

SOLVENTES EUTÉTICOS NATURAIS PROFUNDOS (NADES) NO PREPARO DE AMOSTRAS DE ROCHA FOSFÁTICA E SUPLEMENTO MINERAL PARA DETERMINAÇÃO ELEMENTAR POR TÉCNICAS DE PLASMA**Ana P. R. Santana^a, Daniel F. Andrade^b, Taciana G. S. Guimarães^a, Clarice D. B. Amaral^c, Andrea Oliveira^{c*,[✉]}, Ana R. A. Nogueira^d e Mario H. Gonzalez^a**^aDepartamento de Química e Ciências Ambientais, Instituto Nacional de Tecnologias Alternativas para Detecção, Avaliação Toxicológica e Remoção de Contaminantes Emergentes e Radioativos, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 15054-000 São José do Rio Preto – SP, Brasil^bDepartamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, 13565-905 São Carlos – SP, Brasil^cDepartamento de Química, Universidade Federal do Paraná, 81531-980 Curitiba – PR, Brasil^dEmbrapa Pecuária Sudeste, 13560-970 São Carlos – SP, Brasil

Recebido em 11/10/2020; aceito em 26/01/2021; publicado na web em 24/02/2021

NATURAL DEEP EUTECTIC SOLVENTS (NADES) IN SAMPLE PREPARATION OF PHOSPHATE ROCK AND MINERAL SUPPLEMENT FOR ELEMENTARY DETERMINATION BY PLASMA-BASED TECHNIQUES. Natural deep eutectic solvents (NADES) based on xylitol, citric acid, and malic acid were synthesized and used in ultrasound-assisted extraction (UAE) and heating-bath extraction of phosphate rock and mineral supplement samples. Arsenic, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P and Zn were determined by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) and inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES). The results showed the NADES as promising solvents for extraction of inorganic matrices compared to reference values and concentrations obtained using microwave-assisted acid digestion (MW-AD). Significant differences were observed for some elements, suggesting different chemical interactions between the synthesized NADES and each monitored element. For analytes extraction of phosphate rock, UAE presented the best results for As, Cr and P. Zinc was extracted with UAE and heating bath. Concerning mineral supplement, no significant differences were observed for Ca (UAE), Cd (UAE and heating bath), K (UAE and heating bath), Mn (UAE and heating bath), Na (UAE and heating bath), and P (UAE and heating bath). The NADES is a greener and a potentially alternative for the sample preparation compared to the official methods of analysis, can being used as selective extractor solvent in conventional sample preparation methods.

Keywords: NADES; sample preparation; green chemistry; inorganic composition; inorganic samples.**INTRODUÇÃO**

Em procedimentos experimentais como digestão ou extração, os solventes apresentam um papel crucial na etapa de preparo de amostra por meio da dissolução de sólidos, transferência de massa e extração de analitos.¹ Portanto, há um grande interesse nos estudos para o desenvolvimento de novos solventes verdes, visando principalmente a substituição de solventes considerados voláteis e de elevada inflamabilidade e toxicidade.^{1,2}

Considerando a determinação elementar de nutrientes e contaminantes em fertilizantes e suplementos minerais, a maioria dos métodos analíticos inclui algum tratamento da amostra. O preparo de amostra é uma etapa de extrema importância em um procedimento analítico, pois perdas dos analitos ou contaminações podem comprometer a precisão e a exatidão do resultado final.^{3,4}

Os solventes eutéticos profundos (DES) são formados por um composto receptor de ligação de hidrogênio (HBA), com um composto doador de ligação de hidrogênio (HBD) dando origem a uma mistura que forma um sistema eutético, com ponto de fusão abaixo do apresentado por cada precursor individualmente.⁵ Quando os compostos que constituem os DES são aminoácidos, ácidos orgânicos, açúcares, ureia ou derivados de colina, os DES são denominados de solventes eutéticos naturais profundos (NADES).^{6,7} Durante a síntese dos NADES (e DES) não há qualquer solvente adicional ou formação de subprodutos, resultando em um material facilmente biodegradável.⁸

Os NADES oferecem vantagens como baixa toxicidade, biodegradabilidade, estabilização de soluto, sustentabilidade, preparo simples e viscosidade e densidade ajustáveis.⁹ Em geral, combinações de cloreto de colina e seus derivados (receptor de ligação de hidrogênio) com glucose, xilitol, ácido cítrico, ácido málico, ácido oxálico, ácido tartárico, ácido propanoico e frutose, atuando como doadores de ligação de hidrogênio, são os principais exemplos relatados na literatura sobre síntese dos NADES.¹⁰

A digestão ácida assistida por radiação micro-ondas (MW-AD) é um dos procedimentos mais utilizados na etapa de preparo de amostra, e pode ser utilizado como método padrão para estudos de preparo de amostra.¹¹⁻¹⁴ A extração assistida por radiação ultrassônica (UAE) tem sido utilizada para o preparo de amostra. As ondas acústicas, com frequência entre 20 e 1000 kHz, ocasionam a agitação e o aquecimento do meio, podendo gerar o fenômeno de cavitação, que envolve a nucleação, o crescimento e a implosão de microbolhas em líquidos.¹⁵ O colapso das bolhas durante a irradiação de um líquido em um campo ultrassônico resulta em perturbações que elevam a temperatura e a pressão localizadas, produzindo microjatos.¹⁶ Esses por sua vez causam erosão na amostra sólida e auxiliam na extração dos analitos, assim como o aumento da temperatura.¹⁶ Além disso, o efeito de homogeneização intensa gerado pela propagação do ultrassom no meio líquido contribui para o aumento da transferência de massa, melhorando de forma significativa a taxa de transferência.¹⁷ No geral, mecanismos de cavitação, fragmentação, erosão, efeito sonoro-capilar, sonoporação, estresse de cisalhamento local e destruição de texturação agem na UAE, cuja eficiência provavelmente ocorre devido à uma combinação desses efeitos.¹⁷ Procedimentos de

*e-mail: andrea.oliveira@ufpr.br

UAE foram utilizados nos mais diferentes tipos de amostra como solo, sedimento, vegetal, tecido animal e lama empregando soluções em meio ácido.¹⁸⁻²¹

Os fertilizantes constituem uma importante fonte de nutrientes essenciais para as plantas e solo. No entanto, fertilizantes fosfatados podem conter elementos potencialmente tóxicos, originários da rocha ou da matéria-prima empregada para sua industrialização.²² Esses elementos podem ser absorvidos pelas plantas e ingressar na cadeia alimentar.²³ Estima-se que as rochas fosfatadas usadas na produção de fertilizantes são as maiores fontes de contaminação de Cd em solos agrícolas.²⁴ O conhecimento da concentração dos elementos em rochas fosfatadas é fundamental, devido ao seu uso como matéria prima para a produção de fertilizantes fosfatados.

