

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**DETERMINAÇÃO DE ARSÊNIO TOTAL E INORGÂNICO EM  
SUCOS DE FRUTAS E ARROZ POR ICP-MS**

**Fernanda Costa Pinheiro\***

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE EM QUÍMICA, área de concentração: QUÍMICA ANALÍTICA.

**Orientador: Prof. Dr. Joaquim de Araújo Nóbrega**

**\* bolsista: Capes**

**São Carlos - SP  
2016**

Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da Biblioteca Comunitária UFSCar  
Processamento Técnico  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

P654d Pinheiro, Fernanda Costa  
Determinação de arsênio total e inorgânico em sucos  
de frutas e arroz por ICP-MS / Fernanda Costa  
Pinheiro. -- São Carlos : UFSCar, 2016.  
65 p.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de  
São Carlos, 2016.

1. Arsênio. 2. ICP-MS. 3. Arroz. 4. Sucos. I.  
Título.

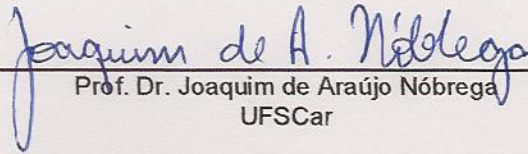


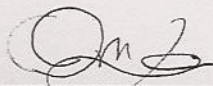
---

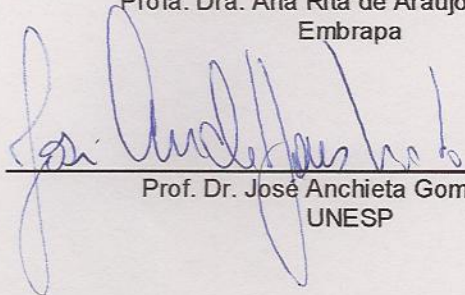
Folha de Aprovação

---

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Dissertação de Mestrado da candidata Fernanda Costa Pinheiro, realizada em 07/07/2016:

  
Prof. Dr. Joaquim de Araújo Nóbrega  
UFSCar

  
Profa. Dra. Ana Rita de Araujo Nogueira  
Embrapa

  
Prof. Dr. José Anchieta Gomes Neto  
UNESP

*“Das utopias  
Se as coisas são inatingíveis... ora!  
Não é motivo para não querê-las...  
Que tristes os caminhos se não fora  
A mágica presença das estrelas!”  
- Mario Quintana*

*Dedico este trabalho aos meus pais, cuja fé em mim incentiva a fé em meus sonhos.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por todo cuidado, graça, força e sabedoria.

Ao Prof. Dr. Joaquim de Araújo Nóbrega pela oportunidade de desenvolver este trabalho e me orientar com paciência e dedicação. Muito obrigada pela confiança, incentivos, ensinamentos e amizade.

Aos colegas do Grupo de Análise Instrumental Aplicada pelo acolhimento e ótima convivência nos laboratórios. Obrigada pelas conversas, reuniões, incentivos, ensinamentos e contribuições.

Aos colegas de disciplinas, eventos e congressos, em especial à Ana Beatriz, Jeyne, Samia, Naty, Raquel, Daniel e Thiago, pelos bons momentos de aprendizagem e descontração vividos juntos.

Aos Professores Dr. Edenir Rodrigues Pereira Filho e Dra. Ana Rita Araujo Nogueira pelos conselhos e importantes sugestões dadas ao trabalho.

À Dra. Lucimar Fialho e Dra. Clarice Amaral pela amizade e valiosa contribuição no desenvolvimento de experimentos.

À Lara Helena Gallego e ao M.Sc. Juan Barros por importantes contribuições.

Aos meus pais Antonio e Leonida e minha Irmã Gabriela por todo carinho, confiança, amor e apoio. Obrigada pelo incentivo nos meus estudos, por confiarem em mim e sonharem os meus sonhos, amo vocês.

Às minhas amigas Janaína, Miriã e Eloize pelo incentivo e apoio desde a época de ensino médio e graduação.

À todos os amigos de São Carlos pela companhia, inúmeras festas, boas risadas e inesquecíveis momentos de descontração, em especial à Paula, Laíza, Maynara, Ana, Syl e Morimoto pela amizade e ótima convivência.

Aos professores do Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos que contribuíram para minha formação acadêmica.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de São Carlos pela oportunidade.

Às secretárias Ariane, Cristina e Luciani por todo o suporte técnico administrativo.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela bolsa de estudo concedida.

Às empresas Agilent Technologies e Analítica pela parceria em instrumentação.

Aos membros da banca pelas correções e preciosas sugestões.

À todos que estiveram presentes e que de alguma forma contribuíram na minha formação e no desenvolvimento deste trabalho durante estes dois maravilhosos anos de mestrado.

*“O quão feliz é uma pessoa depende da profundidade de sua gratidão.” - John Miller*

Muito Obrigada.

## LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AsB	Arsenobetaína
AsC	Arsenocolina
As(III)	Arsenito
As(V)	Arsenato
AFS	Espectrometria de fluorescência atômica ( <i>Atomic fluorescence spectrometry</i> )
BEC	Concentração equivalente ao sinal de fundo ( <i>Background equivalent concentration</i> )
CCT	Tecnologia de celas de colisão ( <i>Cells collision technology</i> )
CC	Cela de colisão ( <i>Collision cell</i> )
CC/KED	Cela de colisão com discriminação de energia cinética ( <i>Collision cell with kinetic energy discrimination</i> )
CE	Eletroforese capilar ( <i>capillary electrophoresis</i> )
CRI	Interface de reação e colisão ( <i>Collision/reaction interface</i> )
CRM	Material de referência certificado ( <i>Certified reference material</i> )
DMA(V)	Ácido dimetilarsínico
DRC	Cela de reação dinâmica ( <i>Dynamic reaction cell</i> )
EPA	Agência de Proteção Ambiental ( <i>US Environmental Protection Agency</i> )
FDA	Administração de Medicamentos e Alimentos dos Estados Unidos ( <i>United States Food and Drug Administration</i> )
GC	Cromatografia gasosa ( <i>Gas chromatography</i> )
GF AAS	Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite ( <i>Graphite furnace atomic absorption spectrometry</i> )
HG	Geração de hidretos ( <i>Hydride generation</i> )
HG AAS	Espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos ( <i>Hydride generation atomic absorption spectrometry</i> )



HG-AFS	Espectrometria de fluorescência atômica com geração de hidretos ( <i>Hydride generation atomic fluorescence spectrometry</i> )
HG-ICP-MS	Espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente com geração de hidreto ( <i>Hydride generation inductively coupled plasma mass spectrometry</i> )
HG-ICP OES	Espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente com geração de hidretos ( <i>Hydride generation inductively coupled plasma optical emission spectrometry</i> )
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência ( <i>High-performance liquid chromatography</i> )
HPLC-ICP-MS	Espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente com cromatografia líquida de alta eficiência ( <i>High-performance liquid chromatography inductively coupled plasma mass spectrometry</i> )
IARC	Agência Internacional para Pesquisa do Câncer ( <i>The International Agency for Research on Cancer</i> )
iAs	Arsênio inorgânico
ICP-MS	Espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente ( <i>Inductively coupled plasma mass spectrometry</i> )
ICP-MS/MS	Espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente e configuração tandem ou triplo quadrupolo ( <i>Inductively coupled plasma tandem mass spectrometry</i> )
ICP OES	Espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente ( <i>Inductively coupled plasma optical emission spectrometry</i> )
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada ( <i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i> )
JECFA	Comitê de Especialistas da FAO e WHO em Aditivos Alimentares ( <i>Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives</i> )
KED	Discriminação de energia cinética ( <i>kinetic energy discrimination</i> )
LC	Cromatografia líquida ( <i>Liquid chromatography</i> )
LMT	Limites máximos toleráveis

LOD	Limite de detecção ( <i>Limit of detection</i> )
MMA(V)	Ácido monometilarsônico
ORS	Sistema octapolar de reação ( <i>Octopole reaction system</i> )
PTWI	Valor provisório indicado para ingestão semanal máxima ( <i>Provisional Tolerable Weekly Intake</i> )
QQQ-ICP-MS	Espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente e triplo quadrupolo ( <i>Triple quadrupole inductively coupled plasma mass spectrometry</i> )
RCC	Teor de carbono residual ( <i>Residual carbon conten</i> )
SBR	Razão sinal analítico pelo sinal de fundo ( <i>Signal-to-background ratio</i> )
SD	Desvio padrão ( <i>Standard deviation</i> )
SFC	Cromatografia por fluido supercrítico ( <i>Supercritical fluid chromatography</i> )
STD	Modo padrão ( <i>Standard mode</i> )
SRM	Material de referência padrão ( <i>Standard reference material</i> )
tAs	Arsênio total
WHO	Organização Mundial de Saúde ( <i>World Health Organization</i> )

## LISTA DE TABELAS

TABELA 3.1 -	Espécies de arsênio e sua toxicidade segundo a IARC <sup>2,3</sup> .....	07
TABELA 3.2 -	Métodos empregados para especiação e fracionamento de arsênio, espécies detectadas e tipo de amostra.....	13
TABELA 3.3 -	Procedimentos de extração de arsênio em arroz.....	17
TABELA 4.1 -	Programa de aquecimento para digestão das amostras.....	26
TABELA 4.2 -	Condições operacionais do ICP OES para determinação de carbono.....	28
TABELA 4.3 -	Condições operacionais utilizadas no iCAP-Q ICP-MS.....	29
TABELA 4.4 -	Condições operacionais utilizadas no ICP-MS/MS.....	30
TABELA 5.1 -	Concentração (média $\pm$ desvio padrão, n = 3) e porcentagem de carbono orgânico solúvel nos digeridos monitorando-se a linha de emissão para carbono em 193,0 nm.....	32
TABELA 5.2 -	Concentração (média $\pm$ desvio padrão, n = 3) e porcentagem de carbono orgânico solúvel nos digeridos monitorando-se a linha de emissão para carbono em 247,8 nm.....	33
TABELA 5.3 -	Determinação de arsênio ( $\text{mg kg}^{-1}$ , média $\pm$ desvio padrão, n = 3) para amostras de arroz e CRM digeridos em $\text{HNO}_3$ 7,0 e 2,0 mol $\text{L}^{-1}$ usando ICP-MS com calibração externa.....	34
TABELA 5.4 -	Limites de detecção (LOD), linearidades e sensibilidades para arsênio nos modos de aquisição <i>single</i> quadrupolo e MS/MS <i>mass-shift</i> para ICP-MS/MS.....	36
TABELA 5.5 -	Determinação de arsênio ( $\mu\text{g L}^{-1}$ , média $\pm$ desvio padrão, n = 3) em digeridos de sucos nos modos de detecção <i>single</i> quadrupolo e MS/MS <i>mass-shift</i> .....	36
TABELA 5.6 -	Experimento de adição e recuperação para arsênio ( $\mu\text{g L}^{-1}$ , média $\pm$ desvio padrão, n = 3 e % de recuperação) nos modos de detecção <i>single</i> quadrupolo e MS/MS <i>mass-shift</i> para ICP-MS/MS.....	38
TABELA 5.7 -	Determinação de arsênio ( $\mu\text{g L}^{-1}$ , média $\pm$ desvio padrão, n = 3) em digeridos de sucos de maçã e laranja usando ICP-MS/MS no modo MS/MS <i>mass-shift</i> .....	39

TABELA 5.8 -	Concentração determinada para arsênio por ICP-MS sem e com CC/KED nas vazões de He 3,5 e 4,5 mL min <sup>-1</sup> para as soluções padrão 0,10 e 1,00 µg L <sup>-1</sup> .....	43
TABELA 5.9 -	Intensidade, faixa dinâmica linear, sensibilidade, LOD, BEC e SBR para determinação de arsênio por ICP-MS no modo CC/KED com diferentes vazões de He.....	44
TABELA 5.10 -	Determinação de arsênio (média ± desvio padrão, n = 3) em digeridos de arroz em HNO <sub>3</sub> 2,0 mol L <sup>-1</sup> usando ICP-MS com e sem CC/KED com calibração externa.....	45
TABELA 5.11 -	Limites de detecção, linearidades e sensibilidades para determinação de arsênio por ICP-MS nos modos STD e KED com calibração por adições de padrão.....	46
TABELA 5.12 -	Determinação de arsênio (média ± desvio padrão, n = 3) em digeridos de arroz em HNO <sub>3</sub> 2,0 mol L <sup>-1</sup> usando ICP-MS com e sem CC/KED com calibração por adições de padrão.....	47
TABELA 5.13 -	Determinação de arsênio inorgânico (média ± desvio padrão, n = 3) em extratos de arroz usando ICP-MS com e sem CC/KED com calibração por adições de padrão.....	49
TABELA 5.14 -	Concentrações de arsênio inorgânico determinadas no CRM NIST 1568a farinha de arroz relatadas na literatura.....	50
TABELA 5.15 -	Comparação da faixa de concentrações de arsênio total e inorgânico em amostras de arroz de diferentes países (valores definidos (concentração mínima-concentração máxima)).....	53

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 3.1 -	Representação esquemática do modo de aquisição <i>mass-shift</i> na remoção de interferências na determinação de $^{75}\text{As}^+$ por ICP-MS/MS através da reação com gás oxigênio. Adaptado de Agilent Technologies <sup>55</sup> .....	21
FIGURA 3.2 -	Representação do sistema de cela de colisão e discriminação por energia cinética para supressão da interferência poliatômica $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$ na determinação de $^{75}\text{As}^+$ .....	23
FIGURA 5.1 -	Sinal da intensidade monitorado para $^{75}\text{As}^+$ nas vazões de He de 0 a 8,5 mL min <sup>-1</sup> (a) e intensidade normalizada para as soluções com concentrações de 0 a 2 % v v <sup>-1</sup> de HCl (b) em diferentes vazões de He.....	42

## RESUMO

### DETERMINAÇÃO DE ARSÊNIO TOTAL E INORGÂNICO EM SUCOS DE FRUTAS E ARROZ POR ICP-MS

Neste trabalho foram desenvolvidos procedimentos analíticos usando espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS) para a determinação de As total em amostras de arroz e sucos de frutas e As inorgânico em amostras de arroz. O procedimento de digestão das amostras foi conduzido em frascos fechados assistido por radiação micro-ondas empregando-se solução de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e ácido nítrico diluído, condição favorável para o controle do branco analítico. O procedimento de extração seletiva adotado para a determinação de As inorgânico se caracterizou pela praticidade e emprego de reagentes pouco tóxicos. O ICP-MS/MS em modo de operação *mass-shift* foi eficiente para a determinação de As total nas amostras de sucos pela reação do analito com oxigênio, possibilitando a determinação de As isenta de interferências monitorando-se a espécie <sup>75</sup>As<sup>16</sup>O<sup>+</sup>. O limite de detecção do procedimento foi de 0,013 µg L<sup>-1</sup> e as concentrações de As total determinadas nos sucos variaram de 0,126 a 1,45 µg L<sup>-1</sup>, sendo significativamente inferiores aos limites máximos toleráveis impostos pelas legislações. As recuperações quantitativas obtidas no experimento de adição e recuperação realizado em modo de operação com gás reacional possibilitaram inferir sobre a exatidão do procedimento. As determinações de As total e inorgânico nas amostras de arroz foram realizadas empregando o equipamento ICP-MS no modo de aquisição sem e com cela de colisão pressurizada com He na vazão otimizada de 4,5 mL min<sup>-1</sup>. O limite de detecção em modo de aquisição sem gás de colisão apresentou-se na faixa de 0,005 a 0,007 mg kg<sup>-1</sup> com recuperação de 103 % referente ao teor de As total certificado para o material de referência certificado NIST 1568a farinha de arroz. As concentrações de As total para as amostras de arroz analisadas variaram de 0,073 a 0,665 mg kg<sup>-1</sup> com média de 0,278 mg kg<sup>-1</sup>. Três diferentes tipos de grãos de arroz apresentaram concentrações superiores ao teor máximo tolerável de 0,30 mg kg<sup>-1</sup> de As total imposto pela ANVISA, FAO e WHO. O procedimento de determinação de As inorgânico apresentou limite de detecção na faixa de 0,05 a 0,06 µg kg<sup>-1</sup> e teor médio de 0,079 mg kg<sup>-1</sup> para as amostras de arroz. Todas as amostras apresentaram concentrações de As inorgânico inferiores ao limite máximo tolerável de 0,20 mg kg<sup>-1</sup> imposto pela FAO e WHO, com exceção da amostra de arroz

integral. As concentrações de As total e inorgânico superiores às permitidas nas legislações atestam a relevância do monitoramento de As em arroz assim como a necessidade de aperfeiçoamento da legislação brasileira, que não apresenta regulamento para As inorgânico.

## ABSTRACT

### DETERMINATION OF TOTAL AND INORGANIC ARSENIC IN FRUIT JUICES AND RICES BY ICP-MS

Analytical procedures using inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) for the determination of total As in rice samples and fruit juices and inorganic As in rice samples were developed. A microwave-assisted digestion procedure carried out in closed vessels was developed using hydrogen peroxide and dilute nitric acid for better control of the analytical blank. The selective extraction procedure used for the determination of inorganic As was characterized by its simplicity and use of non-toxic reagents. Inductively ICP-MS/MS in *mass-shift* mode was efficient for the determination of total As in juices samples by reaction of the analyte with oxygen, enabling the determination of arsenic without interferences by monitoring  $^{75}\text{As}^{16}\text{O}^+$ . The limit of detection was  $0.013 \mu\text{g L}^{-1}$  and total As concentrations determined in juices ranged from  $0.126$  to  $1.45 \mu\text{g L}^{-1}$ . All samples had As concentrations significantly lower than the maximum tolerable limits imposed by legislation. Addition and recovery experiments performed in reactive gas operating mode led to quantitative recoveries showing the accuracy of the procedure. Determination of total and inorganic As in rice samples were performed using ICP-MS in acquisition mode with and without collision cell pressurized with He flow rate at  $4.5 \text{ mL min}^{-1}$ . The limit of detection without collision gas acquisition mode was in the range of  $0.005$  a  $0.007 \text{ mg kg}^{-1}$ . Recovery was 103 % for total As content certified for NIST 1568a rice flour. The total As concentrations in rice samples ranged from  $0.073$  to  $0.665 \text{ mg kg}^{-1}$  with a mean content of  $0.278 \text{ mg kg}^{-1}$ . Three different types of rice grains had higher concentrations than the maximum tolerable level  $0.30 \text{ mg kg}^{-1}$  of total As imposed by ANVISA, FAO and WHO. The inorganic As determination procedure had detection limit ranged from  $0.05$  to  $0.06 \mu\text{g kg}^{-1}$  and mean concentrations of  $0.079 \text{ mg kg}^{-1}$  for rice samples. All samples had inorganic As concentrations lower than the maximum tolerable limit  $0.20 \text{ mg kg}^{-1}$  imposed by FAO and WHO, except brown rice sample. The total and inorganic As concentrations higher than those allowed in legislations indicate the relevance of As monitoring in rice and the need to improve the Brazilian legislation which so far does not have a regulation for inorganic As.



