



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA E FÍSICO-QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

FRANCISCO EDUARDO HOLANDA LIMA

**NANOPARTÍCULAS DE PRATA COMO PLATAFORMA DE SENSORIAMENTO NA
DETECÇÃO DE ARSÊNIO INORGÂNICO POR ESPECTROFOTOMETRIA UV-VIS
EM AMOSTRAS DE ARROZ E CAMARÃO**

FORTALEZA

2022

FRANCISCO EDUARDO HOLANDA LIMA

NANOPARTÍCULAS DE PRATA COMO PLATAFORMA DE SENSORIAMENTO NA
DETECÇÃO DE ARSÊNIO INORGÂNICO POR ESPECTROFOTOMETRIA UV-VIS EM
AMOSTRAS DE ARROZ E CAMARÃO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para a obtenção do título de mestre em Química. Área de concentração: Química Analítica.

Orientadora: Profa. Dra. Wladiana Oliveira Matos.

FORTALEZA

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- L698n Lima, Francisco Eduardo Holanda.
Nanopartículas de prata como plataforma de sensoriamento na detecção de arsênio inorgânico por espectrofotometria UV-Vis em amostras de arroz e camarão / Francisco Eduardo Holanda Lima. – 2022.
63 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2022.
Orientação: Profa. Dra. Wladiana Oliveira Matos.
1. Arroz. 2. Camarão. 3. Arsênio. 4. Nanopartículas de prata. 5. Especiação química elementar. I. Título.
CDD 540
-

FRANCISCO EDUARDO HOLANDA LIMA

NANOPARTÍCULAS DE PRATA COMO PLATAFORMA DE SENSORIAMENTO NA
DETECÇÃO DE ARSÊNIO INORGÂNICO POR ESPECTROFOTOMETRIA UV-VIS EM
AMOSTRAS DE ARROZ E CAMARÃO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
graduação em Química da Universidade
Federal do Ceará, como parte dos requisitos
para a obtenção do título de mestre em Química.
Área de concentração: Química Analítica.

Aprovada em: 16/02/2022.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Wladiana Oliveira Matos (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Pierre Basilio Almeida Fechine
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Sandro Thomaz Gouveia
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Aos meus pais e amigos.

AGRADECIMENTOS

À Instituição Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ), pelo apoio financeiro com a manutenção da bolsa de auxílio.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química e ao Laboratório de Estudos em Química Aplicada, LEQA, da Universidade Federal do Ceará.

À Profa. Dra. Wladiana Oliveira Matos, pela excelente orientação.

Aos parceiros e amigos de laboratório, Luan e Jane, pelas conversas e diversas ajudas durante minha jornada.

Aos professores participantes da banca examinadora Prof. Dr. Pierre Basilio Almeida Fechine, Prof. Dra. Gisele Simone Lopes e Prof. Dr. Sandro Thomaz Gouveia pelo tempo, pelas valiosas colaborações e sugestões.

Aos colegas da turma de mestrado, pelas reflexões, críticas e sugestões recebidas.

Quais seriam as propriedades dos materiais se pudéssemos realmente arranjar os átomos como bem entendêssemos? Elas seriam muito interessantes de se investigar teoricamente. Não posso ver exatamente o que aconteceria, mas dificilmente posso duvidar que, quando tivermos algum controle sobre a disposição das coisas na escala pequena, teremos um leque enormemente maior de propriedades possíveis para as substâncias, e de diferentes coisas que poderíamos fazer. (RICHARD P. FEYNMAN, 1960, p. 22-36)

RESUMO

Teores significativos de arsênio (As) vem sendo reportados em amostras de arroz e frutos do mar. Com isso tem-se buscado métodos simples e de baixo custo para análise de especiação desse elemento, uma vez que diferentes formas de As possuem diferentes níveis de toxicidade, sendo suas espécies inorgânicas as mais prejudiciais à segurança alimentar. Dessa forma, trabalhos recentes têm relatado o uso de nanopartículas de prata como nanosensores ópticos para a quantificação desse contaminante. No presente trabalho, estudou-se metodologia de síntese de nanopartículas de prata (AgNPs) funcionalizadas em polietileno glicol (PEG₂₀₀) para sua posterior aplicação como plataforma de sensoriamento para detecção de na análise de especiação de As inorgânico (iAs) em amostras de arroz e camarão por espectrofotometria de absorção molecular no UV-Vis. O método se baseou no fenômeno no qual a presença de iAs no meio desloca a banda plasmônica apresentada pelas AgNPs₂₀₀ de 412 nm para 600 nm, o que permite a análise de iAs por medidas espectrofotométricas. O nanomaterial sintetizado foi caracterizado através de medidas de carga de superfície e tamanho de partícula usando potencial Zeta e Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS), respectivamente. Os resultados obtidos sugerem que as partículas apresentam superfície de carga negativa, enquanto seu tamanho varia entre 80-100 nm. O método de análise AgNPs/espectrofotometria UV-Vis foi eficiente para análise de As total (tAs) em amostra de arroz com recuperação de 97% e 95% na análise de Material de Referência – Agro C1001a e NIST 1568b – Rice Flour, respectivamente. Além de ser seletivo para iAs, possibilitando a especiação de As com veracidade satisfatória (105%, recuperação de iAs em NIST 1568b – Rice Flour). O método proposto apresentou boa precisão com RSD menor que 16% para todas as amostras e limites de detecção e quantificação de 0,656 $\mu\text{g Kg}^{-1}$ iAs e 1,988 $\mu\text{g Kg}^{-1}$ iAs, respectivamente. As amostras de arroz apresentaram níveis de tAs variando entre 108,3 - 281,25 $\mu\text{g kg}^{-1}$, estando esses teores abaixo do recomendado pela legislação brasileira para esse tipo de matriz. O teor de iAs nas amostras de arroz foi entre 55,35 e 110,02 $\mu\text{g kg}^{-1}$, o que corresponde a 34-70 % do As na amostra. Para o camarão a concentração de iAs encontrada foi de 64,70 $\mu\text{g kg}^{-1}$. O presente método de análise revelou-se uma alternativa viável e simples para análise de iAs em arroz e camarão, ressaltando-se sua versatilidade para diferentes matrizes, tecido vegetal e animal.

Palavras-chave: arroz; camarão; arsênio; nanopartículas de prata; especiação química elementar.

ABSTRACT

Significant levels of arsenic (As) have been reported in rice and seafood samples. As a result, simple and low-cost methods for the analysis of arsenic speciation have been sought, as different forms of arsenic have varying levels of toxicity, with inorganic species being the most harmful to food safety. Therefore, recent studies have reported the use of silver nanoparticles as optical nanosensors for the quantification of this contaminant. In this study, a methodology for the synthesis of silver nanoparticles (AgNPs) functionalized with polyethylene glycol (PEG₂₀₀) was investigated for their subsequent application as a sensing platform for the detection and speciation analysis of inorganic arsenic (iAs) in rice and shrimp samples using UV-Vis molecular absorption spectroscopy. The method was based on the phenomenon in which the presence of iAs in the medium shifts the plasmonic band exhibited by the AgNPs from 412 nm to 600 nm, enabling the analysis of iAs through spectroscopic measurements. The synthesized nanomaterial was characterized through surface charge and particle size measurements using Zeta potential and Dynamic Light Scattering (DLS), respectively. The results obtained suggest that the particles have a negative surface charge, while their size ranges from 80-100 nm. The AgNPs/UV-Vis spectrophotometry analysis method was efficient for the analysis of total arsenic (tAs) in rice samples with recoveries of 97% and 95% in the analysis of Reference Material - Agro C1001a and NIST 1568b - Rice Flour, respectively. In addition to being selective for iAs, allowing for accurate arsenic speciation (105% recovery of iAs in NIST 1568b - Rice Flour). The proposed method exhibited good precision with RSD (Relative Standard Deviation) less than 16% for all samples, and detection and quantification limits of 0.656 $\mu\text{g kg}^{-1}$ iAs and 1.988 $\mu\text{g kg}^{-1}$ iAs, respectively. The rice samples showed tAs levels ranging from 108.3 to 281.25 $\mu\text{g kg}^{-1}$, which are below the limits recommended by Brazilian legislation for this type of matrix. The iAs content in the rice samples ranged from 55.35 to 110.02 $\mu\text{g kg}^{-1}$, corresponding to 34-70% of the total As content. The concentration of iAs found in the shrimp sample was 64.70 $\mu\text{g kg}^{-1}$. The present analysis method proved to be a viable and simple alternative for the analysis of iAs in rice and shrimp, highlighting its versatility for different matrices, plant, and animal tissues.

Keywords: rice; shrimp; arsenic; silver nanoparticles; elemental chemical speciation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Algumas espécies de arsênio de interesse analítico	19
Figura 2	– Periódicos publicados nos últimos 10 anos sobre nanopartículas segundo a plataforma SCOPUS	30
Figura 3	– Total de periódicos publicados por área de concentração nos últimos 10 anos sobre nanopartículas, segundo a plataforma SCOPUS	31
Figura 4	– (a) Superfície plasmônica de ressonância em nanopartículas metálicas; (b) banda plasmônica observada em AgNPs	32
Figura 5	– Esquema de um espectrofotômetro UV-Vis. (a) fonte de luz, (b) colimador, (c) prisma ou rede de difração, (d) fenda seletora (e) cubeta contendo a amostra, (f) detector, (g) leitor	33
Figura 6	– Representação esquemática da síntese das AgNPs	37
Figura 7	– Metodologia de aplicação das AgNPs como plataforma de sensoriamento de As inorgânico em amostras reais	38
Figura 8	– Espectro da solução contendo AgNPs em espectrofotômetro de absorção molecular na região UV-Vis	41
Figura 9	– Esquema representativo da formação das AgNPs funcionalizadas com PEG200 utilizando citrato de sódio como agente redutor	42
Figura 10	– Avaliação da formação e resposta da nanopartícula utilizando citrato como agente funcionalizante sem adição de PEG ₂₀₀	43
Figura 11	– Medida da carga de superfície das AgNPs através do potencial zeta (n=3) ...	44
Figura 12	– Medida da carga de superfície das AgNPs através do potencial zeta após a adição de 10 µg L ⁻¹ de As (n=3)	45
Figura 13	– Resposta das AgNPs à adição de 10 µg L ⁻¹ de Al, Cd, Fe, Mn, Se, Zn e As ..	46
Figura 14	– Mudança da coloração da solução após a adição de As (III)	47
Figura 15	– Efeito da concentração de As (III) sobre a banda plasmônica das AgNPs	48

Figura 16 – Curva analítica de As (III), faixa de concentração entre 1,0 e 15,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, por espectrometria de absorção molecular na região UV-Vis usando AgNPs como plataforma de sensoriamento	50
Figura 17 – Gráfico de resíduos da curva de calibração	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Análise de variância	51
Tabela 2 – Coeficientes e testes de hipóteses da curva de calibração	52
Tabela 3 – Determinação de As total por espectrofotometria UV-Vis usando AgNPs em amostras de material de referência (CRM-Agro C1001a) e material de referência certificado (NIST 1568b). (n = 2)	53
Tabela 4 – Determinação de As inorgânico por espectrofotometria UV-Vis usando AgNPs em material de referência certificado (NIST 1568b). (n = 2)	53
Tabela 5 – Análise de As total e As inorgânico por espectrofotometria de absorção molecular na região do UV-Vis usando AgNPs em amostras de arroz e camarão. (Média ± DP, n = 2)	56

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AgNPs	Nanopartículas de Prata
ANOVA	Análise de variância
Anvisa	Agência de vigilância sanitária
FAO	Organização para Alimentação e Agricultura
HPLC-ICP-MS	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada à Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
OMS	Organização Mundial da Saúde
PEG ₂₀₀	Polietileno glicol de massa molecular 200u
UV-Vis	Espectrofotometria de absorção molecular na região do ultravioleta e visível

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1	Arsênio	17
2.2	Metabolismo e toxicidade do arsênio	18
2.3	Arsênio em arroz	21
2.4	Arsênio em camarão	23
2.5	Métodos não-cromatográficos de análise química	25
2.6	O desenvolvimento da nanotecnologia	27
2.7	Nanopartículas na química analítica	28
2.8	Nanopartículas de prata (AgNPs)	29
2.9	Espectrofotometria de absorção molecular na região do UV-Vis	32
3	OBJETIVO	34
3.1	Objetivo geral	34
3.2	Objetivos específicos	34
4	METODOLOGIA	35
4.1	Amostras e reagentes	35
4.2	Instrumentação	36
4.3	Síntese das nanopartículas de prata	36
4.4	Preparo de amostra para determinação de As total	37
4.5	Extração de As inorgânico	37
4.6	Aplicação das AgNPs como plataforma de sensoriamento na análise de As inorgânico	38
4.7	Avaliação das figuras de mérito	38
4.7.1	<i>Análise de contaminantes</i>	39
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
5.1	Formação das AgNPs	40
5.2	Caracterização das AgNPs	43
5.3	Análise da resposta das AgNPs a adição de espécies de Al, Cd, Fe, Mn, Se, Zn e As	45
5.4	Efeito da concentração de As (III) sob a banda plasmônica das AgNPs	46
5.5	Figuras de mérito	49

5.6	Aplicação do método proposto	54
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	57
	REFERÊNCIAS	58

1 INTRODUÇÃO

A análise de arsênio (As) em alimentos é um tema que vem sendo debatido em diversos trabalhos encontrados na literatura, especialmente aqueles que tratam da especiação química. Os estudos que envolvem esse assunto são de grande relevância porque a toxicidade desse elemento depende de seu estado de oxidação e forma química. Dessa maneira, a análise do teor total de As em alimentos não reflete o nível de risco de intoxicação por As através da ingestão desses produtos alimentícios (CAVA-MONTESINOS *et al.*, 2005).

Arsênio pode causar câncer de pulmão, bexiga, fígado, renal e de pele (BISSEN; FRIMMEL, 2003). A maioria dos casos crônicos de envenenamento por As é causada pelo consumo de As inorgânico, arsenito (As (III)) e arseniato (As (V)) (XIE *et al.*, 2007). Após absorção pelos pulmões ou pelo aparelho gastrointestinal, o As é transportado pelo sangue para outras partes do corpo (FOWLER; JONES, 2007). Sua forma química trivalente pode reagir com grupos tióis (-SH) de enzimas e proteínas, inibindo atividades biológicas. Já em relação à toxicidade da sua forma pentavalente, pode estar relacionada à substituição do fósforo na formação de adenosina trifosfato (ATP), devido a sua semelhança química com esse elemento (CERVEIRA *et al.*, 2015). Por outro lado, a espécie orgânica do As arsenobetaína (AsB), não é sequer metabolizada pelo organismo humano, não causando qualquer dano ao seu sistema bioquímico. Assim, trabalhos que identifiquem e quantifiquem as espécies de As em amostras alimentícias, especialmente as inorgânicas, e não apenas o teor total desse elemento, faz-se necessário para obter informações sobre segurança alimentar (HUANG; ILGEN; FECHER, 2010).

O Brasil, regulariza a comercialização de frutos do mar através da Resolução RDC nº 487 de 26 de março de 2021, na qual estabelece os Limites Máximos de Tolerância (LMT) para contaminantes inorgânicos, restringindo o teor máximo de As em peixes e crustáceos a 1,0 mg kg⁻¹ ((ANVISA), 2021). No entanto, essa legislação aborda apenas o teor máximo de As total, não abrangendo as espécies químicas de As, o que não garante uma boa confiabilidade quanto a toxicidade de As nesses alimentos.

A Organização para Alimentação e Agricultura (FAO) e a Organização Mundial da Saúde (OMS) recomendam consumo moderado de frutos do mar na faixa de 12 kg per capita ano⁻¹ para minimizar os riscos de contaminação e promover os benefícios máximos do alimento à saúde (DA SILVA *et al.*, 2021). Pesquisas realizadas em crustáceos, como lagosta, camarão e caranguejo, constataram altas concentrações de As e que cerca de 90% deste elemento se

encontra na forma de AsB, espécie não-tóxica. É necessário cerca de 10 000 mg kg⁻¹ de AsB para esta ser considerada letal em ratos, enquanto necessita-se de apenas 4,5 mg kg⁻¹ de As (III) (XIE *et al.*, 2007).

Outro alimento que desperta atenção quanto ao seu nível de As é o arroz. O acúmulo de As nesse grão pode se dar devido a sua forma de cultura, como os alagamentos controlados, às condições geológicas e o uso de insumos agrícolas. Assim como em frutos do mar, também é possível bioacumular espécies de As, podendo-se encontrar concentrações de As pelo menos 10 vezes mais altas no arroz comparado ao trigo e outros cereais (HUANG; ILGEN; FECHER, 2010). Vale ressaltar que ao contrário dos frutos do mar, a maior parte do As encontrado no arroz está nas formas inorgânicas, podendo chegar a 90% do teor total (SUN *et al.*, 2009).

Em se tratando de legislação que regulariza a concentração de As em arroz, a ANVISA estabelece o limite máximo tolerável para esse contaminante no arroz e seus derivados de 300 µg kg⁻¹ ((ANVISA), 2021), contudo, no caso de alimentos à base de cereais para alimentação infantil, o limite é de 0,15 mg kg⁻¹ para arsênio inorgânico. Em 2014, a FAO, em parceria com a OMS, publicou o Codex Alimentarius FAO-OMS que estabelece padrões internacionais de segurança e qualidade alimentar, estabelecendo teor máximo permitido de As no arroz em 200 µg kg⁻¹ (FAO, 2014).

