

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

HUGO SARMIENTO VELA

SOLVENTE EUTÉTICO NATURAL PROFUNDO COMO CATALISADOR NA  
DERIVATIZAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO DE AMÔNIA POR CG-MS

CURITIBA

2023

HUGO SARMIENTO VELA

SOLVENTE EUTÉTICO NATURAL PROFUNDO COMO CATALISADOR NA  
DERIVATIZAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO DE AMÔNIA POR GC-MS

Trabalho apresentado como requisito parcial para a  
obtenção do título de Doutor em Química pelo  
Programa de Pós Graduação em Química do Setor  
de Ciências Exatas da Universidade Federal do  
Paraná.

Orientador: Professor Marco Tadeu Grassi, Ph.D

CURITIBA

2023

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
SISTEMA DE BIBLIOTECAS – BIBLIOTECA CIÊNCIA E TECNOLOGIA

Vela, Hugo Sarmiento

Solvente eutético natural profundo como catalisador na derivatização para determinação de amônia por GC-MS. / Hugo Sarmiento Vela. – Curitiba, 2023.

1 recurso on-line : PDF.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química.

Orientador: Professor Marco Tadeu Grassi, Ph.D

1. Cromatografia gasosa. 2. Solventes. 3. Amônia (NH<sub>3</sub>). 4. Qualidade do ar. I. Universidade Federal do Paraná. II. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Grassi, Marco Tadeu. IV. Título.

Bibliotecária: Roseny Rivelini Morciani CRB-9/1585



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SETOR DE CIÊNCIAS EXATAS  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO QUÍMICA -  
40001016026P2

## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação QUÍMICA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **HUGO SARMIENTO VELA** intitulada: **Solvente eutético natural profundo como catalisador na derivatização para determinação de amônia por GC-MS**, sob orientação do Prof. Dr. MARCO TADEU GRASSI, que após terem inquirido o aluno e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de doutor está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 14 de Dezembro de 2023.

Assinatura Eletrônica

28/12/2023 12:40:20.0

MARCO TADEU GRASSI

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

28/12/2023 14:14:28.0

BRUNO JOSÉ GONÇALVES DA SILVA

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

05/01/2024 14:53:11.0

MARCUS VINICIUS DE LIZ

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ )

Assinatura Eletrônica

01/01/2024 16:18:03.0

MARIA CRISTINA CANELA

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO)

Assinatura Eletrônica

28/12/2023 10:58:20.0

PATRICIO GUILLERMO PERALTA ZAMORA

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

---

CENTRO POLITÉCNICO - CURITIBA - Paraná - Brasil

CEP 81531-990 - Tel: (41) 3361-3006 - E-mail: [cpgquim@ufpr.br](mailto:cpgquim@ufpr.br)

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.

Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 333816

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://siga.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp> e insira o código 333816

*Este trabalho é dedicado a meu pai e a minha família que foram uma força permanente, e a meus amigos do GQA pela companhia e o apoio para minha pesquisa*

## AGRADECIMENTOS

Ao Professor Marco Tadeu Grassi pelo apoio e valorização do meu trabalho e pelo esforço para fazer avançar esta investigação e pela sua orientação.

À minha esposa por me apoiar incondicionalmente e suportar muito tempo de soledade e dificuldades.

Aos meus filhos Andrés David e Diego Alejandro por ser além de meus filhos, a pessoa que sempre me escutaram.

À minha mãe por me apoiar incondicionalmente e ao meu pai que seria muito orgulhoso de ver mais um de seus filhos pós-graduado.

Aos meus irmãos e irmãs e suas famílias pelo apoio.

Aos meus amigos do Brasil João, Lais, Ângela, Crislaine, Mayara, Jéssica, Morgana e em especial ao Rafael por me apoiar durante tudo o doutorado.

Um agradecimento especial ao Thiago por todo o seu conhecimento, apoio e ajuda nesta pesquisa, porque sem ela isso não seria possível.

Ao Laboratório de Espectrometria, Sensores e Biossensores, Departamento de Química e a toda sua equipe pela facilitação e o desenvolvimento da presente investigação, em especial meu mais profundo agradecimento a Luana S. Moreira e o Floriatan S. Costa pela ajuda, motivação e oportunidade.

*“É muito melhor lançar-se em busca de conquistas grandiosas,  
mesmo expondo-se ao fracasso, do que alinhar-se com os pobres de espírito,  
que nem gozam muito nem sofrem muito, porque vivem numa penumbra cinzenta,  
onde não conhecem nem vitória, nem derrota.”*

**(Theodore Roosevelt)**

## RESUMO

A pesquisa atual desenvolveu um método de derivatização e microextração líquido-líquido assistida por ar, baseado na catalização por solvente eutético profundo, acoplado à cromatografia gasosa e espectrometria de massa, para determinar a concentração de amônia no ar ambiente da cidade de Curitiba, Brasil. O procedimento envolveu a derivatização catalisada da amônia alcalina por meio da reação com isobutil cloroformato, utilizando NADES como catalisador. A síntese do NADES foi realizada pela combinação de xilitol e ácido málico em proporções molares adequadas. Após aquecimento e agitação, formou-se um solvente eutético profundo. A mistura eutética foi transferida para um vial junto com a amostra por meio de uma seringa, resultando em uma solução turva contendo pequenas gotículas da amônia derivatizada. O produto derivatizado foi extraído com butanol, concentrado e, em seguida, injetado para análise por GC/MS. A metodologia analítica foi validada, e seus parâmetros de desempenho atenderam aos requisitos estabelecidos na norma ISO 5725. Sob condições ideais, os limites de detecção e quantificação foram de 0,3 e 1,0 ng L<sup>-1</sup>, respectivamente, e as recuperações da extração da amônia variaram entre 90% e 103%. A precisão interdia, avaliada com base em dez repetições em uma concentração de 80 ng L<sup>-1</sup>, apresentou desvios padrão relativos de 7,66%. A metodologia foi aplicada à amostragem passiva de amônia na cidade de Curitiba, usando amostradores passivos do tipo Willens projetados e impressos em 3D com ácido polilático. Os filtros com solução absorvente dos amostradores foram expostos por 7 dias durante um período de coleta de 34 semanas. As concentrações médias de amônia variaram entre 0,28 e 4,79 µg m<sup>-3</sup>. A análise de componentes principais (PCA) revelou uma influência positiva e significativa da temperatura ambiente nas concentrações de amônia, destacando mudanças evidentes entre os dados coletados no inverno e no verão.

**Palavras-chaves:** Solvente eutético profundo; microextração líquido-líquido dispersiva assistida por ar; cromatografia em fase gasosa; derivação; amônia (NH<sub>3</sub>); qualidade do ar; amostragem passiva.

## ABSTRACT

The current research developed a method for derivatization and air-assisted liquid-liquid microextraction, based on catalysis using natural deep eutectic solvent (NADES), coupled with gas chromatography and mass spectrometry (GC-MS), to determine the concentration of ammonia in the ambient air of Curitiba, PR, Brazil. The method involved the catalyzed derivatization of alkaline ammonia through a reaction with isobutyl chloroformate, using NADES as a catalyst. NADES was prepared by combining xylitol, malic acid, and water in a 1:1:1 molar ratio. NADES was mixed with the sample using a syringe, resulting in a cloudy mixture containing droplets of derivatized ammonia. This product was then extracted with butanol, concentrated, and analyzed by GC-MS. The proposed method was validated, and its performance parameters met the requirements established in ISO-17025. The limit of detection and quantification were 0.3 and 1.0  $\mu\text{g L}^{-1}$ , respectively, and ammonia extraction recoveries ranged between 90% and 103%. Inter-day precision ( $n = 10$ ), evaluated at a concentration of 80  $\mu\text{g L}^{-1}$ , showed relative standard deviations of  $< 7.6\%$ . The method was applied to passive sampling of ammonia in Curitiba, using 3D-printed Willens-type passive samplers containing an absorbent solution and exposed for 7 days. The average concentrations of ammonia found fall within the concentration range of previous studies conducted. The proposed method exhibited enhanced sensitivities compared to reference methods using pyridine/chloroform. Additionally, the method was more sustainable, with advantages such as speed, low cost, and simplicity.

**Key-words:** Deep eutectic solvent; air assisted dispersive liquid-liquid microextraction; gas chromatography; derivatization; ammonia ( $\text{NH}_3$ ); air quality; passive sampling.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Distribuição de emissões de NH <sub>3</sub> a partir da combustão e fontes industriais.....	15
Figura 2: Amostrador passivo de amônia (Willens e Radiello).....	19
Figura 3: Representação de um ponto eutético em um diagrama de fases de dois componentes .....	23
Figura 4: Mecanismo da Reação de Piridina com haletos de alquila.....	26
Figura 5: Fluxograma da metodologia de derivatização e extração da NH <sub>3</sub> .....	35
Figura 6: Fluxograma da metodologia de otimização do método e estudo de campo da NH <sub>3</sub> .....	36
Figura 7: Metodologia de derivatização - AA-DLLME e solidificação de DES analisado por CG-MS para Aminas Aromáticas .....	37
Figura 8: Derivatização geral de aminas e amônia .....	39
Figura 9: Derivatização de amônia .....	39
Figura 10: Método com uso de DES como catalisador e BuOH como extrator .....	41
Figura 11: Dimensões do amostrador passivo desenvolvido .....	48
Figura 12: Ilustração a) e Amostrador passivo após produção b) .....	49
Figura 13: Cromatograma obtido com as condições cromatográficas otimizadas (TIC).....	52
Figura 14: Fórmula estrutural do Ácido Málico .....	52
Figura 15: Espectro RMN de ácido málico, xilitol e NADES. ....	53
Figura 16: Fórmula estrutural Xilitol .....	54
Figura 17: Cromatograma de comparação com o uso dos DES A), B) e C).....	55
Figura 18: Cromatograma de comparação de extração com decanol, undecano e dodecanol .....	56
Figura 19: Cromatograma de brancos de gás após a injeção do extrato com dodecanol .....	57
Figura 20: Primeiro Cromatograma de extração com Butanol .....	58
Figura 21: Cromatograma de comparação de diferentes frações do DES Xilitol – Ác. Málico -Água .....	59
Figura 22: Cromatograma da metodologia com e sem ajuste do pH .....	60
Figura 23: Testes com e sem aquecimento na etapa inicial de derivatização.....	61
Figura 24: Metodologia: Ensaios a diferentes tempos de reação na derivatização .....	62
Figura 25: Metodologia: Testes com e sem sal e com e sem centrifugação.....	63
Figura 26: Metodologia: Resultados do planejamento fatorial fracionado 2 <sup>5-1</sup> .....	66
Figura 27: Resultados do Planejamento Fatorial Fracionado: Gráfico do Pareto .....	66
Figura 28: Metodologia de Superfície de resposta (MSR) para os fatores pH e Volume do DES.....	68
Figura 29: Metodologia de Superfície de resposta (MSR) para os fatores V-DES e tempo de Derivatização .....	69
Figura 30: Ajuste do modelo .....	70
Figura 31: Metodologia de Superfície de Resposta (MSR) para os fatores tempo de derivatização e tempo de extração .....	70

Figura 32: Superfície de Resposta do Volume do DES e o pH da amostra.....	73
Figura 33: Superfície de contorno para o planejamento Doehlrt .....	74
Figura 34: Curva analítica na faixa de baixa concentração do derivatizado de amônia com uso de NADES .....	75
Figura 35: Curva analítica na faixa de alta concentração do derivatizado de amônia com uso de NADES .....	76
Figura 36: Gráfico de dispersão de Resíduos em faixa de baixa concentração .....	77
Figura 37: Gráfico de dispersão de Resíduos em faixa de alta concentração. ....	77
Figura 38: Resultados da avaliação de desempenho ambiental AGREEp rep do procedimento para determinação de amônia no ar ambiente .....	82
Figura 39: Localização dos pontos de coleta de amônia no centro politécnico da UFPR .....	83
Figura 40: Fotografias dos pontos de coleta de Amônia UFPR .....	84
Figura 41: Distribuição das concentrações de amônia no centro politécnico julho de 2022 até março de 2023. Número de amostragem para cada ponto = 34.....	86
Figura 42: Rosa de ventos e diagrama de barras do período de 11 de julho de 2022 até 14 de março 2023.....	87
Figura 43: Gráfico de loadings $PC_1 \times PC_3$ sobre as variáveis ambientais e Concentração $NH_3$ no Centro Politécnico – UFPR pelo PCA .....	91
Figura 44: Gráfico Biplot $PC_1 \times PC_3$ sobre as variáveis ambientais e as Concentração $NH_3$ no Centro Politécnico – UFPR pelo PCA .....	92

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Determinação de Amônia em diferentes partes do mundo.....	17
Tabela 2: Parâmetros CG MS.....	38
Tabela 3: Programa de aquecimento do forno no CG.....	38
Tabela 4: Triagem - Planejamento Fatorial Fracionado $n^{5-1}$ .....	44
Tabela 5: Testes de recuperação.....	47
Tabela 6: Condições cromatográficas para o padrão ( $\text{NH}_3$ ) de $10 \text{ mg L}^{-1}$ .....	51
Tabela 7: Programa de aquecimento do forno no CG-MS.....	51
Tabela 8: Dados espectrais ácido málico.....	53
Tabela 9: Dados espectrais xilitol.....	54
Tabela 10: Dados espectrais $^{13}\text{C}$ para ácido málico, xilitol e NADES.....	54
Tabela 11: Réplicas das áreas usando decanol como extrator.....	56
Tabela 12: Áreas de pico para o Butil carbamato extraído com Decanol, undecanol e Dodecanol.....	57
Tabela 13: Área das réplicas das misturas eutética Xilitol-Ác. Málico- $\text{H}_2\text{O}$ .....	60
Tabela 14: Área de pico cromatogramas com e sem aquecimento.....	62
Tabela 15: Avaliação dos tempos de derivatização.....	62
Tabela 16: Efeito da força iônica, e a centrifugação na extração do derivatizado.....	64
Tabela 17: Triagem empregando- Planejamento Fatorial Fracionado do tipo $n^{5-1}$ .....	65
Tabela 18: Resultados do planejamento fatorial fracionado.....	66
Tabela 19: Análise de variância (ANOVA).....	68
Tabela 20: Matriz Doehlert para otimização de duas variáveis no procedimento de derivatização/microextração.....	71
Tabela 21: ANOVA do planejamento Doehlert.....	72
Tabela 22: Valores críticos (otimizados) da Derivatização da amônia.....	73
Tabela 23: Avaliação das variâncias para determinação do efeito matriz.....	74
Tabela 24: Cálculo do teste Q para padrões de $0,001 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de ( $\text{NH}_3$ ).....	78
Tabela 25: Cálculo de CV para curva NADES.....	78
Tabela 26: Resultados do teste de recuperação (%).....	78
Tabela 27; Precisão (CV) curva analítica com NADES.....	79
Tabela 28; Resultados da avaliação de desempenho ambiental Metodologia AGREEpre.....	81
Tabela 29: Localização e descrição pontos de coleta de amônia no ar.....	82
Tabela 30: Resumo dados de tendência central para concentrações de amônia ( $\mu\text{g m}^{-3}$ ) nos pontos de coleta.....	86

Tabela 31: Resumos das frequências predominantes dos ventos na estação SIMEPAR do centro Politécnico.....	88
Tabela 32: Autovalores da análise por PCA das variáveis de estudo autoescaladas .....	89

## LISTA DE ABREVIATURAS E DE SIGLAS

**AA-LLME** Air assisted liquid liquid microextraction

**BuCF** Butil cloroformato

**CONAB** Companhia Nacional de Abastecimento do Brasil

**ChCl** Cloreto de Colina

**DLLME** Dispersive liquid-Liquid Microextraction

**DPR** Desvio Padrão Relativo

**EUA** Estados Unidos de América

**GC** Cromatografia gasosa

**IBCF** IsoButil cloroformato

**LD** Limite de detecção

**LLE** liquid - liquid extraction

**LPME** Liquid phase microextraction

**LQ** Limite de Quantificação

**MP** material particulado suspenso

**MP<sub>10</sub>** material particulado de tamanho  $\leq$  de 10 micras

**MP<sub>2,5</sub>** material particulado de tamanho  $\leq$  de 2,5 micras

**NADES** solvente eutético natural

**PHAs** polycyclic aromatic hydrocarbons

**SPME** solid phase microextraction

**SPME** Solid Phase Micro Extraction

**UNECE** United Nations Economic Commission for Europe **mLLE** extração líquido-líquido miniaturizada

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
1.1	IMPACTO DOS COMPOSTOS DE NITROGÊNIO REATIVOS	14
1.2	CONCENTRAÇÕES TÍPICAS DE AMÔNIA EM ÁREAS URBANAS	16
1.3	LEGISLAÇÃO PARA AMÔNIA	17
1.4	Determinação de amônia em amostras gasosas	18
1.4.1	Amostragem passiva difusa	20
1.4.2	Preparo de amostra para análise de amônia	21
1.5	Uso de DES no pré-tratamento de amostras para análise de amônia	22
1.6	NADES como meio de reação orgânico-verde	24
1.7	DERIVATIZAÇÃO	25
1.8	Experimentos para seleção de variáveis (triagem)	28
1.8.1	Planejamento fatorial fracionado	28
1.8.2	Planejamento fatorial com ponto central	28
1.9	PLANEJAMENTO FATORIAL COMPLETO	29
1.10	Metodologia de Superfície de Resposta (MSR): Otimização	30
1.11	VALIDAÇÃO DE TÉCNICAS ANALÍTICAS	30
1.11.1	Métodos normalizados e não normalizados	31
2	OBJETIVOS	32
2.1	OBJETIVO PRINCIPAL	32
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	32
3	MATERIAIS E MÉTODOS	33
3.1	Método Base: Derivatização de Amônia empregando DES como catalisador	37

<b>3.2</b>	<b>ESTABELECIMENTO DAS CONDIÇÕES OPERACIONAIS DO CG-MS</b>	<b>38</b>
<b>3.3</b>	<b>DERIVATIZAÇÃO DA AMÔNIA E EXTRAÇÃO POR DLLME</b>	<b>38</b>
<b>3.4</b>	<b>Micro extração líquido-líquido assistida por ar e com solvente Extrator NADES</b>	<b>39</b>
<b>3.5</b>	<b>Análise univariada</b>	<b>40</b>
3.5.1	Testes com diferentes tempos de reação na derivatização	40
3.5.2	Metodologia proposta após troca de solvente extrator.	40
3.5.3	Síntese de solvente Eutético profundo (DES) Xilitol – Ác. Málico	40
3.5.4	Caracterização do solvente eutético profundo (DES) Xilitol – Ác. málico	42
3.5.5	Testes com e sem aquecimento de amostra antes da derivatização	42
3.5.6	Testes com diferentes pH da amostra	42
3.5.7	Testes com diferentes forças iônicas e com e sem centrifugação na extração	42
<b>3.6</b>	<b>Triagem de variáveis: Planejamento fatorial fracionado.</b>	<b>43</b>
<b>3.7</b>	<b>Validação da metodologia analítica.</b>	<b>44</b>
3.7.1	Seletividade – Efeito matriz	44
3.7.2	Linearidade / Sensibilidade	45
3.7.3	Limite de detecção (LD)	46
3.7.4	Limite de Quantificação (LQ)	46
3.7.5	Recuperação	47
3.7.6	Precisão (repetibilidade)	48
<b>3.8</b>	<b>Amostragem Passiva</b>	<b>48</b>
3.8.1	Amostrador passivo	48
3.8.2	Pré-tratamento dos filtros antes da exposição	49
3.8.3	Cálculos da concentração de amônia no ar	50
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>51</b>
<b>4.1</b>	<b>DEFINIÇÃO DAS CONDIÇÕES NO CG MODO FULLSCAN</b>	<b>51</b>
<b>4.2</b>	<b>Síntese de solvente Eutético profundo (DES) Xilitol – Ác. Málico</b>	<b>52</b>
4.2.1	Caracterização do solvente eutético profundo (DES) Xilitol – Ác. Málico	52
<b>4.3</b>	<b>Uso de Solventes Eutéticos (DES) no Processo De Derivatização da Amônia Usando Decanol como Extrator</b>	<b>54</b>
<b>4.4</b>	<b>AA-DLLME com uso de decanol, undecanol e dodecanol como solvente extrator</b>	<b>56</b>

<b>4.5</b>	<b>Controle de qualidade e brancos analíticos</b>	<b>57</b>
<b>4.6</b>	<b>ANÁLISE UNI-VARIADA</b>	<b>58</b>
4.6.1	Testes de diferente Composição para DES C	59
4.6.2	Resultados da otimização de extração	60
4.6.3	Com e sem ajuste do pH	60
4.6.4	Avaliação da temperatura na etapa de preparo de amostra	61
4.6.5	Avaliação do tempo de reação da derivatização	62
4.6.6	Estudo da força iônica e centrifugação na extração	63
<b>4.7</b>	<b>TRIAGEM DE VARIÁVEIS: PLANEJAMENTO FATORIAL FRACIONADO</b>	<b>64</b>
<b>4.8</b>	<b>OTIMIZAÇÃO - PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL MATRIZ DOHELERT</b>	<b>71</b>
<b>4.9</b>	<b>ETAPAS DE VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO AA-DLLME COM NADES</b>	<b>74</b>
4.9.1	Seletividade	74
4.9.2	Linearidade/Faixa de trabalho/Faixa linear de trabalho/Sensibilidade	75
4.9.3	Limite de Detecção (LD)	77
4.9.4	Limite de Quantificação (LQ)	78
4.9.5	Tendência/Recuperação	78
4.9.6	Precisão do método analítico	79
<b>4.10</b>	<b>Avaliação do desempenho ambiental da metodologia analítica</b>	<b>79</b>
<b>4.11</b>	<b>AMOSTRAGEM PASSIVA DE AMÔNIA COM SOLUÇÃO ABSORVENTE</b>	<b>82</b>
4.11.1	Área de estudo	82
4.11.2	Determinação do coeficiente de difusão	84
4.11.3	Concentração de amônia no ar ambiente	85
<b>4.12</b>	<b>Análise dos dados meteorológicos</b>	<b>87</b>
<b>4.13</b>	<b>Análise Multivariado PCA</b>	<b>89</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES</b>	<b>94</b>
<b>6</b>	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>96</b>

## 1 INTRODUÇÃO

“De todas as intervenções recentes do homem nos ciclos da natureza, a fixação industrial de nitrogênio (nitrogênio reativo) excede em muito todas as outras em magnitude” (DELWICHE, 1970). O nitrogênio reativo tem um lugar significativo na revolução agrícola, que é análogo ao papel do carbono oriundo dos combustíveis fósseis na Revolução Industrial. Desde o ano de 1800, tem-se investigado o papel do nitrogênio como nutriente nas culturas agrícolas. No século XIX, muitos processos industriais de produção de fertilizantes dependiam de limitados reservatórios naturais de nitrogênio reativo, principalmente guano peruano, salitre chileno e sal de amônio extraídos do carvão, com uma produção que atingia cerca de 1 Tg N ano<sup>-1</sup> no ano de 1900 (CUSHMAN, 2013).

As reservas limitadas de Guano levaram ao desenvolvimento de pesquisa que possibilitaram a produção industrial de amônia, foi assim que em 13 de outubro de 1908, o químico alemão Fritz Haber registrou sua patente sobre a “síntese de amônia a partir de seus elementos”. Hoje, essa reação é conhecida como processo Haber-Bosch. Fritz Haber foi o pesquisador que pioneiramente avançou na engenharia química de alta pressão, mas foi posteriormente Carl Bosch quem desenvolveu este processo em escala industrial. Desde então, a produção mundial de amônia cresceu significativamente, atingindo 176 milhões de toneladas métricas (Tm) em 2014, tornando a amônia uns dos reagentes químicos mais usados no mundo.

Além das fontes de nitrogênio já mencionadas, o aumento das populações de animais e as emissões veiculares também afetam o ciclo do nitrogênio, aumentando a massa total de compostos de nitrogênio biologicamente disponíveis. Uma porção substancial do nitrogênio reativo é transportada e perdida pelo meio ambiente, por meio de escoamento, lixiviação de águas subterrâneas e emissões de amônia (NH<sub>3</sub>), óxidos de nitrogênio (NO<sub>x</sub>) e outros compostos de nitrogênio (GALLOWAY et al., 2004), (CONANT; BERDANIER; GRACE, 2013). Dados da ONU de 2010 mostram que emissões de NO<sub>x</sub> aumentaram de aproximadamente 5,8 Tg N ano<sup>-1</sup> em 1910 para aproximadamente 38 Tg N ano<sup>-1</sup> em 2010. Embora as fontes de emissão de NO<sub>x</sub> estejam sujeitas a controles de poluição nos EUA e na Europa desde a década de 1900, resultando em reduções substanciais de emissões, as emissões mundiais continuam a aumentar, especialmente na China (LONG-RANGE TRANSBOUNDARY AIR POLLUTION et al., 2010).

De acordo com Battye, Aneja e Schlesinger (2017), o aumento do uso de fertilizantes sintéticos, do cultivo de culturas fixadoras de nitrogênio e das emissões de óxidos de nitrogênio (NO<sub>x</sub>) contribuem para o aumento do nível geral de nitrogênio reativo no meio ambiente (PAI; HEALD; MURPHY, 2021). Estimou-se que a emissão total oriunda destas fontes em 2014 foi de 190 Tg N ano<sup>-1</sup>. Na segunda metade do século XX, houve um aumento significativo em culturas fixadores de nitrogênio, especialmente a soja, cuja produção mundial triplicou entre 1910 e 1960 (SHURTLEFF; AOYAGI, 2004). Desde 1960, a produção mundial de soja aumentou em um fator de 10, passando de 1 Tg-ano<sup>-1</sup> para cerca de 12 Tg N ano<sup>-1</sup>, com a maior parte da nova produção ocorrendo na América do Sul. O

Brasil lidera a produção mundial de soja, com uma safra esperada de 2022/2023 de 160 milhões de toneladas. (CONAB, 2023).

De acordo com autores como Bouwman et al. (2013), Winiwarter et al. (2013), Agency (2017) a previsão é de que o uso de fertilizantes nitrogenados e as culturas fixadoras de nitrogênio continuem a aumentar na maioria dos cenários futuros. Além disso, o aumento na criação de animais destinados ao abate e consumo também aumentaram nas últimas décadas, o que implica que uma grande quantidade do nitrogênio liberado para a atmosfera seja excretada por esses animais, na forma de ureia e outros compostos de nitrogênio; gerando um aumento de amônia ( $\text{NH}_3$ ) atmosférica e perdas para a hidrosfera por lixiviação e escoamento.

Além dos distúrbios no ecossistema, o nitrogênio reativo altera o equilíbrio dos gases de efeito estufa, aumenta o ozônio troposférico, diminui o ozônio estratosférico, aumenta a acidificação do solo e estimula a formação de material particulado secundário na atmosfera. A amônia ( $\text{NH}_3$ ) é o poluente atmosférico de maior volume para o qual nenhum programa de controle nacional ou regional foi desenvolvido. Como resultado, a deposição úmida de amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) aumentou em grande parte dos EUA em aproximadamente 22% nos últimos 20 anos (LI; SCHICHTEL et al., 2016). Algumas nações europeias adotaram medidas de controle para amônia ( $\text{NH}_3$ ), que produziram reduções significativas nas emissões da agricultura (ERISMAN et al., 2008; VAN DAMME et al., 2021).

Cada uma das principais fontes de geração e de emissão de amônia, como o crescimento da população, a melhoria do suprimento mundial de alimentos e o uso de biomassa para fornecer energia, levará a novos aumentos na demanda por nitrogênio, mesmo que se espere melhorias na eficiência dos processos agrícolas. Na pior das hipóteses, segundo Battye, Aneja e Schlesinger (2017) “caminharemos para um planeta saturado de nitrogênio reativo, com ar poluído, biodiversidade reduzida, maiores riscos à saúde humana e um balanço de gases de efeito estufa ainda mais perturbado”.

Esse crescimento contínuo das emissões de amônia em todo o planeta a levado a diversos autores a realizar estudos de caracterização da qualidade de ar em diferentes regiões do mundo, permitindo afirmar que a amônia tem que ser incluída entre os contaminantes do ar considerados prioritários, e que eles devem fazer parte dos compostos avaliados nas redes de monitoramento da qualidade do ar, devido aos seus impactos significativos tanto diretos como indiretos tanto para os seres humanos quanto para o meio ambiente.

Dentro dos estudos de caracterização da amônia como contaminante na qualidade do ar, destaca-se a metodologia de amostragem com amostrador passivo. Essa abordagem tem sido adotado em estudos nos Estados Unidos (FELIX; ELLIOTT; GAY, 2017; LI; THOMPSON et al., 2017; SCHIFERL; HEALD; VAN DAMME et al., 2016; PUCHALSKI et al., 2011), China (WU, S. -P. et al., 2018; WANG; MIAO; WANG, 2020), Canada (ZBIERANOWSKI; AHERNE, 2012), Espanha (RECHE; VIANA; KARANASIOU et al., 2015), Reino Unido (BELL et al., 2016), Itália (ROMAGNOLI et al., 2017), Emiratos Árabes Unidos (SALEM; SOLIMAN; EL-HATY, 2009), Vietnã (LAN et al., 2004), Brasil (SILVA, 2015; FELIX; CARDOSO, 2012), entre muitos outros estudos que

usam amostradores passivos para a caracterização de uma gama muito ampla de contaminantes. O uso de amostrador passivo tem destaque pela facilidade de instalação destes dispositivos, sua independência de fontes elétricas ou de qualquer tipo de energia, tornando-os ideais para avaliar extensas regiões, ou áreas relativamente grandes com o menor custo; porém, segundo Górecki e Namieśnik (2002) existem algumas limitações que às vezes podem ser difíceis de superar, provavelmente a mais importante das quais é o possível efeito das condições ambientais (como temperatura, movimento do ar e umidade) na absorção do analito. Portanto, nas equações de cálculo do coeficiente de difusão será sempre obrigatório, ter ajustes por temperatura e pressão.

Além do sistema de coleta da amostra, a técnica de análise para a determinação da amônia é de extrema importância. Diversas metodologias analíticas foram testadas em diferentes artigos, incluindo a cromatografia iônica, a cromatografia gasosa com analisador de massas, e a cromatografia líquida com analisador de fluorescência. Autores como Huang H et al 2014 mostraram que os limites de detecção da metodologia que usa CG-MS são três ordens de grandeza maiores que o método que utiliza cromatografia iônica. Portanto, na metodologia desenvolvida, optou-se pela análise por cromatografia de gases com detector de massas.

Dada a natureza da cromatografia gasosa com analisador de massas, as amostras a serem analisadas precisam de pré-tratamento para serem injetadas no CG. O objetivo do preparo de amostras é extrair os analitos da matriz da amostra, assim como, pré-concentrá-los. Rotineiramente, duas metodologias são utilizadas para o pré-tratamento de amônia e aminas: a extração líquido-líquido e a extração em fase sólida. No entanto, ambas frequentemente requerem grandes quantidades de amostra ou solventes orgânicos. Recentemente, a microextração em fase sólida (SPME) e microextração em fase líquida (LPME), foram desenvolvidos para simplificação, miniaturização e minimização do consumo de solventes orgânicos. Versões melhoradas ou adaptadas da LPME, como a microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME), foram introduzidas. A DLLME baseia-se em um sistema ternário de solventes, no qual uma mistura de solventes de extração e um dispersante, é rapidamente injetada em uma solução aquosa contendo os analitos. Os analitos alvo são extraídos em gotículas finas do solvente de extração, que são então separados por centrifugação.

Segundo Fischella et al (2015) o uso de solvente dispersivo no DLLME pode diminuir os coeficientes de partição dos analitos e, como resultado, reduzir a eficiência de extração. Para superar esse problema, alguns métodos livres de dispersante, como diferentes tipos de micro extração: como de emulsificação assistida por ultrassom, dispersiva líquido-líquido assistida por agitação magnética, líquido-líquido assistida por vórtice e líquido - líquido assistido por ar (AA-LLME) foram introduzidas. No AA-LLME, uma seringa suga e injeta repetidamente uma mistura de uma solução aquosa de amostra e do solvente de extração, formando gotículas finas de um solvente de extração orgânico em um tubo de ensaio. Isso cria um estado turvo na ausência de um solvente dispersante.

Nos métodos tradicionais para determinação de amônia e aminas são utilizados solventes orgânicos como solventes de extração, os solventes mais usados são solventes halogenados

(clorofórmio, diclorometano) e aromáticos, que são tóxicos e prejudiciais ao meio ambiente, além de necessitarem de catalisador (piridina) para que a reação aconteça em tempos razoáveis. Portanto, utilização de solventes eutéticos em substituição aos solventes orgânicos está se tornando cada vez mais necessário. Os solventes eutéticos profundos (DESs) são considerados mais seguros, baratos e mais biodegradáveis, tornando-os adequados para múltiplas aplicações. Um DES é geralmente formado pela mistura de uma quantidade apropriada de um aceitador de ligação de hidrogênio (HBA) e um doador de ligação de hidrogênio (HBD), que podem ser associados entre si de acordo com a interação da ligação de hidrogênio.

Nos últimos anos, os DESs têm sido utilizados não apenas como solventes de extração, mas também como catalisadores. Embora sua aplicação em métodos de extração seja limitada devido à sua solubilidade em água, viscosidade e compatibilidade com o sistema de determinação, eles oferecem uma alternativa mais sustentável aos solventes tradicionais.

Diante dessa previsão, o monitoramento da qualidade do ar em relação à amônia torna-se cada vez mais urgente. Portanto, é necessário desenvolver métodos analíticos mais ambientalmente amigáveis e sensíveis, que permitam uma rápida determinação das concentrações de amônia com a menor geração de resíduos e, assim, o menor impacto possível no meio ambiente. Nesse contexto, este estudo desenvolveu um novo protocolo para a determinação de amônia no ar, utilizando solventes eutéticos profundos naturais (Natural Deep Eutectic Solvents, NADES) e amostragem passiva para o monitoramento da qualidade do ar em Curitiba, Brasil.

Para a determinação de amônia na qualidade do ar, nesta pesquisa, foi desenvolvida um amostrador passivo axial econômico, usando uma mistura de ácido oxálico/glicerol como adsorvente para monitorar a presença de amônia em ambientes abertos (LIMA, 2011; CRUZ; CAMPOS, 2002). A preparação desses amostradores é simples, pois utiliza apenas água Milli-Q para sua limpeza. As taxas de amostragem em filtros de celulose foram estimadas com base nos parâmetros estabelecidos por Gary (1992) para determinação do coeficiente de difusão.

## 1.1 IMPACTO DOS COMPOSTOS DE NITROGÊNIO REATIVOS<sup>1</sup>

Depois do nitrogênio ( $N_2$ ) e óxido nitroso ( $N_2O$ ), a amônia ( $NH_3$ ) é o composto de nitrogênio mais abundante na atmosfera (SEINFELD; PANDIS, 2016).  $NH_3$  desempenha um papel fundamental na química atmosférica (BATTYE; ANEJA; SCHLESINGER, 2017) devido a diversos fatores, como:

---

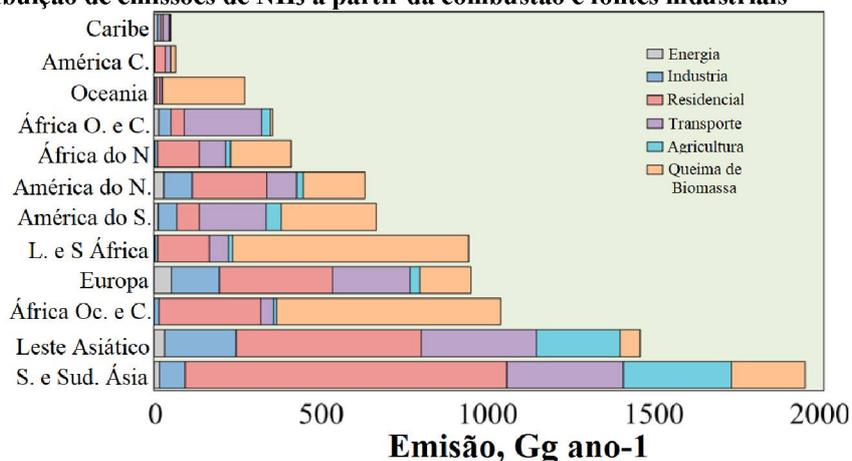
<sup>1</sup> O termo nitrogênio reativo (Nr), conforme usado neste documento, inclui todos os compostos de N biologicamente ativos, fotoquimicamente reativos e radiativamente ativos na atmosfera e na biosfera da Terra. Assim, Nr inclui formas inorgânicas reduzidas de N (por exemplo,  $NH_3$ ,  $NH_4^+$ ), formas inorgânicas oxidadas (por exemplo,  $NO_x$ ,  $HNO_3$ ,  $N_2O$ ,  $NO_3^-$ ) e compostos orgânicos (por exemplo, ureia, aminas, proteínas, ácidos nucleicos). Observe que esta definição é muito mais ampla do que o termo 'N reativo' conforme definido pela comunidade química atmosférica - eles definem N reativo como  $NO_y$ , que é qualquer combinação N-O exceto  $N_2O$  (por exemplo,  $NO_x$ ,  $N_2O_5$ ,  $HNO_2$ ,  $HNO_3$ , nitratos, nitratos orgânicos, nitratos de halogênio etc.).

- ✓ Gases contendo nitrogênio são responsáveis pelo transporte de longa distância de nitrogênio e enxofre. (TURŠIĆ et al., 2004; RENNER; WOLKE, 2010; CHEN; DAY et al., 2014);
- ✓ Sua função precursora na formação de partículas finas (BOUWMAN, 1996);
- ✓ Integra uma parte essencial no balanço de nitrogênio dos ecossistemas. (PLESSOW et al., 2005; WU et al., 2008; ALLEN et al., 2010);
- ✓ É o gás de maior importância na troposfera, pois suas reações de neutralização com os ácidos sulfúrico, nítrico e clorídrico formam sais de amônio tais como sulfato de amônio, bissulfato de amônio, nitrato de amônio e cloreto de amônio, que constituem uma parcela significativa do material particulado (MP) atmosférico. (SEINFELD; PANDIS; NOONE, 1998);

$\text{NH}_3$  pode ser emitida por fontes naturais e antrópicas. Fontes naturais geralmente correspondem a animais silvestres, ecossistemas intactos, queima de biomassa em ecossistemas naturais; mas também,  $\text{NH}_3$  pode ser emitido pelas florestas e vários tipos de plantas (BOUWMAN, 1996; BATTYE; ANEJA; SCHLESINGER, 2017). Emissões de  $\text{NH}_3$  por meio de fontes antrópicas incluem atividades indústrias em geral, a queima de biomassa é uma fonte de amônia e amônio ( $\text{NH}_3$  e  $\text{NH}_4^+$ ) (HEGG et al., 1988; IANNIELLO et al., 2010), todo tipo de atividade pecuária, humanos, animais de estimação, aterros e produtos domésticos (SUTTON et al., 2000). Fontes veiculares também são destacadas como fontes de amônia (LI; SCHWAB; DEMERJIAN, 2006; GILLILAND et al., 2006).

Entre as fontes mencionadas anteriormente, as emissões veiculares podem ser destacadas como uma das principais contribuintes para a emissão da amônia, fato este que impulsionou estudos sobre o tema. Neste contexto, Figura 1 ilustra que na África Oeste e Central, na América do Sul, Europa e Ásia as emissões geradas pelo transporte constituem um dos principais setores que originam amônia (MENG et al., 2017). É importante ressaltar que, em consequência, *a avaliação de amônia nos centros urbanos tenderá a ter como principal fonte a emissão veicular.*

**Figura 1: Distribuição de emissões de  $\text{NH}_3$  a partir da combustão e fontes industriais**



Fonte: EEA-DATA (2019)

Frente a esta problemática, Durbin, Wilson et al. (2001) realizaram pesquisas para determinar o nível de emissão de amônia de diferentes tipos de veículos leves, mostrando que os veículos leves são geradores de amônia para a atmosfera, o que foi corroborado por MejiaCenteno, Martinez-Hernández e Fuentes (2007); além disso, Durbin, Wilson et al. (2001) observaram que a diminuição de enxofre da gasolina aumenta a formação de  $\text{NH}_3$  e diminui a formação de  $\text{N}_2\text{O}$ .