A suplementação animal garante os níveis adequados de elementos essenciais, tais como Ca, Cu, Fe, K, Na, Mg, P e Zn, evitando que sua deficiência cause alterações nas funções metabólicas dos animais.²⁵ Por exemplo, o Ca é importante para a formação dos ossos e manutenção dos músculos, enquanto que o fósforo apresenta uma função importante na formação dos fosfolipídios e na microbiota do rúmen em ruminantes.^{25,26} Elementos como Cu, Fe, Mg e Zn são encontrados na estrutura de certas enzimas que são indispensáveis em várias vias bioquímicas.²⁵ Além disso, estudos apontam que o emprego da suplementação animal tem apresentado um aumento na porcentagem de nascimento e na taxa de crescimento e redução do índice de mortalidade em bovinos.²⁶

Entre os macronutrientes e micronutrientes presentes em suplementos minerais, há pelo menos 15 minerais que são essenciais para a nutrição dos bovinos.²⁷ Entretanto, estudos mostraram que elementos potencialmente tóxicos presentes em suplementos minerais para animais podem ocasionar alterações de ordem reprodutiva.^{26,28} Diante disso, torna-se necessária a análise elementar de fertilizantes e suplementos minerais antes do uso, para verificação da composição química e para o controle da contaminação desses produtos.

Devido à capacidade de atuar como agentes de estabilização, juntamente com suas habilidades como solventes, os NADES são uma alternativa interessante para a etapa de preparo das amostras.¹⁰ A maior parte das aplicações dos NADES está relacionada à extração de analitos orgânicos como ácidos fenólicos, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), flavonoides e compostos fenólicos.²⁹

Atualmente há poucos trabalhos na literatura que relatam o uso de NADES ou DES para a extração de analitos inorgânicos.²⁹⁻³¹ NADES a base de ácido cítrico, ácido málico e xilitol foram utilizados em UAE para a extração de As, Ca, Cd, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P e Zn em amostras vegetais.³⁰ NADES foram também utilizados em procedimentos de UAE e extração assistida por radiação micro-ondas (MAE) para a extração de As, Cd, Hg, Pb, Se e V em tecidos biológicos e amostras vegetais.³¹

O objetivo deste trabalho foi a aplicação de dois NADES com diferentes combinações de ácido cítrico, ácido málico e xilitol empregando extração assistida por ultrassom (UAE) e extração por banho de aquecimento para determinação de As, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P e Zn em matrizes inorgânicas (fosfatado de rocha e suplemento mineral) por espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS) e espectrometria de emissão atômica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES). Entre as diversas características importantes dessas técnicas, está o fato de serem multielementares e apresentarem ampla faixa linear e boas sensibilidade e precisão. Além dessas, o ICP-MS oferece os baixos limites de detecção (LOD) como principal característica.³²

PARTE EXPERIMENTAL

Reagentes e amostras

Água ultrapura em sistema de ultra purificação (18 M Ω cm - ICW-3000, Merck KGaA, Darmstadt, Alemanha) foi usada em todas as extrações e no preparo de todas as soluções. As vidrarias utilizadas nos experimentos foram previamente descontaminadas em banho ácido contendo 10% (v v⁻¹) de HNO₃ por 48 h, seguido de lavagem completa com água. O procedimento de digestão ácida assistida por radiação micro-ondas (MW-AD) foi realizado com HNO₃ (Sigma-Aldrich, MO, EUA) previamente purificado usando um sistema de destilação abaixo do ponto de ebulição (sub-CLEAN PTFE, Milestone, BG, Itália) e 30% (m v⁻¹) H₂O₂ (Sigma-Aldrich, MO, EUA). Soluções padrão para as curvas de calibração foram preparadas a partir de 1000 mg L⁻¹ de soluções estoque monoelementares dos elementos químicos As, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P e Zn (Sigma-Aldrich, MO, EUA) por diluições consecutivas.

Para a síntese dos NADES foram utilizados ácido cítrico (Sigma-Aldrich, 99,5% de pureza), DL-ácido málico (Sigma-Aldrich, 99% de pureza), xilitol (Sigma-Aldrich, 99% de pureza), todos na forma de pó cristalino branco, e água. A exatidão do método foi avaliada usando materiais de referência de suplemento mineral (RM-Agro E2001a) e fosfato de rocha (RM-Agro E2003a), produzidos pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa).^{33,34}

Os seguintes equipamentos foram empregados para o preparo das amostras e determinações: agitador magnético (LAbNet, agitador AccuPlate Hotplate, Edison, NJ, EUA), balança analítica (GEHAKA, Modelo AG200, São Paulo, SP, Brasil), forno de micro-ondas (Multiware PRO – Anton Paar GmbH, Graz, Austria), banho de aquecimento (EVLAB, Modelo B.M.EV:O15, Londrina, PR, Brasil), banho ultrassônico (Eco-Sonics, Modelo Q3.0/40 A, com frequência de 40 kHz, Indaiatuba, SP, Brasil). O ICP OES (iCAP 7000, Thermo Fisher Scientific, Madison, WI, EUA) e ICP-MS modelo NexION 300X (Perkin-Elmer, Shelton, CT) foram utilizados para as determinações dos analitos.

