UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

INSTITUTO DE QUÍMICA

Programa de Pós-Graduação em Química

Mestrado Profissional - Tecnologia em Química e Bioquímica

RODOLFO LORENÇATTO

**Diluição de aerossol como alternativa para
amostragem direta na determinação de impurezas
elementares em medicamentos líquidos por ICP-MS**

VERSÃO CORRIGIDA DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA

São Paulo

Data do Depósito na SPG:

10/11/2020

RODOLFO LORENÇATTO

**Diluição de aerossol como alternativa para
amostragem direta na determinação de impurezas
elementares em medicamentos líquidos por ICP-MS**

*Dissertação apresentada ao Instituto de Química
da Universidade de São Paulo para obtenção do
Título de Mestre em Ciências, Área de
Concentração Tecnologia em Química e
Bioquímica*

Orientador: Prof. Dr. Pedro Vitoriano de Oliveira

São Paulo

2020

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Ficha Catalográfica elaborada eletronicamente pelo autor, utilizando o programa desenvolvido pela Seção Técnica de Informática do ICMC/USP e adaptado para a Divisão de Biblioteca e Documentação do Conjunto das Químicas da USP

Bibliotecária responsável pela orientação de catalogação da publicação:
Marlene Aparecida Vieira - CRB - 8/5562

L695d Lorençatto, Rodolfo
Diluição de aerossol como alternativa para amostragem direta na determinação de impurezas elementares em medicamentos líquidos por ICP-MS / Rodolfo Lorençatto. - São Paulo, 2020.
108 p.

Dissertação (mestrado) - Instituto de Química da Universidade de São Paulo. Departamento de Química Fundamental.
Orientador: Vitoriano de Oliveira, Pedro

1. ICP-MS. 2. Diluição de aerossol. 3. USP <232,233>. 4. Medicamentos líquidos. 5. Dilute-and-shoot. I. T. II. Vitoriano de Oliveira, Pedro, orientador.

*À minha tia de coração **Anna Maria Carreira Lobo**, nascida no Estado da Guanabara em 21/03/1938, pedagoga e educadora, que nos deixou em 10/10/2019. Ela me reensinou o sentido de família em um dos momentos mais difíceis da minha vida. Eu sei que você sente minha falta, mas para sempre sentirei saudades de você.*

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar aos meus pais Maria Aparecida Bortolete Lorençatto e Ademir Lorençatto, e à minha irmã Carolina Lorençatto Bassani, pelo investimento em minha educação e ensinamentos de valores morais e éticos.

À Agilent Technologies pela oportunidade da realização deste projeto de pesquisa, em especial à minha gerente Dra. Cintia Soares da Silva Matuyama, pelo incentivo em retornar aos estudos e contribuir para minha carreira como Cientista de Aplicações em Espectrometria Atômica.

Ao Prof. Dr. Pedro Vitoriano de Oliveira, pelas excelentes discussões sobre o trabalho, me acolher como aluno e confiar em mim, mesmo estando fisicamente longe da Universidade a maior parte do tempo. Muito obrigado pelo desafio da escrita do artigo!

Ao Dr. Gabriel Gustinelli Arantes de Carvalho, que trouxe informações e discussões valiosas para o artigo científico e para o andamento do projeto de pesquisa. Agradeço também sua amizade e apoio nos momentos de dúvidas sobre a qualidade do trabalho.

Por fim, mas não menos importante, ao meu companheiro Alexandre Moreira Lobo, que me apoiou e esteve comigo em todos os momentos durante o curso, percorrendo os 440 km entre Rio de Janeiro e São Paulo, com nossas cachorras, Duda e Lola, para me fazer sentir em casa, mesmo longe de casa.

*"Don't look back. Walk away. Burn the past. Live today. People change. Who cares
why. Don't grow old. Never die."*

The Korgis, "Don't Look Back" / "Xenophobia" (1982)

RESUMO

Lorençatto, R. **Diluição de aerossol como alternativa para amostragem direta na determinação de impurezas elementares em medicamentos líquidos por ICP-MS.** 2020. 111 p. Dissertação (Mestrado Profissional) - Programa de Pós-Graduação de Tecnologia em Química e Bioquímica. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

A determinação de impurezas elementares em medicamentos passou a ter um papel fundamental em laboratórios farmacêuticos nos últimos anos. Os capítulos 232 e 233 da *United States Pharmacopeia* (USP) definem valores máximos permitidos para Ag, As, Au, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ir, Li, Mo, Ni, Os, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru, Sb, Se, Sn, Tl e V e os procedimentos de validação para a análise de diferentes classes de medicamentos, respectivamente. O uso de espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) é recomendado pelo Capítulo 233 e possui comprovado desempenho analítico em diversas aplicações. A diluição de aerossol consiste em aplicar uma vazão perpendicular de gás argônio aa vazão de aerossol antes de sua inserção no plasma, o que traz vantagens como menor exposição do instrumento à matriz da amostra e menor possibilidade de interferências isobáricas poliatômicas. O objetivo deste estudo foi empregar a diluição de aerossol para análise de diferentes medicamentos líquidos, diluídos em HCl 1% (v v⁻¹) em diferentes proporções, para a determinação de Ag, As, Au, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ir, Li, Mo, Ni, Os, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru, Sb, Se, Sn, Tl e V segundo os critérios da USP Capítulo 232 e validar o procedimento de acordo com os critérios da USP Capítulo 233. Planejamentos fatoriais completos (PFC) 2³⁻⁰ foram realizados para estudar os efeitos de parâmetros do plasma e suas interações: proximidade do plasma (mm); vazão de gás He (mL min⁻¹); e vazão de gás diluidor (L min⁻¹), assim como a formação do íon m/z 75, oriundo das espécies ⁷⁵As⁺ e ⁴⁰Ar³⁵Cl⁺. Os resultados do PFC mostraram que o uso de diluição de aerossol, combinado com o uso da cela de colisão com He, oferece condições robustas de trabalho (¹⁴⁰Ce²⁺/¹⁴⁰Ce⁺<0,9% e ¹⁴⁰Ce¹⁶O⁺/¹⁴⁰Ce⁺<0,3%), além de indicar que o uso da diluição de aerossol possui impacto diferente na sensibilidade de elementos com diferentes valores de m/z (⁵¹V, ⁵²Cr, ⁵⁹Co, ⁶⁰Ni e ⁶³Cu tem sua sensibilidade diminuída 2 vezes mais do que os demais elementos estudados, por exemplo). O estudo da formação do íon m/z 75 indicou que, mesmo com variadas concentrações de HCl (0,83 a 8,33 %, v v⁻¹), o uso da diluição de aerossol combinado com o uso da cela de colisão faz com que a contribuição de sinal do isóbaro ⁴⁰Ar³⁵Cl⁺ sobre ⁷⁵As seja mínima (6% em 1 µg L⁻¹, com [HCl] = 4.57 % v v⁻¹). Os resultados dos procedimentos de validação estabelecidos pelo Capítulo 233 da USP para a amostra A atenderam a todos os critérios de aceitação com sucesso, com parâmetros de desempenho apropriados (R>0,995, RSD<6,2% para testes de precisão, RSD<14% para o teste de precisão intermediária e recuperações entre 88-125% para os testes de adição e recuperação com diferentes valores de J). O uso de diluição de aerossol para determinação multielementar de medicamentos líquidos oferece não só robustez analítica como também evita o processo de digestão da amostra, evitando contaminações e incompatibilidade de certos reagentes usados no preparo com os analitos.

Palavras-chave: USP 232, USP 233, ICP-MS, diluição de aerossol, medicamento líquido

ABSTRACT

Lorençatto, R. **Aerosol dilution as a direct sampling alternative to the determination of elemental impurities in liquid drug samples using ICP-MS.** 2020. 111 p. Professional Master Thesis - Graduate Program Technology in Chemistry and Biochemistry. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

The determination of elemental impurities in medicines has a fundamental role in pharmaceutical laboratories in recent years. Chapters 232 and 233 of the United States Pharmacopeia (USP) define permitted daily exposures for Ag, As, Au, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ir, Li, Mo, Ni, Os, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru, Sb, Se, Sn, Tl and V and the validation procedures for the analysis of different classes of drugs, respectively. The use of mass spectrometry with inductively activated plasma (ICP-MS) is recommended by USP Chapter 233 and has proved analytical performance in several applications. Aerosol dilution consists of applying a perpendicular flow of argon gas to the aerosol flow prior to its insertion into the plasma, bringing advantages such as less exposure of the instrument to the sample matrix and less probability of isobaric polyatomic interferences. The objective of this study was to use aerosol dilution for the analysis of different drugs, diluted in 1% HCl ($v v^{-1}$) in different proportions, to determine Ag, As, Au, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ir, Li, Mo, Ni, Os, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru, Sb, Se, Sn, Tl and V according to USP Chapter 232 requirements and validate the procedure according to USP Chapter 233. Full factorial design of experiments 2^{3-0} were executed to study the effects of plasma parameters and their interactions – sample depth (mm), He gas flow ($mL min^{-1}$) and diluting gas flow ($L min^{-1}$), as well as the formation of the m/z 75 ion, which can be from $^{75}As^+$ or $^{40}Ar^{35}Cl^+$. The results of the PFC showed that the use of aerosol dilution, combined with the use of the collision cell with He, offers robust working conditions ($^{140}Ce^{2+}/^{140}Ce^+ < 0.9\%$ and $^{140}Ce^{16}O^+/^{140}Ce^+ < 0.3\%$), and indicate that the use of aerosol dilution has a different impact on the sensitivity of elements with different values of m/z (^{51}V , ^{52}Cr , ^{59}Co , ^{60}Ni and ^{63}Cu has its sensitivity decreased 2 times more than the other elements studied, for example). The study of m/z 75 ion formation indicated that, even with different concentrations of HCl (0.83 to 8.33%, $v v^{-1}$), the use of aerosol dilution combined with the use of the collision cell with He makes the signal contribution of $^{40}Ar^{35}Cl^+$ minimal over $^{75}As^+$ (6% in $1 \mu g L^{-1}$, with $[HCl] = 4.57\% v v^{-1}$). The results of the validation procedures established by Chapter 233 of USP for sample A met all the acceptance criteria successfully, with appropriate performance parameters ($R > 0.995$, $RSD < 6.2\%$ for accuracy tests, $RSD < 14\%$ for the intermediate precision test and recoveries between 88-125% for spiking tests with different values of J). The use of aerosol dilution for multi-element determination of liquid medications offers not only analytical robustness but also skips the sample digestion process, avoiding contamination and incompatibility of certain reagents used in the preparation with the analytes.

Keywords: USP 232, USP 233, ICP-MS, aerosol dilution, liquid drugs

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CPS	Contagens por segundo.
DA	Diluição de aerossol
DEC	Discriminação por energia cinética
DIC	Dissociação induzida por colisão.
DMD	Dosagem máxima diária (g) permitida do medicamento
EI	Energia de ionização
EMD	Eletromultiplicadora com dinodos
FD	Fator de diluição
ICH Q3D	Conselho Internacional para Harmonização de Requerimentos Técnicos de Medicamentos para uso Humano: Guia para Impurezas Elementares Q3D (R1) (do inglês, <i>International Council for Harmonization of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use: Guideline for Elemental Impurities</i>)
ICP-MS	Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (do inglês, <i>Inductively coupled plasma mass spectrometry</i>)
ICP OES	Espectrometria de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado (do inglês, <i>Inductively coupled plasma optical emission spectrometry</i>)
J	Concentração da impureza elementar na solução preparada da amostra, se esta estiver na concentração limite estabelecida pelo Capítulo 232 da USP, na dosagem máxima diária do medicamento e considerando o fator de diluição empregado no preparo da amostra.
LQ	Limite de quantificação
LQM	Limite de quantificação do método
m/z	Razão entre massa e carga
OG	Ordem de grandeza
ORS4®	Sistema de reação octapolar de quarta geração (do inglês, <i>octapole reaction system</i>)

PDE	Exposição máxima diária, em $\mu\text{g dia}^{-1}$ (do inglês, <i>permissible daily exposure</i>)
PFC	Planejamento fatorial completo
PI	Padrão interno
PVC	Policloreto de polivinila (do inglês, <i>polyvinyl chloride</i>)
Q _{SPL}	Quantidade de solvente introduzido no plasma (do inglês, <i>quantity of solvent plasma load</i>)
RF	Radiofrequência
RSD	Desvio padrão relativo (do inglês, <i>relative standard deviation</i>)
USP	Farmacopéia dos Estados Unidos (do inglês, <i>United States Pharmacopeia</i>)
USP <232,233>	Referência aos Capítulos 232 e 233 da USP

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Exemplos de sistemas de (a) digestão em vaso fechado assistida por micro-ondas (modelo 5000, Anton-Paar, Fonte: www.antonpaar.com), (b) ICP OES (modelo 5900, Agilent Technologies, Fonte: www.agilent.com) e (c) ICP-MS (modelo 7900, Agilent Technologies, Fonte: www.agilent.com).....	26
Figura 2: Arranjo esquemático de um ICP-MS com cela de colisão/reação e quadrupolo (Agilent Technologies Inc). Fonte: Agilent Technologies Inc.....	34
Figura 3: (a) Nebulização convencional produzido por um nebulizador típico utilizado em sistemas de ICP-MS ¹⁵ e (b) ilustração da diluição de aerossol (Agilent Technologies Inc.). Fonte: www.agilent.com	36
Figura 4: Soluções diluídas 100, 75, 50, 25, 20, 10 e 5x das amostras (a) A, (b) B, (c) C, (d) D, e (e) E.	48
Figura 5: Formação de íons com dupla carga ($^{140}\text{Ce}^{2+}/^{140}\text{Ce}^{+}$) (%) em diferentes diluições e condições de aquisição para as amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.....	48
Figura 6: Formação de íons óxido (%) em diferentes diluições e condições de aquisição para as Amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.....	50
Figura 7: Processo de formação de íons em um sistema de ICP-MS.....	52
Figura 8: Intensidade de sinal (CPS) de ^7Li em quatro diferentes modos de diluição de aerossol, em soluções diluídas das amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.....	53
Figura 9: Intensidade de sinal (CPS) de ^{105}Pd em quatro diferentes modos de diluição de aerossol, em soluções diluídas das amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.....	54
Figura 10: Intensidade de sinal (CPS) de ^{197}Au em quatro diferentes modos de diluição de aerossol, em soluções diluídas das amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.....	55
Figura 11: Intensidade de sinal (CPS) de ^{107}Ag em quatro diferentes modos de diluição de aerossol, em soluções diluídas das amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.....	56