Autores como Livingston, Rieger e Winer (2009) também observaram que a formação de  $\text{NH}_3$  a partir da combustão veicular é atribuída ao óxido nítrico que reage com o gás hidrogênio produzido pela reação do CO com a água, segundo a seguinte reação:



Durbin, Pisano et al. (2004) também observaram que a  $\text{NH}_3$  é formada principalmente no catalisador de combustão, esses resultados concordam com os achados por Gandhi e Shelef (1991) que mostram que sob condições redutoras, os íons sulfeto divalentes negativos envenenam seletivamente a conversão do óxido nítrico em amônia no catalisador.

Durbin, Wilson et al. (2002), Huai et al. (2003) e Heeb et al. (2006) relataram uma associação entre a relação ar/combustível e a emissão de  $\text{NH}_3$ . Como os veículos geralmente tendem a enriquecer a mistura durante as acelerações, espera-se uma correlação entre acelerações, emissão de CO e emissão de  $\text{NH}_3$ .

A amônia tem outros efeitos no meio ambiente, por exemplo, de acordo com Baum e Ham (2009) próximo à sua fonte a  $\text{NH}_3$  é depositada na vegetação, solo e água podendo, conseqüentemente, modificar a acidez e aumentar a disponibilidade de nitrogênio, o que pode levar à eutrofização das águas superficiais. Robarge et al. (2002) afirmam que o aumento nas concentrações de  $\text{NH}_3$  também pode ocasionar a diminuição na resistência à seca e danos ao gelo.

## 1.2 CONCENTRAÇÕES TÍPICAS DE AMÔNIA EM ÁREAS URBANAS

As concentrações de  $\text{NH}_3$  na baixa troposfera são geralmente baixas, por exemplo, Edgerton et al. (2007) mostraram que em regiões rurais do sudeste dos EUA, as concentrações típicas são da ordem de  $0,16 \mu\text{g m}^{-3}$  ( $0,23 \text{ ppb}^2$ ). A Tabela 1 resume as concentrações de  $\text{NH}_3$  encontradas em diversos estudos ao redor do mundo. Os compostos reativos de nitrogênio são importantes indutores de contaminação do ar por partículas e podem até ser dominantes em algumas regiões. Diversos estudos afirmam que a  $\text{NH}_3$  participa ativamente da formação do material particulado suspenso (MP). Assim, Malm et al. (2002) observaram que compostos de nitrogênio participam de reações de formação de MP, e ilustram essa afirmação mostrando que as partículas formadas por nitrato de amônio constituem

---

<sup>2</sup> A conversão de  $\mu\text{g m}^{-3}$  para ppb se fez a partir da equação de gases ideais e empregando condições normais de pressão e temperatura.

aproximadamente 65% de todas as partículas suspensas totais no sul da Califórnia, EUA. Outros estudos desenvolvidos por Schiferl et al. (2014) estimou que entre o 40 e 60% do material particulado (MP) inorgânico são atribuíveis a fontes antrópicas de  $\text{NH}_3$ . Da mesma forma, para Hasheminassab et al. (2014), os aerossóis secundários, incluindo nitrato e sulfato de amônio, com a maior fração do material particulado suspenso, menor de 2,5 micrômetros ( $\text{MP}_{2,5}$ ) ambiental, representando 26% a 63% do total, em média anual.

**Tabela 1: Determinação de Amônia em diferentes partes do mundo.**

Autor	localização	Concentração de $\text{NH}_3$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ )
Martin, et al. (2019)	UK	3,25
Alfoldy et al. (2019)	Doha Qatar	17,6
Wu et al. (2008)	Sudeste - China	16,85±8,90
Wang et al. (2018)	Xangai, China	2,57 -10,08
Phan et al. (2013)	Coreia do Sul	10,9±4,25
Felix e Cardoso (2012)	Curitiba - Brasil	0,35 – 3,48
Machado, Cardoso et al. (2007)	São Paulo	0,35-2,36
Edgerton et al. (2007)	Sudeste dos EUA	Industrial 1,70 Rural 0,16
J. Nowak et al. (2006)	Atlanta, Geórgia, EUA	0,28 - 9,03
Yamamoto et al. (1988)	Yokohama Japão	3,68

A conversão de ppb para  $\mu\text{g m}^{-3}$  se fez a partir da equação de gases ideias e empregando condições normais de pressão e temperatura

### 1.3 LEGISLAÇÃO PARA AMÔNIA

A revisão do Protocolo de Gotemburgo (2012) e da Diretiva NEC (2016) (Nations Economic Commission NEC) incluem para 2020 novos e mais rigorosos limites de emissão de diversos tipos de contaminantes críticos ( $\text{NO}_x$ ,  $\text{SO}_x$ ,  $\text{MP}_{10}$  e  $\text{MP}_{2,5}$ ), visando melhorar a proteção ambiental e a qualidade do ar. De acordo com o protocolo UNECE (United Nations Economic Commission for Europe) Gotemburgo de 2012, os estados membros da UE deviam reduzir conjuntamente suas emissões de  $\text{NH}_3$  em 6% e material particulado suspenso (MP) em 22% entre 2005 e 2020. Por exemplo, o objetivo francês é reduzir as emissões nacionais de amônia em 13% em 2030 em relação a 2005, com metas intermediárias: -4% no período de 2020–2024 e -8% no período de 2025–2029. Como precursor do MP, o controle da amônia é importante para reduzir as emissões de material particulado de diâmetro menor que 2,5 micrômetros ( $\text{MP}_{2,5}$ ) e menor que 10 micrômetros ( $\text{MP}_{10}$ ) como mostrou um estudo de Bessagnet et al. (2014). Assim, segundo Bessagnet et al. (2014) a implementação das metas de 2020 detalhadas acima podem não ser suficientes para cumprir os valores-limite de partículas propostos, e por tanto outras medidas locais podem ser necessárias para o cumprimento.

A Diretiva 2016/2284/UE do Parlamento Europeu e do Conselho estabelece os limites nacionais de emissão para determinados poluentes atmosféricos (JO n.º L 344, 17.12.2016, p 1). A diretiva determina que para os países da união europeia as emissões antropogênicas anuais de amônia não excedam 297 quilotoneladas.

#### 1.4 Determinação de amônia em amostras gasosas

Na atualidade os equipamentos que medem a poluição do ar podem ser classificados em quatro categorias, dependendo da metodologia de amostragem empregada: Amostradores passivos, Amostradores ativos, analisadores automáticos e sensores remotos.

Nos amostradores passivos a amostragem é realizada em um período de tempo definido (dias, semana ou mês), na qual a amostra é obtida por difusão molecular. Para os amostradores ativos um certo volume de ar é sugado por uma bomba de vácuo e passa através de um meio coletor químico ou físico por determinado período (24 horas). Os analisadores automáticos fornecem medidas com resolução temporal relativamente alta (segundos, minutos horas) e utiliza os princípios eletro-ópticos, para análise. Nestes equipamentos, a amostra entra numa câmara de reação onde a propriedade ótica do gás pode ser medida diretamente, ou uma reação química ocorre produzindo quimiluminescência ou luz fluorescente. Por fim os sensores remotos fornecem informações de concentração dos poluentes em postos do espaço mais distantes do equipamento, por meio de técnicas de espectroscopia.

A amostragem de amônia pode ser realizada por métodos ativos e passivos. Métodos integrados de amostragem atmosférica, como amostradores de difusão passiva e ativa, medem concentrações médias de  $\text{NH}_3$  ao longo do tempo de amostragem. Existem amostradores difusivos disponíveis comercialmente, por exemplo, Radiello <sup>3</sup> e aqueles que foram desenvolvidos internamente por organizações para atender a requisitos específicos de pesquisa, como o amostrador Willems <sup>4</sup>. A Figura 2 ilustra dois amostradores comerciais de amônia.

Os amostradores passivos fornecem resultados na forma de concentração média ponderada por tempo, sendo desnecessário o conhecimento do volume de ar amostrado. Estas características tornam este tipo de amostrador adequado para aplicações no ar ambiente, inclusive em áreas remotas onde não há disponibilidade de energia elétrica. Por outro lado, estes amostradores apresentam algumas desvantagens, tais como: não fornecem concentrações instantâneas, não permitem alteração na taxa de amostragem, o que impossibilita concentrar ou diluir o gás ou vapor durante a amostragem e não possuem adequada sensibilidade para períodos curtos de exposição. Além disso, a amostragem passiva não distingue episódios transitórios de altas e baixas concentrações em um dado período.

---

<sup>3</sup> O cartucho adsorvente Radiello RAD(168) é feito de material de polietileno microporoso e impregnado com ácido fosfórico. A amônia é adsorvida como íon amônio. O íon amônio é quantificado por espectrometria visível como indofenol.

<sup>4</sup> O amostrador difusivo de crachá Willems (Figura 2) funciona com base no princípio da difusão de  $\text{NH}_3$  através do filtro de PTFE e da camada de ar estática de 2 mm, seguida de quimissorção para o filtro revestido com ácido tartárico como adsorvente na base do amostrador. Quando o gás é removido do ar para a camada ácida, um gradiente de concentração do gás é criado e consequente ocorre um fluxo em direção ao sorvente. As resistências químicas e físicas influenciam o processo de difusão dentro do amostrador

Há diversos métodos e técnicas para amostrar amônia, como por exemplo:

1. Amostradores ativos:
  - a. Pacote de filtros que medem  $\text{NH}_x$  (Somatório de  $\text{NH}_3$  e  $\text{NH}_4^+$ , com tempo de resolução diária e até mensal.
  - b. Impingers que medem  $\text{NH}_x$  (Somatório de  $\text{NH}_3$  e  $\text{NH}_4^+$ , com tempo de resolução diária e até mensal. (SILVA, 2015)
  - c. Sistemas Denuder simples com análise química *offline*, por exemplo. Amostradores de Ferm, sistema CEH DELTA, com tempo de resolução diária e até mensal.
  - d. Sistemas Denuder anular (ADS) com análise química *offline*: ADS italiano, EMEP ADS, ADS comercial (Chemspec, URG), Denuder de Honeycomb, com tempo de resolução horário e diário.
  - e. Sistema de medição de fluxo COTAG (amostragem condicional com denuder em diferentes alturas), com tempo de resolução semanal e até mensal.

Figura 2: Amostrador passivo de amônia (Willens e Radiello)



2. Amostragem Contínua: métodos de química úmida
  - a. Sistemas Anulares Denuder com análise online: AMANDA (Ammonia Measurement by ANnular Denuder with online Analysis)/ AMOR (Ammonia MONitoR).
  - b. Decapagem de membrana com análise online: AiRRmonia
  - c. Sistemas coletores de aerossol a jato de vapor para gás e aerossol (GRAEGOR/MARGA)

3. Amostragem Contínuo: métodos ópticos
  - a. FTIR; DOAS (Espectrometria de Absorção Óptica Diferencial), com tempo de resolução 1 s e até 1 hora.
  - b. TDL & QCLAS (Espectrometria de Absorção de Laser de Diodo Ajustável e Laser de Cascata Quântica), com tempo de resolução 1 s e até 1 hora.
  - c. Espectrometria fotoacústica, e. NITROLUX™: Quimioluminescência com conversão catalítica, com tempo de resolução 1 s e até 1 hora.
4. Amostradores passivos difusivos comerciais (ALPHA, Gradko, Passam, Ferm, Ogawa, Radiello, Willens) com tempo de resolução diária e até mensal.

Nesta pesquisa se faz ênfase em sistemas de amostragem passivo tendo em conta as observações de Górecki e Namiéśnik (2002) e Namiéśnik et al. (2005) que mostra que em comparação com a amostragem ativa, a amostragem passiva é de baixo custo, favorável ao meio ambiente pois elimina fontes de alimentação, atendimento e ruído. Além de isso, Kot-Wasik et al. (2007) e Zabiegała et al. (2010) demonstram que amostragem passiva é adequada para amostragem em larga escala e de longo prazo.

A validação da medição quantitativa de amônia é problemática, pois não há um método de referência estabelecido. Os principais métodos e técnicas para coleta de amônia incluem amostradores ativos, amostragem contínua com métodos de química úmida, amostragem contínua com métodos ópticos e amostragem passiva. A continuação é descrita detalhadamente o sistema de amostragem passiva.

#### 1.4.1 Amostragem passiva difusa

Para amostragem de traços de poluentes nitrogenados transportados pelo ar, as técnicas de amostragem ativa e passiva (ou difusiva) são amplamente utilizadas. No entanto, a amostragem passiva geralmente fornece as concentrações médias ponderadas no tempo (TWA) de poluentes do ar, o que é difícil com técnicas de amostragem ativa/coleta. As concentrações de TWA são mais úteis do que as concentrações de curto prazo para avaliar os riscos dos poluentes do ar para os seres humanos, pois podem refletir a exposição a longo prazo. (NAMIEŚNIK et al., 2005; SEETHAPATHY; GORECKI; LI, 2008).

O princípio da amostragem passiva é a absorção de compostos em um cartucho descrito pela 1ª lei de difusão de Fick ( $F = -DdC/dx$ ), onde  $F$  é o fluxo,  $D$  é o coeficiente de difusão,  $C$  é a concentração e  $x$  é o comprimento do caminho de difusão.

Desde que um amostrador passivo foi introduzido no mercado pela primeira vez por Palmes e Gunnison (1973) para quantificar o óxido de nitrogênio, muitos amostradores estão disponíveis comercialmente como tubos Perkin-Elmer, cartuchos OVM, cartuchos SKC e Radiello. Alguns deles têm sido frequentemente empregados para quantificar poluentes atmosféricos e/ou avaliar a exposição humana. (BROWN; CRUMP, 1998; SVECOVA et al., 2012). No entanto, segundo Underhill e Feigley

(1991) e Oury et al. (2006) esses amostradores são vulneráveis a variações de fatores ambientais o que pode acarretar incertezas nas medições e as taxas de amostragem podem mudar.

#### 1.4.2 Preparo de amostra para análise de amônia

De modo geral, o preparo de amostras para a quantificação de analitos requer etapas de pré-tratamento preliminares, onde a maioria destas operações envolve procedimentos predominantemente físicos, como lavagem, secagem, moagem, peneiramento, refrigeração, agitação mecânica, ou simples polimento, dependendo do tipo de amostra. Assim, a preparação da amostra ainda é uma etapa crítica nos estudos analíticos. Diferentes autores concordam em que os objetivos principais do preparo da amostra são:

- ✓ Purificar a amostra;
- ✓ Aumentar a concentração dos analitos;
- ✓ Permitir a redução do efeito da matriz;
- ✓ Possivelmente, modificar a amostra para adaptá-la aos requisitos do instrumento (processo que pode consistir em derivatizar a amostra);
- ✓ Proteger o instrumento. Assim, em muitos casos é necessária uma etapa preliminar de isolamento/enriquecimento do analito antes da análise.

De acordo com Quigley, Cummins e Connolly (2016) dentro das etapas normais de concentração da amostra, a extração e o enriquecimento de analitos são normalmente feitos por extração em fase sólida (Solid phase extraction SPE) (MOKHTARI et al., 2021) ou extração líquido-líquido (LLE). No entanto, esses métodos apresentam de desvantagens, como o uso de grandes volumes de amostra e uso de quantidades significativas de solventes orgânicos, tornando-os prejudiciais ao médio ambiente. Além disso, podem ser técnicas onerosas devido a necessidade de compra de componentes necessários para o processo de extração, como cartuchos de SPE.

Neste cenário, com o intuito de facilitar e melhorar os processos de preparo de amostra, nos últimos anos, foram desenvolvidos métodos mais econômicos e eficientes, como por exemplo, os processos de extração miniaturizados. Entre estes, podem ser mencionados a microextração em fase sólida (Solid Phase Micro Extraction - SPME)<sup>5</sup> e a microextração em fase líquida (LPME).

A microextração em fase líquida (LPME) tem se tornado uma ferramenta cada vez mais importante para laboratórios de análises ambientais, farmacêuticas, alimentícias, clínicas e industriais. A LPME (também conhecida como microextração por solvente, SME) consiste em três modos principais de extração:

- Microextração de gota única (SDME)

---

<sup>5</sup> SPME consiste em um tubo capilar de sílica fundida de 100 µm de diâmetro e com a extremidade recoberta com um filme fino de um polímero ou de um sólido adsorvente

- Microextração de fase líquida de fibra oca (HF-LPME) e
- Microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME)

Em 2006 Rezaee et al. (2006) desenvolveu uma nova técnica de microextração denominada microextração líquido - líquido dispersiva (DLLME). Este protocolo consiste em injetar rapidamente uma mistura apropriada de solvente de extração e solvente dispersor na amostra aquosa por meio de uma seringa formando uma solução turva. A mistura resultante é constituída por finas partículas de solvente de extração que se encontram totalmente dispersas na fase aquosa. Após a centrifugação, as partículas finas do solvente de extração são sedimentadas. No desenvolvimento desta técnica de extração Rezaee et al. (2006) realizou a determinação de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs - polycyclic aromatic hydrocarbons) em amostras de água usando cromatografia gasosa (CG) com analisador de ionização de chama (CG-FID). Essa técnica tem sido utilizada para a determinação de diversos analitos, incluindo a amônia em explosivos. (KATILIE; SIMON; DEGREEFF, 2019)

As técnicas de microextração avançaram muito nos últimos anos, tentando otimizar cada vez mais os processos e especialmente no uso de componentes mais amigáveis ao meio ambiente. Diversos artigos de revisão já foram publicados, dedicados às tendências gerais e desenvolvimento de solventes eutéticos profundos naturais (pelas siglas no inglês Deep Eutetic Solvent – DES), tanto em sua composição, preparação, e propriedades, quanto em suas diversas aplicações como: nanotecnologia, materiais funcionais, síntese de biodiesel, biocatálise, eletroquímica, extração e separação. O DES também apresenta aplicações em reações orgânicas para a síntese de polímeros, reações catalisadas por lipase, reações orgânicas catalisadas e mediadas por metal, organocatálise, biotransformações e combinações organocatalisador/enzima em várias etapas, e como sistemas de solvente/catalisador sustentáveis em transformações orgânicas, catálise e síntese orgânica.

### 1.5 Uso de DES no pré-tratamento de amostras para análise de amônia

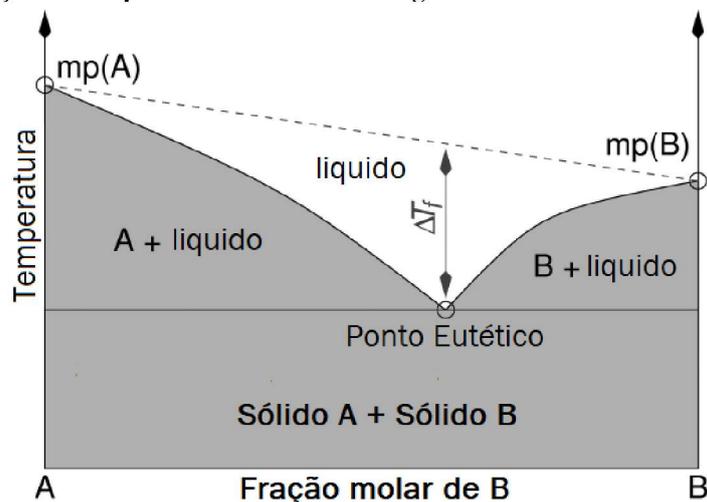
Martin et al. (2019) propuseram uma definição na qual um “solvente eutético profundo” é uma mistura de dois ou mais compostos puros para os quais a temperatura do ponto eutético está abaixo de uma mistura líquida ideal, apresentando desvios negativos significativos da idealidade (Figura 3). Eles inferem que a diminuição da temperatura deve ser tal que a mistura se torne líquida à temperatura de operação em uma certa faixa de composição. Misturas que não atendem estes critérios são denominadas somente solventes eutéticos.

DESs são sistemas formados a partir de uma mistura eutética de ácidos e bases de Lewis ou Brosted que podem conter uma variedade de espécies aniônicas e/ou catiônicas. Os DESs contêm íons grandes e não simétricos que têm baixa energia de rede e, portanto, baixos pontos de fusão. Abbott et al. (2004) foram os primeiros a usar o termo DES para descrever misturas de amidas com sais de amônio quaternário que tinham pontos de fusão muito mais baixos do que os de seus compostos puros, devido

à formação de um complexo entre um doador de ligação de hidrogênio (HBD) e um acceptor de ligação de hidrogênio (HBA) em uma proporção estequiométrica bem definida.

A diferença do ponto de congelamento na composição eutética de uma mistura binária dos compostos A + B em relação a uma mistura teórica ideal,  $\Delta T_f$ , está relacionada à magnitude da interação entre A e B. Quanto maior a interação; maior será  $\Delta T_f$ . Isso é mostrado esquematicamente na Figura 3.

**Figura 3: Representação de um ponto eutético em um diagrama de fases de dois componentes**



Fonte: Smith, Abbott e Ryder (2014)

Ruesgas-Ramón, Figueroa-Espinoza e Durand (2017) apresentam a importância dos DES em química analítica, enfatizando sua aplicação para microextração de analitos de matrizes complexas.

Quando os compostos que constituem os DES são metabólitos primários<sup>6</sup>, ou seja, aminoácidos, ácidos orgânicos, açúcares ou derivados da colina, os DES são chamados de Solventes Eutéticos Profundos Naturais (NADES). Os NADES são definidos como líquidos estáveis, sendo classificados em quatro grupos: derivados de ácidos orgânicos, derivados de cloreto de colina, misturas de açúcares e outras combinações.

Gutierrez et al. (2009) comprovaram que, embora o NADES pudesse ser preparado por métodos diferentes, estudos de espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) de <sup>1</sup>H mostraram o mesmo perfil químico para o NADES da mesma composição, o que está suportado por Dai et al. (2013). Os autores também propõem que o número de HBD ou HBA, a estrutura espacial desses grupos e a posição das ligações pareceram ter influência significativa na formação e estabilidade do NADES. Portanto, quanto maior a capacidade de ligação de hidrogênio das contrapartes mais acentuada é a diminuição do ponto de congelamento. No entanto, Espino et al. (2016) consideram que a força das ligações de

<sup>6</sup> Os metabólitos primários são aqueles compostos imprescindíveis ao desenvolvimento do vegetal, como as proteínas, os ácidos graxos, os polissacarídeos e a clorofila.

hidrogênio pode ser correlacionada com a temperatura de transição de fase, estabilidade e propriedades do solvente da respectiva mistura.

No 90% das misturas de DES usadas em todo o mundo é empregado cloreto de colina. Ruesgas-Ramón, Figueroa-Espinoza e Durand (2017) observaram que, independentemente do estado de agregação da amostra e do tipo de analito, o cloreto de colina (ChCl) atua como um aceitador da ligação de hidrogênio para a formação do DES na maioria dos procedimentos relatados. Eles concluíram em seu estudo que a aplicação do DES em química analítica ainda está em seus estágios iniciais. No entanto, o número de artigos publicados sobre o tema apresenta um aumento exponencial, tendo como foco, estudos comparativos que mostram que uma extração baseada em um DES é uma ferramenta analítica confiável com amplo potencial de aplicação em análises químicas para amostras líquidas e sólidas.

Choi et al. (2011) afirmaram que os NADES devem cumprir alguma função básica em células e organismos vivos. Esses compostos incluem açúcares, alguns aminoácidos, colina e alguns ácidos orgânicos, como ácido málico, ácido cítrico, ácido láctico e ácido succínico. Com exceção dos açúcares, os demais NADES estão presentes em quantidades tão grandes nos organismos vivos que não é correto considerá-los apenas como intermediários nas vias metabólicas. Segundo Choi et al. (2011) as células contêm duas fases fluidas imiscíveis (ou seja, água e lipídios), no entanto, as células contêm numerosos compostos de polaridade intermediária em altas concentrações que não se dissolvem na fase lipídica ou aquosa, portanto o NADES pode ser a terceira fase líquida em organismos em que certas etapas biossintéticas ou de armazenamento de produtos podem ocorrer e que podem explicar a proteção que certas células possuem.

## 1.6 NADES como meio de reação orgânico-verde

Segundo Espino et al. (2016) os NADES podem ser aplicados em diversas áreas de pesquisa, especialmente como solventes para extração e síntese, biocatálise, separações de gases, ciência dos materiais e eletroquímica. Os autores também mencionam aplicações do NADES na síntese orgânica, atuando como meio de reação e catalisador, bem como em transformações químicas, como reações de Diels-Alder, acoplamentos cruzados de Stille e Suzuki, além de reações de hidrogenação, mas também, foram bem-sucedidos como agentes plastificantes de polímeros no desenvolvimento de arquiteturas 3D de nanopartículas.

Um aspecto notável é que segundo Pawar, Jarag e Shankarling (2011) os NADES são excelentes solventes para uma ampla gama de substratos, proporcionando um meio biológico promissor e eficaz para reações.

Estudos publicados por Dai et al. (2013) demonstraram que os pigmentos naturais do cártamo eram mais estáveis em NADES à base de açúcar do que em água ou solução de etanol a 40%. No campo biomédico ou farmacêutico, foi relatada a possibilidade de preparar sistemas de liberação de medicamentos por Stott, Williams e Barry (1998) que descreveram a preparação de um sistema eutético

bioativo. Em 2016 Khandelwal, Tailor e Kumar (2016) apresenta uma revisão concentrada no uso de DES ambientalmente benigno e barato como solvente e catalisador no campo da química orgânica, destacando aplicações de transformação orgânica em solventes eutéticos profundos (DES) com ênfases em a síntese de compostos heterocíclicos em presença de DES como catalisador.

As vantagens do NADES como catalisador podem ser usadas para substituir catalisadores tóxicos como a piridina, um reagente convencional usado em reações de derivatização típicas de transformação de amônia e aminas em carbamatos.

## 1.7 DERIVATIZAÇÃO

A principal função do processo de derivatização química é utilizar uma série de mecanismos para transformar um analito, permitindo sua detecção por meio de técnicas cromatográficas, principalmente a cromatografia gasosa (CG). O analito modificado, nesse caso, é chamado de derivatizado. Embora o derivatizado possa ter uma estrutura semelhante ou intimamente relacionada à do composto químico original não modificado, sua volatilidade é essencial para a análise em CG. Os principais objetivos deste procedimento são:

1. Converter compostos polares ou não voláteis em produtos relativamente não polares ou voláteis
2. Melhorar a estabilidade térmica dos compostos alvo para que possam ser eluidos a temperaturas razoáveis sem decomposição térmica (KNAPP, 1979) ou reorganização molecular (KÜHNEL et al., 2007)
3. Aumentar a resposta do detector incorporando grupos funcionais que produzem sinais mais intensos.
4. Melhorar o desempenho da separação no CG

Pawliszyn (2012) relatou que maioria das reações de derivatização *são realizadas simultaneamente com a extração* e, portanto, são denominadas como *derivatização in situ*. O reagente de derivatização pode ser adicionado à solução de amostra (derivatização na amostra) ou incorporado no solvente de extração (derivatização em gota). Após a reação/extração, os produtos derivados são coletados e analisados. Essa abordagem *in situ* melhora o enriquecimento do analito e substitui o processo de várias etapas usada nos métodos convencionais de derivatização. A derivatização pré-extração é recomendada quando a reação requer um tempo prolongado, temperatura mais elevadas ou outras condições que não são compatíveis com a microextração simultânea. A extração é realizada após a conclusão da reação de derivatização.

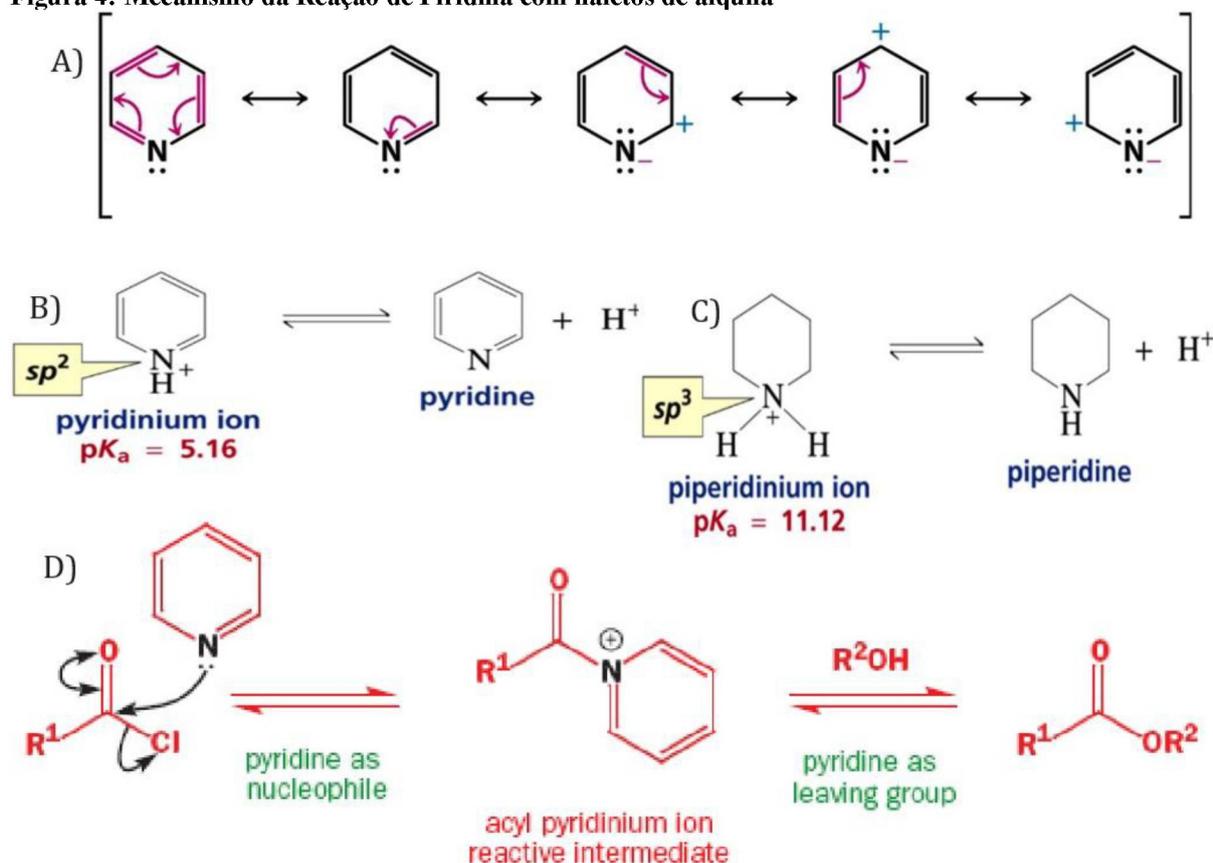
Para análise em CG, compostos contendo grupos funcionais com hidrogênios ativos como -SH, -OH, -NH e -COOH, são uma grande preocupação devido à tendência desses grupos funcionais de

formar ligações de hidrogênio intermoleculares (ZAIKIN; HALKET, 2003). Em geral, a derivatização tem como objetivo aprimorar os aspectos na cromatografia gasosa, como detectabilidade, eficiência analítica<sup>7, 8</sup>, e estabilidade. Kataoka (1996) listou diversos tipos de reações de derivatização para amônia, aminas e nitrosaminas, incluindo acilação, sililação, dinitrofenilação, permetilação, formação da base de Schiff, formação de Carbamatos, formação de sulfonamidas e formação de fosfoamidas.

Particularmente Hušek (1998) apresentou uma revisão abrangente das múltiplas aplicações das reações conhecidas como “formação de carbamatos”. Concluiu-se a partir dessa revisão que os cloroformatos com radicais alquila mais simples, como metil, etil ou isobutil, “se mostraram excepcionalmente rápidos como agentes de esterificação”, provavelmente devido ao menor impedimento estérico. Nesta reação, junto com o catalisador, também deve estar presente um álcool no meio, acompanhado de acetonitrila ou água, conforme a natureza dos compostos tratados.

Segundo Kostić et al. (2013) durante a reação de derivatização, na presença de piridina como catalisador, os grupos carboxílico e amino foram transformados em grupos éster e carbamato, respectivamente.

Figura 4: Mecanismo da Reação de Piridina com haletos de alquila



<sup>7</sup> Expressada como a resolução ( $R_s$ ) em função do Alargamento dos picos, onde  $Z$  é o comprimento entre dois picos e  $W$  a largura do pico na base:

$$^8 R_s = \frac{\Delta Z}{\frac{W}{2} + \frac{W}{2}} + \frac{2\Delta Z}{W+W}$$

O diagrama da Figura 4 ilustra o mecanismo de ação da piridina na formação de carbamatos. Na parte A) o anel aromático da piridina é deficiente em elétrons (em relação ao benzeno), enquanto que na parte B) da mesma Figura é mostrado como a piridina é uma base mais fraca que aminas alifáticas, assim na parte C) da Figura 4 o Íon piridínio mais ácido que o piperidínio: carga positiva em átomo de nitrogênio  $sp^2$ , desse jeito a piridina forma um íon reativo intermediário com o reagente derivatizante (cloro formatos de alquilo), como é ilustrado na parte D da Figura 4, por fim, acontece uma reação típica de Acilação da Piridina, denominada Catálise Nucleofílica, e no final da reação o intermediário reage com grupos álcoois para dar lugar a formação de carbamatos.

De acordo com Ferreira et al. (2013) os cloroformatos são utilizados tanto para a derivatização dos grupos  $-OH$  e  $-COOH$ , quanto para a determinação de aminas alifáticas. Também foram desenvolvidas aplicações envolvendo a determinação de aminoácidos, o que significa que a derivatização do grupo amino e do grupo ácido pode ser realizada simultaneamente.

As reações de derivatização usando a metodologia de acilação com Butil o iso Butil cloroformato (BuCF) foram usadas em diferentes trabalhos (KATILIE; SIMON; DEGREEFF, 2019; LUBRANO et al., 2016; PLOTKA-WASYLKA; SIMEONOV; NAMIEŚNIK, 2016; PARSHINTSEV et al., 2015; SZULEJKO; KIM, 2014; FERREIRA et al., 2013; KOSTÍČ et al., 2013). A diversidade de matrizes em que a derivatização com BuCF é aplicada é ampla, incluindo fluidos fisiológicos, soro, urina, sangue, entre outros (HUŠEK, 1998), além de tecidos humanos, explosivos, medicamentos, entre outros. A variedade de aplicações justifica a escolha da formação de carbamatos como metodologia para a derivatização de amônia no ar.

Os resultados ilustrados na Tabela 1 mostram que as concentrações no ar ambiente de amônia são tipicamente baixas. Portanto, a detecção de estes níveis traço utilizando CG-MS convencional é problemática devido ao baixo peso molecular da amônia, que a coloca nos limites de massa baixos dos MSs comuns, e à sua polaridade extrema, que é incompatível com fases comuns de baixa polaridade das colunas utilizadas no CG. Esses problemas foram resolvidos com a implementação de um processo de derivatização, que permite deslocar o comprimento de onda de absorção, reduzir a polaridade e a reatividade, e ajustar a volatilidade da amônia, tornando-a adequada para a análise por CG. Isso contribui para aumentar a sensibilidade e a seletividade e, conseqüentemente, reduzir o limite de quantificação, portanto, na metodologia desenvolvida nesta pesquisa, o processo de derivatização da amônia usando BuCF ou IBCF será implementado.

A implementação da etapa de derivatização para a determinação de amônia no ar ambiente apresenta como variáveis do processo o volume de derivatizante a ser empregado, as condições prévias da amostra (pH e Temperatura) para facilitar o processo de derivatização, o tipo de reagentes de extração e, é claro, o volume de derivatizante. Dado o grande número de variáveis envolvidas, será essencial considerar a otimização da metodologia a ser implementada. Portanto, procedimentos analíticos de triagem serão necessários para determinar o número de variáveis significativas, e a otimização dessas variáveis por meio de um planejamento fatorial, visando melhorar a sensibilidade da metodologia

analítica proposta. Como resultado, as etapas a serem desenvolvidas no planejamento fatorial serão descritas a seguir.

### 1.8 Experimentos para seleção de variáveis (triagem)

O estudo dos efeitos de muitas variáveis com um planejamento completo na otimização do método analítico possui limitações, principalmente devido ao número excessivo de experimentos. Neste caso, é recomendado o emprego de um planejamento fracionado, com uma triagem previa, dos fatores significativos a serem estudados com maior detalhamento.

No estudo de triagem, as interações entre as variáveis principais e de segunda ordem, normalmente obtidas por meio de planejamentos fatoriais fracionários, são de extrema importância para a compreensão do comportamento do sistema. A seguir será descrita mais em detalhe o planejamento fatorial fracionado como elemento fundamental para a triagem de variáveis.

#### 1.8.1 Planejamento fatorial fracionado

O planejamento fatorial completo de dois níveis requer a realização de  $2k$  ensaios, tornando sua principal desvantagem evidente: o grande número de ensaios necessários para cada fator adicionado ao estudo. No planejamento fatorial fracionado os efeitos de alta ordem, principalmente para planejamentos com  $k > 4$ , quase sempre não são significativos, tornando a realização de ensaios para estimar tais efeitos de interação irrelevante. Assim, com menos experimentos, é possível obter informações sobre os efeitos e chegar às mesmas conclusões que seriam obtidas com um planejamento completo na maioria das vezes.

Existem vários tipos de planejamentos fatoriais fracionários descritos na literatura, como frações  $1/2$ ,  $1/4$ ,  $1/8$ ,  $1/16$ ... $1/2^b$ . Durante o desenvolvimento de um planejamento fatorial fracionado o número de experimentos necessários é definido pela expressão  $n = 2^{k-x}$  em que  $k$  é o número de variáveis e  $x$  é o tamanho da fração. O tamanho da fração influenciará no possível número de efeitos a serem estimados e, conseqüentemente, no número de experimentos necessários.

#### 1.8.2 Planejamento fatorial com ponto central

Em muitos casos a realização de repetições autênticas pode ser algo inconveniente por diversas razões. Para contornar esta situação e obter uma boa estimativa dos erros, um experimento é normalmente incluído no centro do planejamento, em que o valor médio dos níveis de todas as variáveis é empregado, são chamados de experimentos no ponto central (nível zero). Deste modo, é possível avaliar a significância dos efeitos ou coeficientes, tanto em planejamentos de triagem (completos ou fracionários) como em metodologias de superfície de resposta. Outras vantagens incluem:

- ✓ Minimização do risco de perda da relação não linear entre os intervalos<sup>9</sup>, já que o ponto central força e centra os demais pontos, além de permitir a determinação do intervalo de confiança.
- ✓ Possibilidade de estimar um modelo razoável e verificar se há falta de ajuste, isso ocorre porque este planejamento varia três níveis de cada fator, não apenas dois, tornando possível verificar a falta de ajuste para um modelo linear, o que seria impossível com apenas dois níveis.

Após as etapas de triagem é necessário escolher qual planejamento usar para estimar a influência (o efeito) das diferentes variáveis no resultado. Entre essas opções, se tem o planejamento fatorial completo e o planejamento Doehlert, entre outros, que permitem otimizar a metodologia proposta, a continuação descrevemos cada um deles.

### 1.9 PLANEJAMENTO FATORIAL COMPLETO

De acordo com Ferreira (2015) o planejamento fatorial completo de dois níveis é uma das ferramentas quimiométricas mais empregadas para a otimização dos processos e/ou produtos. Ferreira (2015) define que no planejamento fatorial são investigadas as influências de todas as variáveis experimentais de interesse e os efeitos de interação na resposta ou respostas. Além disso, estabelece que as principais etapas desenvolvidas durante o processo de otimização multivariado são:

1. Seleção dos fatores envolvidos
2. Definição criteriosa do domínio
3. Avaliação preliminar dos fatores do processo (planejamento fatorial completo ou fracionado)
4. Aplicação da superfície de resposta (modelos quadráticos -Valores críticos)
5. Validação dos modelos

Se a combinação de  $k$  fatores é investigada em dois níveis, um planejamento fatorial completo consistirá em  $n = 2^k$  experimentos. Normalmente, os níveis dos fatores quantitativos (por exemplo volumes dos reagentes, concentrações de uma substância, valores de pH, etc.) são nomeados pelos sinais – (menos) para o nível mais baixo e + (mais) para o nível mais alto, porém o que importa é a relação inicial entre o sinal dado e o efeito obtido, não sendo um critério definido a nomeação dos sinais.

