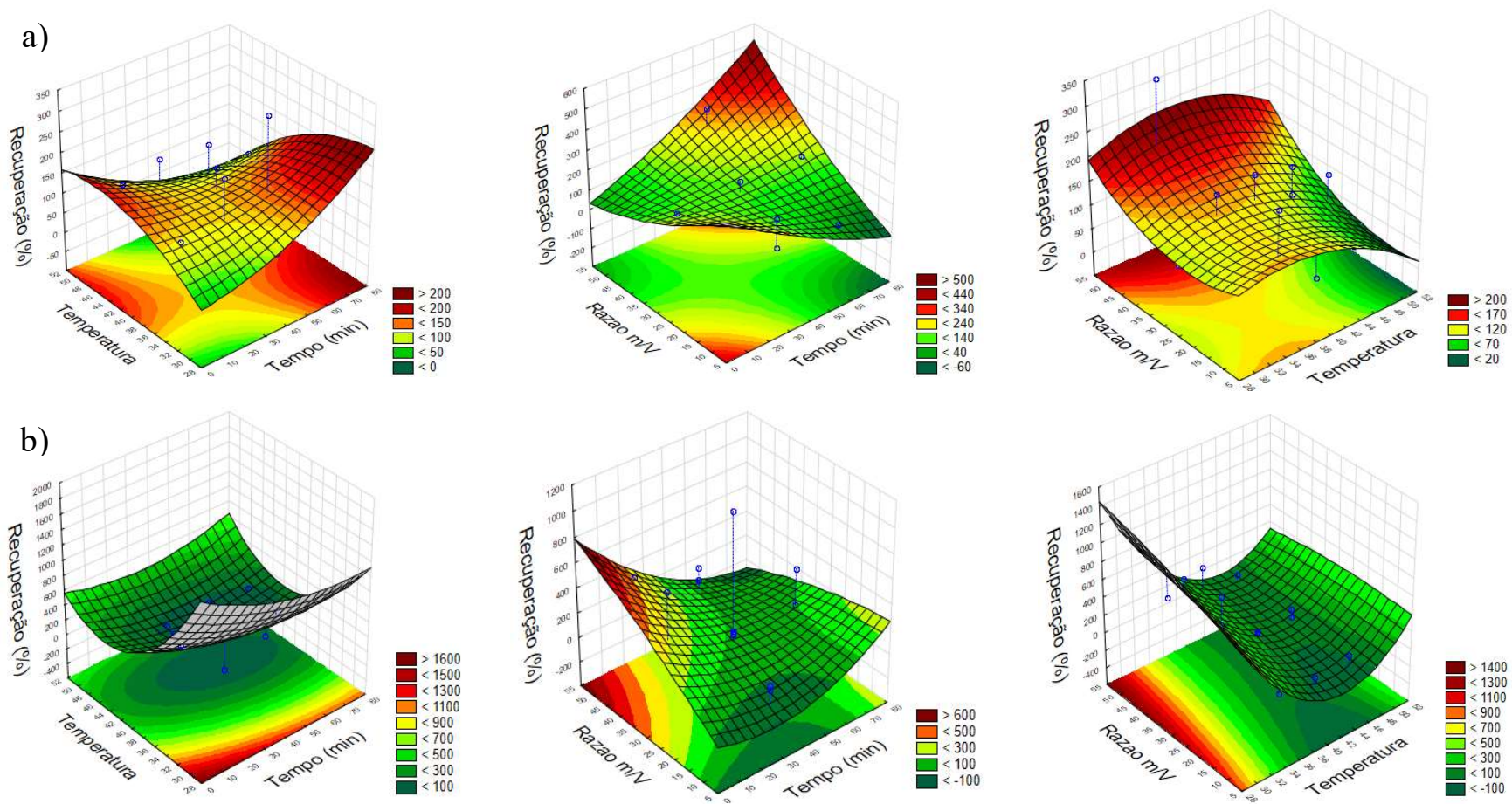
Gerou-se superfícies de resposta com o intuito de ilustrar graficamente as interações entre as variáveis estudadas e as respostas obtidas para As KED 2 (Figura 8 para NADES 1 e 2, respectivamente) além de identificar as condições experimentais ideais para uso dos NADES no preparo de amostra por UAE. As superfícies exibem as regiões nas quais os valores das respostas são minimizados (coloração verde). ou maximizados (coloração vermelha). Com base na observação das superfícies de resposta e nos valores de recuperação, decidiu-se aplicar a condição do experimento 2 (40min, 40 °C e razão m/v 30:1), que apresentou recuperação satisfatória de As para ambos os solventes (ver tabela 14).

Tabela 14 - Condições ótimas pré-determinadas para UAE empregando NADES 1 e 2 para extração de As (vazão 2,0 mL min⁻¹ de He para KED).

UAE NADES 1 e 2	
Temperatura	40 °C
Tempo	40 min
Razão m/V	30:1

Fonte: Elaborado pelo autor

Figura 8 - Superfícies de respostas para recuperação (%) de As KED 2 em função do tempo, temperatura e razão m/V para UAE utilizando:
a) NADES 1 (AC-XIL) e b) NADES 2 (AC-AM).

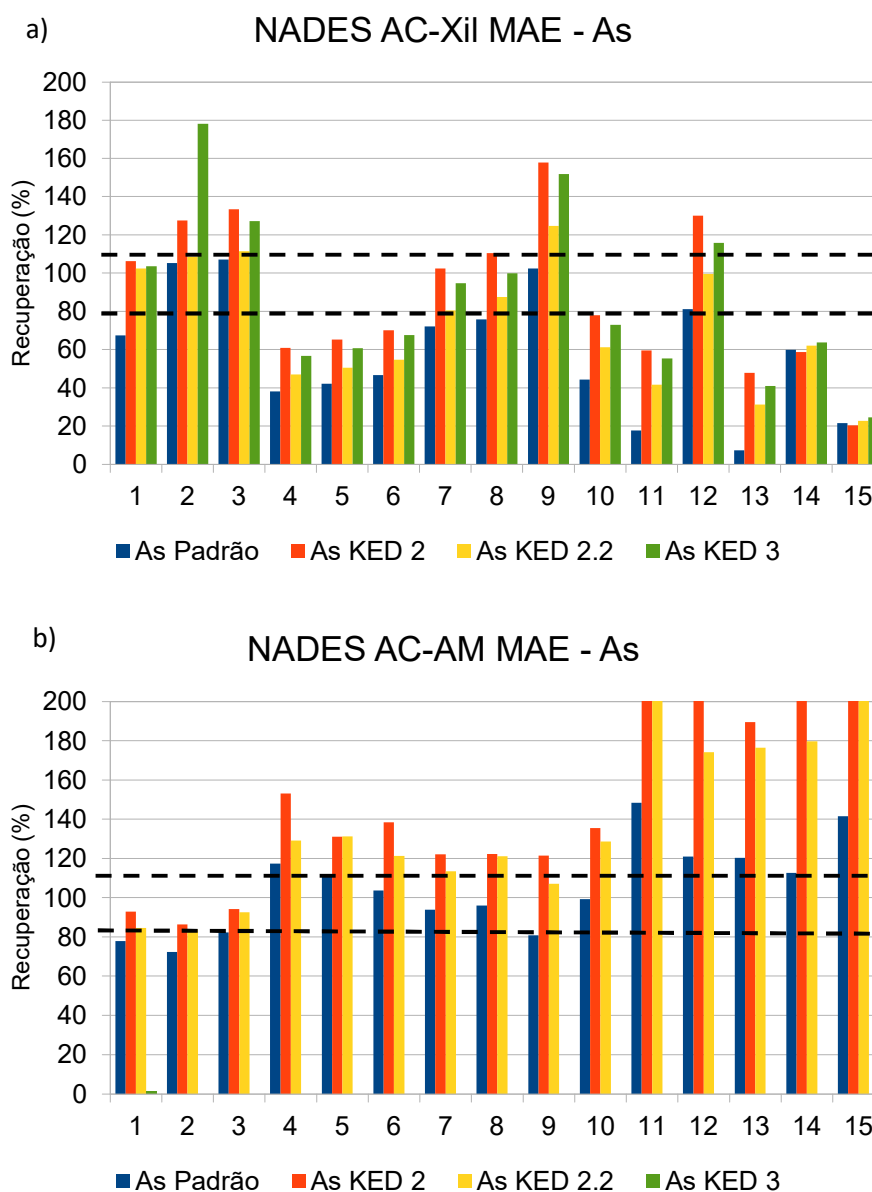


Fonte: Elaborado pelo autor.

5.2.2 Extração assistida por radiação micro-ondas (MAE)

Na figura 9 são apresentadas as recuperações de As obtidas após a execução dos planejamentos Doehlert (ver tabela 3), e nas tabelas 15 e 16 está apresentada a concentração certificada de As para o MRC Marandú e os resultados obtidos para extração de As empregando o método MAE para os solventes NADES 1 e 2. O isótopo de ^{75}As foi analisado no modo padrão e utilizando o módulo de célula de colisão (KED) com três vazões diferentes de Hélio (2,0; 2,2; e 3,0 mL min⁻¹ de He).

Figura 9 - Valores de recuperação (%) para As obtidos no método MAE para amostra de MRC Marandú utilizando solvente extrator: a) NADES 1 (AC-Xil); b) NADES 2 (AC-AM)



Fonte: Elaborado pelo autor

^aAs KED 2 – vazão de He = 2,0 mL min⁻¹.

^bAs KED 2.2 – vazão de He = 2,2 mL min⁻¹.

^cAs KED 3 – vazão de He = 3,0 mL min⁻¹

Tabela 15 - Concentrações e recuperações (%) de As no material certificado Marandú no modo padrão do ICP-MS e modo KED com diferentes vazões de He para otimização do método de preparo de amostra MAE utilizando NADES 1 (AC-Xil)

MRC MARANDÚ - ⁷⁵ As									
		NADES AC-Xil							
		MAE							
Valor certificado (mg kg ⁻¹)	Experimento	As – Padrão		^a As KED 2		^b As KED 2.2		^c As KED 3	
		Valor obtido (mg kg ⁻¹)	R (%)	Valor obtido (mg kg ⁻¹)	R (%)	Valor obtido (mg kg ⁻¹)	R (%)	Valor obtido (mg kg ⁻¹)	R (%)
1,69 ± 0,70	1	1,1	67,4	1,8	106,2	1,7	102,4	1,8	103,6
	2	1,8	105,3	2,2	127,5	1,8	108,7	3,0	178,1
	3	1,8	107,1	2,3	133,4	1,9	111,5	2,2	127,2
	4	0,6	38,2	1,0	60,8	0,8	46,9	1,0	56,8
	5	0,7	42,1	1,1	65,2	0,9	50,4	1,0	60,7
	6	0,8	46,6	1,2	70,0	0,9	54,6	1,1	67,6
	7	1,2	72,0	1,7	102,3	1,4	80,4	1,6	94,7
	8	1,3	75,8	1,9	110,5	1,5	87,6	1,7	99,9
	9	1,7	102,4	2,7	157,8	2,1	124,7	2,6	151,8
	10	0,8	44,3	1,3	77,9	1,0	61,3	1,2	72,9
	11	0,3	17,6	1,0	59,5	0,7	41,6	0,9	55,4
	12	1,4	81,1	2,2	130,1	1,7	99,5	2,0	115,9
	13	0,1	7,3	0,8	47,8	0,5	31,2	0,7	40,9
	14	1,1	59,8	1,0	58,6	1,1	62,1	1,1	63,7
	15	0,4	21,5	0,3	20,3	0,4	22,7	0,4	24,5

Fonte: Elaborado pelo autor

^aAs KED 2 – vazão de He = 2,0 mL min⁻¹.

^bAs KED 2.2 – vazão de He = 2,2 mL min⁻¹.

^cAs KED 3 – vazão de He = 3,0 mL min⁻¹.