Figura 12: Intensidade de sinal (CPS) de ^{189}Os em quatro diferentes modos de diluição de aerossol, em soluções diluídas das amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.....	57
Figura 13: Intensidade de sinal (CPS) de ^{202}Hg em quatro diferentes modos de diluição de aerossol, em soluções diluídas das amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.....	59
Figura 14: Diagrama de Pareto para os valores de efeitos de primeira e segunda ordem, definidos pelo modelo estatístico do PFC $2^{(3-0)}$ das variáveis independentes, para $^{140}\text{Ce}^{2+}/^{140}\text{Ce}^+$. <i>Sample depth</i> (mm): aproximação do plasma (mm); <i>He gas flow</i> (mL min^{-1}): vazão de gás He (mL min^{-1}); <i>Dilution gas flow</i> (L min^{-1}): vazão de gás diluidor (L min^{-1}); <i>By</i> : Interação entre dois efeitos.....	63
Figura 15: Valores observados (<i>observed</i>) e preditos (<i>predicted</i>) pelo modelo estatístico do PFC $2^{(3-0)}$ das variáveis independentes para $^{140}\text{Ce}^{2+}/^{140}\text{Ce}^+$	64
Figura 16: Superfícies de resposta para a formação de íons dupla-carga ($^{140}\text{Ce}^{2+}/^{140}\text{Ce}^+$), considerando (a) vazão de gás diluidor (L min^{-1}) e vazão de gás He (mL min^{-1}), com a aproximação do plasma fixa em 8,5 mm e (b) vazão de gás diluidor (L min^{-1}) e aproximação do plasma (mm), com a vazão de gás He fixo em 4,5 mL min^{-1} . <i>He gas flow</i> (mL min^{-1}): de gás He (mL min^{-1}); <i>Dilution gas flow</i> (L min^{-1}): vazão de gás diluidor (L min^{-1}); <i>Sample depth</i> (mm): aproximação do plasma (mm).....	65
Figura 17: Diagrama de Pareto para os valores de efeitos de primeira e segunda ordem, definidos pelo modelo estatístico do PFC $2^{(3-0)}$ das variáveis independentes, para $^{140}\text{Ce}^{16}\text{O}^+ / ^{140}\text{Ce}^+$. <i>Sample depth</i> (mm): aproximação do plasma (mm); <i>He gas flow</i> (mL min^{-1}): vazão de gás He (mL min^{-1}); <i>Dilution gas flow</i> (L min^{-1}): vazão de gás diluidor (L min^{-1}); <i>By</i> : Interação entre dois efeitos.....	67
Figura 18: Valores observados (<i>observed</i>) e preditos (<i>predicted</i>) pelo modelo estatístico do PFC $2^{(3-0)}$ das variáveis independentes para $^{140}\text{Ce}^{16}\text{O}^+ / ^{140}\text{Ce}^+$	68
Figura 19: Superfície de resposta para a formação de íons óxido ($^{140}\text{Ce}^{16}\text{O}^+ / ^{140}\text{Ce}^+$), considerando vazão de gás diluidor (L min^{-1}) e vazão de gás He (mL min^{-1}), com a aproximação do plasma fixa em 8,5 mm; <i>He gas flow</i> (mL min^{-1}): vazão de gás He (mL min^{-1}); <i>Dilution gas flow</i> (L min^{-1}): vazão de gás diluidor (L min^{-1}).....	68
Figura 20: Diagrama de Pareto para os valores de efeitos de primeira e segunda ordem, definidos pelo modelo estatístico do PFC $2^{(3-0)}$ das variáveis independentes, para	

formação de m/z 75 em solução de HCl com $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de As. *Sample depth* (mm): aproximação do plasma (mm); *He gas flow* (mL min^{-1}): vazão de gás He (mL min^{-1}); *Dilution gas flow* (L min^{-1}): vazão de gás diluidor (L min^{-1}); *By*: Interação entre dois efeitos.....70

Figura 21: Diagrama de Pareto para os valores de efeitos de primeira e segunda ordem, definidos pelo modelo estatístico do PFC $2^{(3-0)}$ das variáveis independentes, para formação de m/z 75 em solução de HCl. *Sample depth* (mm): aproximação do plasma (mm); *He gas flow* (mL min^{-1}): vazão de gás He (mL min^{-1}); *Dilution gas flow* (L min^{-1}): vazão de gás diluidor (L min^{-1}); *By*: Interação entre dois efeitos.....71

Figura 22: Valores observados (*observed*) e preditos (*predicted*) pelo modelo estatístico do PFC $2^{(3-0)}$ das variáveis independentes para formação de m/z 75 em solução de HCl com $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de As.....72

Figura 23: Valores observados (*observed*) e preditos (*predicted*) pelo modelo estatístico do PFC $2^{(3-0)}$ das variáveis independentes para formação de m/z 75 em solução de HCl com $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de As.....72

Figura 24: Superfícies de resposta para a formação de íons com m/z 75, considerando vazão de gás diluidor (L min^{-1}) e vazão de gás He (mL min^{-1}), com a aproximação do plasma fixa em 8,5 mm para solução de HCl (a) com adição de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de As e (b) sem adição de As. *He gas flow* (mL min^{-1}): vazão de gás He (mL min^{-1}); *Dilution gas flow* (L min^{-1}): vazão de gás diluidor (L min^{-1}).....73

Figura 25: Efeitos padronizados (valor absoluto) sobre a sensibilidade para Ag, As, Au, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ir, Li, Mo, Ni, Os, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru, Sb, Se, Sn, Tl e V das (a) variáveis independentes [aproximação do plasma (mm), vazão de gás diluidor (L min^{-1}) e vazão de gás He (mL min^{-1})] e (b) suas interações.....75

Figura A1: Intensidade de sinal (CPS) de ^{51}V em quatro diferentes modos de diluição de aerossol, em soluções diluídas das amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.....99

Figura A2: Intensidade de sinal (CPS) de ^{52}Cr em quatro diferentes modos de diluição de aerossol, em soluções diluídas das amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.....99

Figura A3: Intensidade de sinal (CPS) de ^{59}Co em quatro diferentes modos de diluição de aerossol, em soluções diluídas das amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.....	100
Figura A4: Intensidade de sinal (CPS) de ^{60}Ni em quatro diferentes modos de diluição de aerossol, em soluções diluídas das amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.....	100
Figura A5: Intensidade de sinal (CPS) de ^{63}Cu em quatro diferentes modos de diluição de aerossol, em soluções diluídas das amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.....	101
Figura A6: Intensidade de sinal (CPS) de ^{75}As em quatro diferentes modos de diluição de aerossol, em soluções diluídas das amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.....	101
Figura A7: Intensidade de sinal (CPS) de ^{78}Se em quatro diferentes modos de diluição de aerossol, em soluções diluídas das amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.....	102
Figura A8: Intensidade de sinal (CPS) de ^{95}Mo em quatro diferentes modos de diluição de aerossol, em soluções diluídas das amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.....	102
Figura A9: Intensidade de sinal (CPS) de ^{101}Ru em quatro diferentes modos de diluição de aerossol, em soluções diluídas das amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.....	103
Figura A10: Intensidade de sinal (CPS) de ^{103}Rh em quatro diferentes modos de diluição de aerossol, em soluções diluídas das amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.....	103
Figura A11: Intensidade de sinal (CPS) de ^{111}Cd em quatro diferentes modos de diluição de aerossol, em soluções diluídas das amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.....	104
Figura A12: Intensidade de sinal (CPS) de ^{118}Sn em quatro diferentes modos de diluição de aerossol, em soluções diluídas das amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.....	104

Figura A13: Intensidade de sinal (CPS) de ^{121}Sb em quatro diferentes modos de diluição de aerossol, em soluções diluídas das amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.....	105
Figura A14: Intensidade de sinal (CPS) de ^{137}Ba em quatro diferentes modos de diluição de aerossol, em soluções diluídas das amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.....	105
Figura A15: Intensidade de sinal (CPS) de ^{193}Ir em quatro diferentes modos de diluição de aerossol, em soluções diluídas das amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.....	106
Figura A16: Intensidade de sinal (CPS) de ^{195}Pt em quatro diferentes modos de diluição de aerossol, em soluções diluídas das amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.....	106
Figura A17: Intensidade de sinal (CPS) de ^{205}Tl em quatro diferentes modos de diluição de aerossol, em soluções diluídas das amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.....	107
Figura A18: Intensidade de sinal (CPS) de ^{208}Pb em quatro diferentes modos de diluição de aerossol, em soluções diluídas das amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.....	107
Figura A19: Contra capa do artigo R. Lorençatto , G. G. A. de Carvalho, P. V. Oliveira, Direct analysis of liquid drugs by ICP-MS using aerosol dilution, Journal of Analytical Atomic Spectrometry, Vol 35, n. 10, Outubro 2020, p. 2077-2396.....	108

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: PDEs para diferentes vias de administração para Ag, As, Au, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ir, Li, Mo, Ni, Os, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru, Sb, Se, Sn, Tl e V, definidos no Capítulo 232 da USP, harmonizados com o ICH Q3D.....	23
Tabela 2: Características das técnicas de ICP OES e ICP-MS (sistemas Agilent Technologies).....	27
Tabela 3: Condições operacionais do ICP-MS.....	40
Tabela 4: Amostras de medicamentos líquidos consideradas neste trabalho e suas características.....	42
Tabela 5: Características dos modos de aquisição de dados para estudo de diluição das amostras A, B, C, D e E.....	43
Tabela 6. Níveis de variância para os fatores independentes usados nos experimentos do PFC.....	44
Tabela 7: Diluições e valores de J para as amostras A, B, C, D e E.....	60
Tabela 8: Resultados dos testes de detectabilidade como parte do protocolo de validação do Capítulo 233 da USP, usando a amostra A, para Ag, As, Au, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ir, Li, Mo, Ni, Os, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru, Sb, Se, Sn, Tl and V.....	78
Tabela 9: Resultados do teste de precisão como parte do protocolo de validação do capítulo 233 da USP, usando a amostra A para Ag, As, Au, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ir, Li, Mo, Ni, Os, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru, Sb, Se, Sn, Tl e V.....	79
Tabela 10: Limites de quantificação (LOQ) para o método proposto e MLOQ para a amostra A para Ag, As, Au, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ir, Li, Mo, Ni, Os, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru, Sb, Se, Sn, Tl e V, linearidade (R) e teste de recuperação como parte do protocolo de validação do capítulo 233 da USP.....	81
Tabela 11: Resultados da precisão intermediária (n = 12) como parte do protocolo de validação do Capítulo 233 da USP para a amostra A para Ag, As, Au, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ir, Li, Mo, Ni, Os, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru, Sb, Se, Sn, Tl e V.....	83
Tabela 12: Resultados para o teste quantitativo de adição de 0,50J nas amostras B a E, como parte do protocolo de validação do capítulo 233 da USP, usando o método proposto.....	85

Tabela 13: LQMs para Ag, As, Au, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ir, Li, Mo, Ni, Os, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru, Sb, Se, Sn, Tl e V para as amostras B a E.....86

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	21
1.1. Dados atuais sobre o consumo de medicamentos, os Capítulos 232 e 233 da USP e desafios da indústria farmacêutica para a determinação de impurezas elementares.....	21
1.2. A técnica de ICP-MS, seus componentes e principais características.....	29
1.3 A utilização de He para eliminação de interferência isobáricas e alternativas para redução de efeito de matriz.....	34
2. OBJETIVOS.....	38
2.1. Objetivos específicos.....	38
3. MATERIAIS E MÉTODOS	39
3.1. Instrumentação.....	39
3.2. Reagentes e soluções padrão.....	40
3.3. Amostras.....	41
3.4. Métodos.....	43
3.4.1. Estudo de diluições das amostras A, B, C, D e E.....	43
3.4.2. Planejamentos Fatoriais Completos (PFFs).....	44
3.4.3. Preparo de amostras para experimentos dos PFCs.....	45
3.4.4. Preparo das amostras segundo protocolo do Capítulo 233 da USP.....	46
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	47
4.1. Estudo das diluições das amostras A, B, C, D e E.....	47
4.2. Estudo e otimização do método utilizando PFCs 2 ⁽³⁻⁰⁾ : avaliação de parâmetros de robustez (formação de íons óxido [¹⁴⁰ Ce ¹⁶ O ⁺ / ¹⁴⁰ Ce ⁺] e com dupla carga [¹⁴⁰ Ce ²⁺ / ¹⁴⁰ Ce ⁺]);	

de formação do íon m/z 75 e de sensibilidade para Ag, As, Au, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ir, Li, Mo, Ni, Os, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru, Sb, Se, Sn, Tl e V.....	61
4.2.1. Estudo da formação de íons com dupla carga [$^{140}\text{Ce}^{2+}/^{140}\text{Ce}^{+}$].....	61
4.2.2. Estudo da formação de íons óxido [$^{140}\text{Ce}^{16}\text{O}^{+}/^{140}\text{Ce}^{+}$].....	65
4.2.3. Estudo da formação de íons m/z 75.....	69
4.2.4. Estudo da sensibilidade para Ag, As, Au, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ir, Li, Mo, Ni, Os, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru, Sb, Se, Sn, Tl e V.....	74
4.3. Validação do procedimento segundo os critérios do Capítulo 233 da USP para a Amostra A.....	77
4.3.1. Testes de limite.....	77
4.3.2. Testes quantitativos.....	80
4.3.3. Testes quantitativos para as amostras B a E (validação parcial segundo critérios do Capítulo 233 da USP).....	84
5. CONCLUSÕES.....	87
REFERÊNCIAS.....	90
APÊNDICE.....	99

1. INTRODUÇÃO

1.1. **Dados atuais sobre o consumo de medicamentos, os Capítulos 232 e 233 da USP e desafios da indústria farmacêutica para a determinação de impurezas elementares**

O Brasil e o mundo estão consumindo cada vez mais medicamentos. Dados dos Relatórios de Comercialização enviados à Câmara de Regulação do Mercado de Medicamentos¹ mostram que, de 2005 a 2018, houve um crescimento de 348% no faturamento do mercado farmacêutico brasileiro. Paralelamente, os gastos com medicamentos no mundo tendem a crescer, com valores que podem ultrapassar US\$ 1,5 trilhão em 2023. Em 2013, o Brasil ocupava o oitavo lugar dos países que mais consumiam medicamentos, superando Espanha, Canadá, Índia e Coréia do Sul, enquanto em 2018 passou a ser o 7º maior mercado mundial e, segundo projeções, em 2023, ocupará o 5º lugar, perdendo apenas para os Estados Unidos, China, Japão e Alemanha. É inegável, portanto, a expressão do mercado brasileiro para o consumo de medicamentos,² o que justifica a ausência de crise econômica neste segmento, fato observado nos últimos anos para vários outros mercados tais como construção civil, imobiliário e automotivo.