Os sinais para os efeitos de interação de segunda ordem, e de ordem superior, entre todas as variáveis do planejamento, são obtidos pelo produto dos sinais originais das variáveis envolvidas. Assim, é possível construir as colunas de sinais para todas as interações e, assim, elaborar a matriz de coeficientes. O efeito para a média de todas as observações é descrito na seguinte equação:

$$ef_{meio} = \frac{\sum_{i=1}^n y_i}{n}$$

---

<sup>9</sup> A soma dos desvios da média amostral de  $r$  réplicas é necessariamente zero. Isto requer que  $\sum(y_i - \tilde{y}) = 0$  constitua uma restrição linear nos desvios usados no cálculo de  $S_2$

Sendo  $n$  o número de ensaios e  $y_i$  observações individuais. O cálculo do efeito para as variáveis e interações usando a diferença entre as médias das observações no nível positivo ( $y_i(+)$ ) e as médias das observações no nível negativo ( $y_i(-)$ ), é descrito na equação:

$$ef_{meio} = \frac{\sum_{i=1}^{n/2} y_{i+} - \sum_{i=1}^{n/2} y_{i-}}{n/2}$$

### 1.10 Metodologia de Superfície de Resposta (MSR): Otimização

Após a realização dos experimentos de triagem, os fatores significativos são selecionados e uma metodologia de análise de superfícies de respostas pode ser executada para otimização do experimento. Neste contexto, otimizar significa encontrar os valores das variáveis que produzirão a melhor resposta desejada, ou seja, encontrar a região ótima na superfície definida pelos fatores. Segundo Ferreira (2015) a MSR envolve um conjunto de planejamentos experimentais e técnicas de regressão múltipla, onde os fatores estabelecidos influenciam a resposta. O objetivo final é o desenvolvimento, melhoria e otimização dos produtos ou processos. Durante a otimização, a caracterização da superfície de resposta é estabelecida mediante análise de um modelo polinomial, cuja derivatização permite obter os valores das variáveis independentes.

Um planejamento experimental construído para estimar coeficientes, de acordo com algum modelo aproximado, deve atender a certos critérios desejáveis, sendo os principais:

- ✓ Fornecer boas estimativas para todos os coeficientes, exigindo poucos experimentos;
- ✓ Permitir a avaliação dos coeficientes e do modelo, ou seja, da regressão e da falta de ajuste;
- ✓ Envolver matrizes nas quais todos os fatores (variáveis independentes) tenham um mínimo de três níveis, possibilitando assim a obtenção de condições críticas (pontos estacionários de máximo e mínimo) por meio da resolução matemática de um modelo quadrático.

Após a etapa de otimização das variáveis mediante o planejamento fatorial, serão realizadas as etapas que permitem estabelecer a idoneidade da metodologia analítica desenvolvida. A seguir serão descritas as etapas de validação da metodologia implementadas para determinação e identificação de amônia no ar.

### 1.11 VALIDAÇÃO DE TÉCNICAS ANALÍTICAS

A validação de um método analítico demonstra que um procedimento sistemático é adequado para o propósito pretendido. A metodologia e o objetivo dos procedimentos analíticos devem ser definidos e compreendidos antes de iniciar os estudos de validação. Esse entendimento é obtido a partir de estudos de otimização e desenvolvimento de métodos baseados em fundamentos científicos. De acordo com o Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia – (INMETRO) o documento que orienta a validação de métodos analíticos (ABNT NBR ISO/IEC 17025) (2020) apresenta quais métodos são adequados para o uso pretendido e os parâmetros que devem ser validados:

- ✓ Métodos não normalizados;
- ✓ Métodos criados/desenvolvidos pelo próprio laboratório;

- ✓ Métodos normalizados usados fora dos escopos para os quais foram projetados;
- ✓ Ampliações e modificações dos métodos normalizados.

Essas diretrizes (ABNT NBR ISO/IEC 17025) (2020) também apresentam três processos que devem ser levados em consideração no método de validação:

1. O processo de validação de um método deve ser descrito em um procedimento;
2. Os estudos devem ser realizados com equipamentos e instrumentos devidamente calibrados e validados;
3. O operador responsável pela condução dos estudos deve possuir proficiente na área de pesquisa.

As características típicas de validação listadas nas diretrizes são:

- ✓ Seletividade
- ✓ Linearidade / Faixa de trabalho / Faixa linear de trabalho / Sensibilidade
- ✓ Limite de detecção (LD)
- ✓ Limite de Quantificação (LQ)
- ✓ Tendência / Recuperação
- ✓ Precisão (repetibilidade, precisão intermediária e reprodutibilidade)

#### 1.11.1 Métodos normalizados e não normalizados

Métodos normalizados são aqueles desenvolvidos por uma organização de padronização ou outras organizações (por exemplo, ABNT, ASTM, ANSI ou APHA/AWWA/WEF), cujos métodos são aceitos pelo respectivo setor de tecnologia. O método não padronizado é aquele desenvolvido pelo próprio laboratório ou outras partes ou adaptado de métodos padronizados e validados. Isso pode incluir, métodos publicados em revistas técnicas, métodos de fabricantes de equipamentos e métodos que fazem uso de kits de teste e instrumentos portáteis.

Em resumo a metodologia analítica desenvolvida nesta pesquisa consiste em derivatizar quimicamente a amônia, após a coleta com amostrador passivo. Para isso, uma série de variáveis deverão ser consideradas. Esse conjunto considerável de variáveis torna necessário o uso de métodos quimiométricos para otimizar a técnica analítica. Dentro destes procedimentos uma triagem consistente em um planejamento fatorial fracionado, foi aplicada. Posteriormente foi determinada as variáveis mais significativas e seus valores críticos, com o planejamento Dohler. Com a metodologia otimizada, é necessário validar a metodologia analítica, incluindo a avaliação dos efeitos da matriz da amostra (filtro e solução absorvente) para estabelecer os parâmetros de desempenho analítico. Tendo os parâmetros de desempenho analítico, é possível aplicar a metodologia ao estudo de campo. As amostras foram coletadas e analisadas de acordo com a metodologia previamente validada. As especificações de cada uma das etapas desenvolvidas e dos objetivos planejados são descritas a continuação.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO PRINCIPAL**

Desenvolver um estudo experimental por CG-MS com o propósito de avaliar as concentrações de amônia no ambiente atmosférico urbano de Curitiba - Brasil.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- ✓ Avaliar os reagentes de derivatização utilizados na literatura para a determinação de amônia por análise de cromatografia gasosa com analisador de massa.
- ✓ Implementar a metodologia de micro extração líquido – líquido dispersiva (DLLME) para derivatização de amônia.
- ✓ Avaliação dos reagentes empregados na DLLME com o fim de substituir aquele que apresentem maior periculosidade e/ou impacto ambiental.
- ✓ Validar a metodologia analítica de forma ambientalmente sustentável, seguindo as diretrizes da guia INMETRO DOQ-CGCRE-008 Revisão 08 – ABR/2020.
- ✓ Aplicar a metodologia analítica mediante estudo piloto no centro Politécnico da UFPR, visando otimizar as etapas de amostragem com amostrador passivo e extração para a determinação de amônia (NH<sub>3</sub>).
- ✓ Avaliar os níveis de NH<sub>3</sub> na cidade de Curitiba por amostragem passiva.
- ✓ Investigar a influência das principais variáveis meteorológicas incidentes na UFPR - centro politécnico nos níveis de poluição atmosférica a partir da análise multivariada.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

As Figuras 5 e 6 resumem a metodologia desenvolvida para fazer determinação de amônia no ar ambiente. A *metodologia de referência* inicialmente adotada baseou-se em diversos artigos científicos, nos quais a amônia é derivatizada com butil ou isobutil cloroformate (BuCF ou IBCF) empregando como catalisador piridina (Pyr). Posteriormente, alguns dos reagentes tóxicos e/ou prejudiciais ao meio ambiente foram substituídos, para o qual foi tomada como *metodologia base* a proposta por Torbati et al. (2018). A esta etapa seguiu-se o desenvolvimento de procedimentos alternativos tanto de derivatização como de extração. A *metodologia proposta* envolveu a investigação de processos alternativos para derivatizar a amônia, e testes com reagentes alternativos de extração, com o objetivo de permitir sua posterior análise por cromatografia gasosa com analisador de massas.

Na Figura 6, descreve a *metodologia proposta*, na qual é utilizado um tipo de NADES como catalisador. Em seguida, diferentes solventes de extração foram testados. A otimização da metodologia concentrou-se exclusivamente no método que emprega NADES como catalisador e butanol (BuOH) como solvente de extração. Este último processo foi validado e testado em campo com um estudo piloto efetuado no campus do centro politécnico da UFRP em Curitiba, a Figura 6 descreve a etapas gerais necessárias para o desenvolvimento da metodologia analítica que permitiu a caracterização da amônia no ar.

Este documento descreve as etapas relacionadas tanto ao *método base* (Figura 5), como ao *método proposto* (Figura 6). O procedimento adotado para o método base foi baseado no trabalho desenvolvido por Torbati et al. (2018) que envolve a determinação de aminas aromáticas em amostras aquosas, mas foi aplicado diretamente às amostras de amônia.

Tanto o *método de referência*, o *método base* quanto o *método proposto* requerem a derivatização. Portanto, foram testadas diferentes metodologias de derivatização para amônia (Figura 5). No *método de referência*, a derivatização foi realizada com piridina (Pyr) como catalisador, enquanto no *método base*, o catalisador não foi definido. Os procedimentos testados permitiram desenvolver uma metodologia denominada “*metodologia proposta*”, na qual um solvente eutético profundo natural (NADES) foi usado como catalisador, estes procedimentos serão descritos na etapa de derivatização (Figura 5).

Após a derivatização da amônia, é necessário extrair o composto derivatizado. Inicialmente, para a derivatização com Pyr, foi usado clorofórmio ( $\text{CHCl}_3$ ) como solvente de extração. No entanto, devido as implicações toxicológicas dos reagentes, foram testadas solventes eutéticos profundos (DES) para a extração no método base, e posteriormente álcoois do tipo Decanol, até chegar ao butanol (BuOH). Para esta etapa foi implementada a técnica de micro extração líquido – líquido dispersiva (DLLME), na qual foram empregados diferentes solventes dispersores, variando de BuOH até chegar ao ar. A troca de solvente extrator foi definida como parte da implementação da técnica de DLLME.

Considerando o grande número de variáveis envolvidas na metodologia proposta, foi necessário, por tanto, estabelecer uma etapa de definição de variáveis que mais impactam na

determinação do produto derivatizado. Nesta etapa, a análise univariada foi empregada para avaliar variáveis como o tempo de reação, a necessidade do aquecimento, o pH e a influência da força iônica na extração.

A análise univariada permitiu fixar algumas variáveis e determinar a importância de outras. Em seguida, procedimentos quimiométricos foram aplicados para otimizar a metodologia analítica proposta. O ponto de partida foi um planejamento fatorial com o objetivo de identificar as variáveis de maior impacto na determinação de amônia e reduzir o número de variáveis a serem avaliadas. Assim, foi adotado um planejamento fatorial fracionado  $2^{n-1}$ , que permitem a triagem de variáveis, e a determinação de sua significância.

Posteriormente, as variáveis mais significativas do procedimento analítico foram otimizadas, utilizando um planejamento Doehlert<sup>10</sup>. Esse procedimento permitiu a determinação dos parâmetros críticos das variáveis mais significativas da metodologia analítica.

Uma vez estabelecidos os valores críticos das variáveis analíticas na metodologia proposta, foi possível avariar os parâmetros de desempenho analítico da *metodologia proposta*, seguindo a recomendações do documento INMETRO DOQ-CGCRE-008 04/2020, que estabelece as orientações sobre validação de métodos analíticos.

Após a definição dos parâmetros de desempenho analítico da metodologia proposta, está pode ser aplicada em campo, para o qual, foram otimizadas as condições de amostragem em campo, utilizando amostradores passivos desenvolvidos em laboratório do grupo de química ambiental (GQA). Esses amostradores passivos foram instalados para seu ajuste e otimização no centro politécnico da UFPR.

Com as condições de operação dos amostradores passivos otimizadas e ajustadas, eles foram instalados nos locais de amostragem por períodos de sete dias. Após a coleta, as amostras foram transportadas para o laboratório e armazenadas a 4°C. Em seguida, a amônia foi extraída com água Milli-Q o mais rápido possível. (Figura 6)

Uma vez aplicado o procedimento analítico às amostras coletadas em campo, os resultados foram analisados utilizando ferramentas quimiométricas, como a análise de Componentes Principais (PCA), para estabelecer a relação e/ou influência sobre as concentrações de amônia dos parâmetros ambientais, incluindo velocidade e direção do vento, temperatura ambiente, umidade relativa do ar, precipitação entre outros. Esses dados foram tomados da estação meteorológica do SIMEPAR localizada no centro politécnico.

A seguir se descreve detalhadamente cada uma das etapas da metodologia seguida para a determinação da amônia no ar ambiente de Curitiba.

---

<sup>10</sup> O planejamento Doehlert tem uma grande mobilidade pelo domínio experimental.

Figura 5: Fluxograma da metodologia de derivatização e extração da  $\text{NH}_3$ .

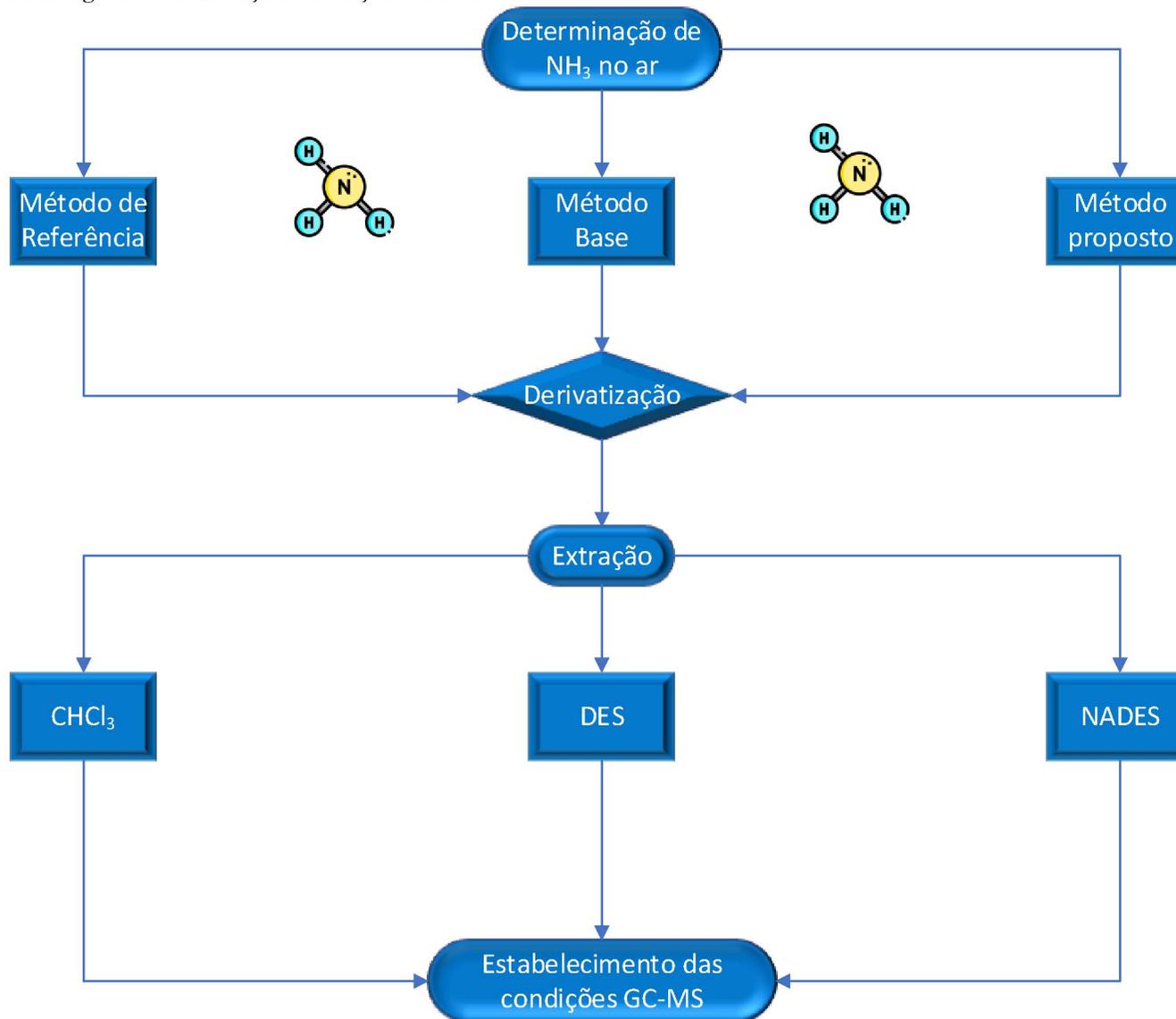
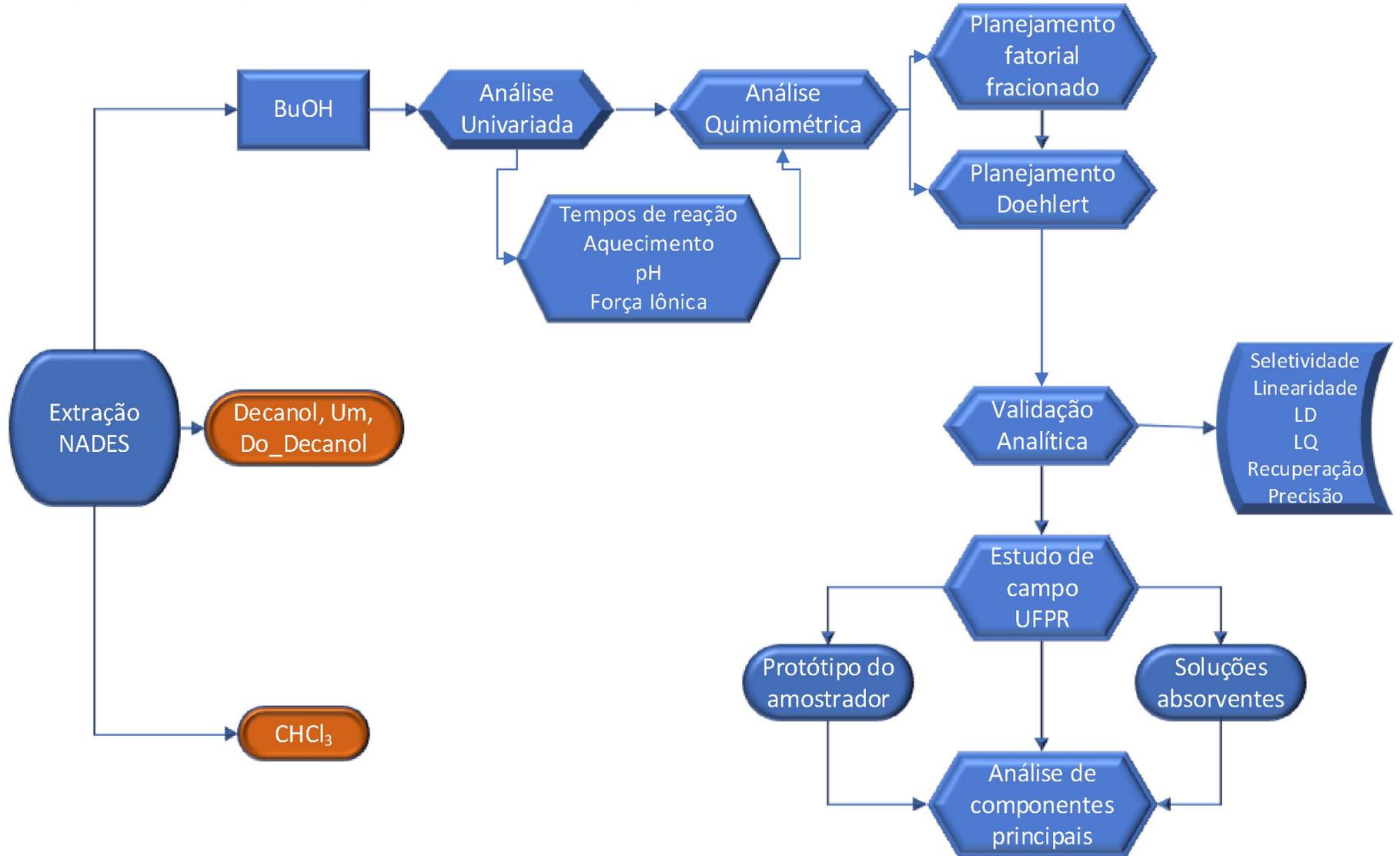


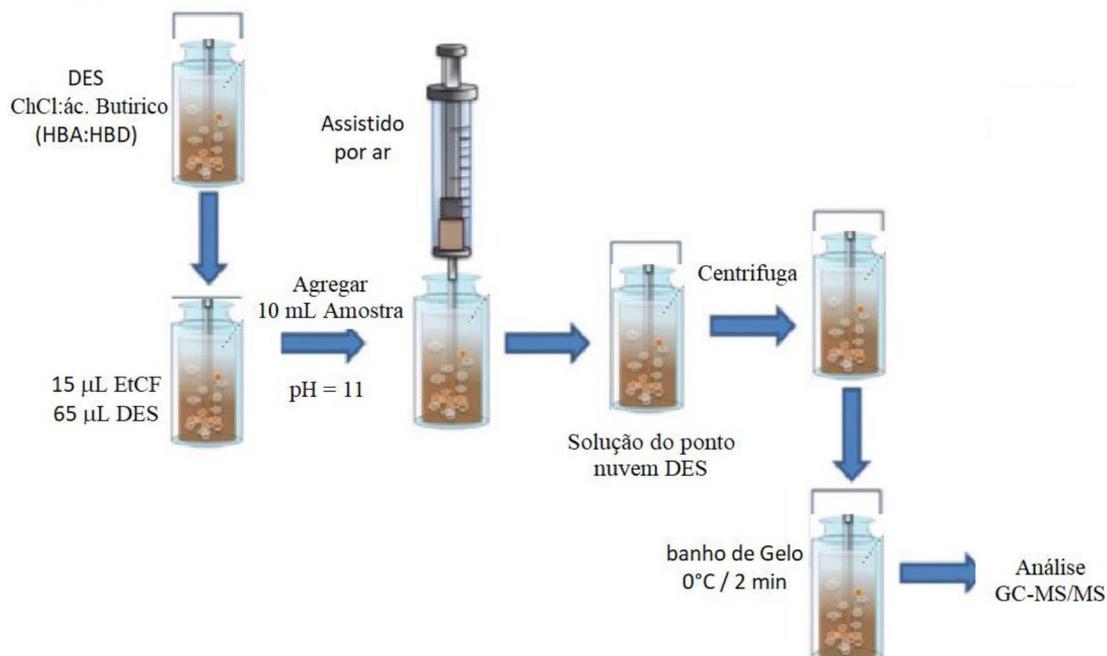
Figura 6: Fluxograma da metodologia de otimização do método e estudo de campo da  $\text{NH}_3$ .



### 3.1 Método Base: Derivatização de Amônia empregando DES como catalisador

Na Figura 7, apresenta a metodologia do trabalho de Torbati et al. (2018), na qual foi considerada como *metodologia base* devido as vantagens, como a redução do consumo de reagentes e a substituição do clorofórmio, por um solvente eutético profundo de mínimos efeitos ambientais. A seguir, se descreve está metodologia em detalhes.

**Figura 7: Metodologia de derivatização - AA-DLLME e solidificação de DES analisado por CG-MS para Aminas Aromáticas**



Fonte: Adaptado de Torbati et al. 2018

Na metodologia de Torbati et al. (2018) (Figura 7) foram testadas as seguintes variáveis:

1. Três diferentes solventes eutéticos
2. O método foi otimizado em função do pH da amostra (pH=11)
4. Temperatura da fase aquosa (50°C)
5. Estudo da força iônica
6. Otimização do número de injeções de ar
7. Volume de derivatizante (Etil Cloroformato (EtCF))
8. Volume de solvente eutético

As condições estabelecidas no estudo de Torbati foram adotadas como *base* para o uso na presente pesquisa. Portanto, foram estabelecidos os parâmetros analíticos a serem fixados: o volume da amostra e o número de injeções de ar na dispersão. Considerando um número significativo de variáveis de estudo, foi proposta uma análise univariada inicial para definir as variáveis mais significativas, mas previamente devia-se estabelecer as condições operacionais do cromatógrafo de gases que permitem identificar o analito derivatizado.

### 3.2 ESTABELECIMENTO DAS CONDIÇÕES OPERACIONAIS DO CG-MS

As condições cromatográficas foram estabelecidas para a separação dos compostos utilizando o método de catálise com DES estão apresentadas na Tabela 2 e 3. Foram usadas para a presente etapa um cromatógrafo gasoso Shimadzu GC-2010 Plus que tem um analisador de massas triple quadrupolo GCMS-TQ8040. para o CG foi empregada uma coluna capilar SUPELCO SLB-5 MS (30 m. x 0.25 mm. X 0.25  $\mu\text{m}$ ) e não foi aplicado Split.

**Tabela 2: Parâmetros CG MS**

Parâmetro CG		Temperatura MS (°C)		Controle MS	
Vazão total	35 L min <sup>-1</sup>	Fonte de íons	230	Tempo Início	4,15 min
Vazão na coluna	0,84 mL min <sup>-1</sup>	Interface CG e MS	280	Tempo Final	6,1 min
Velocidade linear	33,8 cm seg <sup>-1</sup>	Corte Solvente	3,65 min	Modo de aquisição	SIM
Vazão de Purga	3,0 mL min <sup>-1</sup>			Relação <i>m/z</i>	62, 44, 56

**Tabela 3: Programa de aquecimento do forno no CG**

Etapa	Razão (°C min <sup>-1</sup> )	Temperatura (°C)	Permanência
1	0	80	1,0
2	20	230	5,0
3	25	280	5,0

As Tabelas 2 e 3 apresentam as condições cromatográficas de análise, para o qual foi necessário fazer mudanças nos parâmetros cromatográficos. Esses ajustes permitiram uma separação adequada dos picos, juntamente com melhoras na sensibilidade do pico do butil carbamato formado, as mudanças aconteceram nos seguintes parâmetros no cromatógrafo:

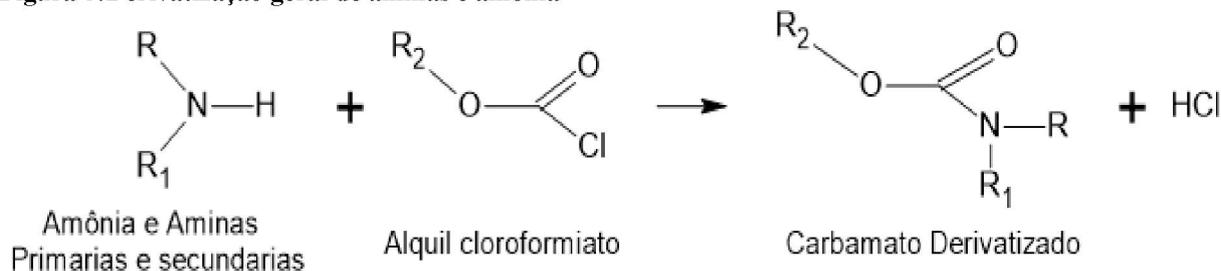
- ✓ Temperatura do início do forno
- ✓ Pressão do sistema
- ✓ Vazão Total do sistema
- ✓ Vazão da coluna
- ✓ Razão de divisão (Split Ratio)
- ✓ Condições de pressão na injeção
- ✓ Programação de esquentamento do forno

### 3.3 DERIVATIZAÇÃO DA AMÔNIA E EXTRAÇÃO POR DLLME

O processo de derivatização foi avaliado considerando as diversas variáveis, incluindo os solventes de extração e dispersão, o volume dos solventes, o tipo e volume de derivatizante e o tempo de extração e derivatização. Uma das variáveis a serem avaliadas é o tempo de derivatização, também conhecido como tempo de reação. Este corresponde ao período em que a reação de derivatização atinge

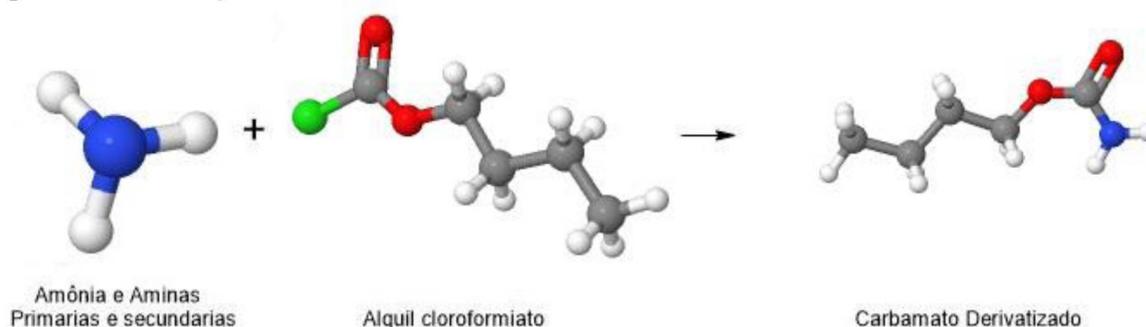
a maior conversão do composto derivatizado. Isso ocorre uma vez que o reagente derivatizante é adicionado e homogeneizado no tubo de reação, como é descrito nas Figuras 8 e 9.

**Figura 8: Derivatização geral de aminas e amônia**



FONTE: Ferreira et al. (2013)

**Figura 9: Derivatização de amônia**



Inicialmente, foi considerada a função do DES como solvente de extração, utilizando a mistura de cloreto de colina (ChCl) e ácido butírico na proporção 1:1, conforme proposto na metodologia de Torbati (Figura 7). Foram realizados testes com tempos de reação (derivatização) iniciais de 15, 20 e 30 minutos. Além disso, testes foram conduzidos em tempos de reação de 5, 10, 15, 20, 30, 60, 120 e 180 minutos em triplicata, a fim de otimizar o tempo total de derivatização do desenho experimental univariado. A avaliação de cada tempo foi comparada usando o teste *F* para determinar se existem diferenças significativas entre os diferentes tempos.

A metodologia DLLME envolve o uso de solvente dispersor, sendo que, normalmente são utilizados álcoois. Portanto, foram realizados testes com padrões da mesma concentração de amônia, mas com diferente solvente dispersor; incluindo metanol (MeOH) e Butanol (BuOH). Além disso foi testada a metodologia proposta por Torbati que sugere o uso de ar para a dispersão (Micro-extração líquido - líquido dispersiva assistida por ar (AA-DLLME)).

### 3.4 Micro extração líquido-líquido assistida por ar e com solvente Extrator NADES

Com o objetivo de substituir o clorofórmio, foi empregada a metodologia proposta por Torbati et al. (2018). Nesse estudo, o butanol foi substituído por ar como meio dispersor e o clorofórmio foi

substituído por uma mistura eutética de cloreto de colina (ChCl)- Ac. Butírico. Nesta etapa a mistura da amostra com o derivatizante é sugada com seringa de 10 mL, e injetada repetidas vezes no mesmo vaio, tendo a amostra contato com ar.

### 3.5 Análise univariada

#### 3.5.1 Testes com diferentes tempos de reação na derivatização

Considerando os resultados obtidos com a metodologia de derivatização empregando piridina como catalisador e clorofórmio como extrator, na qual foi otimizado o tempo de reação para 2 horas, foram proposto tempos de reação (iguais a 1/2, 1, 2 e 3 horas) para determinar o tempo mais adequado para alcançar a máxima eficiência na derivatização. Esses testes foram realizados mantendo constantes os volumes de derivatizante e extrator, bem como as condições do processo.

#### 3.5.2 Metodologia proposta após troca de solvente extrator.

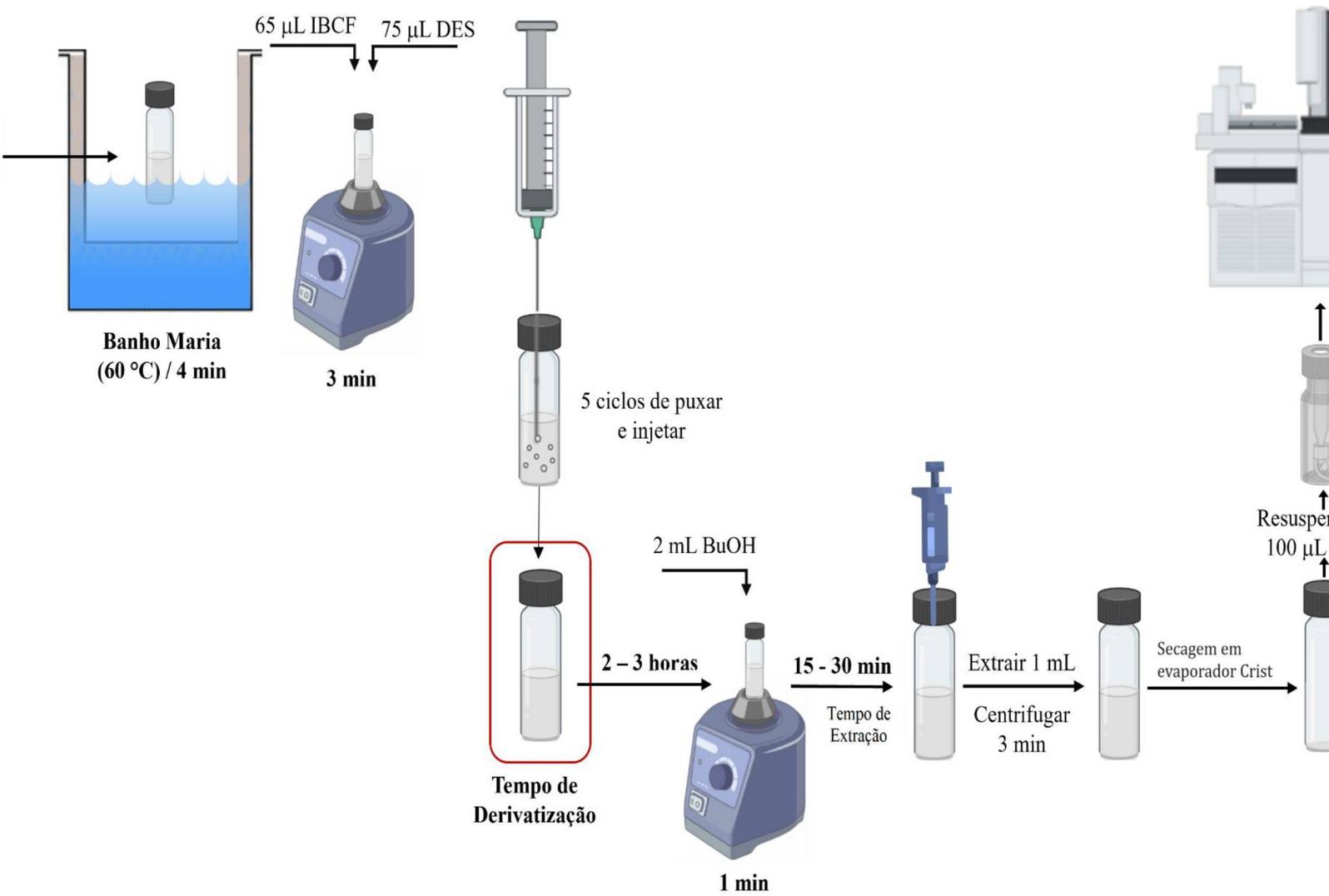
A Figura 10 ilustra o diagrama da metodologia proposta após ajustes e troca de solvente. Nessa metodologia, as etapas iniciais foram baseadas no procedimento estabelecido por Torbati et al. (2018), com modificações no solvente eutético. Inicialmente, foram realizados testes com decanol, undecanol e dodecanol como solventes extratores, entretanto, estes foram substituídos devido a problemas de residualidade na coluna cromatográfica. Finalmente, o procedimento de extração foi realizado com base o artigo de Leça et al. (2018), substituindo o solvente e ajustando volume do solvente extrator. A técnica de extração líquido-líquido miniaturizada (mLLE) foi empregada, utilizando BuOH devido a sua boa separação de fase. Sob estas condições foram testados diferentes tempos de aquecimento e de homogeneização em vórtex para a síntese do solvente eutético profundo, portanto, a continuação se descreve a síntese do DES.

#### 3.5.3 Síntese de solvente Eutético profundo (DES) Xilitol – Ác. Málico

A síntese do solvente eutético profundo DES foi conduzida conforme o procedimento estabelecido por Torbati et al. (2018). Nesse método, foi misturado um aceitador de ligações de hidrogênio (HBA)(do inglês Hydrogen bond acceptor) e um doador de ligações de hidrogênio (HBD)(do inglês Hydrogen Bond Donor), neste caso Cloreto de colina, Xilitol são o HBA e Ácido butírico, ácido málico são HBD. Esses componentes foram combinados com uma pequena proporção de água e aquecido em banho maria para facilitar a homogeneização.

Os componentes da mistura foram pesados em balança analítica diretamente em tubos de 20 mL com tampa de rosca. Em seguida, os tubos foram devidamente vedados e colocados em banho maria a 90°C. Após 30 min, os tubos foram agitados em vórtex por 4 min e, em seguida, retornados ao banho maria. Esse ciclo de aquecimento/agitação foi repetido até que líquidos homogêneos (DES) fossem obtidos. Misturas independentes de ChCl:Ác. butírico e de xilitol: Ác. Málico foram obtidas e testadas.

**Método com uso de DES como catalisador e BuOH como extrator**



### 3.5.4 Caracterização do solvente eutético profundo (DES) Xilitol – Ác. málico

Os componentes individuais e o NADES, foram caracterizados utilizando ressonância magnética nuclear (RMN) em um equipamento da marca Bruker, que opera com campo magnético de 9,4 Tesla. Isso ocorreu no laboratório de ressonância magnética nuclear do departamento de Química da UFPR, com uso de água deuterada como solvente ( $H_2O+D_2O$ ). Para obter um espectro definido do solvente eutético foi necessário preparar diluições do DES na proporção de 100:1000.

### 3.5.5 Testes com e sem aquecimento de amostra antes da derivatização

Nesta etapa do procedimento, foram realizados testes com o objetivo de determinar a importância do aquecimento no procedimento de derivatização e se o aquecimento em banho maria é necessário. A mudança dos reagentes (ar, DES e BuOH) exigiu a revalidação do tempo de reação no processo de derivatização. Portanto, essa variável deve ser reavaliada. Além disso, procedimentos reconhecidos que melhoram a extração dos analitos também foram testados. A seguir, descreve-se os testes realizados para estabelecer os tempos de reação e a necessidade de etapas adicionais na extração (força iônica e centrifugação).

### 3.5.6 Testes com diferentes pH da amostra

Com o objetivo de avaliar a importância de ajustar o pH da amostra prévio ao processo de derivatização, foram preparados padrões de amônia de  $10\text{ mg L}^{-1}$ . Cada uma das amostras foi tratada com NaOH  $0,1\text{ mol L}^{-1}$  hasta ajustar o pH a 7,0, 9,0 e 11,0. Todas as amostras foram aquecidas por 4 minutos em banho maria, todas elas foram dosificadas com  $65\text{ }\mu\text{L}$  de DES,  $15\text{ }\mu\text{L}$  de BuCF, agitadas por 1 min, foi injetado ar cinco vezes, submetidas a reação por 2 horas, extraídas com  $600\text{ }\mu\text{L}$  de BuOH, por 30 minutos, centrifugadas a 5000 rpm e, finalmente,  $300\text{ }\mu\text{L}$  do extrato sobrenadante foram transferidos a um *insert* para sua injeção em CG-MS.

