

Cuantificación de bajo nivel de trazas metálicas en el arroz usando ICP-MS

Autores

Suresh Murugesan and Dasharath Oulkar
Customer Solution Center,
Ghaziabad,
Thermo Fisher Scientific, India

Palabras clave

Trace metals, rice, ICP-MS, KED, iCAP RQ, Qtegra

Objetivo

Demostrar la capacidad de un ICP-MS para el análisis de elementos trazas en el arroz de conformidad con las pautas de validación del Método oficial 2015.01 de la AOAC y la Autoridad de Normas y Seguridad Alimentaria de la India (FSSAI), la Administración de Alimentos y Medicamentos de China (CFDA) y la Unión Europea (UE) Requisitos de LMR.

Introducción

El arroz es un alimento básico importante con un consumo mundial de 518 millones de toneladas en 2016.¹ Los principales países en los que el arroz es una parte importante de la dieta humana son India y China. En consecuencia, la FSSAI, la CFDA y la Comisión Europea (CE) han establecido límites máximos de residuos (LMR) para metales pesados en el arroz como se enumera en la Tabla 1.²⁻⁴ Los metales pesados pueden aparecer en el arroz como consecuencia de la absorción de suelos agrícolas contaminados por las actividades mineras y la eliminación de lodos. Procesos como el fresado y pulido, el envasado y el transporte también pueden ser una fuente de contaminación. La contaminación con metales pesados tóxicos en el arroz es motivo de preocupación debido a los posibles efectos adversos sobre la salud humana. Los científicos han informado problemas de salud que incluyen tos, anemia e insuficiencia renal, que en última instancia conducen a la muerte debido a la contaminación por metales pesados.^{5,6} Para verificar y cuantificar la cantidad de elementos tóxicos en el arroz, los laboratorios comerciales de análisis de alimentos utilizan ampliamente un procedimiento basado en la digestión por microondas seguida de la cuantificación por ICP-MS.

Para algunos elementos, como el arsénico o el selenio, es posible que se requiera un análisis de especiación mediante una técnica con guiones como IC-ICP-MS para diferenciar diferentes formas químicas, que pueden variar en toxicidad o biodisponibilidad.⁷

Tabla 1. LMR FSSAI, UE y CFDA (mg / kg) de grano de arroz

Elemento*	FSSAI MRL (mg/kg)	EU MRL (mg/kg)	CFDA (mg/kg)
Mercurio	1.0	-	0.02
Arsénico	1.1	0.2	-
Plomo	0.2	0.2	0.5
Cadmio	0.1	0.2	0.2
Cobre	30.0	-	-
Estaño	250.0	-	250
Cromo	-	-	1.0

* Para todos los demás elementos en el alcance de este estudio, no hay LMR disponibles de FSSAI, CFDA o EC.

En este estudio, se evaluó un flujo de trabajo basado en digestión por microondas seguido de cuantificación utilizando el espectrómetro de masas de plasma acoplado inductivamente (ICP-MS) Thermo Scientific™ iCAP™ RQ para el análisis de trazas metálicas específicos en arroz. Posteriormente, el método propuesto se validó de acuerdo con las directrices⁸ de la AOAC 2015.01 para garantizar el cumplimiento de los requisitos de FSSAI y LMR de la UE (ver Tabla 1).

Experimental

Químicos y reactivos

- Ácido nítrico (65-69%), TraceMetal™ Grade, Fisher Chemical™ (A509-P500)
- Peróxido de hidrógeno (30-32%), TraceMetal™ Grade, Fisher Chemical™ (H/1820/15)
- Ácido clorhídrico (35-37%), TraceMetal™ Grade, Fisher Chemical™ (A508-P500)
- Agua desionizada (18,20 MΩ · cm), sistema de purificación de agua Thermo Scientific™ Barnstead™ MicroPure™
- Soluciones estándar de un solo elemento (para todos los elementos en estudio, cada uno a 1000 mg / L, Inorganic™ Ventures). La lista de todos los elementos del analito, incluidos los elementos diana y los respectivos elementos estándar internos, se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Lista de elementos con su masa, modo de medición y elementos de patrón interno (IS)

