



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CAMPUS FLORIANÓPOLIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Eduardo da Silva Macedo

Desenvolvimento de métodos analíticos para determinação de cobre por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite e de cloro e flúor por cromatografia de íons em amostras chás de ervas

Florianópolis, SC
2024

Eduardo da Silva Macedo

Desenvolvimento de métodos analíticos para determinação de cobre por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite e de cloro e flúor por cromatografia de íons em amostras chás de ervas

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Química Analítica.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Sidinei Chaves.

Florianópolis, SC

2024

Macedo, Eduardo da Silva

Desenvolvimento de métodos analíticos para determinação de cobre por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite e de cloro e flúor por cromatografia de ions em amostras chás de ervas / Eduardo da Silva Macedo ; orientador, Eduardo Sidinei Chaves, 2024.

81 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Programa de Pós-Graduação em Química, Florianópolis, 2024.

Inclui referências.

1. Química. 2. Solvente eutético profundo. 3. Box-Behnken. 4. piroidrólise. I. Chaves, Eduardo Sidinei. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

Eduardo Da Silva Macedo

Desenvolvimento de métodos analíticos para determinação de cobre por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite e de cloro e flúor por cromatografia de íons em amostras chás de ervas

O presente trabalho em nível de Mestrado foi avaliado e aprovado, em 27 de fevereiro de 2024, pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof^a. Natilene Mesquita Brito, Dr^a.

IFMA - DAQ

Prof^a. Renata Dias de Mello Castanho Amboni Dr^a.

UFSC - CCA

Prof. Edson Roberto Santana, Dr.

UFSC - DQ

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de Mestre em Química Analítica.

Insira neste espaço a
assinatura digital

Prof. Daniel Lázaro Gallindo Borges, Dr.

Coordenador do Programa de Pós-Graduação

Insira neste espaço a
assinatura digital

Prof. Eduardo Sidinei Chaves, Dr.

Orientador

Florianópolis, 2024.

À minha mãe Lourdes, ao meu pai Ivan, minhas maiores inspirações.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus o sumo bem, que me sustentou com sua infinita misericórdia até aqui. À Maria Santíssima por caminhar junto comigo. À minha família, em especial aos meus pais, que são minhas fontes de força, discernimento, princípios e tudo o que me tornei. À minha mãe Lourdes, dedico todas as conquistas, e profunda gratidão por seus ensinamentos e conselhos, e acima de tudo o exemplo de vida, mulher íntegra, corajosa amorosa e resiliente. Ao meu pai Ivan, exemplo de ética, força e dedicação, minha admiração e inspiração para a vida toda.

À Universidade Federal de Santa Catarina, e ao Programa de Pós-graduação em Química, expresse minha sincera gratidão pela valiosa oportunidade de interagir com profissionais excepcionais, que desempenharam um papel fundamental em minha formação acadêmica. À CAPES agradeço ao fomento fornecido para a realização da pesquisa.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Eduardo Chaves, agradeço por todo o incentivo, paciência e dedicação durante todo esse período. A sua orientação é exclusiva e especial, com seu peculiar senso de humor, trouxe leveza aos desafios acadêmicos. Sua dedicação excepcional e especial atenção foram a bússola que guiou esse percurso de forma inesquecível. Agradeço aos amigos que conquistei em Florianópolis, em especial ao amigo que considero irmão Jonathan, que dividi todos os momentos e me tirou as melhores risadas. Ao grupo de pesquisa LEMA, colegas e professores, em especial aos companheiros do laboratório, Carol, Bruno, Elenice, Morgana, Renata e Renan, por todo apoio e amizade. Estendo meus agradecimentos aos amigos de São Luís que sempre estiveram comigo, mesmo distantes.

[O limite é uma fronteira criada só pela mente (RACIONAIS, 1994).]

RESUMO

O chá é uma bebida mundialmente consumida e reconhecida por suas propriedades benéficas à saúde. Essa bebida contém em sua composição compostos bioativos, e outros elementos, tais como cobre (Cu), cloro (Cl) e flúor (F), que em concentrações específicas, podem representar riscos à saúde. Nesse cenário, torna-se crucial estabelecer métodos analíticos precisos e exatos para monitorar a concentração dessas espécies em amostras de chá. Contudo, para a obtenção de resultados certificados, surge a necessidade de uma preparação adequada das amostras. Neste contexto, técnicas alternativas de preparo de amostras têm sido propostas para determinação de metais e halogênios. Entre estas, a utilização de solventes eutéticos profundos (DES) para extração e posterior determinação de metais, e a piroidrólise como preparo de amostras para determinação de halogênios. Neste trabalho, foram propostos métodos analíticos para determinação de Cu, Cl e F utilizando técnicas alternativas de preparo de amostras após otimização multivariada, com posterior determinação por GF AAS (Cu) e cromatografia de íons (Cl e F). O primeiro método teve por objetivo a determinação de Cu por GF AAS em amostras de chá após utilizando DES e extração assistida por ultrassom (US). O DES formado por cloreto de colina e ácido oxálico (ChCl:Ox), foi caracterizado por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). No programa de temperaturas otimizado, foram utilizadas temperaturas de 900°C e 2100°C, respectivamente, para pirólise e atomização. Já as condições ótimas observadas no planejamento multivariado foram diluição do DES (20% m m⁻¹), 45 min tempo de reação, e 60 °C de temperatura no US. A exatidão do método foi avaliada por meio da análise de materiais de referência certificados (CRM), demonstrando uma boa concordância entre os valores determinados e certificados para Cu (91,5-81,1%). O desvio padrão relativo (RSD) foi inferior a 10%, demonstrando boa precisão do método proposto. O LOD de 0,2 mg Kg⁻¹ foi adequado para análises de chás de ervas. O segundo método teve por objetivo determinar a presença de Cl e F, em diferentes amostras de chá submetidas ao preparo de amostras por piroidrólise e quantificação por cromatografia de íons. As condições ótimas para piroidrólise foram, 150 mg de amostra, 20 min de reação e temperatura de 850 °C. A exatidão do método avaliada por meio da análise de CRMs demonstrou uma boa concordância entre os valores determinados e certificados para Cl e F (100-117%). A precisão RSD < 10%, e os LODs 2 e 0,1 mg Kg⁻¹ para Cl e F, respectivamente, comprovam a boa precisão e viabilidade do método para as análises propostas. Determinaram-se ainda as concentrações totais dos analitos (métodos propostos) e na infusão (disponível) de amostras de chás tradicionais e chás de ervas. A porcentagem de Cu disponível nas infusões de chás tradicionais e de ervas variou entre 12-90%, já para Cl essa porcentagem foi 54 a 91%, para F essa faixa variou entre 12 e 85%. O estudo também possibilitou a avaliação do possível risco de exposição ao F⁻ ao consumir infusões de chá, demonstrando que as concentrações deste elemento nos chás analisados se encontram dentro dos limites recomendados para uma ingestão segura. Os métodos propostos demonstraram eficácia, destacando-se por sua simplicidade e por ser ambientalmente amigáveis.

Palavras-chave: Solvente eutético profundo; Box-Behnken; piroidrólise; metais; halogênios.

ABSTRACT

Tea is a drink consumed worldwide and recognized for its beneficial health properties. This drink contains bioactive compounds and other elements, such as copper (Cu), chlorine (Cl) and fluorine (F), which in specific concentrations can pose health risks. In this scenario, it becomes crucial to establish precise and accurate analytical methods to monitor the concentration of these species in tea samples. However, to obtain certified results, there is a need for adequate sample preparation. In this context, alternative sample preparation techniques have been proposed for the determination of metals and halogens. Among these, the use of deep eutectic solvents (DES) for extraction and subsequent determination of metals, and pyrohydrolysis as sample preparation for the determination of halogens. In this work, two analytical methods were proposed for determining Cu, Cl and F using alternative sample preparation techniques after multivariate optimization, with subsequent determination by GF AAS (Cu) and ion chromatography (Cl and F). The first method aimed to determine Cu by GF AAS in tea samples using DES and ultrasound-assisted extraction (US). DES, formed by choline chloride and oxalic acid (ChCl:Ox), was characterized by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). In the optimized temperature program, temperatures of 900°C and 2100°C were used, respectively, for pyrolysis and atomization. The optimal conditions observed in the multivariate planning were DES dilution (20% m m⁻¹), 45 min reaction time, and 60 °C temperature in the US. The accuracy of the method was evaluated through the analysis of certified reference materials (CRM), demonstrating a good agreement between the determined and certified values for Cu (91.5-81.1%). The relative standard deviation (RSD) was less than 10%, demonstrating good accuracy of the proposed method. The LOD of 0.2 mg Kg⁻¹ was suitable for the analysis of herbal teas. The second method aimed to determine the presence of Cl and F in different tea samples submitted to sample preparation by pyrohydrolysis and quantification by ion chromatography. The optimal conditions for pyrohydrolysis were 150 mg of sample, 20 min of reaction, and a temperature of 850 °C. The accuracy of the method evaluated through the analysis of CRMs demonstrated a good agreement between the determined and certified values for Cl and F (100-117%). The RSD precision < 10%, and the LODs 2.3 and 0.1 mg Kg⁻¹ for Cl and F, respectively, prove the good precision and feasibility of the method for the proposed analyses. The total concentrations of the analytes (proposed methods) and the infusion (available) of samples of traditional teas and herbal teas were also determined. The percentage of Cu available in traditional and herbal tea infusions varied between 12-90%, for Cl this percentage was 54 to 91%, for F this range varied between 12 and 85%. The study also made it possible to assess the possible risk of exposure to F- when consuming tea infusions, demonstrating that the concentrations of this element in the teas analyzed are within the recommended limits for safe intake. The proposed methods demonstrated effectiveness, standing out for their simplicity and for being environmentally friendly.

Keywords: Deep eutectic solvent; Box-Behnken; pyrohydrolysis; metals; halogens.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Preparação da amostra mista.	31
Figura 2. Procedimento experimental para a determinação de Cu.	35
Figura 3. Procedimento experimental para a determinação de Cu disponível.	37
Figura 4. Procedimento experimental para determinação de Cl e F.	39
Figura 5. Representação esquemática do sistema de piroidrólise feito em laboratório.	40
Figura 6. Espectro de FTIR para (DES) solvente eutético profundo ChCl:Ox na razão molar 1:1, (ChCl) cloreto de colina, e (Ox) ácido oxálico.....	43
Figura 7. Gráfico de Pareto das variáveis avaliadas no planejamento Box-Behnken (L = linear; Q = quadrático) para otimização da extração de Cu em amostras de chá. .	46
Figura 8. Correlação entre os valores observados e os valores esperados para o planejamento Box – Behnken 2 ³	47
Figura 9. Superfícies de respostas para a determinação de Cu obtidas pelo delineamento box Behnken; A- interação temperatura e diluição; B- interação temperatura e tempo; C- interação diluição e tempo.....	48
Figura 10. Curvas de pirólise e atomização para padrão aquoso para a concentração de 30 µg L ⁻¹ e extrato de amostra utilizando DES. Temperatura de atomização para curva de pirólise: 2100 °C. Temperatura de pirólise para curva de atomização: 900°C.	50
Figura 11. Avaliação da técnica de calibração para determinação de Cu por GF AAS após extração com DES.....	52
Figura 12. Determinação da concentração total e disponível nas amostras de chá (a- preto; b- boldo; c- verde; d- f. cítricas; e- camomila).	54
Figura 13. Correlação entre os valores observados e os valores esperados obtido a partir do planejamento Box-Behnken.	59
Figura 14. Superfícies de resposta do planejamento Box-Behnken para otimização da temperatura (T), massa (M) e tempo de reação (t) para determinação de Cl e F utilizando preparo das amostras por piroidrólise, em que temos as superfícies (a) tempo vs Temperatura (b) massa vs temperatura, (c) tempo vs massa.....	60
Figura 15. Influência das soluções absorvedoras sobre a concentração de Cl e F determinadas por IC após preparo das amostras por piroidrólise. (1)50 mmol L ⁻¹ NH ₃ ,	

(2) 100 mmol L⁻¹ NH₃, (3) H₂O, (4) 3,2 mmol L⁻¹ Na₂CO₃ + 1,0 mmol L⁻¹ NaHCO₃ e (5) 32 mmol L⁻¹ Na₂CO₃ + 10 mmol L⁻¹ NaHCO₃.....61

Figura 16. Cromatograma obtido para amostras de chá após preparação de amostras por piroidrólise, e infusão em comparação com uma solução padrão multi-íon (0,5 mg L⁻¹).....64

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Variáveis e níveis avaliados no delineamento Box-Behnken para preparo de amostra empregando DES.	34
Tabela 2. Programa de temperatura empregado na determinação de Cu por GF AAS.	35
Tabela 3. Variáveis e níveis avaliados no delineamento Box-Behnken para preparo de amostra por piroidrólise.	38
Tabela 4. Experimentos do planejamento fatorial 2^3 , com as variáveis e concentração de [Cu], mg kg^{-1} na amostra mista de chá (otimização)	45
Tabela 6. Concentrações de Cu certificadas e determinadas por GF AAS após extração com DES.	53
Tabela 7. Experimentos do planejamento fatorial 2^3 , com as variáveis e a função desejabilidade (D) para amostra mista de chá.	57
Tabela 8. Resultados ANOVA do delineamento Box-Behnken ($R^2= 0,94$) para a determinação de Cl e F.	58
Tabela 9. Valores de mérito para determinação de Cl e F em amostras de chá.	62
Tabela 10. Concentrações de Cl e F em CRMs, determinadas por IC após piroidrólise	63
Tabela 11. Concentração de F e Cl em amostras de chá e infusão, e porcentagem na infusão de chá.	67
Tabela 12. Ingestão crônica diária (CDI) de F por adultos a partir de chás tradicionais e ervas.....	69

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1 CHÁ: ASPECTOS GERAIS.....	17
2.2 ESPÉCIES METÁLICAS E HALOGÊNIO EM CHÁS.....	19
2.3 DETERMINAÇÃO DE COBRE, CLORO E FLÚOR.....	21
2.3.1 Técnicas analíticas para a determinação de metais	22
2.3.2 Determinação de cloro e flúor	23
2.4 ESTRATÉGIAS PARA O PREPARO DE AMOSTRAS E DETERMINAÇÃO DE COBRE, CLORO E FLÚOR.....	24
2.4.1 Metais	25
2.4.2 Cloro e flúor	28
3. OBJETIVOS	30
3.1 OBJETIVO GERAL.....	30
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	30
4. MATERIAIS E MÉTODOS	31
4.1 AMOSTRAS.....	31
4.2 INSTRUMENTAÇÃO, REAGENTES E SOLUÇÕES.....	32
4.2.1 Determinação de Cobre	32
4.2.2 Determinação de Cl e F	33
4.3 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS.....	33
4.3.1 Determinação de Cu	33
4.3.2 Determinação de Cl e F	37
4.3.3 Avaliação do fator de risco	41
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
5.1 DETERMINAÇÃO DE COBRE.....	43
5.1.2 Caracterização do DES	43
5.1.3 Otimização Box-Behnken	44
5.1.4 Curvas de pirólise e atomização	48
5.1.5 Exatidão e parâmetros de mérito	50
5.1.6 Determinação de Cu em chá	53

5.2 DETERMINAÇÃO DE CLORO E FLÚOR	56
5.2.1 Otimização multivariada da pirolíse.....	56
5.2.2 Otimização da solução absorvedora	60
5.2.3 Parâmetro de mérito e exatidão	62
5.2.4 Determinação de halogênios.....	64
6. CONCLUSÃO	70

1. INTRODUÇÃO

Após a água, o chá é a bebida mais consumida no planeta (BRODY, 2019; KHAN; MUKHTAR, 2019). Sendo obtida a partir da infusão de ervas, principalmente, das folhas vaporizadas e desidratadas da planta perene *Camellia sinensis*, (SZYMCZYCHA-MADEJA et al. 2012), possuindo variações como infusões herbais, frutadas e florais. O chá se destaca não apenas por seu aroma agradável, mas também por suas propriedades benéficas à saúde, associadas a compostos bioativos como catequinas e polifenóis. Além desses, o chá contém antioxidantes que auxiliam na proteção celular, contribuindo para a saúde do coração e do cérebro, além de possuir propriedades relaxantes. Vale destacar que diversas outras substâncias, incluindo metais e halogênios, podem ser extraídas nas infusões de chá e ervas aromáticas (CARVALHODA-SILVA; PAGANINI-COSTA, 2011; DAS, 2017; LI et al., 2018).

A presença de metais tais como Cu, Al e Zn, e halogênios como flúor (F) e cloro (Cl) em concentrações específicas nos alimentos e bebidas desempenha um papel crucial na nutrição humana. Entretanto, dependendo do nível de concentração destes elementos nas plantas, podem apresentar potencial toxicidade à saúde. A concentração de metais e halogênios pode variar em amostras de chá, pois essa é influenciada por fatores como a região de cultivo, práticas agrícolas e características do solo (BAYRAKLI; DENGIZ, 2020; ZHANG et al., 2023).

Portanto, o monitoramento da concentração de metais e halogênios em chá de ervas é fundamental, para o controle de qualidade e para a saúde dos consumidores dessa bebida. Nesse contexto, existem diversas técnicas analíticas que possibilitam a determinação de metais e halogênios em diversas matrizes, como as de chá (ZHANG et al. 2020; MELO et al. 2020). As técnicas analíticas incluem espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES), espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), espectrometria de absorção atômica com atomização em chama (FAAS) e espectrometria de absorção atômica com atomização em forno de grafite (GFAAS). Embora ICP-MS e ICP OES se destaquem na determinação de metais, especialmente em amostras complexas, como matrizes biológicas, a GFAAS surge como uma opção viável devido ao seu tratamento *in-situ* de amostras sem preparo prévio (AHMADI-

JOUIBARI; NOORI; FATTAHI, 2021; ZEINER et al., 2018). A cromatografia de íons (IC) é uma alternativa para determinação de halogênios em alimentos e bebidas.

Aliado ao uso de uma técnica adequada, o preparo de amostras representa uma das etapas fundamentais em métodos analíticos, e inúmeras pesquisas têm se dedicado à investigação de técnicas alternativas para o preparo de amostras em análises espectrométricas e cromatográficas (AYDIN; YILMAZ; SOYLAK, 2018; OLIVEIRA et al., 2023). Entre estas técnicas, a extração com uso de solventes alternativos e ambientalmente amigáveis, tais como os solventes eutéticos profundos (DESS) vêm sendo aplicada com sucesso para extração de metais em diferentes amostras (AHMADI-JOUIBARI; NOORI; FATTAHI, 2021). O uso de DES como solvente extrator associado a determinação por GF AAS permite a quantificação de elementos em níveis traços. Para a determinação de halogênios, a piroidrólise surge como uma técnica de preparo de amostras de notável relevância, caracterizada por sua implementação acessível, custos reduzidos, consumo mínimo de reagentes e mínima geração de resíduos. No contexto analítico, suas aplicações são frequentemente associadas à determinação de halogênios em amostras de possível decomposição, destacando-se como uma alternativa excepcional para o preparo de amostras para posterior análise por IC (MUHAMMAD et al., 2020; WARF; CLINE; TEVEBAUGH, 1954).

Nesse contexto, é de relevante importância estabelecer estratégias analíticas que possibilitem o desenvolvimento de métodos eficientes e sensíveis para a determinação de metais e halogênios em chás. Assim, este estudo visa estabelecer abordagens analíticas inovadoras para determinação de Cu, Cl e F em diferentes amostras de chás de ervas, por meio das técnicas GF AAS e IC, além de estimar o fator de risco para o F, no consumo de amostras de chás. A otimização das condições de preparo das amostras por DES, e piroidrólise foi realizada por meio de planejamentos multivariados.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 CHÁ: ASPECTOS GERAIS

A palavra "chá" abrange diversos arbustos da família das teáceas, suas folhas secas e a infusão resultante. O termo chá abrange principalmente as espécies vegetais: *Camellia sinensis*, *Camellia assamica* e *Cambodiensis* (DARGAH et al., 2023; WICKREMASINGHE, 1978), onde a espécie mais difundida é a *Camellia sinensis*, introduzida mundialmente pela Companhia Inglesa das Índias Orientais (AWASOM, 2011; BRODY, 2019). Segundo a ANVISA, a partir da regulamentação, estabelecida pela RDC Nº 716, DE 1º julho de 2022, a definição de chá é: “produto constituído de uma espécie vegetal autorizada para o seu preparo, inteira, fragmentada ou moída, com ou sem fermentação, tostada ou não” (BRASIL, 2022).

Ranqueado logo abaixo da água em termos de consumo global, a popularidade do chá é creditada ao seu sabor distintivo, além de confirmados benefícios nutricionais e farmacológicos, incluindo propriedades antimicrobianas e antioxidantes, como evidenciado por diversos estudos (CARVALHODA-SILVA; PAGANINI-COSTA, 2011; CHOWANIAK et al., 2021; SZYMCZYCHA-MADEJA; WELNA; POHL, 2012). A sua preparação envolve, a infusão de uma ou mais partes de espécie(s) vegetal(is) em água quente, com a temperatura e o tempo de infusão variando conforme a variedade de chá e preferências pessoais (YUE et al., 2020).