### 3.5.7 Testes com diferentes forças iônicas e com e sem centrifugação na extração

No procedimento estabelecido por Torbati et al. (2018) para determinação de amins aromáticas, a centrifugação foi necessária para melhorar a extração dos compostos derivatizados após solidificação. Além disso, os autores também variaram a força iônica para otimizar a extração. Portanto, nesta pesquisa, essas variáveis foram testadas simultaneamente da seguinte maneira:

- A. Teste com sal e com centrifugação;
- B. Teste sem sal, mas com centrifugação;
- C. Teste sem sal, e sem centrifugação.

O objetivo era otimizar o método analítico, avaliando as variáveis que mostraram maior efeito na área do pico obtido no cromatograma resultante da análise cromatográfica. Esta etapa é crítica pois o número de variáveis determina a quantidade de experimentos necessários para a otimização

multivariada do método analítico, para isso se emprega a metodologia de planejamento fatorial que é descrita a continuação.

### 3.6 Triagem de variáveis: Planejamento fatorial fracionado.

Com base nas conclusões obtidas no artigo de Torbati et al. (2018), as seguintes variáveis foram otimizadas:

- ✓ Seleção de um solvente eutético profundo (DES):
  1. ChCl: Ác. Butírico,
  2. ChCl: Ác. Oxálico e
  3. Xilitol: Ác. Málico.
- ✓ Volume de derivatizante (BuCF ou IBCF): (65 - 85  $\mu$ L)
- ✓ Número de extrações: Foram testadas desde 4 até 7.
- ✓ Estudo da influência da força iônica: Testando a adição de 0% e 10% de cloreto de sódio (0,5%)
- ✓ Efeito do pH: Análise de amostras ajustadas previamente a pH 9,0; 9,5; 10,0; 10,5; 11,0; 11,5 e 12,0 para determinar a influência do pH da amostra na derivatização.

No caso do DES Xilitol – Acido Málico – Água, a proporção do Xilitol, ácido málico e água na mistura eutética foi outra variável otimizada na derivatização. O volume de DES e o volume de derivatizante (IBCF) também foram variáveis a serem otimizadas. O número de extrações foi mantido em 5. Portanto, foram definidas cinco variáveis no processo:

- 1) pH da amostra antes da etapa de derivatização,
- 2) Volume do solvente eutético natural (NADES),
- 3) Tempo de derivatização,
- 4) Volume de solvente extrator (BuOH), e
- 5) Tempo de extração.

Essas variáveis foram testadas usando um planejamento fatorial fracionado  $n^{5-1}$ , conforme mostrado na Tabela 4. Com isso, definiu-se uma etapa de otimização das variáveis, que consistiu na realização de um procedimento quimiométrico denominado planejamento fatorial fracionado ( $n = 2^{k-x}$ ), em que  $n$  representa o número de experimentos, “ $k$ ” o número de fatores investigados e “ $x$ ” refere-se à redução de experimentos. Para ilustrar, considerando 5 fatores (variáveis) e 1 fator de redução se tem  $n = 2^{5-1} = 16$ . Com duas réplicas de cada amostra, isso implica na realização de 32 experimentos, permitindo a identificação das variáveis mais significativas. O detalhamento do planejamento encontra-

se na Tabela 4, em ela a geratriz utilizada foi  $(-1234)5$ , onde a quinta variável foi obtida pela multiplicação negativa das variáveis 1, 2, 3 e 4 ( $2^{5-1}$ ), <sup>11</sup>.

**Tabela 4: Triagem - Planejamento Fatorial Fracionado  $n^{5-1}$ .**

Experim.	pH	Vo DES (mL)	t Derivat (min)	Vo Extrat (mL)	t Extraç (min)
1	-1	-1	1	-1	1
2	1	-1	1	-1	-1
3	-1	1	1	-1	-1
4	1	1	1	-1	1
5	-1	-1	-1	-1	-1
6	1	-1	-1	-1	1
7	-1	1	-1	-1	1
8	1	1	-1	-1	-1
9	-1	-1	1	1	-1
10	1	-1	1	1	1
11	-1	1	1	1	1
12	1	1	1	1	-1
13	-1	-1	-1	1	1
14	1	-1	-1	1	-1
15	-1	1	-1	1	-1
16	1	1	-1	1	1

### 3.7 Validação da metodologia analítica.

De acordo com a orientação para validação de métodos analíticos de INMETRO (ABNT NBR ISO/IEC 17025) de 2020 (GUIDELINE, 2005), estabeleceram-se os seguintes parâmetros.

#### 3.7.1 Seletividade – Efeito matriz

Seletividade é a capacidade do método de quantificar o analito na presença de outros analitos, matriz ou de outro material potencialmente interferentes. A Tabela 2 do documento de guias de validação de INMETRO Acreditação (2020) no item b, se determina que a seletividade pode ser avaliada como: “Analisar amostras contendo vários possíveis interferentes na presença do analito de interesse”. Ou seja, A matriz da amostra pode conter componentes que interferem no desempenho da medição. Podendo aumentar ou reduzir o sinal e, conseqüentemente, impactar o resultado. A magnitude desse efeito pode variar com a concentração.

Portanto, foi necessário verificar a existência de efeito de matriz, o qual foi avaliado considerando a matriz da amostra composta por filtro de papel celulose embebido com mistura de Ácido Oxálico/glicerol. Os estudos de efeito matriz foram conduzidos preparando dois grupos de amostras de

<sup>11</sup> Planejamentos de resolução V: nenhum efeito principal ou interação de segunda ordem estão associados com qualquer outro efeito principal ou interações de segunda ordem, porém interações de segunda ordem estão associadas com interações de terceira ordem. Exemplo: fatorial  $2^{5-1}$ .

teste, um com matriz e outro sem matriz, ambos com concentrações idênticas do analito em cada nível de concentração de interesse.

De acordo com as recomendações para repetibilidade (item 10.2.6.1) documento INMETRO DOQ-Cgcre-8-2020 q estabelece um número recomendado de repetições entre 6 e 15, foram preparados 3 níveis de concentração com 7 réplicas por nível (padrões de amônia em três níveis de concentração (baixa (0,001), média (0,080) e alta (1,000 mg L<sup>-1</sup>)). Para cada replica de cada nível de concentração, foi determinado a presença de dados anômalos (outliers) aplicando o teste de Grubs (G calculado) e o teste de Dixon (Q calculado). Esses valores foram comparados com o valor crítico para um 95% de confiança. Além disso, para cada nível de concentração foram calculadas as variâncias das amostras com matriz e sem matriz e avaliadas com o teste *F* e o teste *t*, com o objetivo de comparar o valor de  $F_{\text{calculado}}$ , em relação ao  $F_{\text{tabelado}}$  e assim, determinar a homoscedasticidade e, conseqüentemente a seletividade do método analítico. O teste *t* (Student) é utilizado em seguida do teste *F* para verificar se as médias dos resultados de dois métodos podem ser consideradas estatisticamente iguais. A seguir se descreve as equações de cálculo de cada teste.

$$Q_{\text{calculado}} = \frac{|\text{Valor suspeito} - \text{valor proximo}|}{|\text{maior valor} - \text{menor valor}|}$$

$$G_{\text{calculado}} = \frac{|\text{Valor suspeito} - \bar{x}|}{s}$$

$$t_{\text{calculado}} = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{s \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

$$F_{\text{calculado}} = \frac{S_{\text{maior}}^2}{S_{\text{menor}}^2}$$

### 3.7.2 Linearidade / Sensibilidade

Linearidade de um procedimento analítico se refere à sua capacidade, dentro de uma determinada faixa, de fornecer resultados diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra (GUIDELINE, 2005). Portanto, a linearidade foi avaliada construindo uma curva analítica na faixa 1,00 10<sup>-3</sup> mg L<sup>-1</sup> até 1,00 mg L<sup>-1</sup>, com triplicata em cada ponto. Os parâmetros faixa de trabalho e sensibilidade serão determinados a partir dos dados obtidos da curva analítica. A equação da reta que relaciona a concentração e a área do pico cromatográfico é:

$$y = a + bx \tag{3.5}$$

Antes de fazer a regressão linear, foi ser verificada a ausência de valores anômalos (outliers) em cada nível de concentração e a homoscedasticidade (igualdade das variâncias) dos dados.

Após a determinação da homoscedasticidade, foram calculados os coeficientes do modelo da regressão linear simples, bem como os resíduos <sup>12</sup>. Em seguida, os resíduos foram avaliados para verificar a adequação da regressão linear. Os resíduos foram representados graficamente para observar qualquer tendência no gráfico de resíduos, o que poderia indicar a inadequação no modelo linear.

### 3.7.3 Limite de detecção (LD)

O limite de detecção (LD) de um procedimento analítico é a menor quantidade do analito na amostra que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada sob as condições estabelecidas para o ensaio. Assim, o LD foi estimado a partir da curva analítica, (Item 10.2.3.3 do Acreditação (2020)) utilizando as equações (6 ou 7):

$$LD = 3,3 \frac{s}{b} \quad (6)$$

Onde:

$s$  = desvio padrão da resposta do branco

$b$  = inclinação (coeficiente angular) da curva analítica

$$LD = \bar{X} \cdot t_{(n-1, 1-\alpha)} \cdot s \quad (7)$$

Onde:

$s$  = desvio padrão da resposta do branco analítico;

$t$  = valor de  $t$  de Student tabelado, dependente do tamanho da amostra e do grau de confiança;

$\bar{X}$ : média dos valores dos brancos da amostra;

### 3.7.4 Limite de Quantificação (LQ)

O limite de quantificação (LQ) de um procedimento analítico individual é a menor quantidade do analito na amostra que pode ser quantitativamente determinada com precisão e exatidão aceitáveis (ICH, 2005). Na prática, corresponde normalmente ao padrão de calibração de menor concentração. Assim o LQ foi calculado a partir da curva analítica, (Item 10.2.4.3 do Acreditação (2020)) pela equação (8):

$$LQ = 10 \cdot \frac{s}{b} \quad (8)$$

Onde:

$s$ : desvio padrão da resposta do branco;

$b$ : coeficiente angular da curva analítica

Para verificar este valor, o LQ experimental foi determinado preparando 11 padrões de concentração  $1 \cdot 10^{-3} \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ . A avaliação de cada ponto foi realizada por meio do teste Q, e a análise da

---

<sup>12</sup> residuo é a diferença entre o valor observado e o valor calculado pela equação da reta de regressão para cada valor de  $x$

variância dos dados foi feita calculando o desvio padrão relativo (RSD). Os dados obtidos para cada replicação foram submetidos ao teste Q com o fim de estabelecer se se tem dados anômalos, uma vez verificado que não existem dados anômalos se procede a determinar para o conjunto de dados o teste  $\{t\}$  para um 95% de confiança (duas caudas) e com n-1 graus de liberdade (neste caso 11-1=10) e de esta maneira comparar com o valor tabelado, finalmente foi determinado a análise da variância dos dados achados mediante o cálculo de desvio padrão relativo (DPR).

### 3.7.5 Recuperação

Este teste foi conduzido por meio de ensaios de recuperação<sup>13</sup>. Nesse caso à matriz de análise (Filtro de celulose impregnado com mistura ácido oxálico/glicerol) foram enriquecidas com padrões analíticos ( $1,00 \cdot 10^{-3}$ ,  $8,00 \cdot 10^{-2}$  e  $1,00 \text{ mg L}^{-1}$ ) e os resultados serão avaliados com base na massa teórica adicionada (fortificada) e determinada a partir da curva analítica, assim:

$$\text{Recuperação} = \left( \frac{C_1 - C_2}{C_3} \right) * 100 \quad (9)$$

Onde:

C<sub>1</sub>: Concentração do analito na amostra fortificada;

C<sub>2</sub>: Concentração do analito na amostra não fortificada;

C<sub>3</sub>: Concentração do analito adicionado à amostra fortificada;

Os critérios de aceitação para recuperação seguiram as orientações normativas da legislação aplicável sugeridas pela AOAC e definidas na Tabela 5 das guias INMETRO (Item 10.2.5.2 do Acreditação (2020)).

Nesta pesquisa, empregou-se uma metodologia comumente utilizada para determinar a recuperação. Esta metodologia envolve a realização de ensaios de recuperação em três níveis diferentes de concentração, para isso foram enriquecidos com padrões analíticos de amônia nas concentrações estabelecidas na Tabela 5.

**Tabela 5: Testes de recuperação**

Padrão (NH <sub>3</sub> ) mg · L <sup>-1</sup>	Padrão de Coleta mg · L <sup>-1</sup>	Volume Enriquecido μL	Massa Inicial (μg)
0,001	1,00	100	0,1
0,080	100,0	80	8,0
1,000	1000,0	100	100,0

Os filtros para os testes de recuperação foram preparados seguindo o mesmo procedimento realizado para as amostras de campo.

<sup>13</sup> Segundo INMETRO 10,2,5,2: *A recuperação do analito pode ser estimada pela análise de amostras fortificadas com quantidades conhecidas do mesmo (spike). As amostras podem ser fortificadas com o analito em pelo menos três diferentes concentrações (baixa, média e alta) da faixa de uso do método*

### 3.7.6 Precisão (repetibilidade)

Existem três maneiras comuns de expressar a precisão: repetibilidade, precisão intermediária e reprodutibilidade, geralmente expressas em termos de desvio padrão e coeficiente de variação. O coeficiente de variação (CV, usualmente expresso em %), também conhecido como desvio padrão relativo (DPR) (Ou RSD pelas siglas no inglês), é calculado conforme a equação 10.

$$CV = DPR = \frac{s}{\bar{X}} * 100 \quad (10)$$

Sendo:

$s$  é o desvio padrão;

$\bar{X}$  é a concentração média determinada.

Uma vez validado o método analítico, é possível considerar a realização do estudo de campo para determinação da amônia no ar ambiente. Nesse contexto, foi considerado o sistema de coleta de amostragem passiva como o método com condições técnicas e econômicas viáveis para a execução do estudo do campo. A seguir, serão descritas as condições da coleta mediante amostrador passivo.

## 3.8 Amostragem Passiva

Nesta pesquisa foi desenvolvido um modelo de amostrador passivo para amônia, baseado em dispositivos construídos por Lima (2011) e Cruz e Campos (2002).

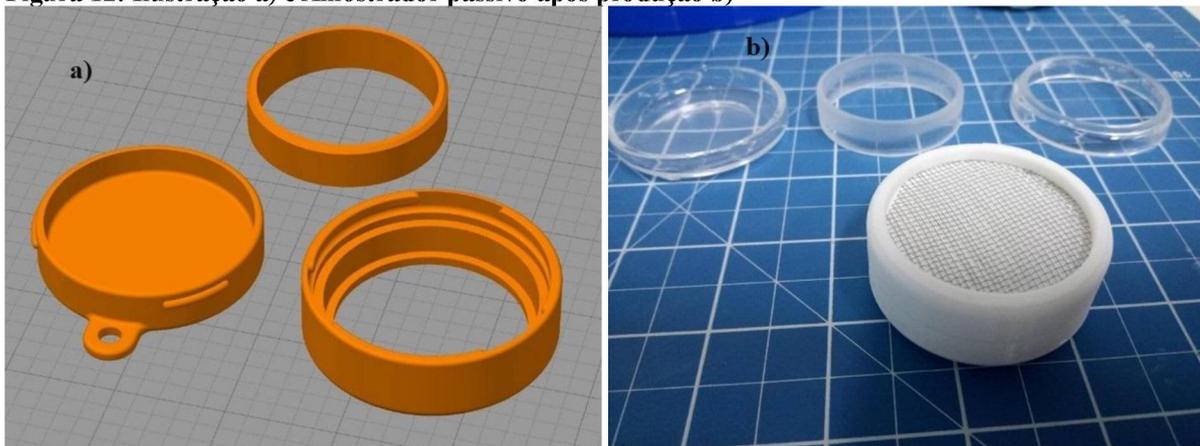
### 3.8.1 Amostrador passivo

O amostrador foi produzido por meio de impressão 3D, no laboratório de engenharia mecânica da UFPR, grupo ENGENHARMEC. Sua produção foi realizada com ácido polilático (PLA), polímero com características biodegradáveis. As dimensões finais, assim como os detalhes de impressão, estão representadas nas Figuras 11 e 12.

**Figura 11: Dimensões do amostrador passivo desenvolvido**



**Figura 12: Ilustração a) e Amostrador passivo após produção b)**



O funcionamento deste amostrador é fundamentado na difusão molecular do gás através de uma camada estática de ar. Ele é composto de um corpo cilíndrico de PLA (Figura 11), fechado na extremidade inferior. Na entrada de ar, há um filtro de celulose (Whatman, 20  $\mu\text{m}$  de poro, 47 mm de diâmetro, hidrofóbica lisa) protegido por uma tela de aço inox (fio de 0,08 mm e malha de 0,125 mm). (Figura 12).

Os filtros foram impregnados com alíquotas de 200  $\mu\text{L}$  da solução absorvedora. A solução absorvedora foi preparada seguindo o procedimento de Felix e Cardoso (2012). Esta solução consiste em uma mistura de Ácido Oxálico/Glicerol ao 5,0%, a qual foi colocada em cada filtro. (50 g de ácido oxálico, 20 mL de glicerol avolumados a 1 L com água Milli-Q). Concentrações da solução absorvente de 3%, e 0,3% também foram avaliadas.

Após este procedimento, os filtros foram colocados em suportes de vidro, para evitar contaminação e perda do reagente. Posteriormente, foram armazenados em dessecador por 48 h. Por fim, os amostradores foram montados, vedados com papel filme para evitar contaminação, colocados em recipientes de polietileno, e guardados em sacos plásticos devidamente identificados para uso em campo.

### 3.8.2 Pré-tratamento dos filtros antes da exposição

Os filtros usados para amostragem de amônia no ar necessitam de pré-tratamento para remover quaisquer contaminante absorvido no armazenamento. A metodologia adotada nesta etapa segue o protocolo estabelecido por Lima (2011) e Felix e Cardoso (2012). Os filtros de celulose (Whatman 41) de diâmetro de 47 mm, foram submetidos a três ciclos de 15 minutos de ultrassom com água ultrapura (Milli-Q). Em seguida, esses filtros foram imersos em álcool etílico, e novamente colocados no ultrassom durante 15 min. Posteriormente, foram secos em estufa a 50°C antes de ser armazenados no dessecador.

Todas as partes dos amostradores, com exceção da tela de aço suporte, e também os recipientes de polietileno utilizados para o transporte e armazenamento, passaram por uma lavagem com Extran

neutro 2% em duas etapas, seguida de enxágue com água ultrapura e, por fim, três ciclos de ultrassom por 15 minutos com água Milli-Q.

### 3.8.3 Cálculos da concentração de amônia no ar

A concentração média da amônia gasosa durante um dado período de exposição, utilizando amostradores passivos será determinada usando a equação (11)

$$C = \frac{m \cdot L}{D \cdot A \cdot t} \quad (11)$$

Onde:  $m$  = massa total coletada ( $\mu\text{g}$ )

$L$  = comprimento do percurso de difusão (m)

$D$  = coeficiente de difusão ( $\text{m}^2 \text{s}^{-1}$ )

$A$  = área da seção transversal do percurso de difusão ( $\text{m}^2$ )

$t$  = tempo de amostragem (s)

Os coeficientes de difusão de vários compostos no ar podem ser calculados usando a equação (12), com base nos valores médios de temperatura ( $T$ , em K) e da pressão atmosférica ( $P$ , em atm.) tomados dos dados meteorológicos, fornecidos pelo SIMEPAR durante o período de amostragem. Os valores de  $a$  e  $b$  desta equação para os gases amostrados são extraídos de Gary (1992) sendo para amônia  $a = 0,3057$  e  $b = 37,12$ .

$$D = \frac{0,0043 \cdot T^{1,5} \cdot a}{P \cdot b} \quad (12)$$

sendo,

$$a = \sqrt{1/MM_A + 1/MM_B} \quad (13)$$

$$b = \left( V_A^{1/3} + V_b^{1/3} \right) \quad (14)$$

onde:

$MM_A$  = massa molar do gás de estudo

$MM_B$  = massa molar do ar ( $28,9 \text{ g mol}^{-1}$ )

$V_A$  e  $V_B$  = volume molar do gás e do ar ( $29,9 \text{ cm}^3 \text{ mol}^{-1}$ )

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A apresentação dos resultados baseia-se na substituição de piridina (Pyr) como catalisador e do clorofórmio como solvente extrator. Portanto, nos resultados apresentados usam-se solvente eutéticos profundos (DES) como solvente de extração.

A implementação adequada da metodologia utilizada por Torbati (Figura 7) demonstrou que não foi possível condensar o extrato usando como agente extrator o solvente eutético ChCl-Ác. Butírico. Como resposta a isso, propôs-se a substituição do solvente extrator por 1-decanol, considerando sua facilidade de solidificação e sua capacidade de extrair compostos orgânicos polares. Esses testes possibilitaram a otimização dos parâmetros cromatográficos, que são descritos a seguir.

### 4.1 DEFINIÇÃO DAS CONDIÇÕES NO CG MODO FULLSCAN

As melhores condições de definição do pico foram alcançadas em vazão na coluna de 0.80 mL·min<sup>-1</sup> modo de injeção “*splitless*” e sem pulso de pressão. A Tabela 6 e 7 resume as condições programadas no cromatógrafo:

**Tabela 6: Condições cromatográficas para o padrão (NH<sub>3</sub>) de 10 mg L<sup>-1</sup>**

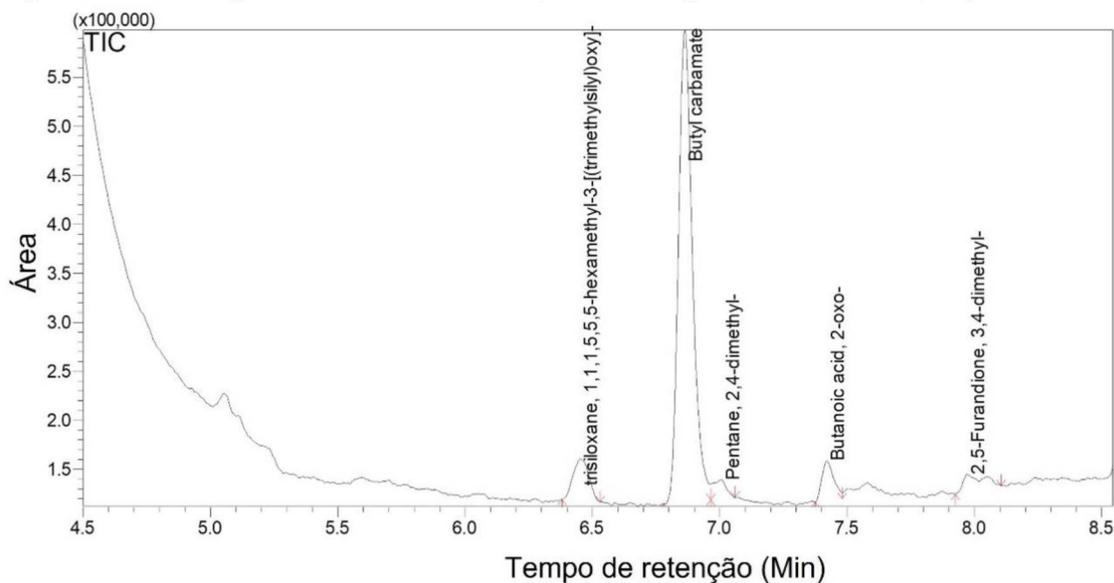
Parâmetro CG		Temperatura MS (°C)		Controle MS	
Vazão total	12 L min <sup>-1</sup>	Fonte de íons	230	Tempo Início	4,50 min
Vazão coluna	0,80 mL min <sup>-1</sup>	Interface CG e MS	280	Tempo Final	8,25
Velocidade linear	33,0 cm seg <sup>-1</sup>	Injeção	260	Aqc Modo	Q3 SIM
Vazão de Purga	3,0 mL min <sup>-1</sup>	Corte do solvente	3,65 min	Canal 1, 2, 3	62, 44, 56

**Tabela 7: Programa de aquecimento do forno no CG-MS**

Etapa	Raço (°C min <sup>-1</sup> )	Temperatura (°C)	Permanência
1	0	80	1,0
2	3	92	1,0
3	35	280	6,0

O cromatograma obtido a partir das melhores condições cromatográficas descritas nas Tabelas 6 e 7 é ilustrado na Figura 13. Nela é possível observar um pico bem definido do carbamato formado (Butyl Carbamate) e sua separação de outros picos, para um padrão de 10 mg L<sup>-1</sup>. Além de isso, foi possível observar a razão massa/carga 62 (*m/z*) como o íon base detectado pelo espectrômetro. Todos os cromatogramas apresentados neste documento foram corridos no modo fullscan (TIC). A identificação foi feita em consequência com o íon molecular (*m/z*) 62 que é um íon característico do carbamato de butila e comum respeito aos carbamatos; Os íons de confirmação foram o 44 e o 56 (*m/z*).

**Figura 13: Cromatograma obtido com as condições cromatográficas otimizadas (TIC)**



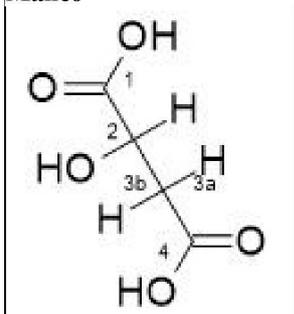
#### 4.2 Síntese de solvente Eutético profundo (DES) Xilitol – Ác. Málico

A síntese dos diferentes DES foi conduzida seguindo o procedimento estabelecido por Torbati et al. (2018). Misturas entre um Aceitor de ligações de hidrogênio (HBA) e um doador de ligações de hidrogênio (HBD) foram preparadas, usando Xilitol como HBA e Ácido málico como HBD, em água, nas proporções molares de 1:1:1, 1:1:2 e 1:1:10 (HBA:HBD:H<sub>2</sub>O), respectivamente.

Pequenas mudanças na síntese do DES foram testadas para reduzir o tempo de preparação, entretanto, a obtenção de uma mistura homogênea foi obtida apenas com cinco ciclos de aquecimento (90°C), em banho maria por 30 minutos, alternados com agitação em vórtex por 4 minutos. A Figura 17 permite evidenciar as respostas em área para cada um dos DES testados.

##### 4.2.1 Caracterização do solvente eutético profundo (DES) Xilitol – Ác. Málico

**Figura 14: Fórmula estrutural do Ácido Málico**

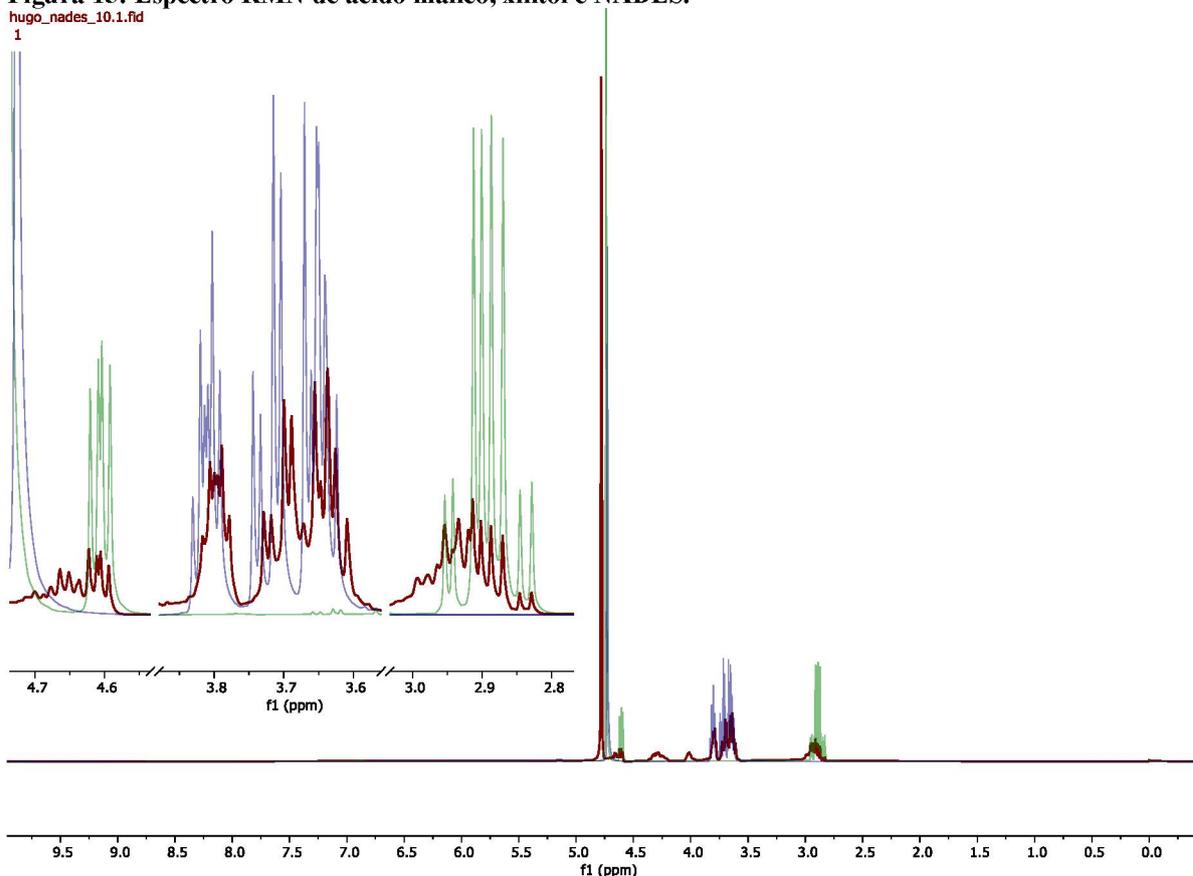


Inicialmente foi feito os espectros RMN dos componentes individuais da mistura eutética. A caracterização do Ácido málico (Figura 14), linha verde da Figura 15, revelou um sinal em 4,61 ppm, referente ao hidrogênio da posição 2 (H<sub>2</sub>). O H<sub>2</sub> acopla com os hidrogênios da posição 3 (H<sub>3a</sub> e H<sub>3b</sub>), formando um duplo duplete com constantes de acoplamento de 6,7 e 4,6 Hz (ver Tabela 8). Os hidrogênios da posição 3, também interagem e possuem relação diastereotópica, portanto, além de acoplarem com o H<sub>2</sub>, acoplam entre si formando então, cada hidrogênio um duplo duplete, com constantes de acoplamento para H<sub>3a</sub> de 16,6 e 4,6 Hz, com sinal em 2,93 ppm. O sinal para H<sub>3b</sub> aparece em 2,86 ppm com constantes de acoplamento de 16,6 e 6,8 Hz. Os resultados dos dados espectrais usados para a caracterização da estrutura do ácido málico encontram-se resumidos na Tabela 10.

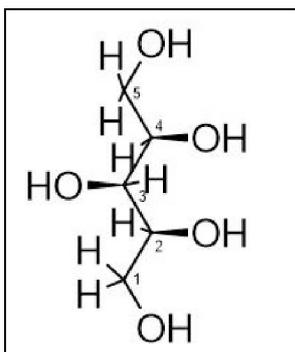
**Tabela 8: Dados espectrais ácido málico**

RMN de $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}+\text{D}_2\text{O}$ ) $\delta$ 4,61 (dd, $J = 6,7, 4,6$ Hz, 1H), 2,93 (dd, $J = 16,6, 4,6$ Hz, 1H), 2,86 (dd, $J = 16,6, 6,8$ Hz, 1H)
RMN $^{13}\text{C}$ (101 MHz, $\text{H}_2\text{O}+\text{D}_2\text{O}$ ) $\delta$ 176.49, 174.46, 66.82, 38.46.

Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  obtidos para cada composto individual e para o NADES, estão ilustrados na Figura 15. Observando os espectros da Figura 15, pode-se dizer que o ambiente químico em que os hidrogênios se encontram no NADES, são totalmente diferentes dos compostos de partida, visto que, os sinais dos hidrogênios não se assemelham nem no deslocamento químico nem na multiplicidade dos sinais. Ao comparar os espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  dos compostos de partida com o NADES, percebe-se que não há diferença significativa entre os deslocamentos dos sinais dos carbonos (ver dados espectrais na Tabela 10), porém as intensidades relativas dos sinais são qualitativamente diferentes, concluindo-se que o NADES corresponde a um novo composto formado.

**Figura 15: Espectro RMN de ácido málico, xilitol e NADES.**

Legenda: Linha verde – ácido málico, Linha azul - xilitol, linha vermelha – NADES

**Figura 16: Fórmula estrutural Xilitol**

Para a caracterização da estrutura química do xilitol (Figura 16, linha azul da Figura 15), observa-se um sinal posicionado em 3,81 ppm, atribuído ao H2, o qual acopla com os H1a e H1b, com a mesma constante de acoplamento de 6,8 Hz e com o H3 com a constante de acoplamento de 4,3 Hz, apresentando então a multiplicidade de duplo tripleto. O H4 gera o mesmo sinal referente ao H2, pelo fato de a molécula do xilitol apresentar um plano de simetria, por tanto, ambos hidrogênios são equivalentes. Os hidrogênios H1a e H1b, H5a e H5b, são equivalentes, pelo mesmo motivo mencionado acima. O H1a e H1b, formam duplos dupletos, por acoplarem entre si, com a constante de acoplamento de 11,7 Hz e com o H2 com as constantes de acoplamento de 6,6 e 4,3 Hz, respectivamente. O H3, posicionado exatamente sobre centro de simetria, possui integral referente a um hidrogênio e formam um tripleto, por acoplar com os H2 e H4 com a constante de acoplamento de 4,4 Hz, e aparece sobreposto ao duplo duplete do H1, confirmando então a estrutura do xilitol. Os resultados dos dados espectrais usados para a caracterização da estrutura do xilitol encontram-se resumidos na Tabela 9.

**Tabela 9: Dados espectrais xilitol**

RMN de $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}+\text{D}_2\text{O}$ ) $\delta$ 3.81 (dt, J = 6.8, 4.3 Hz, 2H), 3.72 (dd, J = 11.7, 4.3 Hz, 2H), 3.65 (dd, J = 11.7, 6.8 Hz, 2H), 3.65 (t, J = 4.4 Hz, 1H)
RMN $^{13}\text{C}$ (101 MHz, $\text{H}_2\text{O}+\text{D}_2\text{O}$ ) $\delta$ 71.98, 70.82, 62.68

Ao comparar os espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  dos compostos de partida com o NADES, percebe-se que não há diferença significativa entre os deslocamentos dos sinais dos carbonos (ver dados espectrais na Tabela 10), porém as intensidades relativas dos sinais são qualitativamente diferentes, concluindo-se que o NADES corresponde a um novo composto formado.

**Tabela 10: Dados espectrais  $^{13}\text{C}$  para ácido málico, xilitol e NADES**

Ácido Málico RMN de $^{13}\text{C}$ (101 MHz, $\text{H}_2\text{O}+\text{D}_2\text{O}$ ) $\delta$ 176,49, 174,46, 66,82, 38,46.
Xilitol RMN de $^{13}\text{C}$ (101 MHz, $\text{H}_2\text{O}+\text{D}_2\text{O}$ ) $\delta$ 71,98, 70,82, 62,68.
NADES RMN $^{13}\text{C}$ (101 MHz, $\text{H}_2\text{O}+\text{D}_2\text{O}$ ) $\delta$ 175,74, 173,77, 71,95, 70,64, 66,63, 62,82, 38,13.

### 4.3 Uso de Solventes Eutéticos (DES) no Processo De Derivatização da Amônia Usando Decanol como Extractor

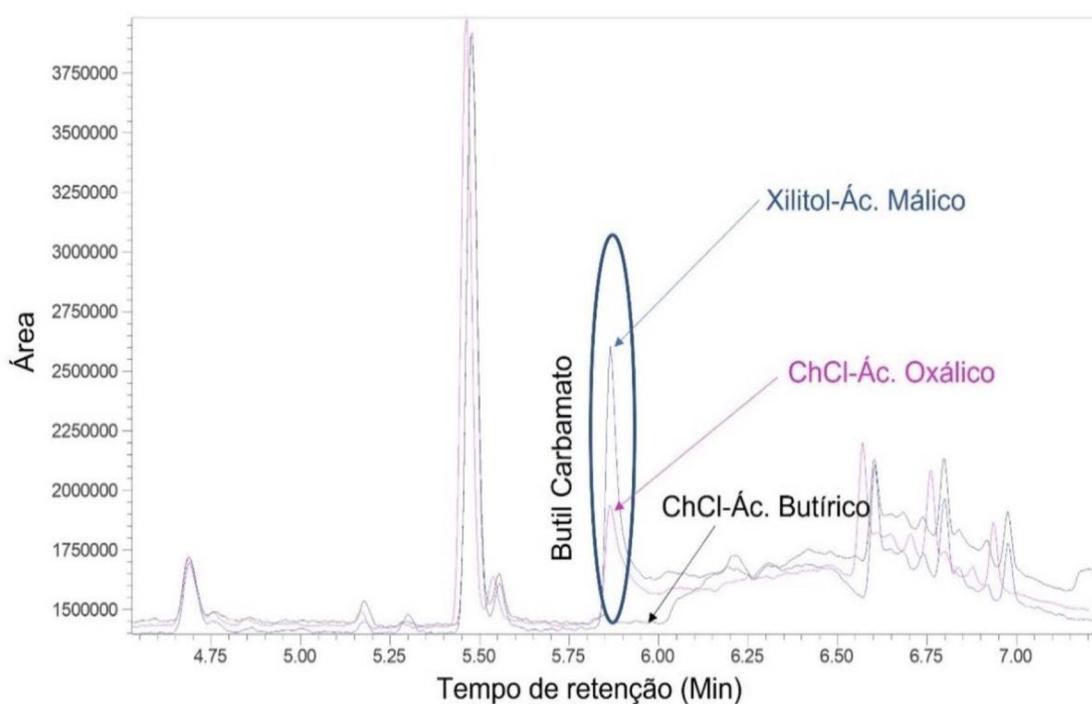
A metodologia empregada por Torbati et al. (2018) (Figura 7) foi testada diretamente, tanto no uso do derivatizante, como no uso do DES  $\text{ChCl}$ -Ác. butírico, mas empregando o decanol como solvente extrator. As condições ideais previamente estabelecidas para o CG foram tomadas como referência para o uso desta metodologia nesta etapa. É importante ressaltar que as mudanças nos solventes de extração geraram mudanças no tempo de retenção no cromatograma como resultado do efeito solvente sobre a cromatografia.

Com o objetivo de melhorar a resposta e a resolução do pico cromatográfico, foram testados três tipos de solventes eutéticos, escolhidos com base em seu uso em outras aplicações. Esses solventes foram:

- A. Cloreto de colina (ChCl)-Ácido Butírico (1:2)
- B. Cloreto de colina (ChCl)-Ácido Oxálico-água (1:1:1)
- C. Xilitol-Ácido Málico-Água (1:1:10)

Os resultados da extração com Decanol permitiram obter o pico do butil carbamato (**Figura 17**). A partir dos resultados obtidos, observou-se que a melhora na área do pico, em termos da intensidade e definição do pico, foi obtida para o DES Xilitol-Ácido Málico (linha azul), enquanto o DES ChCl-ácido oxálico apresentou a área menor. o DES ChCl-ácido butírico apresenta um pico muito baixo em comparação com as misturas anteriores.

**Figura 17: Cromatograma de comparação com o uso dos DES A), B) e C)**



Apesar de obter o pico de carbamato formado, os picos possuíam alargamento e com uma cauda pronunciada, o que tornou difícil sua quantificação (ver Tabela 11). Além disso, o decanol derrete rapidamente, levando a fusão rápida do sólido formado, o que dificulta a extração do material sólido da fase aquosa. Para contornar essa característica, foram avaliados outros dois solventes extratores com maiores pontos de fusão, o undecanol e o dodecanol.