Tabela 16 - Concentrações e recuperações (%) de As no material certificado Marandú no modo padrão do ICP-MS e modo KED com diferentes vazões de He para otimização do método de preparo de amostra MAE utilizando NADES 2 (AC-AM)

MRC MARANDÚ - ⁷⁵ As									
NADES AC-AM									
MAE									
Valor certificado (mg kg ⁻¹)	Experimento	As – Padrão		^a As KED 2		^b As KED 2.2		^c As KED 3	
		Valor obtido (mg kg ⁻¹)	R (%)	Valor obtido (mg kg ⁻¹)	R (%)	Valor obtido (mg kg ⁻¹)	R (%)	Valor obtido (mg kg ⁻¹)	R (%)
1,69 ± 0,70	1	1,3	77,9	1,5	86,8	1,4	84,6	1,6	92,8
	2	1,2	72,4	1,5	90,3	1,4	83,7	1,5	86,3
	3	1,4	82,2	1,6	96,3	1,6	92,6	1,6	94,2
	4	1,9	111,4	2,2	128,2	2,2	131,3	2,2	131,0
	5	1,8	103,6	2,0	121,3	2,1	121,3	2,3	138,5
	6	1,6	93,9	1,9	113,2	1,9	113,4	2,1	122,1
	7	1,6	96,0	2,1	122,0	2,0	121,1	2,1	122,3
	8	1,4	80,7	1,7	99,5	1,8	107,0	2,1	121,4
	9	1,7	99,2	2,2	127,3	2,2	128,6	2,3	135,5
	10	2,5	148,4	3,4	201,1	3,5	204,2	4,3	251,5
	11	2,0	120,9	2,9	171,8	2,9	174,2	3,7	220,2
	12	2,0	120,3	2,9	172,7	3,0	176,5	3,2	189,5
	13	1,9	112,6	2,8	166,4	3,0	179,8	4,0	237,7
	14	2,4	141,5	3,4	201,5	3,5	207,8	4,3	254,9
	15	1,2	73,5	1,8	107,8	1,9	112,7	2,5	147,3

Fonte: Elaborado pelo autor

^aAs KED 2 – vazão de He = 2,0 mL min⁻¹.

^bAs KED 2.2 – vazão de He = 2,2 mL min⁻¹.

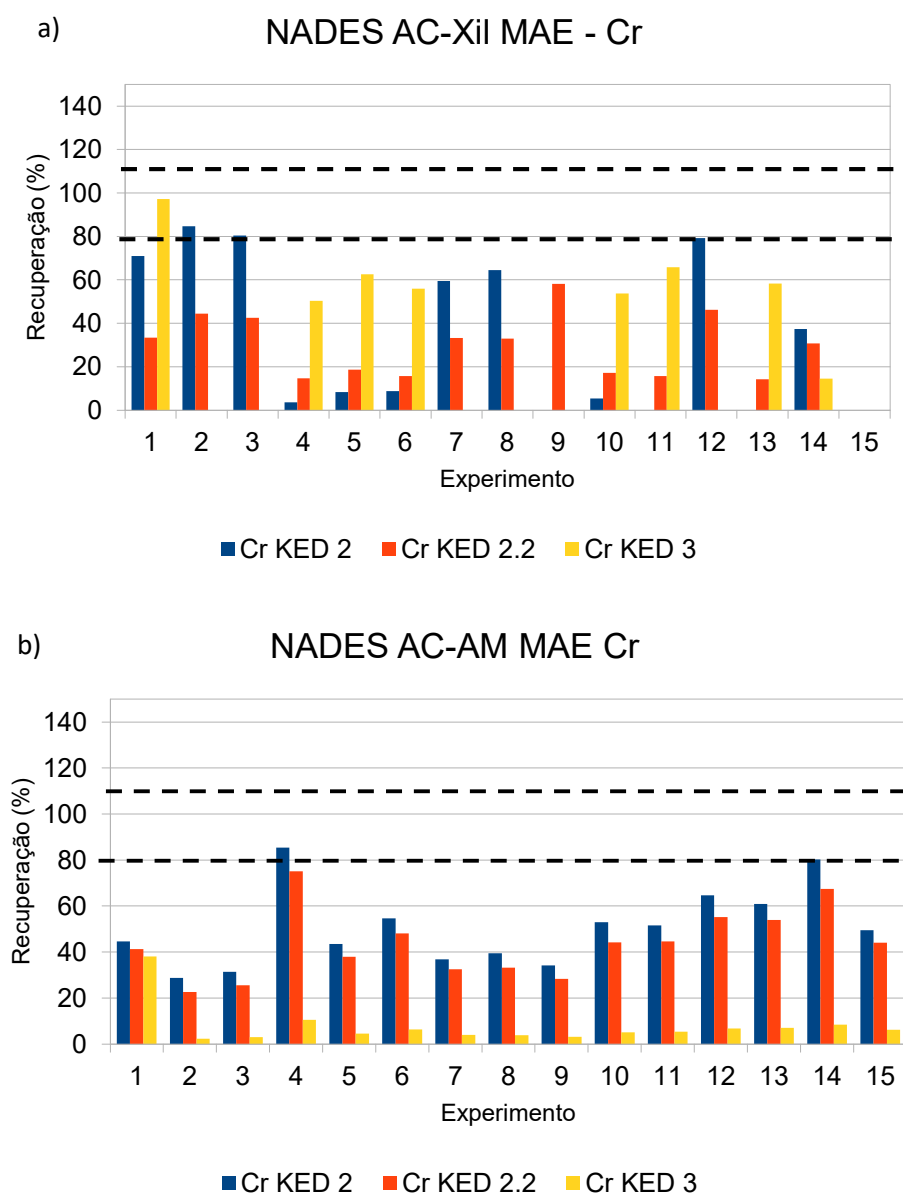
^cAs KED 3 – vazão de He = 3,0 mL min⁻¹.

Tanto o NADES 1 como o NADES 2 apresentaram recuperações no intervalo estudado no trabalho para ^{75}As em amostra vegetal tanto no modo padrão como no uso da cela de colisão, porém foi possível observar que para As KED 2 houveram maiores valores de recuperação aceitáveis em relação as demais vazões de He, quando os dois solventes foram comparados.

Com base nos valores de recuperação obtidos juntamente aos princípios da Química Verde e a busca de uma condição única para emprego de ambos os solventes, optou-se para prosseguir com a análise estatística para os resultados obtidos para As KED 2, que será abordada após exposição dos resultados obtidos para os demais analitos extraídos pelo método MAE.

Os resultados obtidos para recuperação de Cr após a execução dos planejamentos Doehlert (tabela 4) estão representados na Figura 10, e nas tabelas 16 e 17 está apresentada a concentração certificada de Cr para o MRC Marandú e os resultados obtidos para extração de Cr empregando o método MAE para os solventes NADES 1 e 2. O isótopo de ^{52}Cr foi analisado no modo padrão e utilizando o módulo de célula de colisão (KED) com três vazões diferentes de Hélio (2,0; 2,2; e 3,0 mL min⁻¹ de He) para eliminar possíveis interferentes. Os valores obtidos para o modo padrão não foram satisfatórios no intervalo estudado por conta, principalmente, do uso de NADES 1% na curva analítica, fonte de átomos de carbono para o plasma. Isso acarreta a formação de interferentes do ^{52}Cr poliatômicos, oriundos de interação do C com o Ar ($^{40}\text{Ar}^{12}\text{C}^+$). Esse efeito foi similar ao observado por Vera e colaboradores (2021) para amostras ambientais. Valores de recuperação superiores a 150 % foram retirados do gráfico para melhor visualização (tabelas 16 e 17), haja visto que tais valores destoaram do intervalo de interesse.

Figura 10 - Valores de recuperação (%) para Cr obtidos no método MAE para amostra de MRC Marandú utilizando solvente extrator: a) NADES 1 (AC-Xil); b) NADES 2 (AC-AM)



Fonte: Elaborado pelo autor

^aCr KED 2 – vazão de He = 2,0 mL min⁻¹.

^bCr KED 2.2 – vazão de He = 2,2 mL min⁻¹.

^cCr KED 3 – vazão de He = 3,0 mL min⁻¹.

Tabela 17- Concentrações e recuperações (%) de Cr no material certificado Marandú no modo KED com diferentes vazões de He para otimização do método de preparo de amostra MAE utilizando NADES 1 (AC-Xil)

MARANDÚ - ^{52}Cr							
		NADES AC-Xil					
		MAE					
		$^a\text{Cr KED 2}$		$^b\text{Cr KED 2.2}$		$^c\text{Cr KED 3}$	
Valor certificado (mg kg $^{-1}$)	Experimento	Valor obtido (mg kg $^{-1}$)	R (%)	Valor obtido (mg kg $^{-1}$)	R (%)	Valor obtido (mg kg $^{-1}$)	R (%)
3,30 ± 1,66	1	2,3	71,0	1,1	33,4	3,2	97,2
	2	2,8	84,7	1,5	44,4	13,8	417,0
	3	2,7	80,4	1,4	42,6	8,8	266,9
	4	0,1	3,6	0,5	14,7	1,7	50,4
	5	0,3	8,3	0,6	18,7	2,1	62,6
	6	0,3	8,8	0,5	15,7	1,8	55,9
	7	2,0	59,5	1,1	33,2	7,3	221,9
	8	2,1	64,4	1,1	33,0	7,5	226,7
	9	4,1	123,4	1,9	58,2	14,6	443,6
	10	0,2	5,3	0,6	17,2	1,8	53,7
	11	-0,7	-1,9	0,5	15,7	2,2	65,9
	12	2,6	79,3	1,5	46,2	8,8	265,9
	13	-0,1	-3,7	0,5	14,3	1,9	58,3
	14	1,2	37,4	1,0	30,8	0,5	14,5
	15	-0,9	-26,4	-0,6	-17,8	-0,1	-3,8

Fonte: Elaborado pelo autor

$^a\text{Cr KED 2}$ – vazão de He = 2,0 mL min $^{-1}$.

$^b\text{Cr KED 2.2}$ – vazão de He = 2,2 mL min $^{-1}$.

$^c\text{Cr KED 3}$ – vazão de He = 3,0 mL min $^{-1}$.

Tabela 18 - Concentrações e recuperações (%) de Cr no material certificado Marandú no modo KED com diferentes vazões de He para otimização do método de preparo de amostra MAE utilizando NADES 2 (AC-AM)

MARANDÚ - ⁵² Cr							
NADES AC-AM							
MAE							
Valor certificado (mg kg ⁻¹)	Experimento	^a Cr KED 2		^b Cr KED 2.2		^c Cr KED 3	
		Valor obtido (mg kg ⁻¹)	R (%)	Valor obtido (mg kg ⁻¹)	R (%)	Valor obtido (mg kg ⁻¹)	R (%)
3,30 ± 1,66	1	1,5	44,7	1,4	41,3	1,3	38,1
	2	0,9	28,7	0,7	22,7	0,1	2,4
	3	1,0	31,4	0,8	25,5	0,1	2,9
	4	2,8	85,4	2,5	75,1	0,3	10,4
	5	1,8	54,6	1,6	48,0	0,2	6,4
	6	1,2	36,8	1,1	32,5	0,1	4,0
	7	1,3	39,5	1,1	33,3	0,1	3,9
	8	1,1	34,2	0,9	28,3	0,1	3,2
	9	1,7	53,0	1,5	44,2	0,2	5,0
	10	1,7	51,6	1,5	44,6	0,2	5,4
	11	2,1	64,7	1,8	55,2	0,2	6,7
	12	2,0	61,0	1,8	54,0	0,2	7,0
	13	2,7	80,3	2,2	67,4	0,3	8,4
	14	1,6	49,4	1,5	44,0	0,2	6,2
	15	1,0	31,8	0,9	27,8	0,1	3,6

Fonte: Elaborado pelo autor

^aCr KED 2 – vazão de He = 2,0 mL min⁻¹.

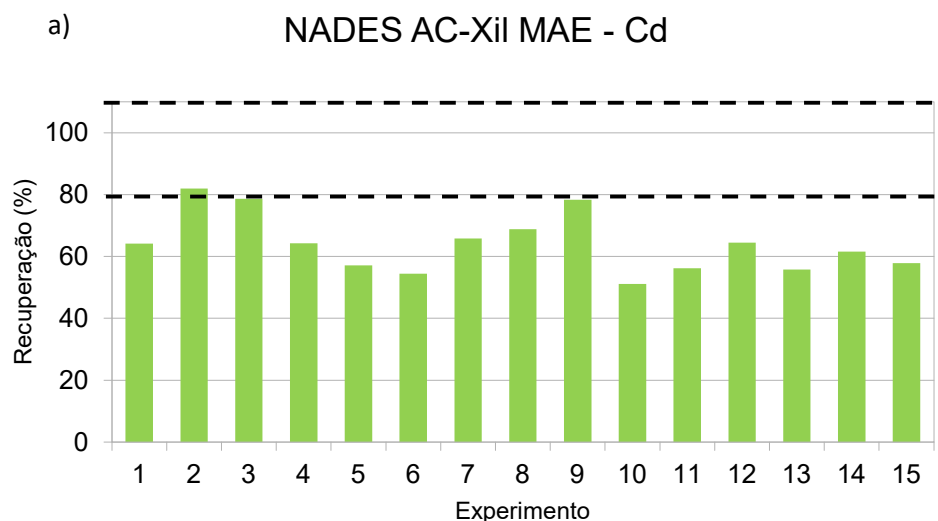
^bCr KED 2.2 – vazão de He = 2,2 mL min⁻¹.