Síntese dos NADES

Dois tipos diferentes de NADES foram preparados com base no método apresentado por Santana *et al.*³⁵ Os NADES foram preparados pelas combinações dos componentes: ácido cítrico, ácido málico e água (AC-AM) e ácido cítrico, xilitol e água (AC-Xil), com razão molar 1:1:10 de cada componente, respectivamente. As misturas foram colocadas em um béquer tampado com um vidro de relógio e aquecido em banho-maria por 2 horas a 50 °C sob agitação magnética na velocidade de 220 rpm. Foram sintetizados aproximadamente 100 mL de cada solvente, volume suficiente para os estudos realizados. Posteriormente, os solventes foram armazenados em dessecadores em temperatura ambiente para evitar a variação das propriedades físicas como densidade e viscosidade.³⁶

A densidade dos NADES foi determinada de forma volumétrica utilizando picnômetro calibrado com água a 24 °C e balança analítica com precisão de $\pm 0,0001$ g.³⁵ A viscosidade dos solventes foi determinada empregando um viscosímetro Cannon-Fenske calibrado com água a 24 °C.³⁵ As propriedades físico-químicas foram determinadas em triplicata.

Extração assistida por ultrassom (UAE) com NADES

Aproximadamente 100 mg de amostras de suplemento mineral (RM-Agro E2001a) e fosfato de rocha (RM-Agro E2003a), foram pesados diretamente em frascos de 50 mL. A seguir foram adicionados

9,0 mL de cada um dos NADES (preparados individualmente) e a mistura submetida a banho ultrassônico por 45 min. Após o tempo de extração, adicionou-se 4 mL de água e o extrato foi centrifugado a 4000 rpm por 5 minutos. Após a centrifugação, o sobrenadante foi separado do resíduo por filtração, visando evitar o contato entre o sólido e o extrato. O sobrenadante foi analisado por ICP OES e ICP-MS em até 48 h para as devidas determinações. Toda etapa de extração foi realizada em triplicata.³⁰

Extração por banho de aquecimento com NADES

Aproximadamente 100 mg das amostras de suplemento mineral (RM-Agro E2001a) e fosfato de rocha (RM-Agro E2003a) foram pesadas diretamente em frascos de 50 mL, e adicionados 9,0 mL de cada um dos NADES (sintetizados individualmente). A mistura resultante foi submetida a banho de aquecimento na temperatura de 60 °C por 45 min, sem agitação. Após a etapa de extração, adicionaram-se 4 mL de água e o extrato foi centrifugado a 4000 rpm por 5 min. Após a centrifugação, o sobrenadante foi separado do resíduo por filtração para evitar o contato entre o sólido e o extrato. O sobrenadante foi analisado por ICP OES e ICP-MS em até 48 h para as devidas determinações. Toda etapa de extração foi realizada em triplicata.

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

Digestão ácida assistida por radiação micro-ondas (MW-AD) foi empregada como método comparativo para a determinação dos teores dos elementos analisados pelos métodos de extração empregando NADES. As digestões foram realizadas em um forno micro-ondas, baseado no método descrito para a produção do material de referência de fosfato de rocha³⁴ e por Kane and Hall (2016).³⁷ Aproximadamente 200 mg de amostras foram digeridos em frascos fechados com 6 mL (7 mol L⁻¹) de ácido nítrico e 2 mL de H₂O₂ (30% m v⁻¹), empregando o seguinte programa de aquecimento: I) rampa de aquecimento até 190 °C por 20 min; II) permanência a 190 °C por 20 min e III) resfriamento até 50 °C por 10 min. Após a digestão, as amostras e os brancos tiveram seus volumes ajustados quantitativamente com água.

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

Para serem analisados por ICP OES os extratos foram diluídos no intervalo de 100 a 250 vezes. Na Tabela 1 são apresentados os parâmetros instrumentais e as linhas de emissão selecionadas para determinação de cada analito monitorado. A curva de calibração para as análises dos extratos foi realizada em meio de NADES 1% (v v⁻¹), enquanto que a curva de calibração para as análises dos digeridos foi realizada em meio de ácido nítrico 1% (v v⁻¹). Esses valores foram determinados considerando as diluições finais.

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

Os extratos anteriormente foram diluídos no intervalo de 100 a 250 vezes para serem analisados por ICP-MS. O sistema de introdução de amostra é equipado com nebulizador concêntrico, uma câmara ciclônica e uma tocha de quartzo com um tubo injetor de quartzo (2,0 mm d.i.). Os parâmetros instrumentais para o ICP-MS estão descritos na Tabela 2 e a análise foi realizada no modo de colisão com discriminação por energia cinética (KED) como estratégia de correção a base de gás hélio para evitar possível interferência poliatômica para

Tabela 1. Parâmetros instrumentais para as análises por ICP OES

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

^aModo de visão axial. I – linha atômica. ^bModo de visão radial. II – linha iônica.

Tabela 2. Parâmetros instrumentais para as análises por ICP-MS

Parâmetros Instrumentais	
Potência de radiofrequência (W)	1600
Vazão do gás do 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
Vazão do gás da cela de colisão (mL min ⁻¹)	3,0
Intervalo de calibração (µg L ⁻¹)	0,1-15
Isótopos analisados	⁷⁵ As ⁺ , ¹¹¹ Cd ⁺ , ⁵² Cr ⁺

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

^bQRO (*Quadrupole Rod Offset*): voltagem aplicada ao quadrupolo analisador de massas. ^cRPq: está relacionado a voltagem aplicadas hastes do quadrupolo.