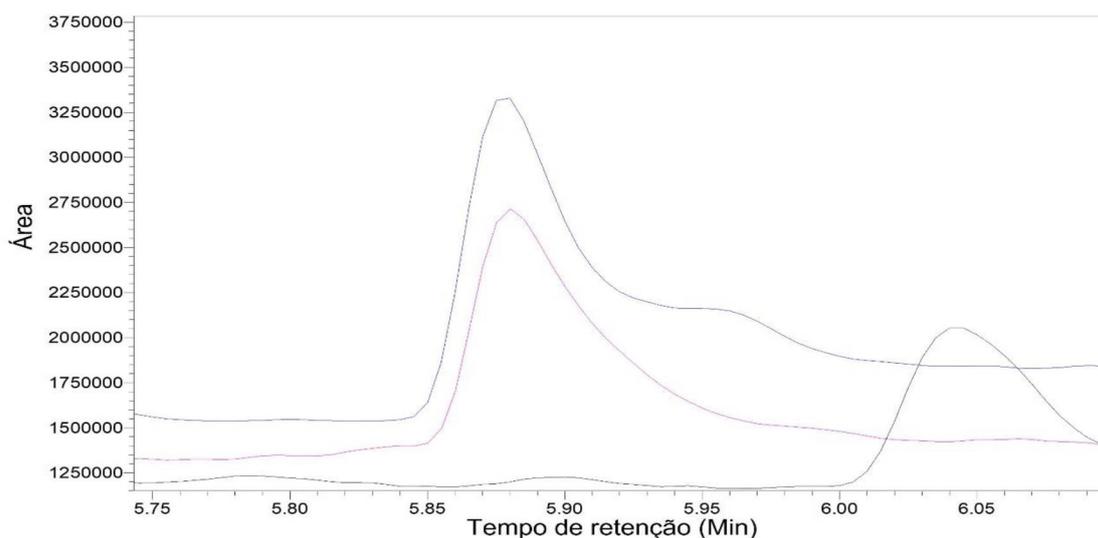
Tabela 11: Réplicas das áreas usando decanol como extrator

Teste	Tempo de retenção	Área 1	Área 2	Área 3	Desvio padrão
A	6,238	416.495	778.749	610.236	181.273
B	5,878	1.458.916	1.812.853	1.548.046	184.092
C	5,865	2.798.847	2.908.562	3.233.597	226.087

#### 4.4 AA-DLLME com uso de decanol, undecanol e dodecanol como solvente extrator

A aplicação da microextração líquido - líquido dispersiva assistida por ar (AA-DLLME) é ilustrada na Figura 18; que mostra a comparação do pico do butil carbamato para os três solventes testados. Os resultados obtidos dos ensaios com os três solventes (Tabela 12) permitiram a obtenção de picos de butil carbamato identificados pelo analisador de massas. Ou seja, *o meio de reação DES (ChCl-Ác. butírico) – BuCF permitiu a reação de derivatização de amônia para a formação de butil carbamato em meio básico*. Também foi possível visualizar que o undecanol (linha azul) apresenta as maiores área do picó, seguido por o dodecanol (linha roxa), enquanto a mistura com DES ChCl-Ác. butírico (linha preta) tem a menor área. Todos os picos apresentam cauda pronunciada no final do pico, indicando uma possível interação indesejada entre o solvente de extração e a coluna cromatográfica.

Figura 18: Cromatograma de comparação de extração com decanol, undecano e dodecanol



Legenda: Undecanol Linha azul, Linha roxa dodecanol, e linha preta decanol

Dos resultados apresentados na Figura 18 também é importante destacar que a área obtida (2 – 3 milhões) é relativamente baixa para o padrão de  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de amônia. Os resultados obtidos (Figuras 17 e 18) mostraram que o meio de reação DES (ChCl-Ác. oxálico ou Xilitol-Ác. Málico) – BuCF em meio básico, permitiu a formação de picos de butilcarbamato, identificados pelo analisador de massas do CG-MS. Ou seja, permitiu a reação de derivatização de amônia para a formação de butil carbamato em meio básico, empregando como agente dispersor o ar atmosférico.

**Tabela 12: Áreas de pico para o Butil carbamato extraído com Decanol, undecanol e Dodecanol**

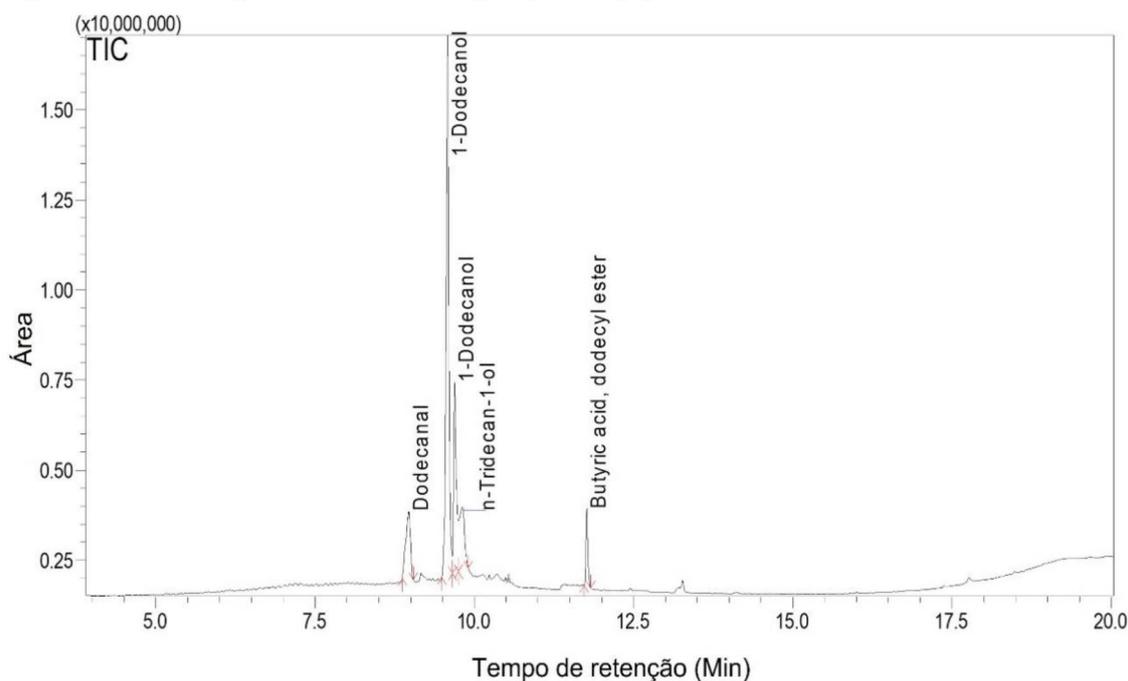
Solvente extrator	Tempo de retenção (min)	Área 1	Área 2	Área 3	Desvio padrão
decanol	6,043	2.619.141	2.205.108	2.710.236	269.220
undecanol	5,878	3.816.484	4.913.648	4.148.046	562.709
dodecanol	5,880	3.476.033	2.808.562	2.733.597	408.727

Neste método não foi empregado Pyr como catalisador, como também não foi extraído o produto formado com clorofórmio. Isso indica que a piridina como agente catalisador nas reações de formação de carbamatos pode ser substituída. Além disso, a partir dos dados obtidos, tendo definidas as funções dos reagentes: derivatizante (IBCF), agente dispersor (ar) e solventes de extração (decanol, undecanol, dodecanol), se presume então, que o DES desempenha uma função diferente de solvente dispersor ou extrator, provavelmente exerce a função de catalisador, função que já foi atribuída por Khandelwal, Tailor e Kumar (2016) para outros DES. Deduz-se que o DES cumpre a função de catalisador, também, a partir de testes feitos sem o uso do DES que mostraram que não acontece reação alguma na ausência deste reagente.

#### 4.5 Controle de qualidade e brancos analíticos

Foi realizado um procedimento de limpeza e estabilização da coluna a 300°C por uma hora. No entanto, o pico do decanol ou undecanol ou dodecanol continuou aparecendo, como ilustrado na Figura 19, indicando que esse tipo de solventes gera contaminação na coluna cromatográfica. Portanto, foi decidido descontinuar o uso desses solventes como meio de extração do butil carbamato.

**Figura 19: Cromatograma de brancos de gás após a injeção do extrato com dodecanol**

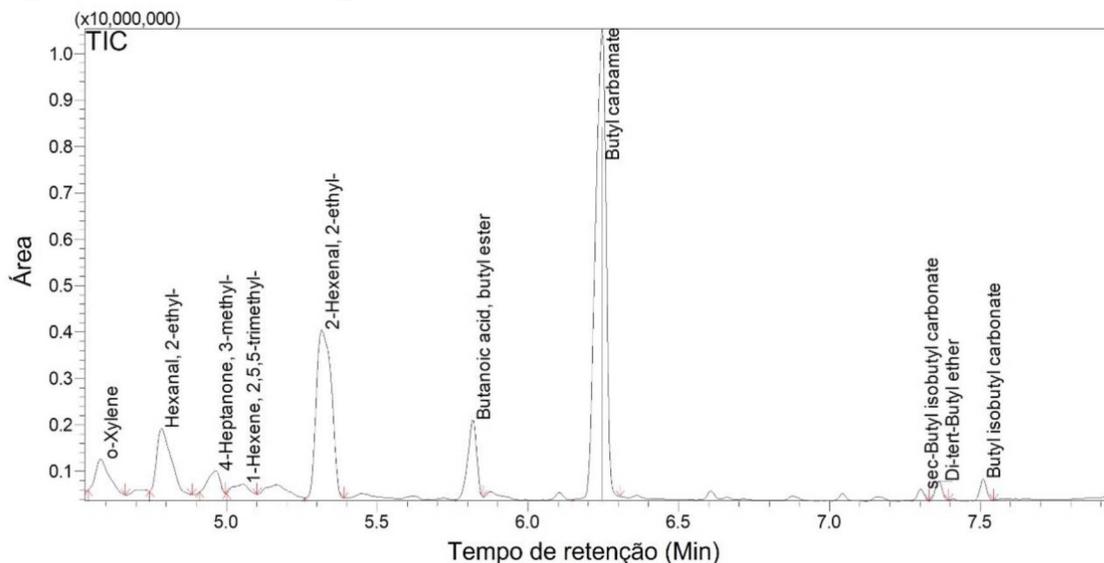


A forma dos picos obtidos com extração com decanol, undecanol e dodecanol mostram uma cauda pronunciada, e a superposição com outros picos, dificultando a quantificação e evidenciando a contaminação da coluna. Portanto, considerou-se a substituição do solvente extrator. Foram realizados ensaios com diferentes solventes de extração, e os melhores resultados foram obtidos quando se utilizou n butanol, como ilustrado na Figura 20.

Com base nos resultados anteriores, foi necessário limitar o número de variáveis a serem usadas para futuros planejamentos. Portanto, precedeu-se à determinação da mistura eutética que garante a melhor eficiência de derivatização. Isso envolveu o ajuste prévio do pH da amostra e seu aquecimento; a definição do volume do solvente mais adequado para a extração, e a determinação dos tempos que garantem a melhor conversão na derivatização (tempo de reação).

Além disso, considerou-se se a extração poderia ser melhorada com fatores como a força iônica, e/ou a centrifugação. Como resultado, foi inicialmente realizado uma análise uni-variada, cujos detalhes são descritos a seguir.

**Figura 20: Primeiro Cromatograma de extração com Butanol**



#### 4.6 ANÁLISE UNI-VARIADA

Os resultados ilustrados na Figura 17 mostram que a melhor resposta em termos da área foi obtida para o DES C, constituída por uma mistura de Xilitol – Ácido Málico – Água (1:1:10). Novamente a forma do pico apresenta uma cauda pronunciada na direita, portanto, sendo necessário melhorar a forma do pico para fins de quantificação. Como resultado, foram propostos experimentos com diferentes frações dos componentes do DES (Xilitol – Ác. Málico – Água) assim:

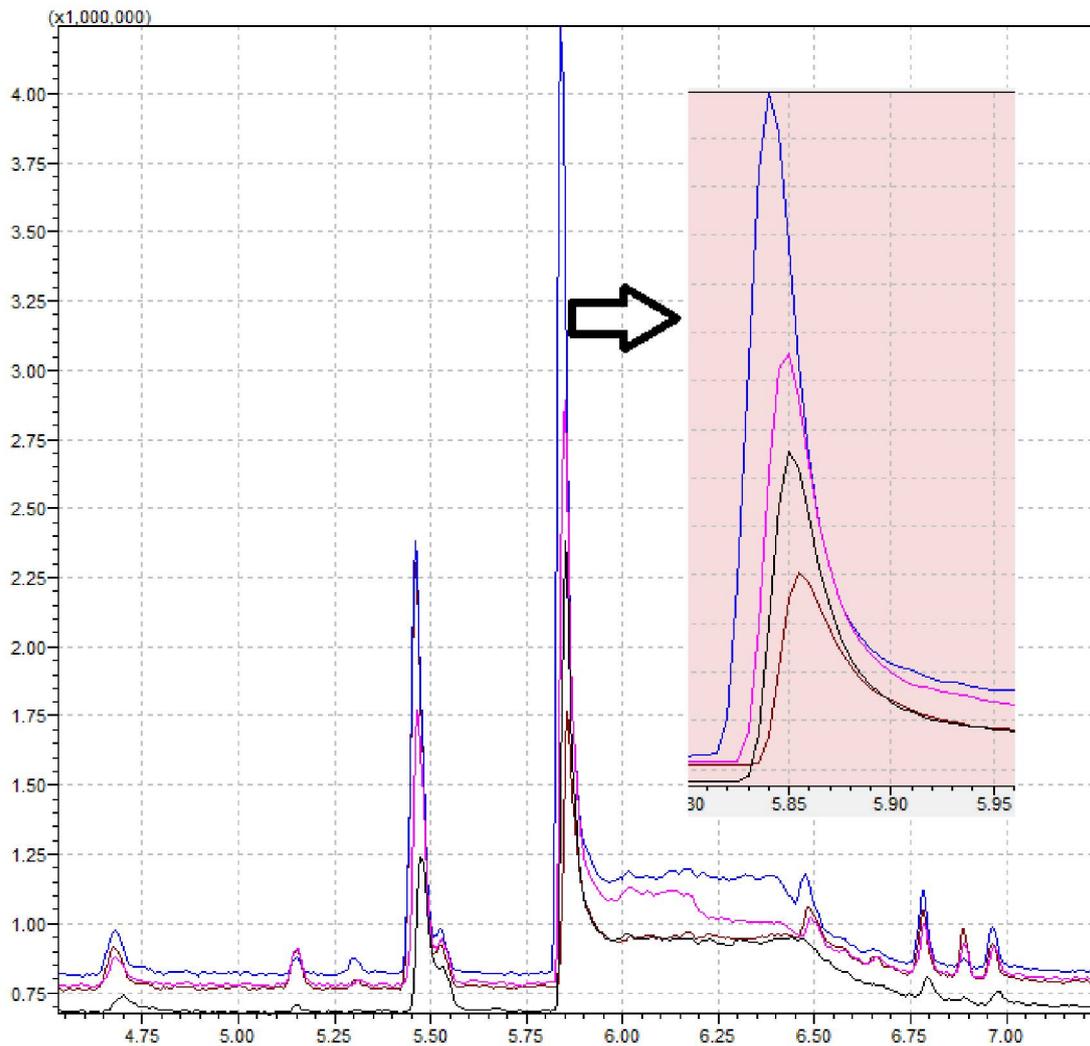
- ✓ DES A: 1:1:1
- ✓ DES B: 1:1:2

- ✓ DES C: 1:1:5
- ✓ DES D: 1:1:10

#### 4.6.1 Testes de diferente Composição para DES C

A partir dos resultados da Figura 21, é possível concluir que a melhor resposta foi obtida para os testes A (linha roxa) e B (linha azul). Com base no cromatograma da Figura 21, a mistura eutética (1:1:2) apresentou a melhor resposta, em termos da área de pico, enquanto a mistura C (1:1:5) (linha preta) apresentou um pico significativamente menor em comparação com as misturas A e B. A Tabela 13 mostra que o maior desvio padrão das réplicas ocorreu no teste B, e que o valor médio deste é inferior ao valor médio do teste A.

**Figura 21: Cromatograma de comparação de diferentes frações do DES Xilitol – Ác. Málico -Água**



Legenda: (1:1:1) linha Roxa, (1:1:2) linha azul, (1:1:5) linha preta, e (1:1:10) Linha marrom

**Tabela 13: Área das réplicas das misturas eutética Xilitol-Ác. Málico-H<sub>2</sub>O**

Teste	Tempo de retenção	Área 1	Área 2	Área 3	Média	Desvio padrão
A	5,846	4.438.323	4.363.989	4.587.868	4.463.393	114.026
B	5,852	5.201.906	3.149.663	1.792.994	3.381.521	1.716.243
C	5,880	1.460.446	2.627.706	1.882.343	1.990.165	591.053
D	6,000	205.167	523.523	521.893	416.861	183.334

Da mistura D (1:1:10), que é a mistura com maior teor de água, praticamente não foi observado pico, em comparação com os picos em A e B. Portanto, com base nos resultados obtidos com o cromatograma da Figura 21, pode-se concluir que uma menor proporção de água na preparação do DES proporcionou melhor eficiência na derivatização.

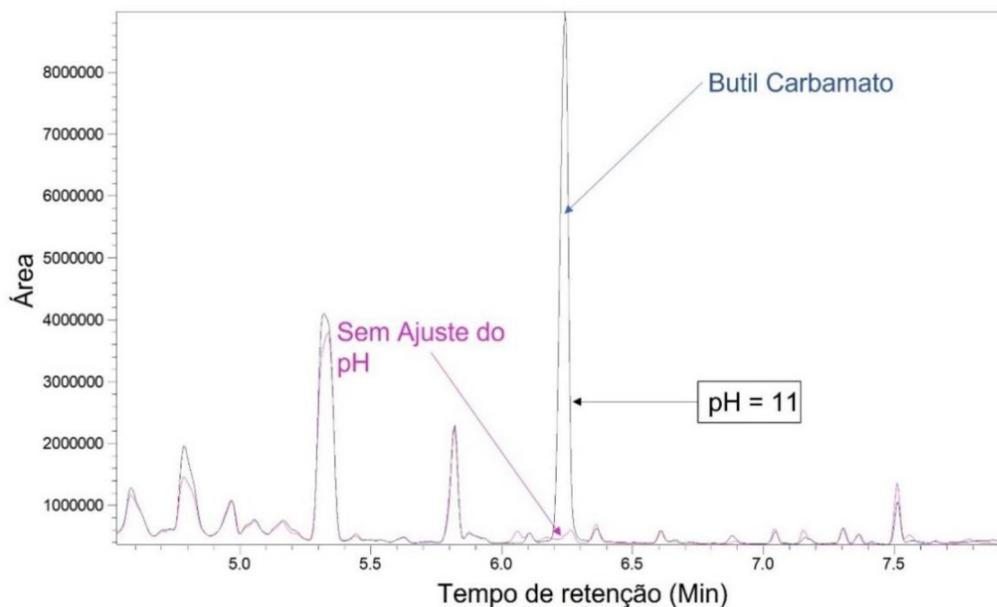
#### 4.6.2 Resultados da otimização de extração

Na Figura 10 é ilustrado o diagrama da metodologia proposta após os ajustes e a troca de solvente, desse método foram necessários uma série de procedimentos, incluindo o ajuste do pH, ultrassom, centrifugação e mudanças na força iônica foram utilizados para melhorar a extração do analito.

#### 4.6.3 Com e sem ajuste do pH

Com o objetivo de avaliar a importância do ajuste do pH na metodologia empregada, foram preparados testes de padrões analíticos de 10 mg L<sup>-1</sup> de amônia sem ajustar o pH da amostra previamente, e ajustando o pH a 11. Os resultados são apresentados no cromatograma da Figura 22.

**Figura 22: Cromatograma da metodologia com e sem ajuste do pH**

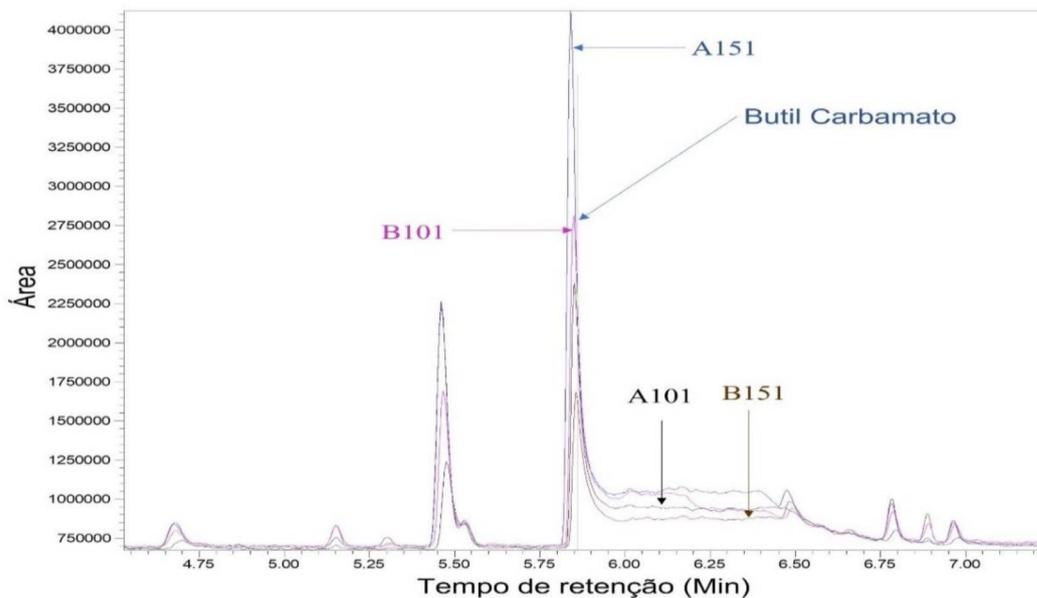


No cromatograma da Figura 22, o pico do butil carbamato praticamente não é detectado quando não é ajustado o pH (pH próximo de 7), contrastando com o pico claramente definido quando o pH é ajustado a 11. Isso sugere que a reação de derivatização não acontece sem o ajuste do pH. Portanto, o pH da amostra previamente ajustado, deve ser considerado como um dos fatores a ser avaliado no planejamento fatorial com o fim de otimizar as variáveis de estudo, mas com a faixa de avaliação restrita a valores pH superiores a 9 e na faixa média de 11.

#### 4.6.4 Avaliação da temperatura na etapa de preparo de amostra

Para a primeira etapa do procedimento foram feitos testes com e sem aquecimento. A Figura 23 apresenta o cromatograma de comparação dos testes.

**Figura 23: Testes com e sem aquecimento na etapa inicial de derivatização**



Legenda: Sem aquecimento: A101(preta) e B151(marrom); Com aquecimento A151 (4 min) (azul) e B101 (2 min)(roxa)

O aquecimento consistiu em manter a amostra A151 em banho maria a 60°C por 4 minutos e a amostra B101 por 2 min. A Figura 23 e a Tabela 14 mostram que a maior área do pico foi obtida para amostra A151 (linha azul), enquanto a amostra B101 (linha roxa) apresentou menor valor. As amostras sem aquecimento (Linhas preta e marrom) apresentaram a menor área do pico nos testes de comparação. No entanto, isso indica que mesmo sem aquecimento, a reação de derivatização ocorreu, ou seja, a temperatura da amostra influencia significativamente a velocidade de reação da derivatização, melhorando significativamente sua eficiência. Além disso, é possível concluir que o tempo de aquecimento também é uma variável importante, pois as áreas obtidas com 4 min foram superiores às áreas obtidas para 2 minutos em ambos os casos. Portanto, na metodologia final, foi proposto um tempo de aquecimento em banho Maria de 4 min. O teste descrito na Figura 23 foi realizado com padrão

analítico de amônia de  $10 \text{ mg L}^{-1}$ , assim como todos os testes realizados nesta etapa do desenvolvimento da metodologia.

**Tabela 14: Área de pico cromatogramas com e sem aquecimento**

Ensaio	Tempo de Aquecimento (min)	Área 1	Área 2	Área 3	Média	Desvio padrão
<b>A101</b>	0	3.919.475	3.748.228	3.807.460	3.825.054	86.969
<b>B151</b>	0	2.509.993	2.274.267	2.371.095	2.385.118	118.487
<b>A151</b>	4	7.158.761	7.274.267	7.371.095	7.268.041	106.304
<b>B101</b>	2	4.786.163	4.885.428	5.395.158	5.022.250	326.740

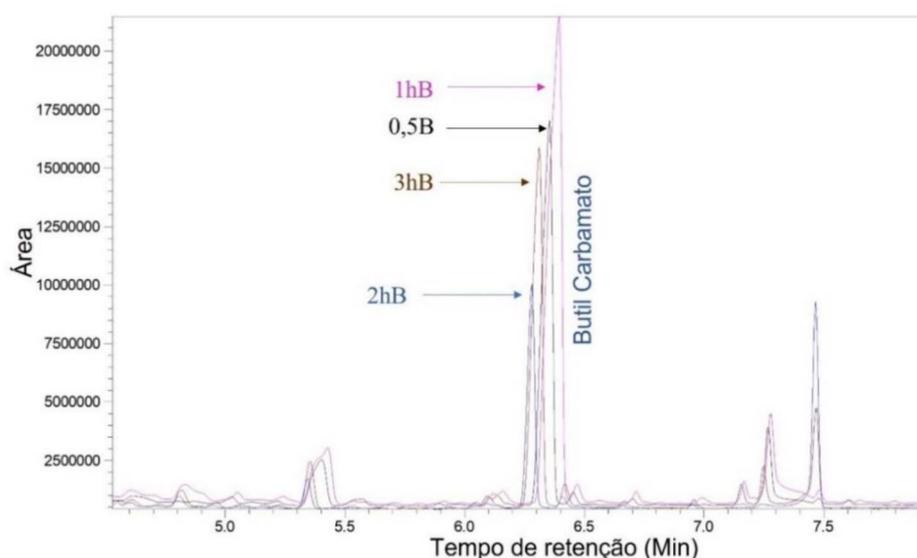
#### 4.6.5 Avaliação do tempo de reação da derivatização

Considerando os resultados obtidos com a metodologia de derivatização empregando piridina como catalisador e clorofórmio como extrator, na qual o tempo de reação foi otimizado para 3 horas, foram propostos tempos de reação na derivatização de 0,5, 1, 2 e 3 horas, para avaliar qual é o tempo mais adequado para obter a máxima eficiência na derivatização. Os testes foram realizados mantendo constantes os volumes de derivatizante e extrator, bem como as condições do processo. A Figura 24 e a Tabela 15 ilustram o cromatograma de comparação dos testes feitos em diferentes tempos de reação.

**Tabela 15: Avaliação dos tempos de derivatização**

Ensaio (hora)	Tempo de retenção	Área 1	Área 2	Área 3	Média	Desvio padrão
<b>0,5</b>	5,397	19.820.322	29.014.389	15.848.776	21.561.162	<b>6.753.239</b>
<b>1</b>	6,266	9.164.052	31.433.896	33.889.323	24.829.090	<b>13.621.760</b>
<b>2</b>	6,377	16.501.314	20.916.003	19.104.302	18.840.540	<b>2.219.132</b>
<b>3</b>	6,281	19.924.698	23.857.361	24.751.034	22.844.364	<b>2.567.684</b>

**Figura 24: Metodologia: Ensaios a diferentes tempos de reação na derivatização**



Legenda: linha preta - 0,5 h (0.5hB), linha roxa - 1 h (1hB), linha azul - 2 h (2hB) e linha marrom 3 h (3hB)

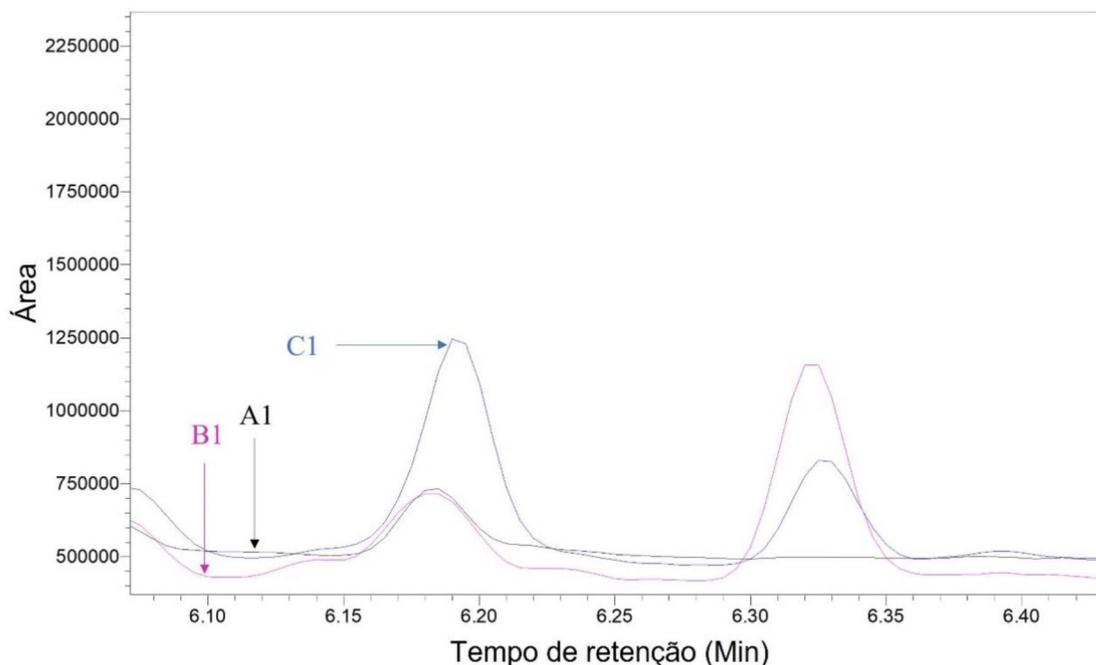
Os resultados de comparação mostram, em ordem decrescente de área de pico, os resultados para os testes de 1 hora, 0,5 horas, 3 horas e 2 horas, em sua ordem respectivamente, para cada teste foram preparadas três réplicas. Os resultados não parecem ter uma lógica na sequência, mas destacam a importância, e a necessidade de considerar o tempo de reação como uma variável significativa no processo. Por tanto, esta será uma das variáveis a considerar na otimização da metodologia. Os resultados apresentados na Tabela 15 também mostram, que a média é maior para as amostras com tempos de reação de 1 e 3 horas, mas também indicam uma maior dispersão dos dados para a mostra de 1 hora. No entanto, dado que essa variável é analisada de forma uni-variada, foi muito importante considerá-la para a análise multivariada.

#### 4.6.6 Estudo da força iônica e centrifugação na extração

No procedimento estabelecido por Torbati et al. (2018), para determinação de aminas aromáticas foi necessário centrifugar as amostras após a extração para conseguir melhorias na separação dos compostos derivatizados após a solidificação. Além disso, o autor testa a força iônica para avaliar seu efeito na extração. Em consequência essas variáveis foram testadas simultaneamente na presente pesquisa, da seguinte forma:

- A. Teste Com sal e com Centrifugação
- B. Teste Sem sal, mas com centrifugação
- C. Teste Sem Sal, e Sem Centrifugação

**Figura 25: Metodologia: Testes com e sem sal e com e sem centrifugação**



Legenda: linha preta [A1]: com sal e centrifugação, linha roxa[B1]: Sem sal mas com centrifugação, linha azul[C]: Sem sal e Sem centrifugação

A força iônica foi avaliada adicionado 10% de cloreto de sódio (NaCl), enquanto nos testes com centrifugação, o equipamento foi programado a 5000 rpm por 4 min. Os resultados mostrados na Figura 25 e na Tabela 16 indicam que os testes realizados com e sem sal não apresentaram diferença significativas nem nas médias nem nas estimativas de desvios padrão (teste *t*), o que sugere que a força iônica não é uma variável significativa neste método. Além disso, os testes realizados sem sal e sem centrifugação mostraram uma melhor resposta em termos de área de pico. Portanto, tanto a força iônica como o processo de centrifugação foram desconsiderados na etapa de otimização das variáveis de análise.

**Tabela 16: Efeito da força iônica, e a centrifugação na extração do derivatizado**

Teste	Tempo de retenção	Área 1	Área 2	Área 3	Média	Desvio padrão
[A] Com Sal e Centrifugação	5,397	445.682	427.214	400.303	424.400	22.820
[B] Sem Sal e Centrifugação	6,183	483.446	433.896	389.323	435.555	47.083
[C] Sem Sal e Sem Centrifugação	6,180	1.939.369	1.224.770	1.016.796	1.393.645	483.916

Como resultado da análise uni-variada, foi estabelecido que existem vários fatores a serem consideradas, como pH, aquecimento da amostra, tempo de reação na derivatização, volumes de: amostra, derivatizante, catalisador, e extrator, bem como o tempo de extração. De essas variáveis, foram mantidas, com base nas conclusões de Torbati, incluindo o tempo de aquecimento (4 min a 60°C) e o número de ciclos de aspiração e injeção de ar (5 ciclos no método AA-DLLME). Portanto, procedeu-se a uma triagem de variáveis para determinar quais delas são as mais significativas.

#### 4.7 TRIAGEM DE VARIÁVEIS: PLANEJAMENTO FATORIAL FRACIONADO

Com base nas conclusões obtidas do artigo de Torbati et al. (2018) e considerando os resultados da análise univariada, foram otimizadas as seguintes variáveis: o efeito do pH, o estudo do volume do DES, o volume de derivatizante (IBCF), os tempos de derivatização e de extração. O volume de DES e o volume de derivatizante foram as variáveis otimizadas, enquanto, o número de injeções de ar foi mantido em 5, considerando o descrito por Torbati et al. (2018). A Tabela 17 descreve o desenho dos experimentos do planejamento.

Com base nos testes de triagem apresentados na Tabela 17, foram selecionadas 5 variáveis, definindo-se 16 experimentos. Isso foi alcançado usando o procedimento quimiométrico de planejamento fatorial de dois níveis fracionado ( $n=2^{k-1}$ ), onde  $n$  é o número de experimentos,  $k$  é o número de fatores e  $2^k$  é o planejamento fatorial completo de dois níveis. Assim, para 5 fatores, temos  $2^{5-1}=16$  experimentos.

Com o objetivo de garantir a precisão dos resultados do cromatográficos, foram realizadas duas réplicas de cada experimento, totalizando 32 experimentos planejados. Isso permitiu determinar quais das cinco variáveis eram as mais significativas ao compará-las simultaneamente. Inicialmente, a faixa de trabalho era desconhecida, assim como o ponto central de alguns fatores, como pH, volume de solvente eutético etc. Portanto, a escolha do planejamento fatorial fracionado com réplicas foi feita devido à facilidade de preparar réplicas de cada experimento, conforme descrito na Tabela 17.

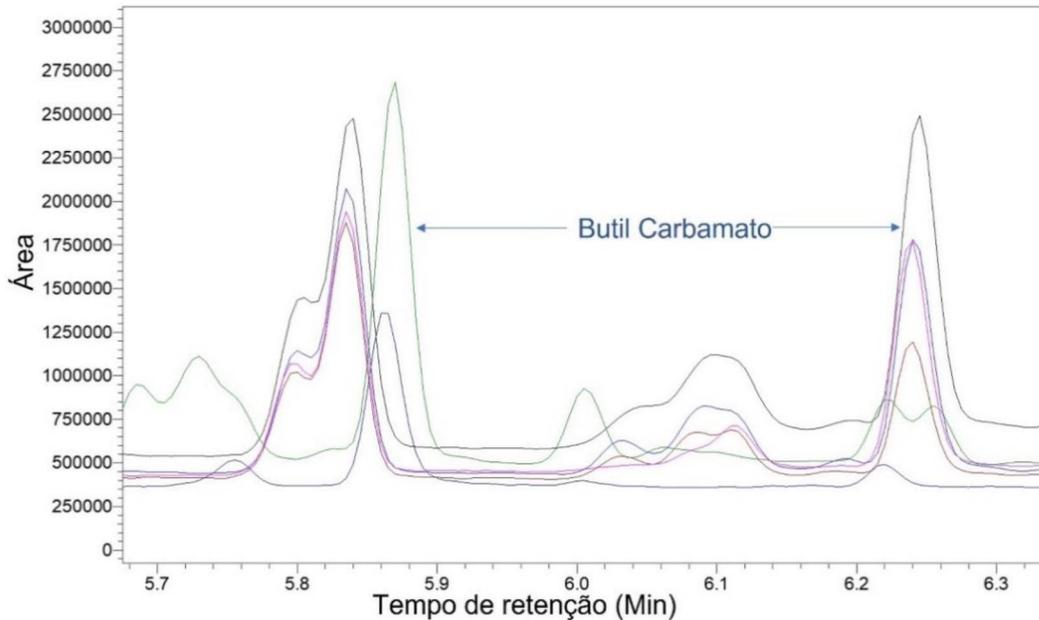
**Tabela 17: Triagem empregando- Planejamento Fatorial Fracionado do tipo  $n^{5-1}$**

Experim.	pH	Vo DES (mL)	t Derivat (min)	Vo Extrat (mL)	t Extraç (min)
1-A1A	11	65	30	1500	45
2-A2A	12	65	30	1500	30
3-A3A	11	80	30	1500	30
4-A4A	<b>12</b>	<b>80</b>	<b>30</b>	<b>1500</b>	<b>45</b>
5-A5A	11	65	120	1500	30
6-A6A	12	65	120	1500	45
7-A7A	11	80	120	1500	45
8-A8A	12	80	120	1500	30
9-A9A	11	65	30	2000	30
10-A10A	12	65	30	2000	45
11-A11A	11	80	30	2000	45
12-A12A	12	80	30	2000	30
13-A13A	11	65	120	2000	45
14-A14A	12	65	120	2000	30
15-A15A	11	80	120	2000	30
16-A16A	12	80	120	2000	45

É importante destacar que a faixa estrita do pH (de 11 a 12) foi definida com base nos resultados obtidos na Figura 22, que demonstrou que a ausência de ajuste no pH resulta na inatividade total da amônia na reação de derivatização. A faixa de volume do solvente eutético (65 – 80  $\mu\text{L}$ ) foi definida com base nos volumes propostos por Torbati et al. (2018). A faixa de tempo de derivatização (30 – 120 min) foi definida de acordo com os resultados ilustrados na Figura 24. A faixa de volume de solvente extrator (1500 – 2000  $\mu\text{L}$ ) foi adotada de acordo com as recomendações estabelecidas por Leça et al. (2018) na técnica de extração líquido-líquido miniaturizada (mLLE). Além disso, essa faixa foi selecionada devido à facilidade de extração e transferência do volume para o concentrador. Volumes de BuOH menores que 1000  $\mu\text{L}$  apresentam dificuldades na separação das fases após a extração. A Figura 10 resume o protocolo definido nesta metodologia.

A Figura 26 e a Tabela 18 ilustram os resultados do planejamento fatorial fracionado; destacando os seis primeiros testes (dos 16 propostos). A partir dos cromatogramas, é possível observar a diferença nas respostas geradas pelas distintas condições propostas, essa diferença é evidente nas intensidades dos picos que mudam entre ensaio e ensaio, por exemplo, foram obtidas maiores áreas do pico para menor pH e o menor volume de solvente eutético.