Com o aumento agressivo da demanda por medicamentos no Brasil e no mundo, a entrada de novos fabricantes no mercado e a expansão de portfólio de produtos de indústrias já estabelecidas traz, dentre outros desafios, a necessidade de garantir a qualidade final do medicamento ofertado para as pessoas. No Brasil, a ANVISA³ regulamenta a atuação de empresas farmacêuticas, e para o atendimento de parâmetros

relacionados à qualidade do medicamento diversos procedimentos analíticos são realizados no produto final, tais como testes de estabilidade em condições controladas, determinação de compostos extraíveis e lixiviáveis, determinação de produtos de degradação e determinação de impurezas elementares.

A presença de determinados elementos em medicamentos^{4,5} pode trazer uma série de problemas de estabilidade e funcionalidade do produto final. Sabe-se que diversos elementos, como Cr e Ni por exemplo, podem migrar de sistemas de produção do medicamento (por exemplo, tubulações e tanques de mistura). Já outros elementos, como por exemplo os metais nobres (Au, Ir, Pt, Pd e Os), frequentemente utilizado em catalisadores⁵ usados em processos de síntese de diferentes ingredientes da formulação final do medicamento, podem eventualmente contaminar estes ingredientes e, por consequência, o produto acabado, desencadeando uma possível descaracterização do princípio ativo e até atribuir toxicidade ao medicamento, seja pela produção de novas moléculas ou pela ação do próprio elemento no organismo humano.

A determinação de impurezas elementares em medicamentos era realizada com base no protocolo estabelecido pelo Capítulo 231 da USP,⁶ onde as amostras eram previamente calcinadas, retomadas em meio aquoso em pH ácido e adicionadas de solução de H₂S, sendo o eventual precipitado (sulfetos de Ag, As, Bi, Cd, Cu, Hg, Mo, Pb, Sb e Sn) comparado com sulfeto de chumbo oriundo de uma solução de 10 mg L⁻¹ de Pb. Por se tratar de um método sujeito à interpretações do analista, e por isso não é considerado robusto, a revisão deste Capítulo iniciou-se em 2010⁷ e deu origem aos Capítulos 232⁸ e 233,⁹ em vigor deste Janeiro de 2018,⁷ onde são estabelecidos os PDEs (em µg dia⁻¹) para Ag, As, Au, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ir, Li, Mo, Ni, Os, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru, Sb, Se, Sn, Tl e V por diferentes vias de administração de medicamentos (oral,

inalatória e parenteral), e os testes de limite e quantitativos para a validação do procedimento de análise. Além da USP, outras Farmacopéias internacionais também possuem diretrizes para impurezas elementares, sendo a Europeia a mais relevante.¹⁰

Os parâmetros da Farmacopéia Europeia para impurezas elementares são definidos no guia ICH Q3D¹¹ e, recentemente, os PDEs da USP <232,233> e ICH Q3D foram harmonizados⁵ para facilitar a regulamentação da manufatura de medicamentos mundialmente (Tabela 1).

Tabela 1: PDEs para diferentes vias de administração para Ag, As, Au, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ir, Li, Mo, Ni, Os, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru, Sb, Se, Sn, Tl e V, definidos no Capítulo 232 da USP, harmonizados com o ICH Q3D.

Elemento	Classe	PDE ($\mu\text{g dia}^{-1}$)		
		Oral	Parenteral	Inalatório
Cd	1	5	2	2
Pb	1	5	5	5
As	1	15	15	2
Hg	1	30	3	1
Co	2A	50	5	3
V	2A	100	10	1
Ni	2A	200	20	5
Tl	2A	8	8	8
Au	2B	100	100	1
Pd	2B	100	10	1
Ir	2B	100	10	1
Os	2B	100	10	1
Rh	2B	100	10	1
Ru	2B	100	10	1
Se	2B	150	80	130
Ag	2B	150	10	7
Pt	2B	100	10	1
Li	3	550	250	25
Sb	3	1.200	90	20
Ba	3	1.400	700	300
Mo	3	3.000	1.500	10
Cu	3	3.000	300	30
Sn	3	6.000	600	60
Cr	3	11.000	1.100	3

Todo procedimento de análise de medicamentos que visa cumprir os limites estabelecidos no Capítulo 232 da USP, deve seguir o protocolo de validação e os critérios de aceitação estabelecidos no Capítulo 233 da USP, para avaliação dos limites do método e dos procedimentos quantitativos. Os testes e critérios são:⁹

a) Procedimentos de limite

- I. Detectabilidade: São preparadas quatro soluções padrões, contendo os elementos na concentração-alvo; com amostra e padrão contendo os elementos na concentração-alvo (concentração esperada das impurezas); com amostra e padrão contendo os elementos a 80% da concentração-alvo e apenas com amostra. Os critérios de aceitação são (i) que a medição da solução com amostra e padrão contendo os elementos na concentração-alvo forneça resposta instrumental igual ou superior à medição da solução com padrão contendo os elementos na concentração-alvo e (ii) que a medição da solução com amostra e padrão contendo os elementos a 80% da concentração-alvo forneça resposta instrumental menor do que a medição da solução com padrão contendo os elementos na concentração-alvo. As respostas instrumentais das soluções de amostra adicionadas de padrão devem ser descontadas das respostas instrumentais dos elementos obtidos para a medição da solução contendo apenas a amostra.
- II. Precisão (repetitividade): Seis soluções independentes contendo a amostra e os elementos na concentração-alvo devem ser preparados e medidos pelo método instrumental. O critério de aceitação é que o RSD entre as seis determinações para cada elemento seja menor que 20%.

- III. Especificidade: O procedimento de análise deve conseguir medir inequivocadamente cada elemento do Capítulo 232 da USP mesmo na presença de interferentes de matriz e outros elementos, analitos ou não.

b) Procedimentos quantitativos:

- I. Acurácia: Deve-se preparar soluções padrão contendo concentrações entre 50-150% do valor da concentração-alvo dos analitos. Antes de qualquer procedimento de preparo (solubilização ou digestão), a amostra deve ser adicionada de padrão com valores entre 50-150% do valor da concentração-alvo dos analitos. O critério de aceitação é que a média (concentração) de três medições apresente recuperação entre 70-150% do valor nominal da adição de padrão para cada analito.
- II. Precisão: Seis soluções independentes contendo a amostra (de um mesmo lote) e os elementos na concentração-alvo devem ser preparados e medidos pelo método instrumental. O critério de aceitação é que o RSD entre as seis determinações para cada elemento seja menor que 20% ($n=6$).
- III. Precisão intermediária: Outras seis soluções independentes contendo a amostra e os elementos na concentração-alvo devem ser preparadas e lidas pelo método instrumental, porém em um dia diferente, com um instrumento diferente, com um analista diferente ou com a combinação destes. Os resultados das medições destas seis amostras devem ser juntados com os resultados do item (II), tornando o número de replicatas

igual a 12. O critério de aceitação é que o RSD entre as doze determinações para cada elemento seja menor que 25% ($n=12$).

- IV. Especificidade: O procedimento de análise deve conseguir medir inequivocadamente cada elemento do Capítulo 232 da USP mesmo na presença de interferentes de matriz e outros elementos, analitos ou não.
- V. Limite de Quantificação, Faixa e Linearidade: Demonstrado se o requerimento de acurácia (item I) foi atendido. Assume-se que o valor de 50% do valor da concentração-alvo é o limite de quantificação do método proposto.

No Capítulo 233 da USP, é também discutido o preparo da amostra, desde uma simples diluição em meio aquoso ou orgânico até a completa mineralização da amostra utilizando sistemas de digestão de amostras em vaso fechado assistida por micro-ondas (Figura 1a), e também os sistemas instrumentais recomendados para a análise da solução obtida através da preparação por ICP OES ou ICP-MS (Figura 1b e 1c), dado o caráter de determinação rápida multielementar e robustez destas técnicas. As principais diferenças entre estes dois sistemas são mostradas na Tabela 2.

Figura 1: Exemplos de sistemas de (a) digestão em vaso fechado assistida por micro-ondas (modelo 5000, Anton-Paar, Fonte: www.antonpaar.com), (b) ICP OES (modelo 5900, Agilent Technologies, Fonte: www.agilent.com) e (c) ICP-MS (modelo 7900, Agilent Technologies, Fonte: www.agilent.com).

Tabela 2: Características das técnicas de ICP OES e ICP-MS (sistemas Agilent Technologies).¹⁵ Fonte: www.agilent.com.

Características	ICP OES	ICP-MS
Forma de medição	Fótons oriundos de transições eletrônicas de átomos ou íons excitados	Massa (com carga associada +1) de isótopos de elementos.
Gases utilizados	Argônio (plasma)	Argônio (plasma) / He (colisão) / H ₂ (reação)
Eliminação de interferências	Desconvolução espectral, utilização de comprimentos de onda alternativos.	DEC, DIC, reação para transferência de carga ou mudança de massa (analito ou interferente)
Faixa concentração de trabalho	µg L ⁻¹ a %	ng L ⁻¹ a %
Limites de detecção	0,1-1 µg L ⁻¹	1-10 ng L ⁻¹
Experiência requerida pelo usuário	Média	Média-Alta
Custo por análise (considerando apenas os gastos específicos do instrumento)	Médio	Alto
Preparo de amostra	Digestão em vaso fechado assistida por micro-ondas, diluição em meio ácido, solubilização em solvente orgânico ou nenhuma (introdução direta no instrumento com eventual diluição).	

De uma forma geral, a técnica de ICP-MS apresenta sensibilidade analítica superior ao ICP OES para todos os elementos previstos no Capítulo 232 da USP,^{12,13,14} porém o investimento em um instrumento de ICP-MS é cerca de duas vezes maior que em um ICP OES. Sendo assim, a escolha de um instrumento de ICP-MS ou ICP OES pelo laboratório farmacêutico depende de basicamente dois fatores:

a) Concentração esperada do analito na amostra preparada

O principal fator que impacta na escolha do instrumento é a concentração máxima permitida do elemento na amostra preparada, definido como concentração-alvo no Capítulo 233 da USP, também chamada de J (Equação 1).⁹ Dependendo da via de administração do medicamento, da dosagem máxima diária e do fator de diluição envolvido no preparo de amostras, as concentrações dos diferentes analitos previstos no Capítulo 232 da USP na solução preparada podem ser na faixa de mg L^{-1} , $\mu\text{g L}^{-1}$ ou até ng L^{-1} :

$$J = \frac{PDE}{DMD.FD} \quad (1)$$

Laboratórios farmacêuticos possuem, em sua maioria, um vasto portfólio de produtos que precisam ser submetidos aos testes do Capítulo 232 da USP. É necessário entender como preparar todas as amostras (estimar o fator de diluição necessário), a via de administração do medicamento, seus PDEs e DMDs para então buscar o instrumento adequado. A vantagem que a técnica de ICP-MS tem sobre ICP OES é que, na primeira, é possível quantificar diferentes elementos em concentrações ultra-traço (ng L^{-1}) até altos valores de mg L^{-1} , enquanto que instrumentos de ICP OES possuem limitações para concentrações, em geral, abaixo de $10 \mu\text{g L}^{-1}$, além da necessidade de acoplar acessórios para aumento da sensibilidade para a determinação de alguns elementos (p.e. geração de hidretos para As e geração de Hg^0).¹³

b) Orçamento disponível para investimento em instrumentos

Apesar de já ter sido mencionado que o mercado farmacêutico está em amplo crescimento, as corporações buscam cada vez mais reduzir custos e

aumentar a lucratividade. Isso impacta diretamente na decisão final da aquisição de um sistema de equipamento de laboratório. Somam-se ao valor do instrumento o investimento na aquisição de um sistema de digestão em vaso fechado com micro-ondas e toda a infra-estrutura necessária para a realização dos ensaios (p.e. padrões multielementares, ácidos ultra-puros, água tipo 1, materiais de laboratório segregados para evitar contaminação cruzada, gestão de resíduos de metais, dentre outros), e muitos laboratórios acabam por adquirir um sistema de ICP OES em virtude da soma de todos os gastos previstos ser menor que considerando um ICP-MS e por realizar ensaios em medicamentos administrados apenas por via oral. No entanto, algumas empresas enfrentam diversos problemas quando operacionalizam os ensaios e verificam que os limites exigidos pelo Capítulo 232 da USP para alguns elementos não conseguem ser atendidos por questões de sensibilidade do instrumento. Além disso, quando deseja-se aumentar o portfólio de produtos, partindo por exemplo para medicamentos inalatórios e injetáveis, que apresentam PDEs menores que os administrados por via oral, levando a menores valores de J, a operacionalização das análises fica completamente comprometida. Laboratórios que partem para a aquisição de um sistema de ICP-MS, por outro lado, contam com uma flexibilidade muito maior de faixa de trabalho independente da demanda atual ou futura.