⁷⁵As⁺ (⁴⁰Ar³⁵Cl⁺) e para ⁵²Cr⁺ (⁴⁰Ar¹²C⁺). A curva de calibração para as análises dos extratos foi realizada em meio de NADES 1% (v v⁻¹), enquanto a curva de calibração para as análises dos digeridos foi realizada em meio de ácido nítrico 1% (v v⁻¹), concentração próxima a dos extratos após diluídos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a síntese, os NADES devem apresentar-se como solventes líquidos, homogêneos e estáveis, sem a formação de precipitado em temperatura ambiente e pressão atmosférica,³⁶ o que os tornam

adequados para o uso como solventes na etapa de preparo de amostra.¹⁰ Além disso, a ocorrência de interações intermoleculares, envolvendo ligações de hidrogênio, é uma característica da formação de NADES, já evidenciada em trabalhos anteriores.^{30,35}

A adição de água na síntese dos NADES ocasiona uma diminuição nos valores de densidade e viscosidade devido ao enfraquecimento dessas interações intermoleculares.³⁸ Viscosidade e densidade são características físico-químicas importantes que influenciam a eficiência de extração.³⁹ Baixos valores de densidade e viscosidade aumentam a difusividade, ocasionando um maior movimento das moléculas e consequentemente aumentando a eficiência de extração.^{40,41} Os valores de densidade determinados foram $1,3260 \pm 0,0002$ e $1,3130 \pm 0,0001$ g mL⁻¹ e viscosidade de $9,24 \pm 0,06$ e $11,09 \pm 0,21$ mPa.s, ambos para NADES AC-AM e NADES AC-Xil, respectivamente, a 24 °C.³⁰

Considerando a determinação elementar por técnicas de plasma (i.e. ICP OES e ICP-MS), a viscosidade é um parâmetro importante na representatividade das amostras, influenciando nos processos de formação e transporte do aerossol até o plasma. Quanto maior a viscosidade, maior a tensão superficial e, consequentemente, menor a eficiência de introdução da amostra para o plasma.⁴² A viscosidade da solução afeta a formação do *spray* no nebulizador, portanto o tamanho das gotas e sua separação na câmara de nebulização são prejudicadas. Soluções mais viscosas geram gotas maiores e em menor quantidade, o que evidencia a importância da calibração do equipamento de análise empregando solução a base do solvente extrator, garantindo a compatibilização da matriz. Dessa forma, evita-se a falsa conclusão de que a extração foi menos eficiente quando se emprega um solvente mais viscoso, quando na realidade o que ocorre é a introdução de um menor volume de solução, diminuindo a sensibilidade do método.⁴²

Estudos descrevem que o teor de água acima de 50% (m m⁻¹) na síntese dos NADES dificulta significativamente a formação das interações intermoleculares de solventes eutéticos a base de cloreto de colina, levando à perda das suas propriedades físico-químicas.³⁸ A ruptura das ligações de hidrogênio dos NADES leva à perda da eficiência de extração dos analitos em diferentes matrizes.^{38,43} No presente estudo, os NADES foram sintetizadas usando 10 moles

de água (aproximadamente 36% m m⁻¹), resultando em solventes com menor viscosidade em comparação com outros baseados em semelhantes combinações de precursores, anteriormente apresentados na literatura.^{44,45}

Devido aos seus precursores, os NADES apresentam elevados teores de carbono, o que pode ocasionar interferência de transporte ou ainda instabilidade no plasma, dependendo da quantidade de carbono presente.^{46,47} Além disso, já foi demonstrado que as reações de transferência de carga com as espécies de carbono ocasionam aumento da taxa de ionização de alguns analitos devido ao aumento da população de átomos e íons dos analitos em estado excitado, resultando em aumento da sensibilidade, em razão do aumento do sinal analítico.⁴⁸

Após a síntese dos dois diferentes NADES buscou-se avaliar sua potencialidade para a extração de As, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P e Zn em amostras de materiais de referência de suplemento mineral e fosfato de rocha com o auxílio de ultrassom e banho por aquecimento. Os resultados obtidos foram comparados com o procedimento comparativo empregado (MW-AD) e com os valores descritos nos laudos dos materiais de referência. Nas Tabelas 3 e 4 estão apresentados os teores indicados nos laudos dos materiais de referência, os obtidos para os analitos avaliados empregando MW-AD e extração pelos diferentes NADES utilizados, empregando UAE e extração por banho de aquecimento para as amostras de fosfato de rocha e suplemento mineral, respectivamente.

Os limites de detecção (LOD) para os métodos de MW-AD, UAE e extração por aquecimento foram calculados considerando o desvio padrão de dez medições da solução do branco (S_{branco}) e o valor da inclinação da curva de calibração (a), de acordo com a equação $LOD = 3 \cdot (S_{\text{branco}}) / a$.^{49,50} Para as análises no ICP OES os valores de LOD variaram de $1,61 \cdot 10^{-2}$ mg kg⁻¹ para Ca a $2,45 \cdot 10^{-3}$ mg kg⁻¹ para Mg enquanto que para as análises no ICP-MS os valores de LOD variaram de $1,68 \cdot 10^{-3}$ mg kg⁻¹ para As a $1,96 \cdot 10^{-4}$ mg kg⁻¹ para Cd.

Os resultados de recuperação obtidos empregando o método padrão (MW-AD) nas amostras de suplemento mineral foram de 88% (para Ca) a 110% (para Mn), com exceção do elemento K com 77% de concordância. Para as amostras de fosfato de rocha,

Tabela 3. Concentrações (média \pm desvio padrão, n = 3) de As, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P e Zn em amostras de fosfato de rocha (RM-Agro 2003a) empregando digestão ácida assistida por radiação micro-ondas (MW-AD), extração assistida por ultrassom (UAE) e extração em banho de aquecimento