Mesmo com amparo dessas legislações, ainda existe muito a ser discutido a respeito da segurança alimentar desses alimentos. Exemplo disso é que essas legislações ainda não tratam em seus documentos das diferentes formas de As que são encontradas nessas matrizes. Na China, esse aspecto é levado em consideração para arroz, visto que estabelece o limite máximo de As inorgânico tolerável nesse alimento em 200 ng g⁻¹. Alguns dos motivos da distinção de espécies de As não ser levado em consideração por outras instituições pode ser devido à dificuldade de análises de especiação dessas matrizes complexas; escassez de materiais de referência certificado (CRMs) e padrões para as diferentes espécies químicas de um elemento; necessidade de métodos rápidos e de baixo custo e de fácil operação; o analito se apresentar em baixas concentrações na matriz (FRIEDRICH *et al.*, 2014).

O termo especiação tem sido frequentemente utilizado para indicar a identificação e/ou quantificação de espécies químicas¹ de um elemento e sua distribuição em uma amostra (TEMPLETON *et al.*, 2000). Geralmente, a análise de especiação não é simples, uma vez que

¹ Espécie química é definida como a forma específica de um elemento químico quanto a sua composição isotópica, estado de oxidação e/ou estrutura molecular.

técnicas com baixos limites de detecção são necessárias, pois, em geral, as espécies se apresentarem em níveis de concentração muito baixos na matriz. (SCHMIDT *et al.*, 2017). Pode-se afirmar que esse tipo de análise para As ainda é um desafio, devido à complexidade da matriz, principalmente amostras biológicas e, também, devido às baixas concentrações das espécies de As inorgânico em comparação com As orgânico (MOREIRA, C. M. *et al.*, 2013).

Para a realização de estudos de especiação química de As, várias técnicas de separação e detecção têm sido empregadas, dentre elas HPLC-ICP-MS (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência associada à Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado) é a mais comum. Contudo, HPLC-ICP-MS é uma técnica de alto custo e requer analistas altamente capacitados para adequada operação. Dessa forma, estudos recentes têm relatado a utilização de métodos mais simples, como o uso de nanopartículas para análise colorimétrica de As. Além de ser um método de baixo custo quando comparado aos convencionais e se alinhar aos princípios da química verde, tem se mostrado promissor devido sua rapidez e limites de detecção e quantificação adequados.

Mediante o exposto, o presente trabalho tem como objetivo estudar metodologia de síntese de nanopartículas de prata (AgNPs) funcionalizadas em polietileno glicol (PEG₂₀₀) e citrato de sódio, bem como sua aplicação para análise de arsênio inorgânico (iAs) em amostras de arroz e camarão utilizando espectrofotometria molecular na região UV-Vis como técnica de detecção.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Arsênio

Arsênio (As) é um elemento natural da crosta terrestre, distribuído por todo o ambiente e presente no ar, na água e no solo (MEDINA-PIZZALI *et al.*, 2018). Este elemento ocorre na natureza na forma elementar (As (0)) ou em combinação com metais ou outros metaloides, como os sais de arsenito trivalente (As (III)), óxidos (As₂O₃) e na forma pentavalente, arsenato (As (V)), como o gás arsina (AsH₃) e as formas orgânicas: ácido monometilarsônico (MMA (V)), ácido dimetilarsínico (DMA (V)), ácido monometilarsônico (MMA (III)) e ácido dimetilarsinoso (DMA (III)) (COZZOLINO, 2020; XIE *et al.*, 2007). No ambiente aquoso, o As inorgânico aparece comumente nos estados de oxidação III e V como ácido arsenioso (H₃AsO₃), ácido arsênico (H₃AsO₄) e seus sais (BISSSEN; FRIMMEL, 2003a).

Arsênio é constituinte de mais de 245 minerais. As erupções vulcânicas e outros processos naturais correspondem em até cerca de 60% do As liberado no meio ambiente (BISSSEN; FRIMMEL, 2003a; CERVEIRA *et al.*, 2016). Atividades antropogênicas, tais como mineração e fundição de metais, uso de pesticidas, herbicidas, conservantes de madeira, aditivos alimentares contendo As etc., podem também elevar os níveis desse elemento nos ecossistemas (KARAGAS *et al.*, 2019). Com as mais diversas aplicações do As, a produção industrial está em torno de 50 mil toneladas/ano, com a maior contribuição da China e Marrocos (COZZOLINO, 2020).

O consumo de alimentos e água é considerado a principal fonte de exposição ao As, podendo chegar à faixa de 20 a 300 µg As/dia (CERVEIRA *et al.*, 2016). Globalmente, cerca de 70 países são afetados por água potável contaminada com o metaloide, ameaçando mais de 150 milhões de pessoas devido sua toxicidade (KARAGAS *et al.*, 2019).

De uma maneira geral, As é encontrado em diversas matrizes ambientais e também em produtos derivados industrialmente processados. A tabela a seguir mostra resumidamente a relação de algumas espécies do metaloide com alimentos que podem ser fontes significativas de As e que são frequentemente reportadas na literatura.

Quadro 1 - Relação das espécies de arsênio comumente encontradas em alguns alimentos

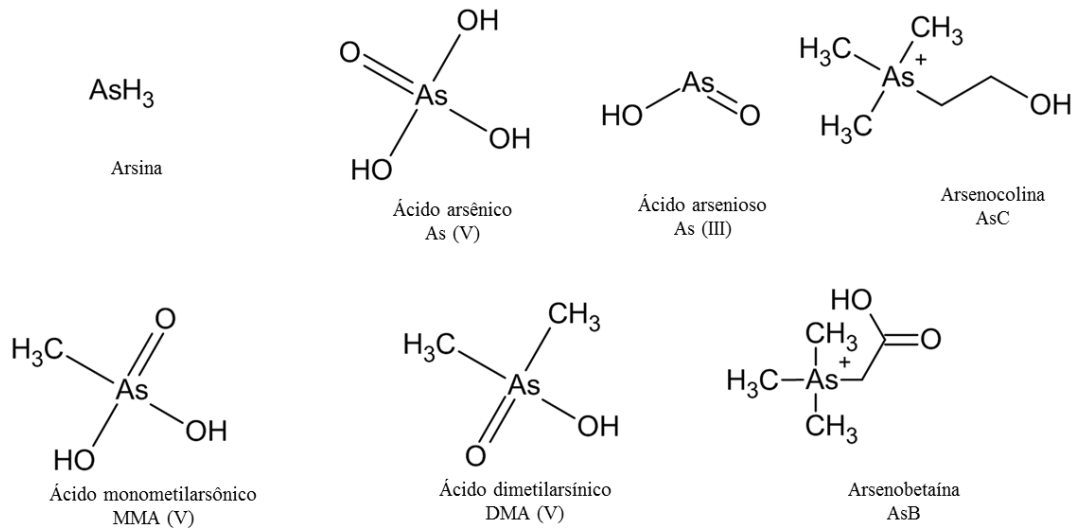
Espécies de As	Matriz onde o As é encontrado
Arsenito (As (III)) e Arsenato (As (V))	Algas marinhas Cogumelos comestíveis Legumes Água potável Arroz Trigo e produtos à base de trigo Animais de origem marinha (especialmente bivalves) Leite, carne e produtos à base destes
Ácido monometilarsínico (MMA (III))	Cogumelos comestíveis
Ácido dimetilarsínico (DMA (III))	Pode ser encontrado em vários organismos, pois é um metabólito derivado de iAs
Ácido monometilarsônico (MMA (V)) e Ácido dimetilarsínico (DMA (V))	Arroz Cogumelos comestíveis Carne animal
Arsenobetaína (AsB)	Animais de origem marinha

Fonte: adaptado de (MEDINA-PIZZALI *et al.*, 2018)

2.2 Metabolismo e toxicidade do arsênio

A toxicidade do As é dependente da sua forma química, sendo As (III) e As (V) as espécies mais tóxicas, seguidos pelo MMA e DMA. Em contrapartida, AsB não é considerada tóxica (SCHMIDT *et al.*, 2017). Na Figura 1 estão apresentadas as estruturas químicas de algumas espécies de As de interesse analítico.

Figura 1 - Algumas espécies de arsênio de interesse analítico.



Fonte: própria do autor

Compostos de As (III) têm uma alta afinidade com os grupos sulfidríla em proteínas e podem causar desativação de enzimas. Enquanto que As (V), devido sua semelhança química com o fósforo, pode competir com grupos fosfatos em processos celulares importantes (BISSEN; FRIMMEL, 2003a). Assim, pesquisas envolvendo essas duas espécies do As são mais comuns, visto suas elevadas toxicidades.

A diferença nos efeitos tóxicos entre as duas formas inorgânicas de arsênio pode ser explicada com base nas taxas de excreção e retenção no organismo, assim como no número de enzimas afetadas. A forma mais oxidada, As (V), é relativamente menos tóxica que a forma trivalente porque sua excreção ocorre mais rapidamente do organismo através da urina. Por outro lado, devido a maior afinidade de As(III) por grupos tióis das proteínas, esta espécie acumula-se no fígado, no músculo, no cabelo, nos ossos, nas unhas, na pele e, em particular, nos leucócitos. Conseqüentemente, sua excreção ocorre de maneira mais lenta, podendo causar maiores danos ao organismo (BISSEN; FRIMMEL, 2003a; COZZOLINO, 2020).

As principais evidências epidemiológicas para avaliação de risco de iAs dietéticos vêm de populações cronicamente expostas a altos níveis de As na água potável em vários países, incluindo o sudoeste de Taiwan, Bangladesh, norte do Chile e Argentina (CUBADDA *et al.*, 2017). Nesses estudos, os principais sintomas descritos devido à intoxicação aguda por As via oral, são: vômito, secura da boca e garganta, câibras musculares, cólicas abdominais,

formigamento nas mãos e nos pés, alucinações, delírio, diarreia, distúrbios circulatórios e fraqueza nervosa (BISSSEN; FRIMMEL, 2003b). Além disso, casos de intoxicação crônica por As também são comuns nesses países, o que tem sido relacionado principalmente ao desenvolvimento de diabetes. Segundo os estudos, o As na forma $\text{As}(\text{OH})_3$ é absorvido pelas células de mamíferos por aquagliceroporinas através do canal de glicerol. Uma vez em contato com organismo, a espécie sofre mudanças em sua estrutura tornando-se um imitador molecular da hexose, inibindo irreversivelmente proteínas transportadoras de glicose podendo produzir os efeitos causadores da diabetes (C. NG, 2005). É importante ressaltar que a intoxicação crônica por As pode envolver sintomas específicos, como fraqueza crônica, perda de reflexos, cansaço, gastrite, colite, anorexia, perda de peso e queda de cabelo (BISSSEN; FRIMMEL, 2003b).

Existem também evidências de impactos negativos no desenvolvimento fetal e infantil e função cognitiva prejudicada em crianças em idade pré-escolar por intoxicação por As. Devido essa problemática, um olhar mais delicado, especialmente nos produtos alimentícios para crianças, tem sido necessário dentro da indústria alimentícia. No entanto, ainda há necessidade de mais dados que apoiem a identificação de relações dose-resposta e tempos críticos de exposição (CUBADDA *et al.*, 2017; MEDINA-PIZZALI *et al.*, 2018).

De uma maneira geral, no corpo humano acontece uma série de reações sucessivas de redução e oxidação, bem como reações de metilação, que transformam o As inorgânico para produzir diferentes metabólitos. A toxicidade de cada metabólito é reflexo de seu estado de valência, que determina sua reatividade, meia-vida e distribuição no corpo (MEDINA-PIZZALI *et al.*, 2018). Em vista disso, espécies de As metiladas como MMA e DMA, podem ser geradas naturalmente em mamíferos e recentemente foram relatados como mais tóxicos em algumas circunstâncias do que algumas espécies de As inorgânico (ANDRAHENNADI; PICKERING, 2008). Já foi reportado também que As inorgânico é principalmente reduzido a As (III), depois convertido em DMA por microalgas de água doce. Os compostos DMA são então transformados em compostos trimetilarsênicos (TMA) em animais aquáticos (SUHENDRAYATNA *et al.*, 2002). Em organismos maiores, o As inorgânico é metilado a ácido monometilarsênico (MMA) e finalmente a ácido dimetilarsínico (DMA) por um doador de metil, S-adenosilmetionina (SAM), catalisado por metiltransferase (Dnmt1) em presença de glutatona (COZZOLINO, 2020). A Dnmt1 é responsável pela manutenção do estado de metilação do DNA em humanos (ZHANG *et al.*, 2015). Possivelmente o potencial carcinogênico do As é devido a interferência nessa rota metabólica (MEDINA-PIZZALI *et al.*, 2018). É importante destacar que o conhecimento desses processos de bioacumulação e

biotransformação tanto no corpo humano como em matrizes ambientais nos ajuda a compreender melhor os mecanismos que estão ligados a sua ocorrência, toxicidade e mobilidade.

2.3 Arsênio em arroz

Segundo os dados da FAO e as estatísticas de produção disponibilizadas pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), a produção mundial de arroz em casca em 2018 foi de 782,0 milhões de toneladas. Cultivado em todos os continentes, destaca-se em primeiro lugar o asiático, com uma produção equivalente a 89,9% da mundial. Nas américas, o arroz reveste-se de grande importância social, econômica e compõe a dieta tradicional, situando o Brasil em 9º lugar, com uma produção correspondente a 1,5% da mundial (EMBRAPA).

Atrelado a grande produção e o consumo mundial do grão, está a preocupação nos padrões de qualidade em termos de segurança alimentar do produto e seus derivados como farinhas, xaropes, cereais, leite de arroz, biscoitos etc., pois a facilidade que a planta tem em acumular espécies tóxicas de As já é bem conhecida (CERVEIRA *et al.*, 2015b). Para se ter uma ideia, só nos últimos 10 anos foram mais de 2700 publicações envolvendo a palavra “arroz e arsênio”, segundo a plataforma SCOPUS.

O grau de bioacumulação de As nas plantas está aparentemente relacionado com a concentração de As solúvel no solo, à composição química do solo e às espécies de plantas (FOWLER; JONES, 2007). Em particular, o arroz cultivado em condições de inundação favorece uma maior solubilidade e absorção de As do solo pela planta. A mobilidade de As no arroz, por exemplo, é mediado por transportadores de silício devido sua semelhança química com o As (KARAGAS *et al.*, 2019). Também devido à semelhança química, o arsenato entra nas células da raiz através de transportadores de fosfato (PUNSHON *et al.*, 2017).

Em outros estudos sobre a mobilidade de As no tecido vegetal, mostrou-se que uma das rotas de entrada para o contaminante na planta é através do tecido que conduz açúcares e produtos metabólicos das folhas, o floema (PUNSHON *et al.*, 2017). O transporte do floema é responsável por cerca de 90% do As (III) descarregado no grão, e por 55% do DMA. Isso pode se dar basicamente porque as espécies orgânicas DMA e MMA são assimiladas pela raiz a uma taxa muito mais lenta do que o As inorgânico (CAREY *et al.*, 2011).

Os estudos sugerem ainda que As inorgânico está concentrado na camada de farelo de arroz enquanto o endosperma contém maiores concentrações de DMA (SUN *et al.*, 2008). Verificou-se também que a concentração de DMA diminui durante o período de enchimento (crescimento) de grãos, enquanto as concentrações de As inorgânico permanecem constante, sugerindo que foi absorvida durante o período de enchimento de grãos (CAREY *et al.*, 2011). Uma vez que As está dentro das células vegetais, começa então um mecanismo de desintoxicação que se inicia com redução de As (V) a As (III) através da enzima arsenato redutase, e é finalizado com o As (III) sendo complexado por fitoquelatinas (peptídeos sintetizados enzimaticamente) e transportado para o vacúolo (estruturas celulares envolvidas por membrana plasmática) via transportadores de ATP (PUNSHON *et al.*, 2017). Com esse potencial da planta para bioacumulação, sabe-se que cerca de 60% da concentração de As no grão é composta das espécies mais tóxicas, As (III) e As (V), enquanto que cerca de 39% está na forma de MMA e DMA (CUBADDA *et al.*, 2017).

Na literatura, muitos trabalhos sobre As em arroz podem ser encontrados, especialmente onde os solos são naturalmente contaminados e/ou onde o consumo deste cereal é elevado. No Brasil, por exemplo, onde o arroz compõe tradicionalmente uma grande parte da dieta, em algumas amostras foram encontradas concentrações de As maiores que $0,3 \text{ mg kg}^{-1}$. Nesses estudos foi possível ainda avaliar que a concentração desse contaminante pode mudar de acordo com a forma de processamento do arroz. Dessa forma, foram encontradas diferentes concentrações de As em arroz branco, branco parboilizado, integral, integral parboilizado, parboilizado orgânico e branco orgânico (SOUZA *et al.*, 2015). Em outro estudo feito com arroz da Arábia Saudita, 37 marcas do grão tiveram concentrações significativas de As com média de $0,202 \text{ mg kg}^{-1}$ (AL-SALEH; ABDULJABBAR, 2017).

Diante do potencial risco à saúde dos consumidores de arroz, as legislações estabelecem limites de teores máximos de As a fim de monitorar os níveis desse elemento no arroz. Assim, a ANVISA, através da Resolução RDC nº 487 de 26 de março de 2021, limita o teor de As em $0,30 \text{ mg kg}^{-1}$ para esse produto alimentício. No entanto, a própria ANVISA reconhece que essa legislação não acompanha o cenário mundial e nem remete o real risco das diferentes espécies do elemento. Em 2020, a ANVISA lançou uma Consulta Pública embasada no Codex Alimentarius salientando que as normativas que fixam limites máximos de As devem se referir ao As inorgânico e não ao teor total do elemento, uma vez que informação científica mais recente tem demonstrado que a fração do As que teria maiores implicações à saúde humana seria o inorgânico. Além disso, na LXIX Reunião Ordinária do Subgrupo de Trabalho nº. 3

(SGT 3) do Mercosul, o Uruguai apresentou propostas visando a atualização da Resolução GMC nº 12, que é a base da resolução Brasileira. Entretanto, essas discussões ainda se encontram em fase de consulta pública (BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE/ANVISA., 2020). Vale ressaltar que a ANVISA já trata dos LMT para As inorgânico em alimentos à base de cereais para alimentação infantil (lactentes e crianças de primeira infância), restringindo sua concentração em $0,15 \text{ mg kg}^{-1}$.