1.2. A técnica de ICP-MS, seus componentes e principais características.

A técnica de ICP-MS consiste basicamente na determinação de elementos, que possuam isótopos estáveis, de massas e abundâncias conhecidas, carregados

positivamente com carga +1 (m/z), cuja ionização ocorre em um plasma de argônio de alta pureza (normalmente >99,999%) e alta temperatura (cerca de 10.000 K). Possui alta sensibilidade é relativamente rápida e tem caráter multielementar.¹⁵ A determinação da concentração do analito na amostra se dá após a elaboração de uma curva analítica, com preparos de soluções padrões para obtenção de uma curva analítica, normalmente utilizando padrão interno para correção de interferências físicas (tais como variações do movimento peristáltico da bomba, diferenças de viscosidade e tensões superficiais entre padrões e amostras, que levam a diferentes eficiências de nebulização, dentre outros) e variações que podem ser oriundas do transporte dos íon ao longo do espectrômetro de massas. O sistema pode ser operado sem o uso de cela de colisão/reação, sendo necessário empregar equações de correção para matematicamente descontar as contribuições de interferentes isobáricos para os analitos que sofrem deste problema, porém atualmente não é mais comum de se verificar tal condição de operação. Pode-se empregar gases inertes ou reativos para eliminar interferências isobáricas através de diferentes processos (DEC, DIC, transferência de carga ou mudança de massa, do analito ou do interferente).¹⁵

A Figura 2 mostra um arranjo típico de ICP-MS, e os principais componentes são:¹⁶

- a) Sistema de introdução de amostras - É utilizado um nebulizador para transformar a amostra líquida em um aerossol e uma câmara de nebulização (refrigerada para homogeneizar a distribuição das partículas produzidas pelo aerossol antes deste seguir para o plasma). O transporte da amostra para o nebulizador e drenagem da câmara é feita por uma bomba peristáltica utilizando mangueiras plásticas, normalmente de PVC. É utilizado frequentemente um misturador na forma de “T” para adicionar padrão interno on-line, ou seja, um canal da bomba peristáltica é

usado para succionar uma solução de padrão interno e adicioná-lo ao transporte de líquido até o nebulizador. Trata-se de uma forma eficiente de adicionar padrão interno no branco, padrão e amostra sem o trabalho tedioso de bancada, evitando também o erro de preparo.

- b) Compartimento do plasma - É utilizada uma tocha de quartzo que pode ter diferentes diâmetros internos, dependendo da aplicação. Na maioria dos casos, a tocha com injetor de diâmetro de 2.4 mm é utilizada pois confere melhor sensibilidade para soluções aquosas. Argônio é usado como gás do plasma, dada sua característica de elevado potencial de ionização (15,8 eV) que, na condição de plasma, consegue ionizar grande parte dos elementos da tabela periódica; e custo relativamente baixo. É no plasma que os íons são produzidos, contendo os analitos de interesse (M^+) e também uma série de interferências, tais como íons com dupla carga (X^{2+}), íons óxido (XO^+), fótons, elétrons e espécies neutras.
- c) Bombas mecânica e turbomolecular - usadas para criar o vácuo nos compartimentos da interface, octapolo, quadrupolo e EMD. A bomba mecânica gera o vácuo inicial e intermediário do sistema e a bomba turbomolecular é usada para formar o vácuo de $2 \cdot 10^{-3}$ Pa (Ex.: modelo 7900, Agilent Technologies).
- d) Interface - A extração dos íons é feita pelo cone de amostragem (*sampling cone*), com diâmetro interno de 1 mm em geral. Após a entrada pelo cone de amostragem, o feixe de íons se encontra em vácuo de aproximadamente 400 Pa, portanto os gases ali presentes possuem a tendência de se expandirem. O cone de afinamento (*skimmer cone*), com diâmetro interno de 0,1 mm em geral, serve para “afunilar” o feixe de íons antes de entrar nas lentes iônicas e impedir o espalhamento principalmente dos íons com menor massa entre os dois cones.

As lentes iônicas são usadas para extrair os íons com carga positiva. O arranjo das lentes pode mudar para diferentes fabricantes, mas no geral são usadas 4 lentes e em cada uma delas é aplicada uma voltagem para criar um campo elétrico e promover a separação das cargas positivas dos demais constituintes do feixe produzido pelo plasma.

- e) Cella de colisão/reação - O feixe oriundo das lentes iônicas traz consigo cargas positivas, o analito ionizado e potenciais interferências isobáricas. Para remover tais interferências usam-se gases inertes (como He e Xe) ou reativos (H_2 , NH_3 , CH_4 , dentre outros) para realizar processos de DEC, DIC, transferência de carga ou mudança de massa (*mass shift*) do analito ou do interferente em uma câmara com um quadrupolo, sextapolo ou octapolo. O uso de octapolo promove uma área de transmissão maior que arranjos quadrupolares e sextapolares, de modo a aproveitar ao máximo a interação entre o feixe de íons e o gás empregado. De uma forma geral, o objetivo desta etapa é garantir que a contribuição do interferente no sinal do analito seja mínima ou inexistente.
- f) Quadrupolo - Serve como filtro das massas. Empregando combinações de uma corrente direta em um par de polos e uma corrente alternada de radiofrequência no par de polos opostos, é possível filtrar diferentes massas de interesse. Em uma determinada combinação de correntes direta e alternada, um íon de massa específica passa pelo quadrupolo, enquanto as demais massas são instáveis em sua trajetória e acabam sendo rejeitadas na trajetória do feixe de íons. Ainda que a combinação de correntes seja sequencial, na prática, em um método de análise, com várias massas diferentes de analitos, o quadrupolo funciona quase que de

forma simultânea, alternando as combinações de correntes para a passagem de vários analitos rapidamente.

- g) Detector - Na maioria dos instrumentos modernos de ICP-MS, a detecção dos analitos é feita através de uma EMD. O íon atinge o primeiro dinodo da EMD e um elétron secundário é produzido e multiplicado pelos demais dinodos do aparato. Algumas EMDs possuem duas formas de aquisição, o modo pulsado ou o analógico. No modo pulsado, frequentemente usado para pequenas concentrações, usa-se a máxima capacidade da EMD para gerar o maior número possível de elétrons secundários e, então, fornecer um valor de sinal (CPS). Quando a concentração é alta, há abundância de íons sendo produzidos no plasma, e a EMD interrompe o processo de amplificação de sinal e fornece um sinal oriundo do modo analógico. Os instrumentos mais modernos de ICP-MS possuem fatores de conversão entre contagens de modos pulsado e analógico, tornando-os comparáveis entre si e, assim, é possível obter uma ampla faixa de concentração em uma mesma curva analítica (7-10 OGs), aumentando a faixa linear de trabalho.

Figura 2: Arranjo esquemático de um ICP-MS com cela de colisão/reação e quadrupolo (Agilent Technologies Inc). Fonte: Agilent Technologies Inc.

1.3. A utilização de He para eliminação de interferência isobáricas e alternativas para redução de efeito de matriz.

A utilização de hélio como gás de colisão na cela de remoção de interferências isobáricas é amplamente discutida na literatura.¹⁷⁻²² Sua eficiência e facilidade de uso são os pontos principais que levam à escolha deste gás para diversas aplicações, tais como análise de águas,²¹ plantas²⁰ e alimentos.²² De uma forma simplificada,¹⁶ o feixe de íons com o analito, monoatômico, e o interferente isobárico, uma molécula ionizada, passa pela cela de colisão preenchida com He a uma vazão específica. Como a molécula ionizada possui tamanho maior que a do analito, esta terá mais eventos de colisão com

o He do que o analito, portanto perderá mais energia cinética. Através da DEC, uma barreira energética na saída da cela de colisão impede que espécies com menor energia cinética passem para o quadrupolo, eliminando assim a interferência isobárica poliatômica. Um exemplo conhecido da utilização da cela de colisão com He é a resolução da interferência de $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$ sobre $^{75}\text{As}^+$ e este caso é especial porque trata-se de uma interferência poliatômica que contém Ar (abundante no ambiente do plasma), Cl (que pode estar em abundância em determinadas amostras, como por exemplo água do mar ou amostras digeridas com HCl) que incorre sobre o As, que é monoisotópico (ou seja, não é possível trabalhar com outro isótopo que não sofra esta interferência específica) e possui massa 75.

Algumas limitações do uso de He como gás de colisão são conhecidas,¹⁵ como por exemplo a falha de eliminação de $^{14}\text{N}_2^+$ sobre $^{28}\text{Si}^+$ e $^{15}\text{N}^{16}\text{O}^+$ sobre $^{31}\text{P}^+$, pois os tamanhos dos íons moleculares interferentes são próximos aos tamanhos dos analitos ionizados, fazendo com que os eventos de colisão sejam similares, tornando a diferença de energia cinética muito pequena e fazendo com que a DEC seja ineficiente.¹⁶ Para estes casos, usa-se o sistema de reação ou, caso seja necessária a determinação ultra-traço de elementos como Si, S e P, um ICP-MS em tandem.²³

Uma estratégia de redução de interferências causadas pela matriz em análises por ICP-MS é a aplicação da diluição de aerossol,²⁴ processo no qual o spray produzido pelo nebulizador (Figura 3a), já homogeneizado pela câmara de nebulização, é diluído com uma vazão perpendicular de gás argônio antes de ser inserido no plasma (Figura 3b). Esta abordagem foi utilizada na análise de matrizes complexas como urina e água de diálise,²⁵ águas salinas,²¹ solução de mel diluído,²⁶ água subterrânea com alto teor de sais dissolvidos,²⁷ materiais geológicos²⁸ e sais comestíveis.²⁹ Têm-se como principais

vantagens a menor exposição do instrumento à matriz (por exemplo, soluções com altos teores de sais dissolvidos, que causam problemas analíticos como diminuição da robustez do método e desgaste dos componentes da interface) e aumento da robustez do plasma, com menor formação de íons óxido.²⁴ O uso da diluição de aerossol causa, por um lado, a diminuição da sensibilidade em virtude da menor quantidade de analito, por outro, uma menor quantidade de solvente faz com que a temperatura do plasma seja maior, favorecendo o processo de formação dos íons. O aumento dos limites de detecção e quantificação do método quando a diluição de aerossol é usada, portanto, não é equivalente quando é feita a diluição da amostra de forma tradicional, ou seja, na bancada.²⁴

Figura 3: (a) Nebulização convencional produzido por um nebulizador típico utilizado em sistemas de ICP-MS¹⁵ e (b) ilustração da diluição de aerossol (Agilent Technologies Inc.).
Fonte: www.agilent.com.

Existem várias referências na literatura descrevendo o uso de ICP-MS para análise de diferentes medicamentos para atendimento da USP <232,233>, empregando digestão em vaso fechado assistida por micro-ondas.^{12,30-32} Alguns autores reportam o uso de procedimentos de simples diluição de medicamentos líquidos para análise por ICP OES

com excelentes parâmetros de desempenho.³³ No entanto, o uso de diluição de aerossol associado a procedimentos de simples diluição de medicamentos líquidos e análise por ICP-MS para atendimento da USP <232,233> não foi observado em recente busca na literatura, e esta abordagem oferece um potencial benefício operacional para laboratórios farmacêuticos que possuem amostras que não necessitam de digestão, tornando o processo de análise mais rápido, barato e menos suscetível a erros.

2. OBJETIVO

O objetivo principal do projeto foi desenvolver um método de análise de medicamentos líquidos por ICP-MS, com simples diluição das amostras em meio ácido, empregando diluição de aerossol, para atendimento dos Capítulos 232 e 233 da USP.

2.1. Objetivos específicos:

- Investigar o fator de diluição de cinco diferentes medicamentos líquidos, utilizando análise qualitativa de gráficos de diluição em modos diferentes de aquisição (com e sem diluição de aerossol).
- Emprego de PFCs para estudo de (i) formação de íons óxidos (MO^+/M^+), (ii) íons dupla carga (M^{2+}/M^+), (iii) sensibilidade para Ag, As, Au, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ir, Li, Mo, Ni, Os, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru, Sb, Se, Sn, Tl e V e (iiii) formação de íons m/z 75, em uma amostra de medicamento líquido diluída.
- Validação completa segundo o Capítulo 233 da USP para uma amostra de medicamento líquido utilizando o procedimento otimizado com diluição de aerossol, além da execução parcial dos testes de validação para outras quatro amostras de medicamentos.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Instrumentação

Os experimentos foram realizados em um espectrômetro de massas com plasma indutivamente acoplado, modelo Agilent 7900 (Agilent Technologies, Tóquio, Japão). O instrumento é equipado com um gerador de RF de 27 MHz de estado sólido e um sistema ORS4[®] (Agilent Technologies, Tóquio, Japão) para remover interferências isobáricas através de DEC/DIC usando He de alta pureza (99,999%, White Martins, São Paulo, Brasil). Argônio (99,999%, White Martins, São Paulo, Brasil) foi utilizado durante todas as medidas. O sistema foi equipado com uma conexão em T, entre a câmara de nebulização e a tocha, onde uma vazão perpendicular de argônio foi aplicado ao aerossol produzido pelo nebulizador, diluindo-o. A soma das vazões de gás de nebulização e de gás de diluição foi ajustada em 1,00 L min⁻¹ em todas as medições. Os parâmetros de operação do ICP-MS são mostrados na Tabela 3, para as condições de otimização e condições otimizadas, além das massas monitoradas em todas as etapas do trabalho, até novo aviso. As voltagens das lentes iônicas e octapolares foram otimizadas usando uma solução de 10 µg L⁻¹ de Li, Y, Tl, Co e Mg (Agilent Technologies, Santa Clara, EUA) usando a ferramenta de *autotune* do *software* MassHunter[®] v.4.3 (Agilent Technologies, Tóquio, Japão), conforme recomendação do fabricante.