Elemento (símbolo)	Masa	Elemento estándar interno (símbolo)	Masa
Litio (Li)	7	Escandio (Sc)	45
Berilio (Be)	9	Escandio (Sc)	45
Boro (B)	11	Escandio (Sc)	45
Sodio (Na)	23	Escandio (Sc)	45
Aluminio (Al)	27	Escandio (Sc)	45
Vanadio (V)	51	Escandio (Sc)	45
Cromo (Cr)	53	Escandio (Sc)	45
Manganeso (Mn)	55	Escandio (Sc)	45
Hierro (Fe)	57	Escandio (Sc)	45
Cobalto (Co)	59	Escandio (Sc)	45
Níquel (Ni)	60	Escandio (Sc)	45
Cobre (Cu)	65	Escandio (Sc)	45
Zinc (Zn)	66	Escandio (Sc)	45
Arsénico (As)	75	Germanio (Ge)	72
Selenio (Se)	77	Germanio (Ge)	72
Estroncio (Sr)	88	Itrio (Y)	89
Molibdeno (Mo)	98	Rodio (Rh)	103
Cadmio (Cd)	111	Rodio (Rh)	103
Estaño (Sn)	118	Rodio (Rh)	103
Bario (Ba)	137	Terbio (Tb)	159
Mercurio (Hg)	202	Bismuto (Bi)	209
Plomo (Pb)	208	Bismuto (Bi)	209

Preparación y calibración estándar

Para la calibración del instrumento, se prepararon cuatro grupos diferentes de estándares de trabajo mixtos en rangos de concentración apropiados para coincidir con las concentraciones esperadas en las muestras. Se utilizó una dilución en serie para preparar una curva de calibración de seis puntos. Las concentraciones respectivas para cada elemento se resumen en la Tabla 3. Se agregó oro (200 µg / L) a todas las muestras, así como a todas las soluciones de enjuague para estabilizar y facilitar el lavado del mercurio y, por lo tanto, reducir los efectos de la memoria. Se añadió un estándar interno que contenía Sc, Ge, Y, Rh, Tb y Bi (Tabla 2) a todas las muestras a una concentración de 20 µg / L.

Tabla 3. Preparación estándar del nivel de calibración para elementos

Niveles	Concentración de linealidad	Volumen final (mL)	Concentración estándar de trabajo (µg/L)	Volumen requerido (mL)
Serie 1: Hg, Cd, Co (µg/L)				
STD1	0.05	25	10	0.125
STD2	0.1	25	10	0.25
STD3	0.25	25	10	0.625
STD4	0.5	25	10	1.25
STD5	5.0	25	1000	0.125
STD6	20.0	25	1000	0.5
Serie 2: Pb, As, Sn, Sb (µg/L)				
STD1	0.1	25	10	0.25
STD2	0.5	25	100	0.125
STD3	1.0	25	100	0.25
STD4	5.0	25	1000	0.125
STD5	10.0	25	1000	0.25
STD6	20.0	25	1000	0.5
Serie 3: B, Ba, Be, Cu, Cr, Li, Mn, Mo, Ni, Sr, Se, V (mg/L)				
STD1	0.002	25	1	0.05
STD2	0.004	25	1	0.1
STD3	0.01	25	1	0.25
STD4	0.05	25	10	0.125
STD5	0.1	25	10	0.25
STD6	0.2	25	10	0.5
Serie 4: Na, Al, Fe, Zn (mg/L)				
STD1	0.05	25	10	0.125
STD2	0.1	25	10	0.25
STD3	0.25	25	10	0.625
STD4	0.5	25	100	0.125
STD5	1.0	25	100	0.25
STD6	2.0	25	100	0.5