## SUMÁRIO

<b>1 - INTRODUÇÃO .....</b>	<b>2</b>
<b>2 - OBJETIVOS.....</b>	<b>5</b>
2.1 - Objetivo geral .....	5
2.2 - Objetivos específicos .....	5
<b>3 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>7</b>
3.1 - Arsênio: risco toxicológico e contaminação.....	7
3.2 - Legislações e regulamentos de arsênio para água, sucos e arroz .....	11
3.3 - Métodos de especiação e fracionamento de arsênio .....	12
3.4 - Procedimentos de preparo de amostra .....	14
3.4.1 - Procedimentos de digestão ácida assistida por radiação micro-ondas .	14
3.4.2 - Procedimentos de extração .....	16
3.5 - Técnicas analíticas empregadas na determinação de elementos traço ..	18
3.5.1 - Fundamentos, instrumentação e correção de interferências isobáricas para espectrometria de massa com fonte de plasma induzido .....	18
<b>4 - MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>25</b>
4.1 - Amostras .....	25
4.2 - Reagentes e soluções padrão .....	25
4.3 - Preparo de amostras .....	26
4.3.1 - Procedimentos de digestão assistida por radiação micro-ondas .....	26
4.3.2 - Procedimentos de extração para arsênio inorgânico .....	27
4.4 - Instrumentação .....	27
4.4.1 - ICP OES .....	27
4.4.2 - ICP-MS com CC/KED .....	28
4.4.3 - ICP-MS/MS.....	29
<b>5 - RESULTADOS .....</b>	<b>32</b>
5.1 - Digestão assistida por radiação micro-ondas .....	32

<b>5.2 - Determinação de arsênio total em amostras de sucos por espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente e configuração tandem .....</b>	<b>35</b>
5.2.1 - Desempenho analítico e avaliação da exatidão .....	35
<b>5.3 - Determinação de arsênio total e inorgânico em amostras de arroz por espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente com cela de colisão e discriminação por energia cinética .....</b>	<b>41</b>
5.3.1 - Otimização da vazão de hélio empregado na cela de colisão .....	41
5.3.2 - Desempenho analítico e avaliação da exatidão .....	45
<b>6 - CONCLUSÕES.....</b>	<b>56</b>
<b>7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>58</b>

## *Capítulo 1*

---

---

# ***INTRODUÇÃO***

## 1 - INTRODUÇÃO

Os alimentos são fontes essenciais de nutrientes, no entanto, quando contaminados com elementos tóxicos, expõem a saúde humana a riscos provocando efeitos adversos no organismo. A contaminação de alimentos por arsênio pode ocorrer por fontes naturais, como volatilização e atividade vulcânica, ou por atividades industriais, como o uso de pesticidas à base de arsênio. A maior fonte de exposição ao arsênio acontece através da água contaminada que, por sua vez, contamina plantações, vegetais e animais<sup>1,2</sup>.

O arsênio apresenta diferentes espécies as quais possuem toxicidades distintas. As espécies inorgânicas, arsenito (As(III)) e arsenato (As(V)), são cem vezes mais tóxicas que as formas metiladas, ácido monometilarsênico (MMA(V)) e ácido dimetilarsínico (DMA(V)). A Agência Internacional para Pesquisa sobre Câncer (IARC) classifica as formas inorgânicas de arsênio como altamente tóxicas e cancerígenas para os seres humanos (Grupo 1A), sendo o (As(III)) cerca de sessenta vezes mais tóxico do que a forma pentavalente. Os ácidos DMA e MMA são considerados possivelmente cancerígenos para os seres humanos (Grupo 2B), enquanto arsenobetaina e arsenocolina são consideradas não tóxicas<sup>1-3</sup>.

O arroz (*Oryza sativa* L.) é um dos mais importantes componentes da dieta básica brasileira representando a segunda maior cultura de cereais do mundo<sup>4</sup>. As condições de cultivo do arroz (lugares alagados) facilitam a absorção de arsênio pelas raízes das plantas. Arsênio inorgânico e DMA são as principais espécies de arsênio encontradas em arroz, podendo também ser detectado vestígios de MMA, sendo suas proporções variáveis de acordo com as condições ambientais, processos de cultivo da planta e disposição das espécies presentes no solo<sup>5-7</sup>.

O interesse na determinação de arsênio em sucos de frutas desencadeou-se após reportagens da mídia americana alegando uma provável contaminação de sucos de maçã por quantidades elevadas desse elemento. A contaminação de arsênio em sucos pode desencadear-se durante o

processamento industrial ou mediante altos níveis de arsênio no solo ou água utilizada para irrigação<sup>8</sup>.

O uso de técnicas espectroanalíticas com plasma acoplado indutivamente é uma tendência atual em análise instrumental para a determinação de elementos em baixas concentrações (elementos traço). A espectrometria de massa acoplada ao plasma induzido (ICP-MS) é uma técnica multielementar que apresenta alta sensibilidade, precisão, robustez, baixos limites de detecção e ampla faixa linear, no entanto, a determinação de alguns elementos é limitada pela ocorrência de interferências isobáricas causadas por moléculas poliatômicas ou íons divalentes, que podem ser contornadas por estratégias ou tecnologias instrumentais como o uso de celas de reação e/ou colisão que antecedem o detector<sup>9</sup>.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária<sup>10</sup> recomenda no regulamento técnico Mercosul sobre limites máximos de contaminantes inorgânicos em alimentos, o limite máximo de  $0,3 \text{ mg kg}^{-1}$  de arsênio total em cereais e  $0,1 \text{ mg L}^{-1}$  em sucos de frutas e néctar. Órgãos de legislações internacionais como a FAO (*Food and Agriculture Organization*)<sup>11</sup> e FDA (*United States Food and Drug Administration*)<sup>12</sup> propõem o limite máximo de  $0,2 \text{ mg kg}^{-1}$  de arsênio inorgânico e  $0,3 \text{ mg kg}^{-1}$  de arsênio total em arroz e limite máximo tolerável de  $10 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$  de arsênio inorgânico em suco de maçã.

Nesse contexto, a identificação de contaminações por elementos tóxicos à saúde humana deve ser considerada de extrema importância para a segurança nutricional. Devido ao elevado grau de toxicidade do arsênio inorgânico, sua determinação em alimentos exige um constante aprimoramento dos procedimentos analíticos visando detectar concentrações totais e concentrações de formas inorgânicas com precisão e exatidão.

## *Capítulo 2*

---

---

# ***OBJETIVOS***

## **2 - OBJETIVOS**

### **2.1 - Objetivo geral**

O estudo teve por objetivo o desenvolvimento de procedimentos analíticos empregando espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS) para a determinação de arsênio em amostras de arroz e sucos de frutas que fossem facilmente aplicados em análises de rotina e não dependessem do acoplamento de um sistema cromatográfico para o fracionamento das espécies de arsênio, considerando-se a concentração de arsênio total e a concentração de arsênio inorgânico.

### **2.2 - Objetivos específicos**

- Desenvolver procedimentos visando o preparo de amostras de arroz e de sucos de frutas para a determinação de arsênio total e arsênio inorgânico.
- Otimizar os parâmetros instrumentais da espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) com cela de colisão e discriminação de energia cinética (CC/KED) visando a determinação de arsênio total e inorgânico nas amostras de arroz.
- Empregar a espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente com triplo quadrupolo (ICP-MS/MS) para a determinação de arsênio total nas amostras de sucos de frutas.

*Capítulo 3*

---

---

**REVISÃO**  
**BIBLIOGRÁFICA**



### 3 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 - Arsênio: risco toxicológico e contaminação

O elemento arsênio é classificado pela IARC (Agência Internacional para Pesquisa do Câncer) como altamente tóxico e cancerígeno para os seres humanos (Grupo 1A) apresentando toxicidade aguda crônica<sup>1</sup>. O grau de toxicidade das espécies de arsênio varia de acordo com sua forma química. A forma inorgânica (iAs), considerada mais tóxica, é representada pelo íon arsenato (As(V)) e arsenito (As(III)), sendo o arsenito a espécie de maior toxicidade. Ácido monometilarsônico (MMA(V)), ácido dimetilarsínico (DMA(V)), arsenobetaina (AsB) e arsenocolina (AsC) são as formas orgânicas mais comuns<sup>1-3</sup>. A Tabela 3.1 apresenta a toxicidade para as espécies de arsênio citadas.

TABELA 3.1 - Espécies de arsênio e sua toxicidade segundo a IARC<sup>2,3</sup>.

Espécie	Grau de Toxicidade
AsB	Considerado não tóxico, não classificável quanto à sua carcinogenicidade
AsC	Considerado não tóxico, facilmente oxidado a AsB
MMA(V)	Possivelmente cancerígeno - Grupo 2B
DMA(V)	Possivelmente cancerígeno - Grupo 2B
As(III)	Altamente tóxico e cancerígeno para os seres humanos - Grupo 1A
As(V)	Altamente tóxico e cancerígeno para os seres humanos - Grupo 1A

A ingestão de arsênio em longo prazo vem sendo associada a uma série de efeitos adversos a saúde humana, como lesões na pele, desenvolvimento de cânceres de pele, pulmão, bexiga e rim, doenças cardiovasculares (hipertensão, arritmias e disfunção vascular), desequilíbrio do metabolismo da glicose e diabetes. A exposição crônica ao arsênio pode resultar ainda em doenças como conjuntivite, hiperqueratose, hiperpigmentação e gangrena nos membros<sup>1-3</sup>.

A contaminação de alimentos por arsênio pode ocorrer por fontes naturais do elemento como dessorção de minerais e atividades geoquímicas, ou por atividades industriais humanas como mineração, combustão de combustíveis fósseis, fumaças e poeiras industriais e o uso prévio de pesticidas à base de arsênio (inseticidas, fungicidas e herbicidas)<sup>1,2,6</sup>.

O arroz é cultivado em meio anaeróbio com condições de alagamento quase permanentes, o que favorece a captação de arsênio pelas raízes das plantas<sup>5</sup>. Em casos de contaminação do solo ou da água (subterrânea ou usada na irrigação), as raízes das plantas entram em contato com o arsênio translocando-o até a parte aérea da planta, possibilitando assim o seu acúmulo nos grãos de arroz<sup>5,6</sup>. A espécie mais tóxica, As(III), tem alta solubilidade em água, sendo assim eficientemente absorvida pelas raízes das plantas. As espécies orgânicas DMA e MMA são absorvidas mais lentamente que as espécies inorgânicas, porém, são transportados mais eficientemente no xilema e floema da planta<sup>7</sup>. BATISTA et al. (2014)<sup>13</sup> demonstraram o aumento nas concentrações de DMA e MMA em grãos de diferentes cultivares de arroz sob exposição ao arsênio.

Estima-se que 300 mil pessoas já morreram de câncer em Bangladesh, uma vez que a água contaminada era usada para o consumo e irrigação de plantações. Certas populações no Irã e Bangladesh apresentam elevadas incidências de hipertensão e diabetes. Os arrozais correspondem aproximadamente a 70 % da economia do país. Uma concentração de 4-8 mg kg<sup>-1</sup> de arsênio já foi relatada em amostras de arroz da região<sup>14</sup>, em áreas mais contaminadas essa concentração chegou a 83 mg kg<sup>-1</sup> de arsênio.

No estado de Wisconsin, Estados Unidos<sup>15</sup>, constatou-se uma contaminação de arroz por arsênio em torno de 2-5 mg kg<sup>-1</sup>. Na América Latina<sup>16</sup>, casos de contaminação em água foram relatados no México, com concentrações na faixa de 30-40 µg L<sup>-1</sup>.

A contaminação por arsênio é um problema que também afeta a região norte do Chile há décadas, devido à alta atividade de mineração e a abundância natural do elemento. A área norte do país possui naturalmente altos níveis de arsênio no ar, água e solo. Entre os anos de 1958 e 1970<sup>17</sup>, os rios da Cordilheira dos Andes foram utilizados para o abastecimento de água potável na região do Antofagasta, o que desencadeou uma contaminação nos

habitantes locais com uma quantidade diária de aproximadamente  $870 \mu\text{g L}^{-1}$  de arsênio, sendo essa 90 vezes superior à quantidade máxima permitida pela EPA (Agência de Proteção Ambiental)<sup>18</sup> de  $10 \mu\text{g L}^{-1}$ .

Os habitantes de Paracatu, Minas Gerais, estão expostos à intoxicação crônica pelo arsênio liberado pela mineradora canadense Kinross Gold Corporation desde 1987. O médico Sérgio Ulhoa Dani, do Departamento de Oncologia Médica do Hospital da Universidade de Berna, na Suíça, estuda, desde 2007, a provável contaminação por arsênio na população de Paracatu. Para médicos e cientistas, o crescente número de casos de câncer no município está associado ao arsênio liberado pela mineração de ouro, uma vez que, para se chegar a 1 g de ouro são liberados aproximadamente 7 kg de arsênio considerando a composição da rocha de origem. Suspeita-se que as águas de Paracatu estejam gravemente contaminadas com o arsênio liberado pela mina de ouro<sup>19</sup>.

Possíveis fontes de arsênio em sucos de maçã podem originar-se de contaminação durante o processamento industrial, altos níveis do elemento no solo ou na água utilizada para irrigação e pela deposição atmosférica oriunda de atividades industriais. Pesticidas à base de arsênio eram comumente usados na produção agrícola dos Estados Unidos até 1970, desse modo, vestígios do elemento podem ser detectados em ambientes agrícolas, proporcionando a absorção de arsênio pelas plantas. Outra possível fonte de arsênio em sucos seria pela contaminação da água utilizada pelos fabricantes para diluir sucos concentrados<sup>12</sup>.

Em trabalhos referentes à determinação de arsênio em plantas de arroz, CAREY et al. (2010)<sup>20</sup> mostraram que a raiz, o caule e as folhas de arroz apresentaram maiores concentrações de arsênio inorgânico, enquanto o grão de arroz contém predominantemente a espécie orgânica DMA e As(III). As espécies orgânicas MMA e DMA presentes no solo são captadas pelas raízes das plantas em menor quantidade, porém são transportadas para o grão com maior eficácia que as formas inorgânicas.

PÉTURSDÓTTIR et al. (2014)<sup>21</sup> determinaram a concentração de arsênio em 12 tipos de arroz e 32 produtos a base de arroz, obtendo valores na faixa de 58 a  $1259 \mu\text{g kg}^{-1}$  de arsênio total e de 29 a  $428 \mu\text{g kg}^{-1}$  de arsênio inorgânico em modo de análise por cromatográfica líquida de alta eficiência

(HPLC) e geração de hidretos (HG), ambos acoplados à espectrometria de massa com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS). Trinta amostras de arroz do mercado do Reino Unido foram avaliadas por ambas as técnicas citadas obtendo-se valores para a concentração de arsênio inorgânico na faixa de 5 a 301  $\mu\text{g kg}^{-1}$  e de 6 a 477  $\mu\text{g kg}^{-1}$  de arsênio total<sup>22</sup>.

FARÍAS et al. (2015)<sup>23</sup> utilizaram os métodos de HPLC e HG acoplado à espectrometria de fluorescência atômica (AFS) para a determinação de quatro espécies de arsênio em 59 tipos de arroz argentinos. A concentração total de arsênio variou de 0,08-1,39  $\text{mg kg}^{-1}$ , sendo aproximadamente 28 % desse valor correspondente ao arsênio inorgânico.

No Brasil, o estudo realizado por BATISTA et al. (2011)<sup>5</sup> utilizando ICP-MS associada com cromatografia líquida (LC) estimou um consumo diário de As(III), As(V), MMA e DMA de 7,7; 3,4; 0,71 e 7,5  $\mu\text{g}$ , respectivamente, considerando um consumo diário de 86,5 g de arroz por pessoa. CERVEIRA et al. (2015)<sup>24</sup> determinaram as concentrações de arsênio total e inorgânico por espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos (HG AAS) em 13 tipos e variedades de arroz do Rio Grande do Sul, maior produtor brasileiro desse produto, encontrando concentrações na faixa de 54 a 169  $\mu\text{g kg}^{-1}$  de arsênio inorgânico e 83-258  $\mu\text{g kg}^{-1}$  para arsênio total.

Nos Estados Unidos, uma concentração de 9,2  $\mu\text{g kg}^{-1}$  de arsênio inorgânico foi determinado em amostras de sucos de uva<sup>25</sup>. No Brasil, uma concentração de 7,4  $\mu\text{g L}^{-1}$  de arsênio inorgânico foi determinado em amostras de sucos de uva das regiões Nordeste, Sudeste e Sul por espectrometria de massa com fonte de plasma e geração de hidreto (HG-ICP-MS)<sup>26</sup>.

MAJA e SZYMCZYCHA-MADEJA (2014)<sup>27</sup> determinaram concentrações de As, Sb e Se em sete sabores de sucos de frutas de uma determinada marca polonesa comercializada em embalagens Tetra Pak<sup>®</sup>, por geração de hidreto acoplada à espectrometria de emissão ótica com plasma acoplado indutivamente (HG-ICP OES). A diluição da amostra em água régia, seguida de sonicação em banho de ultrassom foi o melhor procedimento de preparo de amostra empregado na determinação simultânea dos três elementos, apresentando LOD de 0,6  $\mu\text{g L}^{-1}$  para arsênio, com concentração inferior ao limite de detecção para todas as amostras de sucos analisadas.

Em 2011, a FDA iniciou uma nova avaliação quantitativa do risco de arsênio inorgânico em sucos de maçã. Os níveis totais de arsênio em amostras de suco de maçã apresentam-se rotineiramente abaixo de  $10 \mu\text{g L}^{-1}$ . No entanto, a FDA identificou amostras de suco de maçã com níveis de arsênio inorgânico acima deste limite em anos anteriores<sup>28</sup>.

### **3.2 - Legislações e regulamentos de arsênio para água, sucos e arroz**

Órgãos como WHO, FDA, FAO (*Food and Agriculture Organization*) e a EFSA (*The European Food Safety Authority*) vêm discutindo com frequência sobre limites máximos toleráveis de arsênio total e arsênio inorgânico para água e alimentos que sejam seguros à saúde humana<sup>7,11,29</sup>.

A China apresenta uma legislação relativa aos limites máximos de contaminantes em alimentos em vigor desde outubro de 2005. Para arroz, o valor máximo tolerável é  $0,15 \text{ mg kg}^{-1}$  de arsênio inorgânico e  $0,2 \text{ mg L}^{-1}$  de arsênio total para sucos de frutas<sup>30</sup>.

Nenhuma legislação é vigente na União Europeia, no entanto, a EFSA publicou em 2009 sobre os riscos da contaminação de alimentos por arsênio<sup>31</sup>. Em 2014, uma nova publicação sobre a exposição alimentar ao arsênio inorgânico na população europeia foi publicada apresentando uma estimativa da exposição alimentar crônica ao arsênio inorgânico usando levantamentos sobre 17 países europeus. De acordo com os cenários utilizados para o tratamento de dados, a exposição alimentar ao arsênio em lactentes e crianças variou de  $0,20$  a  $1,37 \mu\text{g kg}^{-1}$  de massa corpórea por dia, enquanto que a média de exposição alimentar entre a população adulta (incluindo adultos e idosos) variou de  $0,09$  a  $0,38 \mu\text{g kg}^{-1}$  de massa corpórea por dia<sup>32</sup>.

Em 22 de janeiro de 2001 a EPA<sup>18</sup> adotou  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  como novo limite máximo tolerável de arsênio em água potável, substituindo o antigo limite de  $50 \mu\text{g kg}^{-1}$ . Países como Bangladesh, Índia, China, Argentina, Gana, Chile, Vietnã, Canadá, Laos, México e Estados Unidos têm relatado concentrações de arsênio em fontes de água em níveis que excedem esse novo limite<sup>31</sup>.

Relatos da mídia norte americana sobre a detecção de níveis de arsênio em amostras de sucos de maçã superiores ao padrão adotado para a água potável desencadearam o interesse na determinação desse elemento em sucos de frutas. A FDA estabeleceu em 2008 o limite de preocupação de  $23 \mu\text{g kg}^{-1}$  de arsênio inorgânico em sucos de maçã<sup>8</sup>. Em 2011, iniciou-se uma nova avaliação quantitativa do risco de arsênico inorgânico em sucos de maçã<sup>33</sup>, sendo que em 2013 foi adotado o limite máximo tolerável de  $10 \mu\text{g L}^{-1}$ <sup>12</sup>.