Alguns países determinaram um padrão de qualidade do solo agrícola estabelecendo limites de concentração de As consideradas seguras. No entanto, esses limites diferem um pouco entre os países. A Tailândia é um dos mais rigorosos, recomendando concentração máxima de $3,9 \text{ mg kg}^{-1}$ As, enquanto que nos EUA e Japão os limites são de 20 mg kg^{-1} As e 15 mg kg^{-1} As, respectivamente (PUNSHON *et al.*, 2017).

Dessa forma, espera-se que essas possíveis mudanças tragam mais confiabilidade a respeito da segurança alimentar do arroz e de seus derivados, e que a legislação brasileira tenha um embasamento mais crítico e atualizado quanto às contribuições da comunidade científica.

2.4 Arsênio em camarão

Com o rápido desenvolvimento industrial, a contaminação por As em água do mar costeira tornou-se mais grave nos países em desenvolvimento nos últimos anos e, portanto, resultou em um maior nível de As em frutos do mar, pois esses organismos têm facilidade em bioacumular esse elemento em diferentes formas, sejam elas orgânicas ou inorgânicas (LIN *et al.*, 2020). Devido a habilidade de acumular metais e metaloides, os frutos do mar são chamados de biomonitores, e inúmeras investigações foram realizadas em todo o mundo sobre o processo de bioacumulação e o potencial risco à saúde das pessoas que se alimentam dessas fontes (CHAN *et al.*, 2021).

Em estudos pioneiros, verificou-se que temperatura, salinidade, concentração de As dissolvido e tamanho do animal têm influência significativa para a bioacumulação de As em frutos do mar, incluindo camarão. No mesmo trabalho, constatou-se também que o acúmulo de iAs da água pelo camarão parece ser um processo lento (FOWLER, 1978). Recentemente, reportou-se que sexo, idade do animal, estilo de vida, hábitos alimentares, condições fisiológicas, e fatores abióticos, ou seja, pH e oxigênio dissolvido também influenciam nesse processo (LEBEPE *et al.*, 2020).

Existe uma certa dificuldade em relacionar a bioacumulação de As pelo camarão com seus hábitos alimentares devido à falta de informações sobre a forma como os animais

percebem, capturam, ingerem e assimilam o alimento (BARROS; C. VALENTI, 1997). Os dados até então conhecidos são basicamente de estudos em animais de cativeiro, e isso pode tornar os resultados tendenciosos. No entanto, as pesquisas sugerem que o crustáceo se alimenta principalmente de fitoplânctons. Além disso, estudos anatômicos indicam que o camarão pode ser um pastor eficaz, podendo sua dieta basear-se também na vegetação marinha. (LEE; OMORI; PECK, 1992).

Em algas, os níveis de As são geralmente cerca de 1.000 a 10.000 vezes maior do que na água do mar com níveis variando entre espécies de algas. Uma vez que o camarão está em equilíbrio no ambiente constituídos por bactérias (que também bioacumulam As), algas e água contaminada, a acumulação de diferentes espécies do metaloide se perpetua ao longo da cadeia alimentar (BORAK; HOSGOOD, 2007). Após a ingestão e absorção, o iAs é transformado por uma série de etapas metabólicas envolvendo a redução sequencial de espécies pentavalentes de As para suas formas trivalentes correspondentes, seguida pela adição oxidativa de um grupo metil (HUGHES; KENYON, 1998). O principal objetivo desse mecanismo é transformar as espécies inorgânicas, que são mais tóxicas, em compostos menos tóxicos (TAYLOR *et al.*, 2017).

Ao contrário do que se espera, o nível de As se distribui de forma variada no corpo do animal, de maneira que compostos inorgânicos e DMA são encontrados quase exclusivamente nas vísceras (estômago; intestinos; fígado; coração; brânquias), enquanto o conteúdo de As do músculo constitui-se praticamente (cerca de 90%) de AsB (BORAK; HOSGOOD, 2007). Essa maior quantidade de As orgânico comparado ao iAs se deve basicamente porque, diferentemente das plantas que podem absorver quantidades substanciais de iAs em suas porções comestíveis, os animais metabolizam e excretam o excesso de iAs e, portanto, alimentos de origem animal geralmente não incorporam grandes quantidades de iAs (CUBADDA *et al.*, 2017).

De forma geral, já foi demonstrado que os frutos do mar podem conter entre 1,0 e 100 mg kg⁻¹ de As (FOWLER, 1978). O camarão, por exemplo, já foi reportado teores de As de 4,84 mg kg⁻¹ (DA SILVA *et al.*, 2019); 7,4 ± 0,2 mg kg⁻¹ (YANG *et al.*, 2009) e entre 17,13 e 29,25 mg kg⁻¹ (KAYA; TURKOGLU, 2017). Vale ressaltar que cada uma das matrizes de interesse analítico apresenta suas particularidades quanto ao teor de diferentes espécies de As.

Resultados preocupantes também foram encontrados em análises feitas após o rompimento da barragem Samarco da cidade mineira de Mariana. No relatório feito pelo

Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), foram relatadas concentrações de As total em camarão que variam de 19,3 a 51,4 mg kg⁻¹ (BIANCHINI, 2016).

O monitoramento do contaminante nessa matriz, em especial o camarão, se torna de extrema importância para a indústria, pois o Brasil é um grande produtor e consumidor do crustáceo, seja de cativeiro ou de origem selvagem, devido seu elevado teor nutricional. Para se ter uma ideia, segundo a Associação Brasileira de Criadores de Camarão (ABCC), o Brasil produziu 112 mil toneladas de camarão em 2020 e 90 mil toneladas em 2019. Os destaques ficaram com os Estados do Rio Grande do Norte e Ceará, com 34,8% e 33,2%, respectivamente, do volume total nacional segundo os dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE).

Embora nos frutos do mar seja relatado baixas concentrações das espécies inorgânicas de As, espécies mais tóxicas, o trabalho de especiação química se torna importante nesse tipo de alimento devido a essas espécies apresentarem alta toxicidade mesmo em baixos níveis.

A ANVISA, através da Resolução RDC nº 487 de 26 de março de 2021, estabelece os limites de tolerância de As em alimentos. Para crustáceos, esse limite é de 1,00 mg kg⁻¹. No entanto, essa legislação não leva em consideração a análise de especiação química, não remetendo o real risco que o teor de diferentes espécies de As pode causar aos consumidores. Dessa forma, o monitoramento das diferentes formas em que o As se apresenta nessa matriz é uma maneira de contornar tal problemática e garantir a segurança alimentar dos consumidores.

2.5 Métodos não-cromatográficos de análise química

Diversas espécies e técnicas de detecção de As vem sendo estudadas, especialmente em matrizes biológicas (KOLYA; HASHITSUME; KANG, 2021). Como as técnicas de detecção disponíveis ainda não conseguem quantificar diretamente as diferentes formas químicas de um elemento em baixas concentrações, isso exige uma etapa de separação previamente à detecção. No caso das espécies de As, cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, do inglês High Pressure Liquid Chromatography) é o método de separação mais utilizado. Devido à baixa concentração das espécies químicas de As, HPLC é comumente hifenado com Espectrometria de Massa com Plasma Acoplado Indutivamente (HPLC-ICP-MS) na análise de especiação química. Deve-se salientar que apesar do HPLC-ICP-MS ser capaz de proporcionar a análise de diversas espécies de As, por outro lado é uma técnica de custo elevado

e de difícil operação, o que torna pouco viável sua utilização em laboratórios de rotina. Além disso, na etapa de separação cromatográfica das espécies químicas, pode ocorrer sobreposição de picos de espécies químicas de As que talvez não tenham ainda sido identificadas, tornando a comparação dos tempos de retenção das espécies da amostra com as de padrões um método não muito confiável (COLLINS; BRAGA; PIERINA, 1997). Outra desvantagem da separação cromatográfica é a necessidade de elevados volumes de solventes orgânicos, além do longo caminho analítico que dilui o analito podendo comprometer sua detecção.

Contudo, como as espécies mais tóxicas de As são as inorgânicas, para o monitoramento de segurança alimentar, por exemplo, a análise apenas dessas espécies é o suficiente. Dessa maneira, estudos vêm sendo realizados para o desenvolvimento de métodos mais simples, que analisam apenas as espécies mais tóxicas de As (As inorgânico), que dispensam a etapa de separação cromatográfica e empregam métodos de detecção mais simples e de menor custo comparado à HPLC-ICP-MS (KOLYA; HASHITSUME; KANG, 2021). Isso torna mais viável a implementação da análise de As inorgânico em laboratórios de rotina (COLLINS; BRAGA; PIERINA, 1997).

A exemplo disso tem-se a geração de hidretos associada à espectrometria de absorção atômica (HG-AAS) que é comumente utilizada na especiação de As inorgânico em diferentes matrizes alimentícias (CERVEIRA *et al.*, 2015b; XIE *et al.*, 2007). É uma técnica que se baseia na transformação das espécies de As presentes na amostra para uma forma mais volátil, a arsina (AsH_3), através de um redutor forte como o borohidreto de sódio estabilizado com hidróxido de sódio. Tal reação é fortemente dependente do pH do meio, dessa forma é comumente utilizado ácido clorídrico para deixar o meio favorável à reação. Com essa técnica é possível obter resultados semelhantes aos obtidos por cromatografia como o reportado por Musil *et al.*, (2014) quando utilizou a HG em amostras de urina.

Mesmo com essas vantagens, a geração de hidretos pode apresentar algumas problemáticas, pois a análise é morosa, requer um volume grande de reagentes, bem como o reagente borohidreto de sódio tem custo elevado e é instável, sua solução deve ser preparada pouco antes da análise. Ainda, a vida útil da tubulação utilizada para carrear a arsina ao atomizador não é muito longa devido à mistura reacional (MUSIL; RAAB; KRUPP, 2014).

Diante disso, métodos cada vez mais rápidos, reprodutíveis, econômicos, com bons limites de quantificação e detecção e que atenda aos princípios da química verde tem sido estudados para identificação, quantificação e monitoramento de As em matrizes alimentícias e ambientais. Dessa forma, estudos recentes têm mostrado que a nanotecnologia é promissora

para o desenvolvimento de análise de especiação elementar, uma vez que é possível utilizá-la desde a etapa de preparo de amostra até a quantificação da espécie de As (RATNARATHORN; CHAILAPAKUL; DUNGCHAI, 2015; SANGAONKAR *et al.*, 2020).

2.6 O desenvolvimento da nanotecnologia

A primeira menção à nanotecnologia é creditada a Richard Feynman quando, numa clássica palestra que ministrou em 29 de dezembro de 1959 na reunião anual da *American Physical Society* no *California Institute of Technology* (Caltech), falou sobre as possibilidades da manipulação da matéria numa escala atômica.

Intitulada de “*There is Plenty of Room at the Bottom*”, a palestra levantou questões importantes sobre as novas possibilidades da ciência. Feynman descreve esse novo campo como diferente dos até então conhecidos pela física clássica, no entanto assemelha-se com a física do estado sólido. O cientista comenta ainda que se pode esperar “fenômenos estranhos” nessas situações complexas.

O palestrante discutiu que, mesmo sendo numa escala muito pequena, as células carregam diversas informações e realizam atividades específicas no corpo humano. A possibilidade de se fazer o mesmo com átomos o instigou a acreditar em um avanço tecnológico a partir da miniaturização desse tipo de informação.

O ápice de sua palestra é quando Feynman pergunta à plateia “Por que não podemos escrever os 24 volumes inteiros da Enciclopédia Britânica na cabeça de um alfinete?”. Mais tarde suas indagações se tornariam realidade revolucionando a área da informática, física, química etc.

Hoje sabe-se que os materiais numa escala nanométrica podem adquirir propriedades diferentes daquelas observadas numa escala macro e que a nanotecnologia é muito mais do que diminuir o tamanho - ela é, sobretudo, explorar os fenômenos e as propriedades que a matéria apresenta na nanoescala (FILGUEIRAS, 2008). Por exemplo, um metal condutor de eletricidade pode se tornar um isolante, ou ainda um material magnético pode deixar de se comportar como um ímã. Esses materiais podem ainda ter suas propriedades como cor, dureza e reatividade alteradas. Dessa forma, a nanotecnologia busca se aproveitar destas novas propriedades que surgem na escala nanométrica para desenvolver produtos e dispositivos para diferentes tipos de aplicações tecnológicas (MELO; PIMENTA, 2004), tais como: produção, armazenagem e conversão de energia; aumento da produtividade agrícola; remediação e tratamento da água; mapeamento e diagnóstico de doenças; sistemas para liberação de drogas; armazenagem

e processamento de alimentos; controle e remediação dos efeitos da poluição do ar; detecção e controle de pragas e seus vetores (TOMA, 2005). Assim, a nanotecnologia pode ser definida como a habilidade de manipular átomos e moléculas individualmente para produzir materiais nanoestruturados e micro objetos com aplicações práticas (Miller, 2005). Ou ainda, aplicação do conhecimento científico para medir, criar, padronizar, manipular, utilizar ou incorporar materiais e componentes em “nanoescala” (RAMSDEN, 2016).

Devido às propriedades únicas adquiridas por esses materiais em escala nanométrica, sua utilização ganhou destaque na química analítica passando a ser aplicados em diferentes etapas do processo analítico, incluindo amostragem e preparo de amostra, separação e detecção de analitos (BÜYÜKTIRYAKI1; KEÇILI; HUSSAIN, 2020).

2.7 Nanopartículas na química analítica

Com tamanhos variando entre 1 e 100 nm em uma de suas dimensões, nanopartículas têm sido usadas para melhorar as aplicações inovadoras na preparação de amostras, separação e detecção de analitos em química analítica uma vez que suas propriedades podem garantir estabilidade e seletividade em análises químicas devido sua versatilidade de interação com outros materiais através de ligações de hidrogênio, forças de dispersão e interações hidrofóbicas (BÜYÜKTIRYAKI1; KEÇILI; HUSSAIN, 2020).

A nanotecnologia também tem sido aplicada como uma forma de monitoramento e remediação química de poluentes ambientais utilizando nanosensores ópticos (YADAV *et al.*, 2021). Além de serem altamente confiáveis, podem identificar concentrações de poluentes em nível ultra traço e aumentar a resposta do sinal analítico, sendo muitas vezes métodos mais baratos e reprodutíveis do que os convencionais (YADAV *et al.*, 2021; ZHANG *et al.*, 2019).

Tratando-se de técnicas de identificação de As em amostras reais, os nanosensores podem ser uma alternativa aos métodos baseados em espectroscopia atômica como espectrometria de absorção atômica (AAS), espectrometria de fluorescência atômica (AFS), espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) e espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) (ZHANG *et al.*, 2019).

Aplicações com essa finalidade já são conhecidas na literatura. Em um desses trabalhos (MOGHIMI; MOHAPATRA; LEUNG, 2015), cientistas estudaram nanopartículas bimetalicas de FePt, FeAu, FePd e AuPt depositadas eletroquimicamente no substrato de Si, onde suas propriedades eletroquímicas são estudadas para detecção de As (III) através de voltametria

de stripping anódica. Nesse estudo, as nanopartículas de FePt apresentaram limites de detecção de 1,2 ppb e sensibilidade de $1,23 \mu\text{A ppb}^{-1}$ em amostras de água potável.

Em outro trabalho (MORITA; KANEKO, 2006) um método sensível para a determinação em níveis de ppb (Limite de detecção = $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$) de As em água foi desenvolvido usando nanopartículas de violeta de etila com um complexo de tetracloreto de isopolimolibdato-iodo, que fornece uma sonda sensível para molibdoarsenato. O estudo ganha destaque porque a cor da solução muda conforme a concentração de arsênio.

Nesse cenário de análise química é comum a síntese de nanopartículas utilizando a prata (Ag) e o ouro (Au), no entanto nanopartículas de Ag são mais frequentemente empregadas devido ao seu baixo custo, alta constante dielétrica, estabilidade térmica e boa condutividade (DAOUDI *et al.*, 2021; FECHINE, 2020). Além disso, as nanopartículas de Ag podem ser facilmente funcionalizadas para prevenir a oxidação superficial, o que aumenta sua estabilidade e amplia a sua aplicabilidade como sensores (XAVIER *et al.*, 2014).

Uma vez que as nanopartículas se agregam devido às forças de interações com íons de metais e metaloides, pode ocorrer a mudança da cor original das nanopartículas. Esta mudança de cor é o princípio básico da detecção colorimétrica desses íons (BORUAH; DAIMARI; BISWAS, 2019) e tem sido proposto na literatura como um método de baixo custo e rápido na identificação de contaminantes como Hg (II) (SANGAONKAR *et al.*, 2020), As (III) (BORUAH; DAIMARI; BISWAS, 2019) e Pb (II) (RATNARATHORN; CHAILAPAKUL; DUNGCHAI, 2015).