Preparación de la muestra

Se compraron muestras de arroz (Basmati) etiquetadas como orgánicas en el mercado local y se evaluaron para detectar contaminación por metales. Se utilizó un molinillo de alta resistencia (Maharaja Whiteline, Delhi, India) para moler el arroz hasta obtener un polvo fino para facilitar el proceso de digestión. El tamaño medio de partícula después de la trituración fue de entre 200 y 500 µm. Se colocó una alícuota de la muestra (pesada con precisión a $0,25 \pm 0,025$ g) en un recipiente de digestión por microondas de 75 ml de capacidad, previamente limpiado y seco (Nota: para la muestra de recuperación, la adición se realizó antes de

agregar cualquier disolvente). Se añadió un patrón de oro (200 µg/L) a la muestra (para estabilizar el mercurio) seguido de la adición de 1 mL de agua desionizada, 4 mL de ácido nítrico (HNO₃), 2 mL de peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y 0,4 mL de ácido clorhídrico (HCl). Las muestras se dejaron reposar en una campana extractora durante el período de pre-digestión de 10 minutos antes de que se iniciara el proceso de digestión por microondas utilizando el programa de temperatura que se muestra en la Tabla 4. Para realizar las digestiones se utilizó un sistema de digestión por microondas CEM MARS 6™ (CEM Corporation, Matthews, NC, EE.UU.).

Tabla 4. Programa de temperatura para la digestión por microondas

	Tiempo rampa (min)	Tiempo de espera (min)	Temperatura	Potencia
Paso 1	30	20	195 °C	1800 W

Nota: la configuración del tiempo de rampa y la potencia de microondas pueden variar según la cantidad de recipientes.

Una vez completado el proceso de digestión por microondas, los recipientes se mantuvieron en la mesa de trabajo para que se enfriaran a temperatura ambiente. Los recipientes de digestión por microondas se abrieron lenta y cuidadosamente en una campana extractora, ya que se pueden liberar vapores ácidos presurizados. La solución digerida se transfirió cuantitativamente al matraz volumétrico de 50 mL previamente limpiado. Se añadió una solución de mezcla de patrón interno (20 µg / L) (100 µL de 10 mg/L) antes de ajustar a un volumen final de 50 ml con agua desionizada y agitar durante 30 s. Se preparó un blanco de procedimiento siguiendo el protocolo anterior sin la adición de ninguna muestra.

Análisis ICP-MS

Se utilizó un Thermo Scientific™ iCAP™ RQ ICP-MS para todas las mediciones. El sistema de introducción de muestras constaba de una cámara de pulverización ciclónica con deflectores refrigerada por Peltier (3 ° C), un nebulizador MicroMist™ y un soplete de cuarzo con un inyector de cuarzo extraíble de 2,5 mm de diámetro. El instrumento se hizo funcionar en modo de discriminación de energía cinética (KED) utilizando gas de colisión de He puro en la celda de colisión / reacción (CRC). Todos los analitos se miden utilizando KED para eliminar las interferencias. KED utiliza helio como gas de colisión para eliminar las interferencias poliatómicas en el CRC. Como las especies poliatómicas consisten en más de un átomo, tienen una sección transversal más grande y experimentan más colisiones con los átomos de helio en la celda en comparación con el analito. Por lo tanto, sufren una mayor pérdida de energía cinética durante la transición a través del CRC y es posible que no entren en el cuadrupolo de resolución de masas. Esto permite la eliminación selectiva de estas interferencias y, por tanto, una eliminación completa de las señales potencialmente falsas positivas. El uso de KED para todos los analitos reduce drásticamente el tiempo de ejecución por muestra, ya que se evitan los cambios de gas que consumen mucho tiempo en la celda. Al mismo tiempo, el diseño del Thermo Scientific™ QCell CRC permite una alta sensibilidad incluso para elementos con poca masa, como el litio o el berilio.

Se conectó un autosampler Teledyne™ CETAC™ ASX 560 al ICP-MS para permitir un análisis de alto rendimiento. En la Tabla 5 se ofrece un resumen de todos los parámetros relacionados con el instrumento.