O Comitê de Especialistas da FAO e WHO em Aditivos Alimentares (JECFA) substituiu o valor provisório indicado para ingestão semanal máxima tolerável (PTWI) de arsênio inorgânico de 15 para  $2 \text{ mg kg}^{-1}$  de massa corpórea<sup>34</sup>. Em 2012, a WHO e a FAO<sup>11</sup> propuseram o limite máximo de  $0,2 \text{ mg kg}^{-1}$  de arsênio inorgânico e  $0,3 \text{ mg kg}^{-1}$  de arsênio total em arroz, mas somente em 2014, a 37ª Sessão da Comissão do Codex Alimentarius adotaram os limites propostos para arroz polido. Os níveis permitidos para arroz descascado ainda estão sendo discutidos, estima-se que os níveis propostos para discussão na 8ª sessão<sup>35</sup> sejam de 0,25; 0,3 ou  $0,4 \text{ mg kg}^{-1}$ .

No Brasil, a ANVISA<sup>10</sup> (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) publicou em 30 de agosto de 2013 a Resolução nº 42, de 29 de agosto de 2013, que dispõe sobre o regulamento técnico Mercosul sobre limites máximos de contaminantes inorgânicos em alimentos. Essa resolução revogou os limites máximos de arsênio de 1,0 para  $0,3 \text{ mg kg}^{-1}$  de arsênio total para alimentos cereais e de 0,5 para  $0,1 \text{ mg L}^{-1}$  para sucos de frutas e néctar, não apresentando ainda um limite máximo vigente para arsênio inorgânico.

### **3.3 - Métodos de especificação e fracionamento de arsênio**

Segundo a IUPAC especificação química é a distribuição de um elemento entre espécies químicas definidas em um sistema. Por sua vez, fracionamento é o processo de classificação de um analito ou grupo de analitos a partir de uma determinada amostra de acordo com as propriedades físicas (tamanho, solubilidade) ou químicas (reatividade, função orgânica ou inorgânica) em comum<sup>36</sup>.

As análises de especiação química geralmente empregam algum tipo de método usado para separar as espécies do analito acoplado a alguma técnica analítica de detecção. Métodos de separação de espécies como cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), cromatografia gasosa (GC), cromatografia por fluido supercrítico (SFC), cromatografia líquida (LC), eletroforese capilar (CE) e geração de hidretos (HG), acoplados às técnicas como espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS), espectrometria de absorção atômica (AAS), espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS) e espectroscopia de fluorescência atômica (AFS) têm sido aplicados para a especiação de arsênio<sup>7,29,37</sup>. A Tabela 3.2 apresenta alguns métodos utilizados para a especiação e fracionamento de arsênio.

TABELA 3.2 – Métodos empregados para especiação e fracionamento de arsênio, espécies detectadas e tipo de amostra.

Amostra	Método de especiação	Espécie	Referência
Arroz	LC-ICP-MS	As(III), As(V), MMA, DMA e AsB	5
Arroz	HPLC-HG-ICP-MS	As(III), As(V), MMA e DMA	21
Arroz	HPLC-ICP-MS	As(III), As(V), MMA e DMA	38, 39, 40
Arroz, cogumelo	HPLC-HG-AAS	As(III), As(V) e DMA	24, 41
Arroz, planta	HPLC-HG-AFS	As(III), As(V) e DMA	23, 42
Suco de frutas	HG-ICP OES	As(III) e As(V)	27
Peixe	CE-ICP-MS	As(III), As(V), MMA, DMA e AsB	43
Carne de frango	HPLC-(UV)-HG-AFS	As(III), As(V), MMA, DMA e AsB	44

O acoplamento HPLC-ICP-MS é um método robusto bem estabelecido na especiação química de arsênio em arroz<sup>5,21,38-40</sup>. No entanto, outros métodos de especiação, como geração de hidretos, têm demonstrado serem rápidos, baratos, eficientes e convenientes para aplicação em

laboratórios de instrumentação mais simples. O acoplamento HG baseia-se na produção de um hidreto volátil de elementos que formam hidretos (As, Bi, Ge, Sb, Pb, Se, S, Te e Sn) após reação da amostra acidificada e um agente redutor<sup>29,45</sup>.

As espécies de arsênio, quando acidificadas e reagidas com NaBH<sub>4</sub>, formam diferentes hidretos. As espécies inorgânicas arsenito e arseniato formam a arsina (AsH<sub>3</sub>), por sua vez, as espécies orgânicas MMA e DMA formam CH<sub>3</sub>AsH<sub>2</sub> e (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>AsH, respectivamente. A formação desses hidretos é totalmente dependente do pH e dos valores de pKa de cada espécie<sup>46</sup>.

Técnicas analíticas como HG-AAS e HG-AFS são mais baratas e acessíveis quando comparadas com o acoplamento HG-ICP-MS, no entanto, a escolha da técnica de determinação deve comprometer-se com a concentração do analito presente na amostra, aos efeitos da matriz e a sensibilidade necessária, considerando as vantagens e desvantagens em relação ao custo, LOD e a disponibilidade de instrumentação do laboratório<sup>29,37</sup>.

### **3.4 - Procedimentos de preparo de amostra**

A determinação de elementos por técnicas espectroanalíticas necessita, em sua maioria, de um procedimento adequado de preparo da amostra visando torná-la adequada para determinação dos analitos de interesse livres de efeitos matriciais e compatíveis as exigências de operação do equipamento empregado, como limite máximo de sólidos dissolvidos e acidez residual.

#### **3.4.1 - Procedimentos de digestão ácida assistida por radiação micro-ondas**

Visando otimizar os procedimentos de digestão ácida e reduzir a quantidade de reagentes e resíduos, diversos trabalhos voltados ao emprego de ácidos diluídos com aquecimento em forno com radiação micro-ondas foram desenvolvidos<sup>46-49</sup>. Soluções ácidas diluídas não apresentam uma elevada



ação oxidante, no entanto, quando empregadas sob altas temperaturas tornam-se eficientes no processo de digestão, conforme relatado em estudos de BIZZI et al. (2015)<sup>48</sup> sobre a eficiência da digestão ácida assistida por radiação micro-ondas de tecidos vegetais empregando soluções de ácido nítrico diluído e peróxido de nitrogênio.

Procedimentos de digestão que utilizam pequeno volume de ácido tornam-se mais eficientes com a adição de um agente oxidante. O peróxido de hidrogênio aumenta o poder oxidante da mistura empregada na diluição da amostra, substituindo assim a necessidade do uso de ácidos concentrados<sup>47,48</sup>. BIZZI e colaboradores (2014)<sup>49</sup> propuseram uma melhor compreensão do papel de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em procedimentos de digestão com frascos fechados. Os autores avaliaram o desempenho de digestões utilizando peróxido de hidrogênio e pressurização de O<sub>2</sub> ao frasco reacional. A digestão de amostras orgânicas assistida por radiação micro-ondas em frascos fechados proporciona um gradiente de temperatura que possibilita a regeneração do ácido nítrico na presença de peróxido de hidrogênio, possibilitando assim a decomposição da amostra em ácido diluído.

Digestões utilizando H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> possibilitaram a utilização de HNO<sub>3</sub> 2 mol L<sup>-1</sup> para digerir massas de amostras de materiais biológicos tão elevadas quanto 500 mg. O procedimento proposto permitiu uma redução de até 14 vezes na quantidade normalmente utilizada de ácido nítrico em digestões de amostras de leite integral em pó e fígado bovino, condição extremamente favorável no controle do branco analítico<sup>49</sup>.

PÉTURSDÓTTIR et al. (2014)<sup>21</sup> e BRALATEI et al. (2015)<sup>22</sup> empregaram o sistema de frascos fechados em forno de radiação micro-ondas para a digestão de amostras de arroz em soluções contendo 1 mL de HNO<sub>3</sub> concentrado e 2 mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30 % m v<sup>-1</sup>. FARÍAS et al. (2015)<sup>23</sup> e CERVEIRA et al. (2015)<sup>24</sup> também empregaram digestão ácida assistida por radiação micro-ondas para digestão de amostras de arroz. Um grama de arroz foi digerido com a mistura de 6 mL de HNO<sub>3</sub> concentrado, 1 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30 % v v<sup>-1</sup> e 1 mL de água destilada-desionizada<sup>23</sup>. A digestão de 250 mg de arroz foi realizada em 3 mL de HNO<sub>3</sub> concentrado e 2 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>24</sup>.

### 3.4.2 - Procedimentos de extração

Para a extração de arsênio três possíveis estratégias podem ser avaliadas: extração sem a conversão de espécies (a extração preserva todas as espécies em solução); extração com a conversão parcial entre As(III) e As(V) (não ocorre a degradação de compostos orgânicos) e extração seletiva (extração apenas da fração inorgânica utilizando reagentes específicos). Para o desenvolvimento de um procedimento de especiação química de arsênio é imprescindível manter a estabilidade das espécies químicas em solução, realizando procedimentos de extração de modo em que os solventes não interfiram na análise<sup>7,29,50</sup>.

Para determinação de arsênio inorgânico em arroz PÉTURSDÓTTIR et al. (2014)<sup>21</sup> empregaram o procedimento de extração assistida por radiação micro-ondas, no qual 0,1 g das amostras foram extraídas em 10 mL de HNO<sub>3</sub> e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ambos a 1 % v v<sup>-1</sup>, sob temperatura de 95 °C por 20 min. Um procedimento rápido de extração foi desenvolvido por BRALATEI et al. (2015)<sup>22</sup> no qual 5 g de arroz foi extraído em 50 mL HNO<sub>3</sub> 1 % v v<sup>-1</sup> por ebulição entre 15 e 45 min em banho de água.

HUANG et al. (2011)<sup>40</sup> propuseram um procedimento de extração para amostras de arroz com solução de HNO<sub>3</sub> 0,28 mol L<sup>-1</sup> sob temperatura de 90 °C por 90 min em bloco digestor, tempo necessário devido à ligação das espécies de arsênio com enzimas presentes nesse cereal. Estudo de especiação de arsênio em 44 tipos diferentes de arroz provenientes do Brasil usando HPLC-ICP-MS foi desenvolvido por BATISTA et al. (2011)<sup>5</sup> empregando esse procedimento de extração<sup>40</sup>.

Extração assistida por radiação micro-ondas foi empregada por CERVEIRA et al. (2015)<sup>24</sup>. Nessa, 500 mg de amostra foi extraída em 5 mL de HNO<sub>3</sub> 0,14 mol L<sup>-1</sup> após 12 h de repouso. NARUKAWA et al. (2008)<sup>51</sup> avaliaram diferentes misturas de solventes e métodos para a extração e determinação por HPLC-ICP-MS, destas, a extração assistida por micro-ondas utilizando água a 80 °C por 30 min foi mais eficiente.

Para extração seletiva de arsênio inorgânico, PASIAS et al. (2013)<sup>52</sup> empregaram 500 mg de arroz em banho de ultrassom por 15 min na

presença de 5 mL de  $\text{HNO}_3$  1 mol  $\text{L}^{-1}$  e EDTA 0,1 % m  $\text{v}^{-1}$ . Após sonicação, a amostra foi centrifugada a 4000 rpm por 15 min e o sobrenadante foi analisado por ET AAS. SHAH e colaboradores (2010)<sup>53</sup> empregaram um procedimento de extração seletiva de arsênio inorgânico assistido por micro-ondas no qual 500 mg de tecido de músculo de peixe foi extraído em 5 mL de  $\text{HClO}_4$  e 50 mg de  $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$  e diluído em  $\text{HCl}$  1 mol  $\text{L}^{-1}$ . A Tabela 3.3 apresenta procedimentos de extração de arsênio em amostras de arroz, o método de detecção e as espécies de arsênio determinadas.

TABELA 3.3 – Procedimentos de extração em arroz.

Método de extração	Reagente	Espécie	Método	Ref
BA, 95 °C, 1h 30 min	$\text{HNO}_3$ 2 %	As(III), As(V), MMA, DMA	HPLC-ICP-MS	5
MAE, 95 °C, 30 min	$\text{HNO}_3$ e $\text{H}_2\text{O}_2$ 1 %	As(III), As(V), MMA, DMA	HG-HPLC-ICP-MS	21
BA, 95 °C, 45 min	$\text{HNO}_3$ 1 %	As(III), As(V), MMA, DMA	HG-HPLC-ICP-MS	22
BAr, 95 °C, 90 min	$\text{HNO}_3$ 2 %	As(III), As(V), MMA, DMA	HPLC–HG–AFS	23
MAE, 95 °C, 40 min	$\text{HNO}_3$ 1 %	iAs, As(III) e As(V)	HG-AAS	24
BA, 95 °C, 90 min	$\text{HNO}_3$ 2 %	As(III), As(V), MMA, DMA	HPLC-ICP-MS	50
MAE, 80 °C, 30 min	$\text{H}_2\text{O}$	As(III), As(V), MMA, DMA	HPLC-ICP-MS	51
BU, TA, 15 min	$\text{HNO}_3$ 7,14 % e EDTA 0,1 %	iAs, As(III) e As(V)	GF AAS	52
BAq, 100 °C, 6 h	TFA 2 mol $\text{L}^{-1}$	iAs, DMA, MMA	HPLC-ICP-MS	54
MAE, 37 °C, 40 min	SAE	As(III), As(V), MMA, DMA	HPLC-ICP-MS	55
MAE, 90 °C, 30 min	$\text{HNO}_3$ 1 %	As(III), As(V), MMA, DMA	HPLC-ICP-MS	56

TABELA 3.3 – Procedimentos de extração de arsênio em arroz (continuação).

Método de extração	Reagente	Espécie	Método	Ref
BA 55 °C, 10 h e BU, TA, 5 min	MeOH e H <sub>2</sub> O (1:1)	As(III), As(V), MMA, DMA	HPLC-ICP-MS	57
MAE, 37 °C, 40 min	SAE	As(III), As(V), MMA, DMA	HPLC-ICP-MS	58
BAq, 100 °C, 6 h	TFA 2 mol L <sup>-1</sup>	iAs, MMA, DMA	IC-ICP-MS	59
MAE, 95 °C, 65 min	TFA 0,02 mol L <sup>-1</sup> e H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	As(III), As(V), MMA, DMA	HPLC-ICP-MS	60
BA, 90 °C, 1 h	HNO <sub>3</sub> 0,02 mol L <sup>-1</sup>	As(III), As(V), MMA, DMA	SPE-HG-AFS e HPLC-ICP-MS	61
Solubilização em HCl	HBr, H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> S, CHCl <sub>3</sub> , HCl	iAs	ICP-MS	62

Ref: Referência; BA: Banho de água; MAE: Extração assistida por micro-ondas, BAq: Banho de areia; BU: Banho de ultrassom; TA: Temperatura ambiente; BAq: Bloco de aquecimento; SAE: Solução aquosa de enzimas.

### 3.5 - Técnicas analíticas empregadas na determinação de elementos traço

A determinação de elementos em níveis traço e ultra-traço ( $\mu\text{g L}^{-1}$  a  $\text{ng L}^{-1}$ ) requer uma avaliação criteriosa do método analítico empregado, considerando-se exatidão, precisão e sensibilidade necessária.

#### 3.5.1 - Fundamentos, instrumentação e correção de interferências isobáricas para espectrometria de massa com fonte de plasma induzido

A espectrometria de massa com plasma acoplado indutivamente é uma técnica espectrométrica multielementar eficaz para a determinação de elementos em baixas concentrações apresentando elevada sensibilidade,

baixos limites de detecção, precisão, ampla faixa linear, obtenção de espectros simples e com menor sinal de fundo e possibilidade de leitura isotópica<sup>9</sup>.

Baseada na separação de íons pela razão massa/carga, a espectrometria de massa com fonte de plasma induzido promove a formação de íons em plasma induzido de argônio que chega a temperaturas de até 10000 K, energia térmica suficiente para causar a excitação e ionização da maioria dos elementos químicos. Os íons gasosos gerados são introduzidos no espectrômetro de massas, que opera sob vácuo, e em função da ação dos campos elétricos e magnéticos irão descrever uma trajetória distinta em função de cada razão massa/carga, promovendo assim a seleção da espécie que atingirá o detector a cada momento<sup>9</sup>.

O espectro de massas gerado pela separação de espécies em função da razão massa/carga é significativamente mais simples que o espectro de emissão gerado por espécies excitadas em um plasma, contudo, ICP-MS apresenta como principal limitação à ocorrência de interferências espectrais e não espectrais ocasionadas por óxidos, íons presentes na composição do plasma, da matriz ou dos reagentes utilizados na etapa de preparo de amostra. A espectrometria de massa com analisador quadrupolo de baixa resolução (ca. 400) é suscetível à interferências espectrais de íons isobáricos e/ou espécies poliatômicas devido à sobreposição de massas similares à do analito<sup>52</sup>. Elementos que formam íons divalentes também podem causar sobreposições espectrais em elementos que apresentem metade de sua massa, por exemplo, interferência dos íons  $^{150}\text{Nd}^{2+}$  e  $^{150}\text{Sm}^{2+}$  na determinação de arsênio<sup>63</sup>.

Visando atenuar ou eliminar interferências poliatômicas, a interface dos equipamentos ICP-MS foi aperfeiçoada com estratégias instrumentais como a tecnologia de celas de colisão (CCT), cela dinâmica de reação (DRC) e interface de reação-colisão (CRI) que se fundamentam na introdução de gases reativos ( $\text{H}_2$ ,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{CH}_4$  e  $\text{O}_2$ ) ou inertes (He) às celas de reação e/ou colisão que antecedem o detector<sup>64-66</sup>.

A CCT apresenta uma cela de colisão (CC) na qual um gás inerte colide preferencialmente com os íons interferentes, geralmente com maiores diâmetros, reduzindo sua energia cinética. Os íons de baixa energia são rejeitados por discriminação de energia cinética (KED, *kinetic energy discrimination*) eliminando assim as interferências poliatômicas<sup>64,66</sup>.

Por outro lado, os processos envolvendo gases altamente reativos, (tecnologia DRC) promovem a eliminação de espécies isobáricas a partir da discriminação por massa baseada em mecanismos reacionais, como a reação de transferência de carga, reação das espécies interferentes ou reação de íons do próprio analito com formação de espécies com diferentes razão massa/carga, como exemplo, a determinação de arsênio através da conversão do íon  $^{75}\text{As}^+$  em  $^{75}\text{As}^{16}\text{O}^+$  pela reação com gás oxigênio<sup>9,63-65</sup>.

### 3.5.1.1. Espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente e configuração tandem

A espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente e configuração tandem (ICP-MS/MS), também conhecido como “triplo quadrupolo” ou “QQQ-ICP-MS”, combina dois analisadores de massa ( $Q_1$  e  $Q_2$ ) e uma cela reação/colisão (ORS, *ocotopole reaction system*) posicionada entre os dois analisadores, que permite operar o equipamento no modo MS/MS (duplo quadrupolo) por duas diferentes formas: modo *on-mass*/MS e modo *mass-shift*/MS<sup>9,67</sup>.

No modo *on-mass*/MS a razão  $m/z$  selecionada é a mesma para  $Q_1$  e  $Q_2$ , nesse caso, tanto o isótopo do analito quanto a espécie isobárica interferente entram na cela ORS. Neste caso, o gás introduzido à cela reage com as espécies interferentes de modo que apenas o isótopo do analito será detectado em  $Q_2$ . Por sua vez, no modo *mass-shift*/MS são selecionadas razões  $m/z$  diferentes para  $Q_1$  e  $Q_2$ . Assim, o analito interage com o gás reativo pressurizado na cela formando um íon de  $m/z$  diferente da espécie poliatômica interferente, sendo então detectado em  $Q_2$  pelo monitoramento do óxido formado ( $Q_1+16$ )<sup>9,67,68</sup>.

A Figura 3.1 apresenta um esquema para ICP-MS com cela de reação (3.1a) e para ICP-MS/MS em modo de aquisição *mass-shift* através de reação com oxigênio (3.1b) na determinação de arsênio<sup>67</sup>.