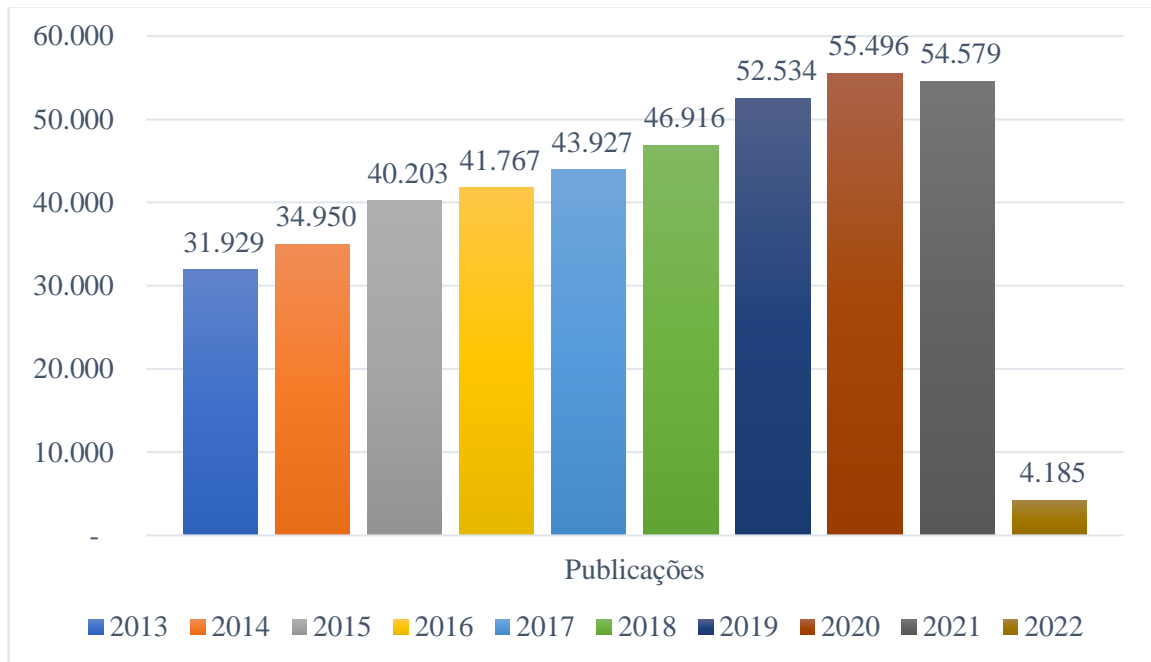
2.8 Nanopartículas de prata (AgNPs)

A síntese de nanopartículas a partir de metais nobres tem sido objeto de estudo nas últimas décadas. A versatilidade que esses materiais apresentam, bem como a facilidade de manipular suas propriedades específicas por meio de pequenas alterações, levou a um grande movimento na exploração de pesquisas de nanopartículas, aumentando a sua aplicação em diversas áreas (ARVIZO *et al.*, 2012).

Para se ter uma ideia, de acordo com a plataforma SCOPUS, nos últimos dez anos (2013 - fevereiro de 2022) cerca de 297 periódicos foram publicados quando se busca pelas palavras “especificação química e nanopartículas”. Esse número sobe para mais de 558.790 quando se busca somente pela palavra “nanopartículas”. Percebe-se um crescente interesse na área nos últimos anos. Pois, enquanto que em 2013 teve-se um total de quase 32.000

publicações, em 2020 esse índice alcançou 55.496. Esses dados podem ser consultados na Figura 2.

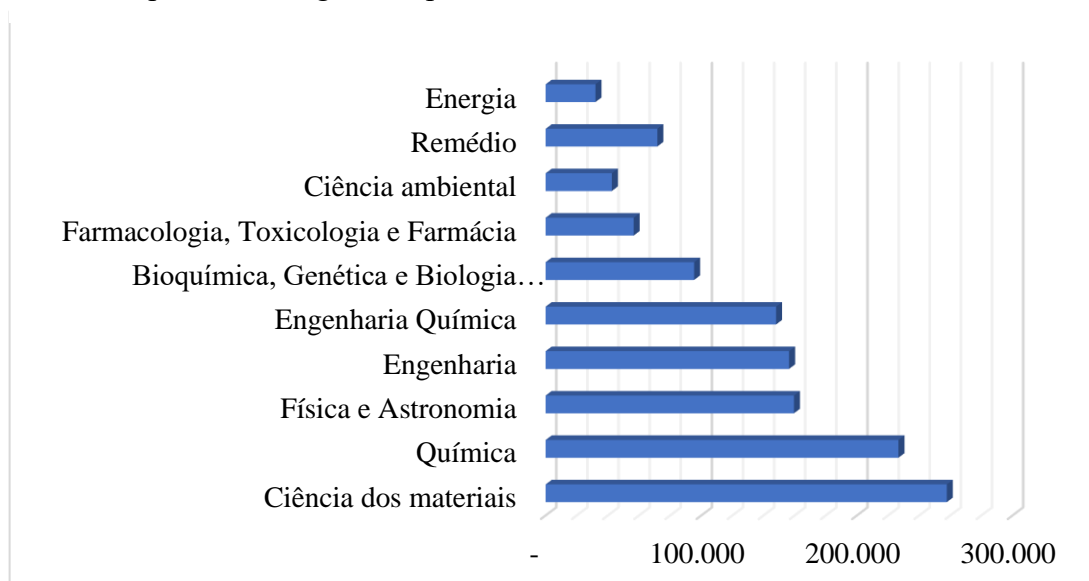
Figura 2 - Periódicos publicados nos últimos 10 anos sobre nanopartículas segundo a plataforma SCOPUS



Fonte: própria do autor

Os periódicos se dividem em diversas áreas de concentração, ganhando destaque nos últimos 10 anos a Ciência de materiais (257.742), Química (226.639), Física e Astronomia (159.545), Engenharia (156.425) e Engenharia química (148.043) conforme pode ser consultado na Figura 3.

Figura 3 - Total de periódicos publicados por área de concentração nos últimos 10 anos sobre nanopartículas, segundo a plataforma SCOPUS.



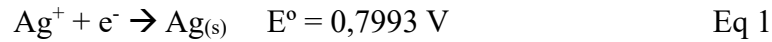
Fonte: própria do autor

Dentre os metais nobres, Ag, Au e Pt tem sido os mais reportados para a produção de nanopartículas nessas diversas áreas de interesse, tendo a Ag destaque quanto ao custo de produção e suas propriedades ópticas e antibacterianas (ARVIZO *et al.*, 2012; DAOUDI *et al.*, 2021).

As propriedades químicas e físicas, assim como o tamanho e a morfologia das AgNPs, são fortemente influenciadas pelas condições experimentais (FECHINE, 2020). Em se tratando das AgNPs, elas são mais comumente sintetizadas via redução química, no qual é possível utilizar um redutor forte como o NaBH_4 . No entanto, esse tipo de redutor produz nanopartículas com tamanhos de difícil controle. Dessa forma, o uso de redutores fracos como o citrato é preferível, uma vez que a redução ocorre mais lentamente e partículas mais polidispersas são obtidas (ARVIZO *et al.*, 2012; FECHINE, 2020).

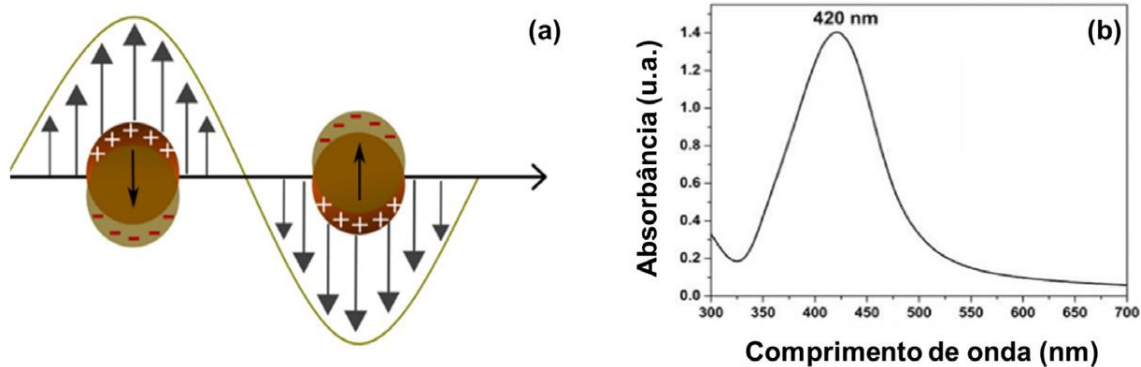
Com objetivo de evitar agregação das AgNPs, é empregado agentes estabilizadores. Esses agentes aumentam a estabilidade das AgNPs por meio de um capeamento em sua superfície. Exemplos desses estabilizantes são polissacarídeos, polímeros etc. (FECHINE, 2020). Essa estabilização ocorre de maneira eletrostática na superfície do material. No caso do PEG (Polietilenoglicol), os grupos terminais -H e -OH interagem com os íons de metais e metaloides de maneira perpendicular à superfície das nanopartículas (BORUAH; DAIMARI; BISWAS, 2019).

Uma vez que o potencial padrão de redução (E°) da Ag é baixo (Equação 1), é necessária uma temperatura próxima à temperatura de ebulição da água para a formação das AgNPs, sendo a redução evidenciada pela mudança da coloração da solução do incolor para o amarelo, após a adição do agente redutor.



Essa cor característica da solução é proveniente de um fenômeno chamado ressonância plasmônica de superfície (“surface plasmon resonance”, SPR). Sendo definida como ondas que se propagam ao longo da superfície de um condutor. Estas ondas se prendem à superfície do condutor devido interações com seus elétrons livres. Nesta interação, esses elétrons respondem coletivamente, oscilando em ressonância com a onda de luz (BARNES; DEREUX; EBBESEN, 2003). Quando as nanopartículas metálicas são expostas à luz, essa nuvem eletrônica é deslocada coerentemente de sua posição de equilíbrio, dando origem a cargas positivas. Uma vez que isso ocorre, devido ao ambiente positivo do núcleo atômico, uma separação de cargas acontece. Dessa forma, surge uma força restauradora que puxa os elétrons de volta, dando origem a banda plasmônica com máximo de absorbância, no caso das AgNPs, em aproximadamente 420 nm do espectro UV-Vis, conforme mostrado na Figura 4 (AMENDOLA *et al.*, 2017).

Figura 4 - (a) Superfície plasmônica de ressonância em nanopartículas metálicas; (b) banda plasmônica observada em AgNPs.



Fonte: (FECHINE, 2020)

2.9 Espectrofotometria de absorção molecular na região do UV-Vis

A espectrofotometria de absorção molecular na região ultravioleta e visível é a técnica baseada na atenuação da medição da radiação eletromagnética por uma substância absorvente (BRIAN M., 2012). A absorção dessa radiação por essas substâncias acontece na

faixa de comprimento de onda entre 180 e 780 nm e resulta das interações entre fótons e elétrons que estão participando diretamente da formação de uma ligação química (SKOOG *et al.*, 2017).

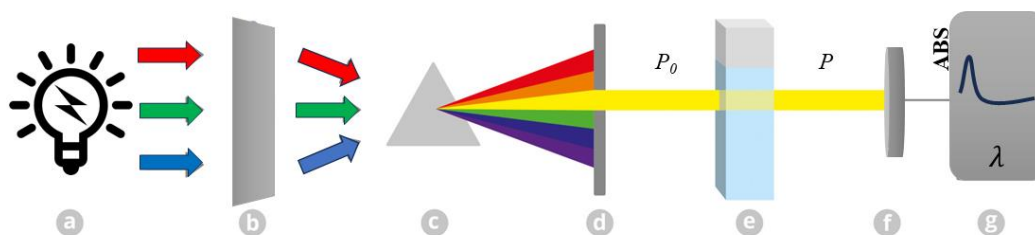
A absorção de luz depende de alguns fatores tais como a concentração do analito e a largura da cubeta ou caminho óptico. Quanto maior for a concentração do analito e o caminho óptico, maior a quantidade de luz absorvida pela amostra, em outras palavras maior a “barreira” que a luz deverá atravessar.

Assim, relacionando a quantidade de luz absorvida com o comprimento de onda, pode-se obter tanto as informações qualitativas como quantitativas sobre o analito, uma vez que cada espécie molecular é capaz de absorver suas próprias frequências características da radiação eletromagnética (SKOOG *et al.*, 2017).

Essa técnica é utilizada principalmente para análises quantitativas e é provavelmente aplicada nos laboratórios químicos e clínicos ao redor do mundo mais que qualquer outro método, além de ser uma das técnicas analíticas de caracterização mais utilizada devido ao seu baixo custo e fácil operação (BRIAN M., 2012; SKOOG *et al.*, 2017).

A Figura 5 mostra o esquema de como acontece a interação da luz com a matéria em uma análise química utilizando espectrofotometria de absorção molecular na região do UV-Vis. A radiação que incide na amostra (P_0) é sempre maior que a que chega ao detector (P), pois uma parte dela foi absorvida pela amostra. Dessa forma, à medida que a concentração do analito aumenta, a absorção da luz aumenta na mesma intensidade. Assim, é possível relacionar a quantidade de luz absorvida com a concentração do analito. Isso é feito através da lei de Lambert-Beer interpretada pela equação: $A = a.b.c$. Onde “A” é absorvância, “a” é a absortividade molar, “b” o caminho óptico percorrido pela luz na cubeta, e “c” a concentração das espécies absorventes (BEATY; KERBER, 1993).

Figura 5 - Esquema de um espectrofotômetro UV-Vis. (a) fonte de luz, (b) colimador, (c) prisma ou rede de difração, (d) fenda seletora (e) cubeta contendo a amostra, (f) detector, (g) leitor.



Fonte: Própria do autor

3 OBJETIVO

3.1 Objetivo geral

Desenvolver método de análise de arsênio inorgânico em amostras de camarão e arroz por espectrofotometria de absorção molecular na região do UV-Vis utilizando nanopartículas de prata como nanosensores químicos.

3.2 Objetivos específicos

- Estudar metodologia para a síntese de nanopartículas de prata (AgNPs) funcionalizadas com polietileno glicol (PEG₂₀₀) e citrato de sódio;
- Caracterizar as AgNPs sintetizadas;
- Estudar as condições experimentais para a utilização das AgNPs para análise de arsênio inorgânico (iAs) em amostras de arroz e frutos do mar utilizando espectrofotometria de absorção molecular na região do UV-VIS;
- Determinar as figuras de mérito do método de análise desenvolvido;
- Aplicar o método analítico proposto para análise de iAs em amostras de camarão e arroz

4 METODOLOGIA

4.1 Amostras e reagentes

Amostras frescas de camarão selvagem (*Farfantepenaeus brasiliensis*) foram obtidas no comércio de Fortaleza-Ce em janeiro de 2019. As amostras foram armazenadas em sacos plástico e congeladas à -4°C até o momento da análise. Para secagem, as amostras foram congeladas em nitrogênio líquido e secas em liofilizador modelo Liobras L 108 (São Carlos, SP, Brasil). A moagem foi realizada usando moedor de café equipado com lâminas de aço inoxidável e as amostras armazenadas em tubos Falcon devidamente descontaminados. A fim de evitar contaminação da amostra proveniente do equipamento, uma pequena porção da amostra de camarão foi moída e descartada antes da moagem da amostra a ser utilizada para análise.

As amostras de arroz foram gentilmente fornecidas pelo professor Abdullah A. Akhdhar da Universidade de Jeddah (Arábia Saudita) em sacos plásticos hermeticamente fechados. Em seguida, elas foram moídas em liquidificador e macerada usando almofariz e pistilo. Vale ressaltar que, assim como na etapa de moagem do camarão, procedeu-se com uma etapa prévia de moagem com uma subamostra de sacrifício com o mesmo objetivo de evitar contaminação.

Para verificar a veracidade das análises de As total e As inorgânico nas amostras de arroz, material de referência de arroz integral (CRM-Agro C1001a) e material de referência certificado de farinha de arroz (SRM 1568b-NIST) foram utilizados. Já para as amostras de camarão, a veracidade foi testada a partir da comparação de análises feitas por outros trabalhos já publicados e desenvolvidos pelo nosso grupo de pesquisa quando se utilizou de outras técnicas.

Todas as soluções foram preparadas usando água ultrapura ($18.2\text{ M}\Omega\text{ cm}$ de resistividade) obtida de um sistema de purificação Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, USA). Toda a vidraria utilizada nos experimentos foram descontaminados em banho de ácido nítrico (HNO_3) 10 % v v⁻¹ por 24h, e enxaguados com água ultrapura.

Solução de concentração 1000 mg L^{-1} As (Acros Organics, Belgium), arsenito de sódio (As(III)) > 95% m m⁻¹ (Sigma Aldrich, Germany) e arsenato de potássio monobásico (As(V)) > 90% m m⁻¹ (Sigma Aldrich, Germany) foram usadas para preparar as soluções padrão de As. Ácido nítrico (Vetec) 2% m m⁻¹ foi utilizado para a extração de iAs das amostras de arroz e camarão.

Nitrato de prata (Sigma Aldrich, Germany), polietilínoglicol (PEG₂₀₀) (Sigma Aldrich) e citrato de sódio (Sigma Aldrich, Germany) foram utilizados para sintetizar as nanopartículas.