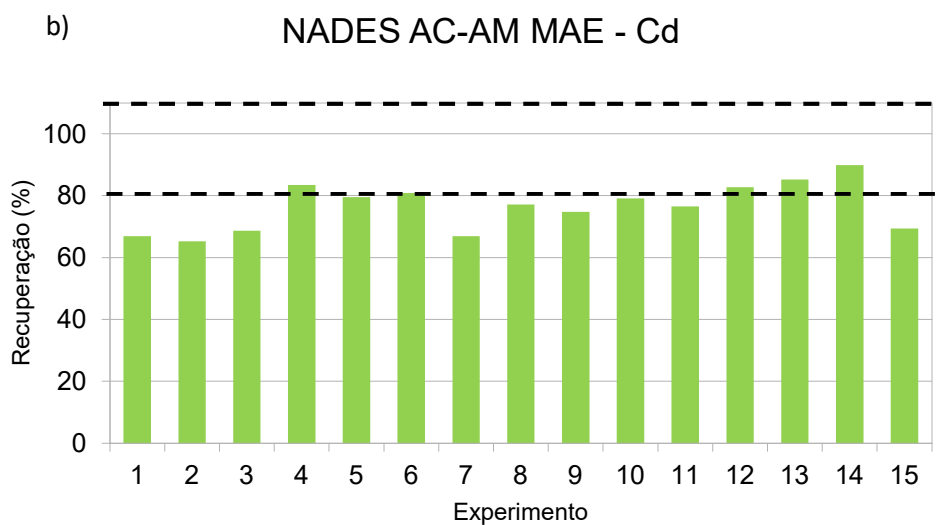
^cCr KED 3 – vazão de He = 3,0 mL min⁻¹.

Os NADES 1 e 2 não apresentaram boa capacidade de extração para o Cr no intervalo estudado. Porém, observou-se bons resultados para os experimentos 2 e 3 (84,7 e 80,4 %, respectivamente) para o NADES 1 e os experimentos 4 e 13 para o NADES 2 (85,4 e 80,3 %, respectivamente) (ver tabelas 17 e 18) para Cr KED 2 e o experimento 1 apresentou recuperação aceitável (97,2 %) para Cr KED 3 para o NADES 1. Porém alguns experimentos ficaram próximos da faixa desejada (11 e 12 para o NADES 2). E os valores foram menores ao empregar a maior vazão de He. Como a maior parte dos valores de recuperação obtidos por Cr KED 2.2 foram abaixo do intervalo aceitável, o analito foi desconsiderado das análises estatísticas relacionadas ao planejamento.

Os valores de recuperação para ^{111}Cd obtidos após a execução dos planejamentos Doehlert estão descritos na figura 11, e na tabela 19 estão apresentadas as concentrações certificadas de Cd para o MRC Marandú para os resultados obtidos empregando o método MAE empregando NADES 1 e 2. Os isótopos foram analisados no modo padrão.

Figura 11 - Valores de recuperação (%) para Cd obtidos no método MAE para amostra de MRC Marandú utilizando solvente extrator: a) NADES 1 (AC-Xil); b) NADES 2 (AC-AM)





Fonte: Elaborado pelo autor

Tabela 19 - Concentrações e recuperações (%) de Cd no material certificado Marandú para otimização do método de preparo de amostra MAE utilizando NADES 1 e 2.

MRC MARANDÚ – ¹¹¹ Cd					
Valor certificado (mg kg ⁻¹)	Experimento	MAE			
		NADES 1		NADES 2	
		Valor obtido (mg kg ⁻¹)	R (%)	Valor obtido (mg kg ⁻¹)	R (%)
19,9 ± 5,1	1	12,8	64,1	13,3	66,9
	2	16,3	81,9	13,0	65,3
	3	15,6	78,6	13,7	68,6
	4	12,8	64,2	16,6	83,4
	5	11,4	57,1	16,1	80,8
	6	10,8	54,4	13,3	66,9
	7	13,1	65,7	15,3	77,1
	8	13,7	68,8	14,9	74,8
	9	15,6	78,3	15,7	79,1
	10	10,2	51,1	15,2	76,5
	11	11,2	56,2	16,5	82,7
	12	12,8	64,5	16,9	85,2
	13	11,1	55,8	17,9	89,9
	14	12,2	61,5	13,8	69,4
	15	11,5	57,8	12,7	64,0

Fonte: Elaborado pelo autor.

Foi observado que o NADES 1 apresentou resultados promissores para extração do analito ¹¹¹Cd no intervalo estudado. Mesmo que as recuperações estivessem, em maioria, abaixo do intervalo desejado (ver tabela 19). Algumas condições

apresentaram resultados satisfatórios, como os experimentos 2 e 3 (81,93 % e 78,6 %) para o NADES 1. O NADES 2 apresentou recuperações aceitáveis para o analito desejado nos em maior parte dos experimentos (4, 5, 7-13). Dessa forma, considerou-se o NADES 2 para a avaliação estatística do planejamento empregado para extração de Cd.

Avaliando-se os resultados obtidos para recuperação de ^{208}Pb obtidos após a execução dos planejamentos Doehlert indicaram que os NADES 1 e 2 apresentaram-se como promissores para extração do analito empregando o método MAE. Conforme podem ser observados, na figura 12 e tabela 20, estão apresentadas as concentrações certificadas de Pb para o MRC Marandú.

Figura 12 - Valores de recuperação (%) para Pb obtidos no método MAE para amostra de MRC Marandú utilizando solvente extrator: a) NADES 1 (AC-Xil); b) NADES 2 (AC-AM)

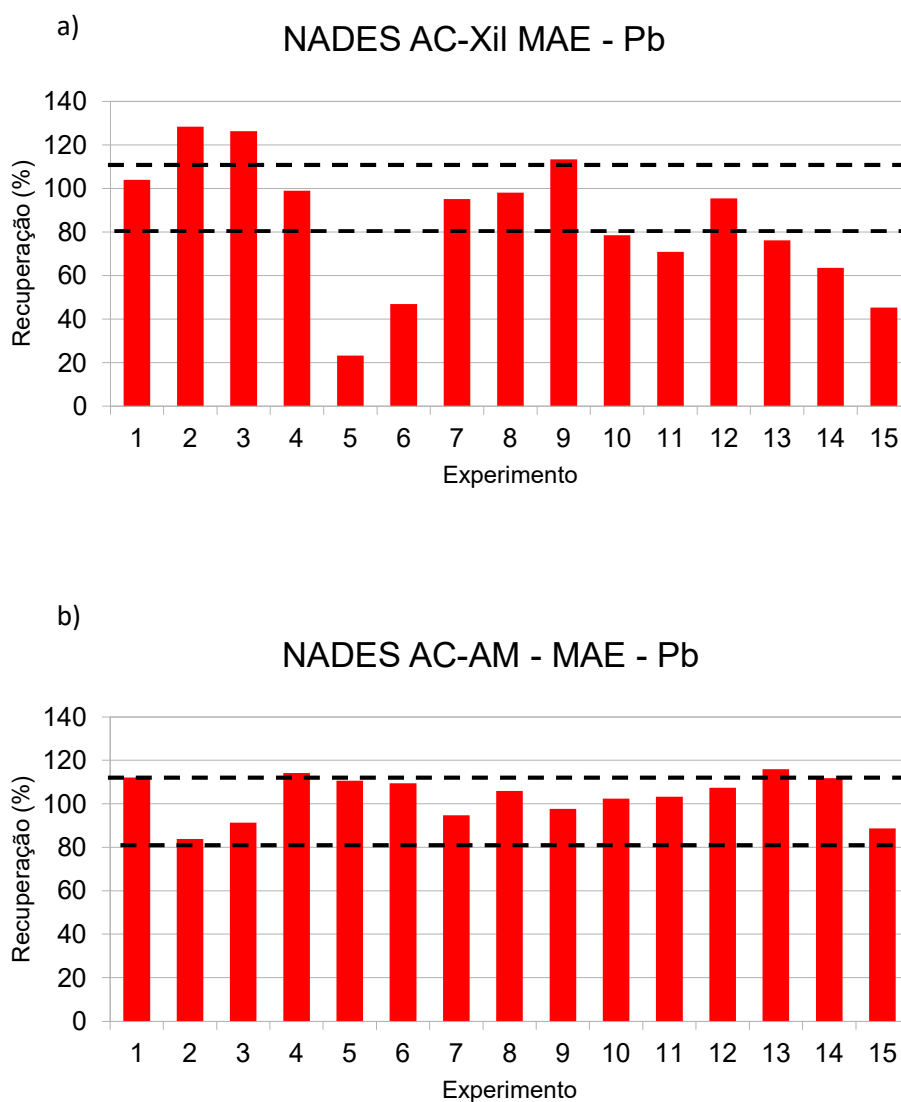


Tabela 20 - Concentrações e recuperações (%) de Pb no material certificado Marandú para otimização do método de preparo de amostra MAE utilizando NADES 1 e 2.

MRC MARANDÚ – ²⁰⁸ Pb					
Valor certificado (mg kg ⁻¹)	Experimento	MAE			
		NADES 1		NADES 2	
		Valor obtido (mg kg ⁻¹)	R (%)	Valor obtido (mg kg ⁻¹)	R (%)
4,0 ± 1,8	1	4,2	103,9	4,5	112,1
	2	5,1	128,3	3,4	83,8
	3	5,1	126,2	3,6	91,2
	4	4,0	98,9	4,4	110,6
	5	0,9	23,2	4,4	109,4
	6	1,9	46,8	3,8	94,7
	7	3,8	95,1	4,2	105,9
	8	3,9	98,1	3,9	97,6
	9	4,5	113,3	4,1	102,3
	10	3,1	78,5	4,1	103,2
	11	2,8	70,9	4,3	107,4
	12	3,8	95,4	4,6	115,9
	13	3,0	76,1	4,5	111,8
	14	2,5	63,5	3,5	88,6
	15	1,8	45,3	3,4	86,1

Fonte: Elaborado pelo autor.

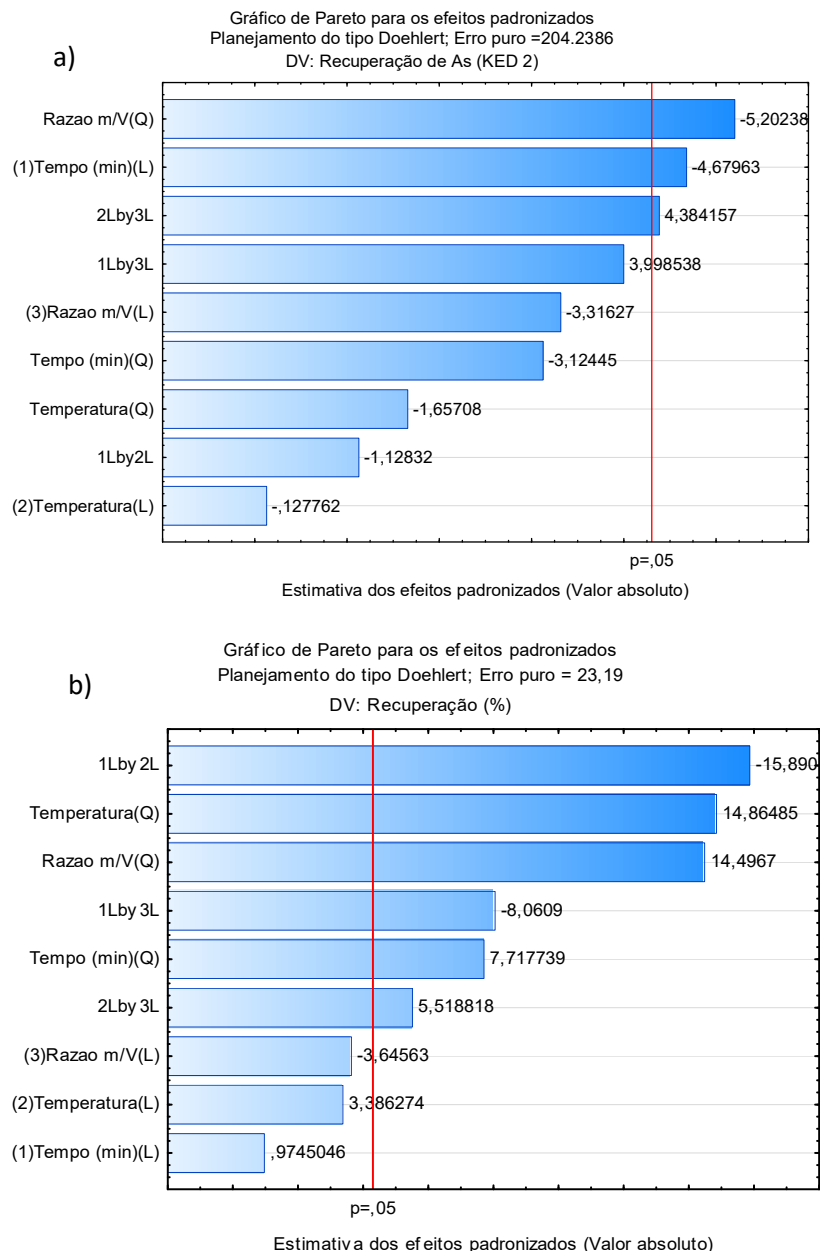
Com base nos resultados obtidos, notou-se que o NADES 1 não apresentou boa capacidade de extração pelo método MAE para Cd e Cr no intervalo estudado, enquanto que o NADES 2 não foi eficiente apenas para o Cr. Por outro lado, o método apresentou valores de recuperação na faixa aceitável para As e Pb em ambos os solventes e o NADES 2 exibiu bons resultados para extração de Cd. Além disso, as recuperações de As foram melhores ao empregar a cela de colisão.