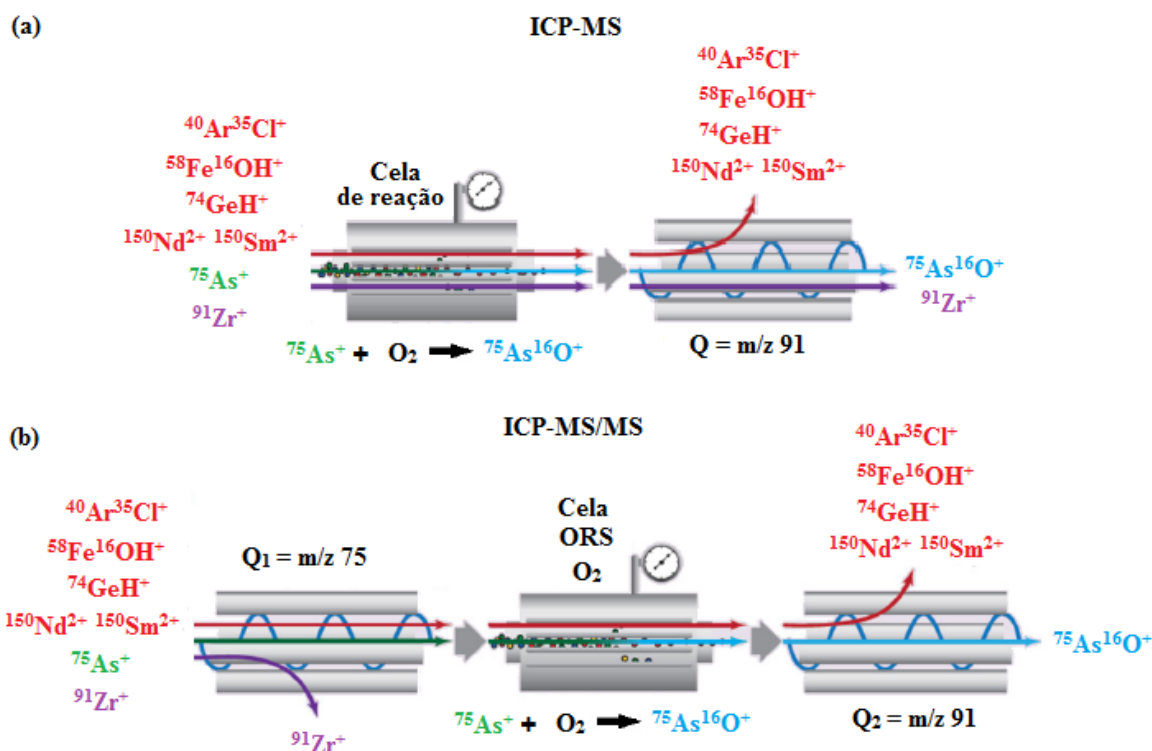


Figura 3.1 – Representação esquemática do modo de aquisição *mass-shift* na remoção de interferências na determinação de  $^{75}\text{As}^+$  por ICP-MS/MS através da reação com gás oxigênio. Adaptado de Agilent Technologies<sup>67</sup>.

No trabalho de AMARAL et al. (2015)<sup>68</sup> os autores demonstraram a eficiência da técnica ICP-MS/MS na remoção dos íons poliatômicos  $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$ ,  $^{35}\text{Cl}^{16}\text{OH}^+$ ,  $^{35}\text{Cl}^{16}\text{O}^+$  a partir do uso de  $\text{O}_2$  na cela ORS e do modo *mass-shift* na determinação de As, Cr e V com exatidão e precisão, via seus respectivos óxidos  $^{75}\text{As}^{16}\text{O}^+$ ,  $^{52}\text{Cr}^{16}\text{O}^+$  e  $^{51}\text{V}^{16}\text{O}^+$ .

JACKSON e colaboradores (2014)<sup>63</sup> avaliaram o desempenho do ICP-MS/MS no modo *single* quadrupolo (com colisão com gás hélio e reação com gás hidrogênio) e *mass-shift* (pressurização da cela ORS com oxigênio e a mistura de gases  $\text{O}_2$  e  $\text{H}_2$ ) para determinação de arsênio e selênio em amostras de alimentos. No modo *mass-shift*,  $^{75}\text{As}^+$  foi monitorado através do monitoramento da espécie  $^{75}\text{As}^{16}\text{O}^+$  com  $m/z$  91 e  $^{78}\text{Se}^+$  através da espécie  $^{78}\text{Se}^{16}\text{O}^+$  com  $m/z$  94, livres da interferência dos íons isobáricos  $^{91}\text{Zr}^+$  e  $^{94}\text{Mo}^+$ , respectivamente.

AMARAL et al. (2015)<sup>69</sup> empregaram ICP-MS/MS para determinar carbono em digeridos de plantas, aminoácidos e peptídeos, obtendo

sensibilidade e adequada precisão em ambos os modos de aquisição, *simple* quadrupolo e *mass-shift*. PÉTURSDÓTTIR e colaboradores (2014)<sup>21</sup> avaliaram o desempenho de ICP-MS/MS em quatro modos de aquisição: sem gás, modo de colisão com gás hélio e modo de reação com hidrogênio e oxigênio para especiação de arsênio em amostras de arroz, observando uma perda acentuada de sensibilidade para os modos com emprego de H<sub>2</sub> e He.

### **3.5.1.2. Espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente com cela de colisão e discriminação por energia cinética**

A discriminação por energia cinética é fundamentada na separação de íons com base na diferença de energia cinética ao final de uma trajetória. Os íons originados no plasma de argônio, que apresentam diferentes raios em função do analito constituinte e da formação de espécies moleculares, serão discriminados baseando-se apenas no raio iônico do interferente poliatômico, que sempre será maior que o analito monoatômico isobárico. Desse modo, a estratégia de supressão de interferentes com discriminação de energia cinética envolve apenas processos físicos independentes da reatividade química do interferente ou do analito<sup>9,70</sup>.

Ao adentrarem a cela de colisão que antecede o detector, pressurizada com gás inerte, os íons moleculares (possíveis interferentes poliatômicos) sofrem mais colisões por apresentarem uma maior área de secção transversal, perdendo energia cinética mais rapidamente quando comparado a um íon monoelementar. Ao final da cela uma barreira energética discrimina os íons de menor energia cinética bloqueando as espécies poliatômicas que estarão mais lentas, enquanto o analito corresponde à massa/carga selecionada supera a barreira e atinge o detector livre de interferências poliatômicas isobáricas<sup>9,61,62</sup>. A Figura 3.2 apresenta um esquema para ICP-MS com cela de colisão e discriminação por energia cinética.



### ICP-MS com CC/KED

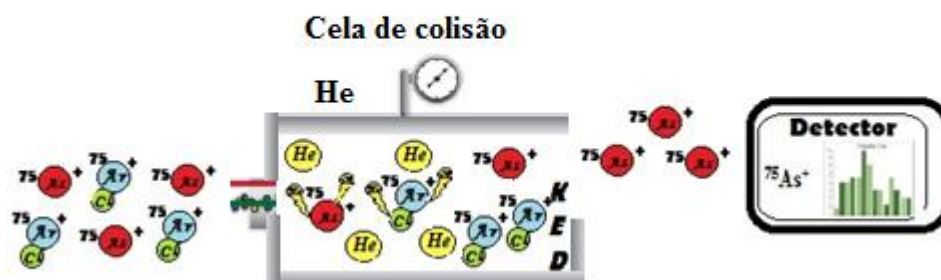


Figura 3.2 – Representação do sistema de cela de colisão e discriminação por energia cinética para supressão da interferência poliatômica  $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$  na determinação de  $^{75}\text{As}^+$ .

A determinação de arsênio usando ICP-MS equipado com célula de colisão foi estudada por DUFALLY, et al. (2008)<sup>71</sup>. Os autores avaliaram o efeito de diferentes misturas de gases (He e  $\text{H}_2$ ) na supressão das espécies poliatômicas  $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$ ,  $^{58}\text{Fe}^{16}\text{OH}^+$  e  $^{74}\text{GeH}^+$  interferentes na determinação de arsênio. AN, et al. (2015)<sup>72</sup> avaliaram a viabilidade de ICP-MS com célula de colisão unido a introdução de metanol para a determinação de arsênio em amostras com alto teor de cloreto. A vazão de He otimizada de  $3 \text{ mL min}^{-1}$  combinada com a introdução de metanol  $3 \% \text{ v v}^{-1}$  ao plasma melhorou a sensibilidade por um fator de até 2,5, uma vez que a presença de carbono no plasma, ou moléculas que contêm átomos de carbono na matriz, aumenta a intensidade de sinal de elementos com elevadas energias de ionização, tais como o arsênio, através de processo de transferência de carga promovidas por  $\text{C}^+$ <sup>73</sup>.

## *Capítulo 4*

---

---

# ***MATERIAL E MÉTODOS***

## 4 - MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 - Amostras

Doze amostras de arroz de marcas comerciais do Brasil, Itália e Uruguai de diferentes variedades (branco, integral, parboilizado, negro, vermelho e integral marrom) e uma amostra de palha de arroz foram analisadas. As amostras de arroz e palha foram moídas por 5 min em moinho de bolas Mixer Mill modelo MM 400 (Retsch, Alemanha) para homogeneização e melhor representatividade da amostra.

Dezoito amostras de treze marcas de sucos de fruta comercializadas em embalagem Tetra Pak<sup>®</sup> de cinco diferentes estados brasileiros (SP, PR, MG, RJ e ES) foram analisadas. Dessas, oito amostras tinham sabor laranja, seis tinham sabor maçã, duas de maçã com adição de soja e duas de laranja com adição de soja.

### 4.2 - Reagentes e soluções padrão

As vidrarias e frascos utilizados foram descontaminados em banho de ácido nítrico 10 % v v<sup>-1</sup> por 12 h, lavados com água desionizada e secados em capela de fluxo laminar (Veco, Campinas, SP, Brasil).

Todos os experimentos foram preparados utilizando ácidos nítrico e clorídrico (Synth, Diadema, SP, Brasil) destilados em um sistema de subdestilação com aquecimento promovido por lâmpada infravermelho Distillacid<sup>™</sup> BSB-939-IR (Berghof, Eningen, Alemanha), água ultrapura (resistividade maior que 18,2 MΩ cm) obtida a partir de um sistema Milli-Q<sup>®</sup> Plus Total Water System (Millipore, Billerica, MA, EUA) e peróxido de hidrogênio 30 % v v<sup>-1</sup> (LabSynth, Brasil).

As soluções analíticas de calibração e os experimentos de adição e recuperação foram preparadas a partir de diluições de alíquotas de solução estoque monoelementar contendo 1000 mg L<sup>-1</sup> de arsênio (Qhemis, Brasil) em HNO<sub>3</sub> 0,14 mol L<sup>-1</sup>.

Os materiais de referência certificados NIST SRM 1568a farinha de arroz (National Institute of Standard and Technology, Gaithersburg, MD, EUA) e ERM<sup>®</sup>-BC211 (European Commission, Joint Research Centre Institute for Reference Materials and Measurements (IRMM), Geel, Belgium) foram utilizado para otimização dos procedimentos experimentais e avaliação da exatidão. Todas as medidas e procedimentos foram realizados em triplicata.

### 4.3 - Preparo de amostras

#### 4.3.1 - Procedimentos de digestão assistida por radiação micro-ondas

Alíquotas de 200 mg das amostras de arroz em triplicata, pesadas em balança analítica (modelo AY, Shimadzu, Japão), foram digeridas com 5,0 mL de HNO<sub>3</sub> 2,0 mol L<sup>-1</sup> e 3,0 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30 % v v<sup>-1</sup> em forno assistido por radiação micro-ondas (Berghof, Speedwave<sup>®</sup> DIRC, Alemanha) com frascos fechados com volume de 30 mL (DAP 30). A Tabela 4.1 apresenta o programa de aquecimento utilizado.

Posteriormente, os digeridos foram avolumados em 50,0 mL com água destilada-desionizada e diluídos quatro vezes com adições crescentes de padrão em cinco níveis (0,025; 0,05; 0,10; 0,15 e 0,20 µg L<sup>-1</sup> de As) para obtenção da curva analítica de calibração e limite máximo de sólidos dissolvidos de 0,1 % m v<sup>-1</sup>.

TABELA 4.1 - Programa de aquecimento para digestão das amostras.

Etapa	Rampa (min)	Temperatura (°C)	Patamar (min)	Potência (W)
1	4	150	15	870
2	4	210	25	1160

Alíquotas de 4,0 mL das amostras de sucos em triplicata foram digeridas com 5,0 mL de HNO<sub>3</sub> 2,0 mol L<sup>-1</sup> e 3,0 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30 % v v<sup>-1</sup> em forno assistido por radiação micro-ondas anteriormente citado sob o mesmo

programa de aquecimento descrito na Tabela 4.1. Posteriormente, os digeridos foram avolumados em 50,0 mL com água destilada-desionizada.

### **4.3.2 - Procedimentos de extração para arsênio inorgânico**

As extrações de arsênio inorgânico foram realizadas mediante procedimento empregado por PASIAS et al. (2013)<sup>52</sup>. Alíquotas de 250 mg das amostras de arroz em triplicata, pesadas em balança analítica, foram adicionadas em 2,5 mL de HNO<sub>3</sub> 1,0 mol L<sup>-1</sup> em tubos Falcon de 15 mL. Em seguida, as amostras foram agitadas e deixadas em banho ultrassom durante 15 min em temperatura ambiente. Visando igualar a agitação do procedimento de agitação, foram dispostos no banho ultrassom quatro tubos Falcon por vez, colocando as triplicatas de cada amostra nas mesmas posições. Tal procedimento foi adotado uma vez que regiões mais afastadas do centro do banho recebem menor efeito de sonicação. Em seguida, foram centrifugadas a 4000 rpm por 15 min. Finalmente, 7,5 mL de EDTA 0,1 % m v<sup>-1</sup> foram adicionados às amostras, as quais foram agitadas e centrifugadas por mais 15 min a 4000 rpm. O sobrenadante foi então diluído duas vezes com adições crescentes de padrão em cinco níveis (0,025; 0,50; 0,75; 0,10 e 0,15 µg L<sup>-1</sup> de As) para obtenção da curva analítica de calibração.

## **4.4 - Instrumentação**

### **4.4.1 - ICP OES**

O teor de carbono residual das amostras digeridas foi avaliado por um espectrômetro de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente, iCAP 6000 (Thermo Fisher Scientific, EUA) na configuração axial. Argônio 99,996 % (White Martins-Praxair, Brasil) foi usado em todas as medidas. As descrições dos parâmetros operacionais são apresentadas na Tabela 4.2.

TABELA 4.2 - Condições operacionais do ICP OES para determinação de carbono.

Parâmetro	Condição operacional
Potência de radiofrequência aplicada (kW)	1,55
Vazão do gás do plasma (L min <sup>-1</sup> )	12
Vazão do gás auxiliar (L min <sup>-1</sup> )	0,5
Vazão do gás de nebulização (L min <sup>-1</sup> )	0,70
Rotação da bomba peristáltica	25
Câmara de nebulização	Ciclônica
Nebulizador	Concêntrico
Número de replicatas	3
Comprimentos de onda (nm)	193,0; 247,8

A curva analítica de calibração foi realizada a partir de concentrações crescente de carbono (0; 0,005; 0,01; 0,02; 0,05; 0,1 e 0,2 % m v<sup>-1</sup>) oriundos da dissolução de ácido oxálico em HNO<sub>3</sub> 0,70 mol L<sup>-1</sup>. Anteriormente à realização das análises, a curva analítica de calibração e as amostras foram sonicadas em banho de ultrassom (Barnstead Lab-line, Alemanha) por 10 min, visando eliminação do CO<sub>2</sub> dissolvido.

#### 4.4.2 - ICP-MS com CC/KED

Para otimização da vazão de gás He, ácido clorídrico foi adicionado a três soluções padrão com concentrações de 0,1, 1,0 e 5,0 µg L<sup>-1</sup> em diferentes proporções de HCl (0; 0,1; 0,3; 0,5; 1,0 e 2,0 % v v<sup>-1</sup>) as quais foram analisadas por ICP-MS sem e com CC/KED sob diferentes vazões de gás He (2,5; 3,5; 4,5; 6,5 e 8,5 mL min<sup>-1</sup>).

A determinação de arsênio total nas amostras de arroz foi realizada com o emprego do espectrômetro de massa quadrupolar com plasma acoplado indutivamente iCAP-Q ICP-MS (Thermo Fisher Scientific, EUA) em modo padrão e com cela de colisão CC/KED utilizando He 99,995 % (White Martins-Praxair, Brasil) como gás colisional. A Tabela 4.3 apresenta a descrição dos parâmetros operacionais utilizados no iCAP-Q ICP-MS.

TABELA 4.3 - Condições operacionais utilizadas no iCAP-Q ICP-MS.

Parâmetro	Condição operacional
Gerador de radiofrequência (MHz)	27
Potência de radiofrequência aplicada (kW)	1,55
Vazão do gás do plasma (L min <sup>-1</sup> )	14,0
Vazão do gás auxiliar (L min <sup>-1</sup> )	0,8
Vazão do gás de nebulização (L min <sup>-1</sup> )	1,05
Profundidade de amostragem (mm)	5,0
Vazão de He na CCT (mL min <sup>-1</sup> )	4,5
Tempo de integração (s)	3,0
Cone de amostragem (mm)	Níquel, 0,8
Skimmer (mm)	Níquel 1,2 mm
Nebulizador	Concêntrico
Câmara de nebulização	Ciclônica
Número de replicatas	3
Razão m/z selecionada	75

#### 4.4.3 - ICP-MS/MS

A determinação de arsênio nas amostras de sucos foi realizada com o emprego do espectrômetro de massas acoplado ao plasma indutivo com triplo quadrupolo 8800 ICP-MS/MS (Agilent Technologies, Japão) em modo *single* quadrupolo e modo *mass-shift*/MS com adição de O<sub>2</sub> 99,999 % (Air Products, Brasil) como gás reacional introduzido na cela ORS na vazão 0,30 mL min<sup>-1</sup>, otimizada por AMARAL et al. (2015)<sup>68</sup>. As descrições dos parâmetros instrumentais são apresentadas na Tabela 4.4.

TABELA 4.4 - Condições operacionais utilizadas no ICP-MS/MS.

Parâmetro	Condição operacional
Potência de radiofrequência aplicada (kW)	1,55
Vazão do gás do plasma (L min <sup>-1</sup> )	18,0
Vazão do gás auxiliar (L min <sup>-1</sup> )	1,8
Vazão do gás de nebulização (L min <sup>-1</sup> )	1,09
Profundidade de amostragem (mm)	8,0
Vazão de O <sub>2</sub> na ORS (mL min <sup>-1</sup> )	0,30
Tempo de integração (s)	3,0
Nebulizador	Concêntrico
Câmara de nebulização	Tipo Scott - duplo passo
Número de replicatas	3
Razão m/z selecionada	Q <sub>1</sub> 75; Q <sub>2</sub> 91



## *Capítulo 5*

---

---

# ***RESULTADOS E DISCUSSÃO***

## 5 - RESULTADOS

### 5.1 - Digestão assistida por radiação micro-ondas

O teor de carbono residual (RCC) é um dos principais parâmetros para avaliação da eficiência de decomposição de amostras orgânicas. Desse modo, ICP OES foi utilizado para determinar o valor de carbono solúvel nas amostras de arroz e suco, digeridos em diferentes concentrações ácidas.

As Tabelas 5.1 e 5.2 apresentam as concentrações de carbono orgânico solúvel monitorando-se as linhas de emissão para carbono em 193,0 e 247,8 nm na configuração axial, para três variedades de arroz, uma amostra de palha de arroz, e três amostras de suco após digestão em frascos fechados assistido por radiação micro-ondas com o emprego de ácido nítrico 14,0; 7,0 e 2,0 mol L<sup>-1</sup> na presença de peróxido de hidrogênio.