4.2 Instrumentação

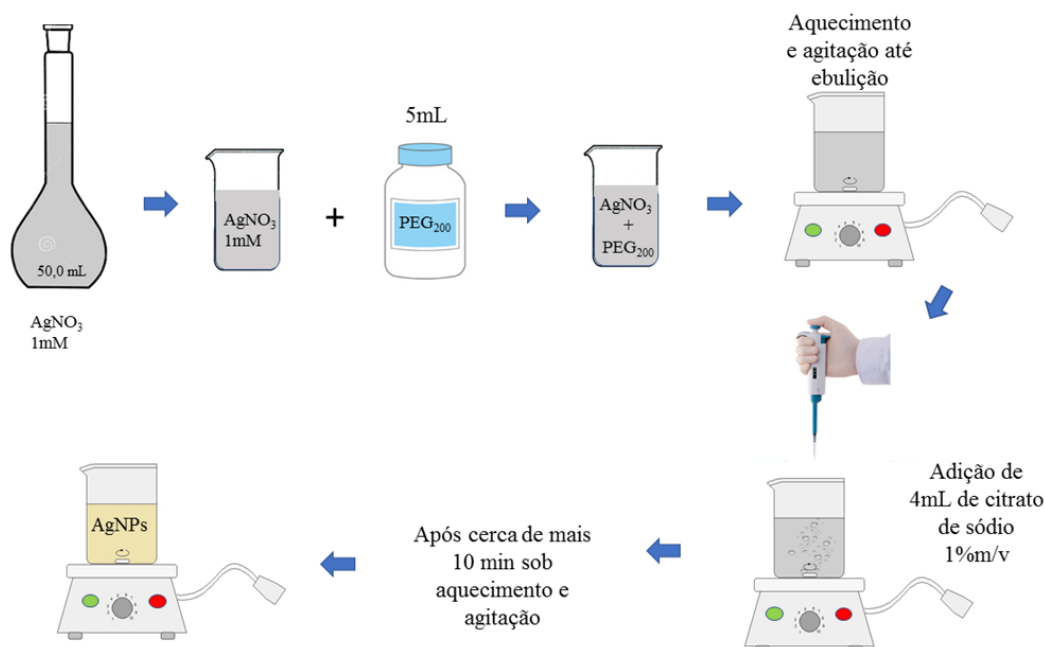
Bloco digestor Tecnal TE-007D (Piracicaba, São Paulo, Brazil) foi utilizado para solubilização da amostra de arroz para determinação de As total e extração das espécies inorgânicas de As das amostras de arroz e camarão. Chapa aquecedora foi empregada para aquecimento e agitação durante a síntese das AgNPs.

Espectrofotômetro de absorção molecular UV-Vis, Shimadzu UV-2600 (China), equipado com Lâmpada de Deutério (160-380 nm) e Lâmpada de halogênio 50 w (380-780 nm) e cubeta de quartzo de 1,0 cm de caminho óptico foram utilizados para as medidas das amostras numa faixa de comprimento de onda de 250 a 650 nm. Potencial Zeta (ζ) e espalhamento dinâmico de luz (DLS) das AgNPs em solução coloidal foi mensurado usando um Malvern Zetasizer NS 3601 a 25 °C.

4.3 Síntese das nanopartículas de prata

A metodologia de síntese das AgNPs representada na Figura 6 foi baseada no trabalho de Boruah e colaboradores (BORUAH; DAIMARI; BISWAS, 2019). Pesou-se aproximadamente 8,0 mg de AgNO₃ que foi diluída para 50 mL em balão volumétrico. Posteriormente, a essa solução foi adicionado 5,0 mL de PEG₂₀₀ e essa mistura foi submetida à aquecimento e agitação em béquer até ebulição. Posteriormente, ainda em aquecimento e agitação, adicionou-se 4 mL de uma solução citrato de sódio 1% m v⁻¹, sendo finalizado o processo com a mudança de cor da solução de incolor para amarelo claro. A solução foi então deixada em repouso até atingir temperatura ambiente. O pH da solução foi verificado sendo 5,5 o pH original, tendo boa estabilização da cor.

Figura 6 - Representação esquemática da síntese das AgNPs



Fonte: própria do autor

4.4 Preparo de amostra para determinação de As total

Para solubilizar as amostras de arroz, pesou-se aproximadamente 250 mg de amostra em tubos de Teflon® de 50 mL com tampa e adicionou-se 5,0 mL HNO_3 65% m/m. A mistura foi então levada para aquecimento em bloco digestor a 120 °C por 3h. A solução foi filtrada em filtro de resina de celulose (0,45 μm) e o volume ajustado com água ultrapura para 15 mL em tubo falcon. O teor de As foi quantificado pelo método proposto neste trabalho e os resultados foram comparados com os obtidos pelo nosso grupo de pesquisa quando se utilizou ICP-MS como técnica de detecção.

4.5 Extração de As inorgânico

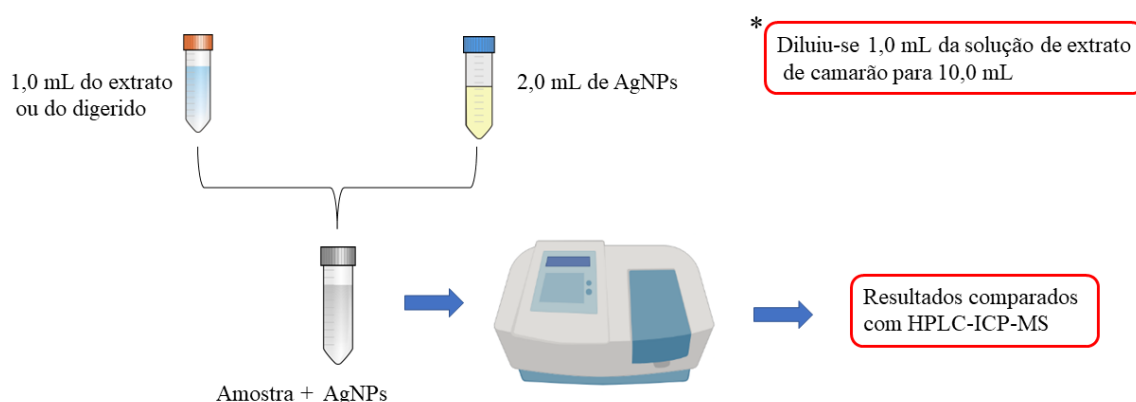
O preparo de amostra para extração das espécies inorgânicas de As foi baseado no trabalho de Da Silva *et al.*, (2021). Cerca de 250 mg de amostra de camarão e de arroz foram pesados e levados para tubo de vidro boro silicato de 75 mL. Em seguida, a esse tubo adicionou-se 10 mL de HNO_3 2% v v⁻¹. A mistura foi então aquecida em um bloco digestor por 1 h a 90

°C. Após essa etapa, o extrato foi diluído para 20 mL com água ultrapura e filtrado em filtro de resina de celulose (0,45 μm).

4.6 Aplicação das AgNPs como plataforma de sensoriamento na análise de As inorgânico

Para análise de iAs pela metodologia proposta neste trabalho, 1,0 mL do extrato ou do digerido das amostras de arroz foi adicionado à 2,0 mL de AgNPs em tubos falcon, transferidos para cubeta de quartzo e analisados. Para as amostras de camarão, devido à coloração alaranjada das soluções, foi necessário diluir 10 vezes antes de misturar com as AgNPs. A medida de absorbância foi realizada na mistura amostra mais AgNPs por espectrofotometria molecular na região do UV-Vis na faixa de comprimento de onda de 250-650 nm. A Figura 7 representa o esquema da análise de iAs. Os resultados obtidos para as amostras de arroz e camarão foram comparados com os resultados obtidos por HPLC-ICP-MS das mesmas amostras em trabalhos anteriores do nosso grupo de pesquisa.

Figura 7 - Metodologia de aplicação das AgNPs como plataforma de sensoriamento de As inorgânico em amostras reais



Fonte: própria do autor

4.7 Avaliação das figuras de mérito

Para verificar a veracidade dos resultados de concentração de As, material de referência de arroz (CRM-Agro C1001a) e material de referência certificado de farinha de arroz (SRM 1568b-NIST) foram analisados pelo método proposto no presente trabalho. Para avaliar

a veracidade dos resultados de As inorgânico, utilizou-se a comparação com HPLC-ICP-MS e o método proposto por Da Silva *et al.*, (2021). Determinou-se também os limites de quantificação e detecção, linearidade, precisão e seletividade do método utilizando testes estatísticos.

Para a construção da curva de calibração, soluções de As (III) foram preparadas a partir de uma solução padrão 1000 mg L^{-1} As (III). A concentração dessas soluções variou na faixa de $1,0$ a $15 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ e suas absorbâncias foram medidas por espectrofotometria de absorção molecular na região do UV-Vis nos comprimentos de onda de 412 e 600 nm .

4.7.1 Análise de contaminantes

A fim de verificar a seletividade das AgNPs para identificação de As, realizou-se análise de As pelo método proposto na presença de possíveis contaminantes. Para isso, preparou-se soluções padrão de Al, Cd, Zn, Fe, Se e Mn, espécies comumente encontradas em matrizes biológicas. Em seguida, adicionou-se separadamente $10 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ das soluções de cada espécie à $2,0 \text{ mL}$ de AgNPs. Essa solução foi levada para a cubeta e analisada por espectrofotometria UV-VIS na faixa de 250 a 650 nm , onde o comportamento das curvas de varredura foram comparadas.

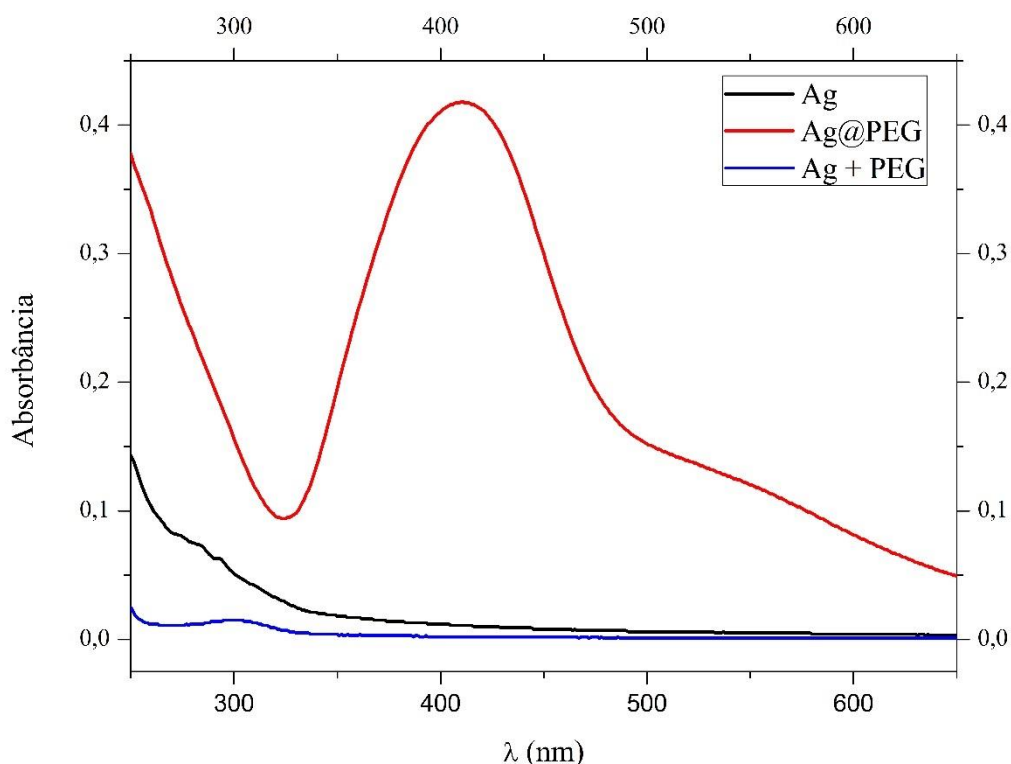
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Formação das AgNPs

A formação das nanopartículas é inicialmente indicada pela mudança de cor da solução após a adição de citrato de sódio à mistura AgNO_3 1mmol L^{-1} e PEG_{200} em aquecimento e agitação. Os íons Ag^+ são reduzidos pela adição de citrato formando nanopartículas funcionalizadas com PEG_{200} , esse material está estabilizado em solução coloidal utilizando o citrato como contra-íon.

No espectro UV-Vis, a formação da AgNPs é evidenciada pelo surgimento da banda plasmônica com máximo de absorbância em 412 nm, conforme pode ser observado na curva AgNPs da Figura 8. Na Figura 8 também foram plotadas as curvas referentes aos espectros da solução de AgNO_3 (curva Ag) e da solução de AgNO_3 misturada com PEG_{200} (curva Ag + PEG), que também foram submetidas aos processos de agitação e aquecimento mas sem a adição do citrato de sódio, para efeito de comparação. Conforme o exposto, as AgNPs só se formam após a adição do redutor sob aquecimento e agitação.

Figura 8 – Espectro da solução contendo AgNPs em espectrofotômetro de absorção molecular na região UV-Vis.



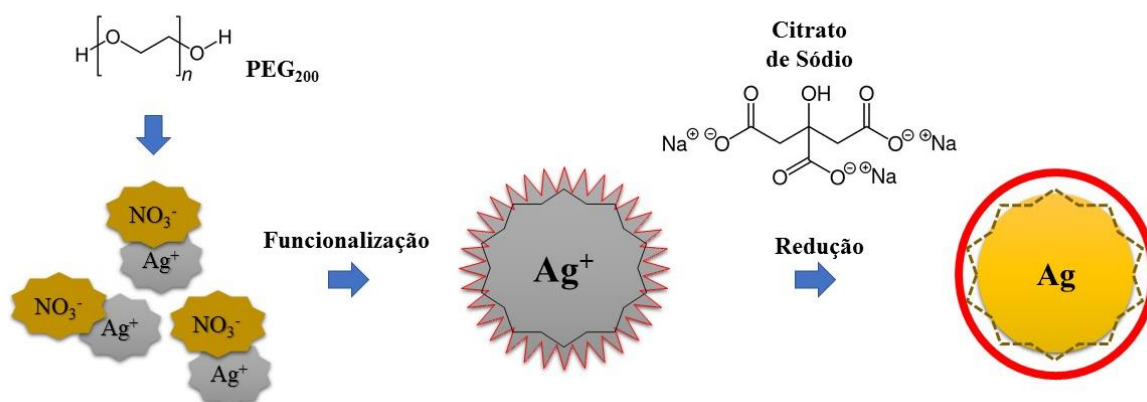
Fonte: própria do autor

A literatura vem reportando uso de PEG na síntese de nanopartículas devido este ser um biopolímero de baixo impacto ambiental e já utilizado nas indústrias farmacêutica e biomédica (STIUFIUC *et al.*, 2013). Além disso, sistemas micelares envolvendo surfactantes têm sido comumente usados como uma forma de melhorar o sinal analítico em métodos que empregam espectrofotometria de absorção molecular na região do UV-Vis como técnica de detecção. Em tais sistemas, a adição de um surfactante pode levar à redução do pH em que o complexo é formado, muda as bandas de absorção para região do vermelho e aumenta a absorvidade molar ou intensidade de fluorescência (GARCIA; SANZ-MEDEL, 1986; ROCHA; TEIXEIRA, 2004).

A adição de citrato de sódio no procedimento de formação das AgNPs tem a função de reduzir os íons Ag^+ , visto que apresenta baixo potencial padrão de redução: $E^{\circ} = -0,180\text{V}$ (VAN HOONACKER; ENGLEBIENNE, 2006). Dessa forma é possível controlar o tamanho da nanopartícula e obter partículas mais polidispersas.

Na Figura 9 é apresentado o esquema representativo da formação das AgNPs sintetizadas no presente trabalho, onde os íons Ag^+ se aderem à superfície do polímero na etapa de funcionalização e em seguida são reduzidos pelo citrato de sódio a Ag^0 .

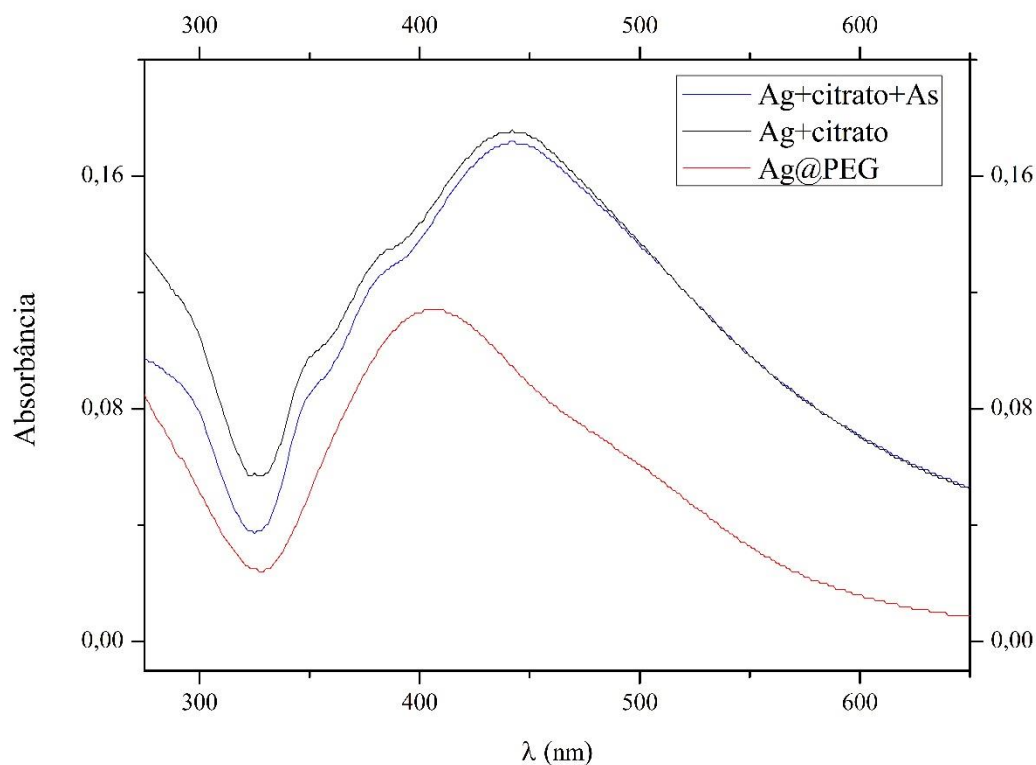
Figura 9 - Esquema representativo da formação das AgNPs funcionalizadas com PEG₂₀₀ utilizando citrato de sódio como agente redutor.



Fonte: própria do autor

Além de avaliar a influência do PEG na síntese das AgNPs, verificou-se também a possibilidade da formação das AgNPs quando é utilizado apenas o citrato de sódio, uma vez que já foi reportado que o citrato pode agir como agente funcionalizante (FECHINE, 2020). Embora tenha sido observado a formação das nanopartículas quando usou-se apenas citrato de sódio, caracterizada pela formação da banda plasmônica, essas não tiveram as características desejadas para a finalidade do presente trabalho, pois não houve alteração significativa da banda plasmônica com a presença de As, conforme mostrado na Figura 10. Na curva “Ag+citrato+As” adicionou-se $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(III) à solução contendo AgNPs sintetizadas apenas com citrato.