Logo, as avaliações estatísticas foram realizadas para NADES 1 e 2 para ⁷⁵As e para ²⁰⁸Pb e Cd (para NADES 2) a partir dos valores de recuperação obtidos no modo KED (2,0 mL min⁻¹) para arsênio e modo padrão para cádmio e chumbo (ver tabelas 15, 16, 19 e 20).

A significância e efeito das variáveis estudadas foram avaliadas aplicando-se a análise de variância unilateral (ANOVA). O modelo linear-quadrático apresentou-se como mais adequado para o conjunto de dados avaliados. Os valores de coeficiente de determinação (R²) obtidos foram para As KED 2 (95 e 88 %) e Pb respectivamente, 95% e 83% para NADES 1 e 88% e 70% para NADES 2, além de 97 % para Cd. Gráficos de

Pareto foram empregados para avaliação da significância respostas experimentais das variáveis estudadas, e foram apresentados nas figuras 13 (As KED 2), 12 (Pb) e 13 (Cd).

Figura 13- Gráficos de Pareto para os efeitos padronizados para recuperação de As KED 2 (%) obtidos para MAE empregando: a) NADES 1 e b) NADES 2



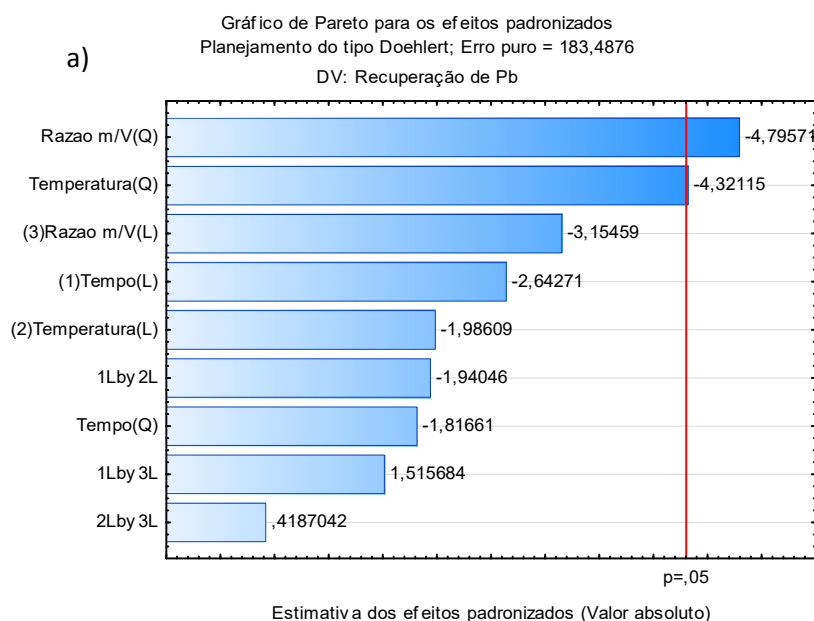
No caso do arsênio, para o NADES 1 (ver figura 13) observou-se efeitos negativos para razão m/v e temperatura, porém isso não apresentou aplicação prática pois está em desacordo com os princípios de transferência de massa. Estudos sugerem que quando se utiliza uma razão massa/volume menor, o gradiente de concentração entre a massa sólida e o líquido durante a transferência de massa aumenta, e quando a quantidade

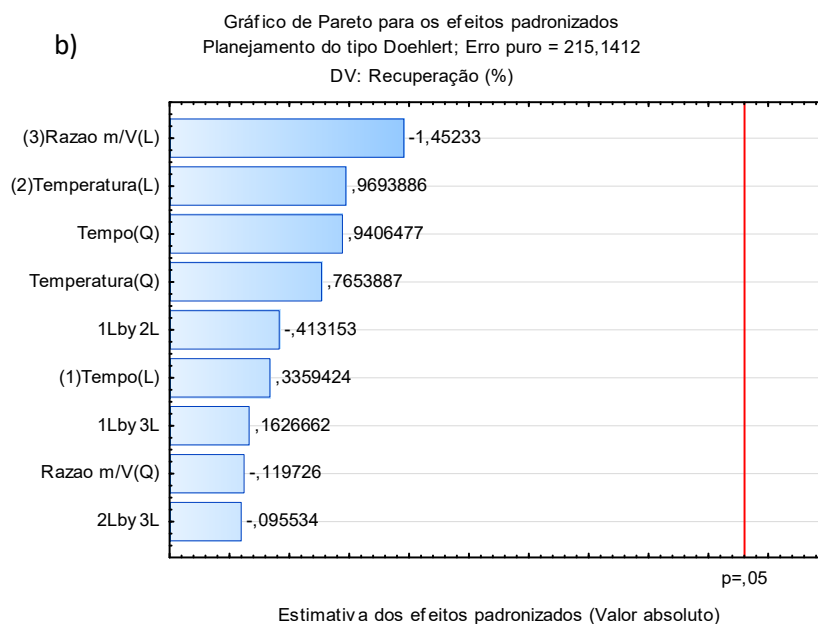
de solvente em relação ao sólido não for suficiente, vários equilíbrios podem ocorrer dificultando a transferência de massa (DOLDOLOVA et al., 2021).

Porém, houve efeito positivo para interação entre as variáveis temperatura e razão m/V (efeito positivo +4,384157). A partir da interação positiva foi possível inferir que maiores recuperações foram associadas ao aumento conjunto de temperatura e massa de amostra. Para o NADES 2 observou-se efeitos positivos para tempos maiores de extração, massa de amostra e temperatura. O aumento de temperatura afeta positivamente a extração pois, segundo Kim (2017) uma temperatura mais alta aumenta a permeabilidade do solvente no tecido da planta, favorecendo o rompimento de estruturas celulares, diminuindo a viscosidade, tensão superficial e aumentando a solubilidade dos solutos. Em contrapartida, temperaturas muito altas ou tempos de exposição mais longos podem levar à degradação de compostos químicos e, conseqüentemente, a diminuição da eficiência de extração (KIM, 2017; MAO, ROBINSON & BINNER, 2021).

Além disso, foi observado menor valor do erro puro para o NADES 2 (23,19) em relação ao NADES 1 (204,23) e os valores de r^2 foram acima de 80%, indicando que o modelo se ajustou de forma aceitável ao planejamento.

Figura 14 - Gráficos de Pareto para os efeitos padronizados para recuperação de Pb (%) obtidos para MAE empregando: a) NADES 1 e b) NADES 2



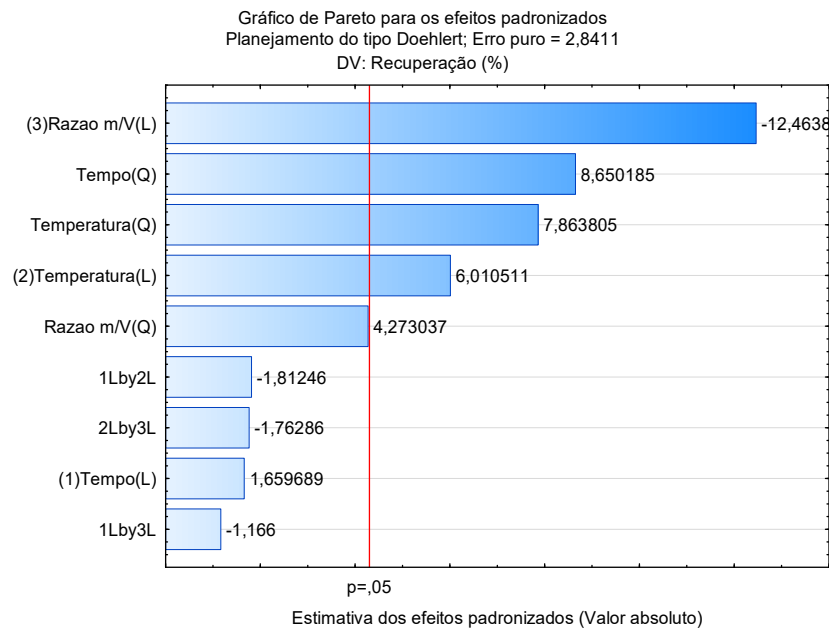


Fonte: Elaborado pelo autor

Observou-se que para o Pb (ver figura 14), no caso do NADES 1 as variáveis significativas apresentaram efeitos negativos para razão m/V e temperatura. Isso implica que menores massas de amostra e menores temperaturas favoreceram maiores porcentagens de extração, enquanto que para o NADES 2 nenhuma variável apresentou-se significativa.

No entanto, para o analito Cd (ver figura 15), as variáveis significativas foram razão m/V (efeito negativo -12,4638), tempo (efeito positivo 8,6501) e temperatura (efeito positivo 7,863805) conforme pode ser observado na figura 15, ou seja, as recuperações maiores estavam relacionadas ao aumento do tempo e da temperatura de extração, além da menor quantidade de amostra. Doldolova e colaboradores (2021) realizaram a extração de compostos bioativos em cúrcuma empregando NADES por MAE. Os pesquisadores avaliaram as condições de extração (temperatura, tempo e razão solvente-sólido) e otimizaram pela metodologia de superfície de resposta (RSM). Os resultados indicaram maiores recuperações associadas ao aumento de temperatura, tempo (mas a partir de um certo valor o rendimento diminuiu) e razão volume de solvente/massa de amostra. A extração foi aplicada em diferentes temperaturas (45–75 °C), tempos de extração (5–30 min) e razões solvente-sólido (10–20 mL/0,2 g) da mesma forma observada para o analito Cd, sendo as recuperações maiores associadas ao aumento de temperatura e tempo de extração.

Figura 15 - Gráficos de Pareto para os efeitos padronizados para recuperação de Cd (%) obtidos para MAE empregando NADES 2.



Fonte: Elaborado pelo autor

A extração assistida por micro-ondas é promissora para extração em amostras vegetais pois proporciona um aumento de pressão dentro da estrutura celular que colapsa causando uma ruptura da parede celular externa, além de potencializar o processo de transferência de massa por difusão induzida por temperatura (MAO, ROBINSON & BINNER, 2021; COSTA, 2022).

Portanto, gerou-se superfícies de resposta com o intuito de ilustrar graficamente as interações entre as variáveis estudadas e as respostas obtidas para As KED 2, Pb e Cd (NADES 2) (figuras 13, 14 e 15). Considerando a exatidão das recuperações, a temperatura de degradação dos NADES e os princípios da química analítica verde de economia energética, os níveis ideais dos fatores (tempo, temperatura e razão m/v) para a resposta (% de recuperação) foram definidos e são apresentados na tabela 21.

Tabela 21 - Condições ótimas pré-determinadas para MAE empregando NADES 1 e 2 para extração de As (KED 2), Pb e Cd.