As distintas categorias de chá são geralmente agrupadas com base na tonalidade, influenciada pelos processos de manipulação e níveis de oxidação. O processo de produção do chá compreende quatro etapas essenciais: a secagem, para eliminar a umidade; a torção, que quebra as células e inicia a fermentação; a fermentação propriamente dita, que possibilita a oxidação enzimática das folhas; e a secagem final para concluir o ciclo. A classificação das variedades de chá se baseia no grau de fermentação antes do consumo, com o chá preto liderando em termos de consumo global, seguido pelo chá verde e o chá *oolong*. Os padrões de consumo variam conforme a região, sendo o chá verde e *oolong* populares em países como China e Japão, onde as folhas verdes também são utilizadas como hortaliças na culinária (ENGELHARDT, 2020; YILMAZ; ÖZDEMİR; GÖKMEN, 2020).

Embora a palavra "chá" costumeiramente remeta à infusão tradicional da *Camellia sinensis*, é importante destacar a variedade de infusões disponíveis, com

distintas origens, características de cultivo e processamento das folhas. Essas variações, como camomila e erva-mate, são amplamente consumidas por suas propriedades terapêuticas, ampliando o conceito de "chá" para além da bebida tradicional (CHOWANIAK et al., 2021; ENGELHARDT, 2020). O chá, além de suas propriedades aromáticas e benefícios para a saúde, desempenha um papel notável como componente comercial em diversas economias no mundo. Ligada à produção agrícola, países como China, Índia, Quênia e Sri Lanka são grandes produtores e exportadores de chá, contribuindo significativamente na economia global (AWASOM, 2011; BRODY, 2019; ENGELHARDT, 2020; WICKREMASINGHE, 1978).

O consumo do chá tornou-se ainda uma tradição em diversas culturas no mundo. A tradição inglesa do "chá das cinco" é famosa mundialmente, sendo introduzida na Inglaterra por volta de 1800 por Anna Russell, a sétima duquesa de Bedford. Ela adotou o hábito de tomar chá à tarde como uma maneira de aplacar a fome entre o almoço, servido pontualmente ao meio-dia, e o jantar servido entre as 20 e 21 horas, ocasião oportuna para exibir maravilhosas peças de porcelana e prata. Durante a revolução industrial o consumo de chá também foi evidenciado, onde os trabalhadores das novas fábricas optaram pelo chá como sua bebida principal durante o expediente. Inicialmente, a cerveja era a escolha habitual, mas o chá tornou-se preferível devido ao fato de não causar embriaguez e manter a mente alerta devido à cafeína (CARVALHODA; PAGANINI, 2011).

No Brasil o chá foi introduzido nos hábitos da população por meio de Luiz de Abreu, um comerciante e agricultor português que presenteou D. João VI com sementes de chá (*Camellia sinensis*) quando este chegou ao país. Com a fundação do Jardim Botânico no Rio de Janeiro em 1808, foram iniciadas as primeiras plantações de *C. sinensis* no Brasil. A melhoria das plantações de chá no país ocorreu após a chegada de alguns chineses por volta de 1814, que trouxeram novas ideias e ensinamentos orientais. Após a abolição da escravidão em 1888, a produção de chá produzido no Brasil sofreu uma significativa redução, atingindo níveis insignificantes, concomitante a esse acontecimento as infusões caseiras, ou "chá de ervas", popularizaram-se no país, sobretudo pelas propriedades atribuídas a muitas ervas fitoterápicas (BRODY, 2019; CARVALHODA-SILVA; PAGANINI-COSTA, 2011). No que diz respeito às propriedades medicinais, os diferentes tipos de chá têm o potencial de acentuar benefícios à saúde. O chá de camomila (*Matricaria recutita*), por exemplo, pode auxiliar em problemas de má digestão, dores musculares, estresse e sono

(SAMANTA, 2022; YAN et al., 2020). Essas características estão relacionadas à presença de compostos bioativos em sua composição, incluindo os polifenóis, flavonoides, xantinas, além das vitaminas e minerais (ENGELHARDT, 2020, 2020; YAN et al., 2020).

Os chás também absorvem espécies metálicas e não metálicas em suas estruturas vegetais, cuja presença pode estar associada à ocorrência natural nas plantas ou resultar do processo de contaminação a partir do meio de cultivo (AHMADI-JOUBARI; NOORI; FATTAHI, 2021; BAYRAKLI; DENGIZ, 2020). Além desses elementos Cl e F, também podem estar presentes em espécies vegetais. O Cl é frequentemente encontrado nas plantas, e desempenha um papel importante em processos como a fotossíntese. Já o F, embora não seja considerado essencial para as plantas, pode ser absorvido no solo, sobretudo com práticas agrícolas acentuadas (ABDIGHAHOUDI; SCHMIDT; LUTZE, 2020; DAS, 2017; NASCIMENTO et al., 2021).

2.2 ESPÉCIES METÁLICAS E HALOGÊNIO EM CHÁS

Na última década, o uso crescente da fitoterapia, incluindo o consumo de infusões, como alternativa aos medicamentos alopáticos, levou à necessidade de pesquisar a composição química de distintas espécies vegetais. Além dos compostos bioativos, os constituintes inorgânicos, como Cu e Zn, desempenham um papel essencial no sistema biológico vegetal e humano (LI et al., 2018; SOFUOGLU; KAVCAR, 2008). Esses elementos têm a capacidade de serem absorvidos pelas plantas, principalmente, quando presentes em concentrações elevadas no solo, resultando no acúmulo desses minerais nas raízes e folhas. Fatores não edáficos, como defensivos agrícolas e poluentes atmosféricos, também contribuem para a concentração de metais nas partes vegetais (BAYRAKLI; DENGIZ, 2020; LI et al., 2018).

Estudos recentes indicam ainda a presença de diversas espécies metálicas presentes em plantas, como Cd e Pb, determinados em níveis elevados nas projeções de ingestão diária do chá de carqueja. Planta amplamente consumida na região sul do estado de Santa Catarina-Brasil, sendo utilizada no preparo de chás e no consumo do chimarrão (BLANCO et al., 2022). Já o estudo de Hu e colaboradores (2023), aponta dados significativos sobre a presença de As, Cd, Cr, Cu, Hg e Pb em níveis

médios de 0,21, 0,14, 1,17, 14,6, 0,04 e 1,09 mg kg⁻¹, respectivamente, presentes em diferentes amostras de chás. Esses resultados apontam para áreas de concentração elevada desses metais, destacando principalmente o sudoeste da China, algumas regiões do leste chinês e a província de Shaanxi, no noroeste do país (HU et al., 2023).

O Cu desempenha um papel essencial como metal-traço para os organismos vivos (SHABBIR et al., 2020), atuando por exemplo na maturação dos tecidos linfoides (MACÊDO et al., 2010). No entanto, a ingestão excessiva desse elemento está correlacionada a potenciais riscos para a saúde humana, conforme indicado por estudos anteriores (GAETKE; CHOW, 2003; SHABBIR et al., 2020).

Trabalhos indicam a presença de concentrações elevadas de Cu em alimentos e água, principalmente, derivados de compostos como o sulfato de cobre usado na agricultura, representando um potencial risco à saúde do consumidor (ARAYA et al., 2004; SHABBIR et al., 2020). A presença natural e aceitável de Cu em alimentos é condicionada ao respeito aos limites máximos de exposição diária. A *Environmental Protection Agency* (EPA) afirma que a ingestão de até 1 mg de Cu por dia é seguro (GAETKE; CHOW-JOHNSON; CHOW, 2014). Onde a exposição de doses elevadas pode ser tóxica, apresentando riscos à saúde, afetando órgãos e tecidos, dependendo da via de exposição, incluindo danos no fígado e rins (GAETKE; CHOW, 2003; ZIETZ; DASSEL DE VERGARA; DUNKELBERG, 2003).

Os halogênios são um grupo de elementos químicos que incluem F, Cl, Br, I e At. No contexto das amostras de chá, destacam-se o F e o Cl como os elementos mais notáveis, como discutido por Das (2017) e Kalayci (2022) (DAS, 2017; KALAYCI, 2022).

A planta *Camellia sinensis*, usada para a produção de chá, é reconhecida por sua alta concentração de F, sendo considerada um acumulador específico desse elemento devido à sua capacidade de absorção seletiva nos solos, especialmente de minerais que contêm íons fluoreto (DORES, 2023; GILJANOVIĆ et al., 2012). O F em baixas concentrações é benéfico para a saúde, fortalecendo ossos e dentes. Entretanto, há riscos de exceder essas quantidades devido a hábitos alimentares. A OMS estabeleceu um limite de 1,5 mg/L de F⁻ na água potável, com uma ingestão adequada de 0,05 mg/kg de peso corporal (OMS, 2011). No entanto, há riscos de exceder essas quantidades devido a hábitos alimentares, como por exemplo o consumo excessivo de F em alimentos como chá, que pode causar diversos problemas de saúde como a fluorose esquelética, danos hepáticos, renais e

anomalias neurológicas do desenvolvimento (REVELO-MEJÍA et al., 2021; ZHAO et al., 2019). O Cl⁻ atua na regulação da pressão osmótica e no equilíbrio ácido-base, influenciando no pH sanguíneo (ABDIGHAHROUDI; SCHMIDT; LUTZE, 2020). No entanto, devido à sua presença em processos industriais, e possível excesso na água de cultivo dos chás, este também pode ser considerado um contaminante. Segundo o Instituto Médico da Academia Nacional de Ciências (Washington, EUA), um adulto deve ingerir 2300 mg/dia de Cl de fontes como sal, leite, carne e ovos, mas um consumo desequilibrado pode levar a complicações como acidose metabólica e cefaleia (ROLFES; PINNA; WHITNEY, 2014).

É importante destacar que os níveis de F e Cl, podem variar entre diferentes tipos de chá e dependendo das condições de cultivo (DAS, 2017; NASCIMENTO et al., 2021; ZHANG et al., 2023). Além disso, as normas e regulamentações sobre a presença de halogênios em alimentos podem diferenciar entre países e agências reguladoras. Portanto, a determinação de Cl e F em chá torna-se relevante, sobretudo considerando a segurança alimentar e à saúde dos consumidores de chá. Para garantir a qualidade de produtos e estimar os riscos à saúde associados ao seu consumo, é crucial o desenvolvimento de estratégias analíticas eficazes, para a determinação de espécies químicas presentes.

Considerando que a presença de metais, e halogênios como o Cl e F em alimentos representa uma das principais fontes de exposição humana estes elementos, a obtenção de informações precisas sobre os níveis destas espécies em chás, possibilita avaliar o fator de risco que esses produtos oferecem e estimar a ingestão diária de nutrientes ou elementos potencialmente tóxicos, promovendo o uso seguro do consumo das espécies vegetais utilizadas em infusões.

2.3 DETERMINAÇÃO DE COBRE, CLORO E FLÚOR

A importância do controle da presença de Cu, Cl e F em chás destaca-se pela necessidade de garantir a qualidade do produto e mitigar potenciais riscos à saúde humana. Recentemente, diversos métodos analíticos empregando distintas técnicas têm sido utilizados para a determinação de elementos metálicos, e halogênios, em diferentes matrizes alimentícias, incluindo amostras de chá (SZYMCZYCHA-MADEJA; WELNA; POHL, 2012; ZHANG et al., 2023). Técnicas como voltametria (LEAL et al., 2009), espectrofotometria (CHUI; ZUCCHINI; LICHTIG, 2001),

potenciometria com eletrodos de íons seletivos (KALAYCI, 2022), espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) (MARGUÍ et al., 2022), espectrometria de absorção atômica (AAS) (ACETO et al., 2002; AHMADI-JOUIBARI; NOORI; FATTAHI, 2021), cromatografia de íons (IC) (ABDIGHAHOUDI; SCHMIDT; LUTZE, 2020; MALINOWSKA et al., 2008), e espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) (LI et al., 2018) são amplamente empregadas para essa finalidade (AHMADI-JOUIBARI; NOORI; FATTAHI, 2021; COELHO JUNIOR et al., 2021; LI et al., 2018; NASCIMENTO et al., 2021; PICOLOTO et al., 2014).

2.3.1 Técnicas analíticas para a determinação de metais

Embora técnicas instrumentais avançadas, como a ICP-MS e ICP OES, ofereçam vantagens significativas em relação à GF AAS e F AAS, como maior sensibilidade e a capacidade de determinação multielementar que reduz o tempo de análise, é importante destacar que sua aplicação demanda uma etapa mais elaborada no preparo de amostras para garantir a compatibilidade com o equipamento de análise, como mencionado por Batista et al. (2009). Nesse contexto, a GF AAS se destaca por ser uma técnica amplamente difundida, apresentar baixos limites de detecção e permitir a análise de amostras complexas. Isso é viabilizado pelo seu programa de temperaturas, que possibilita o tratamento *in situ* da amostra, incluindo a separação do solvente por meio da etapa de secagem e a decomposição da matriz na etapa de pirólise, antes da atomização do analito (AHMADI-JOUIBARI; NOORI; FATTAHI, 2021). A técnica fundamenta-se no conceito de que átomos no estado gasoso, gerados através de um atomizador, têm a capacidade de absorver radiação em um comprimento de onda específico emitida por uma fonte (FERREIRA et al., 2018; VAN LOON, 1980). Os atomizadores mais comuns em AAS são a chama e o forno de grafite. Ambos são amplamente utilizados para fins analíticos, porém a GF AAS por proporcionar maior sensibilidade, possibilita limites de detecção na ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$ à ng L^{-1} , tornando-se mais atrativa para determinação de elementos em níveis traço (FILATOVA et al., 2020).

Na GF AAS, a atomização dos analitos da amostra ocorre em um tubo de grafite que pode ser aquecido de forma longitudinal ou transversal, sendo o aquecimento transversal o ideal para manter uma temperatura uniforme dentro do

atomizador, minimizando perdas de analito por condensação em extremidades frias ou recombinações atômicas (ACETO et al., 2002; AHMADI-JOUIBARI; NOORI; FATTAHI, 2021; ZEINER et al., 2018). A amostra quando inserida no forno de grafite é submetida a um programa de temperatura, constituído pelas etapas de secagem, para eliminação de solvente; pirólise, na qual a matriz é eliminada; atomização, para a formação dos átomos livres dos analitos; e uma etapa de limpeza para remoção de resíduos evitando o efeito de memória. Etapas de pirólise e atomização podem ser otimizadas através de curvas de pirólise e atomização (RADA-MENDOZA et al., 2021). Vale destacar que a GF AAS possibilita análise de amostras complexas, com nenhum ou mínimo preparo de amostra indo ao encontro dos princípios da química analítica verde (ACETO et al., 2002).

2.3.2 Determinação de cloro e flúor

Para determinação de halogênios tais como Cl e F, diferentes técnicas analíticas, como a potenciometria com eletrodo íon-seletivo (ISE) (NASCIMENTO et al., 2021), e a IC, (REVEL'SKII et al., 2021), podem ser empregadas. A IC, no entanto, apresenta vantagens específicas em relação a outras técnicas, com acentuada sensibilidade, possibilidade de determinação de múltiplos analitos, além de requerer um preparo de amostra simples, o que minimiza potenciais riscos de contaminação, menor utilização de reagentes e mínima geração de resíduos (MUHAMMAD et al. 2020). A IC proporciona análises mais rápidas, sensíveis e seletivas, permitindo a detecção simultânea de íons (COELHO JUNIOR et al., 2021; FRITZ, 2008).

A cromatografia é uma técnica que se baseia em um princípio físico-químico para separar os componentes de uma mistura, abrangendo técnicas como cromatografia líquida, gasosa, de troca iônica e de afinidade. Essas variantes compartilham princípios básicos, mas diferem do tipo (planar ou por coluna), fase móvel (líquida, gasosa ou fluído supercrítico) e fase estacionária (líquido, sólido ou fase ligada) (FRITZ, 2008; RYBAKOVA, 2023; SMITH JR; CHANG; STEVENS, 1980).

Na IC, a fase móvel é líquida, introduzida por uma bomba de média pressão, e a amostra é injetada em uma alça de amostragem de volume definido. Na sequência, a fase móvel transporta a amostra para a coluna de separação (COELHO JUNIOR et al., 2021; FRITZ, 2008). A separação cromatográfica é a etapa onde ocorre a troca iônica entre o analito e a coluna, que ocorre através de afinidade eletrônica, ou seja,

quanto maior a afinidade mais lentamente os íons vão se mover ao longo da coluna cromatográfica, enquanto os componentes que apresentam menor afinidade com a fase estacionária movem-se mais rapidamente. Para determinação, os respectivos ânions são transportados através da coluna e interagem com os cátions presentes na fase estacionária. Cada íon terá uma determinada afinidade pela fase estacionária e móvel, o que determinará sua velocidade de saída da coluna para posterior detecção (FOSTER, 2005; FRITZ, 2008; SMITH JR; CHANG; STEVENS, 1980).

O desempenho do sistema de detecção em IC é avaliado com base em sensibilidade, linearidade, resolução e ruído. O detector mais comum na IC é o de condutividade, vantajoso devido à capacidade de condução elétrica de todos os íons em solução. Outros detectores, como UV-vis para substâncias opticamente ativas e amperométrico para compostos eletroativos, também podem ser utilizados. Por meio do cromatograma, a identificação e quantificação dos analitos são realizadas com base no tempo de retenção e áreas dos picos, respectivamente. Na IC com detector condutimétrico, o modo com supressão reduz a condutividade da fase móvel antes da detecção dos analitos, enquanto o modo sem supressão utiliza colunas com baixa capacidade de troca iônica e eluentes diluídos, resultando em um limite de detecção menor que o modo com supressão (FRITZ, 2008; RYBAKOVA, 2023; SMITH JR; CHANG; STEVENS, 1980).

No entanto, determinar a concentração de Cl e F pode ser um desafio devido à volatilidade destes elementos e, posterior propensão a perdas durante a análise (COELHO JUNIOR et al., 2021; HOEHNE et al., 2019; PICOLOTO et al., 2014). Portanto, a preparação da amostra torna-se uma etapa crítica no método analítico para a avaliação desses compostos (TJABADI, MKETO, 2019).

2.4 ESTRATÉGIAS PARA O PREPARO DE AMOSTRAS E DETERMINAÇÃO DE COBRE, CLORO E FLÚOR

Atualmente, apesar da disponibilidade de diversas técnicas analíticas com seletividade e sensibilidade adequadas para determinação de metais e halogênios como Cl e F em diferentes matrizes, o preparo adequado das amostras é necessário antes da análise, especialmente para determinação em níveis traço. Dessa forma, o preparo de amostras é uma etapa crítica da análise química e fundamental para garantir a qualidade dos resultados. A análise de amostras sem o devido preparo

pode acarretar riscos de contaminação cruzada, interferências e resultados imprecisos, comprometendo a confiabilidade das análises realizadas.

2.4.1 Metais

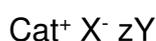
Para a determinação de metais, o preparo de amostras por digestão ácida assistida por radiação micro-ondas (MW-AD), do inglês *Microwave-Assisted Digestion*, é um procedimento eficiente amplamente utilizado para diferentes amostras (GÜVEN; AKINCI, 2011). Entretanto, as limitações associadas MW-AD estão principalmente relacionadas ao alto custo da instrumentação e quantidade de reagentes potencialmente tóxicos promovidos para a decomposição das amostras (BARELA et al., 2017; GONZALEZ et al., 2017; PEREIRA et al., 2010). Por outro lado, técnicas alternativas como a extração assistida por ultrassom (UAE), oferece como vantagem a simplicidade e eficiência para extração de metais em diversas matrizes (ALMEIDA, 2020). A eficiência de extração na UAE se deve, principalmente ao fenômeno da cavitação (VILKHU et al., 2008; YUSOFF et al., 2022).

A cavitação envolve a formação e implosão de microbolhas, resultando em regiões pontuais de alta temperatura e pressão, criando micro jatos que promovem a erosão na amostra sólida e auxiliam na extração de analitos (KHADHRAOUI et al., 2021). Além disso, o intenso efeito de homogeneização do ultrassom no meio líquido melhora significativamente a transferência de massa, impactando positivamente na eficiência da extração. Em resumo, a eficácia da UAE pode ser atribuída a uma combinação de mecanismos, incluindo cavitação, fragmentação, erosão, efeito sonoro-capilar, estresse de cisalhamento local e destruição da textura (KHADHRAOUI et al., 2021; MELLO et al., 2020).

A eficácia da extração está diretamente relacionada à seleção do solvente apropriado. Os quais desempenham um papel crítico no preparo de amostras, ao dissolver sólidos, transferir massa e possibilitar a extração dos analitos. No entanto, os solventes tradicionais, embora ofereçam vantagens notáveis, são em sua maioria prejudiciais à saúde e ao meio ambiente devido às suas propriedades voláteis, inflamáveis e tóxicas. Neste contexto, há um interesse considerável em pesquisas voltadas para o desenvolvimento de novos solventes verdes, tais como os solventes eutéticos profundos (DES) (do inglês, *deep eutectic solvents*) (AYDIN; YILMAZ; SOYLAK, 2018; GÜVEN; AKINCI, 2011).