Figura 10 - Avaliação da formação e resposta da nanopartícula utilizando citrato como agente funcionalizante sem adição de PEG₂₀₀.



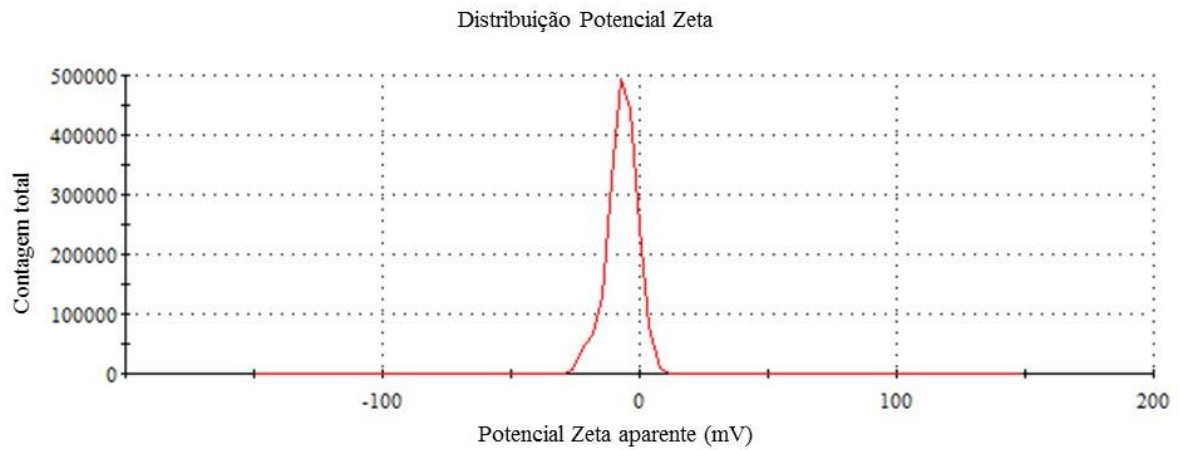
Fonte: própria do autor

5.2 Caracterização das AgNPs

Na etapa de caracterização, analisou-se a carga de superfície das AgNPs através de medidas do potencial zeta, visto que essa técnica é frequentemente usada para caracterizar a superfície de coloides. Ela reflete o potencial elétrico de superfície das partículas, que é influenciado pela carga dos diferentes componentes localizados na interface com o meio dispersante (MOSQUEIRA *et al.*, 2000).

No caso das AgNPs, as medidas do potencial zeta sugerem que elas estão estabilizadas por uma força repulsiva de -6,78 mV em suspensão coloidal (Figura 11). Pode-se inferir que os grupos -OH do PEG₂₀₀ têm maior contribuição nesses valores. Isso garante que não ocorra crescimento desordenado das partículas e sua aglomeração é evitada. Dessa forma, as propriedades das AgNPs são conservadas.

Figura 11- Medida da carga de superfície das AgNPs através do potencial zeta (n=3).

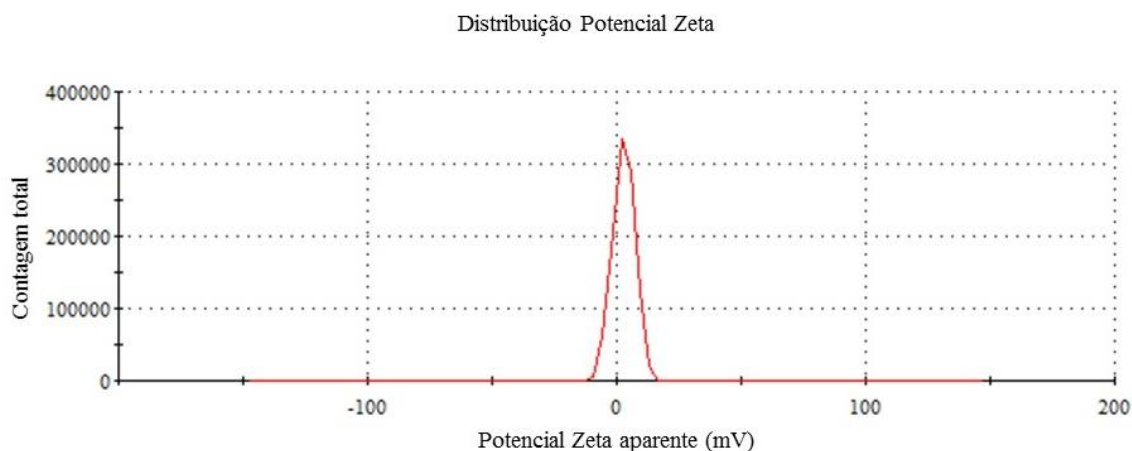


Fonte: própria do autor

Analisou-se também o potencial zeta das AgNPs após a adição de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de As, podendo ser visualizado na Figura 12. As medidas realizadas mostram que os valores se tornam mais positivos (2,87 mV) com a presença do analito, sugerindo uma desestabilização estrutural da suspensão coloidal, ou seja, as partículas se aglomeram e suas propriedades mudam.

Nesse sentido, outros trabalhos (JAFELICCI JUNIOR; VARANDA, 1999) discutem também que essa mudança no potencial da interfase entre a superfície da partícula e o interior da solução do meio de dispersão é influenciada pelo aumento da força iônica, porque a dupla camada de cargas que se forma ao redor da partícula é comprimida em direção à superfície pela concentração de íons da solução. Outra característica importante dos coloides destacadas pelos mesmos autores é a capacidade que as partículas coloidais têm em adquirir cargas elétricas na superfície por diferentes mecanismos, tais como: dissociação de grupos da superfície e adsorção ou dissolução de íons da superfície, de forma que suas propriedades são dependentes dessas interações.

Figura 12 - Medida da carga de superfície das AgNPs através do potencial zeta após a adição de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de As ($n=3$)



Fonte: própria do autor

No mesmo equipamento de medida do potencial zeta é possível analisar o tamanho de partícula através do espalhamento dinâmico de luz (DLS). Essa metodologia permite determinar o diâmetro hidrodinâmico (DH) das partículas em suspensão pelo espalhamento de luz decorrido do movimento Browniano das partículas. Isso é possível porque, quando uma partícula é dispersa em um meio líquido, forma-se uma camada de solvatação em sua superfície. Incidindo uma fonte de radiação, como um laser, sobre essa partícula, ela irá espalhar radiação em diferentes posições. Dessa forma, a técnica de DLS consiste na análise das oscilações de intensidade da luz espalhada (ALBERNAZ, 2014).

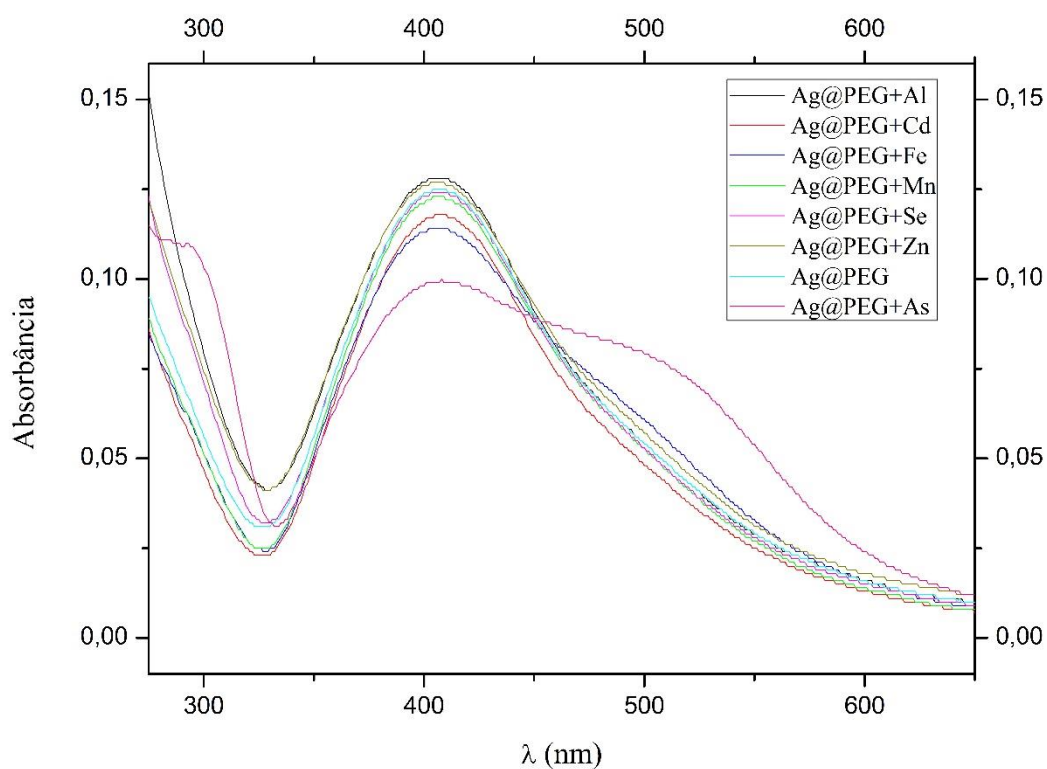
É importante ressaltar que é esperado tamanho de partículas menores do que o resultado apresentado pela técnica, uma vez que o que está sendo medido é o DH, ou seja, toda a camada que está solvatando as AgNPs. Assim, de acordo com os dados obtidos, o tamanho de partícula varia de 90 a 100 nm. Após a adição de As esse tamanho aumenta, ficando em torno de 280 a 300 nm.

Essa mudança de tamanho após adição do analito, é mais um indício da interação do As com as AgNPs. Como são íons grandes, é necessária uma grande camada de solvatação para tentar garantir o equilíbrio da suspensão coloidal.

5.3 Estudo da influência da presença de possíveis contaminantes na resposta das AgNPs.

Realizou-se estudo do efeito da presença de Al, Cd, Fe, Mn, Se e Zn nas AgNPs. Os dados obtidos, apresentados na Figura 13, mostram que as AgNPs têm maior sensibilidade para as espécies de As, sendo possível identificá-las e quantificá-las em solução. É importante destacar que as AgNPs responderam a todas as espécies no comprimento de onda 412 nm, no entanto, em 600 nm, com exceção do As, não é possível verificar esse comportamento. Resultados semelhantes também foram encontrados por Boruah e colaboradores (2019) quando realizaram o mesmo procedimento com Co, Cd, Cu, Fe, As, Pb, Hg, Mg, Ni, Na e K.

Figura 13 - Resposta das AgNPs à adição de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de Al, Cd, Fe, Mn, Se, Zn e As.



Fonte: própria do autor

5.4 Efeito da concentração de As (III) sob a banda plasmônica das AgNPs

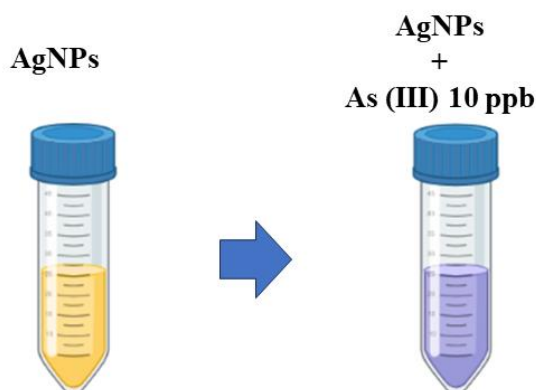
Na aplicação das AgNPs como nanosensores químicos de iAs, a concentração de iAs é determinada de forma indireta, observando seu efeito sobre a banda plasmônica de ressonância das AgNPs.

Uma vez que as nanopartículas estão estáveis em solução, a adição de iAs causa uma perturbação nesse sistema. Fachine (2020) explica que quando ocorre a separação das cargas na partícula, devido ao efeito do campo eletromagnético, moléculas de analitos podem adsorver na superfície do metal, fazendo com que o fenômeno de SPR ocorra em uma frequência diferente. Dessa forma, a banda em 412 nm sofre atenuação enquanto que em 600 nm é observado aumento de sinal de forma proporcional à concentração de iAs.

Boruah e colaboradores, (BORUAH; DAIMARI; BISWAS, 2019) observaram que a estequiometria de interação entre AgNPs e As (III) é de 1:2. Ressalta-se que as AgNPs devem estar em excesso para que a reação seja favorecida.

Vale ressaltar que a mudança da coloração amarelada para um leve azul é observada pouco tempo após a adição de As (Figura 14), o que é explicado pelo deslocamento da banda plasmônica.

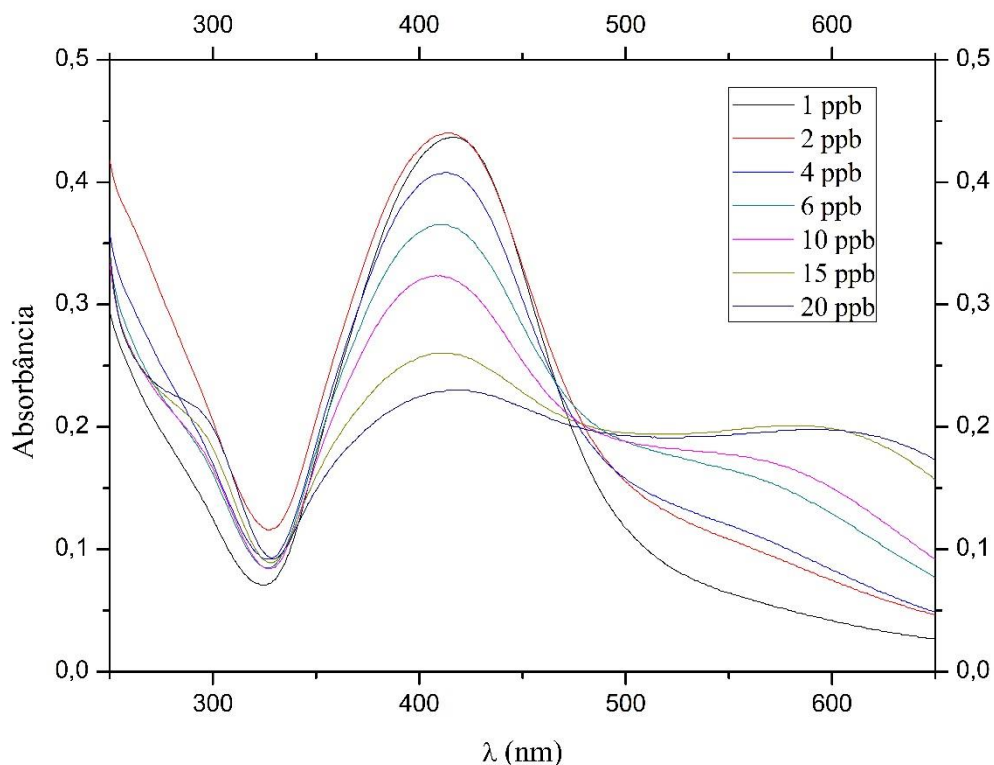
Figura 14 - Mudança da coloração da solução após a adição de As (III)



Fonte: própria do autor

Esse efeito foi avaliado no espectro UV-Vis no intervalo de 250 a 650 nm e é apresentado na Figura 15, com concentrações de As (III) na faixa de 1,0 a 20 $\mu\text{g L}^{-1}$. Conforme pode ser observado no gráfico, o método apresenta boa sensibilidade para As (III) uma vez que os nanosensores respondem bem a baixas concentrações do analito.

Figura 15 - Efeito da concentração de As (III) sobre a banda plasmônica das AgNPs.



Fonte: própria do autor

A Figura 15 mostra que a absorvância mudou com a adição de diferentes concentrações de As (III). A absorção máxima em 412 nm diminuiu e um novo pico em 600 nm surgiu e foi crescendo com o aumento da concentração de As (III). Esse efeito é proveniente da interação eletrostática das espécies de As na superfície da AgNPs e sua magnitude está relacionado à concentração do metaloide.

Em outros trabalhos o fenômeno também foi observado tanto para nanopartículas de Au quanto para de Ag, de forma que é bem estabelecido que a frequência SPR não depende apenas das propriedades intrínsecas do metal, mas também do tamanho e forma da nanopartícula, das propriedades dielétricas do meio circundante (substrato, solvente e adsorvatos) (LEE; EL-SAYED, 2006), e interações de acoplamento inter-nanopartícula, conferindo assim uma sintonização única às propriedades ópticas das nanopartículas (JAIN *et al.*, 2006).

O deslocamento induzido por As na banda SPR observado no espectro de UV-Vis é causado principalmente por mudanças no ambiente dielétrico local causadas pelas moléculas adsorventes. Essa variação resulta do aumento da sensibilidade da SPR que é causado em grande parte pelo aumento do tamanho e/ou volume das nanopartículas. Pode ser também que

as nanopartículas estejam mudando sua forma de esférica para bastão, pois já foi observado que a sensibilização SPR também ocorre com essa mudança morfológica já que a sensibilidade da banda SPR de comprimento de onda longo para nanobastões é maior do que para nanoesferas (JAIN *et al.*, 2006; LEE; EL-SAYED, 2006),

Outra propriedade da ressonância plasmônica de superfície é que ela se baseia em interações partícula a partícula. As oscilações do plasma criam um campo elétrico na superfície da nanopartícula de forma que é altamente dependente da distância entre as partículas (FUNSTON *et al.*, 2009). O "campo próximo" em uma nanopartícula pode interagir com o "campo próximo" de partículas vizinhas modulando a frequência de oscilação dos plasmons de superfície do sistema de nanopartículas acopladas. Este fenômeno é chamado de acoplamento de plasma (FUNSTON *et al.*, 2009; JAIN *et al.*, 2006).