Tabela 3: Condições operacionais do ICP-MS.

Parâmetro	Valor
Potência (W)	1.550
Vazão de Ar - Plasma (L min ⁻¹)	15
Vazão de Ar - Auxiliar (L min ⁻¹)	1.0
Aproximação do plasma (mm)	7 – 10 (8)*
Tipo de câmara de nebulização	Double-pass
Temperatura da câmara de nebulização (°C)	2
Nebulizador	MicroMist®
Vazão de nebulização (L min ⁻¹)	0.55 – 0.85 (0.60)*
Vazão de gás diluidor (L min ⁻¹)	0.15 – 0.45 (0.40)*
Vazão de gás He (mL min ⁻¹)	3.0 – 5.0 (4.0)*
Elementos monitorados (m/z) z=+1	⁷ Li ⁺ , ⁴⁵ Sc ⁺ , ⁵¹ V ⁺ , ⁵² Cr ⁺ , ⁵⁹ Co ⁺ , ⁶⁰ Ni ⁺ , ⁶³ Cu ⁺ , ⁷² Ge ⁺ , ⁷⁵ As ⁺ , ⁷⁸ Se ⁺ , ⁹⁵ Mo ⁺ , ¹⁰¹ Ru ⁺ , ¹⁰³ Rh ⁺ , ¹⁰⁵ Pd ⁺ , ¹⁰⁷ Ag ⁺ , ¹¹¹ Cd ⁺ , ¹¹⁸ Sn ⁺ , ¹²¹ Sb ⁺ , ¹²⁵ Te ⁺ , ¹³⁷ Ba ⁺ , ¹⁴⁰ Ce ⁺ , ¹⁴⁰ Ce ²⁺ , ¹⁷⁵ Lu ⁺ , ¹⁸⁹ Os ⁺ , ¹⁹³ Ir ⁺ , ¹⁹⁵ Pt ⁺ , ¹⁹⁷ Au ⁺ , ²⁰¹ Hg ⁺ , ²⁰⁵ Tl ⁺ , ²⁰⁸ Pb ⁺ , ²⁰⁹ Bi ⁺

* Após processo de otimização

3.2. Reagentes e soluções padrão

Todas as soluções foram preparadas com água Tipo 1 (<18,2 MΩ.cm, Milli-Q®, Millipore, Bedford, MA, EUA). Em geral, HCl (Suprapur®, Sigma-Aldrich, Missouri, EUA) foi utilizado para o preparo das amostras a 1% (v v⁻¹). Quatro padrões comerciais (Agilent Technologies, Santa Clara, EUA) contendo todos os elementos do Capítulo 232 da USP foram combinados e diluídos apropriadamente (Classe 1: As, Cd, Pb e Hg - 15, 5, 5 e 30 mg L⁻¹, respectivamente / Classe 2A: Ni, Ag, Se, V, Tl e Co - 200, 150, 150, 100, 8 e 50

mg L⁻¹, respectivamente / Classe 2B: Au, Ir, Os, Pd, Pt, Rh e Ru - 100 mg L⁻¹ para cada elemento / Classe 3: Cr, Sn, Cu, Mo, Ba, Sb e Li - 11.000, 6.000, 3.000, 3.000, 1.400, 1.200 e 550 mg L⁻¹, respectivamente), e usados para elaboração das curvas analíticas e adição nas amostras. Uma solução estoque de PI contendo Te, Sc, Ge, In, Lu e Bi (25, 10, 5, 5, 5 e 5 mg L⁻¹, respectivamente) (Agilent Technologies, Santa Clara, EUA) foi diluída 100 vezes e adicionada continuamente durante a execução do protocolo de validação do Capítulo 233 da USP e a análise de amostras.

Uma solução de Ce de 0,5 mg L⁻¹ foi continuamente adicionada na execução dos experimentos iniciais de estudo de diluição das amostras e PFCs e foi preparada a partir de uma solução padrão de Ce 1.000 mg L⁻¹ (Agilent Technologies, Santa Clara, EUA).

3.3. Amostras

Cinco amostras de medicamentos líquidos foram adquiridas em uma farmácia local em São Paulo, SP, Brasil (Tabela 4). Esses medicamentos são acessíveis à população sem receita médica e destinam-se a ser usados por via oral para diferentes distúrbios. O DMD de cada medicamento líquido foi consultado em sua bula. Considerando a DMD e os PDEs orais descritos no Capítulo 232 da USP, foram estudados diferentes fatores de diluição para cada amostra para atingir valores razoáveis de J para Ag, As, Au, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ir, Li, Mo, Ni, Os, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru, Sb, Se, Sn, Tl e V considerando o instrumento utilizado e o procedimento de amostragem proposto. A amostra A foi submetida a todos os procedimentos de validação e as amostras B a E foram submetidas a ensaios resumidos do Capítulo 233 da USP.

Tabela 4: Amostras de medicamentos líquidos consideradas neste trabalho e suas características.

Código da amostra	Princípios ativos	Apresentação	Finalidade	DMD (g dia⁻¹)
A	100 mg mL ⁻¹ de citrato de colina, 50 mg mL ⁻¹ de betaína, 10 mg mL ⁻¹ de racemetionina	Solução amarela	Distúrbios hepáticos	30
B	75 mg L ⁻¹ de simeticona	Suspensão rosa	Desconforto intestinal com gases	0.50
C	13,33 mg mL ⁻¹ guaifenesina 1,33 mg mL ⁻¹ bromidrato de dextrometorfano monohidratado	Xarope vermelho de alta viscosidade	Expectorante	47
D	0,8 mg mL ⁻¹ de cloridrato de bromexina	Xarope rosa de média viscosidade	Tratamento de doenças broncopulmonares	7.7
E	1.757 mg L ⁻¹ NaCl, 60 mg L ⁻¹ de gliconato de zinco, 11,88 g L ⁻¹ de glicose monohidratada, 2.889 mg L ⁻¹ citrato de sódio diidratado, 1.506 mg L ⁻¹ de KCl.	Solução roxa	Substituição de perdas acumuladas de água e eletrólitos	1000*

* DMD considerada para crianças de até 10 kg

3.4. Métodos

3.4.1. Estudo de diluições das amostras A, B, C, D e E

Para os estudos iniciais de diluição das amostras, foram preparadas soluções de cada amostra, diluídas 2x, adicionadas das seguintes concentrações dos elementos do Capítulo 232 da USP: Classe 1: As, Cd, Pb e Hg - 1,5, 0,5, 0,5 e 3 mg L⁻¹, respectivamente / Classe 2A: Ni, Ag, Se, V, Tl e Co - 20, 15, 15, 10, 0,8 e 5 mg L⁻¹, respectivamente / Classe 2B: Au, Ir, Os, Pd, Pt, Rh e Ru - 10 mg L⁻¹ para cada elemento / Classe 3: Cr, Sn, Cu, Mo, Ba, Sb e Li – 1.100, 600, 300, 300, 140, 120 e 55 mg L⁻¹, respectivamente). O fator de diluição de 2x empregado no preparo destas adições foi contabilizado na diluição final da amostra (100, 75, 50, 25, 20, 10 e 5 vezes). Um padrão contendo apenas os elementos na mesma concentração em meio ácido foi preparado e diluído nas mesmas proporções, para controle. As soluções foram lidas em quatro modos diferentes de aquisição de dados, onde em cada um deles a vazão de gás diluidor (mL min⁻¹) e vazão de gás de nebulização (mL min⁻¹) foi diferente (Tabela 5). Os demais parâmetros de operação do ICP-MS são idênticos ao da Tabela 3.

Tabela 5: Características dos modos de aquisição de dados para estudo de diluição das amostras A, B, C, D e E.

Modo de aquisição	Vazão de gás diluidor (L min⁻¹)	Vazão de gás de nebulização (L min⁻¹)
Sem DA	-	1,00
DA+	0,10	0,90
DA++	0,20	0,80
DA+++	0,30	0,70

3.4.2. Planejamentos Fatoriais Completos (PFCs)

Neste estudo, a aproximação do plasma (mm), que é a proximidade do plasma em relação ao cone de amostragem, a vazão de gás He (mL min^{-1}) na célula de colisão e a vazão de gás Ar (L min^{-1}) usado para a diluição do aerossol foram selecionados como variáveis independentes para um PFC $2^{(3-0)}$, com três pontos centrais (Tabela 6). A robustez foi avaliada usando as razões de $^{140}\text{Ce}^{2+}/^{140}\text{Ce}^{+}$ (formação de íons dupla-carga) e $^{140}\text{Ce}^{16}\text{O}^{+}/^{140}\text{Ce}^{+}$ (formação de íons óxido), ambos expressos em %, como variáveis dependentes para o PFC, e o sinal (em CPS) foi usado como resposta de sensibilidade. Para avaliar exclusivamente a formação de íons m/z 75, dois PFCs $2^{(3-0)}$, com três pontos centrais, foram executados usando as condições apresentadas na Tabela 3 (b), com e sem a adição de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de As.

Tabela 6: Níveis de variância para os fatores independentes usados nos experimentos do PFC.

Variável independente	Nível inferior	Ponto central	Nível superior
^a Vazão de gás He (mL min^{-1})	4,0	4,5	5,0
^a Vazão de gás diluidor (L min^{-1})	0,15	0,30	0,45
^a Aproximação do plasma (mm)	7,0	8,5	10
^a Vazão de gás He (mL min^{-1})	3	4	5
^a Vazão de gás diluidor (L min^{-1})	0,15	0,30	0,45
^b [HCl] (% v v ⁻¹)	0,83	4,58	8,33

^aParâmetros utilizados para o estudo da formação de íons óxido ($^{140}\text{Ce}^{16}\text{O}^{+}/^{140}\text{Ce}^{+}$), íons com dupla carga ($^{140}\text{Ce}^{2+}/^{140}\text{Ce}^{+}$) e estudo de sensibilidade para Ag, As, Au, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ir, Li, Mo, Ni, Os, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru, Sb, Se, Sn, Tl e V.

^bParâmetros usados para o estudo da formação de íons m/z 75. A aproximação do plasma foi ajustada para 8,0 mm.

Os dados dos experimentos foram avaliados usando o software *Statistica*® v10, onde informações sobre o modelo estatístico foram obtidas e tratadas. Interações de terceira ordem foram excluídas do modelo. Diagramas de Pareto, que ordena valores baseados em seus valores absolutos, foram elaborados para os efeitos de primeira e segunda ordem, para facilitar a visualização dos efeitos mais significativos. Gráficos de valores preditos pelo modelo estatístico e obtidos experimentalmente foram criados de forma a verificar a exatidão do modelo. Por fim, de forma a verificar o comportamento do modelo nos intervalos estudados das variáveis independentes, superfícies de respostas foram obtidas e interpretadas.

3.4.3. Preparo de amostras para experimentos dos PFCs

Os experimentos foram realizados com a amostra A diluída 50 vezes e adicionada de padrões para resultar na concentração de J [0,0033 (Cd e Pb), 0,0100 (As), 0,0200 (Hg), 0,0333 (Co), 0,0667 (V), 0,1333 (Ni), 0,0053 (Tl) mg L⁻¹; 0,0667 mg L⁻¹ (Au, Pd, Ir, Os, Pt, Rh e Ru); 0,1000 mg L⁻¹ (Se e Ag); 0,3667 (Li), 0,8000 (Sb), 0,9333 (Ba), 2,0000 (Mo e Cu), 4,0000 (Sn) e 7,3333 (Cr) mg L⁻¹]. Esta amostra foi usada nos estudos de formação de íons óxido ($^{140}\text{Ce}^{16}\text{O}^{+}/^{140}\text{Ce}^{+}$), íons com dupla carga ($^{140}\text{Ce}^{2+}/^{140}\text{Ce}^{+}$) e sensibilidade para Ag, As, Au, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ir, Li, Mo, Ni, Os, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru, Sb, Se, Sn, Tl e V.

Para os estudos de formação de m/z 75, soluções de HCl a 0,83; 4,58 e 8,33% (v v⁻¹) foram preparadas com e sem a adição de 100 µg L⁻¹ de As, a partir de um padrão de 1.000 mg L⁻¹ de As (Agilent Technologies, Santa Clara, EUA).

3.4.4. Preparo das amostras segundo protocolo do Capítulo 233 da USP

O procedimento otimizado de análise por ICP-MS foi validado de acordo com o protocolo estabelecido no Capítulo 233 da USP. As soluções contendo a amostra A diluída 50 vezes foram adicionadas de 50, 75, 100, 125 e 150% dos valores de J para Ag, As, Au, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ir, Li, Mo, Ni, Os, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru, Sb, Se, Sn, Tl e V, bem como 12 soluções diferentes da amostra A diluída foram adicionadas com padrões para concentração final no valor de J. Os padrões de calibração foram preparados compreendendo 50-150% dos valores de J para a amostra A.