O trabalho de Abott *et al.*, (2004), foi o primeiro a relatar o uso do DES na literatura. Esse tipo de solvente é reconhecido como uma nova categoria de líquidos iônicos (IL), diferenciando-se pela natureza da ligação predominante entre seus constituintes. Enquanto nos IL predominam as ligações iônicas, nos solventes eutéticos, a interação química ocorre por meio de ligações de hidrogênio (ABBOTT *et al.*, 2004).

Segundo Smith, Abbot e Ryder (2014), os DES podem ser classificados segundo sua composição de partida, mais precisamente de acordo com o agente complexante, e podem ser descritos na seguinte fórmula geral: (SMITH; ABBOTT; RYDER, 2014)



A espécie representada por Cat^+ pode ser qualquer cátion derivado de amônio, fosfônio ou sulfônio. Entre esses cátions, os provenientes de sais de amônio quaternário se destacam, como o cloreto de colina e o brometo de tetrabutilamônio. Por sua vez, X^- representa o contra íon, que age como uma base de Lewis nesse composto, geralmente sendo um ânion halogeneto. Já Y representa um ácido de Bronsted ou Lewis, enquanto z refere-se ao número de moléculas de Y no meio reacional (SMITH; ABBOTT; RYDER, 2014).

De forma geral, os solventes eutéticos profundos (DES) podem ser classificados em quatro tipos, dos quais os tipos I, II e IV são comparáveis aos líquidos iônicos (SMITH, ABBOTT, RYDER, 2014). Os tipos I, II e III são compostos por uma mistura que inclui um sal orgânico, como o cloreto de colina, enquanto o tipo IV é uma mistura que contém sais metálicos, como o cloreto de zinco (ABBOTT *et al.*, 2004; ZHAO; BAKER, 2013).

Sua composição ocorre entre proporções específicas de um sal orgânico e um ou mais compostos orgânicos doadores de hidrogênio, pelo menos um deles uma espécie receptora de ligação de hidrogênio (HBA), e um ou mais compostos doadores de ligação de hidrogênio (HBD). Os compostos designados como HBA são geralmente sais de aminas quaternárias, enquanto os compostos HBD podem pertencer a diversas espécies químicas, tais como álcoois, ácidos carboxílicos, amidas e carboidratos, interagindo com os grupos aniônicos (ABBOTT *et al.*, 2004, 2004; PANHWAR; TUZEN; KAZI, 2018).

Uma proporção molar específica entre os componentes HBA e HBD resulta na formação de uma ligação de hidrogênio entre o contra íon do sal de amônio quaternário e um hidrogênio ácido presente na estrutura do HBD. Isso leva à menor temperatura de fusão da mistura entre os componentes. O ponto eutético da mistura de cloreto de colina (ChCl) e ácido oxálico (menor ponto de fusão), onde a estabilidade do sistema é aumentada devido às ligações de hidrogênio, permite que a mistura líquida permaneça a uma temperatura muito mais baixa do que seus componentes individuais. A redução do ponto de fusão está diretamente relacionada ao grau de interação entre os dois componentes que formam o DES (ABBOTT et al., 2004; PANHWAR; TUZEN; KAZI, 2018; SANTANA-MAYOR et al., 2020; ZHANG et al., 2012). A partir dessa característica físico-química os DESs exibem a notável característica de permanecerem no estado líquido em temperatura ambiente (EL ACHKAR; GREIGE-GERGES; FOURMENTIN, 2021; SMITH; ABBOTT; RYDER, 2014).

Em geral, DES hidrofílicos tendem a ter densidade maior do que a água, o que pode ser atribuído à sua elevada massa molecular (AYDIN; YILMAZ; SOYLAK, 2018; EL ACHKAR; GREIGE-GERGES; FOURMENTIN, 2021; KUMAR; PARIKH; PRAVAKAR, 2016). A viscosidade é outra importante propriedade físico-química dos solventes eutéticos, sendo geralmente maior devido às fortes interações de hidrogênio entre os componentes. Isso afeta a transferência de massa e pode reduzir a mobilidade das moléculas (QIN et al., 2020; ZHANG et al., 2012). A viscosidade desses solventes pode ser reduzida pela adição de água e pela temperatura, mas um excesso de água pode enfraquecer as ligações de hidrogênio (ABBOTT et al., 2004; DAI et al., 2015; SAVI, 2019).

Um exemplo destacado na literatura é o uso de DES formado pela combinação de cloreto de colina (ChCl) e ácido oxálico (Ox). Esse DES foi empregado na extração de arsênio (As) e selênio (Se) em amostras de peixe (PANHWAR; TUZEN; KAZI, 2018). Essa mesma combinação foi aplicada na extração desses elementos em cogumelos comestíveis com o objetivo de determinação subsequente por meio da técnica GF AAS (ZOUNR; TUZEN; KHUHAWAR, 2018).

Essa classe de solventes apresenta diversas vantagens, incluindo a simplicidade na síntese, economia atômica, formação mínima de resíduos, baixo custo e facilidade de biodegradação, alta estabilidade térmica, baixa condutividade e volatilidade, compatibilidade com técnicas avançadas de análise, como cromatografia

líquida de alta eficiência e cromatografia gasosa, além de miscibilidade ajustável e solubilidade em água (ABBOTT et al., 2004; AYDIN; YILMAZ; SOYLAK, 2018; FERNANDES et al., 2019; SMITH; ABBOTT; RYDER, 2014; ZHANG et al., 2012). Os DES podem incluir ainda outras classificações, como os NADES, compostos por precursores naturais como açúcares e aminoácidos; THEDES, focados na indústria farmacêutica e contendo princípios ativos; e HDES, sintetizados a partir de precursores hidrofóbicos como álcoois de cadeia longa e sais de amônio quaternário (DIETZ, 2020; DUARTE et al., 2017).

2.4.2 Cloro e flúor

A determinação de halogênios pode representar um desafio devido à sua volatilidade e propensão à perda durante o processo de análise. Nesse contexto, uma das etapas críticas na determinação desses compostos é a etapa de preparação da amostra (ALMEIDA, 2022; OLIVEIRA et al., 2023). Métodos como a combustão induzida por micro-ondas (MIC) (NEGRIS; SANTOS; VICENTE, 2023), extração assistida por micro-ondas (MAE) (REHDER et al., 2021), e a piroidrólise (MARIM et al., 2023; OLIVEIRA et al., 2023; PICOLOTO et al., 2014), têm sido empregados em amostras biológicas e ambientais para determinação de halogênios. Entretanto, a piroidrólise, conforme destacado por Warf, Cline e Tevebauch (1954), se destaca por ser uma técnica simples, eficiente, de baixo custo para o preparo de amostras (OLIVEIRA et al., 2023; PICOLOTO et al., 2014; WANG; MAKISHIMA; NAKAMURA, 2010; WARF; CLINE; TEVEBAUGH, 1954).

Em 1856, Frémy introduziu o conceito de piroidrólise ao investigar a reação em altas temperaturas entre a água e o fluoreto de cálcio, resultando na subsequente conversão em óxido de cálcio (FRÉMY, 1856). No entanto, somente em 1890, a piroidrólise foi aplicada pela primeira vez como método de preparo de amostras, utilizada para determinar a concentração de boro em nitreto de boro (HEMPEL, 1892). A técnica baseia-se na pirólise da amostra em elevadas temperaturas na presença de vapor d'água, resultando na hidrólise dos elementos não metálicos e na formação dos seus respectivos ácidos. Posteriormente, esses ácidos são condensados e coletados em uma solução absorvedora (OLIVEIRA et al., 2023; WARF; CLINE; TEVEBAUGH, 1954).

Com uma instrumentação simples, consumo reduzido de reagentes e mínima geração de resíduos, a piroidrólise é uma técnica de preparo de amostra considerada ambientalmente amigável (MISHRA et al., 2018). Além disso, nesta técnica, devido à separação eficiente dos halogênios da matriz, há a oportunidade de diminuir os efeitos da matriz, melhorando potencialmente os limites de detecção (LODs) e reduzindo o consumo de reagentes (PENG et al., 2012; PEREIRA et al., 2018; PICOLOTO et al., 2014).

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver estratégias analíticas para a determinação de Cu, Cl e F em amostras de chás de ervas, empregando a espectrometria de absorção atômica com atomização em forno de grafite para determinação de Cu, e a cromatografia de íons para determinação de Cl e F. Além disso, pretende-se avaliar o potencial do preparo de amostras utilizando DES e piroidrólise.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

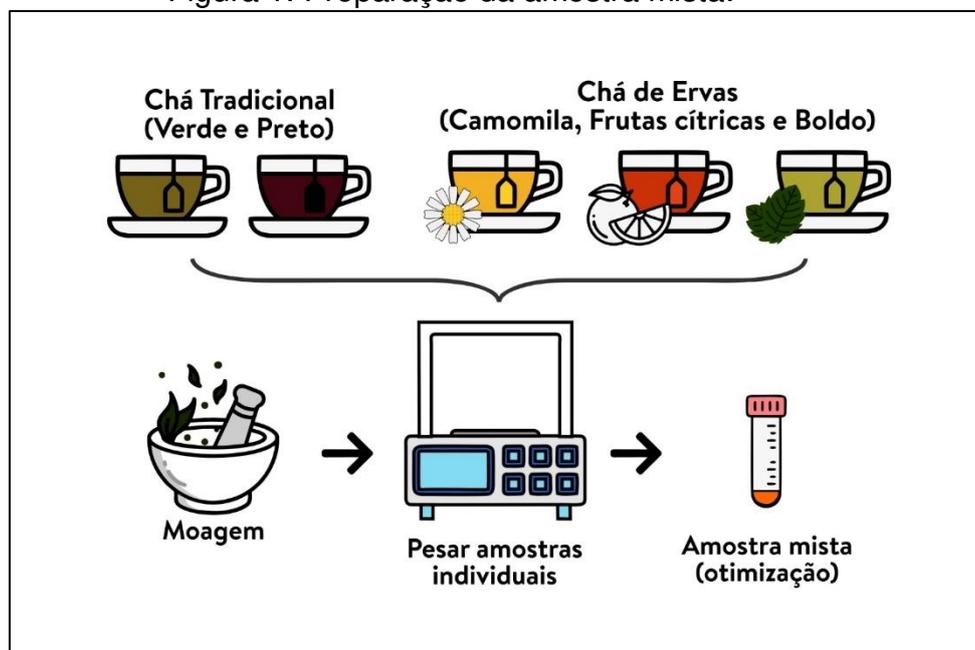
- ✓ Aplicar a otimização multivariada para estabelecer os parâmetros para o preparo de amostras utilizando a extração com solvente eutético profundo (para Cu) e a piroidrólise (para Cl e F);
- ✓ Otimizar as condições instrumentais da GF AAS para quantificação de Cu e da IC para determinação de Cl e F nas amostras de chá de ervas;
- ✓ Estabelecer os parâmetros de mérito e avaliar a exatidão dos métodos propostos para determinação de Cu, Cl e F;
- ✓ Aplicar os métodos propostos para determinação da concentração total e disponível de Cu, Cl e F em diferentes amostras de chá de ervas;
- ✓ Avaliar o fator de risco à saúde humana quanto a exposição diária de F⁻ por ingestão de chá.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 AMOSTRAS

Para o desenvolvimento dos métodos propostos, foram adquiridas 5 amostras comerciais de chás tradicionais (preto e verde) e chás de ervas (boldo, frutas cítricas e camomila), de diferentes marcas, em um mercado local da cidade de Florianópolis, SC, no ano de 2022. Para padronizar as amostras chá, elas foram identificadas como: **a-** preto; **b-** boldo; **c-** verde; **d-** frutas cítricas; e- camomila. Para a otimização do preparo das amostras para determinação de Cu, Cl e F, optou-se por empregar uma amostra mista, composta por quantidades equivalentes das cinco distintas amostras de chá, retiradas diretamente dos sachês dos chás comercializados, com a finalidade de garantir a representatividade das amostras avaliadas. Para isso, procedeu-se à trituração das amostras em um moinho de bolas, seguida da etapa de mistura e homogeneização e pesagem, conforme ilustrado na Figura 1.

Figura 1. Preparação da amostra mista.



Para verificar a exatidão foram analisados os materiais de referência certificados (CRM): NCS 73014 (chá) para F ($57 \pm 15 \text{ mg kg}^{-1}$); Cl ($440 \pm 33 \text{ mg kg}^{-1}$), NIST 73349 (folhas e arbusto) com concentrações certificadas para F ($23 \pm 4 \text{ mg kg}^{-1}$); e NCS 1515 (folhas de tomate) com Cl ($579 \pm 23 \text{ mg kg}^{-1}$). Para Cu, foram

analisadas os CRM: NCS 73014 (chá) com concentração certificada de $17,9 \pm 0,7$ mg kg^{-1} e NIST 73349 (folhas de arbusto), contendo $5,8 \pm 0,5$ mg kg^{-1} .

4.2 INSTRUMENTAÇÃO, REAGENTES E SOLUÇÕES

4.2.1 Determinação de Cobre

As amostras foram moídas em moinho de bolas modelo MM200 (Retsch, Haan, Alemanha) e pesadas usando uma balança analítica modelo Mark Serie M (BEL Engineering, Monza, Itália). Todas as soluções foram preparadas com água ultrapura (resistividade de $18,2$ $\text{M}\Omega$ cm) em purificador Pureza Ultra (Elga LabWater, Buckinghamshire, Reino Unido).

Todos os reagentes utilizados foram no mínimo de grau analítico de pureza. Para a síntese do DES foram utilizados cloreto de colina 99,0% (Merck, Alemanha), e ácido oxálico 99,0 % (Merck, Alemanha). Os reagentes utilizados para a síntese do DES foram previamente secos em estufa modelo (Biomatic, Brasil) e armazenados em dessecador de vidro. Para a pesagem dos reagentes de partida do DES utilizou-se a balança modelo ATX224 (Shimadzu, Brasil), chapa de aquecimento modelo TE-0854 (TECNAL, Brasil) e Vórtex modelo CRV-45X (CAPP, Dinamarca). No processo de extração, as amostras foram pesadas em tubos de polipropileno de 15 mL, submetidas ao aquecimento em uma chapa de aquecimento, centrifugadas em uma centrífuga microprocessada modelo Q222TM216 (QUIMIS, Brasil). Todos os extratos foram acidificados com HNO_3 2% (v v^{-1}) e água ultrapura foi utilizada no preparo de soluções de calibração e para diluição das amostras.

Para a quantificação da concentração total e disponível de Cu, as medições foram realizadas em espectrômetro AAnalyst 100 (Perkin Elmer, EUA) de fonte de linha com uso de forno de grafite como atomizador. Utilizou-se uma lâmpada de cátodo oco, para o Cu operou-se a 8 mA com monitoramento da linha secundária, 324,8,3 nm. Utilizou-se um forno de grafite com grafite pirolítico com plataforma.

4.2.2 Determinação de Cl e F

As extrações por piroidrólise foram realizadas com um sistema adaptado, incluindo um forno mufla modelo R1800 (EDG, São Carlos, Brasil), bomba de ar modelo U-2800 (Boyu, Chaozhou, China) e bomba peristáltica modelo IPC 4 (Ismatec, Wertheim, Alemanha).

A concentração total e disponível de Cl e F foi determinada por meio do monitoramento das respectivas espécies aniônicas, Cl^- e F^- , em um cromatógrafo de íons modelo 761 Compact IC (Metrohm, Herisau, Suíça) com coluna cromatográfica modelo Metrosep A Supp 5-150/4,0 mm (Metrohm), com fase estacionária composta por álcool polivinílico com grupos de amônio quaternário (NR_4^+).

As soluções padrão de F (IsoSol, Jacareí, Brasil) e Cl (SpecSol, Jacareí, Brasil) foram utilizadas para o preparo das curvas de calibração na faixa de concentração entre 0,025 a 10,0 mg L⁻¹. Para as análises, Na_2CO_3 (Sigma-Aldrich, Steinheim, Alemanha), NaHCO_3 (Merck, Darmstadt, Alemanha), H_2SO_4 (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) e NH_3 (Merck, Darmstadt, Alemanha) também foram empregados.

4.3 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

4.3.1 Determinação de Cu

4.3.1.1 Preparação e caracterização do DES

Para obtenção do DES, utilizou-se cloreto de colina (ChCl) como HBA e o ácido oxálico (OX) como HBD em razões molares de 1:1. As massas estabelecidas de acordo com a razão molar foram pesadas diretamente em tubos de polipropileno. Para a preparação, os tubos contendo os reagentes foram submetidos ao aquecimento em banho-maria a $90 \pm 5^\circ\text{C}$ e agitação eventual até a formação de um líquido incolor e homogêneo. Posteriormente foi caracterizado via FTIR.

4.3.1.2 Otimização Box -Behnken e extração com DES

A otimização das condições empregadas para determinação de Cu utilizando extração com DES foi obtida pelo planejamento Box-Behnken 2^3 que inclui repetições no ponto central, usando o *software Statistica* versão 6.0 (StatSoft, Tulsa, EUA). Para a otimização, foram avaliados o tempo e temperatura de extração bem como a porcentagem de água no DES, as variáveis avaliadas e os respectivos níveis estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Variáveis e níveis avaliados no delineamento Box-Behnken para preparo de amostra empregando DES.

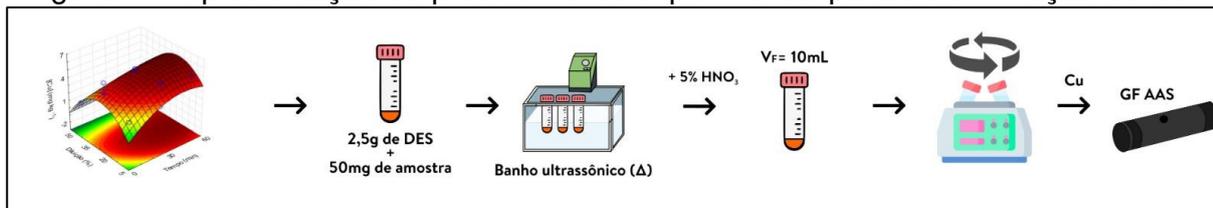
Variáveis	Níveis		
	-1	0	+1
Tempo (minutos)	5	30	55
Temperatura (°C)	25	50	75
DES (% m m ⁻¹) *	10	30	50

* Refere-se a porcentagem de água adicionada ao DES

Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

A massa de amostra e massa de DES utilizada para extração foi respectivamente, 0,05 g e 1 g. As massas das amostras foram pesadas diretamente em tubos de polipropileno, e em seguida adicionou-se de 1g de DES 20% (m m⁻¹). Após a pesagem, as amostras foram misturadas com o auxílio do vórtex e submetidas a aquecimento e ultrassom (45 min). Ao término do processo, as amostras foram avolumadas para 10 mL com água ultrapura, homogeneizadas, e centrifugadas durante 10 min a 3500 rpm. O sobrenadante foi separado, diluído adequadamente e acidificado com HNO₃ a 2% (v v⁻¹), posteriormente, a concentração de Cu foi determinada por GF AAS. O procedimento experimental está esquematicamente representado na Figura 2.

Figura 2. Representação do procedimento experimental para determinação de Cu.



Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

4.3.1.3 Parâmetros instrumentais

As determinações foram realizadas por GF AAS, para as medições uma alíquota de 20 μL da solução de amostra e/ou solução padrão em meio aquoso foi injetada no atomizador com auxílio de um amostrador automático. O programa de temperaturas otimizado para a determinação de Cu por GF AAS está apresentado na Tabela 2.

Tabela 2. Programa de temperaturas empregado para determinação de Cu por GF AAS.

Etapa	Temperatura, $^{\circ}\text{C}$	Rampa, s^{-1}	Permanência, s^{-1}	Vazão de gás, mL min^{-1}
Secagem 1	90	10	18	250
Secagem 2	120	9	25	250
Pirólise	900	10	25	250
Atomização	2100	0	5	0
Limpeza	2500	5	2	250

Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

4.3.1.4 *Curvas de calibração*

As curvas avaliadas incluíram a calibração externa, realizada através da diluição de padrões aquosos; a calibração com simulação da matriz, que envolveu a preparação de padrões aquosos com a presença de DES; e a calibração por adição de analito, onde padrões aquosos foram preparados com a adição do extrato da amostra. Essa abordagem tem por finalidade uma análise abrangente das diferentes técnicas de calibração, visando a determinação precisa da concentração de Cu nas amostras após a extração com DES. Na condição otimizada, a calibração externa com padrões aquosos foi utilizada e, a faixa de calibração empregada para determinação de Cu por GF AAS foi entre 5 e 80 $\mu\text{g L}^{-1}$.

4.3.1.5 *Avaliação dos parâmetros de mérito*

A fim de verificar a exatidão, diferentes amostras com concentrações certificadas para Cu foram avaliadas. O procedimento com as amostras certificadas seguiu o mesmo procedimento otimizado para as amostras de chá descrito no item 4.3.1.2. Após a extração com DES, assistido por US, o sobrenadante foi retirado, as amostras foram diluídas adequadamente e as concentrações de Cu foram determinadas por GF AAS.