MAE NADES 1 e 2	
Temperatura	100 °C
Tempo	40 min
Razão m/V	40:1

Figura 16- Superfícies de respostas para recuperação (%) de a) As KED 2 e b) Pb em função do tempo, temperatura e razão m/V para MAE utilizando NADES 1 (AC-XIL)

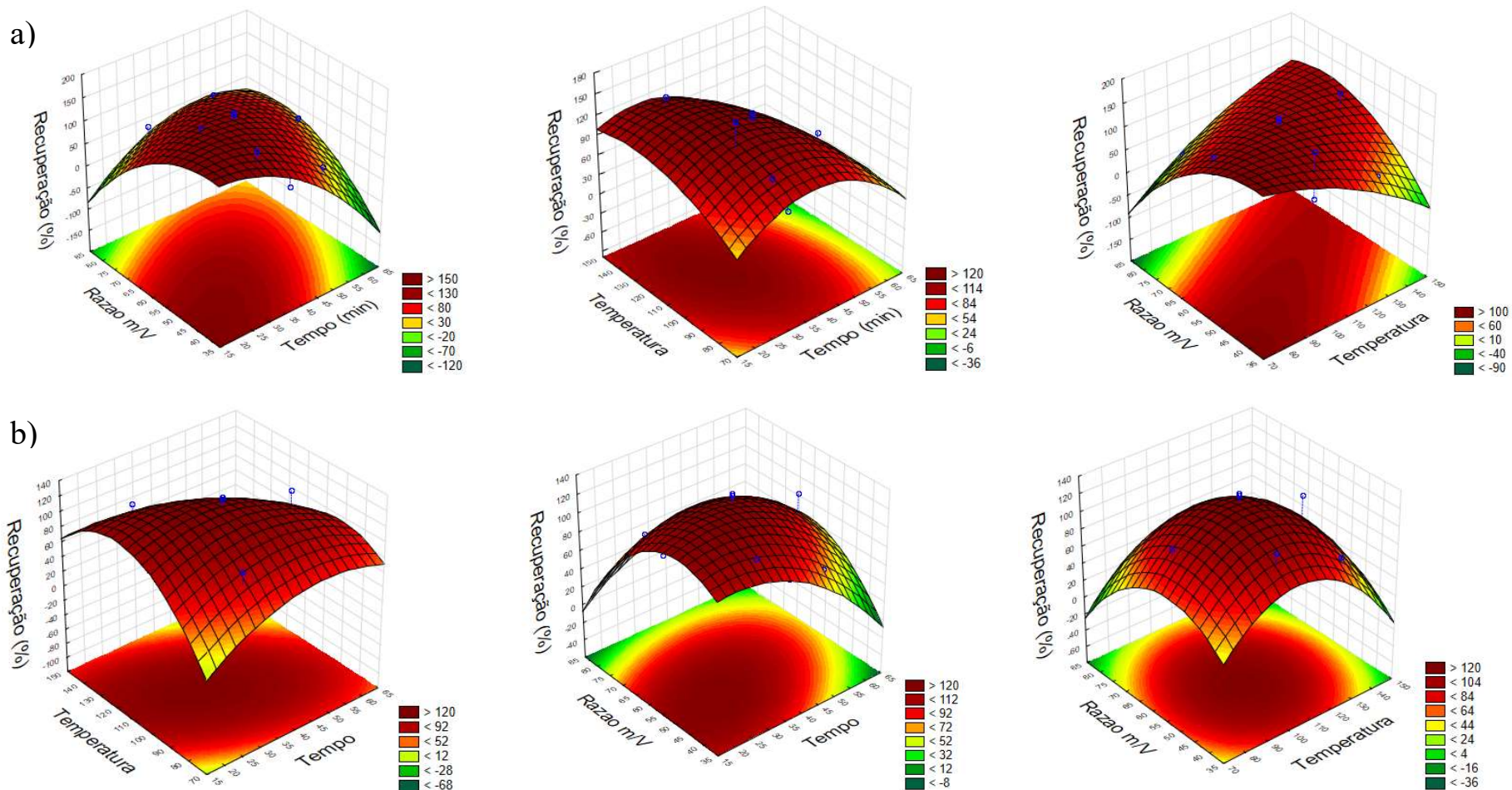
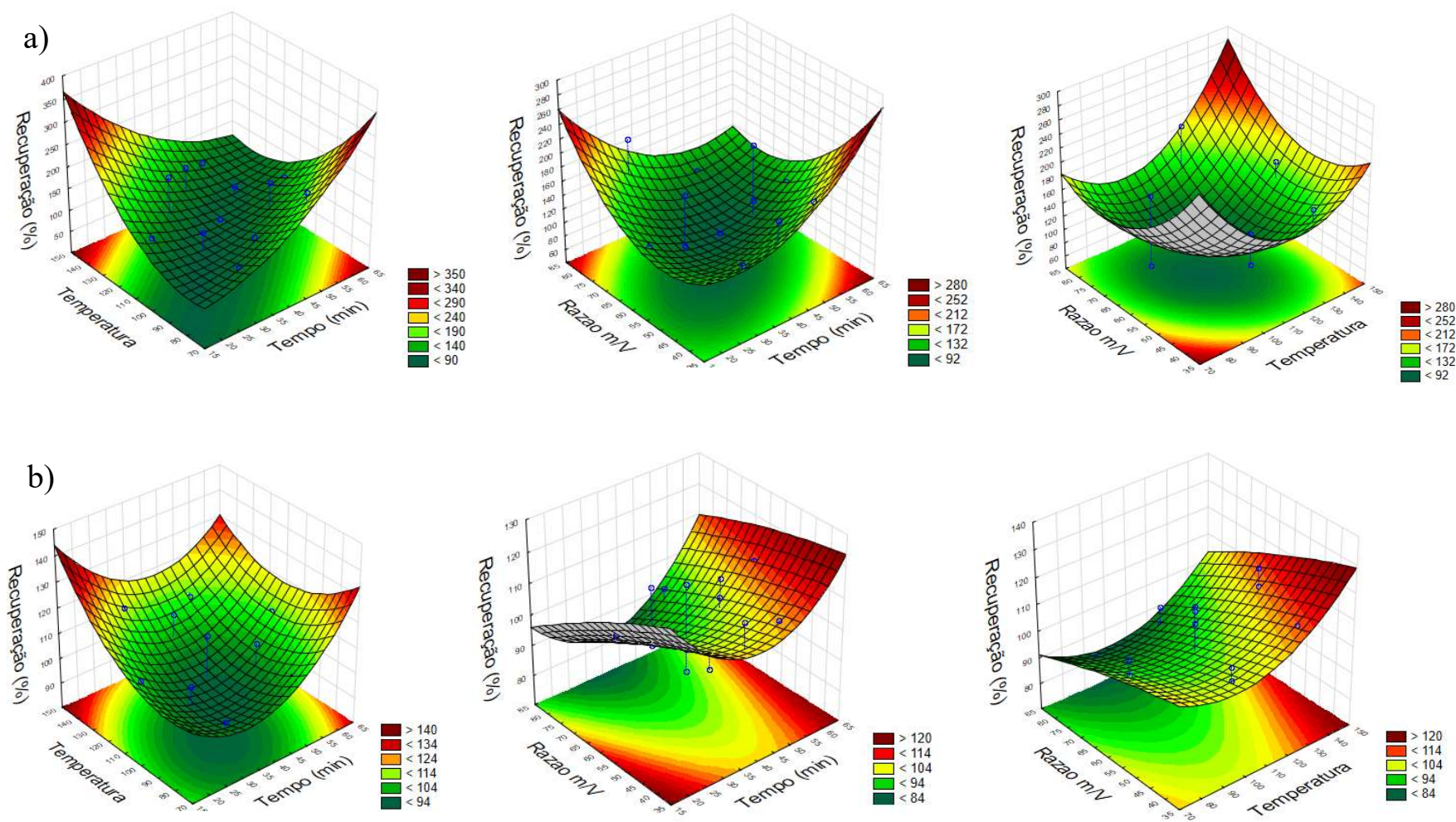
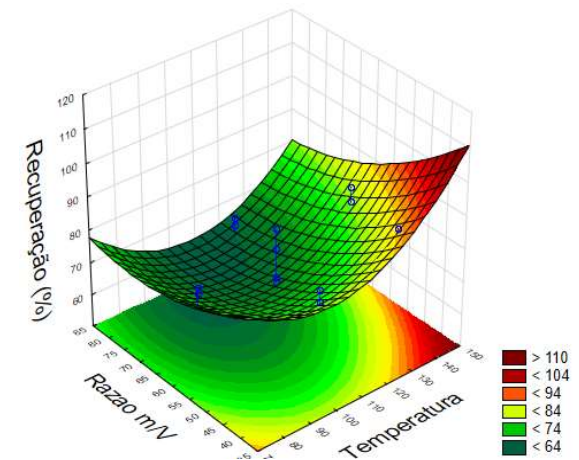
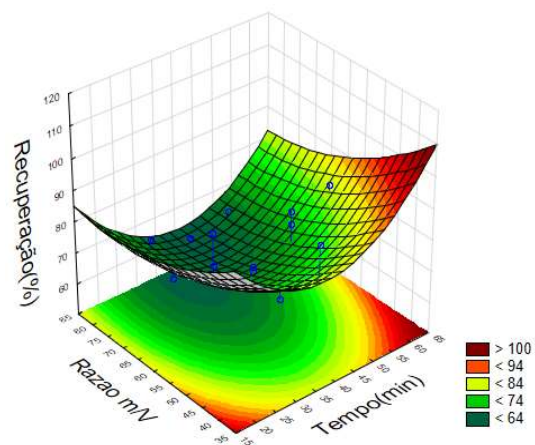
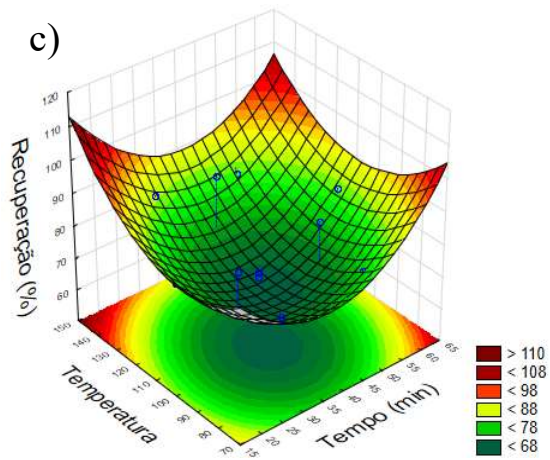


Figura 17- Superfícies de respostas para recuperação (%) de a) As KED 2, b) Pb e c) Cd em função do tempo, temperatura e razão m/V para MAE utilizando NADES 2 (AC-AM)



Continua na próxima página.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A eficiência dos métodos otimizados foi avaliada pelo monitoramento de As, Cd e Pb em material de referência certificado de capim forrageira *Brachiaria brizantha* cv. Marandú e amostras de farelo de soja (EPCBO2021-60) e ração farelada (EPCBO2021-65). Pelo fato das amostras de farelo de soja e ração farelada não apresentarem laudo, realizou-se a digestão ácida por radiação micro-ondas a fim de comparar os valores obtidos com os métodos verdes de preparo de amostra avaliados. No entanto, os valores apresentaram-se abaixo do limite de detecção da técnica ou os analitos de interesse não estavam presentes nas amostras. A tabela 22 apresenta os valores de concentração obtidos para UAE, MAE otimizados e MW-AD.

Tabela 22 - Concentrações de As, Cd e Pb (média $\pm$ desvio padrão) e recuperações empregando os métodos otimizados MAE e UAE utilizando NADES 1 e 2.

As					
Amostras MRCs	NADES 1		NADES 2		
	MAE				MW-AD
	Concentração (mg kg ⁻¹)	R (%)	Concentração (mg kg ⁻¹)	R (%)	Concentração (mg kg ⁻¹)
Marandú ^a	1,42 ± 0,02	84,3	1,35 ± 0,09	79,9	1,69 ± 0,7
Farelo de Soja ^b	0,0634 ± 0,01	-	0,0897 ± 0,01	-	< LD ^e
Ração farelada ^c	0,1365 ± 0,02	-	0,1591 ± 0,01	-	< LD ^e
Amostras MRCs	UAE				MW-AD
	Concentração (mg kg ⁻¹)	R (%)	Concentração (mg kg ⁻¹)	R (%)	Concentração (mg kg ⁻¹)
	Concentração (mg kg ⁻¹)	R (%)	Concentração (mg kg ⁻¹)	R (%)	Concentração (mg kg ⁻¹)
Marandú ^a	1,85 ± 0,23	109,5	1,62 ± 0,11	95,7	1,69 ± 0,7
Farelo de Soja ^b	0,058 ± 0,01	-	0,073 ± 0,003	-	< LD ^e
Ração farelada ^c	0,116 ± 0,01	-	0,119 ± 0,01	-	< LD ^e
Cd					
Amostras MRCs	NADES 1		NADES 2		
	MAE				MW-AD
	Concentração (mg kg ⁻¹)	R (%)	Concentração (mg kg ⁻¹)	R (%)	Concentração (mg kg ⁻¹)
Marandú ^a	13,6 ± 1,21	68,5	13,3 ± 0,31	66,8	19,9 ± 5,1
Farelo de Soja	0,018 ± 0,002	-	< LD ^b	-	< LD ^f
Ração farelada	0,017 ± 0,0003	-	< LD ^b	-	< LD ^f
Pb					
Amostras MRCs	NADES 1		NADES 2		
	MAE				MW-AD
	Concentração (mg kg ⁻¹)	R (%)	Concentração (mg kg ⁻¹)	R (%)	Concentração (mg kg ⁻¹)
Marandú ^a	3,3 ± 0,55	81,2	3,15 ± 0,38	78,8	4,0 ± 1,8
Farelo de Soja ^b	< LD ^c	-	< LD ^d	-	2,81 ± 0,20
Ração farelada ^c	< LD ^c	-	< LD ^d	-	0,69 ± 0,12

Fonte: elaborado pelo autor.