As amostras B, C, D e E foram diluídas (150, 50, 50 e 10 vezes, respectivamente) e as soluções foram adicionadas com padrão a 50% do valor de J de cada amostra e foram medidas no mesmo procedimento otimizado, mas considerando as curvas de calibração preparadas com soluções, cujas concentrações estavam dentro de 50-150% dos valores de J de cada amostra. As amostras A, B, C, D e E foram diluídas e analisadas pelo método proposto.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Estudo das diluições das amostras A, B, C, D e E

As desvantagens dos procedimentos de *dilute-and-shoot* (preparo de amostra após uma simples diluição com solvente) estão relacionadas às variações nas propriedades físicas e químicas da amostra, como viscosidade e tensão superficial.¹⁶ Na maioria dos casos, esses parâmetros podem induzir interferências físicas, como efeitos de transporte e alterações na eficiência da nebulização nas amostras de teste. As estratégias de diluição geralmente podem superar essas variações, mas há sempre uma condição de comprometimento entre o fator de diluição e as sensibilidades apropriadas dos analito.³³ Medições precisas de múltiplos elementos na faixa ng L^{-1} apresentam um aspecto desafiador, mesmo para a moderna instrumentação de ICP-MS. Para atender aos requisitos da USP <232,233>, a diluição prévia da amostra deve considerar o valor de J, que depende dos valores de DMD e PDE e do LQ (menor concentração de analito quantificável com precisão satisfatória) do instrumento.

Desta forma, nesta etapa inicial do trabalho, as drogas líquidas consideradas foram diluídas em diferentes proporções (Figura 4), e foi empregado $^{140}\text{Ce}^+$ como padrão interno para correção da resposta de Ag, As, Au, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ir, Li, Mo, Ni, Os, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru, Sb, Se, Sn, Tl e V (em CPS). O fator de diluição foi também considerado no valor final em contagens, com a finalidade de comparar o sinal produzido proporcionalmente em diferentes diluições. As soluções foram lidas em quatro modos de aquisição diferentes, onde foram calculados também os valores de formação de íons com dupla carga ($^{140}\text{Ce}^{2+}/^{140}\text{Ce}^+$) (Figura 5) e íons óxido ($^{140}\text{Ce}^{16}\text{O}^+/^{140}\text{Ce}^+$) (Figura 6), em %.

Figura 4: Soluções diluídas 100, 75, 50, 25, 20, 10 e 5x das amostras (a) A, (b) B, (c) C, (d) D, e (e) E.

Figura 5: Formação de íons com dupla carga ($^{140}\text{Ce}^{2+}/^{140}\text{Ce}^{+}$) (%) em diferentes diluições e condições de aquisição para as amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.

Os resultados da formação de íons dupla-carga ($^{140}\text{Ce}^{2+}/^{140}\text{Ce}^{+}$) apresentados na Figura 6 mostram que existe uma tendência de menor formação de íons dupla-carga quando ocorre a diluição de aerossol na faixa estudada neste experimento (0,10 – 0,30 L min⁻¹). A discussão do efeito da diluição de aerossol sobre a formação de íons dupla-carga é descrita com mais detalhes na Seção 4.2.1. A formação de íons dupla-carga se apresentou basicamente constante para as três condições de diluição de aerossol em todas as diluições estudadas (cerca de 1,0 %), com exceção da Amostra E. Sabe-se que na composição desta amostra há um elevado teor de Zn (8,7 mg L⁻¹) e este elemento possui um isótopo de massa 70, cuja abundância é de 0,63%. Este isótopo é isóbaro do íon $^{140}\text{Ce}^{2+}$ e não removível pelo método de DEC/DIC empregado com He, o que explica o aparente aumento da razão de íons dupla-carga com a diminuição da diluição da amostra (valores abaixo de 2,0% para diluições acima de 25 vezes, cerca de 2,0% para 25 e 20 vezes, cerca de 3,0% para 10 vezes e cerca de 5,0% para 5 vezes, considerando a condição sem diluição de aerossol). A amostra E foi diluída 50 vezes e analisada sem adição de Ce como padrão para verificação da existência deste elemento originalmente na amostra, e o resultado foi próximo ao branco. Desta forma, é importante ressaltar que o conhecimento da composição da amostra na avaliação destes parâmetros de desempenho, tal como a formação de íons dupla-carga, é crucial para evitar conclusões errôneas a partir dos resultados. Espera-se, no entanto, que a composição da amostra E não comprometa significativamente a formação de íons com dupla carga, já que as outras amostras, com composições diferentes (como alto teor de matéria orgânica e sais dissolvidos) não apresentaram tal comportamento.

Figura 6: Formação de íons óxido (%) em diferentes diluições e condições de aquisição para as Amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.

A formação de íons óxido apresentou-se baixa (<0,5 %) para todas as condições de aquisição estudadas e para todas as diluições das amostras A, B, C, D e E. Este parâmetro e desempenho indica principalmente que a remoção de interferências isobáricas pelo método de DEC/DIC com He é eficiente usando as condições operacionais do ICP-MS, descritos na Tabela 3. Nota-se pela Figura 6 que as condições de diluição de aerossol DA++ e DA+++ apresentaram formações de óxidos ainda menores do que nas demais condições estudadas. O efeito do uso da diluição de aerossol sobre a formação de íons óxido é discutido com mais detalhes na Seção 4.2.2.

Os resultados do estudo da resposta em CPS de Ag, As, Au, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ir, Li, Mo, Ni, Os, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru, Sb, Se, Sn, Tl e V, nas quatro condições de diluição de aerossol e diluições diferentes da amostra, foram organizados em dois

grupos: os elementos que apresentaram resposta (CPS) coerentes (Grupo A) conforme Figuras A1 a A18 (V, Cr, Co, Ni, Cu, As, Se, Mo, Ru, Rh, Cd, Sn, Sb, Ba, Ir, Pt, Tl e Pb) na seção Anexo; e aqueles que apresentaram respostas (CPS) incoerentes (Grupo B) ao longo de diferentes diluições e condições de aquisição (Li, Pd, Ag, Os, Au e Hg).

Para os elementos do Grupo A, é possível observar que, em geral, a condição DA+ (0,90 L min⁻¹ de vazão de nebulização com 0,10 L min⁻¹ de vazão de gás diluidor) fez com que a intensidade do sinal (CPS) aumentasse em relação à condição sem diluição de aerossol (Sem DA) e em relação a maiores vazões de gás diluidor (DA++ e DA+++). Alguns autores^{16,21,24-29} propõem que a diluição de aerossol, por introduzir menos solvente e analito, faz com que o plasma perca menos energia térmica no processo de formação do íon (Figura 7), permitindo o aumento da população de analitos ionizados e, por consequência, uma maior resposta (CPS). Em contrapartida, quando menos amostra é introduzida no plasma, menos sinal é gerado simplesmente porque há menos analito para gerar seus íons correspondentes. O fenômeno observado para os resultados da condição DA+ pode ser associado à maior tendência a formação de íons por um plasma mais energizado do que pela perda de sinal por existir menos analito sendo introduzido no plasma. Quando ocorre o aumento da diluição de aerossol (DA++ e DA+++), no entanto, a resposta para todos os analitos cai, indicando que, para estas condições, a diminuição de analito no aerossol possui maior representatividade na produção de sinal (CPS) do que o aumento de temperatura proporcionado pela menor introdução de solvente.

Figura 7: Processo de formação de íons em um sistema de ICP-MS.

Outra importante consideração sobre os resultados obtidos para V, Cr, Co, Ni, Cu, As, Se, Mo, Ru, Rh, Cd, Sn, Sb, Ba, Ir, Pt, Tl e Pb é que a variação de sinal (CPS) para as diferentes diluições das amostras A, B, C, D e E foi diferente para os quatro modos de aquisição. Os resultados para o modo “Sem DA” apresentaram grande variação de resultados, sendo o modo “DA+++” o que apresentou a maior estabilidade de sinal, apesar da menor sensibilidade. Estes resultados indicam que o uso de diluição de aerossol pode promover também uma maior robustez analítica.

Arsênio e Se apresentaram resultados superestimados em menores diluições de amostra, se comparados com os controles sem adição de amostra, principalmente para os modos de “Sem DA” e “DA+”. Este fenômeno pode ser atribuído à transferência de carga^{34,35} de C^+ que estes dois elementos estão suscetíveis – e quanto menor for a diluição das amostras dos medicamentos, maior é a concentração de carbono oriundo de diversas fontes (princípio ativo, excipientes, dentre outros). O modo “DA+++” apresentou, em geral, sinal (CPS) das diluições das amostras próximo aos controles correspondentes, indicando um potencial benefício da diluição de aerossol para minimizar o efeito de transferência de carga, que pode superestimar resultados, em especial de As e Se.

Para os elementos do Grupo B os gráficos da CPS estão mostrados nas Figuras 8 a 13.

Figura 8: Intensidade de sinal (CPS) de ^7Li em quatro diferentes modos de diluição de aerossol, em soluções diluídas das amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.

Os elementos Li, Pd, Ag, Os, Au e Hg apresentaram gráficos de sinal (CPS) com diferentes comportamentos entre si. Aparentemente, Li apresentou resultados mais coerentes para amostras A, B, C, D e E diluídas em menores diluições (10 e 5x) nos quatro modos de aquisição do que para maiores diluições, quando comparados com os padrões de controle correspondentes (Figura 8). Este comportamento errático em maiores diluições das amostras A, B, C, D e E pode ser atribuído à correção ineficaz do padrão interno de $^{140}\text{Ce}^+$. Apesar de possuírem primeiras energias de ionização semelhantes (Li = 5,39 eV e Ce = 5,54 eV), a diferença de massa para o analito é alta e ^7Li sofre mais pelo efeito de espaço-carga que ^{140}Ce , afetando as correções em baixas concentrações. É possível observar na literatura³⁶ que os critérios de escolha de padrões internos em ICP-MS é heterogênea, sendo considerados principalmente três características do elemento atuante como PI: (i) proximidade em massa do PI ao isótopo do analito, devido a efeitos de carga espacial; (ii) Primeira energia de ionização

semelhante entre PI e analito; e (iii) tendência nas reações de transferência de carga no plasma. Dependendo da amostra, pode-se ter dois ou mais elementos que atuem satisfatoriamente como PI, e mudanças na composição da amostra podem levar à escolha ainda de outros elementos que corrijam de forma mais exata o resultado.

Figura 9: Intensidade de sinal (CPS) de ^{105}Pd em quatro diferentes modos de diluição de aerossol, em soluções diluídas das amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.

Figura 10: Intensidade de sinal (CPS) de ^{197}Au em quatro diferentes modos de diluição de aerossol, em soluções diluídas das amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.

Ouro e Pd apresentaram resultados incoerentes para a diluição de 100 vezes para as amostras A, B, C, D e E, nos quatro modos de aquisição, porém em diluições de 25 vezes até 5 vezes os sinais (CPS) das soluções diluídas das amostras ficaram mais próximas do sinal (CPS) do controle correspondente (Figuras 9 e 10). Atribui-se este comportamento a algum problema de estabilidade específico do experimento, uma vez que elementos com propriedades químicas semelhantes, como Pt, Rh, Ru e Ir, apresentaram resultados coerentes entre as soluções diluídas das amostras e seus controles correspondentes nos modos de aquisição estudados.

Figura 11: Intensidade de sinal (CPS) de ^{107}Ag em quatro diferentes modos de diluição de aerossol, em soluções diluídas das amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.

A estabilidade da Ag nestes experimentos está intimamente ligada com o meio de HCl 1% (v v^{-1}) empregado no preparo das soluções (Figura 11). É possível observar na Figura 11 que a partir da diluição de 50 vezes, o controle da diluição apresenta contagens menores do que as diluições correspondentes das soluções A, B, C, D e E, nos quatro modos de aquisição estudados. Isto se deu pelo fato de todas as diluições terem sido preparadas em HCl 1% (v v^{-1}), e quanto menor for a concentração de Ag, mais favorecida é a formação de complexos ácidos solúveis AgCl_n^{1-n} (Equações 2 e 3).³⁷ Em maiores concentrações de Ag em solução, e menor concentração de HCl, a tendência da Ag é permanecer como AgCl e precipitar, levando a resultados subestimados, como os observados para as diluições de 50 a 5 vezes. É importante notar que, nas amostras, o sinal observado, mesmo para altas diluições, é maior e isto pode ocorrer pelo fato da própria amostra, em seus princípios ativos, excipientes e veículos, conter íons cloreto,

ocorrendo o fenômeno do íon comum e ressolubilizando parte do AgCl como um complexo solúvel.

Figura 12: Intensidade de sinal (CPS) de ^{189}Os em quatro diferentes modos de diluição de aerossol, em soluções diluídas das amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.

Ósmio apresentou resultados de sinal (CPS) inconsistentes para diluições maiores que 20 vezes, para os quatro modos de aquisição, enquanto as diluições de 10 e 5 vezes apresentaram resultados mais coerentes entre as amostras diluídas e seus controles, principalmente nos modos DA++ e DA+++ (Figura 12). No entanto, as diluições de 75, 50, 25 e 20 vezes apresentaram uma tendência similar de resposta, com aumento sistemático da resposta do padrão de controle com a diminuição da diluição e nos quatro modos de aquisição. É reportado na literatura que Os,³⁸ na presença de ácido nítrico em

solução, é facilmente convertido a OsO_4 , que é volátil. No processo de formação do íon, demonstrado na Figura 12, especialmente na etapa de nebulização da amostra, uma solução contendo íons de Os e também OsO_4 fornecerá resultados superestimados de Os, em virtude da volatilização de OsO_4 . É possível que, nas amostras mais diluídas (portanto com menores concentrações de Os), o efeito da volatilização do OsO_4^- seja mais significativa do que em maiores concentrações, e que eventualmente leva a resultados mais discrepantes.

A comercialização de padrões de Os é normalmente feita em HCl,³⁹ com expressa recomendação para não realizar misturas em meio de ácido nítrico, o que causa impedimentos para a etapa de preparo de amostra com digestão completa. Algumas estratégias de estabilização, como o uso de solução de ácido acético a 0,5% v v⁻¹, tiouréia a 0,01 mol L⁻¹ e ácido ascórbico 0,1 g L⁻¹, são reportadas na literatura para aumentar a estabilidade do Os em solução. O principal motivo para a escolha do meio de HCl 1% (v v⁻¹) deste estudo foi garantir a estabilidade de Os e evitar resultados superestimados deste elemento.