**Figura 26: Metodologia: Resultados do planejamento fatorial fracionado 2<sup>5-1</sup>**



**Tabela 18: Resultados do planejamento fatorial fracionado**

Teste	Tempo de retenção	Área 1	Área 2	Área 3	Média	Desvio padrão
A1	6,244	3.069.895	3.292.664	2.846.007	3.069.522	223.329
A2	6,239	2.245.828	2.440.718	2.521.325	2.402.624	141.644
A3	6,241	2.218.031	3.182.093	2.551.201	2.650.442	489.633
A4	6,239	1.287.465	1.887.026	1.508.908	1.561.133	303.173
A5	5,869	3.960.834	4.979.657	4.002.458	4.314.316	576.578
A6	5,862	1.751.549	1.492.010	1.589.566	1.611.042	131.095

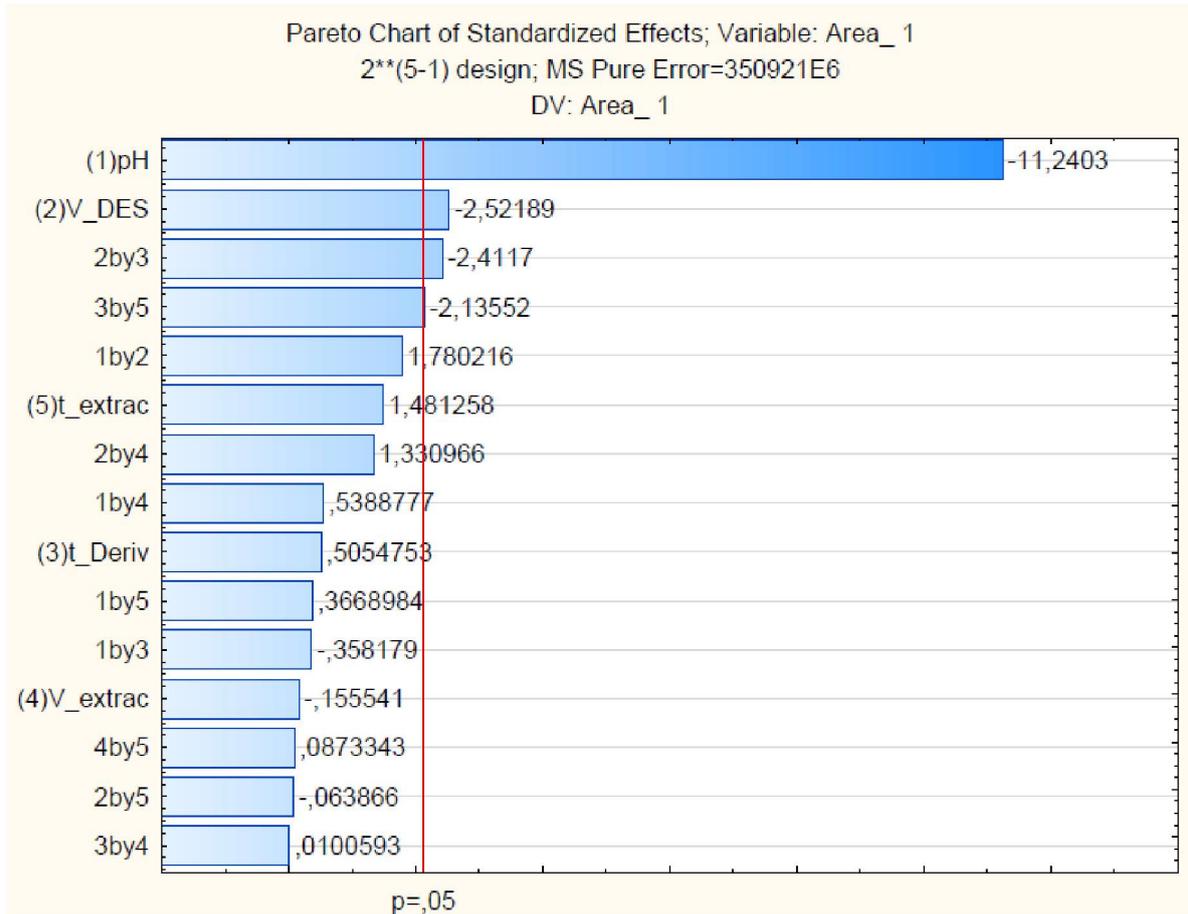
Para avaliar a magnitude relativa e a significância estatística dos efeitos, foi construído o gráfico de Pareto. Este gráfico exibe os valores absolutos dos efeitos padronizados. A Figura 27 ilustra os efeitos em ordem decrescente de seus valores absolutos.

A linha de referência no gráfico ( $p=0,05$ ) indica que os efeitos são estatisticamente significativos. A Figura 27 mostra que dois efeitos principais são estatisticamente significativos: pH e Volume do DES. Dois efeitos de interação também são significativos: Volume do DES com o tempo de derivatização e tempo de derivatização com o tempo de extração.

Para determinar se a associação entre a resposta e cada termo no modelo é estatisticamente significativa, foi feita a comparação com o valor-p para cada termo em relação ao seu nível de significância (Tabela 19)<sup>14</sup>. Portanto, se o valor-p for menor ou igual ao nível de significância, é possível concluir que há uma associação estatisticamente significativa entre a variável de resposta e o termo.

**Figura 27: Resultados do Planejamento Fatorial Fracionado: Gráfico do Pareto**

<sup>14</sup> Um nível de significância de 0,05 indica um risco de 5% de concluir que existe uma associação quando não existe uma associação real.



Geratriz: 1\*2\*3\*4\*(-5)

Os efeitos principais pH e volume do solvente eutético (Vol-DES) são estatisticamente significativos ao nível de 0,05. Pode-se concluir que as mudanças nessas variáveis estão associadas a alterações nas variáveis de resposta. Por outro lado, o efeito principal do tempo de derivatização (t-Deriv) não é estatisticamente significativo, ao contrário do observado para o efeito de interação com o volume do solvente.

Os efeitos de interação entre o volume do solvente eutético e o tempo de extração, apesar de significativos, apresentam uma significância muito baixa em comparação com o efeito do pH. Da mesma forma, o efeito da interação entre o tempo de derivatização e o tempo de extração foi considerado pouco significativo em comparação com o pH. Portanto, para a otimização das variáveis, foram considerados apenas o pH e o volume do solvente eutético, que são as variáveis mais significativas de acordo com o gráfico de Pareto.

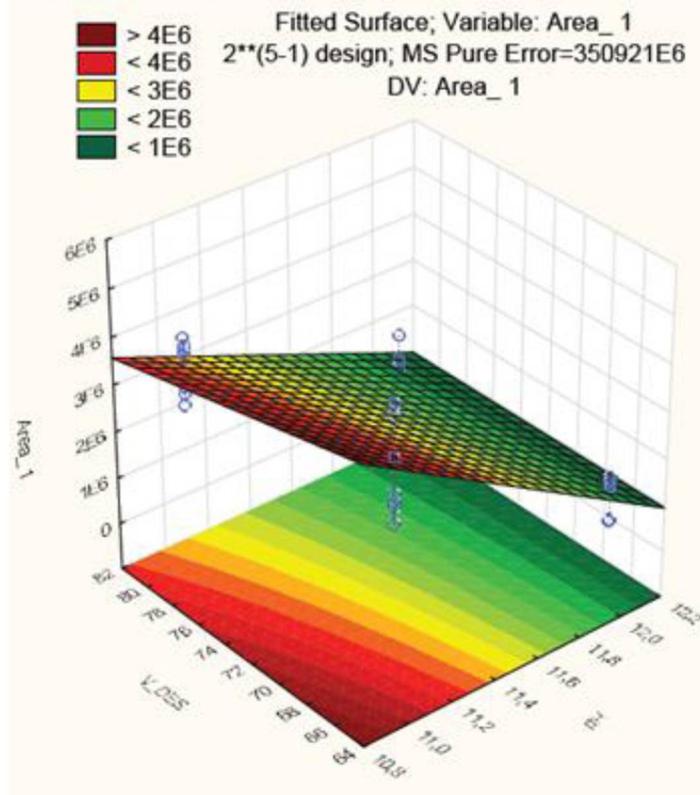
A análise de variância (ANOVA) na Tabela 19 mostra um valor de  $R^2$  de 0,90423, o que significa que 90,42% da variação total em torno da média é explicada pelo modelo de regressão. Apenas 9,58% da variação total permanece nos resíduos. Além disso, a ANOVA indica que os fatores pH e Volume do DES são significativos, bem como as interações entre o tempo de Derivatização e o volume do DES e entre o tempo de Derivatização e o tempo de Extração.

Tabela 19: Análise de variância (ANOVA)

ANOVA; Variância.: Área_ 1; R quadrado=0,90423; Adj:0,81444 (25112021.sta) 2**(51) desenho; MS Erro Puro =350921E6 DV: Área_ 1					
Factor	SS	df	MS	F	p
(1) pH	4,4337E+13	1	4,4337E+13	1,2634E+02	0,000000
(2) Vol_DES	2,2318E+12	1	2,2318E+12	6,3599E+00	0,022653
2 by 3	2,0411E+12	1	2,0411E+12	5,8163E+00	0,028253
3 by 5	1,6004E+12	1	1,6004E+12	4,5604E+00	0,048525
Erro Puro	5,6147E+12	16	3,5092E+11		
Total SS	5,8625E+13				

Na Figura 28 a metodologia de superfície de resposta (MSR) foi usada para quantificar e interpretar as relações entre as respostas (área do pico) e os efeitos dos fatores (pH e Volume do DES) definidos no planejamento fatorial fracionário (triagem). O objetivo foi descrever o comportamento dos dados e fazer previsões estatisticamente válidas.

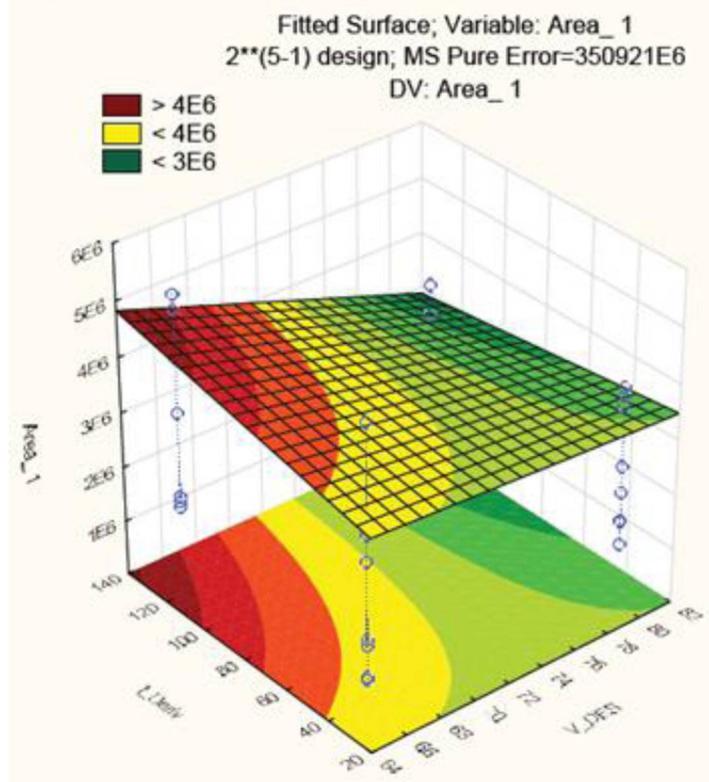
Figura 28: Metodologia de Superfície de resposta (MSR) para os fatores pH e Volume do DES



A Figura 28 mostra que os maiores valores de área do pico são obtidos com menores valores de pH, em conjunto com menores volumes do solvente eutético (V-DES). A análise desta MSR sugere que pH igual ou superior a 12 resulta na menor resposta, enquanto volumes do solvente eutético superiores a 80  $\mu$ L também resultam em áreas menores.

Dado o efeito de interação entre o volume do solvente eutético e o tempo de derivatização, foi gerado um gráfico de superfície de resposta para esses dois fatores. A Figura 29 ilustra o resultado do MSR para esses fatores, indicando que as maiores áreas do pico são obtidas com menores volumes do solvente eutético em conjunto com tempos de derivatização mais longos.

**Figura 29: Metodologia de Superfície de resposta (MSR) para os fatores V-DES e tempo de Derivatização**

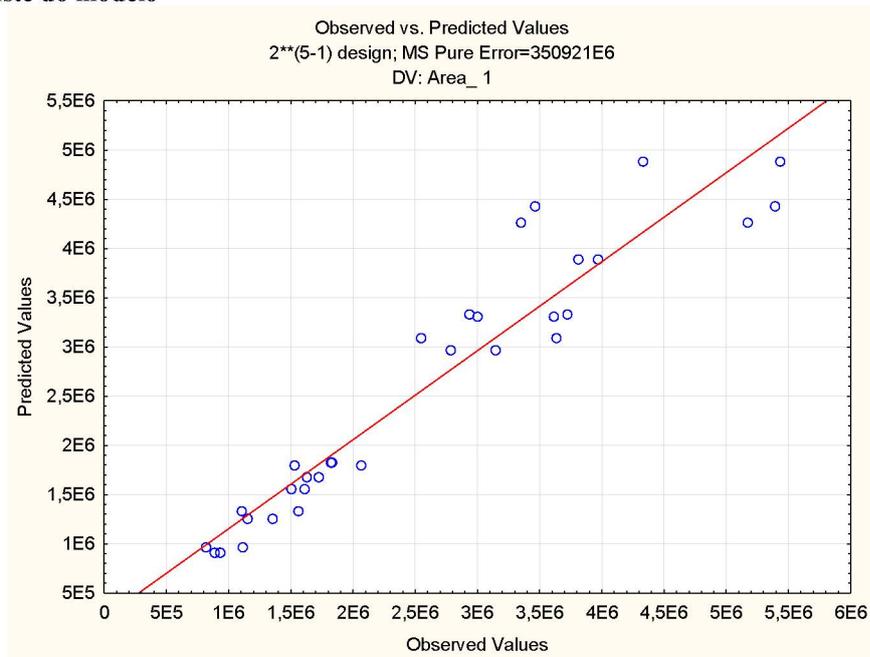


A Figura 29 mostra que os máximos valores de área do pico são obtidos com tempos de derivatização de 120 minutos e volumes do solvente eutético próximos de 64 µL. Esses resultados são consistentes com os obtidos para o efeito do pH sobre o volume do DES, onde as maiores áreas também são obtidas com menores volumes do solvente eutético.

O gráfico do ajuste do modelo da Figura 30 permite concluir que o modelo se ajusta bem aos dados, já que eles estão próximos à linha de tendência, indicando que o modelo é capaz de explicar o comportamento dos dados.

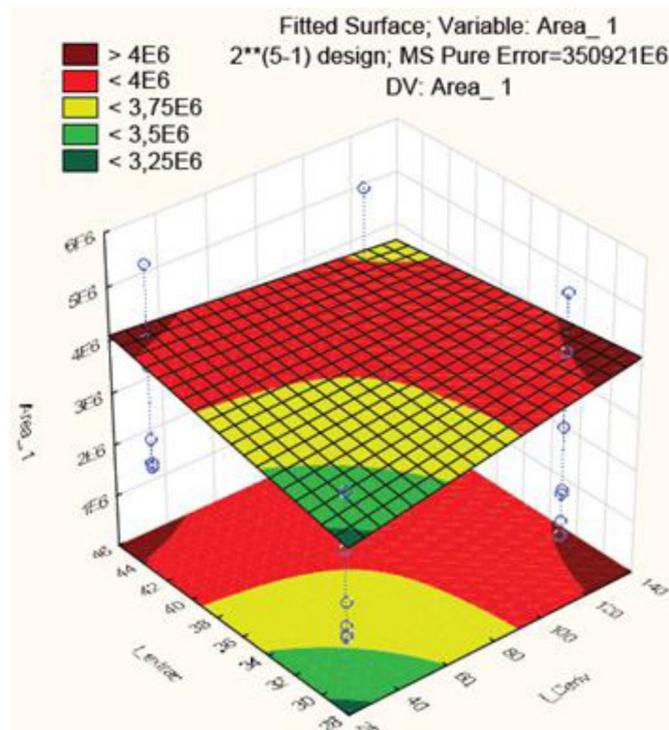
Neste trabalho o modelo define como variáveis significativas o pH e o volume do solvente eutético usado na derivatização, mas também mostra a significância de interação entre a variável volume do DES e o tempo de derivatização, porém, os três valores de significância são negativos, o seja, maiores volumes do solvente eutético precisaram menores tempos de derivatização, ou para menores tempos de derivatização será preciso maiores tempos de reação de derivatização, o qual torna o processo de derivatização mais longo e com maior consumo de energia.

**Figura 30: Ajuste do modelo**



A Figura 31 ilustra a análise da superfície de resposta (MSR) entre as variáveis tempo de derivatização e tempo de extração. No entanto, esse gráfico mostra um comportamento atípico para uma MSR, onde os maiores valores de área são encontrados nos extremos das variáveis. Portanto, optou-se por manter fixas as variáveis tempo de derivatização e tempo de extração na otimização, excluindo-as do processo.

**Figura 31: Metodologia de Superfície de Resposta (MSR) para os fatores tempo de derivatização e tempo de extração**



Com o objetivo de determinar os valores ideais das variáveis que resultam na melhor resposta em termos de área do pico, foi proposta a execução de um planejamento experimental Doehlert. Para a etapa de otimização, utilizou-se o planejamento matriz Doehlert, que se baseia na metodologia de superfície de resposta. Os coeficientes foram obtidos utilizando o método dos mínimos quadrados. O modelo foi avaliado por meio da análise de variância, e a estimativa dos erros foi obtida por experimentos no ponto central. A seguir, descreve-se o planejamento Doehlert.

#### 4.8 OTIMIZAÇÃO - PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL MATRIZ DOHELERT

Uma vez escolhido o número de fatores, é preciso determinar o domínio experimental. Os resultados do planejamento fatorial fracionado mostraram que as duas variáveis mais significativas são o pH e o volume do solvente eutético. Portanto, essas variáveis foram otimizadas. Com base nesses resultados, conclui-se que menores valores tanto de pH como de volume do solvente eutético resultam em maior área de pico na análise por CG-MS. Assim, ampliou-se a faixa de pH para valores na faixa de 10 a 12 conforme a Tabela 20. Isso foi realizado considerando que na análise univariada, valores de pH abaixo de 9 apresentaram resposta nula (Figura 22), e a triagem das variáveis mostrou que o pH era a variável mais significativa. Além disso, a faixa de volume do DES também foi ampliada, variando de 50 a 80  $\mu\text{L}$ , seguindo as recomendações de Torbati, que sugeriu uma faixa entre 65 e 85  $\mu\text{L}$  para estudos de volume de DES.

**Tabela 20: Matriz Doehlert para otimização de duas variáveis no procedimento de derivatização/microextração**

Experimento	Volume DES ( $\mu\text{L}$ )	pH
1	65	11.0
2	65	12.0
3	80	11,5
4	65	10.0
5	50	10,5
6	50	11,5
7	80	10,5
8 (PC)	65	11.0
9 (PC)	65	11.0
10 (PC)	65	11.0

(PC): Ponto central

Na análise fatorial fracionada, a área de pico do cromatograma da amostra foi definida como a resposta, sendo ela a única resposta considerada na otimização por MSR. Com base nos fatores e seus respectivos domínios experimentais, foram definidos os experimentos a serem realizados, de acordo com a Tabela 20.

Alguns fatores que não se mostraram significativos foram fixados com base no planejamento fatorial fracionado. Portanto, foram fixadas as seguintes:

- ✓ Tempo derivatização em 120 minutos: tendo em conta os resultados ilustrados na Figura 31, e os resultados do planejamento fatorial fracionado em que o tempo de derivatização não represento uma variável significativa, tal como é ilustrado no gráfico de Pareto (Figura 27).
- ✓ Volume do extrator (BuOH) em 2 mL: como resultado da aplicação da metodologia mLLE de extração onde resultou que 2 mL de BuOH representava o volume que facilito a extração do volume final de 1 mL. No entanto, esse volume também foi excluído da otimização, pois o planejamento fatorial fracionado revelou que não era uma variável significativa.
- ✓ Tempo extração em 30 minutos: do planejamento fatorial fracionado, ele resultou como não sendo uma variável significativa (Figura 27).

Anteriormente, foram fixados o volume do derivatizante (IBCF) em 20  $\mu$ L e os tempos de homogeneização por vórtex (1 min para ajuste do pH, 1 min para a derivatização e 2 min para a extração). Os resultados da ANOVA do planejamento Doehlert estão apresentados na Tabela 21.

**Tabela 21: ANOVA do planejamento Doehlert**

Factor	ANOVA; Var.: Área do pico; R-quadrado=0,94956; Adj:0,88652 2 fatores, 1 Blocos, 10 Runs; MS Residual=645603E5				
	DV: Área do pico				
	ss	DF	MS	f	p
(1) Vol DES( $\mu$ L)(L)	1,5273E+12	1	1,5273E+12	82,81674	0,002804
Vol DES( $\mu$ L)(Q)	8,6218E+11	1	8,6218E+11	46,75226	0,006402
(2) pH(L)	1,6163E+12	1	1,6163E+12	87,64523	0,002581
pH(Q)	9,0272E+11	1	9,0272E+11	48,95062	0,005995
1L por 2L	1,2991E+11	1	1,2991E+11	7,04419	0,076725
Falta de ajuste	2,0292E+11	1	2,0292E+11	11,00326	0,045151
Erro Puro	5,5325E+10	3	1,8442E+10		
<b>Total</b>	5,1202E+12	9			

Uma das vantagens do planejamento experimental Doehlert e da metodologia MSR é que eles fornecem os valores críticos otimizados das variáveis (fatores) definidos. Portanto, a Tabela 22 apresenta os valores críticos com base no domínio definido previamente. Portanto, foi estabelecido que o valor de área do pico, para o butil carbamato, previsto pelo modelo para a condição dos valores otimizados (pH de 10,4 e um volume de 75,4  $\mu$ L) é de 2.708.068 em unidades de área, valor esse muito próximo do valor obtido para o padrão 7 (ver Tabela 20), preparado a partir de um pH de 10,5 e um volume de DES de 80  $\mu$ L, que mostrou uma área de 2.815.655, próxima ao valor previsto (Tabela 22), evidenciando assim o ajuste do modelo e a adequação da otimização. No entanto, isso contrasta com os valores obtidos no planejamento fracionado (Figura 28), que indica áreas maiores para menores volumes do solvente eutético, demonstrando a necessidade da otimização do planejamento fracionado para esta pesquisa.

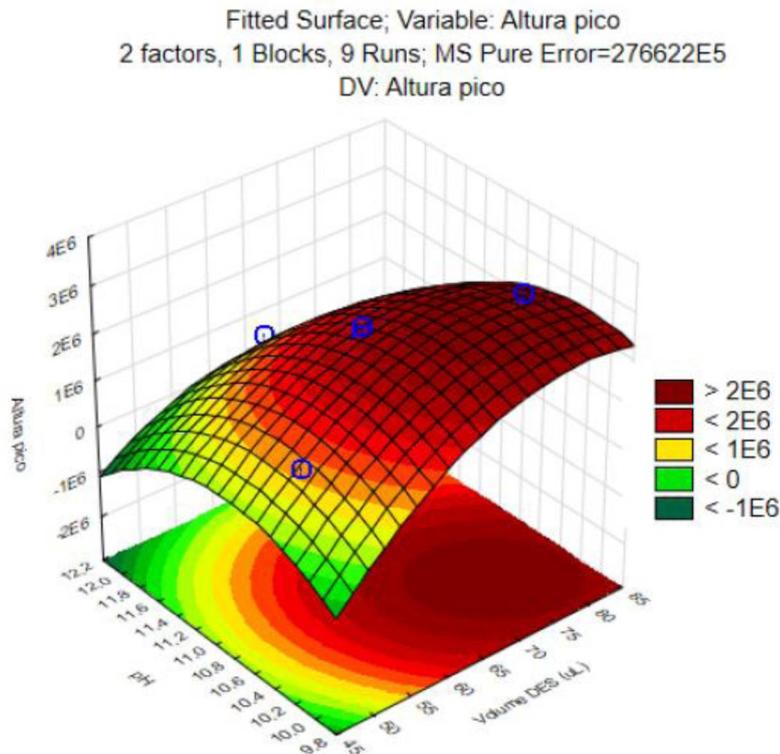
Tabela 22: Valores críticos (otimizados) da Derivatização da amônia

Factor	Valores Críticos; Variable: Área do pico		
	Solução: máximo valor Previsto como solução: 2708068,		
	mínimo Observado	Valores críticos	máximo Observado
V_DES	50,0000	75,3614	80,0000
pH	10,0000	10,4027	12,0000

A partir da matriz Doehlert, determinou-se que o volume do DES que permite otimizar a resposta da área do pico na análise cromatográfica é de 75,36  $\mu\text{L}$ , e o pH ajustado da amostra original deve ser mantido em pH 10,4, valores esses obtidos nos limites dos domínios e estabelecidos com base na matriz Doehlert. A análise do gráfico da superfície de resposta confirma os valores críticos obtidos (Figura 32).

A Figura 32 mostra que as maiores áreas de pico são obtidas quando se utilizam os maiores volumes do solvente eutético (próximos ao limite do domínio, 75  $\mu\text{L}$ ) em combinação com os menores valores de pH (10,4). Portanto, essa combinação de maiores volumes de DES e pH mais baixo permite obter áreas superiores a 2 milhões para o padrão analítico de 0,6  $\text{mg L}^{-1}$ , que foi testado em todos os experimentos do planejamento Doehlert.

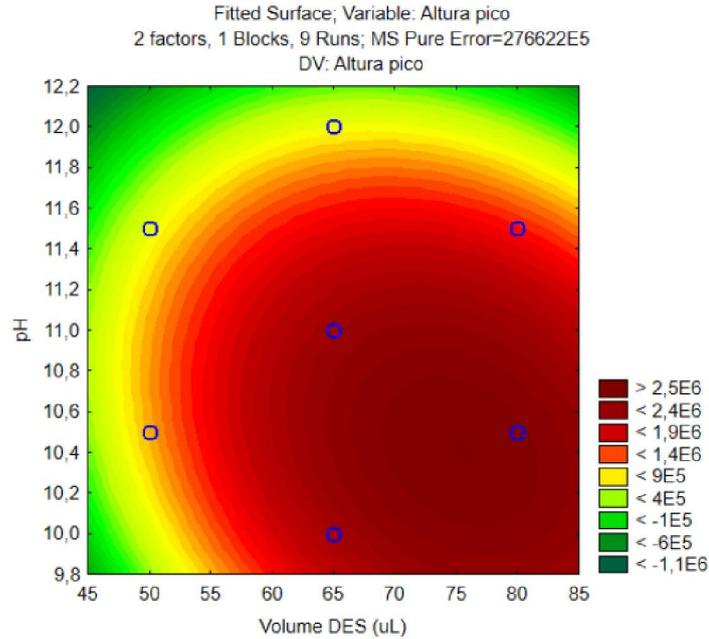
Figura 32: Superfície de Resposta do Volume do DES e o pH da amostra



Na Figura 33, é apresentado o gráfico de contorno dos fatores pH e Volume do solvente eutético. É possível observar que as maiores intensidades (área do pico superior a  $2,5 \times 10^6$ ) são obtidas na região

com volumes de DES na faixa entre 70 e 80  $\mu\text{L}$  e pH na faixa de 10,2 a 10,6, confirmando os valores críticos obtidos.

**Figura 33: Superfície de contorno para o planejamento Doehlrt**



#### 4.9 ETAPAS DE VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO AA-DLLME COM NADES

##### 4.9.1 Seletividade

A seletividade do método proposto neste trabalho foi avaliada conforme descrito no documento DOQ-CGCRE-008 (Acreditação (2020)). A Tabela 23 apresenta os resultados dessa avaliação. Antes de prosseguir com a análise, para cada conjunto de dados, empregou-se os testes de Dixon e Grubs para identificar a presença de dados anômalos (outliers), onde foi possível observar a ausência de outliers.

**Tabela 23: Avaliação das variâncias para determinação do efeito matriz**

Padrão $\text{mg L}^{-1}$	Efeito Matriz	Variância	Varição Entre Medias	$t_{\text{crítico}} (6,6)$ $t_{\text{Calculado}} = 2,45$	$F_{\text{crítico}} (6,6) = 5,82$ $F_{\text{Calculado}} (6,6)$
0,001	Com	$8,23 \cdot 10^8$	4,93	0,08	1,13
	Sem	$9,32 \cdot 10^8$			
0,08	Com	$1,26 \cdot 10^{10}$	-6,14	0,11	2,82
	Sem	$4,45 \cdot 10^9$			
1	Com	$2,83 \cdot 10^{12}$	3,89	0,05	4,57
	Sem	$6,19 \cdot 10^{11}$			

Para avaliar a exatidão dos resultados em relação a um valor tabelado de referência, também conhecido como valor real ou verdadeiro, utilizamos o teste  $t$ . O teste  $t$  compara duas médias em relação ao desvio padrão. O valor crítico para o teste  $t$  foi de 2,45 (para 6 graus de liberdade). Os resultados não mostraram diferenças significativas entre as médias em cada nível de concentração, tanto na presença

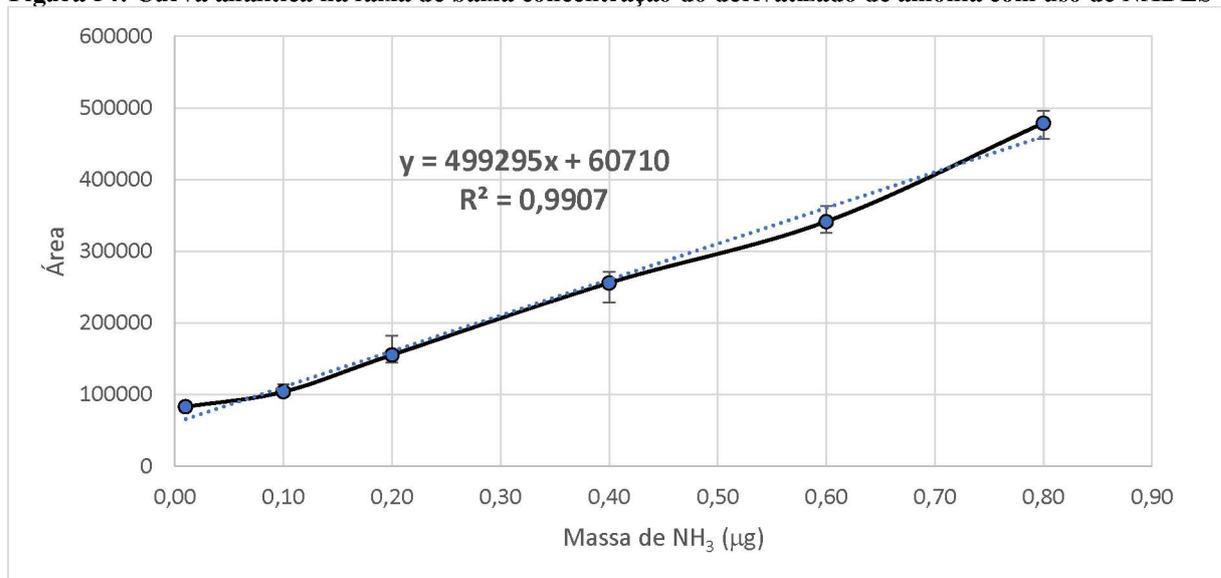
quanto na ausência da matriz, o que indica que o valor encontrado na amostra é igual ao valor verdadeiro. Como o valor de  $t$  (Student) encontrado não foi significativo, foi possível observar que a matriz não afeta o resultado em cada nível de concentração estudado.

A partir da Tabela 23, a relação entre as variâncias da amostra fortificada e a variância da solução padrão ( $\text{NH}_3$ ) foi inferior ao valor crítico de  $F$  ( $5,82(6;6)$ ), o que significa que não há diferenças significativas entre elas ( $F_{\text{cal}} < F_{\text{tab}}$ ). Como o valor de  $F$  encontrado com a equação foi menor que o valor de  $F$  encontrado na tabela ( $F_{\text{crítico}}$ ), conclui-se que o teste não foi significativo, demonstrando que a matriz não afeta a precisão em nenhum nível de concentração estudado. A variação percentual entre as médias para cada nível de concentração foi inferior a 10%, o que permite determinar que o método é seletivo.

#### 4.9.2 Linearidade/Faixa de trabalho/Faixa linear de trabalho/Sensibilidade

Para determinar a linearidade, foram construídas curvas analíticas com três réplicas para cada nível de concentração na faixa de  $0,001 \text{ mg L}^{-1}$  a  $1,000 \text{ mg L}^{-1}$  de amônia derivatizada (carbamato) (ou em unidades de massa  $0,01$  até  $10 \text{ } \mu\text{g}$  de  $\text{NH}_3$ ) (Figura 34 e 35). A análise estatística permitiu estabelecer que essa faixa de concentração avaliada possuía uma faixa de concentração muito ampla, resultando em alta dispersão nos níveis de concentração mais elevados. Portanto, considerou-se a possibilidade de estabelecer mais de uma curva analítica para reduzir a dispersão estatística dos dados. Assim, a faixa de concentração foi dividida em duas regiões, denominadas doravante como faixa de baixa concentração ( $0,001 \text{ mg L}^{-1}$  a  $0,080 \text{ mg L}^{-1}$ ) e faixa de alta concentração ( $0,080 \text{ mg L}^{-1}$  a  $1,000 \text{ mg L}^{-1}$ ). As curvas analíticas obtidas para essas duas faixas de concentração estão ilustradas na Figuras 34 e 35.

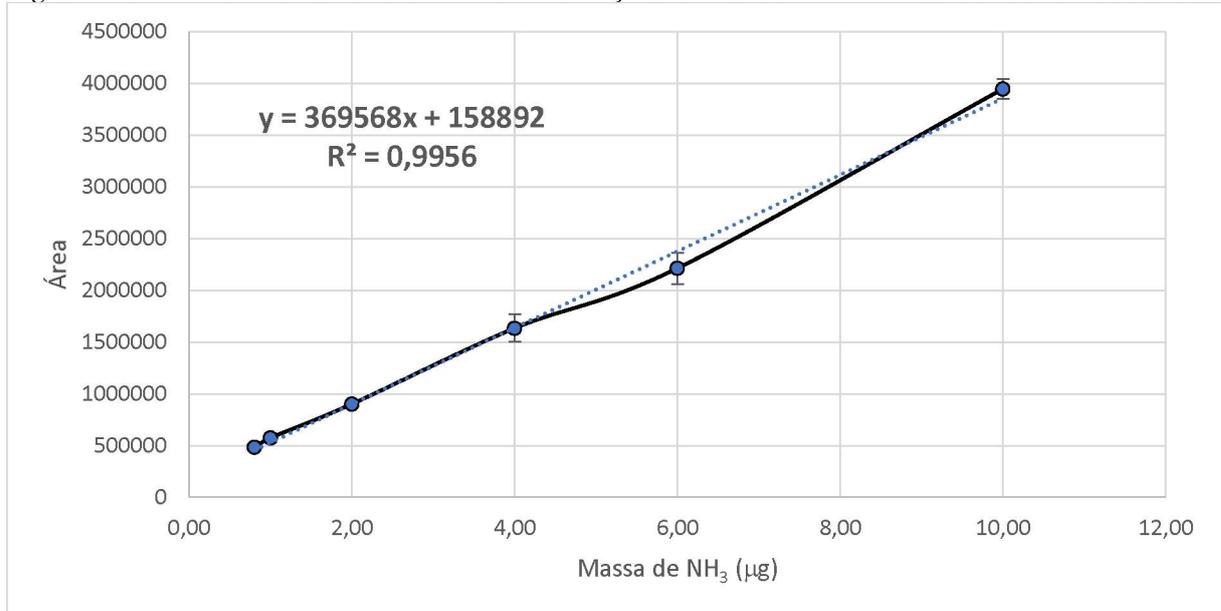
**Figura 34: Curva analítica na faixa de baixa concentração do derivatizado de amônia com uso de NADES**



Para cada curva, verificou-se inicialmente a ausência de valores anômalos em cada nível de concentração por meio do teste de Grubbs ( $C_{\text{crítico}}=2,290$ ,  $p=0,05$ ). A homoscedasticidade, ou seja, a homogeneidade da variância dos resíduos, foi avaliada pelo teste de Cochran. A hipótese sobre a

igualdade de variâncias foi rejeitada, pois  $g > g_{n,k}$ , e o valor  $g_{n,k}$  é obtido a partir da tabela de valores para o teste de Cochran.

**Figura 35: Curva analítica na faixa de alta concentração do derivatizado de amônia com uso de NADES**



Para avaliar a homoscedasticidade, calculou-se o valor  $C$  de Cochran (valor máximo da variância  $(7,83 \times 10^8)$ /somatória das variâncias  $\cdot (3,60 \times 10^9)$ ), obtendo-se um valor de 0,2175, que foi comparado com o valor crítico de  $C_{(crítico)} = 0,4450$ . Como resultado, observou-se que  $C_{(calculado)} < C_{(tabelado)}$ , confirmando a homoscedasticidade dos resíduos.

A equação da regressão linear foi obtida por meio do método dos mínimos quadrados ordinários não ponderados (MMQO), considerando que ambas as curvas apresentaram comportamento homocedástico, conforme demonstrado pelo teste de Cochran, que indicou homogeneidade na variância dos resíduos. Para cada nível de concentração da curva analítica, foram realizadas três réplicas. As Figuras 34 e 35 apresentam as curvas analíticas obtidas para os padrões de 0,001, 0,01, 0,02, 0,04, 0,06, 0,08  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  e 0,08, 0,10, 0,20, 0,40, 0,60 e 1,00  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  (ou em massa: 0,01; 0,10; 0,20; 0,40; 0,60; 0,80; 1,00; 2,00; 4,00; 6,00 e 10,00  $\mu\text{g}$  de  $\text{NH}_3$ ).

Após verificar a ausência de dados anômalos, foi confirmada a homogeneidade da variância dos resíduos por meio do gráfico de dispersão dos resíduos. As Figuras 36 e 37 mostram o comportamento aleatório dos resíduos para as duas curvas definidas, evidenciando a adequação do modelo matemático.

Também, com base nas curvas analíticas, determinou-se a sensibilidade do método proposto, que corresponde a inclinação da curva analítica (coeficiente angular). Os valores obtidos foram de 499295  $\mu\text{g}/\text{Unidade de área}$ , para a faixa de baixa concentração e 369568  $\mu\text{g}/\text{Unidade de área}$  para a faixa de alta concentração. A linearidade da curva também foi avaliada por meio do teste  $F$  na análise da variância (ANOVA) da regressão. O valor calculado de  $F_{(calculado)} = 1469,73$  e 706,02 para a curva de alta e baixa concentração, tendo como  $F_{(crítico)} = 0,003$ , portanto  $F_{(calculado)}$  é  $\gggg > F_{(crítico)}$ , dessa forma

conclui-se que a um nível de significância de 5% a faixa de concentração apresenta linearidade na faixa de concentração estudada.