Tabla 5. Condiciones del instrumento ICP-MS

Parámetro	Valor
Potencia (RF):	1550 W
Gas nebulizador:	1.06 L/min
Gas auxiliar:	0.8 L/min
Flujo de gas frío:	14.0 L/min
Toma de muestra / tiempo de lavado:	45 s
Tiempo de permanencia:	0.05 s
Número de ejecuciones principales:	3
Tiempo por 10 barridos:	20 s
Tiempo total de adquisición por muestra:	150 s

Adquisición y procesamiento de datos

La adquisición y el procesamiento de datos se realizaron utilizando el software Thermo Scientific™ Qtegra™ Intelligent Scientific Data Solution™ (ISDS).

Rendimiento del método

Para estimar el nivel de analitos incurridos, se prepararon y analizaron muestras de arroz (n = 2) según el protocolo. Para determinar el límite de cuantificación, las muestras de arroz se enriquecieron a niveles decrecientes y se verificó su buena recuperación. Para determinar la precisión y la recuperación, las muestras de arroz se enriquecieron (n = 6) en tres niveles de concentración diferentes.

Resultados y discusión

Validación y ejecución de métodos

Según la Tabla 3, los estándares de calibración preparados ofrecieron excelentes valores de R2 (> 0,99) para todos los elementos objetivo. La linealidad del sodio y el mercurio se demuestra en la Figura 1.

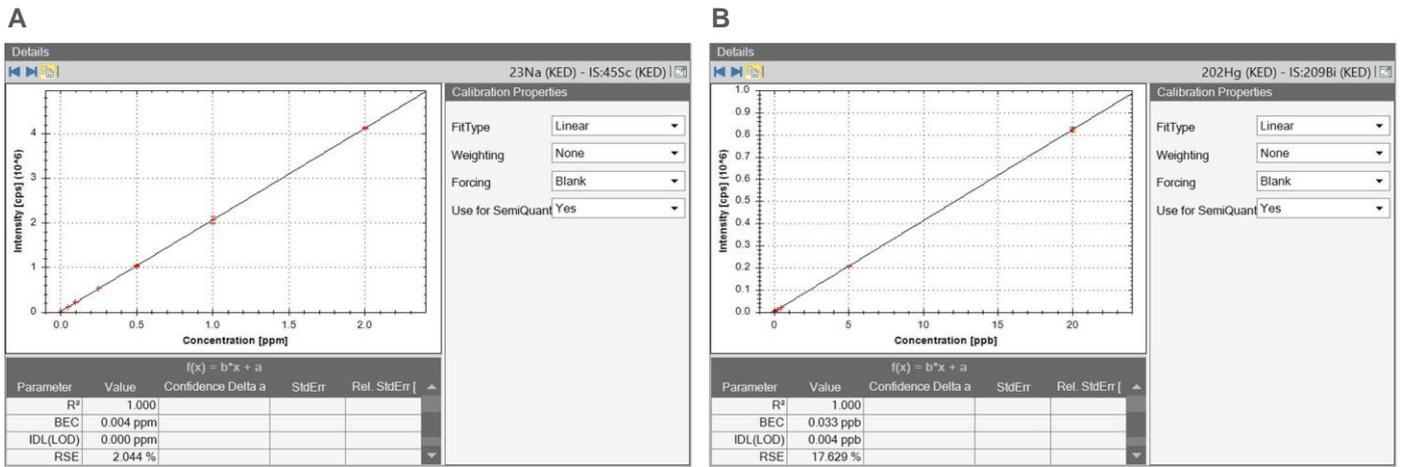


Figura 1. Demostración de linealidad observada para el rango de calibración en el software Qtegra para (A) sodio y (B) mercurio