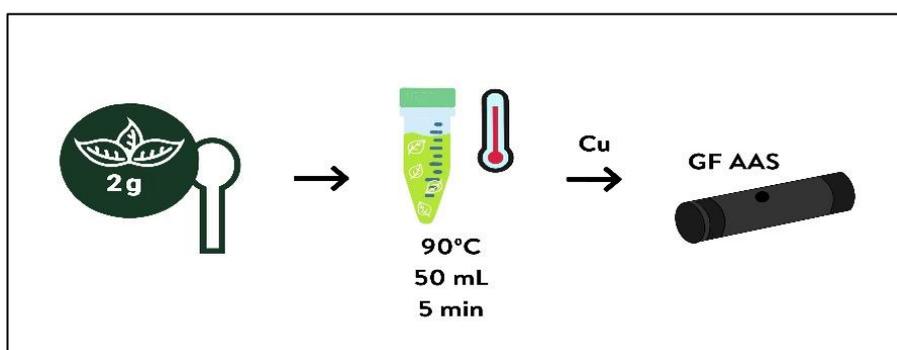
Além disso, foram determinados os seguintes parâmetros de mérito: LOD, LOQ e RSD. Os LODs e LOQs foram calculados conforme descrito no trabalho de Lister e Miller (2010). Neste caso, o LOD e o LOQ foram calculados pela razão entre três vezes (para o LOD) e dez vezes (para o LOQ) o desvio padrão de dez medições consecutivas da solução do branco dividido pelo coeficiente angular da curva de calibração (LISTER, 2005; MILLER; MILLER, 2010). A fim de obter esses parâmetros em mg kg^{-1} , as massas e os volumes finais foram considerados no cálculo.

4.3.1.6 *Concentração de Cu na infusão (disponível)*

Normalmente, o chá é consumido após a infusão por alguns minutos usando água quente (LI et al., 2018). Nesse sentido, para a quantificação da concentração de Cu disponível em cinco amostras de chá, procedeu-se à infusão seguindo as indicações de massa nos rótulos: chá preto - 0,35 g; chá de boldo - 0,20 g; chá verde

- 0,35 g; chá frutas cítricas - 0,55 g; chá camomila - 0,28 g. Essas quantidades foram ajustadas conforme as proporções especificadas nos rótulos, considerando um volume final de 50 mL. O volume constante de 50 mL de água foi aquecido a 90 °C e adicionado ao tubo contendo a massa de chá, permanecendo por 5 minutos. Em seguida, as amostras foram filtradas, e a concentração dos analitos no sobrenadante foi determinada de acordo com as condições instrumentais otimizadas para a análise da concentração de Cu, conforme ilustrado na Figura 3. Para a avaliação da concentração de Cu disponível na infusão, a concentração foi convertida para a unidade de mg kg^{-1} , considerando a massa de chá e o volume final da infusão, e posteriormente comparado com a concentração total, empregando o método utilizando o DES.

Figura 3. Procedimento experimental para a determinação de Cu disponível.



Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

4.3.2 Determinação de Cl e F

4.3.2.1 Otimização delineamento experimental

A otimização das condições empregadas no sistema de piroidrólise foi realizada pelo planejamento Box-Behnken 2^3 incluindo 3 repetições do ponto central, usando o *software Statistica* versão 6.0 (StatSoft, Tulsa, EUA) para tratamento dos dados. Para a otimização, avaliou-se as variáveis descritas na Tabela 3. Posteriormente, o tipo de solução absorvedora ($50 \text{ mmol L}^{-1} \text{ NH}_3$, $100 \text{ mmol L}^{-1} \text{ NH}_3$,

H₂O, 3,2 mmol L⁻¹ Na₂CO₃ + 1,0 mmol L⁻¹ NaHCO₃ e 32 mmol L⁻¹ Na₂CO₃+ 10 mmol L⁻¹ NaHCO₃), foi avaliada de forma individual.

Tabela 3. Variáveis e níveis avaliados no delineamento Box-Behnken para preparo de amostra por piroidrólise.

Variáveis	Níveis		
	-1	0	+1
Tempo (min)	10	20	30
Temperatura (°C)	700	850	1000
Massa (mg)	100	150	200

Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

Para identificar uma condição de compromisso, adotou-se a função desejabilidade, a qual é uma técnica utilizada para a determinação simultânea de condições ótimas, estabelecendo a relação entre os fatores avaliados e as desejabilidades (DERRINGER; SUICH, 1980).

Inicialmente as respostas do planejamento fatorial de F e Cl obtidas em unidade (mg kg⁻¹) foram convertidas em valores adimensionais de 0 a 1, chamados de desejabilidades individuais (di), e com a finalidade de obter a máxima resposta, aplicou-se a fórmula da Equação 1.

$$d_i = \frac{y-L}{T-L} \quad (\text{Eq. 1})$$

Onde y, representa o valor monitorado, L é a menor resposta, e T é a máxima resposta. Após calcular as desejabilidades individuais agrupou-se os valores obtidos por meio de uma média geométrica, a fim de obter a desejabilidade global (D) (Equação 2).

$$D = \sqrt{dF \times dCl} \quad (\text{Eq. 2})$$

Onde, dF e dCl representam o valor da desejabilidade individual (di) para F e Cl, respectivamente.

Um modelo de regressão foi utilizado para ajustar o polinômio de segunda ordem (Equação 3), aos dados experimentais e identificar os termos relevantes do

modelo. Considerando todos os termos lineares, termos quadráticos e interações, o modelo de resposta quadrática pode ser descrito segundo a equação 3.

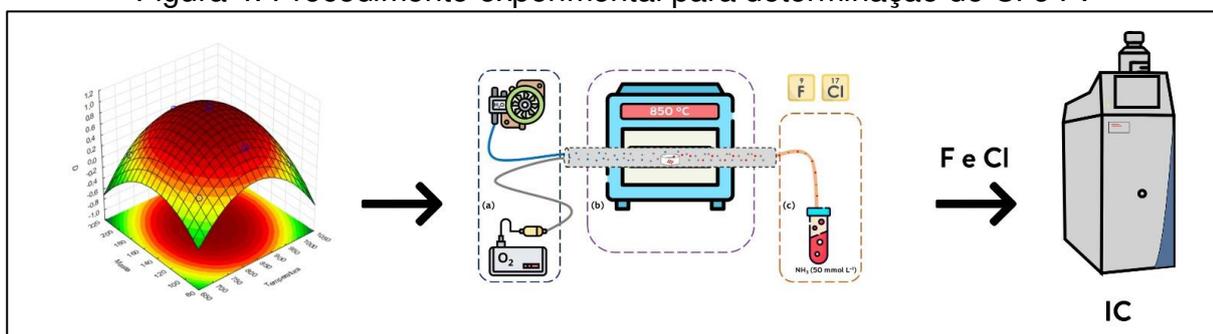
$$\gamma = \beta_0 + \sum \beta_i X_i + \sum \beta_{ii} X_{ii}^2 + \sum \beta_{ij} X_i X_j \quad (\text{Eq. 3})$$

onde, γ é a resposta de interesse (D), β_0 é o coeficiente linear, que representa o valor esperado de γ quando todas as variáveis independentes são iguais a zero, X_i e X_j são as variáveis independentes (fatores). β_i , β_{ii} e β_{ij} são os coeficientes que representam os efeitos lineares, quadráticos e de interação, respectivamente.

4.3.2.2 Preparo da amostra por Piroidrólise

Para a otimização utilizou-se a massa da amostra mista, descrita no tópico 4.1, onde em um sistema de piroidrólise (Figura 5), foi posicionada uma navícula de porcelana e submetida ao centro de um tubo reator de quartzo (400 mm x 20 mm de diâmetro externo) alocado dentro da mufla, sendo submetida a temperatura e tempo pré-estabelecidos (Fig. 5 b). A avaliação das três variáveis seguiu o perfil do planejamento Box-Behnken. Para a determinação da concentração total de Cl e F nas amostras de chá realizou-se o mesmo procedimento, utilizando as respectivas amostras individuais, utilizando as condições otimizadas: 150 mg, 850 °C, e 20 min, para massa, temperatura e tempo, respectivamente, na piroidrólise e posterior determinação no IC, conforme representado na figura 4.

Figura 4. Procedimento experimental para determinação de Cl e F.

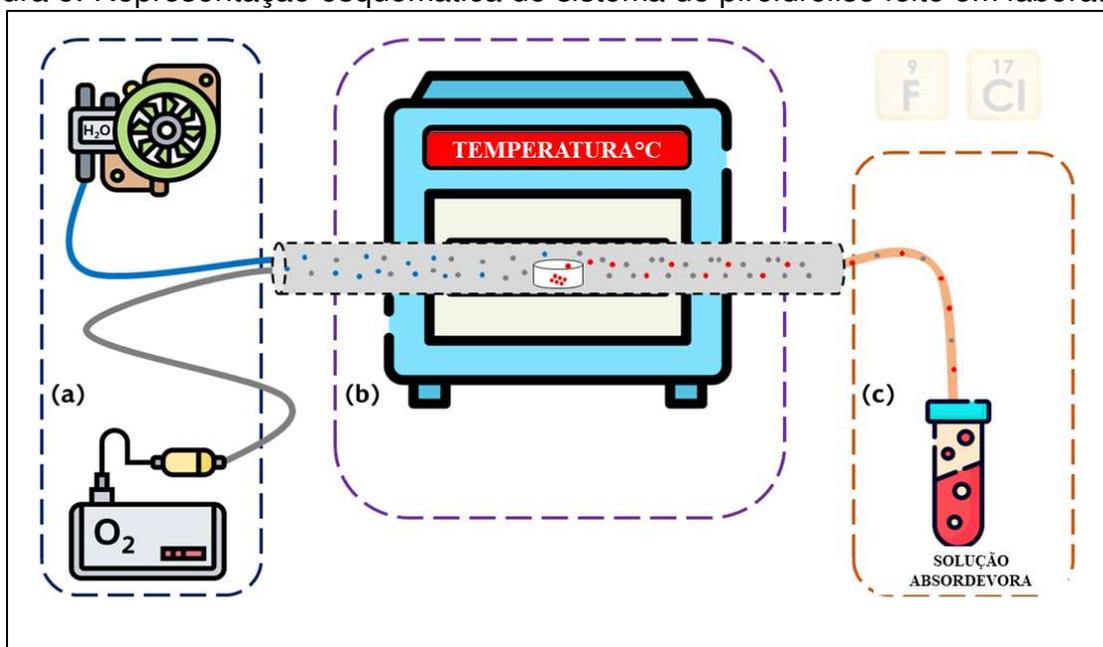


Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

Um fluxo contínuo de ar ($0,2 \text{ L min}^{-1}$) e de água ($0,1 \text{ mL min}^{-1}$) (Figura 5 a) foram utilizados para carrear os haletos dos analitos Cl e F durante a decomposição da

amostra. O vapor gerado foi condensado e logo coletado em frasco de polipropileno contendo 10 mL de solução absorvedora de NH_3 (50 mmol L^{-1}) (Fig. 5 c). Após esse procedimento, o volume da solução absorvedora foi ajustado para 20 mL, posteriormente a solução foi filtrada, diluída e a concentração dos analitos determinada por cromatografia de íons. Para a análise, uma alíquota de $20 \mu\text{L}$ de amostra foi injetada no cromatógrafo de íons, utilizando um fluxo de $0,2 \text{ L min}^{-1}$ da fase móvel composta por Na_2CO_3 ($3,2 \text{ mmol L}^{-1}$) e NaHCO_3 ($1,0 \text{ mmol L}^{-1}$). O tempo de corrida foi de 12 min, as supressoras foram limpas com uma solução de 100 mmol L^{-1} de H_2SO_4 e posteriormente com H_2O ultrapura após cada injeção.

Figura 5. Representação esquemática do sistema de piroidrólise feito em laboratório.



Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

Posteriormente, foi otimizado o tipo da solução absorvedora (NH_4OH 50 mmol L^{-1} , NH_4OH 100 mmol L^{-1} , H_2O , $3,2 \text{ mmol L}^{-1}$ Na_2CO_3 + $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ NaHCO_3 e 32 mmol L^{-1} Na_2CO_3 + 10 mmol L^{-1} NaHCO_3).

4.3.2.3 Verificação da exatidão e parâmetros de mérito

Para o delineamento experimental, a normalidade dos resíduos foi avaliada através de gráficos dos valores preditos vs observados. Os parâmetros de falta de ajuste e os coeficientes de determinação (R^2 e R^2_{ajustado}) foram avaliados.

Para a avaliação da exatidão, empregou-se a avaliação de três materiais de referência certificados com concentração certificada para Cl e F. O teste *t-student*, com nível de confiança de 95%, foi aplicado para determinar as diferenças estatísticas entre os resultados. O LOD e o LOQ do método proposto foram calculados como 3 e 10 vezes, respectivamente, o desvio padrão do sinal correspondente a 10 medições consecutivas de soluções em branco (solução absorvedora, sem amostra de chá após o processo de piroidólise) dividido pelo coeficiente angular da respectiva curva de calibração.

4.3.2.4 Análise estatística

Todas as análises foram realizadas em triplicata, e para a obtenção dos parâmetros de mérito foi realizada a leitura do branco (solução absorvedora). Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão. Os parâmetros quimiométricos descritos nesse estudo, foram avaliados, usando o *software Statistica* versão 6.0 (StatSoft, Tulsa, EUA). O teste *t-student*, com nível de confiança de 95%, foi aplicado para determinar as diferenças estatísticas entre os resultados.

4.3.2.5 Concentração disponível de Cl e F

Para determinação da concentração de Cl e F disponível nas amostras de chá, as infusões foram preparadas conforme descrito para determinação da concentração disponível de Cu (item 4.3.1.6). Em seguida, as amostras foram filtradas e a concentração dos analitos no sobrenadante foi determinada por cromatografia de íons conforme as condições especificadas para determinação da concentração total dos elementos.

4.3.3 Avaliação do fator de risco

A exposição diária de F⁻ por ingestão de chá foi estimada seguindo USEPA (1992), a partir da equação 4:

$$\text{CDI} = \text{C} \times \text{DI/PC} \qquad \text{Eq. (4)}$$

Onde, CDI é a ingestão crônica diária (mg/kg/d), C é a concentração do ânion na infusão de chá (mg/L), DI é a taxa média de ingestão diária de chá (L/d) e PC é o peso corporal (kg). Para crianças e adultos, o peso corporal padrão foi de 20 kg e 70 kg, respectivamente. A taxa média de ingestão diária de chá foi determinada com base no estudo de Sofuoglu e Kavcar (2008). De acordo com este estudo, estimou-se que crianças com menos de 15 anos consomem aproximadamente 0,075 litros de chá por dia, enquanto adultos com mais de 35 anos consomem diariamente uma média de 0,75 litros de chá. Esses valores foram adotados como taxa média de ingestão para diferentes faixas etárias na realização deste trabalho. (SOFUOGLU; KAVCAR, 2008).

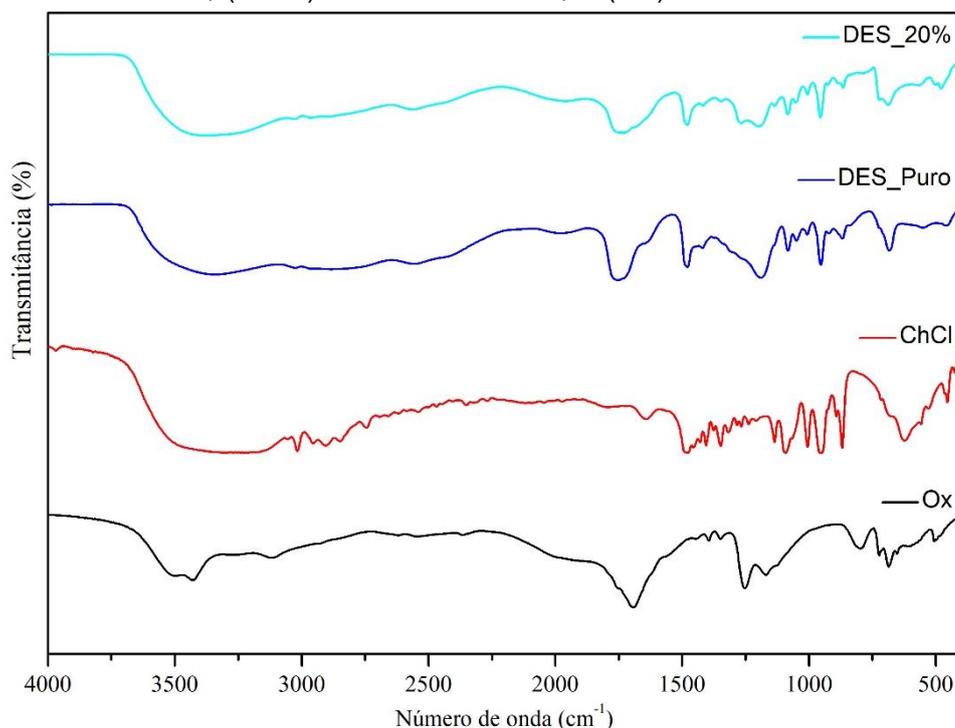
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 DETERMINAÇÃO DE COBRE

5.1.2 Caracterização do DES

Os DESs apresentam características como líquido incolor à temperatura ambiente e homogeneidade. A preparação do DES ChCl:Ox é simples, prática, pouco trabalhosa e apresenta economia atômica por não necessitar de muitos reagentes. O DES preparado a partir de ChCl:Ox na proporção molar 1:1, foi caracterizado por FTIR nos reagentes de partida, ou seja, cloreto de colina e ácido oxálico, assim como no DES sintetizado em suas formas pura e diluída (20% m m⁻¹ de água), a fim de avaliar as características e estruturas das ligações químicas no DES. Os espectros correspondentes ao cloreto de colina, ácido oxálico, DES puro e DES diluído estão apresentados na Figura 6.

Figura 6. Espectro de FTIR para (DES) solvente eutético profundo ChCl:Ox na razão molar 1:1, (ChCl) cloreto de colina, e (Ox) ácido oxálico.



Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

Conforme apresentado na Figura 6, o espectro obtido para o ácido oxálico mostrou estiramentos de: O-H em 3500 cm^{-1} típicos de ácidos carboxílicos, de C-O em 1200 cm^{-1} , de C=O em 1600 cm^{-1} e de C=C em 3112 cm^{-1} . Já o espectro para Cloreto de colina apresentou estiramentos de O-H associada a ligações de OH-Cl⁻ em 3252 cm^{-1} , deformações angulares em 1477 cm^{-1} de N-C característico de ChCl, e em 958 cm^{-1} de C-H, indicando a formação de ligações de hidrogênio entre o ácido oxálico e cloreto de colina e portanto, indicando a formação de DES (MACCHIONI et al., 2021; SAHA; DEY; CHAKRABORTY, 2019).

5.1.3 Otimização Box-Behnken

Os fatores estabelecidos para a avaliação da extração: Tempo, Temperatura e porcentagem de água no DES, foram otimizados por meio de um delineamento experimental Box-Behnken. Técnica de modelagem empírica utilizada para avaliar a relação entre um conjunto de fatores experimentais controláveis e os resultados observados. Os três fatores e a resposta (Concentração de Cu) estão descritos na Tabela 4.