Figura 13: Intensidade de sinal (CPS) de ^{202}Hg em quatro diferentes modos de diluição de aerossol, em soluções diluídas das amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.

Para Hg, um elemento conhecidamente complexo de se trabalhar em rotina devido a problemas de estabilidade e efeito de memória, o comportamento consistente observado para as diluições de 10 e 5 vezes, nas quatro condições de aquisição, mostra que o comportamento errático das demais diluições (100 a 20 vezes) pode ser atribuído a problemas de efeito de memória e estabilização do elemento em solução (Figura 13).

Apesar dos resultados obtidos nesta etapa do trabalho terem sido satisfatórios para V, Cr, Co, Ni, Cu, As, Se, Mo, Ru, Rh, Cd, Sn, Sb, Ba, Ir, Pt, Tl e Pb e inconsistentes para Li, Pd, Ag, Os, Au e Hg, optou-se por seguir com a estratégia de preparo de soluções com HCl 1% (v v⁻¹). O protocolo de validação segundo os critérios do Capítulo 233 da USP para a amostra A foi executado com sucesso antes do tratamento total destes dados.

Com a idéia inicial da resposta do instrumento frente a diferentes diluições das amostras A, B, C, D e E e a depletação de sinal quando diluição de aerossol é empregada,

foram estabelecidos os fatores de diluição para cada amostra, levando em consideração a faixa de trabalho do instrumento, a DMD de cada medicamento e os PDEs de cada elemento para administração em via oral, finalmente estabelecendo o valor de J de cada amostra (Tabela 7).

Tabela 7: Diluições e valores de J para as amostras A, B, C, D e E.

Elemento	Amostra A	Amostra B	Amostra C	Amostra D	Amostra E
	(1:50)	(1:150)	(1:50)	(1:50)	(1:10)
	J (mg L ⁻¹)				J (µg L ⁻¹)
Li	0,367	7,340	0,234	1,426	56
V	0,067	1,334	0,042	0,260	10
Cr	7,333	146,6	4,680	28,60	1.100
Co	0,033	0,666	0,022	0,130	5,0
Ni	0,133	2,660	0,086	0,518	20
Cu	2,000	40,00	1,276	7,780	300
As	0,010	0,200	0,006	0,038	1,5
Se	0,100	2,000	0,064	0,390	15
Mo	2,000	40,00	1,276	7,780	300
Ru	0,067	1,334	0,042	0,260	10
Rh	0,067	1,334	0,042	0,260	10
Pd	0,067	1,334	0,042	0,260	10
Ag	0,100	2,000	0,064	0,390	15
Cd	0,003	0,134	0,002	0,012	0,50
Sn	4,000	80,00	2,560	15,56	600
Sb	0,800	16,00	0,510	3,120	120
Ba	0,933	18,66	0,596	3,640	140
Os	0,067	1,334	0,042	0,260	10
Ir	0,067	1,334	0,042	0,260	10
Pt	0,067	1,334	0,042	0,260	10
Au	0,067	1,334	0,042	0,260	10
Hg	0,020	0,400	0,012	0,078	3.0
Tl	0,005	0,106	0,004	0,020	0,80
Pb	0,003	0,066	0,002	0,012	0,50

4.2. Estudo e otimização do método utilizando PFCs 2⁽³⁻⁰⁾

Nesta seção, serão discutidos os resultados obtidos a partir dos PFCs dos efeitos que a aproximação do plasma (mm), vazão de gás diluidor (L min⁻¹) e vazão de gás He (mL min⁻¹) tem na formação de íons óxido (¹⁴⁰Ce¹⁶O⁺/¹⁴⁰Ce⁺), formação de íons com dupla carga (¹⁴⁰Ce²⁺/¹⁴⁰Ce⁺) e na sensibilidade de Ag, As, Au, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ir, Li, Mo, Ni, Os, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru, Sb, Se, Sn, Tl e V. Para o estudo da formação dos íons com *m/z* 75, que podem ser oriundos de ⁴⁰Ar³⁵Cl⁺ ou ⁷⁵As⁺, as variáveis independentes foram as vazões de gás diluidor (L min⁻¹) e de gás He (mL min⁻¹), além de diferentes concentrações de HCl. Especificamente para o estudo da formação de íons *m/z* 75, foram realizados dois PFCs 2⁽³⁻⁰⁾: um com adição de 100 µg L⁻¹ de As nas soluções de HCl e outro sem a adição de As. O objetivo desta estratégia é verificar as condições operacionais onde há formação apenas do interferente ⁴⁰Ar³⁵Cl⁺ e como se dá a resposta para As nas condições estudadas. Arsênio foi escolhido especificamente para este estudo em virtude de sua emblemática representação como analito beneficiado pela ação da DEC/DIC com He, e assume-se aqui que interferências isobáricas que possuam Ar em sua composição - como ⁴⁰Ar¹²C⁺, ⁴⁰Ar²³Na⁺ e ⁴⁰Ar³⁸Ar⁺, interferentes de ⁵²Cr⁺, ⁶³Cu⁺ e ⁷⁸Se⁺, respectivamente; sigam o mesmo comportamento que ⁴⁰Ar³⁵Cl⁺.

4.2.1. Estudo da formação de íons com dupla carga (¹⁴⁰Ce²⁺/¹⁴⁰Ce⁺)

Um parâmetro importante do ICP-MS para a robustez do método é a baixa formação de íons com dupla carga, comumente descritos como M²⁺/M⁺ e expressos em termos de porcentagem⁴⁰⁻⁴³. Este processo sempre ocorre no plasma, uma vez que o Ar

possui uma relativa alta energia de ionização (IE) de 15,8 eV. Condições operacionais (por exemplo, altas vazões de gás do nebulizador, introdução de aerossol desolvatado) onde altos níveis de formação de íons com carga dupla são favorecidos, podem causar dois problemas principais: perda de contagens para o elemento de interesse e interferência isotópica em outro analito.⁴⁰ Por outro lado, parâmetros de aquisição podem ser ajustados para superar esse efeito, visando condições mais robustas.⁴¹

Cério foi usado como elemento para avaliar a formação de íons com carga dupla (demonstrada pelas Equações 4 e 5):

A razão $^{140}\text{Ce}^{2+}/^{140}\text{Ce}^+$ foi calculada e considerada como uma variável dependente dos experimentos de PFC 2⁽³⁻⁰⁾. A Figura 14 mostra o gráfico de Pareto para $^{140}\text{Ce}^{2+}/^{140}\text{Ce}^+$, onde a vazão de gás He e a vazão de gás de diluição têm os efeitos mais significativos na formação de íons com dupla carga. A interação entre essas duas variáveis tem o efeito mais significativo para aumentar a razão $^{140}\text{Ce}^{2+}/^{140}\text{Ce}^+$ (Figura 16a). A correlação entre os valores previstos e observados do modelo é mostrada na Figura 15, na qual foi obtida um valor satisfatório ($R^2 = 0,97$) entre os dados. Segundo Jackson *et. al.*,⁴⁴ o aumento da vazão de gás He aumenta a formação de íons dupla-carga, devido à redução da intensidade relativa geral do sinal de íons +1 em comparação com os íons com dupla carga, causados pela DEC, mas nenhuma menção à influência de gás de diluição foi relatada. Os resultados do presente experimento podem estar associados ao aumento da temperatura do plasma causado pela diluição do aerossol,

uma vez que menos solvente é introduzido no plasma, produzindo uma condição de energia mais alta para promover o segundo processo de ionização. No entanto, foi observado que o aumento na formação de íons com carga dupla não excedeu 1,0% quando a vazão de gás He variou de 4,0 a 5,0 L min⁻¹, indicando que esse parâmetro não é comprometido pela diluição de aerossol no intervalo estudado.

Figura 14: Diagrama de Pareto para os valores de efeitos de primeira e segunda ordem, definidos pelo modelo estatístico do PFC 2⁽³⁻⁰⁾ das variáveis independentes, para $^{140}\text{Ce}^{2+}/^{140}\text{Ce}^{+}$. *Sample depth* (mm): aproximação do plasma (mm); *He gas flow* (mL min⁻¹): vazão de gás He (mL min⁻¹); *Dilution gas flow* (L min⁻¹): vazão de gás diluidor (L min⁻¹); *By*: Interação entre dois efeitos.

Figura 15: Valores observados (*observed*) e preditos (*predicted*) pelo modelo estatístico do PFC 2⁽³⁻⁰⁾ das variáveis independentes para $^{140}\text{Ce}^{2+}/^{140}\text{Ce}^{+}$.

Como pode ser visto na Figura 16b, existe uma correlação significativa entre o gás de diluição e a aproximação do plasma. Um plasma mais energético tem maior probabilidade de ser produzido quando a diluição do aerossol é aumentada, provavelmente deslocando a zona de formação de íons com dupla carga. No entanto, a formação de íons com dupla carga permaneceu abaixo de 1,0% na condição mais crítica modelada (ou seja, 0,50 L min⁻¹ de gás de diluição e 10,5 mm de aproximação do plasma), indicando que este parâmetro não foi afetado significativamente pela diluição de aerossol no intervalo estudado.

Figura 16: Superfícies de resposta para a formação de íons dupla-carga ($^{140}\text{Ce}^{2+}/^{140}\text{Ce}^{+}$), considerando (a) vazão de gás diluidor (L min⁻¹) e vazão de gás He (mL min⁻¹), com a aproximação do plasma fixa em 8,5 mm e (b) vazão de gás diluidor (L min⁻¹) e aproximação do plasma (mm), com a vazão de gás He fixo em 4,5 mL min⁻¹. *He gas flow* (mL min⁻¹): vazão de gás He (mL min⁻¹); *Dilution gas flow* (L min⁻¹): vazão de gás diluidor (L min⁻¹); *Sample depth* (mm): aproximação do plasma (mm).

4.2.2. Estudo da formação de íons óxido ($^{140}\text{Ce}^{16}\text{O}^{+}/^{140}\text{Ce}^{+}$)

Os íons óxidos podem ser formados a partir de uma variedade de elementos e ocorrem indiscriminadamente no plasma. Além dos íons com dupla carga, os íons óxido representam outra fonte de interferência isobárica para o ICP-MS. Não obstante, as condições operacionais do ICP-MS podem ser ajustadas para reduzir a formação de íons óxidos, superando essas interferências.

Os resultados indicaram que a vazão de gás He e a vazão de gás de diluição foram os fatores mais relevantes que afetaram a formação de óxidos de Ce ($^{140}\text{Ce}^{16}\text{O}^{+}/^{140}\text{Ce}^{+}$) (Figura 17). Poussel *et. al.*⁴⁷ relataram que a aproximação do plasma é crítica para a formação de íons óxidos, no entanto, este estudo mostra que não possui significância em

relação à razão $^{140}\text{Ce}^{16}\text{O}^+ / ^{140}\text{Ce}^+$. É importante ressaltar que todos os experimentos deste trabalho foram feitos com He usando DEC/DIC, que removeu interferências poliatômicas eficientemente, incluindo os íons óxidos, tornando os efeitos da variação aproximação do plasma (mm) insignificantes na faixa estudada (7 - 10 mm). Não foi reportado o uso de estratégia de eliminação de interferência isobárica com cela de reação ou colisão no trabalho de Poussel,⁴⁷ portanto, presume-se que a aproximação do plasma tenha realmente um papel importante na formação de íons óxidos devido à zona de recombinação no plasma,¹⁵ mas não é motivo de preocupação se uma cela de colisão com DEC/DIC está sendo usada.

Figura 17: Diagrama de Pareto para os valores de efeitos de primeira e segunda ordem, definidos pelo modelo estatístico do PFC 2⁽³⁻⁰⁾ das variáveis independentes, para $^{140}\text{Ce}^{16}\text{O}^+ / ^{140}\text{Ce}^+$. *Sample depth* (mm): aproximação do plasma (mm); *He gas flow* (mL min⁻¹): vazão de gás He (mL min⁻¹); *Dilution gas flow* (L min⁻¹): vazão de gás diluidor (L min⁻¹); *By*: Interação entre dois efeitos.

Os valores observados e previstos são demonstrados na Figura 18, na qual foi obtida correlação satisfatória ($R^2 = 0,93$). Embora o modelo multivariado não indique interação relevante entre essas duas variáveis independentes, a Figura 19 sugere que a quantidade de gás He necessária para superar a contribuição do íon óxido no sinal do analito é menor há utilização de gás de diluição no procedimento de amostragem. Hipoteticamente, neste sentido, com o foco em sensibilidade, perde-se por um lado sinal do analito (CPS) usando a diluição de aerossol, porém ganha-se do outro por diminuir os eventos de colisão do analito com o gás He, assumindo que a vazão mínimo seja utilizado para remover as interferências isobáricas.

Figura 18: Valores observados (*observed*) e preditos (*predicted*) pelo modelo estatístico do PFC $2^{(3-0)}$ das variáveis independentes para $^{140}\text{Ce}^{16}\text{O}^+ / ^{140}\text{Ce}^+$.

Figura 19: Superfície de resposta para a formação de íons óxido ($^{140}\text{Ce}^{16}\text{O}^+ / ^{140}\text{Ce}^+$), considerando vazão de gás diluidor (L min^{-1}) e vazão de gás He (mL min^{-1}), com a aproximação do plasma fixa em 8,5 mm; *He gas flow* (mL min^{-1}): vazão de gás He (mL min^{-1}); *Dilution gas flow* (L min^{-1}): vazão de gás diluidor (L min^{-1}).