Quando o campo elétrico é orientado ao longo do eixo interpartículas, os campos próximos se acoplam de maneira semelhante às interações de ligação, resultando em um desvio para a região do vermelho do plasma (FUNSTON *et al.*, 2009). Por outro lado, quando a direção de polarização é perpendicular ao eixo interpartículas, seu campo próximo é acoplado em um tipo de interação não-ligante, e um deslocamento azul muito pequeno da banda plasmônica é observado (FUNSTON *et al.*, 2009).

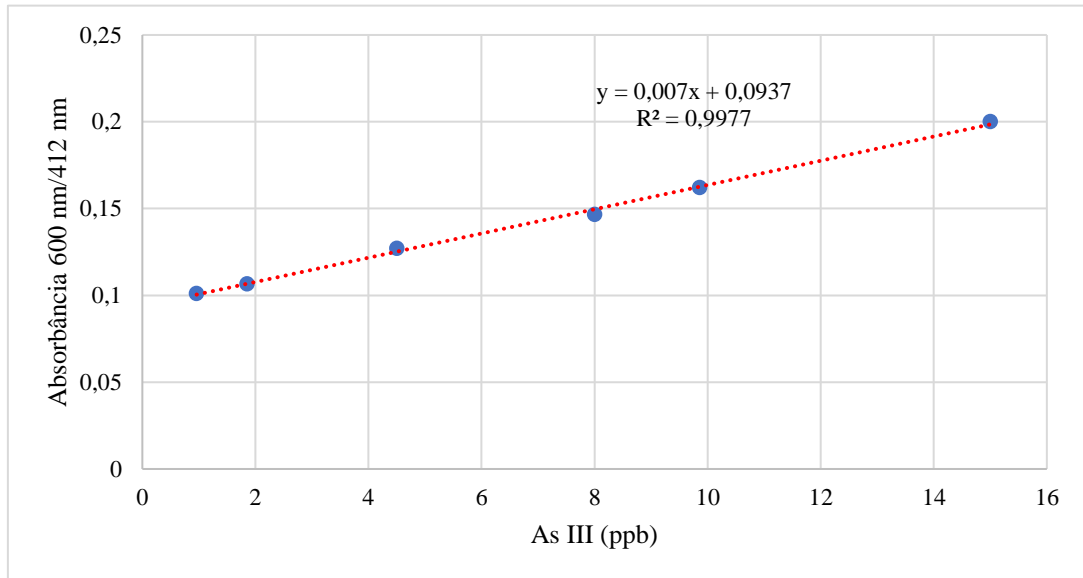
5.5 Figuras de mérito

Uma relação linear pode ser encontrada relacionando as duas bandas de absorção do espectro, pois à medida que a banda em 412 nm sofre atenuação, a amplitude da banda em 600 nm aumenta. Dessa forma, utilizando a relação de absorbância 600 nm/412 nm é possível construir uma curva analítica.

Considerando isso, na Figura 16 é apresentada a curva de calibração do método empregado. Uma relação linear foi encontrada numa faixa de concentração entre 1,0 e 15,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ As (III). Para a construção da curva realizou-se duplicatas em cada ponto ($n=2$), obtendo-se um coeficiente de correlação (R^2) de 0,9977. Avaliou-se também concentrações mais altas de As (III) em 20 $\mu\text{g L}^{-1}$, no entanto foi observado perda de linearidade do método e tal ponto foi excluído da curva. Observando visualmente a curva de calibração e o valor de coeficiente de

correlação, a relação entre o eixo x e y parece ser linear contudo, outros parâmetros foram avaliados para confirmar a linearidade da curva analítica.

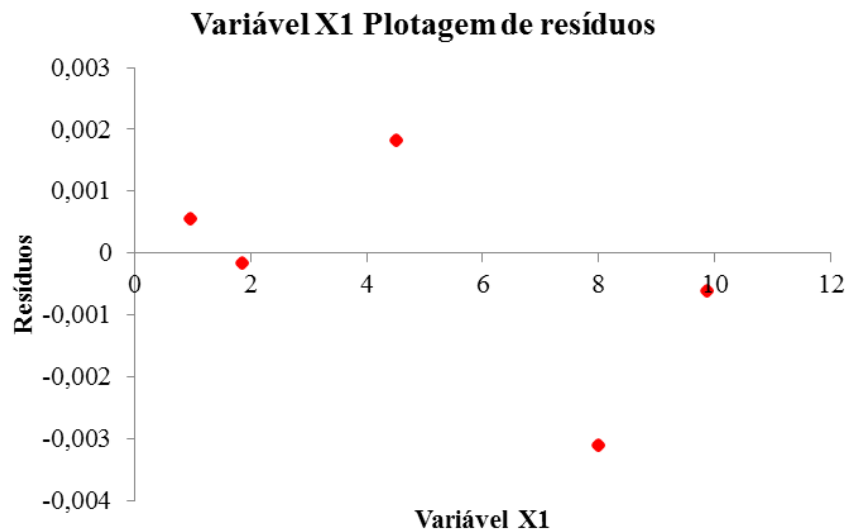
Figura 16 - Curva analítica de As (III), faixa de concentração entre 1,0 e 15,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, por espectrometria de absorção molecular na região UV-Vis usando AgNPs como plataforma de sensoriamento.



Fonte: própria do autor

O gráfico de resíduos é apresentado na Figura 17 e os valores estão distribuídos aleatoriamente, o que mostra uma boa concordância entre os dados e o modelo de regressão.

Figura 17 - Gráfico de resíduos da curva de calibração



Fonte: própria do autor

A Tabela 1 apresenta os valores da Soma Quadrática (SQ), Média Quadrática (MQ) e teste F da análise de variância (ANOVA). Devido $F_{\text{calculado}} > F_{\text{tabelado}}$ ($F_{\text{tabelado}} = 7,71$ a 95% de confiança), rejeita-se a hipótese nula de que coeficiente angular é igual a zero e assume-se que y (Absorbância 600/412) efetivamente varia em função de x (concentração de As) e que o método pode ser considerado linear. É possível ainda deduzir, através do teste F, que o modelo proposto é útil para explicar a variável dependente, visto que o F de significação foi de $1,993 \times 10^{-06}$, mantendo-se abaixo do nível de significância que é 0,05.

Tabela 1 - Análise de variância

ANOVA					
	<i>gl</i>	<i>SQ</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>F de significação</i>
Regressão	1	0,0069	0,0069	1731,599	$1,993 \times 10^{-06}$
Resíduo	4	$1,598 \times 10^{-05}$	$3,996 \times 10^{-06}$		
Total	5	0,0069			

Fonte: própria do autor

Na Tabela 2 é possível consultar os valores de interseção do eixo y , bem como o coeficiente angular da reta. Vale ressaltar que o erro padrão e os valores de P são relativamente

baixos para as medidas, o que garante confiança para a análise do Limite de Quantificação e Detecção do método empregado a partir dos parâmetros da curva. Além disso, os valores baixos do erro padrão sugerem que a diferença entre o valor real e o predito pelo modelo pode ser considerada significativamente baixa.

Tabela 2 – Coeficientes e testes de hipóteses da curva de calibração.

	<i>Coeficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	0,0937	0,001388	67,494	2,89x10 ⁻⁰⁷
Variável X₁	0,00698	0,000167	41,612	1,99x10 ⁻⁰⁶

Fonte: própria do autor

Os cálculos do Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ) do método foram realizados a partir dos parâmetros da curva analítica da Figura 16 e a seguir são apresentadas as fórmulas utilizadas para o cálculo:

$$LD = \frac{3 * \text{Erro padrão do intercepto}}{\text{coef. angular}}$$

$$LQ = \frac{10 * \text{Erro padrão do intercepto}}{\text{coef. angular}}$$

O método proposto apresentou limite de detecção de 0,656 µg L⁻¹ As e limite de quantificação de 1,988 µg L⁻¹ As. Para Boruah e colaboradores (2019), os valores encontrados utilizando o mesmo método foram de 1,0 µg L⁻¹ As e 3,4 µg L⁻¹ As para LD e LQ respectivamente. Vale ressaltar que o método quando aplicado pelos autores foi testado apenas em soluções aquosas.

Para análise da veracidade dos resultados de concentração de As total pelo método proposto, no qual o material de referência foi submetido aos mesmos procedimentos do método proposto no presente trabalho, o valor encontrado (Tabela 3) foi estatisticamente semelhante ao valor de referência, obtendo-se taxa de recuperação de 96,72% (teste t de Student, 95% de confiança). Além disso, analisou-se também o material de referência certificado de farinha de arroz (NIST 1568b) onde obteve-se boa correlação entre os valores encontrados e o certificado,

tendo percentual de recuperação de 94,73% (teste t de Student, 95% de confiança). Dessa maneira, o método proposto utilizando AgNPs como nanosensores químicos apresentou boa exatidão para análise de amostra de arroz.

Tabela 3 – Determinação de As total por espectrofotometria UV-Vis usando AgNPs em amostras de material de referência (CRM-Agro C1001a) e material de referência certificado (NIST 1568b). (n = 2)

Arsênio total, mg kg⁻¹ (média ± intervalo de confiança (IC))			
Amostra	Valor de referência (mg kg ⁻¹) *	Valor encontrado (mg kg ⁻¹)	Recuperação (%)
CRM-Agro C1001a	0,112 ± 0,015	0,108 ± 0,058	96,72
NIST 1568b	0,285 ± 0,014	0,270 ± 0,054	94,73

*Média ± U, k=2

Fonte: própria do autor

A capacidade de extração do método de preparo de amostra, e a análise quantitativa de As inorgânicos por AgNPs, também foi avaliada pelo material de referência certificado (NIST 1568b) (Tabela 4). Obteve-se boa correlação entre os valores encontrados e o certificado, tendo percentual de recuperação de 105,4% (teste t de Student, 95% de confiança). Dessa maneira, o método proposto utilizando AgNPs₂₀₀ como nanosensores químicos apresentou boa exatidão para análise de As inorgânico em amostra de arroz. Além disso, a metodologia de extração das espécies inorgânicas de As demonstrou alta eficiência.

Tabela 4 - Determinação de As inorgânico por espectrofotometria UV-Vis usando AgNPs em material de referência certificado (NIST 1568b). (n = 2)

Arsênio inorgânico, mg kg⁻¹ (média ± IC)			
Amostra	Valor de referência (mg kg ⁻¹) *	Valor encontrado (mg kg ⁻¹)	Recuperação (%)
NIST 1568b	0,092 ± 0,010	0,097 ± 0,022	105,4

*Média ± U, k=2

Fonte: própria do autor

5.6 Aplicação do método proposto

Os resultados das análises de As para as amostras de arroz e camarão estão apresentadas na Tabela 5. As amostras de arroz da Arábia Saudita foram codificadas em R2, R4, R7 e R11 e a amostra de arroz de origem brasileira está representada pelo código BR1.

O teor de As total em camarão não foi possível ser determinado neste trabalho porque a digestão da amostra de camarão em bloco digestor não foi completa. Assim, para essa amostra, foi determinado apenas o teor de As inorgânico. É importante destacar que cerca de 90% de todo o As presente em camarão está na forma de AsB e que a literatura relata dificuldade na decomposição completa dessa espécie de As (XIE *et al.*, 2007). Se compostos estáveis de As estão presentes na matriz, a digestão da amostra será parcial se ocorrer sob condições brandas de preparo de amostra (ŠLEJKOVEC; VAN ELTEREN; WORONIECKA, 2001). As temperaturas alcançadas em bloco digestor são dependentes da mistura ácida utilizada, no caso do uso de ácido nítrico atinge-se temperaturas próximas de 120 °C, que não é suficiente para converter completamente a AsB para as formas inorgânicas de As.

Para as amostras de arroz, a concentração total de As variou de 108,3 a 281,25 $\mu\text{g kg}^{-1}$. De fato, tem sido relatado que tanto a concentração total de As quanto sua biodisponibilidade variam muito dependendo do arroz e de sua fonte (ALTHOBITI; SADIQ; BEAUCHEMIN, 2018), pois o teor desse contaminante é altamente dependente da cultura e fatores ambientais. Os níveis de As encontrados nas amostras de arroz foram inferiores ao LMT estabelecido pela União Europeia, 500 $\mu\text{g kg}^{-1}$, e ao estabelecido pela ANVISA, 300 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (ANVISA, 2021). Vale ressaltar que não é possível a comparação com a legislação chinesa devido seus regulamentos levarem em consideração apenas o As inorgânico nessa matriz.

A concentração de iAs também foi avaliada nas amostras de arroz e camarão. No caso dos grãos de arroz, são majoritariamente encontradas espécies de iAs – compreendendo As(III) e As(V) (CERVEIRA *et al.*, 2015^a). O percentual de iAs nas amostras de arroz estudadas variou de 34,41 a 69,99 %. Esses valores corroboram com o reportado por CUBADDA *et al.*, (2017) uma vez que os autores citam que o nível de As (III) e As (V) pode chegar a 60% do As total, enquanto que cerca de 39% do As está na forma de MMA e DMA. Visto que são encontrados teores significativos de iAs nessa matriz, alguns autores sugerem formas de diminuir esse risco à saúde humana sem deixar de consumir o grão. Uma das maneiras que pode ser facilmente adotada por qualquer pessoa, podendo diminuir a concentração em até 43%, é a lavagem antes do processo de cozimento (ALTHOBITI; SADIQ; BEAUCHEMIN, 2018).

Outra alternativa é cozinhar o arroz com excesso de água na proporção de 1:6, descartando esse excesso após o cozimento (SENGUPTA *et al.*, 2006).

Conforme será discutido, todas as amostras de arroz apresentaram concentração de iAs abaixo do LMT estabelecido pela legislação europeia (UE, 2015) e chinesa (CFDA, 2018) que é de $200 \mu\text{g kg}^{-1}$, não sendo possível a comparação com a legislação brasileira devido essa apresentar apenas os LMT para Arsênio total (tAs).

A concentração de iAs encontrada para a amostra de arroz BR1 ($59,74 \pm 3,98 \mu\text{g kg}^{-1}$) quando aplicou-se o método proposto foram estatisticamente semelhantes (teste *t* de Student, 95% de confiança) à concentração encontrada para esta mesma amostra quando analisou-se por HPLC-ICP-MS ($57,54 \pm 0,02 \mu\text{g kg}^{-1}$) em um outro trabalho do nosso grupo de pesquisa. Tal valor assemelha-se também ao encontrado para a amostra R11 ($55,34 \pm 0,40 \mu\text{g kg}^{-1}$) e encontra-se dentro da faixa de concentração reportada por (ALMUTAIRI *et al.*, 2021), $15,00\text{--}65,00 \mu\text{g kg}^{-1}$, quando analisou-se 483 amostras de arroz indiano. Para as demais amostras (R2, R4 e R7), o teor de iAs foi mais elevado. Seus desvios padrão também foram maiores. Isso pode ser explicado devido à dificuldade que se teve ainda na etapa de moagem das amostras. Algumas delas apresentavam alta dureza, o que dificultou obtenção de menor granulação. Com isso a representatividade da alíquota pode ter sido comprometida, resultando numa maior diferença entre as medidas.

Para amostras de camarão, o método proposto encontrou $64,70 \pm 0,13 \mu\text{g g}^{-1}$ iAs, valor estatisticamente similar ao apresentado para a mesma amostra por Da Silva *et al.*, 2021 que utilizou nanopartículas magnéticas funcionalizadas $\text{Fe}_2\text{O}_4@\text{DTPMP}$ para extração de iAs e quantificação por ICP-MS. Da mesma forma que Da Silva *et al.*, 2021, a concentração de iAs na amostra de camarão também divergiu um pouco do valor apresentado pela análise por HPLC-ICP-MS. Essa diferença da concentração de iAs encontrada nas amostras de camarão pela técnica proposta neste trabalho e por HPLC-ICP-MS pode se dar a partir da contribuição de outras espécies de As presentes na amostra, como DMAs e MMAs. Essas duas espécies podem coeluir na coluna cromatográfica juntamente com iAs resultando em valores mais altos do que o real. O mesmo problema já foi discutido em outros trabalhos na literatura (MARSCHNER *et al.*, 2019).

Dessa maneira, embora o método proposto tenha sido estudado utilizando padrão de As (III), os resultados encontrados sugerem que o método fornece resposta de iAs. Provavelmente o As (V) que possa estar presente nas amostras está sendo reduzido a As (III)

devido ao excesso de citrato presente em solução. Seus potenciais padrão de redução permitem tal reação, uma vez que para o citrato $E^{\circ} = -0,180 \text{ V}$ e para o H_3AsO_4 $E^{\circ} = 0,575 \text{ V}$.

Tabela 5 - Análise de As total e As inorgânico por espectrofotometria de absorção molecular na região do UV-Vis usando AgNPs em amostras de arroz e camarão. (Média \pm DP, n = 2)

Amostra	tAs ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	iAs ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	%iAs/tAs
Arroz BR1	108,30 \pm 6,46	59,74 \pm 3,98	55
Arroz R2	281,25 \pm 0,23	96,78 \pm 10,61	34
Arroz R4	269,26 \pm 29,38	107,72 \pm 13,73	40
Arroz R7	157,18 \pm 3,45	110,02 \pm 17,36	70
Arroz R11	119,10 \pm 1,22	55,35 \pm 0,40	46
Camarão	-	64,70 \pm 0,13	-

Fonte: própria do autor

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As nanopartículas de prata foram sintetizadas e funcionalizadas com polietilenoglicol 200 (AgNPs₂₀₀) com redução da prata por citrato de sódio sob aquecimento. Essas nanopartículas apresentaram um deslocamento significativo da banda plasmônica com a presença de iAs, o que possibilitou sua utilização como plataforma de sensoriamento na detecção dessas espécies de As por espectrofotometria de absorção molecular na região do UV-Vis. A funcionalização das AgNPs foi essencial para esta responder à presença de iAs no meio.