TABELA 5.1 - Concentração (média ± desvio padrão, n = 3) e porcentagem de carbono orgânico solúvel nos digeridos monitorando-se a linha de emissão para carbono 193,0 nm.

Amostra	14,0 mol L <sup>-1</sup>		7,0 mol L <sup>-1</sup>		2,0 mol L <sup>-1</sup>	
	mg L <sup>-1</sup>	%	mg L <sup>-1</sup>	%	mg L <sup>-1</sup>	%
NIST 1568a <sup>a</sup>	6282 ± 697	0,6	7272 ± 464	0,7	8275 ± 214	0,8
Arroz 1 <sup>b</sup>	4956 ± 894	0,5	7057 ± 515	0,7	11126 ± 1172	1,1
Arroz 2 <sup>c</sup>	6654 ± 637	0,7	11512 ± 896	1,2	11750 ± 1043	1,2
Palha de arroz	5470 ± 446	0,5	9194 ± 134	0,9	10504 ± 852	1,1
Suco 1 <sup>d</sup>	6745 ± 595	0,7	23442 ± 71	2,3	14162 ± 332	1,4
Suco 2 <sup>e</sup>	5401 ± 759	0,5	35736 ± 265	3,6	37979 ± 654	3,8
Suco 3 <sup>f</sup>	968 ± 125	0,1	24823 ± 183	2,5	18609 ± 214	1,9

<sup>a</sup>CRM NIST 1568a farinha de arroz; <sup>b</sup>Arroz branco; <sup>c</sup>Arroz integral; <sup>d</sup>Sabor maçã com soja;

<sup>e</sup>Sabor laranja; <sup>f</sup>Sabor maçã.

TABELA 5.2 - Concentração (média  $\pm$  desvio padrão,  $n = 3$ ) e porcentagem de carbono orgânico solúvel nos digeridos monitorando-se a linha de emissão para carbono 247,8 nm.

Amostra	14,0 mol L <sup>-1</sup>		7,0 mol L <sup>-1</sup>		2,0 mol L <sup>-1</sup>	
	mg L <sup>-1</sup>	%	mg L <sup>-1</sup>	%	mg L <sup>-1</sup>	%
NIST 1568a <sup>a</sup>	5777 $\pm$ 364	0,6	7155 $\pm$ 395	0,7	8246 $\pm$ 686	0,8
Arroz 1 <sup>b</sup>	4168 $\pm$ 149	0,4	6784 $\pm$ 108	0,7	8020 $\pm$ 472	0,8
Arroz 2 <sup>c</sup>	5579 $\pm$ 489	0,6	10767 $\pm$ 583	1,1	11517 $\pm$ 338	1,2
Palha de arroz	5395 $\pm$ 711	0,5	9282 $\pm$ 559	0,9	7203 $\pm$ 467	0,7
Suco 1 <sup>d</sup>	5469 $\pm$ 446	0,5	20746 $\pm$ 332	2,1	13685 $\pm$ 686	1,4
Suco 2 <sup>e</sup>	4168 $\pm$ 649	0,4	31593 $\pm$ 487	3,2	33503 $\pm$ 600	3,4
Suco 3 <sup>f</sup>	932 $\pm$ 68	0,1	21681 $\pm$ 108	2,2	17949 $\pm$ 310	1,8

<sup>a</sup>CRM NIST 1568a farinha de arroz; <sup>b</sup>Arroz branco; <sup>c</sup>Arroz integral; <sup>d</sup>Sabor maçã com soja; <sup>e</sup>Sabor laranja; <sup>f</sup>Sabor maçã.

O teor de carbono orgânico solúvel determinado para ambas às concentrações de ácido diluído é considerado aceitável quando comparadas as digestões com ácido nítrico concentrado<sup>46-49</sup>. O monitoramento de carbono através da linha de emissão 247,8 nm pode ser espectralmente interferido pela linha iônica de Fe II 247,8 nm, uma vez que essa é duas vezes mais intensa do que a linha atômica para carbono<sup>74</sup>. Entretanto, ambos os comprimentos de onda monitorados para carbono não apresentaram diferenças significativas (teste *t*-pareado com 95 % de confiança), possibilitando inferir que não houve interferência de ferro. Os digeridos nas concentrações ácidas 7,0 e 2,0 mol L<sup>-1</sup> também não apresentaram diferenças significativas nos teores de carbono orgânico solúvel (teste *t*-pareado com 95 % de confiança), optando-se assim pelo emprego do procedimento de digestão com menor concentração ácida.

A digestão de amostras orgânicas assistida por radiação micro-ondas em frascos fechados proporciona um gradiente de temperatura que possibilita a regeneração do ácido nítrico na presença de peróxido de hidrogênio, possibilitando assim a decomposição da amostra em ácido diluído<sup>46</sup>. Tal procedimento é extremamente favorável, uma vez que proporciona condições de digestão mais brandas, baixos valores de branco analítico, baixa acidez residual (o que evita elevadas diluições dos digeridos),

minimiza os riscos de contaminação e perdas do analito por volatilização, proporcionando ainda o controle da temperatura e pressão<sup>46-49</sup>.

O composto orgânico reage com o ácido nítrico diluído formando NO, que ao reagir com gás oxigênio presente na fase vapor do frasco de reação, forma dióxido de nitrogênio (NO<sub>2</sub>). A radiação micro-ondas não é absorvida pela fase vapor, assim regiões mais altas do frasco não são aquecidas. Tal fato possibilita a condensação de NO<sub>2</sub>, que ao ser absorvido novamente para solução regenera novamente HNO<sub>3</sub> até que não haja mais oxigênio no frasco de reação. A adição de oxigênio é feita a partir da introdução de peróxido de hidrogênio que ao se decompor forma oxigênio e água<sup>48-49</sup>.

A Tabela 5.3 apresenta a concentração de arsênio determinada com calibração externa, para digeridos de arroz integral, palha de arroz e o material de referência certificado NIST SRM 1568a farinha de arroz, digeridos em ácido nítrico 7,0 e 2,0 mol L<sup>-1</sup> usando ICP-MS no modo de operação STD, sem gás de colisão.

Tabela 5.3 - Determinação de arsênio (mg kg<sup>-1</sup>, média ± desvio padrão, n = 3) para amostras de arroz e CRM digeridos em HNO<sub>3</sub> 7,0 e 2,0 mol L<sup>-1</sup> usando ICP-MS com calibração externa.

Amostra	Concentração (mg kg <sup>-1</sup> )	
	7,0 mol L <sup>-1</sup>	2,0 mol L <sup>-1</sup>
Farinha de arroz (SRM 1568a*)	0,229 ± 0,006	0,228 ± 0,018
Arroz integral	0,338 ± 0,015	0,343 ± 0,012
Palha de arroz	0,755 ± 0,021	0,724 ± 0,011

\*Teor certificado para As (0,29 ± 0,03 mg kg<sup>-1</sup>)

As concentrações de arsênio determinadas para ambos os procedimentos de digestão não apresentaram diferença significativa (teste *t*-pareado com 95 % de confiança), desse modo, a menor concentração ácida foi adotada para a digestão das amostras.

## 5.2 - Determinação de arsênio total em amostras de sucos por espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente e configuração tandem

O desempenho do equipamento ICP-MS com configuração MS/MS foi avaliado para determinação de arsênio total nas amostras de sucos empregando o modo de operação *single* quadrupolo (sem gás reacional) e modo com dois quadrupolos, MS/MS *mass-shift*.

Nas análises realizadas em modo MS/MS a cela ORS foi pressurizada com gás oxigênio na vazão  $0,30 \text{ mL min}^{-1}$ , otimizada por AMARAL et al. (2015)<sup>68</sup>. Neste modo,  $Q_1$  seleciona os íons de  $m/z$  75 possibilitando que apenas o analito e espécies interferentes de mesma  $m/z$  adentrem a cela de reação. A reação entre os íons do analito com o gás oxigênio ocorre através da transferência de átomos de oxigênio, resultando na formação de um óxido iônico com razão  $m/z$  igual à soma da  $m/z$  do analito e 16 u.m.a. Desse modo, o íon  $^{75}\text{As}^+$ , que apresenta elevada tendência reativa com  $\text{O}_2$ , reage com oxigênio formando a espécie  $^{75}\text{As}^{16}\text{O}^+$ , possibilitando a determinação de arsênio livre de interferências isobáricas pelo monitoramento da  $m/z$  91, selecionada em  $Q_2$ <sup>67,68</sup>.

### 5.2.1 - Desempenho analítico e avaliação da exatidão

Os limites de detecção calculados a partir de 10 brancos analíticos (réplicas autênticas), as linearidades e sensibilidades para os modos de aquisição *single* quadrupolo e MS/MS *mass-shift* são apresentados na Tabela 5.4.

TABELA 5.4 - Limites de detecção (LOD), linearidades e sensibilidades para arsênio nos modos de aquisição *single* quadrupolo e MS/MS *mass-shift* para ICP-MS/MS.

	Modo <i>single</i> $^{75}\text{As}^+$	MS/MS <i>mass-shift</i> $^{75}\text{As}^{16}\text{O}^+$
Sensibilidade <sup>a</sup>	15516,5	7281,3
R <sup>2b</sup>	0,9997	0,9995
LOD <sup>c</sup> ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	0,006	0,013

<sup>a</sup>Coefficiente angular da curva analítica de calibração (contagens  $\text{L s}^{-1} \mu\text{g}^{-1}$ ); <sup>b</sup>Linearidade da curva analítica de calibração; <sup>c</sup>Calculado a partir de três vezes o desvio padrão do branco analítico dividido pela sensibilidade.

A pressurização de oxigênio no modo MS/MS *mass-shift* ocasionou a diminuição da sensibilidade e aumento do LOD. Comportamento semelhante foi relatado no trabalho de AMARAL e colaboradores (2015)<sup>68</sup> na determinação de arsênio em água através da reação do analito com oxigênio. As concentrações de arsênio determinadas para sete amostras de sucos em ambos os modos de aquisição é apresentada na Tabela 5.5.

TABELA 5.5 - Determinação de arsênio ( $\mu\text{g L}^{-1}$ , média  $\pm$  desvio padrão, n = 3) em digeridos de sucos nos modos de detecção *single* quadrupolo e MS/MS *mass-shift*.

Amostra	Modo <i>single</i> $^{75}\text{As}^+$	MS/MS <i>mass-shift</i> $^{75}\text{As}^{16}\text{O}^+$
Suco AL <sup>a</sup>	1,690 $\pm$ 0,040	1,452 $\pm$ 0,016
Suco DL <sup>b</sup>	0,983 $\pm$ 0,006	0,429 $\pm$ 0,012
Suco FL <sup>c</sup>	4,271 $\pm$ 0,032	0,232 $\pm$ 0,016
Suco GL <sup>d</sup>	0,292 $\pm$ 0,010	0,190 $\pm$ 0,010
Suco HL <sup>e</sup>	3,713 $\pm$ 0,013	0,175 $\pm$ 0,012
Suco PL <sup>a*</sup>	0,455 $\pm$ 0,097	0,126 $\pm$ 0,006
Suco PM <sup>a*</sup>	2,240 $\pm$ 0,011	0,127 $\pm$ 0,010

Marcas comerciais A, D, F, G, H e P produzidas nos estados: <sup>a</sup>MG; <sup>b</sup>PR; <sup>c</sup>SP; <sup>d</sup>ES e <sup>e</sup>RJ; L: sabor laranja; M: sabor maçã; \*Sabor com adição de soja.

As concentrações determinadas para arsênio empregando o modo *single* quadrupolo apresentaram-se superiores quando comparadas as obtidas no modo MS/MS *mass-shift*. Assim, infere-se a ocorrência de interferências isobáricas na massa carga 75, provavelmente oriunda da constituição da matriz. Alguns sucos de frutas de embalagem Tetra Pack® apresentam constituintes como cloreto de cálcio, corantes, aromatizantes artificiais e considerável concentração de ferro, fornecendo ao plasma íons cloreto e ferro que ao reagirem com íons comuns ao plasma e aos reagentes utilizados no procedimento de preparo da amostra (Ar, N, O e H) formam espécies poliatômicas interferentes na m/z 75, como  $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$  e  $^{58}\text{Fe}^{16}\text{OH}^+$ .

Para verificar a eficiência de correção de interferências isobáricas e avaliação da exatidão do procedimento foram realizados experimentos de adição e recuperação em três níveis de adição para quatro amostras de diferentes marcas e sabores. A Tabela 5.6 apresenta as recuperações obtidas para as adições de padrão realizadas em quatro amostras de sucos empregando os modos *single* quadrupolo e MS/MS *mass-shift*.

TABELA 5.6 – Experimento de recuperação para arsênio ( $\mu\text{g L}^{-1}$ , média  $\pm$  desvio padrão,  $n = 3$  e % de recuperação) nos modos de detecção *single* quadrupolo e MS/MS *mass-shift* para ICP-MS/MS.

Amostra	Concentração Adicionada	Modo <i>single</i>		MS/MS <i>mass-shift</i>	
		$^{75}\text{As}^+$		$^{75}\text{As}^{16}\text{O}^+$	
		Concentração Determinada	Rec (%)	Concentração Determinada	Rec (%)
		0,103 $\pm$ 0,003		0,050 $\pm$ 0,004	
DM <sup>a</sup>	0,015	0,125 $\pm$ 0,004	151	0,065 $\pm$ 0,003	104
	0,030	0,151 $\pm$ 0,045	161	0,083 $\pm$ 0,002	109
	0,070	0,217 $\pm$ 0,058	164	0,125 $\pm$ 0,002	107
		0,100 $\pm$ 0,005		0,042 $\pm$ 0,005	
DL <sup>a</sup>	0,015	0,116 $\pm$ 0,006	105	0,055 $\pm$ 0,007	89
	0,030	0,143 $\pm$ 0,005	143	0,072 $\pm$ 0,001	101
	0,070	0,249 $\pm$ 0,063	213	0,112 $\pm$ 0,003	100
		0,051 $\pm$ 0,008		0,035 $\pm$ 0,028	
GL <sup>b</sup>	0,030	0,091 $\pm$ 0,009	133	0,066 $\pm$ 0,023	105
	0,070	0,161 $\pm$ 0,031	157	0,109 $\pm$ 0,025	107
		0,292 $\pm$ 0,037		0,097 $\pm$ 0,003	
PM <sup>c*</sup>	0,030	0,347 $\pm$ 0,028	183	0,123 $\pm$ 0,009	88
	0,070	0,430 $\pm$ 0,059	197	0,170 $\pm$ 0,008	104

Marcas comerciais D, G e P produzidas nos estados: <sup>a</sup>PR; <sup>c</sup>MG; <sup>b</sup>ES; L: sabor laranja; M: sabor maçã; \*Sabor com adição de soja.

Os erros positivos nas concentrações de arsênio determinadas no modo *single* quadrupolo (recuperações de 133 a 213 %) possibilitaram inferir a ocorrência de um severo efeito de interferências matriciais que causou sobreposição espectral na determinação do isótopo  $^{75}\text{As}^+$ . No modo *single*, a razão massa/carga selecionada em  $Q_2$  possibilita que quaisquer isótopos ou espécies poliatômicas com  $m/z$  75 atinjam ao detector.

Por sua vez, no modo MS/MS *mass-shift* recuperações consideráveis (88 a 109 %) foram obtidas para arsênio. Neste modo, a razão  $m/z$  91 selecionada em  $Q_2$  permite o monitoramento do óxido  $^{75}\text{As}^{16}\text{O}^+$  livre da



interferências de íons na  $m/z$  75. A configuração MS/MS possibilita ainda a supressão de interferências de produtos da reação, ou seja, interferências espectrais de íons com mesma  $m/z$  que o óxido do analito formado, como  $^{91}\text{Zr}^+$ , que são rejeitados em  $Q_1$ . A Tabela 5.7 apresenta a concentração de arsênio determinada para as amostras de suco de laranja e maçã analisadas utilizando ICP-MS/MS em modo MS/MS *mass-shift*.

TABELA 5.7 - Determinação de arsênio ( $\mu\text{g L}^{-1}$ , média  $\pm$  desvio padrão,  $n = 3$ ) em digeridos de sucos de maçã e laranja usando ICP-MS/MS no modo MS/MS *mass-shift*.

Amostra	Estado	Concentração
AL	MG	1,452 $\pm$ 0,016
BL	SP	0,928 $\pm$ 0,009
CL	SP	0,469 $\pm$ 0,063
DL	PR	0,465 $\pm$ 0,018
EL	SP	0,353 $\pm$ 0,073
FL	SP	0,232 $\pm$ 0,004
GL	ES	0,190 $\pm$ 0,031
HL	RJ	0,175 $\pm$ 0,012
IM	SP	0,818 $\pm$ 0,143
JM	SP	0,975 $\pm$ 0,038
BM	SP	0,629 $\pm$ 0,029
EM	SP	0,486 $\pm$ 0,048
DM	PR	0,429 $\pm$ 0,012
NM	SP	0,567 $\pm$ 0,047
OL*	MG	0,407 $\pm$ 0,058
PL*	MG	0,126 $\pm$ 0,006
OM*	MG	1,247 $\pm$ 0,076
PM*	MG	0,127 $\pm$ 0,010

Marcas comerciais de A a P (ordem alfabética); produzidas nos estados: MG; ES; PR; SP ou RJ; L: sabor laranja; M: sabor maçã; \*Sabor com adição de soja.

Estudos anteriores<sup>75-77</sup> relataram concentrações de arsênio em sucos de frutas inferiores ao LOD de  $10 \mu\text{g L}^{-1}$ . MAJA e SZYMCZYCHA-

MADEJA (2014)<sup>27</sup> determinaram concentrações de arsênio inferiores ao LOD de  $0,6 \mu\text{g L}^{-1}$  em amostras de suco polonês comercializado em embalagens Tetra Pack<sup>®</sup> nos sabores maçã, laranja, ameixa e frutas vermelhas, utilizando HG-ICP OES. Concentrações superiores às determinadas neste estudo foram relatadas por ASSIS e colaboradores (2008)<sup>26</sup>, que determinaram uma concentração média de  $7,4 \mu\text{g L}^{-1}$  de arsênio em amostras de sucos de uva de vinte diferentes marcas comercializadas no Brasil por HG-ICP-MS, identificando nas amostras em estudo apenas a presença das espécies inorgânicas arsenito e arsenato.

Devido ao baixo LOD do procedimento ( $0,013 \mu\text{g L}^{-1}$ ), podem-se detectar baixas concentrações de arsênio nas amostras de sucos analisadas. O suco de marca A (sabor laranja) apresentou maior concentração de arsênio ( $1,452 \mu\text{g L}^{-1}$ ), entretanto, de modo geral, sucos de maçã apresentaram maiores concentrações de arsênio (sete amostras com valores superiores a  $0,500 \mu\text{g L}^{-1}$  de arsênio). Menores concentrações foram observadas no suco de marca P para ambos os sabores ( $0,126 \mu\text{g L}^{-1}$  de arsênio para o sabor laranja e  $0,127 \mu\text{g L}^{-1}$  para maçã).

Em 2013, a FDA adotou o limite máximo recomendável de  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  de arsênio inorgânico em suco de maçã<sup>12</sup>. No mesmo ano, a agência reguladora brasileira ANVISA<sup>10</sup> alterou os limites máximos toleráveis (LMT) de contaminantes inorgânicos em alimentos pelo regulamento técnico Mercosul, substituindo o LMT de arsênio total em sucos de frutas e néctar de 500 para  $100 \mu\text{g L}^{-1}$ . Desse modo, observa-se que as concentrações de arsênio determinadas nas amostras de sucos foram significativamente inferiores aos limites máximo recomendados, uma vez que mesmo a maior concentração de arsênio total determinada ( $1,452 \mu\text{g L}^{-1}$ ), é aproximadamente sete vezes inferior à recomendada pelo FDA para arsênio inorgânico e 68 vezes menor que o LMT recomendado pela ANVISA para arsênio total.