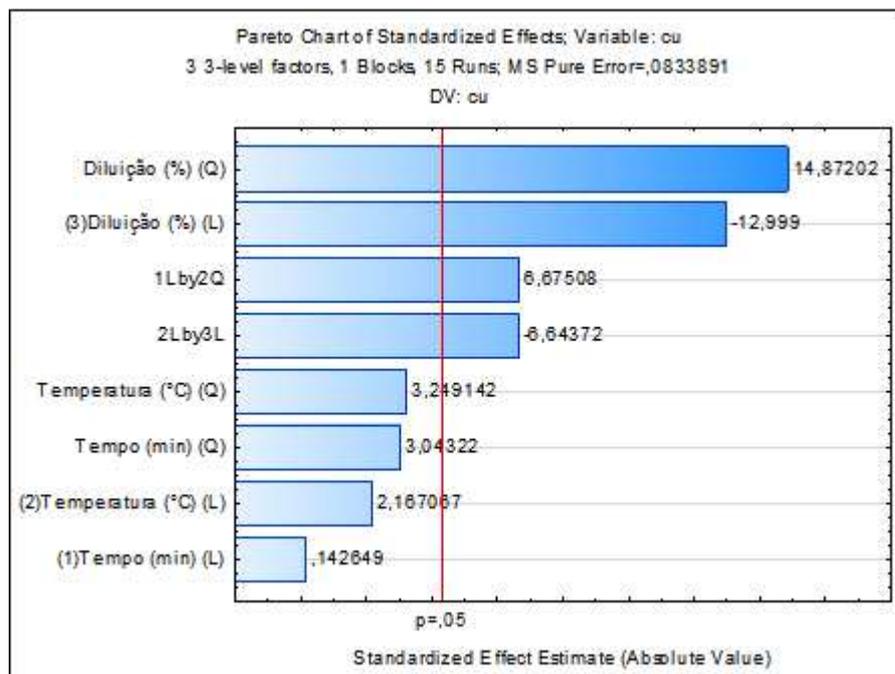
Tabela 4. Experimentos do planejamento fatorial 2^3 , com as variáveis e concentração de [Cu], mg kg^{-1} na amostra mista de chá (otimização)

Experimento	Tempo (min)	Temperatura(°C)	Água no DES (%)	[Cu]
1	5 (-1)	25 (-1)	30 (0)	5,34
2	55 (+1)	25 (-1)	30 (0)	3,34
3	5 (-1)	75 (+1)	30 (0)	4,06
4	55 (-1)	75 (+1)	30 (0)	4,3
5	5 (-1)	50 (0)	10 (-1)	2,37
6	55 (+1)	50 (0)	10 (-1)	4,8
7	5 (-1)	50 (0)	50 (+1)	0,81
8	55 (+1)	50 (0)	50 (+1)	2,07
9	30 (0)	25 (-1)	10 (-1)	2,58
10	30 (0)	75 (-1)	10 (-1)	5,55
11	30 (0)	25 (+1)	50 (+1)	1,34
12	30 (0)	75 (+1)	50 (+1)	0,46
13	30 (0)	50 (0)	30 (0)	5,51
14	30 (0)	50 (0)	30 (0)	4,94
15	30 (0)	50 (0)	30 (0)	5,16

Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

Os resultados foram analisados, gerando um gráfico de Pareto que identifica os fatores que influenciaram na extração (Figura 7). Resultados considerados estatisticamente significativos (95% de confiança) extrapolam a linha divisória ($p=0,05$). Observa-se que o fator significativo individual foi o DES com menor % de água. Além disso, o termo quadrático positivo, indica curvatura na superfície de resposta, evidenciando interações entre variáveis e sua influência favorável na extração.

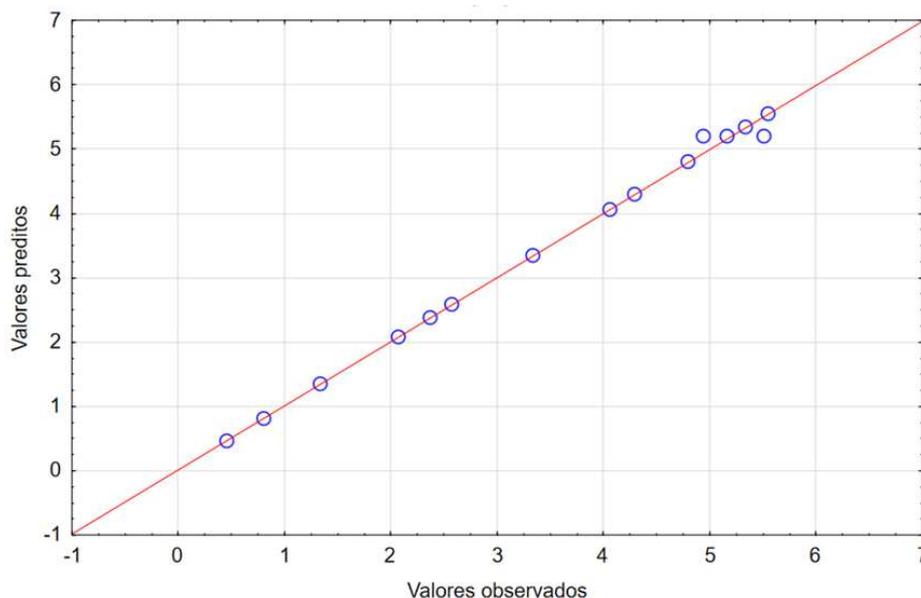
Figura 7. Gráfico de Pareto das variáveis avaliadas no planejamento Box-Behnken (L = linear; Q = quadrático) para otimização da extração de Cu em amostras de chá.



Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

O gráfico de resíduos na Figura 8, que compara os valores observados e preditos, oferece uma maneira de avaliar a normalidade dos dados. É notável que os pontos experimentais estão próximos e uniformemente distribuídos ao longo da reta, sugerindo uma boa correspondência entre os valores previstos pelo modelo e a distribuição normal dos resíduos em relação à variável de concentração de Cu. Isso reforça a confiança na capacidade do modelo em representar de maneira precisa e consistente a dinâmica para a extração do analito, de acordo com os dados experimentais.

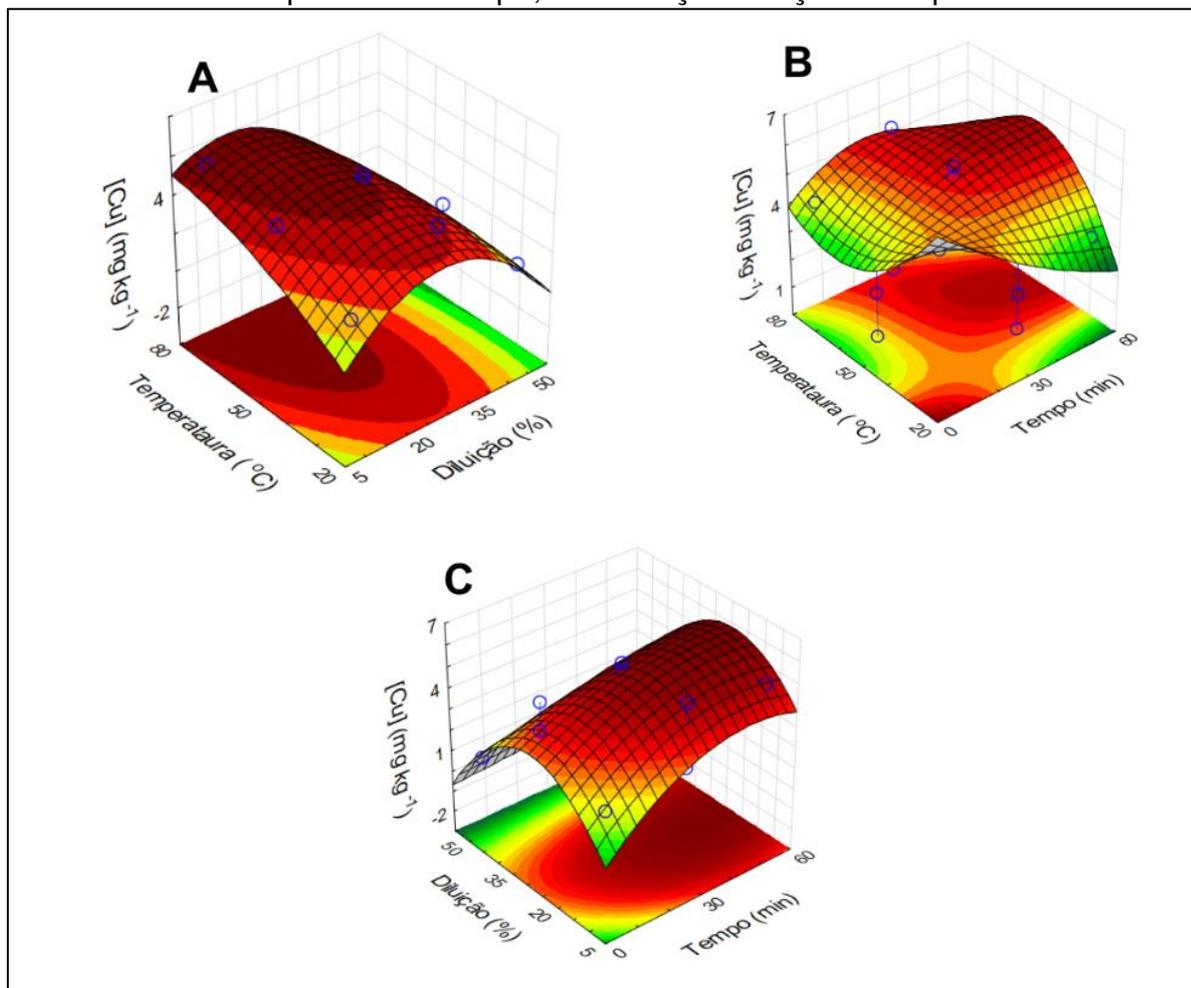
Figura 8. Correlação entre os valores observados e os valores esperados para o planejamento Box – Behnken 2^3 .



Fonte: Programa estatística (2024)

Ao analisar as superfícies de resposta que mostram a interação entre as variáveis temperatura e % de água no DES (Figura 9a), observa-se que a maior extração de Cu ocorre quando se utiliza DES com menor % de água e em temperaturas mais elevadas. Por outro lado, a interação entre as variáveis % de água no DES e tempo de ultrassom (Figura 9c) indica que a extração de Cu é mais favorável em tempos mais longos de ultrassom e com menor % de água no DES. A análise da superfície de resposta, que ilustra a interação entre as variáveis tempo e temperatura, revela que a extração é otimizada em períodos e temperaturas mais prolongados. As áreas destacadas em vermelho nas superfícies de resposta indicam as regiões de máxima resposta, enquanto as áreas verdes sinalizam os menores valores para a variável em questão. Essas representações visuais das respostas são coerentes com os resultados apresentados no gráfico de Pareto (Figura 7), reforçando a consistência das observações. Ao avaliar as regiões em destaque nas superfícies de resposta, observa-se que valores de tempo e temperaturas mais altas contribuem expressivamente para maximizar a resposta desejada na extração. Essa correlação entre os dados visuais e as conclusões do gráfico de Pareto fornece uma validação adicional da influência positiva de tempo e temperatura no processo de extração.

Figura 9. Superfícies de respostas para a determinação de Cu obtidas pelo delineamento box Behnken; A- interação temperatura e diluição; B- interação temperatura e tempo; C- interação diluição e tempo.



Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

As condições obtidas como ótimas foram, 20% de água adicionado ao DES, 45 min de US, e 60°C de temperatura, as condições de compromisso são observadas nas condições de maior extração, notados nas regiões de maior coloração das figuras 9 (A, B e C). Além disso, empregou-se a função desejabilidade, configurada até extração máxima, (100 interações) (FERREIRA et al., 2021) a qual apontou as condições dos experimentos supracitados.

5.1.4 Curvas de pirólise e atomização

O Cu é um analito notório por ser influenciado por interferências de matriz, resultando em variações consideráveis nas temperaturas de pirólise e atomização, dependendo da matriz empregada (CALDAS et al. 2014). Nesse contexto, torna-se

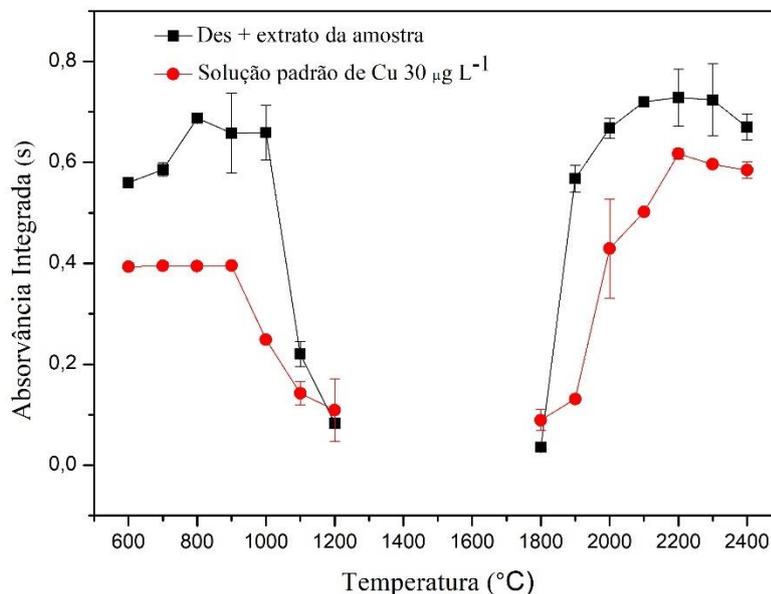
crucial realizar uma otimização adequada do programa de temperaturas, utilizando as curvas correspondentes de pirólise e atomização.

Desse modo, para avaliar o comportamento térmico do Cu em meio aquoso (solução padrão), e na amostra mista após extração com DES, as temperaturas de pirólise e atomização foram avaliadas, cujos valores ótimos foram obtidos a partir respectivas curvas de pirólise e atomização. Para construir a curva de pirólise, variou-se a temperatura de pirólise de 600 a 1200 °C, mantendo a temperatura de atomização constante em 2100 °C. Por sua vez, a curva de atomização foi delineada utilizando a temperatura ótima de pirólise, determinada experimentalmente, e variando a temperatura de atomização na faixa de 1800 a 2400 °C. A Figura 10 apresenta as curvas de pirólise e atomização obtidas para soluções padrão aquosa e extrato de amostra de chá após extração com DES.

A etapa de pirólise desempenha um papel crucial na remoção de elementos orgânicos e inorgânicos da matriz, preservando o analito. A eficácia da separação dos concomitantes da matriz tende a aumentar com o aumento da temperatura de pirólise. A escolha específica da temperatura de 900 °C foi criteriosamente feita, justamente antes da observação de uma queda no sinal na curva do extrato de amostra utilizando DES. Importante notar que o mesmo perfil térmico foi identificado para esta temperatura na solução padrão em meio aquoso. Vale destacar que temperaturas próximas foram empregadas no estudo realizado por Patel (2017), o qual utilizou a temperatura de 800 °C na determinação de Cu em diferentes frações de girassol, por GF AAS (PATEL, 2017). Já o trabalho de Caldas et al., (2014), empregou a temperatura de 1000 °C, na determinação de Cu em óleo mineral isolante por GF AAS.

As curvas de pirólise e atomização para o Cu, tanto no extrato quanto na solução aquosa, exibiram perfis similares. Esses resultados apontam para uma uniformidade no comportamento térmico do analito, seja na solução aquosa ou no extrato processado com DES. Vale ressaltar ainda que os sinais de fundo observados durante a medição do extrato foram praticamente negligenciáveis, o que confirma a eficácia do programa de temperaturas empregado. As absorbâncias distintas para o padrão aquoso e amostra + DES, podem ser explicadas a partir da constituição da amostra, a qual pode conter compostos que se comportam de maneira diferente durante a pirólise e atomização (CALDAS et al., 2014; ZEINER et al., 2018).

Figura 10. Curvas de pirólise e atomização para padrão aquoso ($\text{Cu } 30 \mu\text{g L}^{-1}$) e extrato de amostra utilizando DES. Temperatura de atomização para curva de pirólise: 2100°C . Temperatura de pirólise para curva de atomização: 900°C .



Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

Para atingir a temperatura mínima de atomização que assegure a eficiente produção de átomos livres no estado gasoso do analito, foram geradas curvas de atomização. Inicialmente observou-se um aumento e a subsequente estabilização do sinal, indicativos de que a temperatura de atomização alcançou um ponto ótimo para a produção eficiente de átomos, neste caso, a temperatura de 2100°C , foi selecionada como condição de compromisso. A mesma temperatura de atomização foi utilizada por Rocha (2016), na determinação de Cu em amostras de néctares e sucos industrializados (ROCHA, 2016).

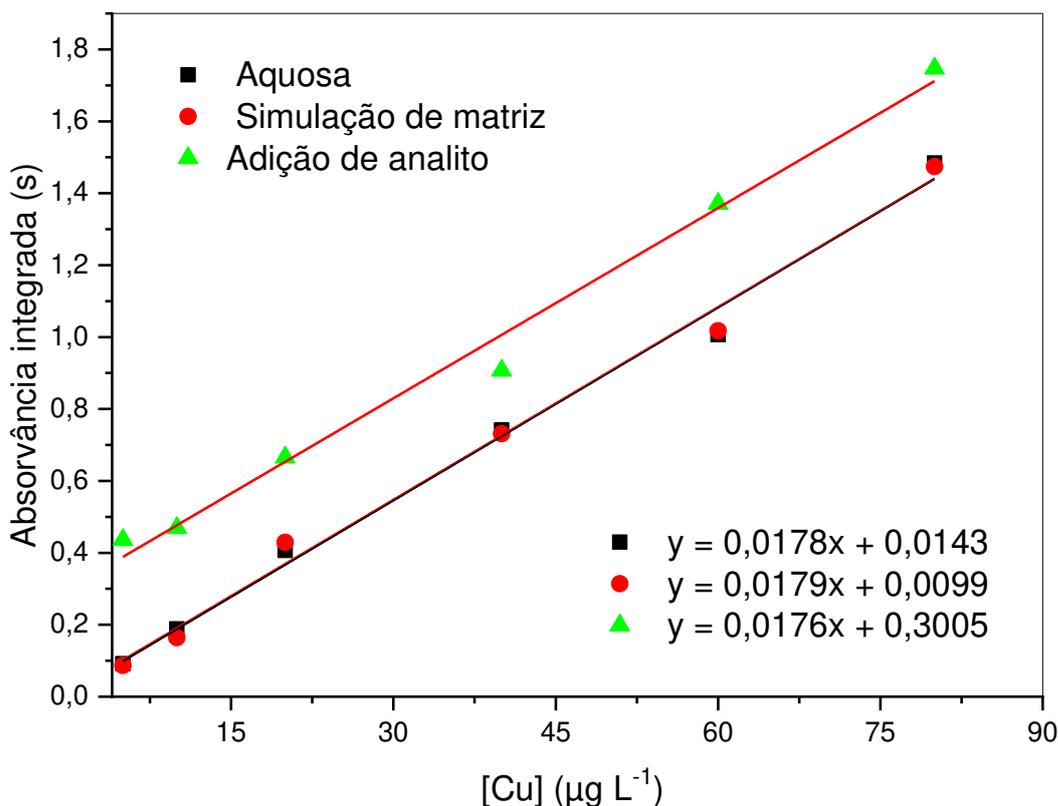
5.1.5 Exatidão e parâmetros de mérito

5.1.5.1 Curvas de calibração

Considerando-se que a curva de calibração por adição de analito é considerada a técnica de calibração de referência, pois a amostra está presente em todas as soluções de calibração, os parâmetros desta calibração foram utilizados como referência para comparação entre as outras técnicas de calibração avaliadas. Considerando a faixa de calibração avaliada (5 - 80 $\mu\text{g L}^{-1}$), as três curvas apresentaram boa linearidade e sensibilidade semelhantes, conforme mostrado na Figura 11, com R^2 de 0,9932, 0,9930, 0,9901 para curva aquosa, simulação de matriz e adição de analito, respectivamente, valores próximos a 1, o que é indicado como satisfatório. Para avaliar a sensibilidade das curvas, aplicou-se a ANOVA (*one-way*) com intervalo de confiança de 95%, os resultados indicaram que não há diferença significativa entre a sensibilidade das curvas de calibração avaliadas. Tais dados evidenciam a possibilidade do uso de quaisquer uma das curvas para determinação dos analitos.

O trabalho de Borges (2016) determinou Cu em *ice-drinks* por GF AAS, realizando a avaliação de diferentes curvas de calibração, e não foi observado diferença significativa nas curvas de calibração externa com uso de padrões aquosos e por simulação de matriz (BORGES, 2016). Diante da maior simplicidade associada à técnica de calibração externa empregando padrões em meio aquoso, esta abordagem foi adotada para a determinação da concentração de Cu. Os valores das absorbâncias dos pontos da curva de calibração aquosa, foram avaliados, a fim de identificar possíveis *outliers de Grubbs* (95% de confiança). Entretanto, não foram observados valores divergentes, sendo utilizado o todo conjunto de dados na curva de calibração.

Figura 11. Avaliação da técnica de calibração para determinação de Cu por GF AAS após extração com DES.



Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

5.1.5.2 Parâmetros de mérito e verificação da exatidão

O LOD obtido para o método analítico proposto foi de $0,2 \text{ mg kg}^{-1}$ e o LOQ de $0,8 \text{ mg kg}^{-1}$. Limites de quantificação similares foram obtidos nos trabalhos de Saidelles (2005) o qual determinou a concentração de Cu em $0,3 \text{ µg g}^{-1}$ em plantas medicinais, por análise direta de amostras sólidas por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (SAIDELLES, 2005). Já o trabalho de Marguí e colaboradores (2022) determinou Cu em diferentes amostras de chá, por diferentes técnicas instrumentais. Por FAAS foram obtidos valores de $0,2$ e $1,5 \text{ mg kg}^{-1}$ para LOD e LOQ, respectivamente. Já por ICP OES os autores determinaram os valores de LOD e LOQ de $0,4$ e $1,2 \text{ mg kg}^{-1}$, respectivamente (MARGUÍ et al., 2022). Portanto, com base na sensibilidade adequada, na comparação com outros métodos e na consistência com a literatura, o método analítico proposto é considerado eficaz para a determinação de cobre em amostras de chá, garantindo resultados sensíveis.

A exatidão do método proposto foi avaliada por meio da análise de dois CRM's com concentrações certificadas para Cu, os resultados estão apresentados na tabela 6. Conforme observado, na condição otimizada e considerando os valores de concentração certificados, a porcentagem de recuperação obtida foi de 91,5 e 81,1 %, para as amostras de chá e de folhas de arbusto, respectivamente.

Tabela 5. Concentrações de Cu certificadas e determinadas por GF AAS após extração com DES.