O método AgNPs₂₀₀/espectrofotometria UV-Vis foi aplicado com sucesso para a determinação de tAs e iAs em amostras de arroz e camarão, sendo para este último aplicado apenas para a determinação de iAs devido à limitação do procedimento de digestão aplicado no trabalho, que não foi de decomposição completa da amostra de camarão. Os níveis de tAs encontrados nas amostras de arroz foram inferiores aos limites estabelecidos pela legislação brasileira e europeia. E a porcentagem de iAs nas amostras variaram entre 40 e 70%, estando abaixo do valor recomendado pela legislação europeia e chinesa para essa matriz. O teor de iAs na amostra de camarão ($64,70 \mu\text{g kg}^{-1}$) foi bem abaixo do recomendado para tAs pela ANVISA, $1,00 \text{ mg kg}^{-1}$. Ressaltando que a legislação brasileira ainda não limita o teor de iAs, apenas de tAs.

O método proposto apresentou boa exatidão e precisão, com limite de detecção e quantificação apropriados para o monitoramento dos níveis de iAs em arroz e camarão, sendo uma alternativa viável e simples para análise de iAs em arroz e camarão, além de ser alinhado aos princípios da química verde. Ressalta-se a versatilidade do método analítico para diferentes matrizes, tecido vegetal e animal.

REFERÊNCIAS

- (ANVISA), A. N. DE V. S. RDC n° 42 de 29 de Agosto de 2013. **Diário Oficial da União**, p. 33, 2013.
- (ANVISA), A. N. DE V. S. INSTRUÇÃO NORMATIVA - IN N° 88, DE 26 DE MARÇO DE 2021. **Diário oficial da união**, v. 61, p. 226, 2021.
- AL-SALEH, I.; ABDULJABBAR, M. Heavy metals (lead, cadmium, methylmercury, arsenic) in commonly imported rice grains (*Oryza sativa*) sold in Saudi Arabia and their potential health risk. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 220, n. 7, p. 1168–1178, 2017.
- ALBERNAZ, V. L. Síntese verde de nanopartículas de prata com extrato aquoso de folhas de *Brosimum gaudichaudii*, caracterização físicoquímica, morfológica e suas aplicações no desenvolvimento de um nanobiossensor eletroquímico. **Universidade de Brasília, Instituto de Ciências Biológicas**, p. 121, 2014.
- ALMUTAIRI, M. et al. Determination of inorganic arsenic, heavy metals, pesticides and mycotoxins in Indian rice (*Oryza sativa*) and a probabilistic dietary risk assessment for the population of Saudi Arabia. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 125, n. April, p. 104986, 2021.
- ALTHOBITI, R. A.; SADIQ, N. W.; BEAUCHEMIN, D. Realistic risk assessment of arsenic in rice. **Food Chemistry**, v. 257, n. March, p. 230–236, 2018.
- AMENDOLA, V. et al. Surface plasmon resonance in gold nanoparticles: a review. **Journal of Physics: Condensed Matter**, v. 29, 2017.
- ANDRAHENNADI, R.; PICKERING, I. J. Arsenic accumulation, biotransformation and localisation in bertha armyworm moths. **Environmental Chemistry**, v. 5, n. 6, p. 413–419, 2008.
- ARVIZO, R. R. et al. Intrinsic Therapeutic Applications of Noble Metal Nanoparticles: Past, Present and Future. **Chemical Society Reviews**, v. 41, n. 7, p. 2943, 12 mar. 2012.
- BARNES, W. L.; DEREUX, A.; EBBESEN, T. W. Surface plasmon subwavelength optics. **Nature**, v. 424, 2003.
- BARRA, C. M. et al. Especificação de arsênio - Uma revisão. **Quimica Nova**, v. 23, n. 1, p. 58–70, 2000.
- BARROS, H. P.; C. VALENTI, W. COMPORTAMENTO ALIMENTAR DO CAMARÃO DE ÁGUA DOCE, *MACROBRACHIUM ROSENBERGII* (DE MAN) (CRUSTACEA, PALAEMONIDAE) DURANTE A FASE LARVAL: ANÁLISE QUALITATIVA. **Revta bras. Zool.**, v. 14, n. 4, p. 785–793, 1997.
- BEATY, R. D.; KERBER, J. D. Concepts, Instrumentation and Techniques in Atomic Absorption Spectrophotometry. **THE PERKIN-ELMER CORPORATION**, v. 2, 1993.

BISSEN, M.; FRIMMEL, F. Arsenic – A Review. Part I: Occurrence, Toxicity, Speciation, Mobility. **Acta Hydrochimica et Hydrobiologica**, v. 31, p. 9–18, 2003a.

BORAK, J.; HOSGOOD, H. D. Seafood arsenic: Implications for human risk assessment. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 47, n. 2, p. 204–212, 2007.

BORUAH, B. S.; DAIMARI, N. K.; BISWAS, R. Functionalized silver nanoparticles as an effective medium towards trace determination of arsenic (III) in aqueous solution. **Results in Physics**, v. 12, n. December 2018, p. 2061–2065, 2019.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE/ANVISA. Justificativa Da Consulta Pública. p. 1–2, 2020.

BRIAN M., T. Ultraviolet and Visible Absorption Spectrometers. **Characterization of Materials**, v. 2, p. 353–380, 2012.

BÜYÜKTIRYAKI, S.; KEÇILI, R.; HUSSAIN, C. M. Modern age of analytical chemistry: Nanomaterials. **Handbook of Nanomaterials in Analytical Chemistry**, p. 29–40, 2020.

C. NG, J. Environmental contamination of arsenic and its toxicological impact on humans. **Environmental Chemistry**, v. 2, n. 3, p. 146–160, 2005.

CAREY, A. M. et al. Phloem transport of arsenic species from flag leaf to grain during grain filling. **New Phytologist**, v. 192, n. 1, p. 87–98, 2011.

CAVA-MONTESINOS, P. et al. Non-chromatographic speciation of toxic arsenic in fish. **Talanta**, v. 66, n. 4, p. 895–901, 2005.

CERVEIRA, C. et al. Speciation of inorganic arsenic in rice using hydride generation atomic absorption spectrometry (HG-AAS). **Analytical Methods**, v. 7, n. 11, p. 4528–4534, 2015a.

CERVEIRA, C. et al. Speciation of inorganic arsenic in rice using hydride generation atomic absorption spectrometry (HG-AAS). **Analytical Methods**, v. 7, n. 11, p. 4528–4534, 7 jun. 2015b.

CERVEIRA, C. et al. Especificação química de arsênio inorgânico em arroz por espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos (HG-AAS) Resultados e Discussão. *[s.l.]*. n. June 2015, p. 2016, 2016.

CFDA. China Releases the Standard for Maximum Levels of Contaminants in Foods. **Global Agricultural Information Network**, p. 1–17, 2018.

CHAN, W. S. et al. Metal accumulations in aquatic organisms and health risks in an acid mine-affected site in South China. **Environmental Geochemistry and Health**, v. 43, n. 11, p. 4415–4440, 2021.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; PIERINA, S. B. **Introdução a Métodos Cromatográficos**. 7. ed. Campinas, SP: UNICAMP, 1997.

COZZOLINO, S. M. F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. 6. ed. Barueri [SP]: [s.n.].

CUBADDA, F. et al. Human exposure to dietary inorganic arsenic and other arsenic species:

State of knowledge, gaps and uncertainties. **Science of the Total Environment**, v. 579, p. 1228–1239, 2017.

DA SILVA, F. L. F. et al. Infrared radiation as a heat source in sample preparation of shrimp for trace element analysis. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 79, n. August 2018, p. 107–113, 2019.

DA SILVA, F. L. F. et al. Non-chromatographic arsenic speciation analyses in wild shrimp (*Farfantepenaeus brasiliensis*) using functionalized magnetic iron-nanoparticles. **Food Chemistry**, v. 345, p. 128781, 2021.

DAOUDI, K. et al. Highly sensitive silver decorated-graphene oxide-silicon nanowires hybrid SERS sensors for trace level detection of environmental pollutants. **Cornel University**, 2021.

FAO. **FAO - News Article: UN strengthens regulations on lead in infant formula and arsenic in rice**. Disponível em: <http://www.fao.org/news/story/en/item/238802>. Acesso em: 5 ago. 2021.

FECHINE, P. B. A. **Avanços no desenvolvimento de nanomateriais**. Fortaleza – Ceará: Imprensa Universitária da Universidade Federal do Ceará (UFC), 2020.

FILGUEIRAS, L. Um panorama da nanotecnologia no Brasil (e seUs macro-desafios) maria fernanda marques fernandes # e carlos a. **Quim. Nova**, v. 31, n. 8, p. 2205–2213, 2008.

FOWLER, B. A.; JONES, R. L. Arsenic. **Handbook on the Toxicology of Metals**, v. 3, n. 5, p. 367–406, 2007.

FOWLER, S. W. Factors affecting bioaccumulation and elimination of arsenic in the shrimp *lysmata seticaudata*. **Chemosphere**, v. 9, n. 9, p. 711–720, 1978.

FRIEDRICH, N. et al. Hydride generation ICP-MS as a simple method for determination of inorganic arsenic in rice for routine biomonitoring. **Anal. Methods**, v. 6, p. 5392–5396, 2014.

GARCIA, M. E. D.; SANZ-MEDEL, A. Dye-surfactant interactions: a review. **Talanta**, v. 33, n. 3, p. 255–264, 1986.

HUANG, J. H.; ILGEN, G.; FECHER, P. Quantitative chemical extraction for arsenic speciation in rice grains. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 25, n. 6, p. 800–802, 2010.

HUGHES, M. F.; KENYON, E. M. Dose-dependent effects on the disposition of monomethylarsonic acid and dimethylarsinic acid in the mouse after intravenous administration. **Journal of Toxicology and Environmental Health - Part A**, v. 53, n. 2, p. 95–112, 1998.

JAFELICCI JUNIOR, M.; VARANDA, L. C. O mundo dos coloides. **Química Nova na Escola**, n. 9, p. 9–13, 1999.

KARAGAS, M. R. et al. Rice Intake and Emerging Concerns on Arsenic in Rice : a Review of the Human Evidence and Methodologic Challenges. **Current environmental health reports**, v. 6, p. 361-372, 2019.

KAYA, G.; TURKOGLU, S. Bioaccumulation of Heavy Metals in Various Tissues of Some Fish Species and Green Tiger Shrimp (*Penaeus semisulcatus*) from Iskenderun Bay , Turkey , and Risk Assessment for Human Health. **Biological Trace Element Research**, v. 180, p. 314-326, 2017.

KOLYA, H.; HASHITSUME, K.; KANG, C. W. Recent advances in colorimetric detection of arsenic using metal-based nanoparticles. **Toxics**, v. 9, n. 6, p. 1–17, 2021.

LEBEPE, J. et al. Metal levels in two fish species from a waterbody impacted by metallurgic industries and acid mine drainage from coal mining in South Africa. **Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering**, v. 55, n. 4, p. 421–432, 2020.

LEE, W. Y.; OMORI, M.; PECK, R. W. Growth, reproduction and feeding behavior of the planktonic shrimp, *Lucifer faxoni* Borradaile, off the Texas coast. **Journal of Plankton Research**, v. 14, n. 1, p. 61–69, 1992.

LIN, Y. et al. A universal method for the speciation analysis of arsenic in various seafood based on microwave-assisted extraction and ion chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 159, n. September, p. 105592, 2020.

MARSCHNER, K. et al. Validation and inter-laboratory study of selective hydride generation for fast screening of inorganic arsenic in seafood. **Analytica Chimica Acta**, v. 1049, p. 20–28, 2019.

MEDINA-PIZZALI, M. et al. Artículo de Revisión INGESTA DE ARSÉNICO: EL IMPACTO EN LA ALIMENTACIÓN Y LA SALUD HUMANA. **Rev Peru Med Exp Salud Publica**, v. 35, n. 1, p. 93–102, 2018.

MELO, C. P. DE; PIMENTA, M. Nanociências e nanotecnologia. **PARCERIAS ESTRATÉGICAS**, v. 18, 2004.

MOGHIMI, N.; MOHAPATRA, M.; LEUNG, K. T. Bimetallic nanoparticles for arsenic detection. **Analytical Chemistry**, v. 87, n. 11, p. 5546–5552, 2015.

MORITA, K.; KANEKO, E. Spectrophotometric determination of trace arsenic in water samples using a nanoparticle of ethyl violet with a molybdate-iodine tetrachloride complex as a probe for molybdoarsenate. **Analytical Chemistry**, v. 78, n. 22, p. 7682–7688, 2006.

MOSQUEIRA, V. C. F. et al. Poly(D,L-Lactide) nanocapsules prepared by a solvent displacement process: Influence of the composition on physicochemical and structural properties. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 89, n. 5, p. 614–626, 2000.

MUSIL, S.; RAAB, A.; KRUPP, E. Speciation without Chromatography Using Selective Hydride Generation: Inorganic Arsenic in Rice and Samples of Marine Origin. **Analytical Chemistry**, p. 993–999, 2014.

PUNSHON, T. et al. Understanding arsenic dynamics in agronomic systems to predict and prevent uptake by crop plants. **Science of the Total Environment**, v. 581–582, n. December 2016, p. 209–220, 2017.

RATNARATHORN, N.; CHAILAPAKUL, O.; DUNGCHAI, W. Highly sensitive colorimetric detection of lead using maleic acid functionalized gold nanoparticles. **Talanta**, v. 132, p. 613–618, 2015.

ROCHA, F. R. P.; TEIXEIRA, L. S. G. ESTRATÉGIAS PARA AUMENTO DE SENSIBILIDADE EM ESPECTROFOTOMETRIA UV-VIS. **Quim. Nova**, v. 27, n. 5, p. 807–812, 2004.

SANGAONKAR, G. M. et al. Selective interaction between phytomediated anionic silver nanoparticles and mercury leading to amalgam formation enables highly sensitive, colorimetric and memristor-based detection of mercury. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1–12, 2020.

SCHMIDT, L. et al. Arsenic speciation in seafood by LC-ICP-MS/MS: Method development and influence of culinary treatment. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 32, n. 8, p. 1490–1499, 2017.

SENGUPTA, M. K. et al. Arsenic burden of cooked rice: Traditional and modern methods. **Food and Chemical Toxicology**, v. 44, n. 11, p. 1823–1829, 2006.

SKOOG et al. **Fundamentos de Química Analítica**. 9. ed. São Paulo: Tradução da 9ª edição norte-americana, 2017.

ŠLEJKOVEC, Z.; VAN ELTEREN, J. T.; WORONIECKA, U. D. Underestimation of the total arsenic concentration by hydride generation techniques as a consequence of the incomplete mineralization of arsenobetaine in acid digestion procedures. **Analytica Chimica Acta**, v. 443, n. 2, p. 277–282, 2001.

SOUZA, J. M. O. et al. ARSÊNIO E ARROZ: TOXICIDADE, METABOLISMO E SEGURANÇA ALIMENTAR. **Química Nova**, v. 38, n. 1, p. 118–127, 1 jan. 2015.

STIUFIUC, R. et al. SERS-active silver colloids prepared by reduction of silver nitrate with short-chain polyethylene glycol. **Nanoscale Research Letters**, v. 8, n. 1, p. 1–5, 2013.

SUHENDRAYATNA et al. Studies on the accumulation and transformation of arsenic in freshwater organisms II. Accumulation and transformation of arsenic compounds by *Tilapia mossambica*. **Chemosphere**, v. 46, n. 2, p. 325–331, 1 jan. 2002.

SUN, G. X. et al. Inorganic arsenic in rice bran and its products are an order of magnitude higher than in bulk grain. **Environmental Science and Technology**, v. 42, n. 19, p. 7542–7546, 2008.

SUN, G. X. et al. Survey of arsenic and its speciation in rice products such as breakfast cereals, rice crackers and Japanese rice condiments. **Environment International**, v. 35, n. 3, p. 473–475, 2009.

TAYLOR, V. et al. Human exposure to organic arsenic species from seafood. **Science of the Total Environment**, v. 580, p. 266–282, 2017.

TOMA, H. E. Research organization in Brazil: From chemistry to nanotechnology. **Química Nova**, v. 28, n. SUPPL., p. 48–51, 2005.

UE. REGULAMENTO (UE) 2015/1006 DA COMISSÃO de 25 de junho de 2015 que altera o Regulamento (CE) n.º 1881/2006 no que diz respeito aos teores máximos de arsénio na forma inorgânica nos géneros alimentícios. **Jornal Oficial da União Europeia**, n. 6, 2015.

VAN HOONACKER, A.; ENGLEBIENNE, P. Revisiting Silver Nanoparticle Chemical Synthesis and Stability by Optical Spectroscopy. **Current Nanoscience**, v. 2, n. 4, p. 359–371, 2006.

XAVIER, S. S. J. et al. Analytical Methods b -cyclodextrin-functionalized silver nanoparticles. **Analytical Methods**, v. 6, p. 8165–8172, 2014.

XIE, R. et al. Determination of total toxic arsenic species in human urine using hydride generation inductively coupled plasma mass spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 22, n. 5, p. 553–560, 2007.

YADAV, N. et al. Detection and remediation of pollutants to maintain ecosustainability employing nanotechnology: A review. **Chemosphere**, v. 280, n. February, p. 130792, 2021.

YANG, G. et al. Speciation analysis of arsenic in *Mya arenaria* Linnaeus and Shrimp with capillary electrophoresis-inductively coupled plasma mass spectrometry. **Talanta**, v. 78, p. 471–476, 2009.

ZHANG, L. et al. Optical sensors for inorganic arsenic detection. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 118, p. 869–879, 1 set. 2019.

ZHANG, Z. et al. Crystal Structure of Human DNA Methyltransferase 1. **Journal of Molecular Biology**, 2015.