### **5.3 - Determinação de arsênio total e inorgânico em amostras de arroz por espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente com cela de colisão e discriminação por energia cinética**

O desempenho do equipamento ICP-MS com CC/KED foi avaliado para determinação de arsênio total e inorgânico nas amostras de arroz empregando os modos de operação padrão sem gás de colisão (STD) e com cela de colisão e discriminação por energia cinética (CC/KED). Nas análises realizadas em modo KED, a CC foi pressurizada com hélio na vazão otimizada de 4,5 mL min<sup>-1</sup>.

#### **5.3.1 - Otimização da vazão de hélio empregado na cela de colisão**

A determinação de arsênio por ICP-MS na presença de cloreto, oriundos do preparo da amostra ou da própria matriz, pode ser prejudicada significativamente pelo íon poliatômico  $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$ . Nesse sentido, foi realizado o estudo do efeito da vazão de gás hélio e discriminação por energia cinética em função da correção da interferência causada por esse íon poliatômico.

A Figura 5.1 apresenta a intensidade de sinal normalizada para a solução padrão de 1,0 µg L<sup>-1</sup> de arsênio com concentrações crescentes de HCl em diferentes vazões de He.

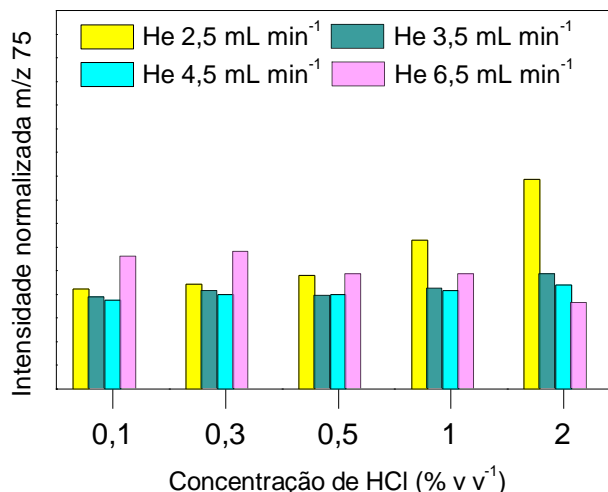


Figura 5.1 - Intensidade normalizada pelo maior valor de intensidade para as soluções com concentrações de HCl de 0 a 2 % v v<sup>-1</sup> nas vazões de He de 2,5 a 6,5 mL min<sup>-1</sup>.

A intensidade de sinal obtida para arsênio sofreu uma redução significativa com o aumento da vazão de He (Figura 5.1(a)), contudo, sua pressurização na CC demonstrou-se eficiente na supressão da interferência poliatômica  $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$  sob uma vazão de 4,5 mL min<sup>-1</sup>. Vazões inferiores não foram totalmente efetivas na correção das espécies poliatômicas, uma vez que, as intensidades de sinal para arsênio sob as vazões 2,5 e 3,5 mL min<sup>-1</sup> aumentaram mediante o aumento da concentração de ácido clorídrico. Vazões superiores também não foram efetivas na correção das espécies interferentes, reduzindo a intensidade de sinal de modo a implicarem em erros positivos, como observado na Figura 5.1(b).

Para avaliar o efeito do gás de colisão sobre a concentração foram empregadas soluções padrão com diferentes concentrações. A Tabela 5.8 apresenta os valores de intensidades de sinal obtidos para as soluções padrão de arsênio 0,10 e 1,00 µg L<sup>-1</sup> nas vazões de He 3,5 e 4,5 mL min<sup>-1</sup>.

Tabela 5.8 - Concentração determinada para arsênio por ICP-MS sem e com CC/KED nas vazões de He 3,5 e 4,5 mL min<sup>-1</sup> para as soluções padrão 0,10 e 1,00 µg L<sup>-1</sup>.

HCl (% v v <sup>-1</sup> )	As 0,10 µg L <sup>-1</sup>			As 1,00 µg L <sup>-1</sup>		
	He 0 mL min <sup>-1</sup>	He 3,5 mL min <sup>-1</sup>	He 4,5 mL min <sup>-1</sup>	He 0 mL min <sup>-1</sup>	He 3,5 mL min <sup>-1</sup>	He 4,5 mL min <sup>-1</sup>
0	0,09	0,09	0,09	0,94	0,94	0,91
0,1	0,50	0,11	0,09	1,32	0,91	0,86
0,3	1,34	0,12	0,10	2,29	0,97	0,91
0,5	2,26	0,14	0,12	3,17	0,93	0,91
1	4,48	0,16	0,14	6,33	1,00	0,95
2	10,07	0,28	0,18	12,64	1,14	1,00

As concentrações de arsênio determinadas para a solução padrão 1,0 µg L<sup>-1</sup> sem CC/KED apresentaram um aumento linear de 0,38; 1,35; 2,23; 5,39 e 11,71 µg L<sup>-1</sup>, proporcional à concentração de cloreto presente em cada solução, 0,012; 0,036; 0,060; 0,120 e 0,240 mol L<sup>-1</sup>.

A vazão de He 3,5 mL min<sup>-1</sup> não foi suficiente na correção das espécies interferentes, no entanto bons resultados foram observados para as soluções com maiores concentrações de arsênio, provavelmente devido à razão analito/interferente. Para a solução padrão contendo 0,10 µg L<sup>-1</sup> na presença de HCl 2 % v v<sup>-1</sup>, a recuperação para arsênio, nessa vazão, foi de 280 %. Por sua vez, a recuperação obtida para a solução padrão de 1,00 µg L<sup>-1</sup>, sobre as mesmas condições, foi de 114 %.

A avaliação do desempenho analítico mediante o aumento da vazão do gás de colisão pressurizado à cela foi realizada. A Tabela 5.9 apresenta a intensidade de sinal, linearidade, sensibilidade, limite de detecção, concentração equivalente ao sinal de fundo e razão do sinal analito/sinal de fundo para a determinação de arsênio no modo STD e KED nas vazões de He 2,5; 3,5 e 4,5 mL min<sup>-1</sup>.

Tabela 5.9 - Intensidade, faixa dinâmica linear, sensibilidade, LOD, BEC e SBR para determinação de arsênio por ICP-MS no modo CC/KED com diferentes vazões de He.

Vazão He (mL min <sup>-1</sup> )	Intensidade	SD <sup>a</sup>	Sensibilidade <sup>b</sup>	R <sup>2</sup>	BEC <sup>c</sup>	SBR <sup>d</sup>	LOD <sup>e</sup>
0	385,34	121,50	14106	0,9999	0,0276	36,2353	0,0258
2,5	34,00	9,40	9640	0,9991	0,0035	288,6246	0,0029
3,5	11,66	5,72	5739	0,9992	0,0020	496,2585	0,0030
4,5	10,66	6,05	2467	0,9942	0,0044	228,3974	0,0074

<sup>a</sup>Desvio padrão (SD) da intensidade medida para dez brancos analíticos; <sup>b</sup>Coeficiente angular da curva analítica de calibração (contagens L s<sup>-1</sup> µg<sup>-1</sup>); <sup>c</sup>Concentração equivalente ao sinal de fundo; <sup>d</sup>Razão sinal analítico/sinal de fundo; <sup>e</sup>Calculado a partir de três vezes o SD dividido pela sensibilidade (µg L<sup>-1</sup>).

O aumento da vazão de He na CC ocasionou uma redução da intensidade de sinal de 30, 59, 83 % sob as vazões de He 2,5; 3,5 e 4,5 mL min<sup>-1</sup>, respectivamente, assim como a diminuição da linearidade e da sensibilidade. A média e o desvio padrão das medidas de dez brancos analíticos diminuíram proporcionalmente ao aumento da vazão, no entanto, a inclinação da curva analítica de calibração (0,1 a 2,0 µg L<sup>-1</sup>) não decresceu com a mesma proporcionalidade, gerando menores LODs para as medidas realizadas em modo KED. Resultados semelhantes foram relatados em trabalhos referentes ao estudo de vazão do gás colisional<sup>53,61</sup>. No entanto, nesses os LODs observados aumentaram mediante o aumento de vazão.

As determinações realizadas em modo KED apresentaram maiores SBR, inferindo que a pressurização de He na CC contribuiu para a diminuição do sinal de fundo na medida. A concentração equivalente ao sinal de fundo foi melhorada por um fator de aproximadamente seis em comparação com as análises realizadas sem cela de colisão.

### 5.3.2 - Desempenho analítico e avaliação da exatidão

A Tabela 5.10 apresenta as concentrações determinadas com calibração externa para as amostras de arroz digeridas em ácido nítrico 2,0 mol L<sup>-1</sup> usando ICP-MS nos modos STD e com CC/KED.

TABELA 5.10 - Determinação de arsênio (média ± desvio padrão, n = 3) em digeridos de arroz em HNO<sub>3</sub> 2,0 mol L<sup>-1</sup> usando ICP-MS com e sem CC/KED com calibração externa.

Amostra	Concentração (mg kg <sup>-1</sup> )	
	STD	CC/KED
Farinha de arroz (SRM 1568a)*	0,226 ± 0,019	0,208 ± 0,025
Palha de arroz <sup>a</sup>	0,759 ± 0,045	0,819 ± 0,061
Arroz integral marrom <sup>a</sup>	0,541 ± 0,031	0,597 ± 0,100
Arroz integral <sup>a</sup>	0,337 ± 0,047	0,328 ± 0,056
Arroz vermelho <sup>b</sup>	0,335 ± 0,037	0,312 ± 0,051
Arroz parboilizado <sup>a</sup>	0,191 ± 0,010	0,191 ± 0,008
Arroz branco 1 <sup>a</sup>	0,182 ± 0,041	0,190 ± 0,047
Arroz arbóreo <sup>a</sup>	0,163 ± 0,021	0,145 ± 0,020
Arroz branco 2 <sup>a</sup>	0,157 ± 0,027	0,136 ± 0,031
Arroz branco 3 <sup>a</sup>	0,151 ± 0,009	0,130 ± 0,010
Arroz branco 4 <sup>a</sup>	0,112 ± 0,026	0,102 ± 0,037
Arroz branco 5 <sup>a</sup>	0,075 ± 0,007	0,072 ± 0,017
Arroz negro <sup>b</sup>	0,070 ± 0,001	0,054 ± 0,017
Arroz branco 6 <sup>c</sup>	0,040 ± 0,005	0,026 ± 0,008

\*Teor certificado para As (0,29 ± 0,03 mg kg<sup>-1</sup>); Amostras dos países: <sup>a</sup>Uruguai; <sup>b</sup>Itália; <sup>c</sup>Brasil; LOD modo STD: 0,002 mg kg<sup>-1</sup>; LOD modo KED: 0,006 mg kg<sup>-1</sup>.

As recuperações obtidas para o CRM NIST SRM 1568a farinha de arroz não foram satisfatórias (78 e 72 %) para ambos os métodos de aquisição empregados, STD e CC/KED, respectivamente. As concentrações inferiores à certificada para arsênio podem ser explicadas devido ao efeito de carga espacial causado pela matriz.

A interferência de carga espacial é um processo que ocorre na região da interface do ICP-MS, sendo causada por quaisquer elementos presentes na amostra em elevada concentração. Essa é gerada por efeitos de repulsão eletrostática na nuvem de íons que está sendo transferida do plasma de argônio para o espectrômetro de massas. Desse modo, após o cone skimmer, a alta densidade de cargas positivas (como  $\text{Ar}^+$ ,  $\text{O}^+$  e demais íons constituintes da matriz) repelem os íons do analito, influenciando a sua trajetória, ocasionando a determinação de menores concentrações (erros negativos)<sup>9</sup>.

Para correção da interferência de carga espacial as medidas foram realizadas com calibração por adições de padrão. Desse modo a curva analítica de calibração foi criada na própria amostra através de diluições com valores crescentes de padrão (0,05 a 2,00  $\mu\text{g L}^{-1}$  de arsênio). Os limites de detecção calculados a partir de 10 brancos analíticos (réplicas autênticas) e a sensibilidade para os modos de aquisição STD e CC/KED são apresentados na Tabela 5.11. Os LODs e sensibilidade estão apresentados em faixa devido à adição de padrão a cada replicata digerida da amostra, obtendo-se assim três curvas analíticas para cada amostra digerida em triplicata.

TABELA 5.11 - Limites de detecção, linearidades e sensibilidades para determinação de arsênio por ICP-MS nos modos STD e CC/KED com calibração por adições de padrão.

	STD	CC/KED
Sensibilidade <sup>a</sup>	11836 - 13205	2040 - 3040
$R^{2b}$	0,999	0,997
LOD <sup>c</sup> ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	0,005 - 0,007	0,004 - 0,006

<sup>a</sup>Média dos coeficientes angular para as curva analítica de calibração (contagens  $\text{L s}^{-1} \mu\text{g}^{-1}$ );

<sup>b</sup>Linearidade da curva analítica de calibração; <sup>c</sup>Calculado a partir de três vezes o desvio padrão do branco analítico dividido pela sensibilidade.

De maneira similar aos resultados apresentados para as soluções padrão de arsênio na seção 5.3.1, a pressurização de He na CC ocasionou uma redução da intensidade de sinal de 25 %, no entanto menores LODs foram observados para as medidas realizadas em modo KED. A Tabela 5.12



apresenta as concentrações determinadas com calibração por adições de padrão para as amostras de arroz digeridas em  $\text{HNO}_3$  2,0 mol  $\text{L}^{-1}$  usando ICP-MS nos modos STD e com CC/KED.

TABELA 5.12 - Determinação de arsênio (média  $\pm$  desvio padrão,  $n = 3$ ) em digeridos de arroz em  $\text{HNO}_3$  2,0 mol  $\text{L}^{-1}$  usando ICP-MS com e sem CC/KED com calibração por adições de padrão.

Amostras	Concentração ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	
	STD	CC/KED
Farinha de arroz (SRM 1568a)*	0,299 $\pm$ 0,017	0,243 $\pm$ 0,048
Arroz integral	0,655 $\pm$ 0,046	0,386 $\pm$ 0,240
Arroz integral marrom	0,541 $\pm$ 0,021	0,541 $\pm$ 0,031
Palha de Arroz	0,526 $\pm$ 0,029	0,563 $\pm$ 0,073
Arroz vermelho	0,405 $\pm$ 0,017	0,402 $\pm$ 0,032
Arroz branco 1	0,236 $\pm$ 0,048	0,389 $\pm$ 0,025
Arroz arbóreo	0,230 $\pm$ 0,007	0,217 $\pm$ 0,060
Arroz parboilizado	0,225 $\pm$ 0,024	0,255 $\pm$ 0,039
Arroz branco 2	0,205 $\pm$ 0,022	0,241 $\pm$ 0,021
Arroz branco 3	0,200 $\pm$ 0,024	0,104 $\pm$ 0,074
Arroz branco 4	0,137 $\pm$ 0,022	0,149 $\pm$ 0,022
Arroz branco 5	0,105 $\pm$ 0,005	0,113 $\pm$ 0,029
Arroz branco 6	0,073 $\pm$ 0,007	0,076 $\pm$ 0,008
Arroz negro	0,078 $\pm$ 0,002	0,074 $\pm$ 0,010

\*Teor certificado para As ( $0,29 \pm 0,03 \text{ mg kg}^{-1}$ ); Faixa de LODs para modo STD: 0,005 – 0,007  $\text{mg kg}^{-1}$ ; Faixa de LODs para modo KED: 0,004 – 0,006  $\text{mg kg}^{-1}$ .

As concentrações de arsênio determinadas para a maioria das amostras com calibração por adições de padrão apresentaram superiores as obtidas para as análises realizadas com calibração externa, em ambos os modos de aquisição, possibilitando inferir a correção da interferência de carga espacial. Quando comparadas com as concentrações determinadas em modo STD com calibração externa, nove amostras, determinadas com calibração por adições de padrão, apresentaram aumento na concentração de arsênio, três amostras apresentaram valores similares (arroz vermelho, arroz integral

marrom e arroz negro) e apenas a amostras de palha de arroz apresentou uma concentração menor.

Por sua vez, para as análises realizadas com CC/KED, doze amostras determinadas com calibração por adição de padrão apresentaram concentrações de arsênio superiores quando comparadas com as concentrações obtidas para as determinações realizadas em modo KED com calibração externa, com exceção apenas da amostra de palha de arroz.

A recuperação obtida para o CRM farinha de arroz em modo de aquisição sem gás de colisão (103%) reflete a exatidão da análise realizada com o método de calibração por adições de padrão, assim como o aumento das concentrações anteriormente mencionado quando aplicado tal método de calibração. Assim, pode-se inferir que interferências de carga espacial que conduzem a erros negativos na determinação de arsênio foram corrigidas.

Quando comparado o modo de aquisição STD e com gás de colisão observou-se que nove amostras apresentaram uma concentração de arsênio superior à determinada em modo STD, a amostra de arroz integral marrom apresentou a mesma concentração e apenas as amostras de arroz arbóreo e integral apresentaram menores concentrações em modo KED. No entanto, as concentrações obtidas nos dois modos de aquisição não apresentaram diferenças significativas (teste *t*-pareado com 95 % de confiança). Desse modo, pode-se inferir que as amostras em análise não apresentam interferências isobáricas na *m/z* 75, sendo viável a determinação de arsênio em modo STD, uma vez que o modo com CC/KED proporcionou uma redução significativa da intensidade de sinal.

Amostras nas quais foram detectados teores elevados de arsênio total requerem a determinação da fração de arsênio inorgânico, considerando-se as suas implicações para a saúde humana e suas características cancerígenas quando comparados com as espécies orgânicas, que apresentam menor toxicidade. A Tabela 5.13 apresenta as concentrações de arsênio inorgânico determinadas para as amostras de arroz extraídas em ácido nítrico 1,0 mol L<sup>-1</sup> e EDTA 0,1 % m v<sup>-1</sup> usando ICP-MS nos modos STD e com CC/KED com calibração por adição de padrão.

TABELA 5.13 - Determinação de arsênio inorgânico (média  $\pm$  desvio padrão, n = 3) em extratos de arroz usando ICP-MS com e sem CC/KED com calibração por adições de padrão.

Amostras	Concentração (mg kg <sup>-1</sup> )	
	STD	CC/KED
Farinha de arroz (SRM 1568a)*	0,144 $\pm$ 0,007	0,103 $\pm$ 0,019
CRM ERM <sup>®</sup> -BC211**	0,359 $\pm$ 0,008	0,320 $\pm$ 0,014
Palha de arroz <sup>a</sup>	0,070 $\pm$ 0,001	0,064 $\pm$ 0,020
Arroz integral marrom <sup>a</sup>	0,132 $\pm$ 0,001	0,104 $\pm$ 0,015
Arroz integral <sup>a</sup>	0,210 $\pm$ 0,006	0,222 $\pm$ 0,056
Arroz vermelho <sup>b</sup>	0,165 $\pm$ 0,018	0,202 $\pm$ 0,051
Arroz parboilizado <sup>a</sup>	0,056 $\pm$ 0,003	0,051 $\pm$ 0,000
Arroz branco 1 <sup>a</sup>	0,054 $\pm$ 0,005	0,058 $\pm$ 0,003
Arroz arbóreo <sup>a</sup>	0,119 $\pm$ 0,015	0,097 $\pm$ 0,048
Arroz branco 2 <sup>a</sup>	0,075 $\pm$ 0,001	0,078 $\pm$ 0,002
Arroz branco 3 <sup>a</sup>	0,063 $\pm$ 0,009	0,062 $\pm$ 0,009
Arroz branco 4 <sup>a</sup>	0,039 $\pm$ 0,001	0,039 $\pm$ 0,003
Arroz branco 5 <sup>a</sup>	0,016 $\pm$ 0,001	0,019 $\pm$ 0,003
Arroz negro <sup>b</sup>	0,012 $\pm$ 0,001	0,013 $\pm$ 0,001
Arroz branco 6 <sup>c</sup>	0,017 $\pm$ 0,001	0,018 $\pm$ 0,003

\*Teor médio da literatura para iAs (0,094  $\pm$  0,012 mg kg<sup>-1</sup>); \*\*Teor certificado para iAs (0,124  $\pm$  0,011 mg kg<sup>-1</sup>); Amostras dos países: <sup>a</sup>Uruguai; <sup>b</sup>Itália; <sup>c</sup>Brasil; LOD modo STD: 0,05 – 0,06  $\mu$ g kg<sup>-1</sup>; LOD modo KED: 0,05 – 0,07  $\mu$ g kg<sup>-1</sup>.