Figura 36: Gráfico de dispersão de Resíduos em faixa de baixa concentração

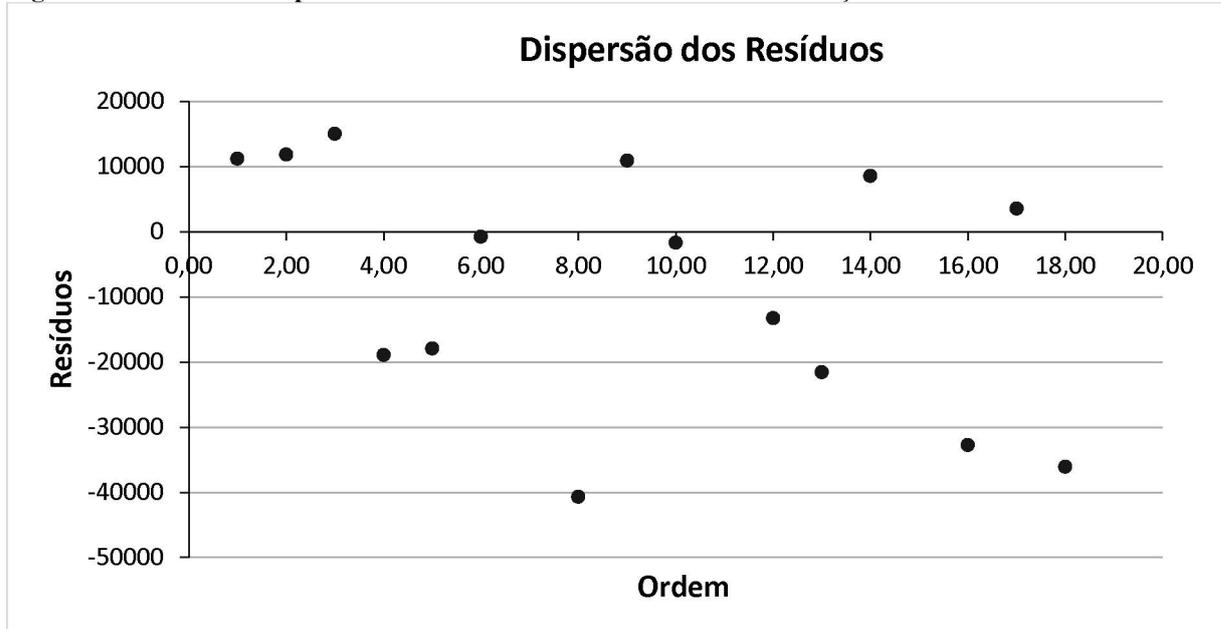
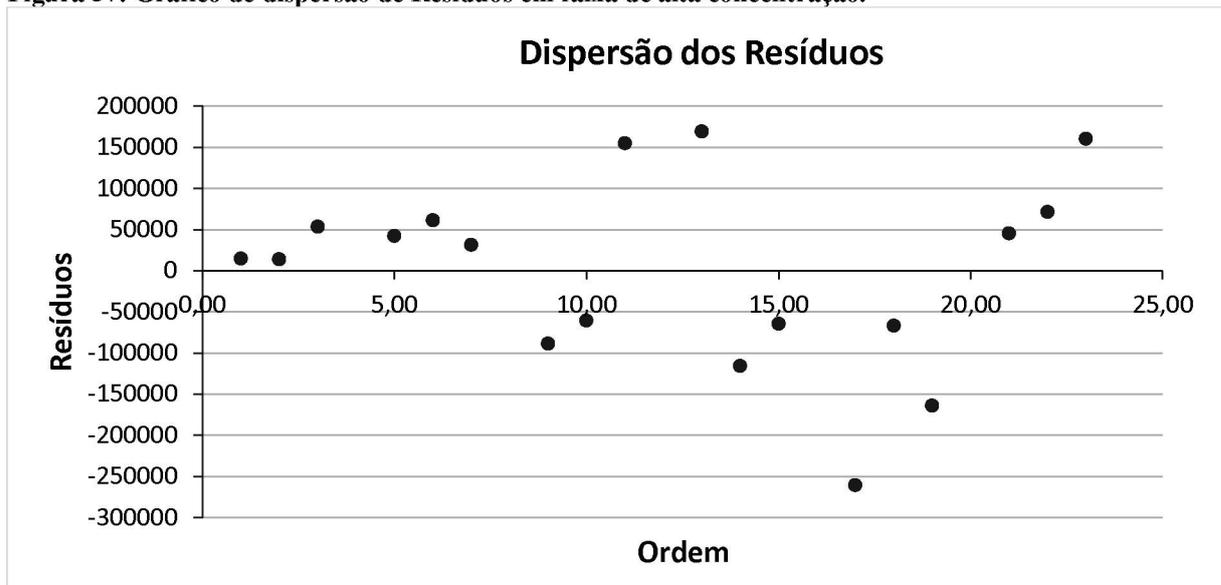


Figura 37: Gráfico de dispersão de Resíduos em faixa de alta concentração.



#### 4.9.3 Limite de Detecção (LD)

O LD foi determinado a partir da determinação do limite de quantificação (LQ) por meio da seguinte equação 15:

$$LD = \frac{LQ}{3,3} = \frac{0,001 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}}{3,3} = 0,0003 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1} = 0,303 \text{ ppb} \quad (15)$$

Fonte: Equação 12 item 10.2.4.6 DOQ -CGCRE-008

No entanto, o LD não foi determinado pela expressão  $LD = H \cdot t_{(n-1; 1-\alpha)} \cdot s$ , pois para a presente pesquisa os valores dos brancos obtidos para as curvas analíticas realizadas representavam valores negativos de concentração, e em consequência valores negativos de LD que não representavam o comportamento dos padrões e da curva analíticas.

#### 4.9.4 Limite de Quantificação (LQ)

O LQ de um método analítico geralmente correspondendo ao padrão de calibração de menor concentração (excluindo o branco) que faz parte da curva analítica. Neste estudo, o LQ foi determinado experimentalmente. Foi preparado onze (11) padrões de  $0,001 \text{ mg L}^{-1}$  de amônia e determinadas as áreas dos picos de cada solução por meio de cromatogramas. Em seguida, o teste Q foi aplicado para estabelecer a presença de dados anômalos. Os resultados estão apresentados na Tabela 24.

**Tabela 24: Cálculo do teste Q para padrões de  $0,001 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  de  $(\text{NH}_3)$**

Faixa	Próximo	Qcal	Qtab <sub>10-</sub>	Qcal < Qtab
71555	8746	0,1222	0,466	aceite
71555	1810	0,0253	0,466	aceite

Com base nos valores obtidos, conclui-se que não há dados anômalos, pois o  $Q_{\text{calculado}} < Q_{\text{tabelado}}$  para todos os dados analisados. Em seguida, foi avaliada a precisão e a recuperação do LQ, calculando-se a recuperação (%) e o coeficiente de variação (%), conforme o documento INMETRO 10.2.6.1.1, DOQ-CGCRE-008. Os dados estão apresentados na Tabela 25.

**Tabela 25: Cálculo de CV para curva NADES**

Desvio Padrão	Média	DPR (CV)	Q <sub>(crítico)</sub>
23013,92	113694	0,2024	2,23

A Tabela 6 do documento INMETRO (DOQ-CGCRE-008) estabelece os critérios de aceitação de repetibilidade. Para uma concentração do analito  $0,001 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{NH}_3$  o desvio padrão relativo (DPR) máximo aceitável é de 30%. Neste estudo, o DPR calculado foi de 20,24%, o que significa que os valores obtidos para o padrão de  $0,001 \text{ mg L}^{-1}$  ( $\text{NH}_3$ ) atendem aos critérios de repetibilidade sendo então considerado esta concentração como o limite de quantificação para o método analítico.

#### 4.9.5 Tendência/Recuperação

A percentagem de recuperação calculada a partir das determinações das áreas dos cromatogramas das 7 réplicas preparadas em cada concentração são apresentados na Tabela 26.

**Tabela 26: Resultados do teste de recuperação (%)**

Concentração do Padrão $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	Massa inicial $\mu\text{g}$	Porcentagem de Recuperação (%)		
		Desvio Padrão	Média	DPR (%)
0,001	0,100	1,238	89,72	1,380
0,080	8,000	7,998	100,26	7,977
1,000	100,000	9,480	91,31	10,382

De acordo com a Tabela 5 do documento INMETRO DOQCGcre-008, os valores aceitáveis para cada nível de concentração, apresentados na Tabela 26, mostram que, para os padrões de 0,001 e 0,08 mg L<sup>-1</sup> (NH<sub>3</sub>), o valor médio de recuperação está dentro da faixa aceitável de 40% a 120% e 80 a 110%. No entanto, os dados mostram que o valor médio de recuperação para o padrão de amônia de 1,00 mg L<sup>-1</sup> se encontra abaixo da faixa aceitável de 97-103 %. Isso pode ser devido ao fato de que essas concentrações estão no limite da faixa linear da curva analítica.

O teste F calculado para essa faixa e as recuperações obtidas indicam que essas concentrações estão provavelmente no limite da faixa linear de trabalho do método analítico. Uma revisão dos dados mostra os maiores resíduos ocorrendo nas maiores concentrações. Portanto, os padrões analíticos de 0,2; 0,4; 0,6 e 1,0 mg L<sup>-1</sup> mostraram os valores máximos de resíduos obtidos para toda a curva analítica.

#### 4.9.6 Precisão do método analítico

A precisão é geralmente expressa por meio do desvio padrão e do coeficiente de variação (CV), que é expresso em porcentagem (%). Também conhecido como desvio padrão relativo (DPR). Foi calculado de acordo com a equação 10 para cada padrão da curva analítica. Os resultados estão ilustrados na Tabela 27.

**Tabela 27; Precisão (CV) curva analítica com NADES**

Concentração	0,001	0,010	0,020	0,040	0,060	0,080	0,100	0,200	0,400	0,600	1,000
DPR (%)	5,60	9,85	17,34	6,08	6,44	4,70	2,65	14,81	10,88	4,37	1,53

O valor médio do coeficiente de variação para a curva analítica foi de 7,66%, demonstrando que o método analítico é preciso e apresenta repetitividade e reprodutibilidade. Com a confiabilidade do método analítico verificada, é possível aplicá-lo ao estudo de campo. Os métodos analíticos presumem a característica verde dos procedimentos que usam solventes eutéticos em sua performance, nesta pesquisa foi avaliada as características de efeito ambiental do método NADES mediante a metodologia Agreeprep, que se descreve a continuação.

#### 4.10 Avaliação do desempenho ambiental da metodologia analítica

Neste trabalho, propõe-se avaliar o desempenho ambiental através do uso da ferramenta desenvolvida por Wojnowski, W. Et al (2022), chamada de métrica AGREEprep, que enfatiza o preparo de amostras. Essa métrica é baseada em 10 categorias de impacto, que foram recalculadas para sub-pontuações na escala 0 e 1 e posteriormente utilizadas para calcular a pontuação final da avaliação (Anexo 1). Os critérios de avaliação incluíram a escolha e utilização de solventes, materiais e reagentes, geração de resíduos, o consumo de energia, o tamanho da amostra e o rendimento. O procedimento de avaliação foi realizado por meio de um software intuitivo e de acesso aberto AGREEprep 0.91 (Tabela

28), que produz um pictograma de fácil leitura com informações sobre o desempenho geral e a estrutura das ameaças.

Neste estudo, aplicou-se a metodologia do AGREEprep para comparar três métodos diferentes de avaliação da amônia no ar ambiente: o método de Indofenol com amostragem ativa, o método de derivatização com catalisadores de Pyr e extração com clorofórmio, e o método catalisado por NADES com extração com BuOH.

**No Critério 1**, que avalia o preparo da amostra, atribuiu-se a pontuação máxima (1,00) para o preparo dos NADES, considerando que a amostragem foi realizada de forma passiva, enquanto o método de Pyr é realizado com análise Ex Situ e o indofenol é realizado com amostragem ativa.

**No Critério 2**, destaca-se a importância de reduzir o consumo de materiais ou reagentes perigosos. No caso do método NADES, foi empregado NaOH em uma quantidade de 0,0016 g (200  $\mu\text{L}$  de  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ ), enquanto no Método de Pyr foram utilizados 100-200  $\mu\text{L}$  de Pyr, 100-200  $\mu\text{L}$  de HCl ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ) e 150-300  $\mu\text{L}$  de  $\text{CHCl}_3$  (totalizando 500  $\mu\text{L}$ ). Já para o método de Indofenol, foi utilizado um volume de amostra de 10 mL, adicionando 5 mL de solução de fenol e 2,5 mL de solução de hipoclorito (totalizando 25 mL).

**O Critério 3** considera a sustentabilidade, removibilidade e reuso dos materiais empregados. No método que utiliza NADES, todos os reagentes são biodegradáveis, e os materiais empregados foram lavados e reutilizados durante todo o processo de determinação das concentrações das amostras. Portanto, esta metodologia foi considerada como tendo uma sustentabilidade superior a 75%, enquanto os métodos de Pyr e Indofenol foram classificados com sustentabilidade na faixa entre 50 e 75%, devido ao uso de reagentes não biodegradáveis.

**No Critério 4**, que avalia a geração de resíduos, o principal fator considerado é o volume de amostra extraído. Tanto o método que utiliza NADES quanto o método de Pyr extraem um volume de 10 mL, enquanto o método de Indofenol absorve 25 mL.

**No Critério 5**, que avalia o volume da amostra usado no procedimento analítico, o método que utiliza NADES emprega apenas 1 mL de amostra, enquanto o método de Pyr utiliza 5 mL e o método de Indofenol utiliza 25 mL.

**O Critério 6** avalia o desempenho das amostras com base na quantidade de amostras que podem ser processadas por hora. O método que utiliza NADES pode processar 32 amostras por hora, enquanto os métodos de Pyr e Indofenol conseguem processar 16 amostras por hora.

**No Critério 7**, avalia-se a automatização da metodologia analítica. Em todos os métodos, o procedimento é realizado manualmente, com seis etapas no caso do uso de NADES e cinco no caso de Pyr e Indofenol. As etapas incluem a adição de reagentes, homogeneização por vórtex, entre outras.

O consumo energético é avaliado pelo **Critério 8**, onde a voltagem de operação (110-220 V) é multiplicada pela corrente necessária para cada equipamento (Amperes) para obter a potência de operação dos equipamentos. Esta potência é dividida pelo tempo de operação em horas e finalmente, pelo número de amostras, resultando no consumo energético expresso em Watts por hora por amostra.

Para o método que utiliza NADES, a soma da potência do vórtex, do banho-maria e do concentrador resulta em um consumo energético de 0,02 W/h/Amostra. Para os métodos de Pyr e Indofenol, a soma das potências resulta em 0,02 W/h/Amostra.

No **CrITÉrio 9**, avalia-se o tipo de equipamento utilizado para a análise das amostras processadas. Tanto os métodos que utilizam NADES quanto os que utilizam Pyr realizaram a metodologia analítica com CG-MS, enquanto o método de Indofenol utilizou o espectrofotômetro visível.

No **CrITÉrio 10**, avalia-se a segurança para o operador com base nas Fichas de Informações de Segurança dos reagentes químicos utilizados em cada metodologia. Os resultados de aplicação desta metodologia são resumidos na Tabela 28.

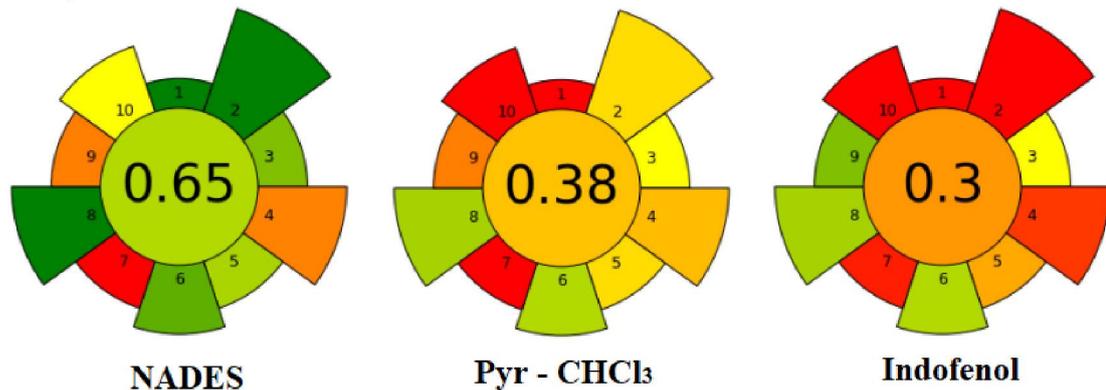
**Tabela 28; Resultados da avaliação de desempenho ambiental Metodologia AGREEpre**

CrITÉrio	Descrição do CrITÉrio	Peso padrão	Método		
			NADES	Pyr	Indofenol
1	Preparo da amostra <i>In Situ</i>	1	1,00	0,00	0,00
2	Reduzir o consumo de materiais ou reagentes perigosos	5	1,00	0,43	0,00
3	Considera a sustentabilidade, removibilidade e reuso dos materiais empregados	2	0,75	0,50	0,50
4	Geração de resíduos	4	0,26	0,37	0,11
5	Volume da amostra usado no procedimento analítico	2	0,67	0,43	0,33
6	Desempenho das amostras com base na quantidade de amostras	3	0,82	0,65	0,65
7	Automatização da metodologia analítica	2	0,00	0,00	0,06
8	Consumo energético	4	1,00	0,68	0,68
9	Tipo de equipamento utilizado para a análise	2	0,25	0,25	0,75
10	Segurança para o operador com base nas Fichas de Informações de Segurança dos reagentes	3	0,50	0,00	0,00
			0,65	0,38	0,30

Para o método que utiliza NADES, foram identificados o caráter corrosivo do NaOH usado para ajustar o pH e o caráter irritante do ácido málico, com 2 níveis de perigosidade. Os métodos de Pyr e Indofenol apresentam pelo menos dois fatores de risco para cada reagente (líquido e vapor facilmente inflamáveis, nocivo por ingestão, nocivo em contato com a pele, nocivo por inalação), totalizando 4 ou mais níveis de perigosidade.

Portanto, esses métodos foram classificados com alto risco. A Figura 38 apresentam os pictogramas de desempenho ambiental, que resultaram da avaliação dos dez (10) critérios. A cor do círculo interno (Figura 38) e a pontuação geral atribuída indicam o desempenho geral da preparação da amostra, com valores possíveis variando de 0 a 1. Uma pontuação global de 0 representa o pior desempenho em todos os critérios, enquanto uma pontuação global de 1 representa o melhor desempenho em todos os critérios ou ausência de etapas de preparação da amostra.

**Figura 38: Resultados da avaliação de desempenho ambiental AGREEprep do procedimento para determinação de amônia no ar ambiente**



É claramente perceptível que o método que utiliza NADES foi considerado ambientalmente mais favorável, com uma pontuação de 0,65. Por outro lado, o método de Pyr não é considerado uma abordagem ambientalmente amigável e recebe uma classificação de 0,38. Por fim, a metodologia do Indofenol é considerada como tendo efeitos significativos e recebe a pior classificação, com um valor de 0,3.

Ao redor do círculo, existem 10 partes, cada uma correspondendo a um dos critérios de desempenho. O comprimento de cada parte reflete o peso atribuído ao respectivo critério de avaliação, enquanto a cor de cada parte indica o desempenho nesse critério. Para o método que utiliza NADES, seria necessário trabalhar no futuro em arranjos que permitam a automação progressiva dessa metodologia. Também é possível reduzir o volume de resíduos, diminuindo o volume de extração, considerando a boa sensibilidade determinada na validação dessa metodologia analítica.

Avaliado analítica e ambientalmente o método, este foi testado em campo mediante estudo realizado no centro politécnico da UFPR em Curitiba.

#### 4.11 AMOSTRAGEM PASSIVA DE AMÔNIA COM SOLUÇÃO ABSORVENTE

##### 4.11.1 Área de estudo

Os amostradores de coleta de amônia no ar atmosférico foram posicionados no centro Politécnico na UFPR, de acordo com as coordenadas apresentados na Tabela 29 e na Figura 39.

**Tabela 29: Localização e descrição pontos de coleta de amônia no ar**

Pontos	Nome	Latitude Sul	Longitude O	Descrição
1	LPH	25°26'59,03"	49°14'9,25"	Tráfego intenso Linha verde
2	Saída BR-277	25°26'56,86"	49°13'49,53"	Tráfego intenso com caminhões
3	Saída R.C.H. Dos Santos	25°27'6,28"	49°13'48,10"	Alto tráfego veicular e de ônibus
4	Saída Veicular	25°27'12,98"	49°13'58,15"	Tráfego de veículo leve principalmente
5	Academia	25°27'13,97"	49°14'10,99"	Tráfego mínimo de todo tipo
6	LabQAM	25°27'2,13"	49°14'3,72"	Mínima influência de veículos
6B	Petrobras	25°27'2,13"	49°14'3,72"	Mínima influência de veículos
6C	CASA	25°27'29,82"	49°14'4,10"	Efeito veículos

**Figura 39: Localização dos pontos de coleta de amônia no centro politécnico da UFPR**



Os pontos 6 e 6B foram localizados no laboratório de análise como pontos de controle. Os pontos de coleta foram escolhidos considerando diversas fontes de influência. Por exemplo, o ponto 1 (Laboratório de Pesquisa Hidrogeológicas - LPH) é influenciado pelo tráfego intenso de veículos leves, ônibus e caminhões, enquanto o ponto 2, próximo à saída veicular da BR-277 está submetido a intenso fluxo de veículos leves e caminhões. O ponto 4, próximo à guarita da academia foi selecionado devido ao baixo tráfego de veículos. As imagens na Figura 40 ilustram os amostradores em cada ponto de coleta.

Cada amostra corresponde a um filtro com solução absorvente exposto no amostrador por sete (7) dias consecutivos. Posteriormente, essas amostras são coletadas e encaminhadas ao laboratório, onde são submetidas ao processo de extração. Os analitos são extraídos com um volume de 10 mL de água Milli-Q. Foram testados volumes da amostra extraída de 5 mL (diretamente) e diluições de 0,5 mL e 1 mL no processo de derivatização.

Os resultados analíticos das amostras coletadas diretamente da solução extratora mostraram picos fora da faixa linear da curva de calibração. Portanto, optou-se por desconsiderar o procedimento de coleta direta de 5 mL da amostra extraída para o restante das análises, tomando para os cálculos das concentrações volumes de 1 mL de amostra extraída e levados a 5 mL para sua derivatização.

**Figura 40: Fotografias dos pontos de coleta de Amônia UFPR**



Ponto 1: LPH



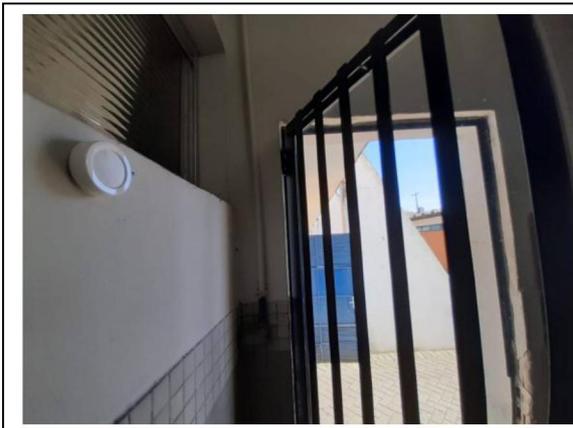
Ponto 2: Saída BR-277



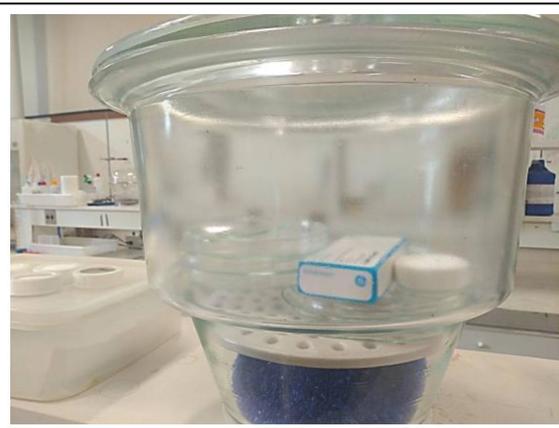
Ponto 3: Saída Pedestre R. C.H Dos Santos



Ponto 4: Saída Veicular



Ponto 5: Guarita Academia



Ponto 6: Dessecador LabQAM

#### 4.11.2 Determinação do coeficiente de difusão

O coeficiente de difusão da amônia foi calculado utilizando a equação 12, considerando os valores médios de temperatura (K) e de pressão atmosférica (1,03 atm) determinados a partir dos dados fornecidos da estação do SIMEPAR, localizada no Centro Politécnico da UFPR em Curitiba. Os valores de **a** e **b** na equação do coeficiente de difusão para amônia são **a** = 0,306 e **b** = 37,12, assim o valor

médio do coeficiente de difusão obtido a partir das condições ambientais (P e T) no período de coleta foi de  $1,7089 \cdot 10^{-5} \pm 2,62 \cdot 10^{-7} \text{ (m}^2\text{s}^{-1}\text{)}$ .

#### 4.11.3 Concentração de amônia no ar ambiente

Os dados de concentração foram determinados a partir da equação 11, os parâmetros para determinação das concentrações foram a massa da amostra coletada (m), obtida a partir das curvas analíticas em ( $\mu\text{g}$ ), o comprimento do percurso de difusão do amostrador desenhado  $L = 0,012 \text{ (m)}$ , coeficiente de difusão  $1,7089 \cdot 10^{-5} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ , a área da seção transversal do percurso de difusão  $A = 0,1735 \text{ (m}^2\text{)}$  (47 mm de diâmetro interno), e o tempo de amostragem de sete dias (604800 s). A Figura 41 mostra a distribuição das concentrações de amônia no centro politécnico no período compreendido entre 11 de julho de 2022 e o 14 de março de 2023 para cada ponto de coleta.

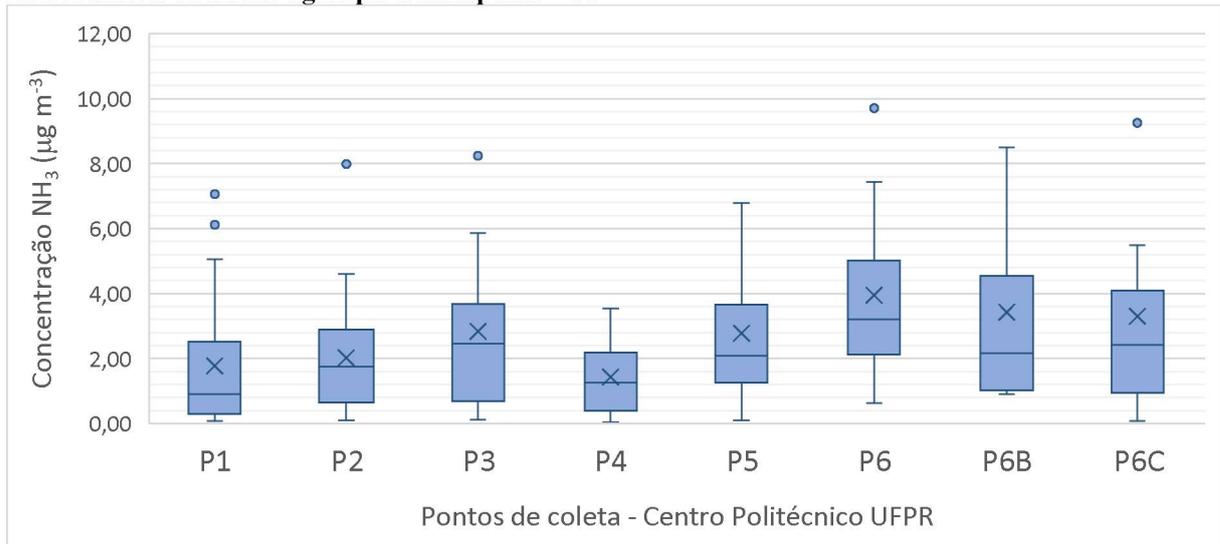
Inicialmente, foram testadas concentrações de solução absorvente de 5%, conforme ao protocolo seguido por Felix e Cardoso (2012). No entanto, os cromatogramas apresentaram picos muito intensos que interferiram na quantificação da área do pico, tornando necessárias diluições da solução absorvente e das amostras. Concentrações de solução absorvente de 3% também foram testadas, mas novamente diluições foram necessárias devido à intensidade dos picos nas amostras coletadas em campo. Por fim, concentrações de soluções absorventes semelhantes às propostas por Lima (2011), da ordem de 0,3 a 0,5%, foram avaliadas.

É importante advertir que os pontos acima das caixas representam dados anômalos que podem indicar valores extremos. Portanto, a análise é realizada com base no índice interquartil (IQR), que é comumente usada na representação de gráficos de caixa (box plot) para identificar os dados que se encontram fora dos extremos. O IQR é calculado a partir dos quartis primeiro e terceiro.

O IQR é uma medida de dispersão dos dados e é útil para avaliar a dispersão dos valores centrais. Quanto maior o valor do IQR, maior a dispersão dos dados centrais na amostra. Portanto, o IQR é um indicador essencial para interpretar estudos como este, na análise da concentração de amônia em cada ponto de coleta. Além disso, a análise dos coeficientes de variação demonstrou diferenças na variabilidade das concentrações de amônia entre os pontos de coleta, com o ponto LPH mostrando a maior variabilidade relativa. Isso fornece informações importantes para a interpretação dos resultados do estudo e destaca a influência das diferentes fontes de emissões de amônia nos pontos de coleta.

Assim, a interpretação da amplitude interquartil é relativamente direta. Quanto maior o valor do intervalo interquartil, mais distribuídos os dados centrais da amostra, e quanto menor o intervalo interquartil significa que os dados estão mais próximos da mediana.

**Figura 41: Distribuição das concentrações de amônia no centro politécnico julho de 2022 até março de 2023. Número de amostragem para cada ponto = 34**



É importante notar que os pontos próximos as rodovias de alto tráfego, como BR 116 (ponto 1) e a BR 277 (Ponto 2), apresentaram as menores medianas e os menores IQR (Tabela 30), indicando menor variabilidade nas concentrações semanais em relação à média. No entanto, os coeficientes de variação diferem significativamente. O ponto 1 (LPH) registrou os maiores coeficientes de variação, enquanto o ponto 2, próximo à BR 277, apresenta um dos menores coeficientes de variação registrados durante o período de estudo. Isso sugere que esses dois pontos têm diferenças significativas em termos de emissões e fontes geradoras de amônia.

**Tabela 30: Resumo dados de tendência central para concentrações de amônia ( $\mu\text{g m}^{-3}$ ) nos pontos de coleta**

Ponto	LPH	BR-277	Saída Shopping	Saída Veicular	Academia	Casa
Percentil 25	0,2836	0,5552	0,6302	0,3797	1,2459	0,9052
Mediana	0,9076	1,7436	2,4515	1,2503	2,0873	2,4223
Percentil 75	2,7884	2,8954	3,8639	2,3206	3,7556	4,7940
IQR	2,5048	2,3402	3,2337	1,9410	2,5096	3,8889
Desvio Padrão	2,0376	1,6611	2,5439	1,1960	2,2460	3,2975
Variância	4,1520	2,7592	6,4715	1,4305	5,0445	10,8734
Coefficiente de variação	1,1482	0,8227	0,8982	0,8384	0,8085	0,9992

O ponto 3, próximo à Rua Francisco H. Dos Santos (saída Shopping) e o ponto 6C que corresponde a casa localizada a 1,2 km do Centro Politécnico registraram as maiores variações e os maiores IQR. Esses dois pontos são distintos dos outros porque apresentam uma maior influência do tráfego de ônibus. O ponto 4 localizado na saída veicular, distanciada 590 m da estação de SIMEPAR na direção sudoeste, caracteriza-se por ter as menores medianas, o menor IQR, o menor desvio padrão, a menor variância e os menores coeficientes de variação. Isso pode ser atribuído ao menor fluxo veicular que afeta esse ponto. Portanto, esse ponto permite avaliar a influência dos veículos na geração de

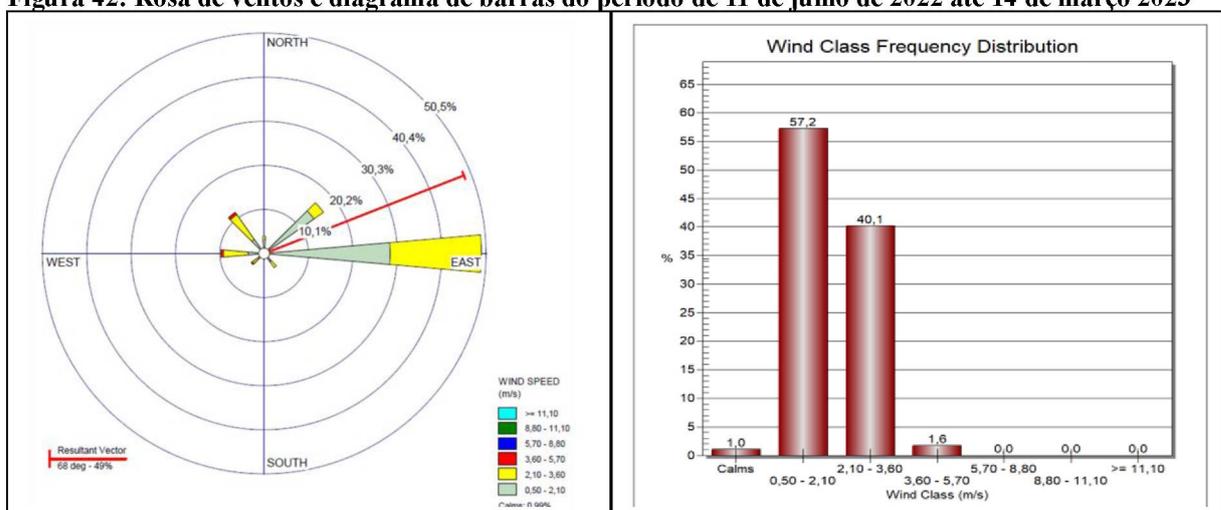
amônia, especialmente considerando as baixas velocidades do vento predominantes durante o período de estudo. Assim, é importante considerar os efeitos da velocidade e direção do vento na dispersão dos contaminantes.

A dispersão dos contaminantes no ar atmosférico depende significativamente das condições meteorológicas, como a velocidade e direção do vento. Neste estudo, as velocidades predominantes registradas para o vento no período avaliado foram relativamente baixas ( $0,5 - 2,10 \text{ m s}^{-1}$ ), o que permite acrescentar que somente as fontes próximas poderão influenciar nos pontos de coleta. Portanto, é preciso avaliar os efeitos da velocidade e direção dos ventos para estimar a influência das condições meteorológicas na dispersão dos contaminantes.

#### 4.12 Análise dos dados meteorológicos

Os dados fornecidos pelo SIMEPAR da estação meteorológica localizada no centro politécnico (Coordenadas Latitude S  $49^\circ 13' 49.188''$  e longitude O  $25^\circ 26' 53.412''$ ) foram utilizados para a determinação as direções e velocidades predominantes dos ventos. Isso foi feito por meio do software livre WRPlot da Lakes Environmental, para a construção da rosa de ventos é preciso subministrar os dados de velocidade e direção do vento, temperatura ambiente e umidade relativa, todos eles em frequência horariam. Tanto a velocidade quanto a direção predominante são critérios muito importantes para definir as regiões geográficas que serão predominantemente afetadas pela dispersão dos contaminantes nas proximidades do Centro Politécnico da UFPR. A Figura 42 ilustra a rosa dos ventos plotada com base nos dados meteorológicos totais no período de estudo, compreendido entre 11 de julho de 2022 e 14 de março de 2023.

**Figura 42: Rosa de ventos e diagrama de barras do período de 11 de julho de 2022 até 14 de março 2023**



Foram representadas graficamente as Rosas dos Ventos mensais para estudar as variações sazonais nos pontos de estudo. No entanto, as direções predominantes foram mantidas de maneira quase

constante durante todo o período de estudo. A Tabela 31 ilustra as frequências para cada ângulo e faixa de velocidades predominantes no período de estudo.

A análise da rosa de ventos do período total de estudo, como ilustrado na Figura 42, revela que os ventos predominantes provêm do nordeste da estação com direções que variam entre os 21° e 84°. Com exceção de novembro de 2022, quando a direção predominante foi de 97° (sudoeste) (Tabela 30 e Anexo 2), essas direções indicam que as principais fontes localizadas no nordeste da estação (região de Cajuru, BR277, R. H. Dos Santos) influenciam em suas emissões ao centro politécnico.

Também é necessário analisar a magnitude das velocidades do vento, pois velocidades muito baixas diminuem a dispersão dos contaminantes das fontes próximas, enquanto velocidades superiores a 3,0 m s<sup>-1</sup> contribuem a dispersão dos contaminantes gerados pelas fontes, abrangendo áreas ainda maiores. Os resultados da análise das Rosas dos Ventos mostraram que as maiores frequências de velocidade do vento (conforme o diagrama de barras da Figura 42) estiveram na faixa de 0,5 a 2,10 m s<sup>-1</sup>, com porcentagens variando entre 36,6% e 73,3%. Essas velocidades são consideradas baixas, o que significa que as fontes próximas ao Centro Politécnico da UFPR afetam diretamente uma região de influência relativamente pequena, devido às velocidades predominantes dos ventos serem baixas.

As velocidades na faixa de 2,10 a 3,60 m s<sup>-1</sup> também foram observadas, mas com menor frequência, variando entre 19% e 49,9%. Essa faixa é considerada de velocidades relativamente baixas, resultando em uma dispersão reduzida dos contaminantes gerados na área de estudo.

**Tabela 31: Resumos das frequências predominantes dos ventos na estação SIMEPAR do centro Politécnico**

Mês	Ângulo Resultante	Frequência (%)	Origem	Destino	Frequência de Velocidade (%)		
					0,5-2,10	2,10 – 3,60	3,6 – 5,7
Julho 2022	21°	50	Nordeste	Sudoeste	71,0	19,0	9,7
Agosto 2022	70°	52	Nordeste	Sudoeste	51,6	48,4	-
Setembro 2022	81°	51	Nordeste	Sudoeste	38,6	48,4	3,2
Outubro 2022	51°	58	Nordeste	Sudoeste	38,6	48,5	3,2
Novembro 2022	97°	76	Sudoeste	Noroeste	50,1	49,9	-
Dezembro 2022	77°	70	Nordeste	Sudoeste	54,8	45,2	-
Janeiro 2023	72°	49	Nordeste	Sudoeste	67,7	32,3	-
Fevereiro 2023	35°	19	Nordeste	Sudoeste	53,6	46,4	-
Março 2023	52°	41	Nordeste	Sudoeste	70,8	29,2	-

Portanto, com base no comportamento das condições meteorológicas durante o período de estudo e na variabilidade das concentrações de amônia, procedemos à avaliação dos efeitos dessas condições meteorológicas nas concentrações. Para isso, empregou-se a análise multivariada com a metodologia de Análise de Componentes Principais (PCA). Os resultados são apresentados a seguir.

#### 4.13 Análise Multivariado PCA

Na análise de Componentes Principais (PCA), o pré-processamento dos dados é um passo fundamental. Os dados podem ser utilizados diretamente ou sujeitos a transformações. Esta última abordagem é empregada para explorar perfis e mitigar disparidades significativas entre as amostras, como neste estudo, em que as concentrações possuem ordens de magnitude distintas das variáveis meteorológicas (velocidade do vento, direção do vento, temperatura ambiente, precipitação e umidade relativa). Recomenda-se geralmente aplicar diversos métodos de pré-processamento, devido à grande disparidade nas ordens de magnitude entre as variáveis, o uso do pré-processamento de autoescalamto<sup>15</sup> é aconselhável. Além disso, a direção do vento (expressada em ângulo) foi avaliada em radianos para ser correlacionada com as demais variáveis.<sup>16</sup>

A análise PCA foi conduzida através do software PAST versão 4.13. Realizou-se o pré-processamento de autoescalamto para todas as variáveis envolvidas na análise. Inicialmente, os autovalores foram calculados, os quais refletem a contribuição relativa de cada componente na explicação da variação total dos dados. Cada componente possui um autovalor que indica sua relevância na variação do conjunto de dados. Os autovalores obtidos na PCA para as variáveis estão registrados na Tabela 31.

**Tabela 32: Autovalores da análise por PCA das variáveis de estudo autoescaladas**

PC	Autovalores	% variância
1	1,62655	27,065
2	1,59536	26,546
3	1,15455	19,211
4	0,824506	13,72
5	0,542195	9,022
6	0,266571	4,4357

Os autovalores capturam o máximo nível de correlação entre as variáveis e o eixo principal. Assim, são uma medida da variação total representada pelo eixo. O eixo principal, ou primeiro componente, apresenta diferentes contribuições das variáveis originais. Neste caso, o primeiro componente explica 27% da variação. O segundo e terceiro componentes explicam 26.5% e 19.2%, respectivamente, totalizando 72.5% de explicação da variação através dos três primeiros componentes.

Considerando que os três primeiros componentes principais explicam 72.49% da variação total alinhando-se com o critério de Rencher (2005) de que pelo menos 70% da variância deve ser explicada pelos primeiros componentes principais, conclui-se que estes três componentes são suficientes para representar a variação do conjunto de dados.