FOSFATO DE ROCHA											
Analito	Valor certificado ^c (mg kg ⁻¹)	MW-AD		AC-AM ^a				AC-Xil ^b			
				UAE		Banho de aquecimento		UAE		Banho de aquecimento	
		Valor obtido (mg kg ⁻¹)	R* (%)	Valor obtido (mg kg ⁻¹)	R* (%)	Valor obtido (mg kg ⁻¹)	R* (%)	Valor obtido (mg kg ⁻¹)	R* (%)	Valor obtido (mg kg ⁻¹)	R* (%)
As	15,5 \pm 7,2	14,5 \pm 0,73	94	13,4 \pm 1,5	86	9,4 \pm 0,56	61	11,7 \pm 0,010	75	5,9 \pm 1,7	38
Ca	36,0 \pm 5,6 ^d	30,5 \pm 1,7 ^d	85	27,1 \pm 2,6 ^d	75	22,6 \pm 5,0 ^d	63	22,9 \pm 1,7 ^d	64	19,9 \pm 1,7 ^d	55
Cd	21,3 \pm 3,0	16 \pm 0,7	75	13,1 \pm 1,4	61	11,8 \pm 0,81	56	15,1 \pm 0,30	71	14,2 \pm 0,090	67
Cr	288,8 \pm 18,9	218,7 \pm 1,5	76	286,4 \pm 2,4	99	66,1 \pm 1,4	23	236,1 \pm 1,9	82	95,6 \pm 0,010	33
Cu	36,2 \pm 12,6	36,9 \pm 0,10	102	19,2 \pm 0,10	53	19,8 \pm 0,030	55	16,4 \pm 0,040	45	14,8 \pm 0,0030	41
Fe	1708,6 \pm 62,1	1360,6 \pm 0,10	80	205,4 \pm 0,030	12	301,1 \pm 0,10	18	165,7 \pm 0,12	10	204,9 \pm 0,020	12
K	567,9 \pm 51,7	670,9 \pm 0,10	118	263 \pm 0,1	46	342 \pm 0,1	60	211 \pm 0,1	37	244 \pm 0,1	43
Mg	2695,9 \pm 132,5	3064,3 \pm 0,10	114	1567,7 \pm 0,70	58	1534,9 \pm 0,20	57	1333,2 \pm 0,14	46	1377,5 \pm 0,090	51
Mn	16,3 \pm 6,9	15,3 \pm 0,10	94	6,2 \pm 0,020	38	8,2 \pm 0,010	50	4,5 \pm 0,020	28	6,2 \pm 0,020	38
Na	5350,2 \pm 273,4	5128,9 \pm 0,10	94	2687,7 \pm 0,15	50	2704,2 \pm 0,70	51	2908,2 \pm 0,11	54	2550,3 \pm 0,030	48
P	14,3 \pm 3,9 ^d	13,7 \pm 0,80 ^d	96	15,7 \pm 1,6 ^d	110	9,9 \pm 0,90 ^d	70	14,2 \pm 2,2 ^d	100	10,6 \pm 0,90 ^d	74
Zn	277,9 \pm 12,8	306,2 \pm 0,10	110	288,9 \pm 0,010	105	234,7 \pm 0,020	85	265,3 \pm 0,010	95	230,1 \pm 0,070	83

^aNADES ácido cítrico, ácido málico e água; ^bNADES ácido cítrico, xilitol e água; ^cReferências 33,34; ^dCa e P- Concentrações em % m m⁻¹; *R- % de concordância com o valor certificado.

Tabela 4. Concentrações determinadas (média \pm desvio padrão, $n = 3$) de Ca, Cd, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn em amostras de suplemento mineral (RM-Agro 2001a) empregando digestão ácida assistida por radiação micro-ondas (MW-AD), extração assistida por ultrassom (UAE) e extração em banho de aquecimento

Analito	Valor certificado (g kg ⁻¹)	SUPLEMENTO MINERAL									
		MW-AD		AC-AM ^a				AC-Xil ^b			
		Valor obtido (g kg ⁻¹)	R* (%)	UAE		Banho de aquecimento		UAE		Banho de aquecimento	
		Valor obtido (g kg ⁻¹)	R* (%)	Valor obtido (g kg ⁻¹)	R* (%)	Valor obtido (g kg ⁻¹)	R* (%)	Valor obtido (g kg ⁻¹)	R* (%)	Valor obtido (g kg ⁻¹)	R* (%)
Ca	187,8 \pm 36,3	166,7 \pm 0,70	88	178,3 \pm 1,8	97	152,2 \pm 1,5	81	174,5 \pm 0,80	93	137,9 \pm 1,0	74
Cd	425,3 \pm 76,4 ^d	450,4 \pm 0,20 ^d	106	460,7 \pm 1,3 ^d	108	469,8 \pm 5,1 ^d	110	511,1 \pm 0,90 ^d	120	464,8 \pm 0,70 ^d	110
Cu	803,8 \pm 86,5 ^e	775,9 \pm 0,040 ^e	97	473 \pm 1 ^e	58	463 \pm 1 ^e	58	448 \pm 1 ^e	56	436 \pm 1 ^e	54
Fe	2729 \pm 213 ^e	2914,1 \pm 0,20 ^e	107	331,9 \pm 0,050 ^e	12	451,7 \pm 0,070 ^e	17	332,2 \pm 0,090 ^e	12	331,2 \pm 0,20 ^e	12
K	35,6 \pm 4,3	27,3 \pm 1,3	77	29,6 \pm 0,10	83	28,9 \pm 0,10	81	28,7 \pm 0,20	81	28,9 \pm 0,30	76
Mg	10,8 \pm 2,7	10,3 \pm 0,20	95	6,5 \pm 0,20	61	6,7 \pm 0,60	62	6,6 \pm 1,2	61	6,6 \pm 0,30	61
Mn	1571 \pm 141 ^e	1744,1 \pm 0,020 ^e	110	1775,1 \pm 0,10 ^e	113	1444,9 \pm 0,50 ^e	92	1820,2 \pm 0,30 ^e	116	1327,7 \pm 0,10 ^e	85
Na	80 \pm 15	78,9 \pm 0,30	99	77,1 \pm 0,50	96	77,2 \pm 0,60	96	75,6 \pm 0,10	95	70,2 \pm 0,40	87
P	84,5 \pm 17,3	79,4 \pm 0,40	96	97,1 \pm 0,50	115	78,3 \pm 0,40	93	100,2 \pm 0,60	119	85,5 \pm 0,90	101