Amostras	Certificado (mg kg ⁻¹)	Determinado (mg kg ⁻¹)	Recuperação (%)
NIST 73014	17,9 ± 0,7	16,37 ± 0,71	91,5
NIST 73349	5,8 ± 0,8	4,70 ± 0,40	81,1

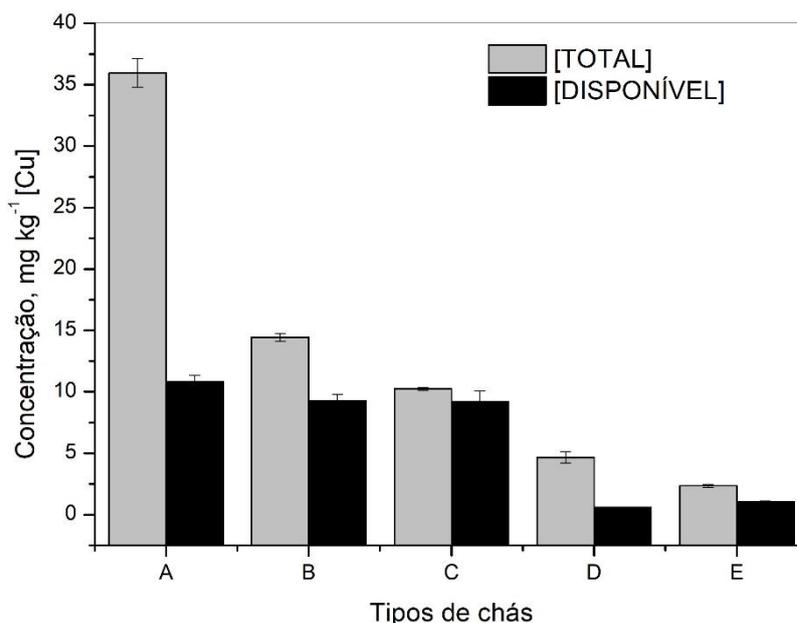
Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

A comparação dos resultados determinados com as concentrações expressas nos certificados também foi avaliada por meio do teste t de *Student*, considerando 95% de confiança em um grau de liberdade igual a 2 (n=3). Os valores de $t_{\text{calculados}}$ (3,7 e 4,2) foram menores que o $t_{\text{crítico}}$ (4,30), comprovando a inexistência de diferença significativa entre a concentração determinada pelo método proposto e a expressa no certificado dos CRM. Desta maneira, evidencia-se que os resultados obtidos para determinação de Cu utilizando DES como solvente extrator, são estatisticamente satisfatórios e concordantes com os valores certificados, indicando a acurácia do método.

5.1.6 Determinação de Cu em chá

A avaliação da concentração total de Cu nas 5 amostras de chá foi realizada pelo método proposto, empregando o DES para extração, e quantificação do analito por GF AAS seguindo o procedimento do item 4.3.1.2. A Figura 12 denota a concentração total (mg kg⁻¹) a partir da extração utilizando o DES, e a concentração disponível de Cu, determinada na infusão das cinco amostras de chá.

Figura 12. Determinação da concentração total e disponível nas amostras de chá (A- preto; B- boldo; C- verde; D- frutas cítricas; E- camomila).



Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

A concentração total de Cu variou entre 2,5 mg kg⁻¹ a 35 mg kg⁻¹, respectivamente, nas amostras de chá (e) e (a). Valores próximos aos determinados no presente trabalho, foram obtidos por Marguí *et al.*, (2022) que analisaram seis amostras de chás fitoterápicos onde as concentrações obtidas foram entre 2,1 e 16,6 mg kg⁻¹, utilizando o preparo de amostras sob a forma de suspensões e determinação por FAAS e ICP OES. Estes valores são ligeiramente superiores aos reportados por Maiga *et al.*, 2005 que determinaram a concentração total de Cu (entre 2,4 e 1,7 mg kg⁻¹) em sete tipos de chás, utilizando calcinação para o preparo das amostras e subsequente determinação de espectrometria de absorção atômica (MAIGA *et al.*, 2005). De acordo com Manica, Galina e Baretta (2023), a concentração de Cu em amostras chás de *Camellia sinensis* está entre 13,65 e 28,73 mg kg⁻¹ determinada por FAAS, após procedimento de extração sequencial. (MANICA; GALINA; BARETTA, 2023).

No estudo conduzido por Schulzki, Nüsslein e Sievers (2017), a concentração de Cu em diversas amostras de chá variou entre 8,28 e 24,5 mg kg⁻¹. O método utilizado envolveu a digestão no preparo das amostras, seguida pela determinação por ICP-MS. Já na pesquisa realizada por Jin *et al.* (2008), a concentração de Cu em

20 amostras de chá foi determinada, apresentando uma variação de 8,05 a 33,50 mg kg⁻¹, pelo método de digestão ácida e posterior determinação por GF AAS.

Ao analisar a Figura 7, é evidente que a concentração total de Cu na amostra de chá preto foi a mais elevada, registrando 35,9 mg kg⁻¹. Esse valor se aproxima do encontrado no estudo de Gajewska et al. (2000), que relatou uma concentração de 31,3 mg kg⁻¹ para chá preto por digestão ácida e posterior determinação por espectrometria de absorção atômica por chama. Quanto ao chá verde, a concentração obtida foi comparável à determinada por Podwika et al. (2018), que estabeleceram a concentração desse tipo de chá em 11,28 mg kg⁻¹. A análise dos diferentes estudos mostra uma ampla variação nas concentrações de Cu em amostras de chá, dependendo do tipo de chá, do método de preparo das amostras e da técnica analítica. Os valores encontrados nesse estudo estão dentro da faixa relatada na literatura, mostrando consistência com outros estudos.

As concentrações de Cu nas infusões de chá apresentaram uma variação entre 0,58 mg kg⁻¹ a 10,8 mg kg⁻¹, considerando as condições de preparo das infusões, à faixa de 23,4 a 80,5 µg L⁻¹. Essas concentrações são comparáveis com as reportadas por Nagara et al. (2022), que determinaram a concentração de Cu em diferentes amostras de chá e relataram valores de concentração entre 12,1 a 395,4 µg L⁻¹. O estudo conduzido por Podwika et al. (2018) indica que a concentração média de Cu na infusão de chás está na faixa de 50 µg L⁻¹, pelo método de gestão úmida assistida por micro-ondas e posterior determinação por espectrometria de absorção atômica por chama.

Outro aspecto avaliado nesse estudo foi a concentração total e disponível, gerando a taxa de transição. A porcentagem entre o valor total e o disponível variou de 12,44 a 90,12%. Os níveis de Cu e as taxas entre o valor total e o disponível encontram-se em intervalos comparáveis aos observados em estudos anteriores, como o de Magalhães et al. (2009), que avaliou que essa porcentagem em amostras de chá (entre 9,6–31,8%), por digestão ácida úmida das amostras e posterior determinação por espectrometria de absorção atômica por chama, já no trabalho de Schulzki, Nüsslein e Sievers (2017), registrou taxas entre 21,1% e 79,5%, realizando o preparo de amostras por digestão ácida e posterior determinação por ICP-MS. A ampla variação nas taxas de transição do Cu pode ter origens diversas, possivelmente relacionadas às características específicas da matriz de chás.

Nesse sentido, destaca-se a extração utilizando o DES, devido às suas propriedades que a tornam uma alternativa verde e eficaz para a determinação de Cu, sendo mais sustentável em comparação com solventes orgânicos tradicionais, apresentando baixa toxicidade, versatilidade, podendo proporcionar uma extração eficiente de metais como o cobre, muitas vezes com rendimentos comparáveis ou até superiores aos obtidos com solventes convencionais. Quanto à química entre o DES e o cobre, ocorre a partir de interações entre o íon de cobre (Cu^{2+}) e os componentes do DES, com a formação de íons solvatados, acompanhado por interações de ligação de hidrogênio, formadas a partir dos grupos funcionais -COOH do ácido oxálico, que formam ligações de hidrogênio com o cloreto de colina, especialmente com os grupos hidroxila (-OH) presentes na molécula, facilitando a extração seletiva do Cu da matriz da amostra de chá (EL ACHKAR; GREIGE-GERGES; FOURMENTIN, 2021; SAHA; DEY; CHAKRABORTY, 2019; ZHANG et al., 2012).

5.2 DETERMINAÇÃO DE CLORO E FLÚOR

5.2.1 Otimização multivariada da piroidrólise

Entre as variáveis que afetam na liberação dos analitos no preparo de amostras utilizando a piroidrólise, a massa da amostra, temperatura e tempo da reação estão inclusas (HOEHNE et al., 2019; MARIM et al., 2023; MUHAMMAD et al., 2020). Estas foram otimizadas por meio de um delineamento experimental Box-Behnken, as variáveis reais e codificadas, as condições experimentais e a resposta desejabilidade (D) estão descritas na Tabela 7.

Tabela 6. Experimentos do planejamento fatorial 2^3 , com as variáveis e a função desejabilidade (D) para amostra mista de chá.

Experimento	Temperatura(°C)	Tempo (min)	Massa (mg)	D
1	700 (-1)	10 (-1)	150 (0)	0,109
2	1000(+1)	20 (-1)	150 (0)	0,033
3	700 (-1)	30 (+1)	150 (0)	0,184
4	1000(+1)	30 (+1)	150 (0)	0,344
5	700 (-1)	20 (0)	100 (-1)	0,159
6	1000 (+1)	20 (0)	100 (-1)	0,000
7	700 (-1)	20 (0)	200 (+1)	0,082
8	1000 (+1)	20 (0)	200 (+1)	0,221
9	850 (0)	10 (-1)	100 (-1)	0,021
10	850 (0)	30 (-1)	100 (-1)	0,686
11	850 (0)	10 (+1)	200 (+1)	0,000
12	850 (0)	30 (+1)	200 (+1)	0,573
13	850 (0)	20 (0)	150 (0)	0,884
14	850 (0)	20 (0)	150 (0)	0,998
15	850 (0)	20 (0)	150 (0)	0,911

Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

É possível observar que os valores D variaram de 0,00 a 0,99. A menor resposta obtida (0,0) foi observada no experimento 06, o qual foi realizado na temperatura de 1000 °C (+1), 20 minutos (-1) e 100 mg (-1), e no experimento 11, 850°C (+1), 10 minutos (-1) e 250 mg (-1), logo a sinergia dessas condições não é satisfatória para a liberação dos analitos. Já a maior resposta de D (0,99) foi encontrada no experimento 14, onde empregou-se a temperatura de 850 °C (0), 20 min (-1) e 150 mg (0). Os experimentos 15 e 13, apresentaram valores D de 0,91 e 0,88, respectivamente, apontando que a condição do ponto central (experimentos 13, 14 e 15) proporciona valores próximos a 1, indicado na literatura como valor desejável (SONG; CHUNG; NAM, 2021; YUE et al., 2020), esses dados sugerem que nível central (0) do delineamento experimental, promove determinação da concentração mais efetiva dos analitos Cl e F.

Através dos coeficientes de regressão significativos ($p < 0,05$), a equação polinomial de segunda ordem, foi ajustada entre as variáveis do estudo, e os resultados da função D, com base no modelo de planejamento experimental de Box-

Behnken. A equação final obtida em termos de fatores reais está disposta na equação 5.

$$D = 0,2010 + 0,241966 (T^2) + 0,203170(t) + 0,1396(t^2) + 0,1657(M^2) \quad \text{Eq (5)}$$

Todos os coeficientes significativos tiveram efeito positivo, como indicado na Eq. 5, evidenciando que o aumento das três variáveis, favorecem a liberação dos analitos. Os valores de p (Tabela 8) também foram utilizados como ferramenta para verificar a significância de cada coeficiente disposto na (Eq. 5), os quais apresentaram ($p < 0,05$), logo são estatisticamente significativos.

A verificação do ajuste do modelo, que descreve o comportamento dos dados experimentais, pode ser realizada por meio da análise de falta de ajuste, utilizando os parâmetros obtidos através da análise de variância (ANOVA). O modelo linear apresentou ($p = 0,5205 > 0,05$), o que indica que a falta de ajuste não é significativa em relação ao erro puro, portanto o modelo consegue explicar adequadamente a variação dos dados observados. A acurácia entre o modelo predito em relação aos dados experimentais foi avaliada utilizando o coeficiente de determinação R^2 (0,9411) e R^2_{ajustado} (0,9205) sendo o modelo considerado satisfatório (PINHEIRO; NEVES; PAZ, 2021; SONG; CHUNG; NAM, 2021).

Tabela 7. Resultados ANOVA do delineamento Box-Behnken ($R^2 = 0,94$) para a determinação de Cl e F.

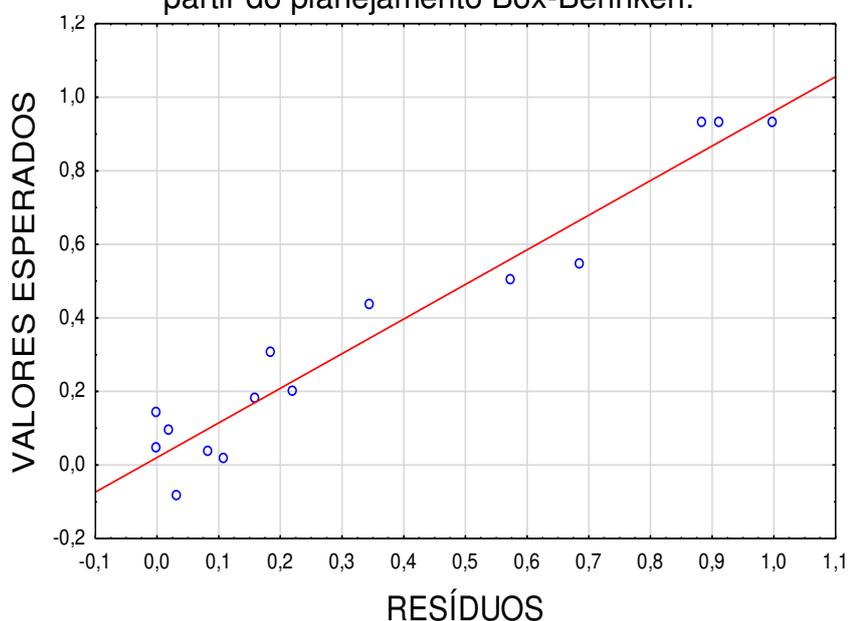
Fator	SQ	G.L	F	P
T (L +Q)	0,8652	2	122,130	0,0081
t (L+Q)	0,6183	2	87,289	0,0113
M (L+Q)	0,4059	2	57,306	0,0171
T*t	0,0138	1	6,251	0,1868
T*M	0,0221	1	0,597	0,1295
t*M	0,002	1	9,560	0,0961
Falta de ajuste	0,1015	3		0,5205

SQ: soma quadrática; G.L.: graus de liberdade; F- teste FMQ: média quadrática; Valor p: nível de probabilidade; L: linear; Q: quadrático.

Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

Com base na análise do gráfico de resíduos, que compara os valores observados com os valores preditos, conforme apresentado na Figura 13, procedeu-se a avaliação da normalidade dos dados. É possível observar que os pontos experimentais se encontram localizados próximos e distribuídos aleatoriamente ao longo da reta, o que sugere que os valores preditos pelo modelo estão de acordo com a distribuição normal dos resíduos em relação à variável de resposta D, indicando um adequado ajuste dos dados experimentais ao modelo proposto.

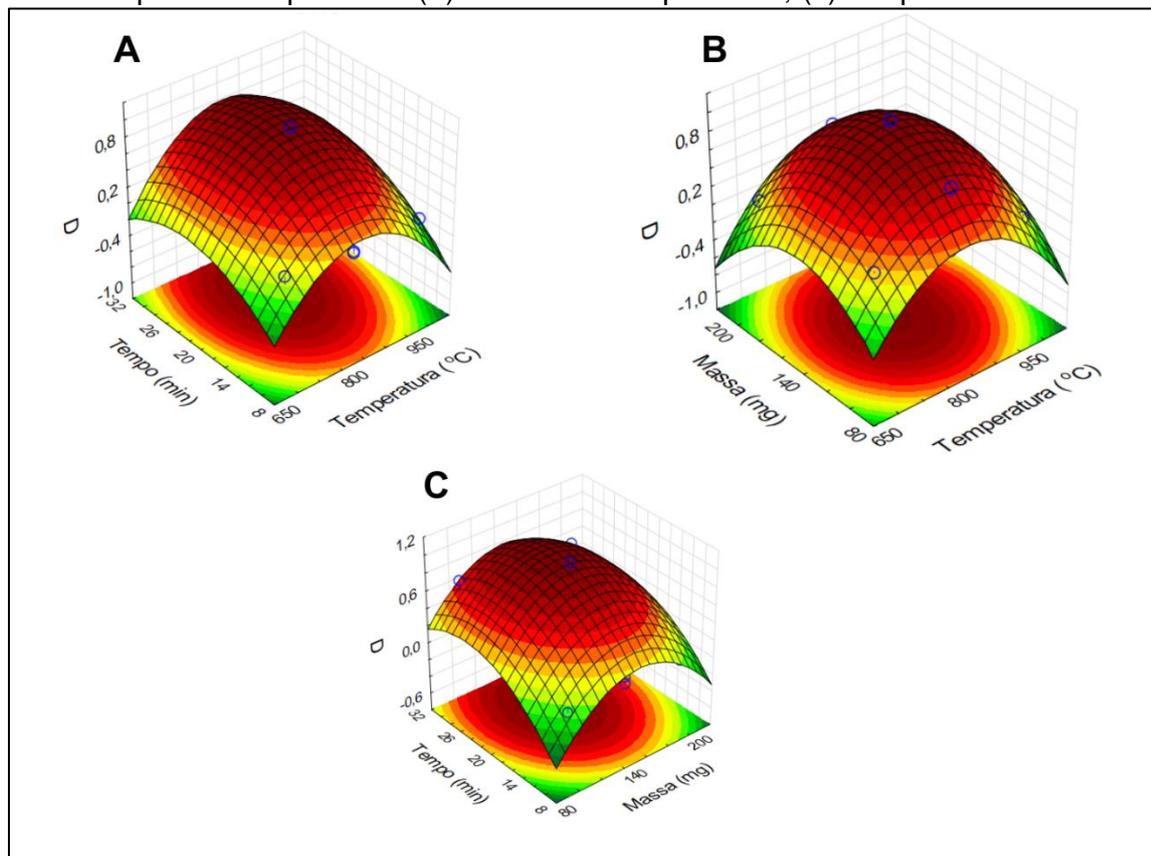
Figura 13. Correlação entre os valores observados e os valores esperados obtido a partir do planejamento Box-Behnken.



Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

As superfícies de resposta obtidas no planejamento Box-Behnken (Figura 14), apontam que há, dentro do domínio experimental estudado, uma condição satisfatória para obter a máxima resposta para a determinação dos analitos, mostrando superfícies com regiões bem definidas, evidenciando as regiões representadas por tonalidade vermelha intensa, as quais indicam valores altos de D. Sendo possível observar que na Figura 14 (A, B e C) houve o alcance de condições ótimas. Dessa forma, é possível propor que a liberação de Cl e F pode ser realizada simultaneamente com eficiente determinação dos analitos, sem efeitos negativos significativos.

Figura 14. Superfícies de resposta do planejamento Box-Behnken para otimização da temperatura (T), massa (M) e tempo de reação (t) para determinação de Cl e F utilizando preparo das amostras por piroidrólise, em que temos as superfícies (a) tempo vs Temperatura (b) massa vs temperatura, (c) tempo vs massa.



Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

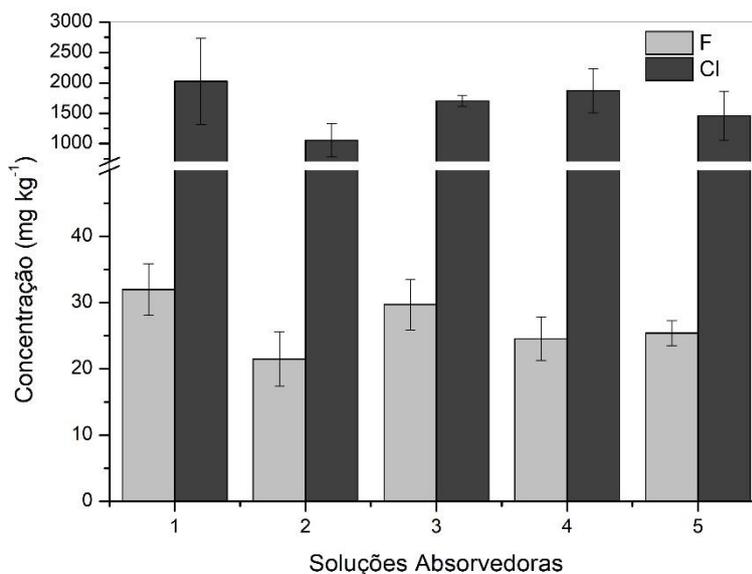
A partir da modelagem matemática, foram obtidos os pontos críticos em cada parâmetro para a determinação simultânea de Cl e F, consisti em: temperatura de 850 °C, tempo de reação 20 min e massa de 150 mg, condições encontradas na região de máxima resposta, e no programa *Statistica*. Dessa maneira, adotou-se essa condição de compromisso para as determinações posteriores.