<sup>15</sup> autoescalamto =  $\frac{x-\bar{x}}{s}$

<sup>16</sup> radianos =  $angulo * \pi / 180$

Com base em autovalores maiores que 1 ( $\lambda > 1$ ) e que somam 72.49% da variação total, retiveram-se os três primeiros componentes principais. O screeplot, um gráfico de autovalores por componente, foi utilizado para esta determinação (ver Anexo 3). A redução de seis variáveis originais para três componentes principais é justificável. Portanto decidiu-se utilizar unicamente os três primeiros componentes principais para a composição. As equações para os três primeiros componentes são:

$$PC_1 = -0,42924X_1 - 0,22225X_2 - 0,24133X_3 + 0,53459X_4 + 0,51861X_5 + 0,356X_6$$

$$PC_2 = 0,1279X_1 - 0,3026X_2 + 0,57129X_3 - 0,3719X_4 + 0,2727X_5 + 0,5914X_6$$

$$PC_3 = 0,48777X_1 + 0,64306X_2 - 0,2917X_3 - 0,09127X_4 + 0,44313X_5 + 0,24241X_6$$

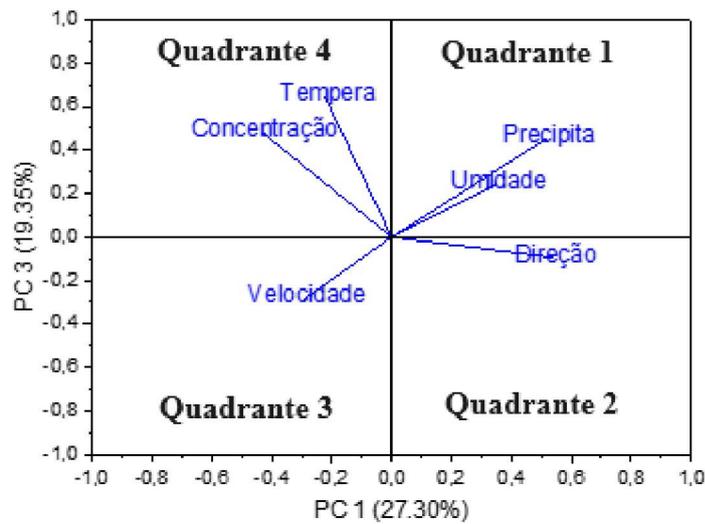
Através da análise das equações e dos resultados, observa-se que o primeiro componente (PC1) evidencia a relação entre a concentração (X1) e as variáveis de direção (X4) e precipitação (X5), podendo ser denominado componente de fatores de emissão de amônia associados à direção e precipitação. O segundo componente (PC2) destaca a relação entre velocidade (X3) e umidade (X6), sugerindo que estes fatores contribuem incrementalmente com o aumento das concentrações. O terceiro componente (PC3) indica a influência da temperatura (X2) na concentração (X1), mostrando que temperaturas mais elevadas estão associadas a maiores concentrações de amônia. Estes achados são compatíveis com estudos anteriores, como Wu et al. (2018), que verificaram variações sazonais significativas nas concentrações de NH<sub>3</sub> relacionadas às mudanças na temperatura do ar.

Ao analisar a Figura 43 e 44, que representa o gráfico de loadings e Biplot<sup>17</sup> CP1xCP3 com variáveis meteorológicas em relação às concentrações de amônia, juntamente com as equações (1), (2) e (3), observa-se que, com base nos dados sobre o impacto das variáveis meteorológicas na concentração de amônia no PCA, a direção do vento é mais frequente na direção Nordeste, de acordo com a PC1 (Figura 43). Isso significa que os efeitos das principais fontes de poluição veicular (BR277 e R. H. Dos Santos) afetam os locais de coleta, já que suas emissões são dispersadas em direção aos receptores. Essa afirmação depende da intensidade do vento; em velocidades menores, ocorre uma dispersão menor dos poluentes, resultando em menores dispersões durante esse período, o que coincide com concentrações maiores de amônia. Do outro lado, concentrações menores de amônia são registradas quando há ventos mais fortes, o que é consistente, pois velocidades mais altas do vento promovem uma dispersão maior dos contaminantes.

---

<sup>17</sup> Bi-plot é um gráfico estatístico, que representa no mesmo gráfico as variáveis e as observações com o intuito de demonstrar graficamente as relações existentes entre as variáveis, entre as observações, e entre variáveis e observações.

**Figura 43: Gráfico de loadings  $PC_1 \times PC_3$  sobre as variáveis ambientais e Concentração  $NH_3$  no Centro Politécnico – UFPR pelo PCA**



A análise do  $CP_1 \times CP_3$  também revela que as concentrações mais baixas ocorrem durante os períodos de maior precipitação. Por exemplo, durante o período de 21 a 29 de novembro e no início de dezembro (amostras identificadas como 2111P1<sup>18</sup>, 2111P2, 2911P3, 2911P4, 0612P3, Figura 44), foram registrados os maiores volumes de precipitação, com valores de 84,4 mm, 75,8 mm e 77,4 mm, para os dias 21 e 29 de novembro e 6 de dezembro. Essas foram as maiores precipitações registradas durante o período de estudo. De acordo com Ianniello et al. (2010) de uma série de estudos sobre concentrações urbanas de amônia, que implicam medições de longo prazo, mostraram fortes variações diárias e sazonais nas concentrações de amônia que dependem principalmente da temperatura, umidade relativa, precipitação e velocidade do vento (YAMAMOTO et al., 1988; BARI et al., 2003; VOGT; HELD; KLEMM, 2005

Através da análise realizada pela  $PC_3$ , é possível concluir que as maiores concentrações de amônia nos pontos de coleta ocorreram durante os períodos em que a temperatura ambiente atingiu os valores mais elevados, como indicado no quadrante 4 das Figuras 43 e 44, o que permite estimar que a velocidade do vento exerce um efeito negativo sobre as concentrações, o que é corroborado pelas equações (1) e (3), onde a variável de velocidade do vento ( $X_3$ ) possui um coeficiente negativo. Nesse contexto, as variáveis precipitação ( $X_5$ ) e umidade ( $X_6$ ), que estão logicamente correlacionadas, pois a precipitação influencia criticamente a umidade, demonstram um efeito positivo nas concentrações de amônia, como evidenciado pelos valores positivos nas equações (1), (2) e (3). Esses resultados sugerem que as concentrações de amônia são influenciadas por esses dois parâmetros meteorológicos.

<sup>18</sup> A notação representa o dia (primeiros dois dígitos) e o mês (seguintes dois dígitos), o ponto (P de 1 até 6), por exemplo: 2111P2 representa amostra coletada na semana do 21 de novembro no ponto 2)



Ao realizar uma análise estatística dos dados por quadrante (consulte o anexo 4), é observado que, no que diz respeito às concentrações de amônia, o quarto quadrante apresenta o maior intervalo interquartilico, o maior desvio padrão, a maior variância e o menor coeficiente de variação no gráfico biplot (Figura 44), este quadrante é registrado as variáveis concentração e temperatura, na análise do PCA. Isso indica uma forte associação entre as concentrações de amônia e a temperatura ambiente ao longo de todo o período de estudo no Centro Politécnico da UFPR.

## 5 CONCLUSÕES

No presente estudo, foi possível realizar a derivatização de amônia empregando a técnica de DLLME. Nesta técnica, a Pyr foi usada como catalisador, BuOH como solvente dispersor e  $\text{CHCl}_3$  como solvente extrator. Os parâmetros de desempenhos analítico mostraram um bom comportamento, porém, a avaliação em campo não foi viável devido ao marcado efeito matriz, que impossibilitou a quantificação da  $\text{NH}_3$  em amostras ambientais. Como alternativa, testou-se a *metodologia base*, na qual a DLLME é realizada com ar como solvente dispersor e um solvente eutético profundo natural (NADES) como solvente de extração. No entanto, para a presente metodologia, não foi possível condensar o produto derivatizado.

Como resultado, durante a aplicação da metodologia DLLME, testarem-se solventes extratores, incluindo decanol, undecanol e dodecanol, que, embora tenham gerado contaminação da coluna cromatográfica, permitiram evidenciar a formação do produto derivatização da  $\text{NH}_3$ . Em virtude da necessidade de um solvente de extração mais adequado, o BuOH foi testado com sucesso. Neste ponto é presumível que o NADES atue como catalisador. Portanto, diferentes misturas eutéticas naturais foram testadas para melhorar a eficiência da derivatização, e a melhor conversão foi alcançada para o NADES xilitol:ácido málico:água, na proporção 1:1:1.

Uma vez definidos os reagentes a serem usados, ferramentas quimiométricas foram empregadas para a otimizar a *metodologia proposta*. Inicialmente, uma análise univariada foi conduzida, seguida de uma triagem mediante planejamento fatorial fracionado, que definiu cinco variáveis significativas. Dessas variáveis, pH e volume de solvente eutético foram identificadas como as que mais influenciam a *metodologia proposta*.

Os parâmetros de desempenho analítico para esta metodologia, que utiliza NADES como catalisador, demonstraram recuperações superiores a 74%, limite de detecção superiores a  $1 \mu\text{g L}^{-1}$ , precisões superiores ao 7% (CV), dos faixas lineares de concentração (0.001 até 0.08 e 0.08 até  $1.00 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ). Com coeficientes angulares superiores a 0,99 nos dois casos, superando as sensibilidades obtidas com o método que utiliza Pyr.

Além disso, foram avaliados os parâmetros de desempenho ambiental com base na métrica AGREeprep (Wojnowski et al., 2022), que considera 10 categorias de impacto. A metodologia desenvolvida e otimizada neste estudo, que utiliza NADES como catalisador, foi classificada como uma metodologia verde, enquanto os métodos que utilizam Pyr e o método de Indofenol foram classificados como não verdes.

Uma vez otimizada e validada, a metodologia analítica foi testada em campo, com amostradores passivos colocados em seis pontos do centro politécnico da UFPR em Curitiba. Os resultados indicaram maiores concentrações de amônia nos pontos mais próximos do tráfego veicular, com uma influência significativa das sazonalidades. As concentrações de  $\text{NH}_3$  no presente estudo foram semelhantes às registradas em outros estudos em diferentes regiões do mundo.

A influência dos parâmetros meteorológicos nas concentrações de amônia foi avaliada, concluindo-se que as velocidades predominantes do vento foram baixas, o que indica uma baixa dispersão dos contaminantes gerados nas proximidades do centro politécnico. Além disso, as direções predominantes do vento mostraram que há um vetor resultante da direção nordeste, evidenciando a influência das emissões da BR 277 e da Rua C. H. Dos Santos sobre o centro politécnico.

Por fim, todas as informações meteorológicas fornecidas pelo SIMEPAR foram analisadas em conjunto com as concentrações de amônia por meio de análise multivariada, utilizando a análise de componentes principais (PCA). Foi possível concluir que a variável que mais influencia as concentrações de amônia é a temperatura ambiente, com as maiores concentrações ocorrendo durante os períodos de verão e primavera, indicando uma forte influência das condições sazonais.

Em resumo, foi possível substituir com sucesso a metodologia tradicional de determinação de amônia por uma metodologia que utiliza ar como solvente dispersor, NADES como catalisador e butanol como solvente extrator. Essa metodologia foi classificada como verde de acordo com a métrica AGREE e foi otimizada, validada e testada em campo, permitindo a determinação das concentrações de amônia no ar atmosférico de Curitiba. Essa metodologia tem grande potencial para ser aplicada na determinação de outros contaminantes ambientais do ar, como as amins alifáticas, que também impactam significativamente a qualidade do ar.

## 6 REFERÊNCIAS

ABBOTT, Andrew P et al. Deep eutectic solvents formed between choline chloride and carboxylic acids: versatile alternatives to ionic liquids. **Journal of the American Chemical Society**, ACS Publications, v. 126, n. 29, p. 9142–9147, 2004. Citado 1 vez na página 29.

ACREDITAÇÃO, Coordenação Geral de. **Orientação sobre validação de métodos analíticos**. [S.l.], 2020. Citado 3 vezes nas páginas 52, 53.

AGENCY, International Energy. IEA Finds CO<sub>2</sub> Emissions Flat for Third Straight Year Even as Global Economy Grew in 2016, 2017. Citado 1 vez na página 19.

ALLEN, Andrew G et al. Influence of intensive agriculture on dry deposition of aerosol nutrients. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, SciELO Brasil, v. 21, n. 1, p. 87–97, 2010. Citado 1 vez na página 20.

BARI, Abdul et al. Measurements of gaseous HONO, HNO<sub>3</sub>, SO<sub>2</sub>, HCl, NH<sub>3</sub>, particulate sulfate and PM<sub>2.5</sub> in New York, NY. **Atmospheric Environment**, Elsevier, v. 37, n. 20, p. 2825–2835, 2003. Citado 1 vez na página 107.

BATTYE, William; ANEJA, Viney P; SCHLESINGER, William H. Is nitrogen the next carbon? **Earth's future**, Wiley Online Library, v. 5, n. 9, p. 894–904, 2017. Citado 4 vezes nas páginas 18, 20, 21.

BAUM, KA; HAM, JM. Adaptation of a speciation sampling cartridge for measuring ammonia flux from cattle feedlots using relaxed eddy accumulation. **Atmospheric Environment**, Elsevier, v. 43, n. 10, p. 1753–1759, 2009. Citado 1 vez na página 22.

BELL, Michael W et al. Ammonia emissions from an anaerobic digestion plant estimated using atmospheric measurements and dispersion modelling. **Waste management**, Elsevier, v. 56, p. 113–124, 2016. Citado 1 vez na página 20.

BESSAGNET, Bertrand et al. Can further mitigation of ammonia emissions reduce exceedances of particulate matter air quality standards? **Environmental science & policy**, Elsevier, v. 44, p. 149–163, 2014. Citado 2 vezes na página 23.

BOUWMAN, AF. Direct emission of nitrous oxide from agricultural soils. **Nutrient cycling in agroecosystems**, Springer, v. 46, n. 1, p. 53–70, 1996. Citado 2 vezes nas páginas 20, 21.

BOUWMAN, AF et al. Global trends and uncertainties in terrestrial denitrification and N<sub>2</sub>O emissions. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, The Royal Society, v. 368, n. 1621, p. 20130112, 2013. Citado 1 vez na página 19.

BOUWMAN, AF et al. Global trends and uncertainties in terrestrial denitrification and N<sub>2</sub>O emissions. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, The Royal Society, v. 368, n. 1621, p. 20130112, 2013. Citado 1 vez na página 19.

BROWN, Veronica M; CRUMP, Derrick R. The use of diffusive samplers for the measurement of volatile organic compounds in the indoor air of 44 homes in Southampton. **Indoor and Built Environment**, Karger Publishers, v. 7, n. 5-6, p. 245–253, 1998. Citado 1 vez na página 26.

CHEN, Xi et al. Seasonal ambient ammonia and ammonium concentrations in a pilot IMPROVE NH<sub>x</sub> monitoring network in the western United States. **Atmospheric environment**, Elsevier, v. 91, p. 118–126, 2014. Citado 1 vez na página 20.

CHOI, Young Hae et al. Are natural deep eutectic solvents the missing link in understanding cellular metabolism and physiology? **Plant physiology**, American Society of Plant Biologists, v. 156, n. 4, p. 1701–1705, 2011. Citado 2 vezes nas páginas 30, 31.

CONAB. **Conab prevê novo recorde na produção de grãos em 312,4 milhões de toneladas na safra 2022/23**. [S.l.: s.n.], 2023. url <https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/4774-conab-preve-novo-recorde-na-producao-de-graos-em-312-4-milhoes-de-toneladas-na-safra-2022-23>. Citado 1 vez na página 19.

CONANT, Richard T; BERDANIER, Aaron B; GRACE, Peter R. Patterns and trends in nitrogen use and nitrogen recovery efficiency in world agriculture. **Global Biogeochemical Cycles**, Wiley Online Library, v. 27, n. 2, p. 558–566, 2013. Citado 1 vez na página 19.

CRUZ, Lúcia Passos dos Santos; CAMPOS, Vânia Palmeira. Amostragem passiva de poluentes atmosféricos: aplicação ao SO<sub>2</sub>. **Química Nova**, SciELO Brasil, v. 25, p. 406–411, 2002. Citado 2 vezes nas páginas 27, 54.

CUSHMAN, Gregory T. **Guano and the opening of the Pacific world: a global ecological history**. [S.l.]: Cambridge University Press, 2013. Citado 1 vez na página 18.

DAI, Yuntao et al. Natural deep eutectic solvents as new potential media for green technology. **Analytica chimica acta**, Elsevier, v. 766, p. 61–68, 2013. Citado 2 vezes nas páginas 30, 31.

DELWICHE, Constant C. The nitrogen cycle. **Scientific American**, JSTOR, v. 223, n. 3, p. 136–147, 1970. Citado 1 vez na página 18.

DURBIN, Thomas D; PISANO, John T et al. The effect of fuel sulfur on NH<sub>3</sub> and other emissions from 2000–2001 model year vehicles. **Atmospheric Environment**, Elsevier, v. 38, n. 17, p. 2699–2708, 2004. Citado 1 vez na página 21.

DURBIN, Thomas D; WILSON, Ryan D et al. Emissions of ammonia from light-duty vehicles. In: **PROCEEDING of the 11th CRC on-road Vehicles Emissions Workshop**, San Diego, CA. [S.l.: s.n.], 2001. Citado 2 vez na página 21.

DURBIN, Thomas D; WILSON, Ryan D et al. Estimates of the emission rates of ammonia from light-duty vehicles using standard chassis dynamometer test cycles. **Atmospheric Environment**, Elsevier, v. 36, n. 9, p. 1475–1482, 2002. Citado 1 vez na página 21.

EDGERTON, Eric S et al. Ammonia and ammonium measurements from the southeastern United States. **Atmospheric Environment**, Elsevier, v. 41, n. 16, p. 3339–3351, 2007. Citado 1 vez na página 23.

ERISMAN, Jan Willem et al. How a century of ammonia synthesis changed the world. **Nature geoscience**, Nature Publishing Group UK London, v. 1, n. 10, p. 636–639, 2008. Citado 2 vez na página 19.

ESPINO, Magdalena et al. Natural designer solvents for greening analytical chemistry. **TrAC trends in analytical chemistry**, Elsevier, v. 76, p. 126–136, 2016. Citado 2 vezes nas páginas 30, 31.

FELIX, Erika P; CARDOSO, Arnaldo A. A method for determination of ammonia in air using oxalic acid-impregnated cellulose filters and fluorimetric detection. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, SciELO Brasil, v. 23, n. 1, p. 142–147, 2012. Citado 3 vezes nas páginas 54, 55, 93.

FELIX, J David; ELLIOTT, Emily M; GAY, David A. Spatial and temporal patterns of nitrogen isotopic composition of ammonia at US ammonia monitoring network sites. **Atmospheric Environment**, Elsevier, v. 150, p. 434–442, 2017. Citado 1 vez na página 20

FERREIRA, Ana Maria Casas et al. In situ aqueous derivatization as sample preparation technique for gas chromatographic determinations. **Journal of Chromatography A**, Elsevier, v. 1296, p. 70–83, 2013. Citado 2 vezes nas páginas 33,44.

FERREIRA, SLC. Introdução às técnicas de planejamento de experimentos. **Vento Leste: Salvador**, 2015. Citado 3 vezes nas páginas 35–37, 44.

FISICHELLA, Marco; ODOARDI, Sara; STRANO-ROSSI, Sabina. High-throughput dispersive liquid/liquid microextraction (DLLME) method for the rapid determination of drugs of abuse, benzodiazepines and other psychotropic medications in blood samples by liquid chromatography–tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) and application to forensic cases. **Microchemical Journal**, Elsevier, v. 123, p. 33–41, 2015. Citado 1 vez na página 21

GALLOWAY, James N et al. Nitrogen cycles: past, present, and future. **Biogeochemistry**, Springer, v. 70, n. 2, p. 153–226, 2004. Citado 1 vez na página 19.

GANDHI, HS; SHELEF, M. Effects of sulphur on noble metal automotive catalysts. **Applied Catalysis**, Elsevier, v. 77, n. 2, p. 175–186, 1991. Citado 1 vez na página 21.

GARY, O Nelson. **Gas mixtures: preparation and control**. [S.l.]: Routledge, 1992. Citado 2 vezes nas páginas 27, 56.

GILLILAND, Alice B et al. Seasonal NH<sub>3</sub> emissions for the continental United States: Inverse model estimation and evaluation. **Atmospheric Environment**, Elsevier, v. 40, n. 26, p. 4986–4998, 2006. Citado 2 vezes nas páginas 21.

GÓRECKI, Tadeusz; NAMIEŚNIK, Jacek. Passive sampling. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, Elsevier, v. 21, n. 4, p. 276–291, 2002. Citado 1 vez na página 26.

GUIDELINE, ICH Harmonised Tripartite. Validation of analytical procedures: text and methodology Q2 (R1). In: INTERNATIONAL Conference on Harmonization, Geneva, Switzerland. [S.l.: s.n.], 2005. P. 11–12. Citado 3 vezes nas páginas 50–52.

GUTIERREZ, Maria C et al. Freeze-drying of aqueous solutions of deep eutectic solvents: a suitable approach to deep eutectic suspensions of self-assembled structures. **Langmuir**, ACS Publications, v. 25, n. 10, p. 5509–5515, 2009. Citado 1 vez na página 30.

HAGENBJÖRK-GUSTAFSSON, Annika et al. Validation of the Willems badge diffusive sampler for nitrogen dioxide determinations in occupational environments. **Analyst**, Royal Society of Chemistry, v. 127, n. 1, p. 163–168, 2002. Citado 0 vez na página 25.

HASHEMINASSAB, S et al. Spatial and temporal variability of sources of ambient fine particulate matter (PM<sub>2.5</sub>) in California. **Atmospheric Chemistry and Physics**, Copernicus GmbH, v. 14, n. 22, p. 12085, 2014. Citado 1 vez na página 23.

HEEB, Norbert V et al. Three-way catalyst-induced formation of ammonia—velocity-and acceleration-dependent emission factors. **Atmospheric Environment**, Elsevier, v. 40, n. 31, p. 5986–5997, 2006. Citado 1 vez na página 21.

HUAI, Tao et al. Investigation of emission rates of ammonia, nitrous oxide and other exhaust compounds from alternative fuel vehicles using a chassis dynamometer. **International Journal of Automotive Technology**, The Korean Society of Automotive Engineers, v. 4, n. 1, p. 9–19, 2003. Citado 1 vez na página 21.

HUANG, R-J et al. Determination of alkylamines in atmospheric aerosol particles: a comparison of gas chromatography–mass spectrometry and ion chromatography approaches. **Atmospheric Measurement Techniques**, Copernicus GmbH, v. 7, n. 7, p. 2027–2035, 2014. Citado 1 vez na página 20.

HUŠEK, Petr. Chloroformates in gas chromatography as general purpose derivatizing agents. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, Elsevier, v. 717, n. 1-2, p. 57–91, 1998. Citado 2 vez na página 33.

IANNIELLO, A et al. Occurrence of gas phase ammonia in the area of Beijing (China). **Atmospheric Chemistry and Physics**, Copernicus GmbH, v. 10, n. 19, p. 9487–9503, 2010. Citado 1 vez na página 107.

KATAOKA, Hiroyuki. Derivatization reactions for the determination of amines by gas chromatography and their applications in environmental analysis. **Journal of Chromatography A**, Elsevier, v. 733, n. 1-2, p. 19–34, 1996. Citado 1 vez na página 33.

KATILIE, Christopher J; SIMON, Alison G; DEGREEFF, Lauryn E. Quantitative analysis of vaporous ammonia by online derivatization with gas chromatography-mass spectrometry with applications to ammonium nitrate-based explosives. **Talanta**, Elsevier, v. 193, p. 87–92, 2019. Citado 2 vezes nas páginas 28, 33.

KHANDELWAL, Sarita; TAILOR, Yogesh Kumar; KUMAR, Mahendra. Deep eutectic solvents (DESS) as eco-friendly and sustainable solvent/catalyst systems in organic transformations. **Journal of Molecular Liquids**, Elsevier, v. 215, p. 345–386, 2016. Citado 2 vezes nas páginas 31, 62.

KNAPP, Daniel R. **Handbook of analytical derivatization reactions**. [S.l.]: John Wiley & Sons, 1979. Citado 1 vez na página 32.

KOSTIĆ, Nađica et al. Effects of derivatization reagents consisting of n-alkyl chloroformate/n-alcohol combinations in LC–ESI-MS/MS analysis of zwitterionic antiepileptic drugs. **Talanta**, Elsevier, v. 116, p. 91–99, 2013. Citado 1 vez na página 33.

KOT-WASIK, Agata et al. Advances in passive sampling in environmental studies. **Analytica chimica acta**, Elsevier, v. 602, n. 2, p. 141–163, 2007. Citado 1 vez na página 26.

KÜHNEL, Erik et al. Mechanism of methyl esterification of carboxylic acids by trimethylsilyldiazomethane. **Angewandte Chemie International Edition**, Wiley Online Library, v. 46, n. 37, p. 7075–7078, 2007. Citado 1 vez na página 32.

LAN, Tran Thi Ngoc et al. Atmospheric concentrations of sulfur dioxide, nitrogen oxides, ammonia, hydrogen chloride, nitric acid, formic and acetic acids in the south of Vietnam measured by the passive sampling method. **Analytical Sciences**, Springer, v. 20, n. 1, p. 213–217, 2004. Citado 1 vez na página 20.

LEÇA, João M et al. A sensitive method for the rapid determination of underivatized ethyl carbamate in fortified wine by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. **Food analytical methods**, Springer, v. 11, n. 2, p. 327–333, 2018. Citado 3 vezes nas páginas 45, 67, 73.

LI, Yi; SCHICHEL, Bret A et al. Increasing importance of deposition of reduced nitrogen in the United States. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, National Acad Sciences, v. 113, n. 21, p. 5874–5879, 2016. Citado 1 vez na página 19.

LI, Yi; THOMPSON, Tammy M et al. Temporal and spatial variability of ammonia in urban and agricultural regions of northern Colorado, United States. **Atmospheric Chemistry and Physics**, Copernicus GmbH, v. 17, n. 10, p. 6197–6213, 2017. Citado 1 vez na página 20.

LI, Yongquan; SCHWAB, James J; DEMERJIAN, Kenneth L. Measurements of ambient ammonia using a tunable diode laser absorption spectrometer: Characteristics of ambient ammonia emissions in an urban area of New York City. **Journal of Geophysical Research: Atmospheres**, Wiley Online Library, v. 111, n. D10, 2006. Citado 1 vez na página 21.

LIMA, Marco Aurélio Oliveira. Desenvolvimento de amostrador passivo para amônia na atmosfera, 2011. Citado 4 vezes nas páginas 27, 54, 93.

LIVINGSTON, Cody; RIEGER, Paul; WINER, Arthur. Ammonia emissions from a representative in-use fleet of light and medium-duty vehicles in the California South Coast Air Basin. **Atmospheric Environment**, Elsevier, v. 43, n. 21, p. 3326–3333, 2009. Citado 1 vez na página 21.

LONG-RANGE TRANSBOUNDARY AIR POLLUTION, Convention on et al. **Hemispheric transport of air pollution 2010: Part A-ozone and particulate matter**. [S.l.]: UN, 2010. Citado 1 vez na página 19.

LUBRANO, Adam L et al. Analysis of ammonium nitrate headspace by on-fiber solid phase microextraction derivatization with gas chromatography mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, Elsevier, v. 1429, p. 8–12, 2016. Citado 1 vez na página 33.

MALM, William C et al. A 10-year spatial and temporal trend of sulfate across the United States. **Journal of Geophysical Research: Atmospheres**, Wiley Online Library, v. 107, n. D22, ach–11, 2002. Citado 1 vez na página 22.

MARTIN, Nicholas A et al. Validation of ammonia diffusive and pumped samplers in a controlled atmosphere test facility using traceable Primary Standard Gas Mixtures. **Atmospheric environment**, Elsevier, v. 199, p. 453–462, 2019. Citado 1 vez na página 29.

MEJIA-CENTENO, Isidro; MARTINEZ-HERNÁNDEZ, Angel; FUENTES, Gustavo A. Effect of low-sulfur fuels upon NH<sub>3</sub> and N<sub>2</sub>O emission during operation of commercial three-way catalytic converters. **Topics in Catalysis**, Springer, v. 42, n. 1-4, p. 381–385, 2007. Citado 1 vez na página 21.

MENG, Wenjun et al. Improvement of a global high-resolution ammonia emission inventory for combustion and industrial sources with new data from the residential and transportation sectors. **Environmental science & technology**, ACS Publications, v. 51, n. 5, p. 2821–2829, 2017. Citado 1 vez na página 22.

MOKHTARI, Nazanin et al. Solid-phase extraction and microextraction of chlorophenols and triazine herbicides with a novel hydrazone-based covalent triazine polymer as the adsorbent. **Microchemical Journal**, Elsevier, v. 160, p. 105634, 2021. Citado 1 vez na página 27.

NAMIE ŚNIK, Jacek et al. Passive sampling and/or extraction techniques in environmental analysis: a review. **Analytical and bioanalytical chemistry**, Springer, v. 381, n. 2, p. 279–301, 2005. Citado 2 vez na página 26.

OURY, Benôit et al. Behavior of the GABIE, 3M 3500, PerkinElmer Tenax TA, and RADIELLO 145 diffusive samplers exposed over a long time to a low concentration of VOCs. **Journal of Occupational and Environmental Hygiene**, Taylor & Francis, v. 3, n. 10, p. 547–557, 2006. Citado 1 vez na página 26.

PAI, Sidhant J; HEALD, Colette L; MURPHY, Jennifer G. Exploring the global importance of atmospheric ammonia oxidation. **ACS Earth and Space Chemistry**, ACS Publications, v. 5, n. 7, p. 1674–1685, 2021. Citado 1 vez na página 19.

PALMES, ED; GUNNISON, Albert F. Personal monitoring device for gaseous contaminants. **American Industrial Hygiene Association Journal**, Taylor & Francis, v. 34, n. 2, p. 78–81, 1973. Citado 1 vez na página 26.

PARSHINTSEV, Jevgeni et al. Determination of atmospheric amines by on-fiber derivatization solid-phase microextraction with 2, 3, 4, 5, 6-pentafluorobenzyl chloroformate and 9-fluorenylmethoxycarbonyl chloride. **Journal of Chromatography A**, Elsevier, v. 1376, p. 46–52, 2015. Citado 1 vez na página 33.

PAWAR, Poonam Mahadev; JARAG, Krishna Jagannath; SHANKARLING, Ganapati Subray. Environmentally benign and energy efficient methodology for condensation: an interesting facet to the classical Perkin reaction. **Green Chemistry**, Royal Society of Chemistry, v. 13, n. 8, p. 2130–2134, 2011. Citado 1 vez na página 31.

PAWLISZYN, Janusz. Comprehensive sampling and sample preparation: **analytical techniques for scientists**. [S.l.]: Academic Press, 2012. Citado 1 vez na página 32.

PLESSOW, Kirsten et al. Seasonal variations and interactions of N-containing gases and particles over a coniferous forest, Saxony, Germany. **Atmospheric Environment**, Elsevier, v. 39, n. 37, p. 6995–7007, 2005. Citado 1 vez na página 20.

PLOTKA-WASYLKA, Justyna; SIMEONOV, Vasil; NAMIE ŚNIK, Jacek. An in situ derivatization–dispersive liquid–liquid microextraction combined with gas-chromatography–mass spectrometry for determining biogenic amines in home-made fermented alcoholic drinks. **Journal of Chromatography A**, Elsevier, v. 1453, p. 10–18, 2016. Citado 1 vez na página 33.

PUCHALSKI, Melissa A et al. Passive ammonia monitoring in the United States: Comparing three different sampling devices. **Journal of Environmental Monitoring**, Royal Society of Chemistry, v. 13, n. 11, p. 3156–3167, 2011. Citado 1 vez na página 26.

QUIGLEY, Andrew; CUMMINS, Wayne; CONNOLLY, Damian. Dispersive liquid-liquid microextraction in the analysis of milk and dairy products: a review. **Journal of Chemistry**, Hindawi, v. 2016, 2016. Citado 1 vez na página 27.

RECHE, Cristina; VIANA, Mar; KARANASIOU, Angeliki et al. Urban NH<sub>3</sub> levels and sources in six major Spanish cities. **Chemosphere**, Elsevier, v. 119, p. 769–777, 2015. Citado 1 vez na página 102.

RENCHER, Alvin C. A review of “methods of multivariate analysis. [S.l.]: **Taylor & Francis**, 2005. Citado 1 vez na página 99.

RENNER, E; WOLKE, R. Modelling the formation and atmospheric transport of secondary inorganic aerosols with special attention to regions with high ammonia emissions. **Atmospheric Environment**, Elsevier, v. 44, n. 15, p. 1904–1912, 2010. Citado 1 vez na página 20.

REZAEI, Mohammad et al. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid–liquid microextraction. **Journal of Chromatography A**, Elsevier, v. 1116, n. 1-2, p. 1–9, 2006. Citado 2 vez na página 28.

ROBARGE, Wayne P et al. Atmospheric concentrations of ammonia and ammonium at an agricultural site in the southeast United States. **Atmospheric Environment**, Elsevier, v. 36, n. 10, p. 1661–1674, 2002. Citado 1 vez na página 22.

ROMAGNOLI, Paola et al. Air quality study in the coastal city of Crotona (Southern Italy) hosting a small-size harbor. *Environmental Science and Pollution Research*, Springer, v. 24, p. 25260–25275, 2017. Citado 1 vez na página 20.

RUESGAS-RAMÓN, Mariana; FIGUEROA-ESPINOZA, Maria Cruz; DURAND, Erwann. Application of deep eutectic solvents (DES) for phenolic compounds extraction: overview, challenges, and opportunities. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, ACS Publications, v. 65, n. 18, p. 3591–3601, 2017. Citado 1 vez na página 30.

SALEM, Alaa A; SOLIMAN, Ahmed A; EL-HATY, Ismail A. Determination of nitrogen dioxide, sulfur dioxide, ozone, and ammonia in ambient air using the passive sampling method associated with ion chromatographic and potentiometric analyses. **Air Quality, Atmosphere & Health**, Springer, v. 2, p. 133–145, 2009. Citado 1 vez na página 20.

SCHIFERL, Luke D; HEALD, Colette L; NOWAK, John B et al. An investigation of ammonia and inorganic particulate matter in California during the CalNex campaign. **Journal of Geophysical Research: Atmospheres**, Wiley Online Library, v. 119, n. 4, p. 1883–1902, 2014. Citado 1 vez na página 22.

SCHIFERL, Luke D; HEALD, Colette L; VAN DAMME, Martin et al. Interannual variability of ammonia concentrations over the United States: sources and implications. **Atmospheric Chemistry and Physics**, Copernicus GmbH, v. 16, n. 18, p. 12305–12328, 2016. Citado 1 vez na página 102.

SEETHAPATHY, Suresh; GORECKI, Tadeusz; LI, Xiaojing. Passive sampling in environmental analysis. **Journal of chromatography A**, Elsevier, v. 1184, n. 1-2, p. 234–253, 2008. Citado 1 vez na página 26.

SEINFELD, John H; PANDIS, Spyros N. **Atmospheric chemistry and physics: from air pollution to climate change**. [S.l.]: John Wiley & Sons, 2016. Citado 1 vez na página 20.

SEINFELD, John H; PANDIS, Spyros N; NOONE, Kevin. **Atmospheric chemistry and physics: from air pollution to climate change**. *Physics Today*, v. 51, p. 88, 1998. Citado 1 vez na página 20.

SHURTLEFF, W; AOYAGI, Akiko. History of world soybean production and trade. **History of soybeans and soyfoods**, v. 1100, 2004. Citado 1 vez na página 18.

SILVA, Silmara Regina da. **Concentrações de amônia na atmosfera na cidade de São Paulo e sua relação com a poluição veicular**. 2015. Tese (Doutorado) –Universidade de São Paulo. Citado 2 vezes nas páginas 24, 102.

SMITH, Emma L; ABBOTT, Andrew P; RYDER, Karl S. Deep eutectic solvents (DESs) and their applications. **Chemical reviews**, ACS Publications, v. 114, n. 21, p. 11060–11082, 2014. Citado 0 vez na página 29.

STOTT, Paul W; WILLIAMS, Adrian C; BARRY, Brian W. Transdermal delivery from eutectic systems: enhanced permeation of a model drug, ibuprofen. **Journal of controlled release**, Elsevier, v. 50, n. 1-3, p. 297–308, 1998. Citado 1 vez na página 31.

SUTTON, MA et al. Ammonia emissions from non-agricultural sources in the UK. **Atmospheric Environment**, Elsevier, v. 34, n. 6, p. 855–869, 2000. Citado 1 vez na página 21.

SVECOVA, Vlasta et al. Personal exposure to volatile organic compounds in the Czech Republic. **Journal of exposure science & environmental epidemiology**, Nature Publishing Group, v. 22, n. 5, p. 455–460, 2012. Citado 1 vez na página 26.

SZULEJKO, Jan E; KIM, Ki-Hyun. A review of sampling and pretreatment techniques for the collection of airborne amines. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, Elsevier, v. 57, p. 118–134, 2014. Citado 1 vez na página 33.

TORBATI, Mohammadali et al. Simultaneous derivatization and air-assisted liquid–liquid microextraction based on solidification of lighter than water deep eutectic solvent followed by gas chromatography–mass spectrometry: An efficient and rapid method for trace analysis of aromatic amines in aqueous samples. **Analytica chimica acta**, Elsevier, v. 1032, p. 48–55, 2018. Citado 16 vezes nas páginas 41, 45, 47–49, 57, 58, 63, 67, 70, 72, 73.

TURŠI Ć, Janja et al. Influence of ammonia on sulfate formation under haze conditions. **Atmospheric Environment**, Elsevier, v. 38, n. 18, p. 2789–2795, 2004. Citado 2 vez na página 20.

UNDERHILL, Dwight W; FEIGLEY, Charles E. Boundary layer effect in diffusive monitoring. **Analytical chemistry**, ACS Publications, v. 63, n. 10, p. 1011–1013, 1991. Citado 1 vez na página 26.

VAN DAMME, Martin et al. Global, regional and national trends of atmospheric ammonia derived from a decadal (2008–2018) satellite record. **Environmental Research Letters**, IOP Publishing, v. 16, n. 5, p. 055017, 2021. Citado 1 vez na página 19.

VOGT, Esther; HELD, Andreas; KLEMM, Otto. Sources and concentrations of gaseous and particulate reduced nitrogen in the city of Münster (Germany). **Atmospheric Environment**, Elsevier, v. 39, n. 38, p. 7393–7402, 2005. Citado 1 vez na página 107.

WANG, Qingmei; MIAO, Yucong; WANG, Ligang. Regional transport increases ammonia concentration in Beijing, China. **Atmosphere**, MDPI, v. 11, n. 6, p. 563, 2020. Citado 1 vez na página 101.

WINIWARTER, Wilfried et al. Estimating environmentally relevant fixed nitrogen demand in the 21st century. **Climatic Change**, Springer, v. 120, p. 889–901, 2013. Citado 1 vez na página 19.

WOJNOWSKI, Wojciech et al. AGREeprep–Analytical greenness metric for sample preparation. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, Elsevier, v. 149, p. 116553, 2022. Citado 2 vezes nas páginas 94, 109.

WU, Shiang-Yuh et al. Modeling atmospheric transport and fate of ammonia in North Carolina—Part II: Effect of ammonia emissions on fine particulate matter formation. **Atmospheric Environment**, Elsevier, v. 42, n. 14, p. 3437–3451, 2008. Citado 1 vez na página 20.

WU, Shui-Ping et al. Atmospheric ammonia measurements along the coastal lines of Southeastern China: Implications for inorganic nitrogen deposition to coastal waters. **Atmospheric Environment**, Elsevier, v. 177, p. 1–11, 2018. Citado 1 vez na página 98.

YAMAMOTO, N et al. Seasonal variation of atmospheric ammonia and particulate ammonium concentrations in the urban atmosphere of Yokohama over a 5-year period. **Atmospheric Environment** (1967), Elsevier, v. 22, n. 11, p. 2621–2623, 1988. Citado 1 vez na página 107.

ZABIEGAŁA, Bożena et al. Passive sampling as a tool for obtaining reliable analytical information in environmental quality monitoring. **Analytical and bioanalytical chemistry**, Springer, v. 396, n. 1, p. 273–296, 2010. Citado 1 vez na página 26.

ZAIKIN, Vladimir G; HALKET, John M. Derivatization in mass spectrometry—2. Acylation. **European Journal of Mass Spectrometry**, SAGE Publications Sage UK: London, England, v. 9, n. 5, p. 421–434, 2003. Citado 1 vez na página 32.

ZBIERANOWSKI, Antoni L; AHERNE, Julian. Spatial and temporal concentration of ambient atmospheric ammonia in southern Ontario, Canada. **Atmospheric Environment**, Elsevier, v. 62, p. 441–450, 2012. Citado 1 vez na página 20.

ZHANG, Yisheng et al. Estimating the volatilization of ammonia from synthetic nitrogenous fertilizers used in China. **Journal of environmental management**, Elsevier, v. 92, n. 3, p. 480–493, 2011. Citado 1 vez na página 20.