^a NADES ácido cítrico, ácido málico e água; ^b NADES ácido cítrico, xilitol e água; ^c Referências 33,34; ^d Cd- Concentrações em $\mu\text{g kg}^{-1}$; ^e Cu, Fe e Mn- Concentrações em mg kg^{-1} ; *R- % de concordância com o valor certificado.

a MW-AD apresentou concordância entre 80 e 110%, exceto para Cd e Cr com 75 e 76% de recuperação, respectivamente. A Figura 1 apresenta esquematicamente os valores para os analitos avaliados, em porcentagem, para os métodos MW-AD, UAE e extração por banho de aquecimento, para as amostras avaliadas. Foram consideradas aceitáveis as recuperações na faixa de 80 a 110%.⁴⁹

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

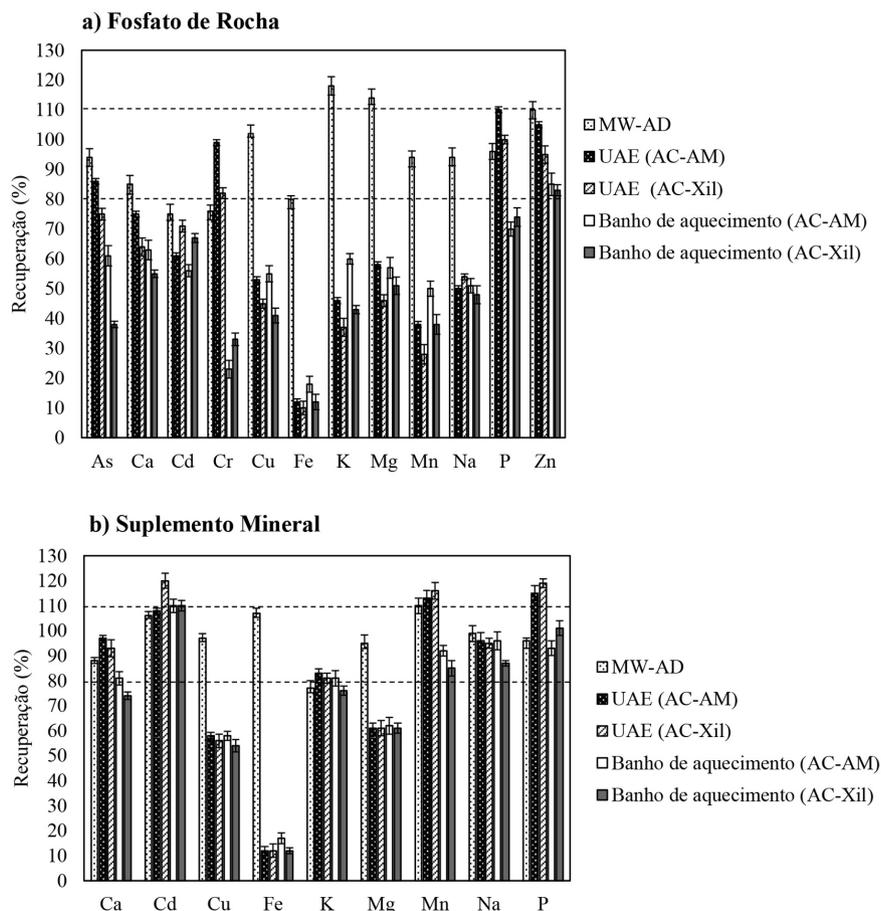


Figura 1. Valores de recuperação (%) para As, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P e Zn para os métodos de digestão ácida assistida por radiação micro-ondas (MW-AD), extração assistida por ultrassom (UAE) e extração por banho de aquecimento empregando NADES ácido cítrico, ácido málico e água (AC-AM) e NADES ácido cítrico, xilitol e água (AC-Xil) para as amostras referência a) fosfato de rocha e b) suplemento mineral^{33,34}

de fosfato de rocha e para Ca, Cd, K, Mn, Na e P em amostras de suplemento mineral.

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

Em um contexto geral, as extrações por UAE apresentaram melhores resultados quando comparadas com as extrações por banho de aquecimento. De fato, a UAE tem se mostrado uma técnica efetiva para extração de uma grande parcela de analitos e em diferentes tipos de amostras, devido ao fenômeno de cavitação que favorece a transferência de calor.^{15,16}

Os resultados obtidos pelos métodos propostos foram comparados com os valores de concentração determinados pelo método de referência (MW-AD), sendo observadas diferenças significativas ao nível de 95% de confiança (*teste t* de Student) para alguns dos casos. A comparação desses resultados revelou diferenças significativas para alguns elementos, sugerindo diferentes interações químicas entre os NADES sintetizados e cada elemento avaliado.³⁰ Na extração das amostras de fosfato de rocha, os melhores resultados foram para As (UAE e AC-AM), Cr (UAE e AC-AM), P (UAE e AC-Xil) e Zn (UAE e AC-Xil; banho de aquecimento e AC-Xil). Em relação ao suplemento mineral, não foram observadas diferenças significativas para Ca (UAE e AC-AM; UAE e AC-Xil), Cd (UAE e AC-AM; banho de aquecimento e AC-Xil), K (UAE e AC-AM; banho de aquecimento e AC-Xil), Mn (UAE e AC-AM; banho de aquecimento e AC-Xil), Na (UAE e AC-AM; banho de aquecimento e AC-Xil; banho de aquecimento e AC-AM) e P para todos os métodos avaliados.

Os dois solventes sintetizados (AC-AM e AC-Xil) foram eficientes para extração simultânea de Cd, Mn, Na e P em amostras de suplemento mineral e Zn em amostras de fosfato de rocha, empregando ambos os métodos de extração propostos. Porém, para a maioria dos analitos foram observadas baixas recuperações (de 10 a 77%) para ambas as amostras. Um ponto a ser destacado é a capacidade dos NADES extraírem alguns analitos e outros não. Fica evidente a seletividade que, a depender das exigências e objetivo da análise, poderão ter sua formulação adequada para os diferentes tipos de amostras. Da mesma forma, as condições de extração também podem ser otimizadas, considerando as variáveis envolvidas como tempo, temperatura, dentre outras.