^a Valor certificado para: As = 1,69 mg kg⁻¹; Cd = 19,9 mg kg⁻¹; Pb = 4,0 mg kg⁻¹.

- ^b - LD para Cd (NADES 2) = 0,003 mg kg⁻¹;
^c - LD para Pb (NADES 1) = 0,009 mg kg⁻¹;
^d - LD para Pb (NADES 1) = 0,005 mg kg⁻¹;
^e - LD para As (MW-AD) = 0,0002 mg kg⁻¹;
^f - LD para Cd ((MW-AD) = 0,0009 mg kg⁻¹;

Conforme pôde ser observado na tabela 22, os métodos de preparo de amostras otimizados apresentaram resultados satisfatórios para extração de As e Pb em tecido vegetal, apresentando recuperações na faixa de 78,8% e 109,5 % com exceção para o analito Cd empregando MAE, obtendo-se 68,5 % e 66,8% para o NADES 1 e 2, respectivamente.

Em estudos realizados anteriormente pelo grupo de pesquisa, alguns analitos, como Cr, P e Zn apresentaram diferenças estatisticamente significativas ao comparar o método de digestão ácida com diferentes métodos de extração (UAE e extração por banho de aquecimento), sugerindo que diferentes interações químicas entre os NADES e alguns analitos inorgânicos, enquanto que para outros analitos não foram observadas diferenças estatisticamente significativas (SANTANA et al., 2019, SANTANA et al., 2021).

5.3. Desempenho do método analítico

Os limites de detecção (LDs) e limites de quantificação (LQs) para MW-AD e os métodos de preparo de amostras otimizados foram calculados, assim como o coeficiente de correlação linear (r), desvio padrão relativo (precisão) e faixa dinâmica. Esses fatores são imprescindíveis para a validação analítica e na obtenção de dados analíticos confiáveis. Os valores estão apresentados nas Tabelas 23-25 juntamente aos valores de referência indicados pelo INMETRO (INMETRO, 2020).

Tabela 23 - Valores obtidos para limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), coeficiente de correlação linear (r), desvio padrão relativo (%), faixa dinâmica para os métodos propostos (MAE, UAE e MW-AD) para As.

		As				
		NADES 1		NADES 2		MW-AD
Parâmetro de Validação	INMETRO	MAE	UAE	MAE	UAE	
Limite de Detecção (LD) (mg kg ⁻¹)	Menor valor possível	0,004	0,0039	0,016	0,016	0,0002
Limite de Quantificação (LQ) (mg kg ⁻¹)	Menor valor possível	0,012	0,0118	0,049	0,049	0,0006
Coeficiente de correlação linear (r)	0,90 - 0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99
Desvio padrão relativo (%)	Menor que 15	11	6,9	17	4,8	6,8
Faixa dinâmica*	Abrangendo as concentrações a serem determinadas	0,1 – 50 µg L ⁻¹				

*Curva preparada em NADES 1%.

Tabela 24 - Valores obtidos para limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), coeficiente de correlação linear (r), desvio padrão relativo (%), faixa dinâmica para os métodos propostos (MAE, UAE e MW-AD) para Cd.

		Cd		
		NADES 1	NADES 2	
Parâmetro de Validação	INMETRO	MAE		MW-AD
Limite de Detecção (LD) (mg kg ⁻¹)	Menor valor possível	0,001	0,003	0,0009
Limite de Quantificação (LQ) (mg kg ⁻¹)	Menor valor possível	0,003	0,009	0,0027
Coeficiente de correlação linear (r)	0,90 - 0,99	0,99		0,99
Desvio padrão relativo (%)	Menor que 15	1	2,8	27,5
Faixa dinâmica*	Abrangendo as concentrações a serem determinadas	0,1 – 50 µg L ⁻¹		

*Curva preparada em NADES 1%.

Tabela 25 - Valores obtidos para limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), coeficiente de correlação linear (r), desvio padrão relativo (%), faixa dinâmica para os métodos propostos (MAE, UAE e MW-AD) para Pb.

		Pb		
		NADES 1	NADES 2	
Parâmetro de Validação	INMETRO	MAE		MW-AD
Limite de Detecção (LD) (mg kg ⁻¹)	Menor valor possível	0,009	0,005	0,0783
Limite de Quantificação (LQ) (mg kg ⁻¹)	Menor valor possível	0,027	0,016	0,2374
Coeficiente de correlação linear (r)	0,90 - 0,99		0,99	0,90
Desvio padrão relativo (%)	Menor que 15	5,5	11	32,6
Faixa dinâmica*	Abrangendo as concentrações a serem determinadas		0,1 – 50 µg L ⁻¹	

*Curva preparada em NADES 1%.

Os valores determinados para LD empregando NADES, em geral, foram superiores aos valores para MW-AD. Verificados pelas diferenças significativas ao comparar o método MW-AD com o MAE e UAE (ANOVA, nível de confiança de 95%). Como citado previamente, a presença dos componentes dos NADES no plasma implica no aumento do conteúdo de carbono e dessa forma o sinal analítico é elevado para analitos que possuem potencial de ionização na faixa de 9 - 11 eV ($As = 9,79$ eV). Esse aumento é resultado, não apenas de reações de transferência de carga entre o analito e C^+ , mas com outras espécies de carbono, como CO^{2+} , CO^+ , C^{2+} e ArC^+ (GRINDLAY et al., 2013).

Portanto, as reações de transferência de carga entre as espécies de carbono e os analitos proporcionam aumento da taxa de ionização e consequentemente maior geração de espécies em estado excitado (SANTANA et al., 2020).

5.4. Avaliação dos métodos MAE, UAE e MW-AD pelas métricas verdes GAPI e Eco Escala Analítica.

Os princípios fundamentais das métricas verdes é avaliar o quão ambientalmente correto um método ou procedimento é e em quais aspectos pode ser melhorado. Por isso, os métodos de preparo de amostra avaliados nesse trabalho foram analisados quanto a aspectos “verdes” por três métricas diferentes sendo Eco Escala analítica, GAPI e WAC.

A Eco Escala analítica está relacionada a penalidades subtraídas do valor total 100 para uma análise verde ideal. A métrica é aplicada em 6 critérios: 1) volume de reagente multiplicado pelo seu perigo potencial, 2) segurança (ambiental e humana), 3) instrumentos utilizados para o preparo de amostras e análise instrumental, 4) consumo energético por amostra, 5) risco ocupacional, 6) geração de resíduos químicos (GALUSZKA et al., 2012). Ao final da avaliação, os métodos são classificados em intervalos, sendo o intervalo de $75 > x > 50$ relacionado a uma análise verde aceitável, acima de 75 pontos são análises verdes excelentes e abaixo de 50 pontos a análise não é considerada verde. O método MW-AD apresentou pontuação 76 devido a penalizações relacionadas ao uso de HNO_3 (4 pontos), H_2O_2 (4 pontos), geração de vapor ácido (3 pontos), geração de resíduo ácido (5 pontos), gasto energético por amostra (2 pontos), falta de tratamento de resíduo ácido (3 pontos), segurança (2 pontos) e uso do ICP-MS (1 ponto). No caso do MAE a pontuação final foi 90, por conta das seguintes penalidades relacionadas ao uso dos NADES (1 ponto), geração de resíduo biodegradável (4 pontos), gasto energético por amostra (2 pontos) e uso do ICP-MS (1 ponto). E o UAE apresentou

pontuação de 94 pelo uso dos NADES (1ponto), geração de resíduo biodegradável (4 pontos) e uso do ICP-MS (1 ponto).

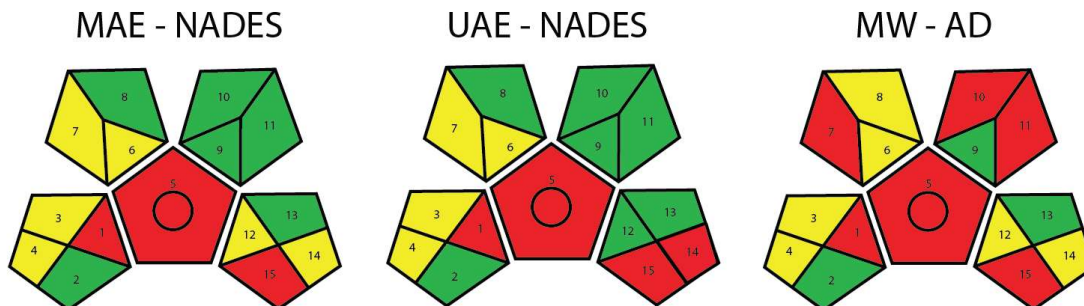
O GAPI foi proposto para a avaliação de novos protocolos analíticos, considerando os requisitos da química analítica verde. A métrica avalia o caráter verde de cada etapa do processo analítico, incluindo amostragem, transporte, armazenamento, preparo de amostras, reagentes, solventes e outros recursos empregados para obtenção do resultado final. O resultado foi um pictograma formado por um pentágono central com outros quatro pentágonos dispostos nas bordas. Por meio das cores verde, amarelo e vermelho foram avaliados os níveis de impactos ambientais baixo, médio e alto, respectivamente. Assim, um campo verde no pictograma mostra a conformidade do procedimento com os requisitos estabelecidos (PLOTKA-WASYLKA, 2018; BILLIARD et al., 2020).

Foram observadas diferenças significativas entre os métodos MAE, UAE e MW-AD. Os pictogramas para os métodos MAE-NADES e UAE-NADES foram similares, com diferenças nos parâmetros 12 e 14, relacionados ao gasto energético por amostra e quantidade de resíduos gerados. O uso da UAE acarretou maior geração de resíduos (>10 mL por amostra), mas exigiu menos energia durante o processo de preparação. Os métodos que empregam NADES apresentaram maiores diferenças, em relação ao MW-AD, para o parâmetro 7, propriedades do solvente e do reagente (parâmetros 10 e 11), além das propriedades instrumentais (parâmetros 12, 14 e 15).

Ao avaliar o método MW-AD, observou-se um número maior de setores vermelhos e amarelos em relação aos pictogramas quando comparados às extrações empregando NADES, indicando desvantagens do ponto de vista ambiental. Considerando o eixo correspondente aos reagentes (parâmetros 10 e 11), os melhores desempenhos dos métodos MAE e UAE podem ser explicados pelo fato de empregarem reagentes de origem natural. No caso do eixo correspondente às propriedades instrumentais, os métodos MAE e MW-AD consumiram 15 vezes mais energia por análise em comparação a UAE, com valores em torno de 1,5 e 0,1 kWh, respectivamente. Porém, deve ser observado que a digestão por micro-ondas pôde ser compensada pela capacidade de digerir de 4 a 12 amostras de uma vez, enquanto o método de ultrassom só foi possível processar uma amostra por vez. A geração de resíduos (parâmetro 14) variou entre os métodos, com valores mais baixos para o método de micro-ondas (1-10 mL por amostra) e valores maiores para o uso de ultrassom para extração (>10 mL por amostra). Ressalta-

se que o uso do NADES como solvente de extração possibilitaria a reciclagem dos resíduos (parâmetro 15).

Figura 18 - Pictogramas obtidos para MAE, UAE e MW-AD empregando a métrica GAPI.



6. CONCLUSÃO

Neste trabalho foi avaliada-se NADES a base de ácido cítrico, ácido málico, xilitol e água (NADES 1 e NADES 2) como solventes de extração por MAE e UAE em material certificado de capim forrageira c. Marandú e amostras de farelo de soja e ração farelada para determinação de As, Cd, Cr e Pb por ICP-MS. Ambos os NADES apresentaram-se promissores para extração dos analitos As, Cd e Pb empregando MAE, porém ao utilizar a UAE os solventes apresentaram boa capacidade de extração para o As. Ao empregar-se planejamento Doehlert para estudo dos efeitos das variáveis e chegou-se as condições ótimas para As, Cd e Pb de temperatura de 100 °C, tempo de 40 minutos e razão m/v de 40:1 empregando MAE. O método UAE apresentou boa eficiência de extração para As na condição: temperatura 40 °C, tempo de 40 minutos e razão m/v de 30:1. Ressaltando que o analito As apresentou recuperações melhores ao realizar-se a determinação com a cela de colisão (KED) com vazão de He: 2,0 mL min⁻¹.