Para la verificación de los parámetros de validación del método analítico, como la exactitud y la precisión, las muestras de arroz se enriquecieron con diferentes concentraciones de todos los elementos en estudio. El método optimizado proporcionó una sensibilidad excelente tanto en concentraciones bajas como altas con una precisión de entre el 85 y el 115% en comparación con los criterios de las directrices⁸ del Método oficial 2015.01 de la AOAC, es decir, entre el 60 y el 115% a $\leq 100 \mu\text{g} / \text{kg}$ y entre el 80 y el 115% a $> 100 \mu\text{g} / \text{kg}$. Se encontró que la desviación estándar relativa entre réplicas individuales era $<11\%$ a $0,1\text{-}1 \text{ mg} / \text{kg}$ y $<7,3\%$ por encima de $> 1 \text{ mg} / \text{kg}$, respectivamente.

El límite verificado de cuantificación ($0,01 \text{ mg} / \text{kg}$; Nivel 1 en la Tabla 6A), recuperaciones y valores de precisión se presentan en las Tablas 6A y 6B. En la Figura 2 se muestra una ilustración gráfica de la recuperación en el límite de cuantificación para todos los elementos. Tenga en cuenta que el límite de cuantificación se refiere a la cantidad de contaminante que se encuentra en la muestra no digerida. Las concentraciones en las soluciones medidas son significativamente menores debido a la dilución de la muestra en el proceso de digestión.

Cuadro 6A. Datos de validación del método [% de recuperación y precisión como % RSD calculado para el nivel 1 (LOQ), nivel 2 y nivel 3]

Masa	Elemento	Nivel 1 mg/kg	% Rec.	% RSD	Nivel 2 mg/kg	% Rec.	% RSD	Nivel 3 mg/kg	% Rec.	% RSD
7	Li	0.4	91	10.9	0.8	98	6.2	2	101	2.4
9	Be	0.4	98	4.1	0.8	99	1.6	2	99	3.4
11	B	0.4	101	5.3	0.8	110	3.7	2	95	2.4
51	V	0.4	93	1.5	0.8	95	2.6	2	93	1.7
53	Cr	0.4	93	2	0.8	103	5.8	2	99	3.2
55	Mn	0.4	105	0.4	0.8	112	1.3	2	98	1.7
59	Co	0.01	96	3.5	0.02	96	1.8	0.05	105	1.1
60	Ni	0.4	110	6.1	0.8	98	2.2	2	94	1.6
65	Cu	0.4	98	5	0.8	113	1.8	2	90	1.2
75	As	0.1	105	2.7	0.2	103	1.7	2	104	1.6
77	Se	0.4	99	8.6	0.8	101	5.8	2	102	3.8
88	Sr	0.4	99	1.3	0.8	105	1.8	2	99	1.2
98	Mo	0.4	86	1.1	0.8	89	2.5	2	90	2.4
111	Cd	0.01	88	3.5	0.02	94	6.1	0.05	98	1.2
118	Sn	0.1	99	2.6	0.2	97	1.2	2	103	2.3
137	Ba	0.4	86	5.2	0.8	99	1.5	2	97	2
202	Hg	0.01	95	8.1	0.02	84	2.9	0.05	86	1.6
208	Pb	0.1	101	3.2	0.2	97	2.3	2	101	1.1

*Nota: Todos los valores de concentración dados en la tabla tienen un factor de dilución de 200 veces.

Cuadro 6B. Datos de validación del método (% de recuperación y precisión como % RSD)

Masa	Elemento	Nivel 1 mg/kg	% Rec.	% RSD	Nivel 2 mg/kg	% Rec.	% RSD
23	Na	200	98.1	1.8	400	103.6	1.3
27	Al	200	101.5	2.1	400	102.6	1.1
57	Fe	200	96.5	1.3	400	99.6	1.5
66	Zn	200	97.6	1.8	400	100.4	1.2

*Nota: Todos los valores de concentración dados en la tabla tienen un factor de dilución de 200 veces.