5.2.2 Otimização da solução absorvedora

A solução absorvedora desempenha um papel crucial no tratamento de amostras da piroidrólise, possuindo a função de evitar a perda dos haletos de hidrogênio formados durante a reação (MUHAMMAD et al., 2020). Assim, a influência de diferentes soluções absorvedoras (50 mmol L⁻¹ NH₃, 100 mmol L⁻¹ NH₃, H₂O, 3,2

mmol L⁻¹ Na₂CO₃ + 1,0 mmol L⁻¹ NaHCO₃ e 32 mmol L⁻¹ Na₂CO₃ + 10 mmol L⁻¹ NaHCO₃) foi avaliada, e os resultados estão evidenciados na Figura 15.

Figura 15. Influência das soluções absorvedoras sobre a concentração de Cl e F determinadas por IC após preparo das amostras por piroidrólise. (1) 50 mmol L⁻¹ NH₃, (2) 100 mmol L⁻¹ NH₃, (3) H₂O, (4) 3,2 mmol L⁻¹ Na₂CO₃ + 1,0 mmol L⁻¹ NaHCO₃ e (5) 32 mmol L⁻¹ Na₂CO₃ + 10 mmol L⁻¹ NaHCO₃.



Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

É possível observar na Figura 15 que a solução de NH₃ 50 mmol L⁻¹ (1) apresentou os melhores resultados de concentração para ambos os analitos. Em contraste, a solução de NH₃ 100 mmol L⁻¹ (2), apresentou um efeito inferior na extração dos analitos alvo. Observou-se que para Cl e F, as concentrações usando as soluções tampão mostraram uma diferença inferior em relação aos resultados usando NH₃, concordante a isso soluções absorvedoras levemente alcalinas podem assegurar melhor estabilidade dos equipamentos em relação aos halogênios (OLIVEIRA et al., 2023) estabilizando os halogênios nos digeridos, mantendo-os em suas formas iônicas. Nesse contexto, a solução NH₃ é amplamente preferida devido à sua pureza relativamente elevada e à compatibilidade com diversas técnicas (OLIVEIRA et al., 2023).

A partir da análise de variância (ANOVA 95%), a solução de NH₃ 50 mmol L⁻¹ (1) foi significativamente mais eficiente, sendo selecionada para a determinação de Cl

e F em amostras de chás, escolha que está de acordo com o estudo de Marim *et al.*, 2023 que observou o efeito da solução de NH₃ na determinação de cascalhos de perfuração.

5.2.3 Parâmetro de mérito e exatidão

Os valores de LOD e LOQ obtidos pelo branco (solução absorvedora após o processo de piroidrólise), coeficiente de determinação (R²) da curva de calibração e os RSDs obtidos para a determinação de Cl e F em amostras de chá (incluindo amostras de verificação da exatidão, após o preparo da amostra por piroidrólise, e as amostras após as infusões) são mostrados na Tabela 9.

Tabela 8. Valores de mérito para determinação de Cl e F em amostras de chá.

Analito	R ²	LOD (mg Kg ⁻¹)	LOQ (mg Kg ⁻¹)	RSD (% , n=3)
Cl	0,9996	2	8	0,6 - 9,2
F	0,9998	0,1	0,4	0,4 - 7,2

Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

Os valores de LODs e LOQs para determinação de analitos, evidenciados na tabela 9, estão de acordo com trabalhos reportados na literatura.

O trabalho de Fechetia, Tognon e Veiga (2012) determinou a concentração de Cl em amostras de alimentos e obteve um LOD de 9 mg kg⁻¹ via formação de cloreto de prata, por GF AAS. O trabalho de Xiong et al., (2017) determinou a concentração de F em chá e obteve LOD de 3,5 µg L⁻¹ pelo método de sensor de onda evanescente, e posterior determinação por cromatografia de íons. Zhang et al. (2023), propuseram a determinação de Cl e F em amostras de solo, obtendo LODs de 2 e 1 mg kg⁻¹ para Cl e F, respectivamente usando piroidrólise como preparação da amostra e determinação por IC. Já o trabalho de Peng e Wu (2013) determinou como o LOD em 0,030 e 0,043 mg kg⁻¹, para F e Cl, respectivamente, em amostra de argila usando piroidrólise, e posterior determinação por IC (PENG; WU, 2013). Já para o trabalho de Arul e Suganthi (2023) o LOD do método é de 0,5 mg kg⁻¹, para a determinação de F-

em amostras vegetais, com o preparo de amostras por piroidrólise, e posterior quantificação por IC. Analisando apenas os trabalhos que utilizaram piroidrólise como parte do método de preparação da amostra, podemos observar que o trabalho de Peng e Wu (2013) apresenta o menor LOD tanto para Cl quanto para F em amostras de argila. E considerando, a sensibilidade é o principal critério para escolha do método, o trabalho de Peng e Wu (2013) é destaque, valores que estão próximos ao determinado nesse estudo.

Conforme mostrado na Tabela 9, o método proposto permitiu alcançar um bom coeficiente de correlação linear para ambos os analitos, com R^2 próximos a 1, indicando uma forte correlação entre as variáveis analisadas, o que sugere que o método proposto é capaz de determinar os analitos com precisão e acurácia. A precisão do método proposto foi avaliada por meio do RSD, e na maioria das amostras, obteve-se valores abaixo de 10%, considerados satisfatórios, indicando que as repetições do experimento tendem a (re)produzir resultados consistentes e confiáveis (ABDIGHAHOUDI; SCHMIDT; LUTZE, 2020; GÜVEN; AKINCI, 2011).

A verificação da exatidão do método foi realizada com a aplicação do método em três amostras certificadas de matrizes vegetais (plantas e folhas). Na Tabela 10 estão apresentadas as concentrações certificadas nos CRM analisados, bem como as concentrações determinadas por IC após o preparo das amostras por piroidrólise, e a concordância entre os valores determinados e certificados.

Tabela 9. Concentrações de Cl e F em CRMs, determinadas por IC após piroidrólise.

Analito/ CRM	Determinado (mg Kg ⁻¹)	Certificado (mg Kg ⁻¹)	Concordância (%)
(F) / NCS 73014	57 ± 4	57 ± 15	100
(Cl) / NCS 73014	460 ± 12	440 ± 330	105
(F) / NIST 73349	27 ± 1	23 ± 4	117
(Cl) / NCS 1515	627 ± 48	579 ± 23	108

Fonte: (Autor, 2024)

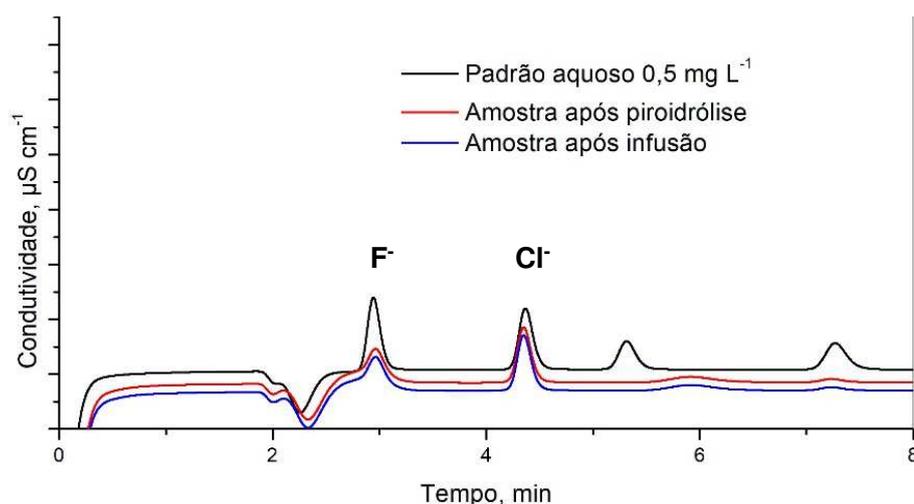
As concentrações dos analitos determinadas nos CRMs estão de acordo com os valores de referência esperados para cada analito. A faixa de concordância, situando-se entre 100 e 117%, indica que o método proposto tem exatidão adequada

para determinação dos analitos em amostras de chá. Ao aplicar o teste t de Student, observou-se que não existe uma diferença significativa entre os valores obtidos pelo Intervalo de Confiança e os valores de referência indicados nos Certificados de Referência (CRMs). Para o Cl, os valores de $t_{\text{calculado}}$ foram de 2,99 e 1,47 para as amostras NCS 73014 e NCS 1515, respectivamente. Em relação ao F, o $t_{\text{calculado}}$ foi de 0,03 para a amostra NCS 73014. Todos esses valores são inferiores ao $t_{\text{crítico}}$ de 4,3. Notavelmente, apenas o valor de F na amostra NIST 73349 apresentou um $t_{\text{calculado}}$ de 5,39, superando o $t_{\text{crítico}}$, mas é considerado aceitável devido à sua inclusão no intervalo de confiança, estabelecido a um nível de confiança de 95%.

5.2.4 Determinação de halogênios

Nas condições otimizadas, os analitos foram determinados em amostras de chá, por IC, após a preparação da amostra por piroidrólise. A Figura 16 ilustra o cromatograma obtido para uma amostra de chá após piroidrólise, infusão de chá, em comparação com uma solução padrão multi-íon.

Figura 16. Cromatograma obtido para amostras de chá após preparação de amostras por piroidrólise, e infusão em comparação com uma solução padrão multi-íon ($0,5 \text{ mg L}^{-1}$).



Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

A Tabela 11 apresenta a concentração total de Cl e F obtida pelo método proposto e a concentração Cl^- e F^- , correspondente a fração disponível dos analitos na infusão, nas diferentes amostras de chá.

Nas amostras analisadas, a maior concentração de F total foi de 11589 mg kg^{-1} , determinada na amostra de chá de frutas cítricas. Já para os chás tradicionais, a maior concentração total foi 962 para o chá preto e 542 mg kg^{-1} para o chá verde, que está em proximidade e dentro da faixa, respectivamente, do que é reportado por Das (2017), (entre 298 e 797 mg kg^{-1}), para chás pretos, e (entre 296 e 1112 mg kg^{-1}) para chás verdes, onde um método colorimétrico foi utilizado, com posterior determinação por espectrofotômetro (UV-VIS).

A concentração de F disponível (F^-) determinada foi de e 0,19 mg L^{-1} para o chá verde e 0,22 mg L^{-1} para o chá preto ambos pertencentes à categoria de chás tradicionais. Já para os chás de ervas, o intervalo de concentração F disponível variou entre 0,19 a 0,69 mg L^{-1} . Essas concentrações estão de acordo com as concentrações reportadas por (DAS, 2017), (0,06-0,69 mg L^{-1}) para F em infusões de chá de ervas.

Considerando que a concentração total de F representa 100% do F na amostra, a fração de F disponível foi calculada. A fração disponível de F nas amostras de chá tradicional variou entre 63,1 e 64,2% e entre 12 e 85% para os chás de ervas. Resultados similares da faixa de disponibilidade do F em chá também é encontrada no trabalho Das (2017) que determinou que 6-99% do F nas folhas de chá pode ser transferido para a infusão. Essas diferenças de concentração total e disponível em chás tradicionais e de ervas estão relacionadas com o tipo de cultivo que as plantas recebem, podendo acumular o F e outros elementos por meio de água de irrigação, ao uso de pesticidas e/ou fertilizantes, além disso as características geográficas podem influenciar nos níveis de F (AFFONSO et al., 2020; BHATTACHARYA et al., 2017; CAO, 2022). Ambos os trabalhos mostram uma ampla variação na fração de fluoreto disponível em chás, indicando que essa disponibilidade pode ser influenciada por diversos fatores, como mencionado anteriormente. A semelhança nos resultados sugere uma conexão ao considerar sobre a importância de considerar esses fatores na avaliação do consumo seguro de amostras de chá.

O Cl é um dos microelementos essenciais para o crescimento das plantas. A variação da concentração do Cl em diferentes tipos de plantas que dão origem aos chás tradicionais e de ervas pode estar relacionado ao clima e ao tipo de cultivo (NASCIMENTO et al., 2021). Neste estudo para o Cl, a maior concentração total, foi

de 2270 mg kg⁻¹, enquanto a concentração de Cl disponível nas infusões atingiu 4,6 mg L⁻¹, para o chá orgânico. A faixa de disponibilidade considerando todas as amostras foi de 54 a 91%.

Tabela 10. Concentração de F e Cl em amostras de chá e infusão, e porcentagem na infusão de chá.

Amostra	F Total (mg kg ⁻¹)	F ⁻ (Infusão)		% F Disponível	Cl Total (mg kg ⁻¹)	Cl ⁻ (Infusão)		% Cl Disponível
		mg kg ⁻¹	mg L ⁻¹			mg kg ⁻¹	mg L ⁻¹	
Preto	962 ± 7	607 ± 3	0,22	63,1	1678 ± 1	917 ± 14	0,33	54,6
Boldo	1056 ± 1	905 ± 4	0,19	85,7	663 ± 1	517 ± 15	0,11	79,3
Verde	542 ± 1	339 ± 35	0,24	62,4	1132 ± 2	904 ± 16	0,32	79,8
F. Cítricas	1159 ± 1	143 ± 8	0,32	12,4	1312 ± 2	1178 ± 171	2,60	89,7
Camomila	770 ± 1	314 ± 17	0,68	40,7	2270 ± 2	2087 ± 67	4,60	91,9

Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

Trabalhos que aplicaram a pirólise na decomposição de ervas, indicam uma taxa significativa de decomposição da amostra, liberando mais voláteis, em comparação ao carvão, essa tendência a volatilizar em altas temperaturas, pode explicar a significativa taxa de disponibilidade em amostras de chá (CERKLEWSKI; RIDLINGTON, 1987; NASCIMENTO et al., 2021). Os resultados indicam que a concentração de flúor no chá pode ser transferida para a bebida durante o processo de infusão, apresentando riscos à saúde, como inibição de enzimas e potenciais efeitos adversos, como fluorose dentária, esquelética, danos hepáticos, renais e anomalias neurológicas. (REVELO-MEJÍA et al., 2021; ZHANG et al., 2023; ZHAO et al., 2019). Além disso, os dados sugerem que há uma alta disponibilidade de Cl na bebida pronta para o consumo, indicando a importância do controle, considerando os diversos efeitos adversos à saúde, como irritação gastrointestinal (NASCIMENTO et al., 2021).

5.2.4.1 Avaliação de riscos à saúde relacionados ao consumo de F⁻ através do chá

Vários estudos apontam sobre os efeitos benéficos para a saúde proporcionados por diversas variedades de chá (DAS, 2017; GRAMZA-MICHAŁOWSKA et al., 2016; SAMANTA, 2022; YAN et al., 2020). No entanto, é indispensável avaliar os possíveis efeitos nocivos do consumo excessivo de F através do chá. Considerando o grande número de trabalhos que evidenciam presença de F em infusões e, conseqüentemente, os critérios que avaliam os riscos para o consumo de chá, avaliou-se o risco do F à saúde humana partir da avaliação da ingestão crônica diária (CDI) de F (DAS, 2017; SOFUOGLU; KAVCAR, 2008).

A OMS estabeleceu um limite de 1,5 mg L⁻¹ de F na água potável, enquanto a ingestão adequada é de 0,05 mg kg⁻¹ de peso corporal (OMS, 2011). O mesmo valor é indicado para a ingestão adequada de F de todas as fontes em humanos (0,05 mg kg⁻¹) de peso corporal ao dia (YATES; SCHLICKER; SUITOR, 1998). Considerando crianças e adultos, o CDI calculado para todas as amostras de chá avaliadas apresentam valores abaixo de 0,05 mg kg⁻¹ de peso corporal ao dia (valor limite), conforme apresentado na Tabela 12.

Tabela 11. Ingestão crônica diária (CDI) de F por adultos a partir de chás tradicionais e ervas.

TIPO DE CHÁ	CDI crianças	CDI adultos
PRETO	0,0008	0,0023
BOLDO	0,0007	0,0020
VERDE	0,0009	0,0025
FRUTAS CÍTRICAS	0,00118	0,00338
CAMOMILA	0,0025	0,0074

Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

Com essa avaliação é constatado que a fração disponível de F em todos os chás encontravam-se dentro dos limites seguros estabelecidos para adultos e crianças, logo o consumo desses chás não está associado a riscos significativos para a saúde. Esses resultados coincidem com os achados apresentados em estudos de (DAS, 2017), e (ZHANG et al., 2023) os quais determinaram o quociente de risco dentro dos limites de segurança estabelecidos. Contudo, é importante mencionar que esta avaliação não considera a presença de F proveniente de outras fontes, tais como água potável e alimentos, o que poderia resultar em uma carga de F ultrapassando os limites seguros.

6. CONCLUSÃO

Através da implementação de métodos analíticos otimizados, desenvolveu-se abordagens analíticas com boa exatidão e acentuada sensibilidade, para determinar as concentrações de Cu, Cl e F em amostras de chá de ervas. Inicialmente, adotou-se a estratégia de otimização multivariada para aprimorar o preparo das amostras, utilizando extração com solvente eutético profundo para Cu e piroidrólise para Cl e F, abordagens analíticas com preparos de amostras inovadores, e amigáveis ao meio ambiente. Essa abordagem não apenas proporcionou resultados eficazes, mas também revelou regiões bem definidas na MSR, permitindo a identificação das condições ideais para ambos os métodos propostos.

Posteriormente, otimizou-se as condições instrumentais, visando a melhoria das técnicas de GF AAS para a quantificação de Cu, e por IC para a determinação de Cl e F. A aprimorada precisão e sensibilidade observados pelos parâmetros de mérito, desses métodos instrumentais desempenharam um papel crucial na obtenção de resultados analíticos confiáveis. Ao validar os métodos propostos, a partir dos valores expressos nos certificados das amostras e determinado pelo método, comprovou-se a boa exatidão dos métodos propostos, fortalecendo sua validade analítica.

Por fim, ao avaliar o potencial risco à saúde humana, especialmente no que diz respeito à exposição diária ao flúor através do consumo de chá, a comparação dos resultados com limites regulatórios e recomendações de ingestão indicou que as amostras analisadas estão dentro dos parâmetros estabelecidos como seguros para o consumo, fornecendo uma perspectiva tranquilizadora para os consumidores.

REFERÊNCIAS

ABBOTT, A. P. et al. Deep Eutectic Solvents Formed between Choline Chloride and Carboxylic Acids: Versatile Alternatives to Ionic Liquids. **Journal of the American Chemical Society**, v. 126, n. 29, p. 9142–9147, 1 jul. 2004.

ABDIGHAHROUDI, M. S.; SCHMIDT, T. C.; LUTZE, H. V. Determination of free chlorine based on ion chromatography—application of glycine as a selective scavenger. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 412, n. 28, p. 7713–7722, 1 nov. 2020.

ACETO, M. et al. Determination of metals in wine with atomic spectroscopy (flame-AAS, GF-AAS and ICP-AES); a review. **Food Additives & Contaminants**, v. 19, n. 2, p. 126–133, 1 fev. 2002.

AFFONSO, L. N. et al. Removal of fluoride from fertilizer industry effluent using carbon nanotubes stabilized in chitosan sponge. **Journal of Hazardous Materials**, v. 388, p. 122042, abr. 2020.

AHMADI-JOUIBARI, T.; NOORI, N.; FATTAHI, N. Assessment of toxic metal ions in tea samples using new microextraction technique based on the solidified deep eutectic solvent followed by GFAAS. **Toxin Reviews**, v. 40, n. 4, p. 1084–1093, 2 out. 2021.

ALMEIDA, D. P. DE. Avaliação método único de preparo de amostras para determinação de microplásticos e halogênios em frutos do mar. 5 set. 2022.

ALMEIDA, J. M. DE. **Avaliação de um procedimento de extração sequencial assistida por ultrassom para o fracionamento de metais em amostras de sedimento.**

ARAYA, M. et al. Community-based randomized double-blind study of gastrointestinal effects and copper exposure in drinking water. **Environmental Health Perspectives**, v. 112, n. 10, p. 1068–1073, jul. 2004.

AWASOM, I. Tea. **Journal of Agricultural & Food Information**, v. 12, n. 1, p. 12–22, 31 jan. 2011.

AYDIN, F.; YILMAZ, E.; SOYLAK, M. Vortex assisted deep eutectic solvent (DES)-emulsification liquid-liquid microextraction of trace curcumin in food and herbal tea samples. **Food Chemistry**, v. 243, p. 442–447, 15 mar. 2018.

BARELA, P. S. et al. Microwave-assisted digestion using diluted nitric acid for further trace elements determination in biodiesel by SF-ICP-MS. **Fuel**, v. 204, p. 85–90, 15 set. 2017.

BAYRAKLI, B.; DENGIZ, O. An evaluation of heavy metal pollution risk in tea cultivation soils of micro-catchments using various pollution indexes under humid environmental condition. **Rendiconti Lincei. Scienze Fisiche e Naturali**, v. 31, n. 2, p. 393–409, 1 jun. 2020.