Os métodos otimizados obtiveram elevado desempenho analítico evidenciado por baixos limites de quantificação e detecção, precisão e exatidão adequadas. Além disso, os métodos MAE e UAE se mostraram adequados aos princípios da química analítica verde por conta do uso de solventes sustentáveis, baixo consumo de energia e geração de resíduos evidenciados pelo emprego das métricas verdes Eco Escala Analítica e GAPI.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O desenvolvimento de solventes ambientalmente amigáveis para substituição de solventes orgânicos e tóxicos têm sido uma das principais áreas da química analítica verde. Além dessa área, outros estudos vêm sendo conduzidos para métodos de preparo de amostras que enfatizam baixo consumo energético e de reagentes sem perder a qualidade e necessidades analíticas, como precisão, exatidão, sensibilidade, robustez, dentre outros.

O presente trabalho sintetizou-se solventes eutéticos profundos naturais (NADES) a partir de ácido cítrico, ácido málico, xilitol e água a partir de proporção previamente otimizada. Avaliou-se as propriedades de viscosidade e densidade dos solventes e os resultados foram considerados como ideais pois solventes com baixa viscosidade e densidade apresentam maior eficiência no preparo de amostras, por favorecerem reações de transferência de massa.

Empregou-se a extração assistida por radiação micro-ondas (MAE) e extração assistida por ultrassom (UAE) que foram otimizadas por meio de planejamentos do tipo Doehlert. Através da avaliação estatística das variáveis temperatura, tempo e razão massa de amostra por volume de NADES. Os resultados obtidos demonstraram os NADES como solventes promissores para extração de As, Cd e Pb com vantagens sobre a técnica convencional de preparo de amostra (MW-AD) pelo uso de solventes biodegradáveis, geração de resíduo biodegradável, maior segurança ao operador e ao ambiente.

Os NADES podem ser direcionados, futuramente, para aplicações em métodos de preparo de amostras para determinação elementar, pois além de sustentáveis, os solventes apresentam elevada seletividade.

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, A.P.; CAPPER, G.; DAVIES, D.L.; MUNRO, H.L., RASHEED, R.; TAMBYRAJAH, V. *Chemical Communication*, v. 0, p. 2010-2011, 2001.
- AFONNE, O. J., & IFEDIBA, E. C. (2020). Heavy metals risks in plant foods – need to step up precautionary measures. In *Current Opinion in Toxicology* (Vol. 22, pp. 1–6). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.cotox.2019.12.006>
- AGGARWAL, V.K.; EMME, I.; MEREU, A. *Chemical Communication*, v. 2002, n. 15, p. 1612-1613, 2002.
- ANASTAS, P. T. (1999). Green Chemistry and the role of analytical methodology development. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 29(3), 167–175. <https://doi.org/10.1080/10408349891199356>
- ANASTAS, P. T., & KIRCHHOFF, M. M. (2002). Origins, current status, and future challenges of green chemistry. *Accounts of Chemical Research*, 35(9), 686–694. <https://doi.org/10.1021/ar010065m>
- ANGUMEENAL, A. R., & VENKAPPAVVA, D. (2013). An overview of citric acid production. *LWT - Food Science and Technology*, 50(2), 367–370. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2012.05.016>
- ARMENTA, S.; GARRIGUES, S.; DE LA GUARDIA, M. *Green Analytical Chemistry. TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, v. 27, n. 6, p. 497–511, 2008.
- BIANCHI, S., et al. *Analytical Letters*, v. 45, p. 2845–2855, 2012.
- ATSEVER, N., BORAHAN, T., GIRGIN, A., SELALI CHORMEY, D., & BAKIRDERE, S. (2021). A simple and effective determination of methyl red in wastewater samples by UV–Vis spectrophotometer with matrix matching calibration strategy after vortex assisted deep eutectic solvent based liquid phase extraction and evaluation of green profile. *Microchemical Journal*, 162, 105850. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105850>.
- BILLIARD, K. M.; DERSHEM, A. R.; GIONFRIDDO, E. Implementing Green Analytical Methodologies Using Solid-Phase Microextraction: A Review. *Molecules* 2020 25(22) 5297, <https://doi.org/10.3390/molecules25225297>.
- CANAL, J.P.; RAMNIAL, T.; DICKIE, D.A.; CLYBURN, J.A.C. *Chemical Communications*, v. 2006, n. 17, p. 1809-1818, 2006.
- CHEN, X. Q., LI, Z. H., LIU, L. L., WANG, H., YANG, S. H., ZHANG, J. S., & ZHANG, Y. (2021). Green extraction using deep eutectic solvents and antioxidant activities of flavonoids from two fruits of *Rubia* species. *LWT*, 148, 111708. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111708>

CHOI, Y.H., VAN SPRONSEN, J., DAI Y., VERBERNE M., HOLLMANN F., I.W.C.E. Arends, et al., Are natural deep eutectic solvents the missing link in understanding cellular metabolism and physiology?, *Plant Physiol.* 156 (2011) 1701–1705.

COSTA, F. S., MOREIRA, L. S., SILVA, A. M., SILVA, R. J., DOS SANTOS, M. P., DA SILVA, E. G. P., GRASSI, M. T., GONZALEZ, M. H., & AMARAL, C. D. B. 2022). Natural deep eutectic solvent-based microwave-assisted extraction in the medicinal herb sample preparation and elemental determination by ICP OES. *Journal of Food Composition and Analysis*, 109, 104510. <https://doi.org/10.1016/J.JFCA.2022.104510>.

CRAVEIRO, R., CASTRO, V.I.B., VICIOSA, M.T., DIONÍSIO, M., REIS, R.L., C. Duarte, ANA RITA, PAIVA, A (2021). Influence of natural deep eutectic systems in water thermal behavior and their applications in cryopreservation - *Journal of Molecular Liquids*. v 329. DOI: 10.1016/j.molliq.2021.115533

DAI, Y. Natural Deep Eutectic Solvents and their application in natural product research and development. 2013. 193f. Dissertação (Doutorado) – Universidade de Leiden, Leiden, 2013.

DE ALMEIDA PONTES, P. V., AYUMI SHIWAKU, I., MAXIMO, G. J., & CALDAS BATISTA, E. A. (2021). Choline chloride-based deep eutectic solvents as potential solvent for extraction of phenolic compounds from olive leaves: Extraction optimization and solvent characterization. *Food Chemistry*, 352, 129346. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129346>

DELGADO ARCAÑO, Y., VALMAÑA GARCIA, O. D., MANDELLI, D., CARVALHO, W. A., & MAGALHÃES PONTES, L. A. (2020). Xylitol: A review on the progress and challenges of its production by chemical route. *Catalysis Today*, 344, 2–14. <https://doi.org/10.1016/J.CATTOD.2018.07.060>

DOLDOLOVA, K., BENER, M., LALIKOGLU, M., ASCI, Y. S., ARAT, R., & APAK, R. (2021). Optimization and modeling of microwave-assisted extraction of curcumin and antioxidant compounds from turmeric by using natural deep eutectic solvents. *Food Chemistry*, 353, 129337. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2021.129337>

DWAMENA, A. K. (2019). Recent advances in hydrophobic deep eutectic solvents for extraction. *Separations*, 6(1). <https://doi.org/10.3390/separations6010009>
ESPINO, M.; FERNANDEZ, M.A.; GOMEZ, F.J.V.; SILVA, M.F. *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.

FERREIRA, N. S., OLIVEIRA, L. H. B., AGRELLI, V., de OLIVEIRA, A. F., NOGUEIRA, A. R. A., OLIVEIRA, A., & GONZALEZ, M. H. (2019). Bioaccumulation and acute toxicity of As(III) and As(V) in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Chemosphere*, 217, 349–354. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.11.013>
GHANDI, K. *Green and Sustainable Chemistry*, v. 4, p. 44-53, 2014.

FLORINDO, C., LIMA, F., RIBEIRO, B. D., & MARRUCHO, I. M. (2019). Deep eutectic solvents: overcoming 21st century challenges. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, 18, 31–36. <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2018.12.003>.

GALUSKA A., MIGASZEWSKI Z.M., KONIECZKA P., NAMIE'SNIK J., Analytical Eco-Scale for assessing the greenness of analytical procedures, *TrAC Trends Anal. Chem. (Reference Ed.)* 37 (2012) 61–72, <https://doi.org/10.1016/J.TRAC.2012.03.013>.

GAMAL, M., NAGUIB, I. A., PANDA, D. S., & ABDALLAH, F. F. (2021). Comparative study of four greenness assessment tools for selection of greenest analytical method for assay of hyoscyne: N -butyl bromide. *Analytical Methods*, 13(3), 369–380. <https://doi.org/10.1039/d0ay02169e>

GHANDI K., A review of ionic liquids, their limits and applications, *Green Sustain. Chem.* 4 (2014) 44–53, <https://doi.org/10.4236/gsc.2014.41008>.

GÖK, Ö.; ÖZCAN, A.; ERDEM, B.; ÖZCAN, A. S. Prediction of the kinetics, equilibrium and thermodynamic parameters of adsorption of copper(II) ions onto 8-hydroxy quinoline immobilized bentonite. *Colloids and Surfaces*, v. 317, p. 174-185, 2008.

GÓMEZ-LÓPEZ, P., PUENTE-SANTIAGO, A., CASTRO-BELTRÁN, A., SANTOS DO NASCIMENTO, L. A., BALU, A. M., LUQUE, R., & ALVARADO-BELTRÁN, C. G. (2020). Nanomaterials and catalysis for green chemistry. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, 24, 48–55. <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2020.03.001>

GONZALEZ, M. H., SOUZA, G. B., OLIVEIRA, R. V., FORATO, L. A., NÓBREGA, J. A., & NOGUEIRA, A. R. A. (2009). Microwave-assisted digestion procedures for biological samples with diluted nitric acid: Identification of reaction products. *Talanta*, 79(2), 396–401. <https://doi.org/10.1016/J.TALANTA.2009.04.001>

GONZALEZ, C.G., CHOI, Y. H., VEERPOORTE, R. Liquid phase extraction, Poole, C. F., Elsevier, cap. 19, 2020.

GONZALEZ, M. H., DA SILVA, C. S., AMARAL, C. D. B., BIANCHI, S. R., DE OLIVEIRA, L. H. B., COELHO, J. S., OLIVEIRA, A., & NOGUEIRA, A. R. A. (2017). Determination of elemental impurities in acyclovir ointment and raw materials using microwave acid digestion (MW-AD) and ICP-MS. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 28(1), 98–105. <https://doi.org/10.5935/0103-5053.20160151>

GRINDLAY, G., MORA, J., DE LOOS-VOLLEBREGT, M., & VANHAECKE, F. (2013). 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*, 86, 42–49. <https://doi.org/10.1016/J.SAB.2013.05.002>

GUIMARÃES, T. G. S., ANDRADE, D. F., SANTANA, A. P. R., MOSER, P., FERREIRA, S. S., MENEZES, I. M. N. R., AMARAL, C. D. B., OLIVEIRA, A., & Gonzalez, M. H. (2022). Mixture design and physicochemical characterization of amino acid-based DEEP eutectic solvents (AADES) for sample preparation prior to elemental analysis. *Journal of Molecular Liquids*, 345, 117887. <https://doi.org/10.1016/J.MOLLIQ.2021.117887>

HAQ, H. U., BALAL, M., CASTRO-MUÑOZ, R., HUSSAIN, Z., SAFI, F., ULLAH, S., & BOCZKAI, G. (2021). Deep eutectic solvents based assay for extraction and determination of zinc in fish and eel samples using FAAS. *Journal of Molecular Liquids*, 333, 115930. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.115930>

HULSBOSCH, J.; VOS, D.E.; BINNEMANS, K.; AMELOOT, R. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, v. 4, p. 2917-2931, 2016.

INMETRO. Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia. Guia para validação de métodos analíticos, DOQ-CGCRE-008, 2018. Disponível em: http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/CGCRE/DOQ/DOQ-CGCRE-8_05.pdf. Acesso em 08 de fevereiro de 2022.

IMPERATO, G.; EIBLER, E.; NIEDERMAIER, J.; KONIG, B. *Chemical Communications*, v. 9, p. 1170-1172, 2005.

IONASHIRO, M. *Giolito: Fundamentos da Termogravimetria e Análise Térmica Diferencial e Calorimetria Exploratória Diferencial*, Giz Editorial: São Paulo, 2005.