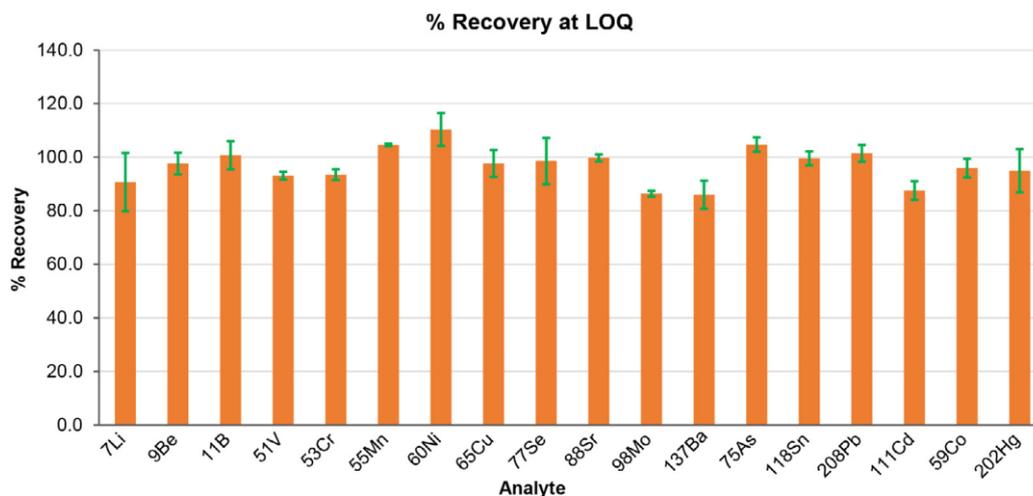


Figura 2. Porcentaje de recuperación de todos los elementos del analito en el límite de cuantificación verificado

Robustez del método

Para verificar la solidez del método propuesto, se controló la posible supresión y deriva de la señal del patrón interno en presencia de matriz de arroz a lo largo de una secuencia analítica que comprende 30 muestras individuales en total. La lectura de la recuperación del estándar interno demuestra la solidez y estabilidad del iCAP RQ ICP-MS para el análisis de

digestiones de alimentos. El estándar interno mostró una recuperación entre el 95% y el 120%, que se encuentra dentro de los criterios de aceptación (60-125%) establecidos en el Método AOAC 2015.01. Las recuperaciones observadas para los diferentes patrones internos Sc, Y, Tb, Ge, In, Ir, Rh y Bi se muestran en la Figura 3.

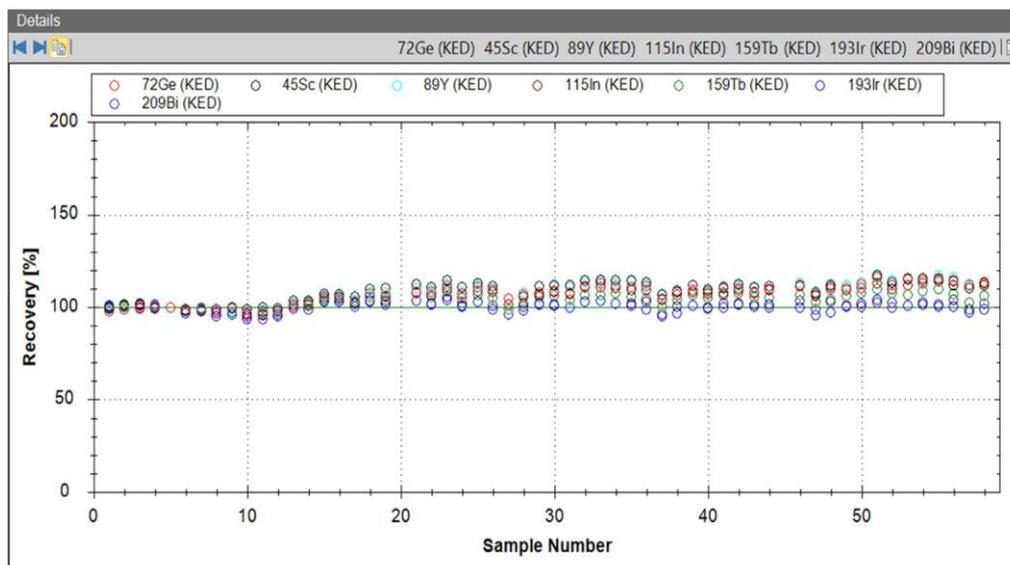


Figura 3. Recuperación de patrón interno en matriz de arroz para una serie analítica con un total de 30 muestras