Quando comparado o modo de aquisição STD e CC/KED observou-se que apenas três amostras (palha de arroz, arroz integral marrom e arroz arbóreo) apresentaram concentrações de arsênio inferiores quando determinadas em modo KED, as demais amostras apresentaram valores de concentração semelhantes em ambos os modos de aquisição, não apresentaram diferenças significativas (teste *t*-pareado com 95 % de confiança).

O CRM NIST 1568a farinha de arroz não apresenta teor certificado para arsênio inorgânico. Distintas concentrações das espécies inorgânicas são relatadas na literatura para este material, concentrações na faixa

de  $0,080 \pm 0,014 \text{ mg kg}^{-1}$  a  $0,145 \pm 0,005 \text{ mg kg}^{-1}$  de iAs foram determinadas por HPLC-ICP-MS. A concentração de arsênio inorgânico obtida para o CRM farinha de arroz encontra-se dentro da faixa citada, possibilitando assim inferir na exatidão dos resultados. A Tabela 5.14 apresenta as concentrações de arsênio inorgânico determinadas nesse material em diferentes estudos.

TABELA 5.14 – Concentrações de arsênio inorgânico determinadas no CRM NIST 1568a farinha de arroz relatadas na literatura.

Concentração ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	Técnica	Referência
$0,114 \pm 0,005$	HPLC-ICP-MS	5
$0,105 \pm 0,004$	HPLC-ICP-MS	21
$0,104 \pm 0,007$	HPLC-ICP-MS	40
$0,096 \pm 0,002$	HPLC-ICP-MS	51
$0,080 \pm 0,014$	HPLC-ICP-MS	54
$0,145 \pm 0,005$	HPLC-ICP-MS	55
$0,103 \pm 0,005$	HPLC-ICP-MS	56
$0,087 \pm 0,004$	HPLC-ICP-MS	57
$0,096 \pm 0,007$	HPLC-ICP-MS	58
$0,092 \pm 0,004$	IC-ICP-MS	59
$0,088 \pm 0,004$	HPLC-ICP-MS	78
$0,106 \pm 0,005$	IC-ICP-MS	79
$0,108 \pm 0,004$	HPLC-ICP-MS	80
$0,110 \pm 0,010$	HPLC-ICP-MS	81

O teor de arsênio total determinado para o CRM ERM<sup>®</sup>-BC211 em modo STD foi de  $0,775 \pm 0,017 \text{ mg kg}^{-1}$  e de  $0,359 \pm 0,008 \text{ mg kg}^{-1}$  de arsênio inorgânico. Em modo KED os teores determinados, nessa mesma ordem, foram de  $0,637 \pm 0,036 \text{ mg kg}^{-1}$  e  $0,320 \pm 0,014 \text{ mg kg}^{-1}$ . Observou-se que ambas as concentrações, arsênio inorgânico e total, determinadas em ambos os modos de aquisição, foram superiores aos teores certificados para arsênio total ( $0,260 \pm 0,013 \text{ mg kg}^{-1}$ ) e arsênio inorgânico ( $0,124 \pm 0,011 \text{ mg kg}^{-1}$ ) no CRM.

As elevadas recuperações sob o teor de iAs e tAs, mesmo em modo KED, poderiam ser justificadas pela possibilidade de contaminação do material (o qual foi cedido por outro laboratório). Entretanto, considerando-se a porcentagem de arsênio inorgânico em relação ao teor de arsênio total certificado no CRM (47 %) observa-se uma correlação com as porcentagens de iAs em relação aos teores de tAs determinados em modo STD (46 %) e modo KED (50 %), possibilitando inferir sobre a exatidão do procedimento.

As concentrações de arsênio total obtidas para as amostras de arroz analisadas apresentaram-se na faixa de 0,073 a 0,665 mg kg<sup>-1</sup> com média de 0,278 mg kg<sup>-1</sup>. Para arsênio inorgânico, obteve-se uma faixa de 0,012 a 0,210 mg kg<sup>-1</sup> com média de 0,079 mg kg<sup>-1</sup>.

As concentrações de iAs determinadas nas amostras de arroz não foram diretamente proporcionais às concentrações de arsênio total, ou seja, algumas amostras com valor elevado de arsênio total apresentaram baixo teor de iAs (a concentração de iAs na amostra com maior concentração de tAs, arroz integral, foi apenas 11 % do valor de tAs). Apenas três amostras (arroz vermelho, palha de arroz e arroz parboilizado) apresentaram uma concentração de iAs superior a 40 % em relação à concentração de arsênio total e oito amostras apresentaram concentração de iAs abaixo de 30 %.

Geralmente, a concentração de arsênio inorgânico apresenta-se em maior proporção no grão de arroz quando comparado com a concentração de arsênio total<sup>21-24</sup>, provavelmente pela maior solubilidade da espécie As(III) em relação as espécies DMA e MMA<sup>5</sup>. No entanto, BATISTA et al. (2014)<sup>13</sup> demonstraram o aumento nas concentrações de DMA e MMA em grãos de diferentes cultivares de arroz sob exposição ao arsênio.

No presente estudo, as concentrações de arsênio total determinadas nas amostras de arroz foram semelhantes às relatadas por BATISTA et al. (2011)<sup>5</sup> em amostras brasileiras de arroz, as quais apresentaram uma faixa de concentração de 0,107 a 0,427 mg kg<sup>-1</sup> com média de 0,222 mg kg<sup>-1</sup> de arsênio total. Das 32 variedades de grãos de arroz analisados, as concentrações de arsênio inorgânico foram inferiores a 50 % do valor de arsênio total para cinco amostras<sup>5</sup>.

ABEDIN e colaboradores (2002b)<sup>82</sup>, ALAM et al. (2002b)<sup>83</sup> e DAS et al. (2004)<sup>84</sup> também determinaram concentrações de arsênio total muito

semelhantes às relatadas neste estudo, os trabalhos apresentaram as faixas de concentrações de arsênio total em grãos de arroz de 0,15 a 0,42 mg kg<sup>-1</sup>, 0,16 a 0,58 mg kg<sup>-1</sup> e 0,04 a 0,27 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente.

Concentrações de arsênio superiores a 0,5 mg kg<sup>-1</sup> foram observadas em estudo realizado por PÉTURSDÓTTIR et al. (2014)<sup>21</sup>, sendo determinadas concentrações de arsênio total de até 1,259 mg kg<sup>-1</sup> e 0,428 mg kg<sup>-1</sup> de arsênio inorgânico. Os autores verificaram que as concentrações de DMA nas amostras são bem diversificadas, variando de 10 a 80 % dos teores de arsênio total, entretanto, as distintas concentrações de DMA não influenciaram na eficácia da análise especiação. Em sua maioria, as amostras analisadas no trabalho apresentaram concentrações de arsênio inorgânico superior a 50 % do valor de arsênio total, no entanto, cinco amostras apresentaram concentrações de arsênio inorgânico inferior a 34 % das concentrações de arsênio total<sup>21</sup>.

Menores concentrações de arsênio foram relatadas por BRALATEI et al. (2015)<sup>22</sup> em estudo com amostras de arroz do mercado do Reino Unido. As concentrações de arsênio total apresentaram-se na faixa de 0,006 a 0,477 mg kg<sup>-1</sup> e de 0,005 a 0,301 mg kg<sup>-1</sup> para arsênio inorgânico. Das amostras analisadas, três apresentaram concentrações de arsênio inorgânico inferiores a 36 %.

Em comparação com as concentrações das amostras analisadas neste estudo, menores concentrações de arsênio foram relatadas por FARÍAS et al. (2015)<sup>23</sup> na análise de 59 tipos de arroz argentinos. Os autores determinaram uma concentração média de 0,38 mg kg<sup>-1</sup> de arsênio total sendo 1,29 mg kg<sup>-1</sup> a maior concentração observada. Esses autores constataram a predominância da espécie DMA (média de 73 % da concentração de arsênio total) com concentrações que variaram de 0,07 a 1,21 mg kg<sup>-1</sup>, sendo que a concentração de DMA aumentou linearmente com o aumento da concentração de arsênio total. Para as concentrações de arsênio inorgânico um amplo intervalo de concentrações foram observadas, variando de 0,02 a 0,28 mg kg<sup>-1</sup>.

Menores concentrações de arsênio total também foram relatadas por CERVEIRA et al. (2015)<sup>24</sup> na análise de 13 variedades de arroz do Rio Grande do Sul. As concentrações de arsênio nos grãos apresentaram-se na faixa de 0,083 a 0,258 mg kg<sup>-1</sup> para arsênio total e de 0,054 a 0,169 mg kg<sup>-1</sup> de

arsênio inorgânico. A concentração média de arsênio inorgânico,  $0,113 \text{ mg kg}^{-1}$  correspondeu a 66 % da concentração média determinada para arsênio total. SMITH et al. (2008)<sup>85</sup> também relataram menores concentrações de arsênio no grão de arroz ( $0,87$  a  $1,52 \text{ mg kg}^{-1}$ ) sendo a contribuição de DMA entre 85 e 94 % da concentração de arsênio total. A Tabela 5.15 apresenta a faixa de concentrações de arsênio total e arsênio inorgânico determinadas em amostras de arroz de diferentes países e o método empregado.

TABELA 5.15 – Comparação da faixa de concentrações de arsênio total e inorgânico em amostras de arroz de diferentes países (valores definidos (concentração mínima-concentração máxima)).

País	tAs ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	iAs ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	Método	Referência
Uruguai, Itália, Brasil	0,073-0,665	0,012-0,210	ICP-MS	Esse estudo
Brasil	0,107-0,427	0,079-0,218	HPLC-ICP-MS	5
Reino Unido	0,058-1,259	0,028-0,438	HG-HPLC-ICP-MS	20
Reino Unido	0,006-0,477	0,005-0,301	HG-HPLC-ICP-MS	21
Argentina	0,070-1,210	0,020-0,280	HPLC-HG-AFS	22
Brasil	0,083-0,258	0,054-0,169	HG-AAS	23
China, Japão, Alemanha, Suíça	0,003-0,412	<0,003-0,24	HPLC-ICP-MS	39
Grécia	0,034-0,270	<0,030-0,147	GF AAS	51
EUA, China	0,019-0,586	0,075-0,386	HPLC-ICP-MS	55
China	0,029-0,257	0,029-0,205	HPLC-ICP-MS	60

De acordo com a FAO e WHO<sup>11</sup> o limite máximo tolerável para arsênio total em grãos de arroz polido e descascado é de  $0,30 \text{ mg kg}^{-1}$ . Mesmo valor estabelecido pela ANVISA<sup>10</sup> no regulamento técnico do Mercosul. Das amostras de arroz analisadas neste estudo, três diferentes tipos de grãos arroz: vermelho, arroz integral marrom e arroz integral apresentaram concentrações 35, 80 e 118 %, respectivamente, superiores ao teor máximo tolerável. A concentração média de arsênio total foi de  $0,257 \text{ mg kg}^{-1}$ , o que significa, com exceção das três amostras mencionadas, teores aceitáveis segundo as duas legislações citadas.

Para as amostras em estudo, a concentração média de arsênio inorgânico foi de  $0,079 \text{ mg kg}^{-1}$ . Todas as amostras de arroz apresentaram concentração de iAs inferior ao limite máximo tolerável de  $0,20 \text{ mg kg}^{-1}$  imposto pela FAO e WHO<sup>11</sup> para arsênio inorgânico em arroz, com exceção da amostra de arroz integral ( $0,210 \text{ mg kg}^{-1}$ ). A China apresenta uma legislação mais exigente, as amostras de arroz vermelho e arroz integral apresentaram uma concentração de 10 e 40 %, respectivamente, superior ao LMT de  $0,15 \text{ mg kg}^{-1}$  de arsênio inorgânico em grãos<sup>29</sup>.

As concentrações de arsênio total e inorgânico superiores às máximas permitidas nas legislações mencionadas possibilitam inferir sobre a importância do monitoramento desse alimento para segurança alimentar, assim como a necessidade de aperfeiçoamento de algumas legislações que apresentam regulamentos não adequadamente indicativos da toxicidade do arsênio inorgânico. No cenário atual, os regulamentos para arsênio total em alimentos estão sendo revisados, no entanto, a legislação brasileira ainda não estabelece LMT de contaminantes para arsênio inorgânico.



## *Capítulo 6*

---

---

# ***CONCLUSÕES***

## 6 - CONCLUSÕES

Ao longo deste trabalho, foram desenvolvidos procedimentos analíticos para a determinação de arsênio total e inorgânico em arroz e arsênio total em sucos de frutas. A digestão das amostras de arroz e sucos assistida por radiação micro-ondas possibilitou o emprego de  $\text{HNO}_3$  2,0 mol  $\text{L}^{-1}$ , proporcionando controle do branco analítico e minimização de contaminações e resíduos. O procedimento de extração empregado para a determinação de arsênio inorgânico foi eficiente e se caracterizou pela praticidade de preparo e elevada frequência analítica sem o emprego de reagentes e ácidos potencialmente tóxicos.

ICP-MS/MS foi eficaz para a remoção de interferências espectrais na determinação de arsênio total em sucos de laranja e maçã armazenadas em embalagens Tetra Pack<sup>®</sup>. A estratégia de conversão dos íons  $^{75}\text{As}^+$  no óxido  $^{75}\text{As}^{16}\text{O}^+$  proporcionou determinações precisas de arsênio com calibração externa. Apesar de alguma redução de sensibilidade, as concentrações determinadas para todas as amostras de sucos foram inferiores àquelas estabelecidas pela legislação brasileira.

O uso de ICP-MS foi efetivo para determinação de arsênio total e inorgânico nas amostras de arroz com calibração por adições de padrão. As amostras analisadas não apresentaram interferência espectral na  $m/z$  75, possibilitando a determinação exata de arsênio em modo de aquisição sem CC/KED.

Três diferentes tipos de grão (arroz vermelho, arroz integral marrom e arroz integral) apresentaram concentrações de arsênio total superiores ao teor recomendado por órgãos regulamentadores internacionais, FAO e WHO, e pela ANVISA. Todas as amostras de arroz, com exceção do arroz integral, apresentaram concentrações de arsênio inorgânico inferior ao limite máximo tolerável imposto pela FAO e WHO, no entanto, a legislação brasileira não apresenta LMT para arsênio inorgânico.

## *Capítulo 7*

---

---

# ***REFERÊNCIAS***

## 7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. MARTINEZ, V. D.; VUCIC, E. A.; BECKER-SANTOS, D. D.; GIL, L. & LAM, W. L. "Arsenic exposure and the induction of human cancers". *J. Toxicol.*, **2011**: 1, 2011.
2. MOLIN M.; ULVEN S. M.; MELTZER H. M. & ALEXANDER, J. "Arsenic in the human food chain, biotransformation and toxicology – review focusing on seafood arsenic". *J. Trace Elem. Med. Biol.*, **31**: 249, 2015.
3. IARC (2012). The International Agency for Research on Cancer. *IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans*. Disponível em: <<http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol100C/mono100C.pdf>>. Acesso em 04 de abril de 2016.
4. IBGE (2016). Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Levantamento sistemático da produção agrícola*. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/default.shtm>>. Acesso em 04 de abril de 2016.
5. BATISTA, B. L.; SOUZA, J. M. O.; DE SOUZA, S. S. & BARBOSA JR. F. "Speciation of arsenic in rice and estimation of daily intake of different arsenic species by Brazilians through rice consumption". *J. Hazard. Mater.*, **191**: 342, 2011.
6. YOSIM, A.; BAILEY, K. & FRY, R. C. "Arsenic, the "king of poisons", in food and water". *Am. Sciv.*, 103 (1): 34, 2015.
7. SOUZA, J. M. O.; CARNEIRO, M. F. H.; PAULELLI, A. C. C.; GROTTTO, D.; JÚNIOR, A. M. M.; JÚNIOR, F. B. & BATISTA, B. L. "Arsênio e arroz: toxicidade, metabolismo e segurança alimentar". *Qui. Nova*, 38 (1): 118, 2015.
8. US FDA (2008). Food and Drug Administration. *Hazard assessment and level of concern - apple juice*. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Food/FoodborneIllnessContaminants/Metals/ucm277681.htm>>. Acesso em 06 de janeiro de 2016.
9. THOMAS, R. J. *Practical Guide to ICP-MS*. 3a ed. Boca Raton: CRC Press, 2013. p. 73-90.
10. ANVISA (2013). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Resolução nº 42 – regulamento MERCOSUL nº 12/2011 de 30 de agosto de 2013*. Disponível em: <[http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/8100bb8040eac2e8b590b79cca79f4cf/RDC+n%C2%BA+42\\_2013\\_final.pdf?MOD=AJPERES](http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/8100bb8040eac2e8b590b79cca79f4cf/RDC+n%C2%BA+42_2013_final.pdf?MOD=AJPERES)>. Acesso em 06 de janeiro de 2016.
11. FAO/WHO/CODEX (2012). CODEX Alimentarius. *Joint FAO/WHO food standards programme CODEX committee on contaminants in food*. Disponível

em: <<http://www.fao.org/food/food-safety-quality/scientific-advice/jecfa/en/>>. Acesso em 02 de maio de 2015.

12. US FDA (2013). Food and Drug Administration. *Questions & answers: apple juice and arsenic*. Disponível em:

<<http://www.fda.gov/Food/FoodborneIllnessContaminants/Metals/ucm271595.htm>>. Acesso em 08 de janeiro de 2016.

13. BATISTA, B. L.; NIGAR, M.; MESTROT, A.; ROCHA, B. A.; BARBOSA JÚNIOR, F.; PRICE, A. H.; RAAB, A. & FELDMANN, J. "Identification and quantification of phytochelatin in roots of rice to long-term exposure: evidence of individual role on arsenic accumulation and translocation". *J. Exp. Bot.*, 65 (6): 1467, 2014.

14. ANDREW, A.; MEHARG, M. D. & RAHMAN, M. "Arsenic contamination of Bangladesh paddy field soils: implications for rice contribution to arsenic consumption". *Environ. Sci. Technol.*, 37 (2): 229, 2003.

15. BENNETT, J. P.; CHIRIBOGA, E.; COLEMAN, J. & WALLER, D. M. "Heavy metals in wild rice from northern Wisconsin". *Sci. Total Environ.*, **246**: 261, 2000.

16. LOFREDO, C. A.; APOSHIAN, H. V.; CEBRIAN, M. E.; YAMAUCHI, H & SILBERGED, E. K. "Variability in human metabolism of arsenic". *Environ. Res.*, 92 (2): 85, 2003.

17. BÉCAR, H. C. & ARANCIBIA, G. V. "Impacto y consecuencias del arsénico en la salud y el medio ambiente en el Norte de Chile". *RIAT*, 6 (1): 53, 2010.

18. EPA (2002). United States Environmental Protection Agency.

*Implementation guidance for the arsenic rule*. Disponível em:

<<http://www.epa.gov/>>. Acesso em 29 de junho de 2015.

19. G1 (2015). O portal de notícias da Globo. *Liberção de arsênio de mineradora de Paracatu, MG, é tema de audiência*. Disponível em:

<<http://g1.globo.com/minas-gerais/triangulo-mineiro/noticia/2015/04/liberacao-de-arsenio-de-mineradora-de-paracatu-mg-e-tema-de-audiencia.html>> Acesso em 04 de abril de 2016.