É válido ressaltar que até o presente momento não há relato na literatura de aplicação dessa classe de solventes em matrizes inorgânicas. Estudos mostraram que os NADES não são considerados solventes universais, pelo contrário, são solventes altamente seletivos e moduláveis.⁴³ Isso sugere que a escolha de um método de síntese dos NADES e a proporção de seus reagentes também deve levar em consideração a matriz e o analito de interesse, pois a existência de efeitos matriciais pode inibir a extração completa de alguns analitos,⁴³ fato comprovado com os resultados obtidos no presente estudo. Outra potencialidade vislumbrada é o emprego de NADES em estudos de especiação química, em que NADES adequadamente sintetizados teriam a capacidade de se ligar aos analitos que estão ligados de forma específica na matriz.

O método da *Eco-Scale* analítica foi empregado para avaliar o quão ambientalmente corretas são as metodologias analíticas propostas. Para isso, são atribuídos pontos de penalidades para parâmetros que não estão de acordo com os princípios da química verde, no qual são considerados o gasto energético, volume e segurança do solvente

empregado e a geração de resíduo.⁴³ As pontuações da *Eco-Scale* analítica foram 75 por amostra para MW-AD e 97 para os métodos UAE e extração por banho de aquecimento. Nessa abordagem, uma pontuação > 75 representa uma excelente análise verde, enquanto $75 > x > 50$ representa uma análise verde aceitável.⁵¹ A pontuação mais baixa do método de MW-AD está relacionada à parâmetros como maior gasto energético, formação de vapor ácido, maior volume de resíduo e a segurança dos reagentes empregados no procedimento.

CONCLUSÕES

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

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o auxílio financeiro recebido da FAPESP (Projetos 2015/08893-4, 2015/14488-0, 2016/17304-0, 2017/18531-3 e 2019/22113-8) e do Instituto Nacional de Tecnologias Alternativas para Detecção, Avaliação Toxicológica e Remoção de Micropoluentes e Radioativos – INCT - DATREM (Fapesp – 14/509454 e CNPq 465571/2014-0). A.R.A. Nogueira agradece ao CNPq (308178/2018-1). A.P.R. Santana e T.G.S. Guimarães agradecem à CAPES (Código de Financiamento 001) pela bolsa concedida e ao PPGQuímica/UNESP-SJRP.

REFERÊNCIAS

1. Plotka-Wasyłka, J.; Rutkowska, M.; Owczarek, K.; Tobiszewski, M.; Namiesnik, J.; *TrAC – Trends Anal. Chem.* **2017**, *91*, 12.
2. Pacheco-Fernandez, I.; Pino, V. *Curr. Opin. Green Sustain. Chem.* **2019**, *18*, 42.
3. Rocha, D. L.; Batista, A. D.; Rocha, F. R. P.; Donati, G. L.; Nóbrega, J. A.; *TrAC – Trends Anal. Chem.* **2013**, *45*, 79.
4. Tobiszewski, M.; Mechlińska, A.; Zygmunt, B.; Mamieśnik, J.; *TrAC – Trends Anal. Chem.* **2009**, *28*, 943.
5. Abbott, A. P.; Capper, G.; Davies, D. L.; Rasheeda, R. K.; Tambyrajah, V.; *Chem. Commun.* **2003**, *1*, 70.
6. Choi, Y. H.; van Spronsen, J.; Dai, Y.; Verberne, M.; Hollmann, F.; Arends, I. W. C. E.; Witkamp, G.-J.; Verpoorte, R.; *Plant Physiol.* **2011**, *156*, 1701.
7. Dai, Y.; van Spronsen, J.; G. J. Witkamp, Verpoorte, R.; *Anal. Chim. Acta* **2013**, *766*, 61.