JI, Y., ZHAO, M., LI, A., & ZHAO, L. (2021). Hydrophobic deep eutectic solvent-based ultrasonic-assisted dispersive liquid-liquid microextraction for preconcentration and determination of trace cadmium and arsenic in wine samples. *Microchemical Journal*, 164, 105974. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.105974>

KEITH, L. H., GRON, L. U., YOUNG, J. L., SAFETY, C., WAY, C., COLLEGE, H., & AVENUE, W. (2007). *Green Analytical Methodologies*.

KHOE, G. H.; EMETT, M. T.; ROBINS, R. G.; *Photoassisted Oxidation of Species in Solution*. US. Pat. 5688378, 1997.

KIM, J. H. (2017). *Extraction time and temperature affect the extraction efficiencies of coumarin and phenylpropanoids from Cinnamomum cassia bark using a microwave-assisted extraction method*. *Journal of Chromatography B*, 1063, 196–203. <https://doi.org/10.1016/J.JCHROMB.2017.08.008>

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-depublicacoes/-/publicacao/45709/guia-pratico-de-perguntas-e-respostas-sobre-icpoes-icp-ms-e-preparo-de-amostras>. Acesso em 01 de Maio de 2022.

KUMAR, A., KUMAR, A., M M S, C. P., CHATURVEDI, A. K., SHABNAM, A. A., SUBRAHMANYAM, G., MONDAL, R., GUPTA, D. K., MALYAN, S. K., S KUMAR,

S., A KHAN, S., & YADAV, K. K. (2020). Lead Toxicity: Health Hazards, Influence on Food Chain, and Sustainable Remediation Approaches. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(7). <https://doi.org/10.3390/ijerph17072179>.

LEE, J. W., HAN, M. S., CHOI, S., YI J., LEE, T. W., & LEE, S. Y. (2011). Organic Acids: Succinic and Malic Acids. *Comprehensive Biotechnology, Second Edition*, 3, 149–161. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-088504-9.00183-5>

LÓPEZ-LINHARES, J., CAMPILLO, V., COCA, M., LUCAS, S., GARCÍA-CUBERO, M. T. Microwave-assisted deep eutectic solvent extraction of phenolic compounds from brewer's spent grain. Wiley Online Library. <https://doi.org/10.1002/jctb.6565>.

MAKOS, P., SLUPEK, E., & GEBICKI, J. (2020). Hydrophobic deep eutectic solvents in microextraction techniques—A review. *Microchemical Journal*, 152(October 2019), 104384. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104384>

MARÍA, P.D. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, v. 89, n. 1, p. 11-18, 2014.

MARTINS, M. A. R., CRESPO, E. A., PONTES, P. V. A., SILVA, L. P., BULOW, M., MAXIMO, G. J., BATISTA, E. A. C., HELD, C., PINHO, S. P., & COUTINHO, J. A. P. (2018). Tunable Hydrophobic Eutectic Solvents Based on Terpenes and Monocarboxylic Acids. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 6(7), 8836–8846. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.8b01203>

MASSOUD, R., HADIANI, M. R., HAMZEHLU, P., & KHOSRAVI-DARANI, K. (2019). Bioremediation of heavy metals in food industry: Application of *Saccharomyces cerevisiae*. In *Electronic Journal of Biotechnology* (Vol. 37, pp. 56–60). Pontificia Universidad Catolica de Valparaiso. <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2018.11.003>.

MAO, Y., ROBINSON, J., & BINNER, E. (2021). Understanding heat and mass transfer processes during microwave-assisted and conventional solvent extraction. *Chemical Engineering Science*, 233, 116418. <https://doi.org/10.1016/J.CES.2020.116418>.

MEINE, N.; BENEDITO, F.; RINALDI, R. *Green Chemistry*, v. 12, n. 10, p. 1711-1714, 2010.

MOHD FUAD, F., MOHD NADZIR, M., & HARUN@KAMARUDDIN, A. (2021). Hydrophilic natural deep eutectic solvent: A review on physicochemical properties and extractability of bioactive compounds. *Journal of Molecular Liquids*, 339, 116923. <https://doi.org/10.1016/J.MOLLIQ.2021.116923>.

MOREIRA, L. S., SANTANA, A. P. R., COSTA, F. S., VERA, J. B., GONZALEZ, M. H., DA SILVA, E. G. P., & AMARAL, C. D. B. (2020). 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*, 00(00), 1–12. <https://doi.org/10.1080/03067319.2020.1826460>

NUNES, J.A. Desenvolvimento de método para determinação de Ag, As, Cd, Co, Mn, Ni, Pb e Se em sangue por espectrometria de massas com fonte de plasma acoplado indutivamente (ICP-MS) utilizando diluição das amostras em meio alcalino. 2009. 94f. Dissertação (Mestrado)- Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2009.

OKEREAFOR, U., MAKHATHA, M., MEKUTO, L., UCHE-OKEREAFOR, N., SEBOLA, T., & MAVUMENGWANA, V. (2020). Toxic Metal Implications on Agricultural Soils, Plants, Animals, Aquatic life and Human Health. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(7), 1–24. <https://doi.org/10.3390/ijerph17072204>

OLIVEIRA, L. H. B., FERREIRA, N. S., OLIVEIRA, A., NOGUEIRA, A. R. A., & GONZALEZ, M. H. (2017). Evaluation of distribution and bioaccumulation of arsenic by ICP-MS in tilapia (*oreochromis niloticus*) cultivated in different environments. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 28(12), 2455–2463. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20170101>

PANNEERSELVAM, P., MORAD, N., & TAN, K. A. (2011). Magnetic nanoparticle (F3O4) impregnated onto tea waste for the removal of nickel (II) from aqueous solution. *Journal of Hazardous Materials*, 186(1), 160–168. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.10.102>

PAVIA, D.L., LAMPMAN, G.M., KRIZ, G.S., VYVYAN, J.R.. *Introdução à Espectroscopia*, Cengage Learning, 2010.

PEREIRA FILHO, E. R., “Planejamento fatorial em química: Maximizando a obtenção de resultados”. São Carlos: EdUFScar, 2018.

PINHEIRO, F. C., BABOS, D. V., BARROS, A. I., PEREIRA-FILHO, E. R., & NÓBREGA, J. A. (2019). Microwave-assisted digestion using dilute nitric acid solution and investigation of calibration strategies for determination of As, Cd, Hg and Pb in dietary supplements using ICP-MS. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 174, 471–478. <https://doi.org/10.1016/J.JPBA.2019.06.018>

PLOTKA-WASYLKA, J. (2018). *Talanta*, “A new tool for the evaluation of the analytical procedure: Green Analytical Procedure Index”. 181 (September 2017), 204–209. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.01.013>

POPOVIC, B. M., MICIE, N., POTKONJAK, A., BLAGOJEVIC, B., PAVLOVIC, K., MILANOV, D., & JURIC, T. (2022). Novel extraction of polyphenols from sour cherry pomace using natural deep eutectic solvents – Ultrafast microwave-assisted NADES preparation and extraction. *Food Chemistry*, 366, 130562. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2021.130562>

PRADO, A.G.S. *Química Nova*, Brasília, v. 26, n. 5, p. 738-744, 2003.

PLOTKA-WASYLKA, J., MOHAMED, H. M., KUROWSKA-SUSDORF, A., DEWANI, R., FARES, M. Y., & ANDRUCH, V. (2021). *Green analytical chemistry as*

an integral part of sustainable education development.
<https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2021.100508>

RAHMAN M. S., ROY, R., JADHAV, B., HOSSAIN, M. N., HALIM, M. A., & RAYNIE, D. E. (2021). Formulation, structure, and applications of therapeutic and amino acid-based deep eutectic solvents: An overview. In *Journal of Molecular Liquids* (Vol. 321, p. 114745). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.114745>

REN, K., XIA, Q., LIU, Y., CHENG, W., ZHU, Y., LIU, Y., YU, H. Wood/polyimide composite via a rapid substitution compositing method for extreme temperature conditions. *Composites Science and Technology* – 2021. <https://doi.org/10.1016/j.compscitech.2021.108698>

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

SAHANI, S., & SHARMA, Y. C. (2021). Advancements in applications of nanotechnology in global food industry. In *Food Chemistry* (Vol. 342, p. 128318). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128318>

SAJID, M., & PLOTKA-WASYLKA, J. (2022). Green analytical chemistry metrics: A review. *Talanta*, 238, 123046. <https://doi.org/10.1016/J.TALANTA.2021.123046>

SANTANA, A. P. R., ANDRADE, D. F., GUIMARÃES, T. G. S., AMARAL, C. D. B., OLIVEIRA, A., & GONZALEZ, M. H. (2020). Synthesis of natural deep eutectic solvents using a mixture design for extraction of animal and plant samples prior to ICP-MS analysis. *Talanta*, 216(April), 120956. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.120956>

SANTANA, A. P. R., ANDRADE, D. F., MORA-VARGAS, J. A., AMARAL, C. D. B., OLIVEIRA, A., & GONZALEZ M. H. (2019a). Natural deep eutectic solvents for sample preparation prior to elemental analysis by plasma-based techniques. *Talanta*, 199(February), 361–369. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.02.083>

SANTANA, A. P. R., MORA-VARGAS, J. A., GUIMARÃES, T. G. S., AMARAL, C. D. B., OLIVEIRA, A., & GONZALEZ, M. H. (2019b). Sustainable synthesis of natural deep eutectic solvents (NADES) by different methods. *Journal of Molecular Liquids*, 293, 111452. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2019.111452>.

SHAFIE, M. H., YUSOF, R., & GAN, C. Y. (2019). Deep eutectic solvents (DES) mediated extraction of pectin from Averrhoa bilimbi: Optimization and characterization studies. *Carbohydrate Polymers*, 216, 303–311. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.04.007>

SAVI, L. K., CARPINÉ, D., WASZCZYNSKYJ, N., RIBANI, R. H., & HAMINIUK, C. W. I. (2019). 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*, 488, 40–47. <https://doi.org/10.1016/j.fluid.2019.01.025>

SUKOR, N. F., SELVAM, V. P., JUSOH, R., KAMARUDIN, N. S., & RAHIM, S. A. (2021). Intensified DES mediated ultrasound extraction of tannic acid from onion peel.

THOMAS, R. Practical Guide to ICP-MS: A Tutorial for Beginners, CRC Press: New York, n.3, 2013.

TURKER, D. A., DOGAN, M. (2021). Application of deep eutectic solvents as a green and biodegradable media for extraction of anthocyanin from black carrots. LWT, 138, 110775. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110775>

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.

TOBISZEWSKI, M. (2015). Green Chemistry Metrics with Special Reference to Green Analytical Chemistry. 10928–10946. <https://doi.org/10.3390/molecules200610928>

TOKALIOGLU, S.; GURBUZ, F. Selective determination of copper and iron in various food samples by the solid phase extraction. Food Chemistry., v.123, p. 183, 2010.

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

VERA, J. B., BISINOTI, M. C., AMARAL, C. D. B., & GONZALEZ, M. H. (2021). ICP- quadrupole MS for accurate determination of chromium in environmental and food matrices. Environmental Nanotechnology, Monitoring and Management, 15(November 2020). <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2020.100421>

VISSER, A.E.; SWATLOSKI, R.P.; ROGERS, R.D. Green Chemistry, v. 2, p. 1-4, 2000.

WANG, D.-D., LU, Z.-H., YANG, M.-N., GUO, H.-M., & YANG, Z.-H. (2020). A Choline Chloride-Ethylene Glycol Deep Eutectic Solvent Based on Magnetic Polydopamine with Preconcentration and Determination for Sulfonylurea Herbicides in Water Samples. Journal of the Brazilian Chemical Society, 00(00), 1–9. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20200037>

WANG, S.; PENG, X.; ZHONG, L.; JING, S.; CAO, X. Carbohydrate Polymers, v. 117, p. 133-139, 2015.

WELTON, T. Chemical Reviews, v.99, n.8, p. 2071-2084, 1999.

XIN, R.; QI, S.; ZENG, C.; KHAN, F.I.; YANG, B.; WANG, Y. Food Chemistry, v. 217, p. 560-567, 2017.

XU, K., WANG, Y., DING, X., HUANG, Y., Li, N., & WEN, Q. (2016). Magnetic solid-phase extraction of protein with deep eutectic solvent immobilized magnetic graphene oxide nanoparticles. Talanta, 148, 153–162. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.10.079>
YANG, L., ZHANG, Y., WANG, F., LUO, Z., GUO, S., & STRAHLE, U. (2020). Toxicity of mercury: Molecular evidence. Chemosphere, 245. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125586>.

YILMAZ, B., TEREKECI, H., SANDAL, S., & KELESTIMUR, F. (2019). Endocrine disrupting chemicals: exposure, effects on human health, mechanism of action, models for testing and strategies for prevention. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 127–147. <https://doi.org/10.1007/s11154-019-09521-z>