BHATTACHARYA, P. et al. Assessment of potential health risk of fluoride consumption through rice, pulses, and vegetables in addition to consumption of fluoride-contaminated drinking water of West Bengal, India. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 25, p. 20300–20314, 1 set. 2017.

BLANCO, G. D. et al. Is it safe to consume medicinal plants in mined areas? Investigating possible effects caused by a metal-contaminated plant in southern Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 36, p. e2021abb0338, 10 out. 2022.

BORGES, S. S. DE O. Estratégias analíticas para a determinação direta de alumínio, chumbo e cobre em amostras de bebidas por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite. 26 ago. 2016.

BRODY, H. **Tea**. Outlook. Disponível em: <<https://www-nature.ez46.periodicos.capes.gov.br/articles/d41586-019-00394-5>>. Acesso em: 24 set. 2023.

CALDAS, L. F. S. et al. Avaliação de diferentes métodos para a determinação de cobre em óleo mineral isolante por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite. **Química Nova**, v. 37, p. 776–782, jun. 2014.

CAO, H. Predicting geogenic groundwater fluoride contamination throughout China. **journal of environmental sciences**, 2022.

CARVALHODA-SILVA, D.; PAGANINI-COSTA, P. Uma Xícara (Chá) de Química. **Revista Virtual de Química**, v. 3, n. 1, p. 27–36, 2 mar. 2011.

CHOWANIAK, M. et al. Quality Assessment of Wild and Cultivated Green Tea from Different Regions of China. **Molecules**, v. 26, n. 12, p. 3620, 13 jun. 2021.

CHUI, Q. S. H.; ZUCCHINI, R. R.; LICHTIG, J. Qualidade de medições em química analítica. Estudo de caso: determinação de cádmio por espectrofotometria de absorção atômica com chama. **Química Nova**, v. 24, p. 374–380, jun. 2001.

COELHO JUNIOR, G. S. et al. Determination of Halogens by Ion Chromatography in Edible Mushrooms after Microwave-Induced Combustion for

Sample Preparation. **Journal of Analytical Methods in Chemistry**, v. 2021, p. e6005481, 31 out. 2021.

DAI, Y. et al. Tailoring properties of natural deep eutectic solvents with water to facilitate their applications. **Food Chemistry**, v. 187, p. 14–19, 15 nov. 2015.

DARGAH, S. M. et al. Genetic resources diversity of tea (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) in the southern region of the Caspian Sea. **Plant Genetic Resources**, v. 21, n. 2, p. 97–106, abr. 2023.

DAS, S. Fluoride concentrations in traditional and herbal teas: Health risk assessment. **Environmental Pollution**, 2017.

DERRINGER, G.; SUICH, R. Simultaneous Optimization of Several Response Variables. **Journal of Quality Technology**, v. 12, n. 4, p. 214–219, 1 out. 1980.

DIETZ, C. The Curious Case of Hydrophobic Deep Eutectic Solvents: A Story on the Discovery, Design, and Applications. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, 1 jan. 2020.

DORES, G. P. **Teor de flúor em chás e infusões de consumo comum em Portugal**. masterThesis—[s.l: s.n.].

DUARTE, A. R. C. et al. A comparison between pure active pharmaceutical ingredients and therapeutic deep eutectic solvents: Solubility and permeability studies. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 114, p. 296–304, 1 maio 2017.

EL ACHKAR, T.; GREIGE-GERGES, H.; FOURMENTIN, S. Basics and properties of deep eutectic solvents: a review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 19, n. 4, p. 3397–3408, 1 ago. 2021.

ENGELHARDT, U. H. Tea chemistry – What do and what don't we know? – A micro review. **Food Research International**, v. 132, p. 109120, 1 jun. 2020.

FERNANDES, J. C. et al. Does the Solvent in a Dispersant Impact the Efficiency of Crude-Oil Dispersion? **Langmuir**, v. 35, n. 50, p. 16630–16639, 17 dez. 2019.

FERREIRA, B. L. et al. Innovative approach for obtaining phenolic compounds from guava (*Psidium guajava* L.) coproduct using ionic liquid ultrasound-assisted extraction (IL-UAE). **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 38, p. 102196, nov. 2021.

FREMY, A. *Annales de Chimie et de Physique*, 47, 17, 1856. In: SOBOLEV, B. P.; *The Rare Earth Trifluorides*. Part 2: Introduction to materials science of

multicomponent metal fluoride crystals. Barcelona: Institut d'Estudis Catalans, 2001. 463 p.

FERREIRA, S. L. C. et al. Atomic absorption spectrometry – A multi element technique. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 100, p. 1–6, 1 mar. 2018.

FOSTER, K. L. Handbook of Ion Chromatography, 3rd, completely revised and enlarged edition, Volumes 1 and 2 By Joachim Weiss (Dionex GmbH). Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Weinheim, Germany. 2004. xiv + 894 pp. \$395. ISBN 3-527-28701-9. **Journal of the American Chemical Society**, v. 127, n. 20, p. 7657–7658, 25 maio 2005.

FRITZ, J. S. **Ion chromatography**. research-article. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/ac00131a002>>. Acesso em: 20 jan. 2024.

GAETKE, L. M.; CHOW, C. K. Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients. **Toxicology**, v. 189, n. 1–2, p. 147–163, 15 jul. 2003.

GAETKE, L. M.; CHOW-JOHNSON, H. S.; CHOW, C. K. Copper: Toxicological relevance and mechanisms. **Archives of toxicology**, v. 88, n. 11, p. 1929–1938, nov. 2014.

GILJANOVIĆ, J. et al. Determination of Fluoride Content in Tea Infusion by Using Fluoride Ion-Selective Electrode. **International Journal of Electrochemical Science**, v. 7, n. 4, p. 2918–2927, 1 abr. 2012.

GONZALEZ, M. H. et al. 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**, v. 28, p. 98–105, jan. 2017.

GRAMZA-MICHAŁOWSKA, A. et al. Antioxidative potential, nutritional value and sensory profiles of confectionery fortified with green and yellow tea leaves (*Camellia sinensis*). **Food Chemistry**, v. 211, p. 448–454, nov. 2016.

GÜVEN, D.; AKINCI, G. COMPARISON OF ACID DIGESTION TECHNIQUES TO DETERMINE HEAVY METALS IN SEDIMENT AND SOIL SAMPLES. **Gazi University Journal of Science**, v. 24, n. 1, p. 29–34, 14 jan. 2011.

HOEHNE, L. et al. Feasibility of pyrohydrolysis as a clean method for further fluorine determination by ISE and IC in high purity nuclear grade alumina. **Microchemical Journal**, v. 146, p. 645–649, 1 maio 2019.

HEMPEL, W. Über eine Methode der Schwefelbestimmung in Kohlen und organischen Körpern. *Angewandte Chemie*, 5, 393-394, 1892

HU, C. et al. Current Status and Health Risk Assessment of Heavy Metals Contamination in Tea across China. **Toxics**, v. 11, n. 8, p. 662, ago. 2023.

KALAYCI, S. Analysis of halogens in wastewater with a new prepared ion selective electrode. **Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly**, v. 153, n. 12, p. 1137–1141, 1 dez. 2022.

KHADHRAOUI, B. et al. Review of ultrasound combinations with hybrid and innovative techniques for extraction and processing of food and natural products. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 76, p. 105625, 1 ago. 2021.

KUMAR, A. K.; PARIKH, B. S.; PRAVAKAR, M. Natural deep eutectic solvent mediated pretreatment of rice straw: bioanalytical characterization of lignin extract and enzymatic hydrolysis of pretreated biomass residue. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 10, p. 9265–9275, 1 maio 2016.

LEAL, F. et al. Importância da especificação de metais na avaliação do seu impacto na saúde humana - desenvolvimento de metodologias voltamétricas com eléctrodos de filme de bismuto. 2009.

LI, P. W. et al. Determination of 16 heavy metal elements and 16 rare earth elements in Ya'an tibet tea by ICP-MS. **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**, v. 423, p. 012181, 7 nov. 2018.

LISTER, A. S. 7 - Validation of HPLC Methods in Pharmaceutical Analysis. Em: AHUJA, S.; DONG, M. W. (Eds.). **Separation Science and Technology**. Handbook of Pharmaceutical Analysis by HPLC. [s.l.] Academic Press, 2005. v. 6p. 191–217.

MACCHIONI, V. et al. Lactic acid-based deep natural eutectic solvents for the extraction of bioactive metabolites of *Humulus lupulus* L.: Supramolecular organization, phytochemical profiling and biological activity. **Separation and Purification Technology**, v. 264, p. 118039, 1 jun. 2021.

MAIGA, A. et al. Determination of Some Toxic and Essential Metal Ions in Medicinal and Edible Plants from Mali. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 6, p. 2316–2321, 1 mar. 2005.

MALINOWSKA, E. et al. Assessment of fluoride concentration and daily intake by human from tea and herbal infusions. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 3, p. 1055–1061, 1 mar. 2008.

MANICA, M.; GALINA, J.; BARETTA, C. Determinação do teor de metais em chás de *Camellia sinensis* com extração sequencial e digestão úmida. **CONTRIBUCIONES A LAS CIENCIAS SOCIALES**, v. 16, p. 3083–3093, 1 jun. 2023.

MARGUÍ, E. et al. Determination of essential elements (Mn, Fe, Cu and Zn) in herbal teas by TXRF, FAAS and ICP-OES. **X-Ray Spectrometry**, v. 51, n. 3, p. 204–213, 2022.

MARIM, R. et al. Assessment of Chlorine, Fluorine, and Sulfur Concentrations in Depth Profile of Drill Cuttings from Onshore and Offshore Oil and Gas Exploration Wells. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2023.

MELLO, P. D. A. et al. Extração de elementos terras raras de resíduos de placa de circuito impresso: investigação do uso do ultrassom para recuperação de Ce, La e Y. **Revista Brasileira de Iniciação Científica**, p. 165–181, 15 dez. 2020.

MILLER, J. N.; MILLER, J. C. **Statistics and chemometrics for analytical chemistry**. 6th ed ed. Harlow: Prentice Hall/Pearson, 2010.

MISHRA, V. G. et al. Simultaneous determination of borate, chloride and molybdate in pyrohydrolysis distillates of plant and soil samples by ion chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1532, p. 144–149, 12 jan. 2018.

MUHAMMAD, N. et al. Feasibility of pyrohydrolysis and extended-steam distillation method for the extraction of two halides from zinc and lead concentrate samples followed by ion chromatography analysis. **Microchemical Journal**, v. 159, p. 105593, 1 dez. 2020.

NASCIMENTO, M. S. et al. Chlorine determination in medicinal plants by potentiometry with ion-selective electrode after microwave-induced combustion. **Drug Analytical Research**, v. 5, n. 1, p. 19–25, 30 jun. 2021.

NEGRIS, L.; SANTOS, M. DE F. P. DOS; VICENTE, M. A. Análise bibliométrica e tendências da pesquisa sobre determinação de cloretos na indústria do petróleo. **Brazilian Journal of Production Engineering**, v. 9, n. 3, p. 01–22, 4 jul. 2023.

OLIVEIRA, D. K. et al. Pyrohydrolysis as a sample preparation method for the subsequent halogen determination: A review. **Analytica Chimica Acta**, p. 342054, 25 nov. 2023.

PANHWAR, A. H.; TUZEN, M.; KAZI, T. G. Choline Chloride–Oxalic Acid as a Deep Eutectic Solvent–Based Innovative Digestion Method for the Determination of

Selenium and Arsenic in Fish Samples. **Journal of AOAC INTERNATIONAL**, v. 101, n. 4, p. 1183–1189, 1 jul. 2018.

PATEL, M. DAS G. **Desenvolvimento e validação de métodos analíticos para a determinação de chumbo, cádmio e cobre em amostras de Helianthus annuus (girassol) utilizando a espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua, atomização em forno de grafite e análise direta de sólidos.**

PENG, B. et al. Simultaneous determination of halogens (F, Cl, Br, and I) in coal using pyrohydrolysis combined with ion chromatography. **Fuel**, v. 94, p. 629–631, 1 abr. 2012.

PENG, B.-X.; WU, D.-S. Simultaneous Rapid Determination of Halogens in Clay Using Pyrohydrolysis Combined with Ion Chromatography. **Chinese Journal of Analytical Chemistry**, v. 41, n. 10, p. 1499–1504, 1 out. 2013.

PEREIRA, J. S. F. et al. Determination of metals and metalloids in light and heavy crude oil by ICP-MS after digestion by microwave-induced combustion. **Microchemical Journal**, Brazilian National Meeting of Analytical Chemistry, 2009. v. 96, n. 1, p. 4–11, 1 set. 2010.

PEREIRA, L. S. F. et al. A simple and automated sample preparation system for subsequent halogens determination: Combustion followed by pyrohydrolysis. **Analytica Chimica Acta**, v. 1010, p. 29–36, 20 jun. 2018.

PICOLOTO, R. S. et al. Combining pyrohydrolysis and ICP-MS for bromine and iodine determination in airborne particulate matter. **Microchemical Journal**, v. 116, p. 225–229, 1 set. 2014.

PINHEIRO, D. R.; NEVES, R. DE F.; PAZ, S. P. A. A sequential Box-Behnken Design (BBD) and Response Surface Methodology (RSM) to optimize SAPO-34 synthesis from kaolin waste. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 323, p. 111250, 1 ago. 2021.

QIN, H. et al. Overview of acidic deep eutectic solvents on synthesis, properties and applications. **Green Energy & Environment**, v. 5, n. 1, p. 8–21, 1 jan. 2020.

REHDER, A. P. et al. Optimization of microwave-assisted extraction of bioactive compounds from a tea blend. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 15, n. 2, p. 1588–1598, 1 abr. 2021.

REVELO-MEJÍA, I. A. et al. Dental Fluorosis: the Risk of Misdiagnosis—a Review. **Biological Trace Element Research**, v. 199, n. 5, p. 1762–1770, 1 maio 2021.

REVEL'SKII, I. A. et al. A New Approach to the Assessment of the Safety of Tea, Coffee, Cocoa, and Vegetable Oils, Based on the Rapid Screening of Samples for the Total Concentration of Fluorine-, Chlorine-, and Bromine-Containing Organic Compounds. **Journal of Analytical Chemistry**, v. 76, n. 5, p. 613–620, 1 maio 2021.

ROCHA, P. S. M. Determinação de cobre e manganês em néctares e sucos industrializados por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite. 2016.

ROLFES, S. R.; PINNA, K.; WHITNEY, E. **Understanding Normal and Clinical Nutrition**. [s.l.] Cengage Learning, 2014.

RYBAKOVA, E. V. Origins and Formation of Ion Chromatography. **Journal of Analytical Chemistry**, v. 78, n. 8, p. 1105–1114, 1 ago. 2023.

SAHA, S. K.; DEY, S.; CHAKRABORTY, R. Effect of choline chloride-oxalic acid based deep eutectic solvent on the ultrasonic assisted extraction of polyphenols from *Aegle marmelos*. **Journal of Molecular Liquids**, v. 287, p. 110956, 1 ago. 2019.

SAIDELLES, A. P. F. **Determinação de cádmio, cobre e chumbo por F AAS e GF AAS em plantas medicinais empregando amostragem direta de sólidos**. Tese—[s.l.] Universidade Federal de Santa Maria, 29 jul. 2005.

SAMANTA, S. Potential Bioactive Components and Health Promotional Benefits of Tea (*Camellia sinensis*). **Journal of the American Nutrition Association**, v. 41, n. 1, p. 65–93, 3 fev. 2022.

SANTANA-MAYOR, Á. et al. A green and simple procedure based on deep eutectic solvents for the extraction of phthalates from beverages. **Food Chemistry**, v. 312, p. 125798, 15 maio 2020.

SAVI, L. K. Desenvolvimento de solventes eutéticos naturais profundos (NADES) e o estudo de suas propriedades físico-químicas, térmicas e reológicas. 2019.

SHABBIR, Z. et al. Copper uptake, essentiality, toxicity, detoxification and risk assessment in soil-plant environment. **Chemosphere**, v. 259, p. 127436, 1 nov. 2020.

SMITH, E. L.; ABBOTT, A. P.; RYDER, K. S. Deep Eutectic Solvents (DESS) and Their Applications. **Chemical Reviews**, v. 114, n. 21, p. 11060–11082, 12 nov. 2014.

SMITH JR, F. C.; CHANG, R. C.; STEVENS, T. S. Ion Chromatography. **C R Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 9, n. 3, p. 197–217, 1 jan. 1980.

SOFUOGLU, S. C.; KAVCAR, P. An exposure and risk assessment for fluoride and trace metals in black tea. **Journal of Hazardous Materials**, v. 158, n. 2, p. 392–400, 30 out. 2008.

SONG, H.; CHUNG, H.; NAM, K. Response surface modeling with Box-Behnken design for strontium removal from soil by calcium-based solution. **Environmental Pollution**, v. 274, p. 116577, 1 abr. 2021.

SZYMCZYCHA-MADEJA, A.; WELNA, M.; POHL, P. Elemental analysis of teas and their infusions by spectrometric methods. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 35, p. 165–181, 1 maio 2012.

VAN LOON, J. C. 1 - General Principles. Em: VAN LOON, J. C. (Ed.). **Analytical Atomic Absorption Spectroscopy**. [s.l.] Academic Press, 1980. p. 1–76.

VILKHU, K. et al. Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry — A review. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, Food Innovation: Emerging Science, Technologies and Applications (FIESTA) Conference. v. 9, n. 2, p. 161–169, 1 abr. 2008.

WANG, Q.; MAKISHIMA, A.; NAKAMURA, E. Determination of Fluorine and Chlorine by Pyrohydrolysis and Ion Chromatography: Comparison with Alkaline Fusion Digestion and Ion Chromatography. **Geostandards and Geoanalytical Research**, v. 34, n. 2, p. 175–183, jun. 2010.

WARF, J. C.; CLINE, W. D.; TEVEBAUGH, R. D. Pyrohydrolysis in Determination of Fluoride and Other Halides. **Analytical Chemistry**, v. 26, n. 2, p. 342–346, 1 fev. 1954.

WICKREMASINGHE, R. L. Tea. Em: CHICHESTER, C. O. (Ed.). **Advances in Food Research**. [s.l.] Academic Press, 1978. v. 24p. 229–286.

YAN, Z. et al. Antioxidant mechanism of tea polyphenols and its impact on health benefits. **Animal Nutrition**, v. 6, n. 2, p. 115–123, 1 jun. 2020.

YATES, A. A.; SCHLICKER, S. A.; SUITOR, C. W. Dietary Reference Intakes: The New Basis for Recommendations for Calcium and Related Nutrients, B Vitamins, and Choline. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 98, n. 6, p. 699–706, 1 jun. 1998.

YILMAZ, C.; ÖZDEMİR, F.; GÖKMEN, V. Investigation of free amino acids, bioactive and neuroactive compounds in different types of tea and effect of black tea processing. **LWT**, v. 117, p. 108655, 1 jan. 2020.

YUE, Q. et al. Optimized preparation of tea tree oil complexation and their antifungal activity against *Botrytis cinerea*. **Postharvest Biology and Technology**, v. 162, p. 111114, 1 abr. 2020.

YUSOFF, I. M. et al. A review of ultrasound-assisted extraction for plant bioactive compounds: Phenolics, flavonoids, thymols, saponins and proteins. **Food Research International**, v. 157, p. 111268, 1 jul. 2022.

ZEINER, M. et al. Trace determination of skin-irritating metals in tea tree oil by GFAAS. **Microchemical Journal**, Pharmacological Research and Analytical Approaches. v. 136, p. 101–105, 1 jan. 2018.

ZHANG, D. et al. Monitoring fluorine levels in tea leaves from major producing areas in China and the relative health risk. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 118, p. 105205, 1 maio 2023.

ZHANG, Q. et al. Deep eutectic solvents: syntheses, properties and applications. **Chemical Society Reviews**, v. 41, n. 21, p. 7108–7146, 8 out. 2012.

ZHAO, H.; BAKER, G. A. Ionic liquids and deep eutectic solvents for biodiesel synthesis: a review. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 88, n. 1, p. 3–12, 2013.

ZHAO, Q. et al. Roles of mitochondrial fission inhibition in developmental fluoride neurotoxicity: mechanisms of action in vitro and associations with cognition in rats and children. **Archives of Toxicology**, v. 93, n. 3, p. 709–726, 1 mar. 2019.

ZIETZ, B. P.; DASSEL DE VERGARA, J.; DUNKELBERG, H. Copper concentrations in tap water and possible effects on infant's health—Results of a study in Lower Saxony, Germany. **Environmental Research**, v. 92, n. 2, p. 129–138, 1 jun. 2003.

ZOUNR, R. A.; TUZEN, M.; KHUHAWAR, M. Y. Determination of Selenium and Arsenic Ions in Edible Mushroom Samples by Novel Chloride–Oxalic Acid Deep Eutectic Solvent Extraction Using Graphite Furnace-Atomic Absorption Spectrometry. **Journal of AOAC INTERNATIONAL**, v. 101, n. 2, p. 593–600, 1 mar. 2018.