8. Abo-Hamad, A.; Hayyan, M.; Alssadi, M. A.; Hashim, M. A.; *Chem. Eng. J.* **2015**, *273*, 551.
9. Fernández, M. A.; Boiteux, J.; Espino, M.; Gomez, F. J. V.; Silva, M. F.; *Anal. Chim. Acta* **2018**, *1038*, 1.
10. Espino, M.; M. A. Fernández, Gomez, F. J. V.; Silva, M. F.; *TrAC – Trends Anal. Chem.* **2016**, *76*, 126.
11. Moraes, D. P.; Bizzi, C. A.; Nóbrega, J. A.; Flores, E. M. M.; Nogueira, A. R. A.; Barin, J. S.; Mesko, M. F. Em *Métodos de Preparo de Amostras para Análise Elementar*; Krug, F. J., Rocha, F. R. P., eds.; EditSBQ: São Paulo, 2019, cap. 10.
12. Barin, J. S.; Bizzi, C. A.; Flores, E. M. M.; Nóbrega, J. A.; Krug, F. J. Em *Métodos de Preparo de Amostras para Análise Elementar*; Krug, F. J.; Rocha, F. R. P., eds.; EditSBQ: São Paulo, 2019, cap. 9.
13. Matusiewicz, H. Em *Comprehensive Analytical Chemistry*; Mester, Z.; Sturgeon, R., eds.; Elsevier: Amsterdam, 2003, cap. 6.
14. Bancroft, W. D.; Murphy, N. F.; *J. Phys. Chem.* **1935**, *3*, 377.
15. Rutkowska, M.; Namieśnik J.; Konieczka, P. Em *The Application of Green Solvents in Separation Processes*; Pena-Pereira, F.; Tobiszewski, M., eds.; Elsevier: Amsterdam, 2017, cap. 10.
16. Vinatoru, M.; Mason, T. J.; Calinescu, I.; *TrAC – Trends Anal. Chem.* **2017**, *97*, 159.
17. Chemat, F.; Rombaut, N.; Sicarie, A-G.; Meullemiestre, A.; Fabiano-Tixier, A-S.; Albert-Vian, M.; *Ultrason. Sonochem.* **2017**, *34*, 540.
18. Lima, E. C.; Barbosa, F.; Krug, F. J.; Silva, M. M.; Vale, M. G. R.; *J. Anal. At. Spectrom.* **2000**, *15*, 995.
19. Teixeira, L. S.; Vieira, H. P.; Windmoller, C. C.; Nascentes, C. C.; *Talanta* **2014**, *119*, 232.
20. Canapari, S.; Cardarelli, E.; Ghichi, S.; Scimonelli, L.; *Talanta* **2005**, *66*, 1122.
21. López-García, I.; Campillo, N.; Arnau-Jerez, I.; Hernández-Córdoba M.; *Anal. Chim. Acta* **2005**, *531*, 125.
22. El-Sheikh, A. H.; Al-Degs, Y. S.; Sweileh, J. A.; Said, A. J.; *Talanta* **2013**, *116*, 482.
23. Abdel-Haleem, A. S.; Sroor, A.; El-Bahi, S. M.; Zohny, E.; *Appl. Radiat. Isot.* **2001**, *55*, 569.
24. Mortvedt, J. J.; *J. Environ. Qual.* **1987**, *16*, 137.
25. Soetan, K. O.; Olaiya, C. O.; Oyewole, E.; *Afr. J. Food Sci.* **2010**, *4*, 200.
26. Gonçalves, J. R.; Gonçalves, R. M.; Gonçalves, R. M.; *Revista Processos Químicos* **2010**, *4*, 68.
27. Tokarnia, C. H.; Dobereiner, J.; Peixoto, P. V.; *Pesquisa Veterinária Brasileira* **2000**, *20*, 127.
28. Marçal, W. S.; Gaste, L.; Liboni, M.; Pardo, P. E.; Nascimento, M. R.; Hisasi, C. S.; *Vet. Arch.* **1999**, *69*, 355.
29. Shishov, A.; Bulatov, A.; Locatelli, M.; Carradori, S.; Andruch, V.; *Microchem. J.* **2017**, *135*, 33.
30. Santana, A. P. R.; Andrade, D. F.; Mora-Vargas, J. A.; Amaral, C. D. B.; Oliveira, A.; Gonzalez, M. H.; *Talanta* **2019**, *199*, 361.
31. Santana, A. P. R.; Andrade, D. F.; Guimarães, T.G.S.; Amaral, C. D. B.; Oliveira, A.; Gonzalez, M. H.; *Talanta* **2020**, *216*, 120956.
32. Montaser, A.; Golightly, D. W.; *Inductively Coupled Plasmas in Analytical Atomic Spectrometry*; Wiley-VCH: New York, USA, 1998.
33. Nogueira, A. R. A.; Souza, G. B.; Bossu, C. M.; Bianchi, S. R.; Verhalen, T. R.; Silva, P. T.; Peixoto, A. A. J.; Silva, C. S.; *J. Phys.: Conf. Ser.* **2016**, *733*, 012005.
34. Silva, C. S.; Souza, G. B.; Nogueira, A. R. A.; *Accredit. Qual. Assur.* **2018**, *23*, 39.
35. Santana, A. P. R.; Mora-Vargas, J. A.; Guimarães, T.G.S.; Amaral, C. D. B.; Oliveira, A.; Gonzalez, M. H.; *J. Mol. Liq.* **2019**, *293*, 111452.
36. Nam, M. W.; Zhao, J.; Lee, M. S.; Jeong, J. H.; Lee, J.; *Green Chem.* **2015**, *17*, 1718.
37. Kane, P. F.; Hall, W. L. *J. AOAC Int.* **2006**, *89*, 1447.
38. Dai, Y.; Witkamp, G. J.; Verpoorte, R.; Choi, Y. H.; *Food Chem.* **2015**, *187*, 14.
39. Ribeiro, B. D.; Florindo, C.; Iff, L. C.; Coelho, M. A. Z.; Marrucho, I. M.; *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2015**, *3*, 2469.
40. Dwamena, A. K.; *Separations* **2019**, *6*, 9.
41. Huang, Y.; Fend, F.; Jiang, J.; Qiao, Y.; Wu, T.; Voglmeir, J.; Chen, Z. G.; *Food Chem.* **2017**, *221*, 1400.
42. Thomas, R.; *Practical Guide to ICP-MS: A Tutorial for Beginners*, 2nd ed., CRC Press: New York, 2013.
43. Gonzalez, C. G.; Choi, Y. H.; Verpoorte, R. Em *Liquid-Phase Extraction*; Poole, C. F., eds.; Elsevier: Amsterdam, 2020, cap. 19.
44. Atmamash, T.; Nasser, M. S.; Elhamarnah, Y.; Magzoub, M.; Ullah, R.; Qiblawey, H.; Aparicio, S.; Atilhan, M.; *J. Mol. Liq.* **2018**, *256*, 286.
45. Craveiro, R.; Aroso, I.; Flammia, V.; Carvalho, T.; Viciosa, M. T.; Dionísio, M.; Barreiros, S.; Reis R. L.; Duarte, A. R. C.; Paiva, A.; *J. Mol. Liq.* **2016**, *215*, 534.
46. Evans, E. H.; Giglio, J. J.; *J. Anal. At. Spectrom.* **1993**, *8*, 1.
47. Grindlay, G.; Mora, J.; De Loos-Vollebregt, M.; Vanhaecke, F.; *Spectrochim. Acta, Part B* **2013**, *86*, 42.
48. Grindlay, G.; Gras, L.; Mora, J.; De Loos-Vollebregt, M. T. C.; *Spectrochim. Acta, Part B* **2008**, *63*, 234.
49. http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/CGCRE/DOQ/DOQ-CGCRE-8_05.pdf, acessada em janeiro 2021.
50. <http://goldbook.iupac.org/PDF/goldbook.pdf>, acessada em janeiro 2021.
51. Gałuszka, A.; Migaszewski, Z. M.; Konieczka, P.; Namieśnik, J.; *TrAC – Trends Anal. Chem.* **2012**, *37*, 61.