Conclusión

El flujo de trabajo descrito en esta nota de aplicación muestra la cuantificación precisa y precisa de múltiples elementos a niveles de trazas en el arroz. Las muestras se digirieron con ácido en base a un método asistido por microondas seguido de análisis cuantitativo usando el iCAP RQ ICP-MS. Esta metodología permite los límites inferiores de cuantificación en arroz, combinados con una excelente recuperación (80-115%) y precisión (<11% RSD). Por tanto, el método propuesto se puede utilizar como una solución llave en mano para el análisis de metales en concentraciones de trazas en el arroz. El método cumple con los requisitos de rendimiento del método estándar del método oficial AOAC 2015.01, así como con los requisitos de MRL de FSSAI, CFDA y EC. La precisión se logra mediante la eliminación constante de las interferencias espectrales debido al diseño superior del sistema CRC del iCAP RQ ICP-MS, que combina KED con un corte de masa baja aplicado automáticamente. Se demuestra una excelente robustez al lograr una recuperación constante de la respuesta estándar interna entre 95% y 120% con <10% RSD. Este método optimizado ofrece una excelente solución para los laboratorios comerciales de análisis de alimentos que necesitan mejorar el rendimiento de las muestras sin sacrificar la calidad de los datos.

Referencias

1. Grain Central, 26 de marzo de 2018. El consumo mundial de arroz sigue creciendo. <https://www.graincentral.com/cropping/global-rice-consumption-continues-to-grow/> (consultado el 27 de mayo de 2019).
2. Manual FSSAI para la seguridad alimentaria, 17a edición, 2017 (LEY DE SEGURIDAD Y NORMAS ALIMENTARIAS, 2006).
3. Administración de Alimentos y Medicamentos de China: normas nacionales de seguridad alimentaria https://gain.fas.usda.gov/Recent%20GAIN%20Publications/China%20Releases%20the%20Standard%20for%20Levels%20of%20Contaminants%20in%20Foods%20_Beijing_China%20-%20Peoples%20Republic%20of_5-9-2018.pdf (consultado el 27 de mayo de 2019).
4. REGLAMENTO (CE) No 1881/2006 DE LA COMISIÓN de 19 de diciembre de 2006 por el que se establecen niveles máximos de determinados contaminantes en los alimentos. 02006R1881 - ES - 28.07.2017 - 021.001 - 1. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:02006R1881-20170728&qid=1512388911628&from=EN> (consultado el 27 de mayo de 2019).
5. Horiguchi, H. Estado actual de la exposición al cadmio entre los japoneses, especialmente con respecto al estándar de seguridad para la concentración de cadmio en el arroz y los efectos adversos sobre la función tubular renal proximal observados en agricultores expuestos al cadmio a través del consumo de arroz de cultivo propio, Nihon Eiseigaku Zasshi 2012, 67 (4), 447–454.
6. Aoshima, K. Enfermedad de Itai-itai: osteomalacia tubular renal inducida por cadmio, Nihon Eiseigaku Zasshi 2012, 67(4), 455-463.
7. Meharg A.A. et al., Una revisión de los desarrollos recientes en la especiación y ubicación del arsénico y el selenio en el grano de arroz, Analytical and Bioanalytical Chemistry 2012, 402, 3275–3286.
8. Briscoe, M. Determinación de metales pesados en alimentos por plasma acoplado inductivamente - Espectrometría de masas: Primera acción 2015.01, J. AOAC Int. 2015, 98 (4), 1113–1120.

Descubra más en thermofisher.com