20. CAREY, A.; SCHECKEL, K.; LOMBI, E.; NEWVILLE, M.; CHOI, Y.; NORTON, G.; CHARNOCK, J.; FELDMANN, J.; PRICE, A. & MEHARG, A. A. "Grain unloading of arsenic species in rice". *Plant Physiol.*, 152 (1): 309, 2010.

21. PÉTURSDÓTTIR, A. H.; FRIEDRICH, N.; MUSIL, S.; RAAB, A.; GUNNLAUGSDÓTTIR, H.; KRUPP, E. M. & FELDMANN, J. "Hydride generation ICP-MS as a simple method for determination of inorganic arsenic in rice for routine biomonitoring". *Anal. Methods*, **6**: 5392, 2014.

22. BRALATEI, E.; LACAN, S.; KRUPP, E. M. & FELDMANN, J. "Detection of inorganic arsenic in rice using a field test kit: a screening method". *Anal. Chem.*, **87** (22): 11271, 2015.

23. FARÍAS, S. S.; LONDONIO, A.; QUINTERO, S.; BEFANI, R.; SORO, M. & SMICHOWSKI, P. "On-line speciation and quantification of four arsenical species in rice samples collected in Argentina using a HPLC–HG–AFS coupling". *Microchem. J.*, **120**: 34, 2015.

24. CERVEIRA, C.; POZEBON, D.; MORAES, D. P. & FRAGA, J. C. S. "Speciation of inorganic arsenic in rice using hydride generation atomic absorption spectrometry (HGAAS)". *Anal. Methods*, **7**: 4528, 2015.

25. SCHOOF, R. A.; YOST, L. J.; EICKHOFF, J.; CRECELIUS, E. A.; CRAGIN, D. W.; MEACHER, D. M. & MENZEL, D. B. "A market basket survey of inorganic arsenic in food". *Food Chem. Toxicol.*, **37** (8): 839, 1999.

26. ASSIS, R. A.; KÜCHLER, I. L.; MIEKELEY, N. & SILVEIRA, C. L. P. "Elementos-traço e sódio em suco de uva: aspectos nutricionais e toxicológicos". *Qui. Nova*, **31** (8): 1948, 2008.

27. MAJA, W. & SZYMCZYCHA-MADEJA, A. "Effect of sample preparation procedure for the determination of As, Sb and Se in fruit juices by HG-ICP-OES". *Food Chem.*, **159**: 414, 2014.

28. US FDA (2011). Food and Drug Administration. *Arsenic in apple juice analytical results, 2005-2011 toxic elements food and foodware program*. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Food/FoodbornellnessContaminants/Metals/ucm273328.htm>>. Acesso em 06 de janeiro de 2016.

29. PÉTURSDÓTTIR A. H.; SLOTH, J. J. & FELDMANN, J. "Introduction of regulations for arsenic in feed and food with emphasis on inorganic arsenic, and implications for analytical chemistry". *Anal. Bioanal. Chem.*, **407** (28): 8385, 2015.

30. USDA (2006). Foreign Agricultural Service. *China people republic of FAIRS product specific maximum levels of contaminants in foods 2006*. Disponível em: <<http://apps.fas.usda.gov/gainfiles/200608/146208660.pdf>>. Acesso em 04 de maio de 2015.

31. EFSA (2009). European Food Safety Authority. *Scientific opinion on arsenic in food, EFSA panel on contaminants in the food chain, Parma, Italy*. Disponível em: <[http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/scientific\\_output/files/main\\_documents/1351.pdf](http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/scientific_output/files/main_documents/1351.pdf)>. Acesso em 15 de janeiro de 2016.

32. EFSA (2014). European Food Safety Authority. *Dietary exposure to inorganic arsenic in the European population, Parma, Italy*. Disponível em:

<<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/1351.htm>>. Acesso em 15 de janeiro de 2016.

33. US FDA (2013). Food and Drug Administration. *A quantitative assessment of inorganic arsenic in apple juice*. Disponível em:

<<http://www.fda.gov/downloads/Food/FoodScienceResearch/RiskSafetyAssessment/UCM360016.pdf>>. Acesso em 06 de janeiro de 2016.

34. WHO (2010). World Health Organization. *Summary report of the seventy-second meeting of JECFA, JECFA/72/SC. Joint FAO/WHO expert committee on food additives*. Disponível em: <<http://www.fao.org/food/food-safety-quality/scientific-advice/jecfa/en/>>. Acesso em 15 de janeiro de 2016.

35. FAO/WHO (2014). CODEX Alimentarius. *Report of the eighth session of the Codex Committee on Contaminants in Foods*. Disponível em:

<[ftp://ftp.fao.org/codex/Reports/Reports\\_2014/REP14\\_CFe.pdf](ftp://ftp.fao.org/codex/Reports/Reports_2014/REP14_CFe.pdf)>. Acesso em 15 de janeiro de 2016.

36. TEMPLETON, D. M.; ARIESE, F.; CORNELIS, R.; DANIELSSON, L.; MUNTAU, H.; LEEUWEN, H. P. V. & LOBINSKI, R. "Guidelines for terms related to chemical speciation and fractionation of elements. Definitions, structural aspects, and methodological approaches. IUPAC Recommendations 2000". *Pure Appl. Chem.*, 72 (8): 1453, 2000.

37. SADEE, B.; FOULKES, M. E.; HILL, S. J. "Coupled techniques for arsenic speciation in food and drinking water: a review". *J. Anal. At. Spectrom.*, **30**: 102, 2015.

38. MAHER, W.; FOSTER, S.; KRIKOWA, F.; DONNER, E. & LOMBI, E. "Measurement of inorganic arsenic species in rice after nitric acid extraction by HPLC-ICPMS: verification using XANES". *Environ. Sci. Technol.*, 47 (11): 5821, 2013.

39. NOOKABKAEW, S.; RANGKADILOK, N.; MAHIDOL, C.; PROMSUK, G. & SATAYAVIVAD, J. "Determination of arsenic species in rice from Thailand and other Asian countries using simple extraction and HPLC-ICP-MS analysis". *J. Agric. Food. Chem.*, 61 (28): 6991, 2013.

40. HUANG, J. H.; FECHER, P.; ILGEN, G.; HU, K. N. & YANG, J. "Speciation of arsenite and arsenate in rice grain - verification of nitric acid based extraction method and mass sample survey". *Food Chem.*, 130 (2): 453, 2012.

41. NIEDZIELSKI, P.; MLECZEK, P.; MAGDZIAK, Z.; SIWULSKI, M. & KOZAK, Z. "Selected arsenic species: As(III), As(V) and dimethylarsenic acid (DMAA) in *Xerocomus badius* fruiting bodies". *Food Chem.*, 141 (4): 3571, 2013.

42. BOHARI, Y.; LOBOS, G.; PINOCHET, H.; PANNIER, F.; ASTRUC, A. & POTIN-GAUTIER, M. "Speciation of arsenic in plants by HPLC-HG-AFS: extraction optimisation on CRM materials and application to cultivated samples". *J. Environ. Monit.*, 4 (4): 596, 2002.

43. MEERMANN, B.; BARTEL, M.; SCHEFFER, A.; TRÜMPLER, S. & KARST, U. "Capillary electrophoresis with inductively coupled plasma-mass spectrometric and electrospray time of flight mass spectrometric detection for the determination of arsenic species in fish samples". *Electrophoresis*, v. 29 (12): 2731, 2008.
44. SANCHEZ-RODAS, D.; OLIVEIRA, V.; SARMIENTO, A. M.; GOMEZARIZA, J. L. & NIETO, J. M. "Preservation procedures for arsenic speciation in a stream affected by acid mine drainage in southwestern Spain". *Anal. Bioanal. Chem.*, 384 (7): 1594, 2006.
45. DEDINA, J. & TSALEV, D. L. *Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry*, John Wiley & Sons Ltd, Chichester, UK, 1995. p. 182-220.
46. BIZZI, C. A.; FLORES, E. M. M.; BARIN, J. S.; GARCIA, E. E. & NÓBREGA, J. A. "Understanding the process of microwave-assisted digestion combining diluted nitric acid and oxygen as auxiliary reagent". *Microchem. J.*, 9 (2): 193, 2011.
47. ARAÚJO, G. C. L.; GONZALEZ, M. H.; FERREIRA, A. G.; NOGUEIRA, A. R. A. & NÓBREGA, J. A. "Effect of acid concentration on closed-vessel microwave-assisted digestion of plant materials". *Spectrochim. Acta, Part B*, 57 (12): 2121, 2002.
48. BIZZI, C. A.; BARIN, J. S.; MÜLLERA, E. I.; SCHMIDT, L.; NÓBREGA, J. A. & FLORES, E. L. M. "Evaluation of oxygen pressurized microwave-assisted digestion of botanical materials using diluted nitric acid". *Talanta*, 83 (5): 1324, 2015.
49. BIZZI, C. A.; FLORES, E. L. M.; NÓBREGA, J. A.; OLIVEIRA, J. S. S.; SCHMIDT, L. & MORTARI, S. R. "Evaluation of a digestion procedure based on the use of diluted nitric acid solutions and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> for the multielement determination of whole milk powder and bovine liver by ICP-based techniques". *J. Anal. At. Spectrom.*, 29 (2): 332, 2014.
50. AMARAL, C. D. B.; NÓBREGA, J. A. & NOGUEIRA, A. R. A. "Sample preparation for arsenic speciation in terrestrial plants - a review". *Talanta*, **115**: 291, 2013.
51. NARUKAWA, T.; INAGAKI, K.; KUROIWA, T. & CHIBA, K. "The extraction and speciation of arsenic in rice flour by HPLC-ICP-MS". *Talanta*, 77 (1): 427, 2008.
52. PASIAS, I. N.; THOMAIDIS, N. S. & PIPERAKI, E. A. "Determination of total arsenic, total inorganic arsenic and inorganic arsenic species in rice and rice flour by electrothermal atomic absorption spectrometry". *Microchem. J.*, **108**: 1, 2013.



53. SHAH, A. Q.; KAZI, T. G.; BAIG, J. A. ARAIN, M. B.; AFRIDI, H. I.; KANDHRO, G. B.; WADHWA, S. K. & KOLACHI, N. F. "Determination of inorganic arsenic species ( $\text{As}^{3+}$  and  $\text{As}^{5+}$ ) in muscle tissues of fish species by electrothermal atomic absorption spectrometry (ETAAS)". *Food Chem.*, 119 (2): 840, 2010.
54. WILLIAMS, P. N.; PRICE, A. H.; RAAB, A.; HOSSAIN, S. A.; FELDMANN, J. & MEHARG, A. A. "Variation in arsenic speciation and concentration in paddy rice related to dietary exposure". *Environ. Sci. Technol.*, 39 (15): 5531, 2005.
55. SANZ, E.; MUÑOZ-OLIVAS, R. & CÁMARA, C. "Evaluation of a focused sonication probe for arsenic speciation in environmental and biological samples". *J. Chromatogr. A*, 1097 (1-2): 1, 2005.
56. ZHU, Y. G.; SUN, G. X.; LEI, M.; TENG, M.; LIU, Y. X.; CHEN, N. C.; WANG, L. H., CAREY, A. M.; DEACON, C.; RAAB, A.; MEHARG, A. A. & WILLIAMS, P. N. "High percentage inorganic arsenic content of mining impacted and nonimpacted Chinese rice". *Environ. Sci. Technol.*, 42 (13): 5008, 2008.
57. PIZARRO, I.; GÓMEZ, M.; CÁMARA, C. & PALACIOS, M. A. "Arsenic speciation in environmental and biological samples – extraction and stability studies". *Anal. Chim. Acta*, 495 (1-2): 85, 2003.
58. MAR, J. L. G.; REYES, L. H.; RAHMAN, G. M. M. & KINGSTON, H. M. S. "Simultaneous extraction of arsenic and selenium species from rice products by microwave-assisted enzymatic extraction and analysis by ion chromatography-inductively coupled plasma-mass spectrometry". *J. Agric. Food Chem.* 57 (8): 3005, 2009.
59. HEITKEMPER, D. T.; VELA, N. P.; STEWART, K. R. & WESTPHAL, C. S. "Determination of total and speciated arsenic in rice by ion chromatography and inductively coupled plasma mass spectrometry". *J. Anal. At. Spectrom.*, 16 (4): 299, 2001.
60. RABER, G.; STOCK, N.; HANEL, P.; MURKO, M.; NAVRATILOVA, J. & FRANCESCONI, K. A. "An improved HPLC–ICPMS method for determining inorganic arsenic in food: application to rice, wheat and tuna fish". *Food Chem.*, 134 (1): 524, 2012.
61. HUANG, Y.; SHAN, J.; FAN, B.; HE, Y.; XIA, S.; SUN, Y.; LU, J.; WANG, M. & WANG, F. "Determination of inorganic arsenic in rice by solid phase extraction and hydride generation atomic fluorescence spectrometry". *Anal. Methods*, 7 (20): 8896, 2015.
62. FONTCUBERTA, M.; CALDERON, J.; VILLALBÍ, J. R.; CENTRICH, F.; PORTAÑA, S.; ESPELT, A. DURAN, J. & NEBOT, M. "Total and inorganic arsenic in marketed food and associated health risks for the Catalan (Spain) population". *J. Agric. Food Chem.* 59 (18): 10013, 2011.

63. JACKSON, B. P.; LIBAB, A. & NELSON, J. "Advantages of reaction cell ICP-MS on doubly charged interferences for arsenic and selenium analysis in foods". *J. Anal. At. Spectrom.*, 30 (5): 1179, 2015.
64. SALAZAR, R. F. S.; GUERRA, B. B. M.; PEREIRA-FILHO, E. R. & NÓBREGA, J. A. "Performance evaluation of collision–reaction interface and internal standardization in quadrupole ICP-MS measurements". *Talanta*, **86**: 241, 2011.
65. XIE, Q.; KERRICH, R.; IRVING, E.; LIBER, K. & ABOU-SHAKRA, F. "Determination of five arsenic species in aqueous samples by HPLC coupled with a hexapole collision cell ICP-MS". *J. Anal. At. Spectrom.*, 17 (9): 1037, 2002.
66. D'ILIO, S.; VIOLANTE, N.; MAJORANI, C. & PETRUCCI, F. "Dynamic reaction cell ICP-MS for determination of total As, Cr, Se and V in complex matrices: still a challenge? a review". *Anal Chim Acta*, 698 (1-2): 6, 2011.
67. AGILENT TECHNOLOGIES. *Reaction data for 70 elements using O<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub> and H<sub>2</sub> gases with the Agilent 8800 Triple Quadrupole ICP-MS*. Disponível em: <[https://www.chem.agilent.com/Library/technicaloverviews/Public/5991-4585EN\\_TechNote8800\\_ICP-QQQ\\_reactiondata.pdf](https://www.chem.agilent.com/Library/technicaloverviews/Public/5991-4585EN_TechNote8800_ICP-QQQ_reactiondata.pdf)>. Acesso em 06 de fevereiro de 2016.
68. AMARAL, C. D. B.; AMAIS, R. S.; FIALHO, L. L.; SCHIAVO, D.; AMORIM, T. NOGUEIRA, A. R. A.; ROCHAC, F. R. P. & NÓBREGA, J. A. "A novel strategy to determine As, Cr, Hg and V in drinking water by ICP-MS/MS". *Anal. Methods*, 7 (3): 1215, 2015.
69. AMARAL, C. D. B.; AMAIS, R. S.; FIALHO, L. L.; SCHIAVO, D.; NOGUEIRA, A. R. A. & NÓBREGA, J. A. "Determination of carbon in digested samples and amino acids by inductively coupled plasma tandem mass spectrometry". *Microchem. J.*, **122**: 29, 2015.
70. YAMADA, N. "Kinetic energy discrimination in collision/reaction cell ICP-MS: Theoretical review of principles and limitations". *Spectrochim. Acta, Part B*, **110**: 31, 2015.
71. DUFAILY, V.; NOEL, L. & GUÉRIN, T. "Optimisation and critical evaluation of a collision cell technology ICP-MS system for the determination of arsenic in foodstuffs of animal origin". *Anal. Chim. Acta*, 611 (2): 134, 2008.
72. AN, J.; LEE, J.; LEE, G.; NAM, K. & YOON, H. "Combined use of collision cell technique and methanol addition for the analysis of arsenic in a high-chloride-containing sample by ICP-MS". *Microchem. J.*, **120**: 77, 2015.
73. PETTINE, M.; CASENTINI, B.; MASTROIANNI, D. & CAPRI, S. "Dissolved inorganic carbon effect in the determination of arsenic and chromium in mineral waters by inductively coupled plasma-mass spectrometry". *Anal. Chim. Acta*, 599 (2): 191, 2007.

74. GOUVEIA, S. T.; SILVA, F. V.; COSTA, L. M.; NOGUEIRA, A. R. A.; & NÓBREGA, J. A. "Determination of residual carbon by inductively-coupled plasma optical emission spectrometry with axial and radial view configurations". *Anal. Chim. Acta*, 445 (2): 269, 2001.
75. BARNES, K. W. "Trace metal determinations in fruit, juice and juice products using an axially viewed plasma". *At. Spectrosc.*, 18 (3): 84, 1997.
76. TUFUOR, J. K.; BENTUM, J. K.; ESSUMANG, D. K. & KORANTENG-ADDO, J. E. "Analysis of heavy metals in citrus juice from the Abura-Asebu-Kwamankese district, Ghana". *J. Chem. Pharm. Res.*, 3 (2): 397, 2011.
77. MAGDAS, D. A.; DEHELEAN, A. & PUSCAS, R. "Isotopic and elemental determination in some Romanian apple fruit juices". *Scientific World J.*, **2012**: 1, 2012.
78. SANZ, E.; MUÑOZ-OLIVAS, R.; CÁMARA, C.; SENGUPTA, M. K. & AHAMED, S. "Arsenic speciation in rice, straw, soil, hair, and nails samples from the arsenic affected areas of middle and lower Ganga plain". *J. Environ. Sci. Health Part A*, 42 (12): 1695, 2007.
79. KOHLMAYER, U.; JANTZEN, E.; KUBALLA, J. & JAKUBIK, S. "Benefits of high-resolution IC-ICP-MS for the routine analysis of inorganic and organic arsenic species in food products of marine and terrestrial origin". *Anal. Bioanal. Chem.*, 377 (1): 6, 2003.
80. D'AMATO, M.; FORTE, G. & CAROLI, S. "Identification and quantification of major species of arsenic in rice". *J. AOAC Int.*, 87 (1): 238, 2004.
81. SUN, G. X.; WILLIAMS, P. N.; ZHU, Y. G.; DEACON, C.; CAREY, A. M.; RAAB, A.; FELDMANN, J. & MEHARG, A. A. "Survey of arsenic and its speciation in rice products such as breakfast cereals, rice crackers and Japanese rice condiments". *Environ. Int.*, 35 (3): 473, 2009.
82. ABEDIN, M. J.; COTTER-HOWELLS, J. & MEHARG, A. A. "Arsenic uptake and accumulation in rice (*Oryza sativa* L.) irrigated with contaminated water". *Plant Soil*, 240 (2): 311, 2002.
83. ALAM, M. G. M.; ALLINSON, G.; STAGNITTI, F.; TANAKA, A. & WESTBROOKE, M. "Metal concentrations in rice and pulses of Samta Village, Bangladesh". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 69 (3): 323, 2002.
84. DAS, H. K.; MITRA, A. K.; SENGUPTA, P. K.; HOSSAIN, A.; ISLAM, F. & RABBANI, G. H. "Arsenic concentrations in rice, vegetables, and fish in Bangladesh: a preliminary study". *Environ. Int.*, 30 (3): 383, 2004.
85. SMITH, E.; JUHASZ, A. L.; WEBER, J. & NAIDU, R. "Arsenic uptake and speciation in rice plants grown under greenhouse conditions with arsenic contaminated irrigation water". *Sci. Total Environ.*, 392 (2-3): 277, 2008.