4.2.3. Estudo da formação de íons m/z 75

Arsênio é um elemento monoisotópico e sofre principalmente da interferência isobárica de $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$, prejudicando as medições exatas de ICP-MS em matrizes contendo cloro.^{34,35} Em geral, os medicamentos podem conter altos níveis de cloro, uma vez que princípios ativos são comumente apresentados como cloretos ou cloridratos. As Figuras 20 e 21 mostram os Diagramas de Pareto para efeitos padronizados dos parâmetros do plasma e suas interações usando soluções de HCl, com e sem a adição de $100\text{ }\mu\text{g L}^{-1}$ As, respectivamente. O mesmo comportamento foi observado em ambas as condições, sendo a vazão de gás de diluição e a vazão de gás He e a interação entre esses dois fatores os efeitos mais significativos na formação de íons m/z 75. Os resultados demonstraram que Cl não contribuiu para a formação de íons m/z 75 nas condições estudadas. As Figuras 22 e 23 mostram os valores observados e previstos para ambos experimentos (com e sem $100\text{ }\mu\text{g L}^{-1}$ de As, respectivamente), com correlações satisfatórias ($R^2 = 0,95$ e $R^2 = 0,91$, respectivamente). As superfícies de resposta para a formação do íon m/z 75 com e sem adição de $100\text{ }\mu\text{g L}^{-1}$ de As foram obtidas e são mostradas nas Figuras 24a e 24b, respectivamente, onde são observados resultados semelhantes à formação de íons óxido, no que tange a ação combinada do gás diluidor e gás He para remoção de interferência isobárica poliatômica.

Figura 20: Diagrama de Pareto para os valores de efeitos de primeira e segunda ordem, definidos pelo modelo estatístico do PFC 2⁽³⁻⁰⁾ das variáveis independentes, para formação de m/z 75 em solução de HCl com 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de As. *Sample depth* (mm): aproximação do plasma (mm); *He gas flow* (mL min^{-1}): vazão de gás He (mL min^{-1}); *Dilution gas flow* (L min^{-1}): vazão de gás diluidor (L min^{-1}); *By*: Interação entre dois efeitos.

Figura 21: Diagrama de Pareto para os valores de efeitos de primeira e segunda ordem, definidos pelo modelo estatístico do PFC 2⁽³⁻⁰⁾ das variáveis independentes, para formação de m/z 75 em solução de HCl. *Sample depth* (mm): aproximação do plasma (mm); *He gas flow* (mL min⁻¹): vazão de gás He (mL min⁻¹); *Dilution gas flow* (L min⁻¹): vazão de gás diluidor (L min⁻¹); *By*: Interação entre dois efeitos.

Figura 22: Valores observados (*observed*) e preditos (*predicted*) pelo modelo estatístico do PFC 2⁽³⁻⁰⁾ das variáveis independentes para formação de *m/z* 75 em solução de HCl com 100 µg L⁻¹ de As.

Figura 23: Valores observados (*observed*) e preditos (*predicted*) pelo modelo estatístico do PFC 2⁽³⁻⁰⁾ das variáveis independentes para formação de *m/z* 75 em solução de HCl com 100 µg L⁻¹ de As.

Figura 24: Superfícies de resposta para a formação de íons com m/z 75, considerando vazão de gás diluidor (L min⁻¹) e vazão de gás He (mL min⁻¹), com a aproximação do plasma fixa em 8,5 mm para solução de HCl (a) com adição de 100 µg L⁻¹ de As e (b) sem adição de As. *He gas flow* (mL min⁻¹): vazão de gás He (mL min⁻¹); *Dilution gas flow* (L min⁻¹): vazão de gás diluidor (L min⁻¹).

A vazão de gás de diluição e a vazão de gás He diminuíram significativamente a formação de íons m/z 75 oriundo de $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$ e, embora também diminuísse o sinal $^{75}\text{As}^+$ em soluções de HCl contendo 100 µg L⁻¹ de As, a contribuição do sinal oriundo de $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$ foi baixa em comparação com o sinal $^{75}\text{As}^+$ produzido (< 6% para 1 µg L⁻¹ de As, considerando [HCl] = 4,6% (v v⁻¹), 4,0 mL min⁻¹ de vazão de gás He e 0,40 L min⁻¹ de vazão de gás de diluição). Como todas as soluções de trabalho neste estudo foram preparadas em HCl 1% (v v⁻¹), espera-se que a contribuição isobárica nesta concentração seja menor do que a concentração de HCl considerada para o resultado do PFC usado para esta comparação.

4.2.4. Estudo da sensibilidade para Ag, As, Au, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ir, Li, Mo, Ni, Os, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru, Sb, Se, Sn, Tl e V

O capítulo 232 da USP considera 24 analitos cujas massas variam de 7 (Li) a 208 (Pb), o que torna medições multielementares pelo ICP-MS uma tarefa desafiadora, uma vez que os analitos com massas mais baixas e mais altas têm sensibilidades diferentes para ICP-MS, principalmente devido aos efeitos da carga espacial e sua primeira energia de ionização.¹⁵ Portanto, as sensibilidades dos analitos foram avaliadas com uma solução da amostra A diluída em 50 vezes, adicionada com a concentração de J para a amostra A, sendo o sinal (CPS) a variável dependente deste estudo. Gráficos de Pareto de efeitos padronizados foram obtidos a partir dos experimentos de PFC e os valores foram organizados por massa, conforme ilustrado nas Figuras 25a e 25b, mostrando os efeitos absolutos das variáveis independentes e os efeitos absolutos das suas interações, respectivamente. O alfa (*highlighting*) de 0,05 foi negligenciado e todos os valores dos gráficos de Pareto foram considerados, para fornecer uma visão geral de todos os efeitos padronizados absolutos sobre o espectro de massas considerado.

Figura 25: Efeitos padronizados (valor absoluto) sobre a sensibilidade para Ag, As, Au, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ir, Li, Mo, Ni, Os, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru, Sb, Se, Sn, Tl e V das (a) variáveis independentes [aproximação do plasma (mm), vazão de gás diluidor (L min⁻¹) e vazão de gás He (mL min⁻¹)] e (b) suas interações.

Pode-se observar que a vazão de gás diluidor foi o parâmetro mais significativo que afeta a sensibilidade de praticamente todos os elementos (Figura 25a). Este resultado é compatível com resultados obtidos previamente neste estudo, uma vez que

aumento na diluição do aerossol causa redução na sensibilidade devido ao menor Q_{SPL} . Vanádio, Cr, Co, Ni e Cu foram os elementos mais afetados quando a vazão de gás diluidor aumentou. A vazão de gás He mostrou maior significância para as sensibilidades de Li, V, Cr, Cu, Ni, Cu, As, Se, Mo, Ru, Rh, Pd, Ag, Sn, Pb, Ba e Pb do que para Cd, Os, Ir, Pt, Au, Hg e Tl, que parecem ser mais afetados pela proximidade do plasma em relação ao *sampling cone*. Como a célula de colisão com He atua como uma barreira para diminuir as interferências poliatômicas através da DEC/DIC, alguns analitos podem eventualmente perder mais energia nesse processo e ter suas sensibilidades depletadas.

Quando as interações entre os parâmetros estudados são consideradas, a interação entre a vazão de gás diluidor e vazão de gás He mostrou-se ser o mais importante para Li, V, Cr, Co, Ni, Cu, As, Se, Mo, Ru, Rh, Pd, Ag, Sn, Sb, Ba, Tl e Pb (Figura 25b), indicando que o aumento em ambos os parâmetros causou redução na sensibilidade, mas eles também trabalham juntos para diminuir as interferências isobáricas, como demonstrado para $^{75}\text{As}^+$ (Seção 4.2.3). A interação entre a aproximação do plasma e o gás de diluição foi mais relevante em Cd, Os, Ir, Pt, Au e Hg (m/z 111-202), provavelmente devido à mudança na temperatura da zona analítica, conforme descrito para estudo com carga dupla (Seção 4.2.1), o que poderia ter afetado mais esses elementos do que os outros analitos deste estudo. Nenhuma interação substancial entre a aproximação do plasma e a vazão de gás He foi observada para a faixa de massas estudada.

Considerando os resultados obtidos nos estudos de formação dos íons $^{140}\text{Ce}^{2+}/^{140}\text{Ce}^+$ e $^{140}\text{Ce}^{16}\text{O}^+ / ^{140}\text{Ce}^+$, e como se comporta a sensibilidade dos elementos Ag, As, Au, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ir, Li, Mo, Ni, Os, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru, Sb, Se, Sn, Tl e V principalmente com o uso de gás diluidor, as condições de comprometimento para

aproximação do plasma, vazão de gás He e vazão de gás diluidor foram definidas como 8,0 mm, 4,0 mL min⁻¹ e 0,40 L min⁻¹, respectivamente. A vazão de gás do nebulizador foi ajustado para 0,60 L min⁻¹, de modo que a soma da vazão de gás de nebulização e da vazão de gás de diluição fosse de 1,00 L min⁻¹.

4.3. Validação do procedimento segundo os critérios do Capítulo 233 da USP para a amostra A

A amostra A foi submetida aos testes previstos no Capítulo 233, apresentados na Introdução (p. 23-25) desta dissertação. Telúrio, Sc, Ge, In, Lu e Bi foram avaliados como PIs usando parâmetros de linearidade (R), precisão (% RSD) e testes de recuperação de adição de padrão durante os procedimentos de validação. O PI foi atribuído ao isótopo do analito e utilizado para correção da concentração quando (i) $R > 0,995$; (ii) $RSD < 10\%$ entre três replicatas e (iii) os critérios do Capítulo 233 da USP foram atendidos.

4.3.1. Testes de limite

Os resultados dos testes de detectabilidade atenderam aos critérios de aceitação para todos os elementos (Tabela 8), isto é, B apresentou respostas maiores que A, e C-D apresentaram respostas menores que A. As variações entre 10-15% obtidas para As e Sb podem estar associadas ao aumento de ionização de ⁷⁵As e ¹²¹Sb, causado pela presença de carbono da amostra.^{34,35} Como os resultados atenderam às especificações do Capítulo 233 da USP para variações entre a solução padrão com concentrações de J

e a amostra adicionada com concentrações de J (não mais que 15%), não foi necessária nenhuma estratégia de amostragem adicional (como o uso de tampão de carbono).

Tabela 8: Resultados dos testes de detectabilidade como parte do protocolo de validação do Capítulo 233 da USP, usando a amostra A, para Ag, As, Au, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ir, Li, Mo, Ni, Os, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru, Sb, Se, Sn, Tl and V.

Analito	Solução padrão com concentração de J (CPS) (A)	Solução de amostra adicionada de J (CPS) (B)	Solução de amostra adicionada de 80% de J (CPS) (C)	Solução de amostra sem adição de padrão (CPS) (D)	Variação entre A e B (%)	C – D (CPS)
Li	4028	4208	3306	13	4,2	3293
V	83390	92092	69283	1,3	10	69281
Cr	11397898	12359841	9425852	98	8,4	9425754
Co	98780	107323	82009	8,5	8,6	82001
Ni	113492	122937	93967	3,3	8,3	93964
Cu	4419669	4759435	3640939	77	7,7	3640862
As	2090	2388	1754	0,4	14	1754
Se	1095	1184	981	0,8	8,1	980
Mo	1956512	2122669	1606915	23	8,5	1606891
Ru	94859	100792	77590	0,7	6,3	77590
Rh	545846	573650	442369	16	5,1	442354
Pd	117061	123788	95692	26	5,7	95667
Ag	265530	279958	245458	498	5,2	244960
Cd	1462	1583	1187	0,3	8,3	1186
Sn	3403802	3677408	2804975	376	8,0	2804599
Sb	643169	726694	634608	4707	12	629901
Ba	354296	381473	290897	4,6	7,7	290893
Os	108535	118696	92342	8,8	9,4	92333
Ir	456030	475774	374355	11	4,3	374344
Pt	174635	181715	142547	1,8	4,1	142545
Au	301004	314314	248447	642	4,2	247805
Hg	9183	9763	8415	180	4,4	8235
Tl	35197	37111	28989	38	5,3	28951
Pb	14663	15711	11851	22	7,0	11829

Seis soluções da Amostra A diluída 50 vezes e adicionadas da concentração de J foram analisadas usando uma curva de calibração de 0,25J, 0,50J, 0,75J, 1,00J, 1,25J e 1,50J para cada elemento. Para atender aos requisitos do Capítulo 233 da USP, o desvio padrão relativo (% RSD) da concentração média dessas seis soluções independentes não deve ser superior a 20%. Como mostrado na Tabela 9, o maior RSD obtido foi de 6,1% para Mo, portanto este critério foi atendido com sucesso para Ag, As, Au, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ir, Li, Mo, Ni, Os, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru, Sb, Se, Sn, Tl e V.

Tabela 9: Resultados do teste de precisão como parte do protocolo de validação do capítulo 233 da USP, usando a amostra A para Ag, As, Au, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ir, Li, Mo, Ni, Os, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru, Sb, Se, Sn, Tl e V.

Analito	PI	Replicatas (mg L ⁻¹)						Média (mg L ⁻¹)	%RSD
		1	2	3	4	5	6		
Li	⁴⁵ Sc	0,4079	0,3498	0,3611	0,3516	0,3816	0,3790	0,3718	6,0
V	⁴⁵ Sc	0,0730	0,0676	0,0692	0,0677	0,0712	0,0716	0,0701	3,2
Cr	⁴⁵ Sc	8,5055	7,3526	7,6189	7,3455	8,0177	8,0408	7,8135	5,8
Co	⁴⁵ Sc	0,0362	0,0336	0,0345	0,0337	0,0354	0,0355	0,0348	3,0
Ni	⁷² Ge	0,1371	0,1462	0,1351	0,1378	0,1346	0,1415	0,1387	3,2
Cu	⁷² Ge	2,3312	2,0136	2,0758	1,9969	2,1700	2,1789	2,1277	5,9
As	⁷² Ge	0,0110	0,0106	0,0108	0,0105	0,0109	0,0110	0,0108	1,8
Se	⁷² Ge	0,1205	0,1100	0,1123	0,1096	0,1153	0,1143	0,1137	3,6
Mo	⁷² Ge	2,3676	2,0377	2,0856	2,0213	2,2030	2,2059	2,1535	6,1
Ru	¹²⁵ Te	0,0729	0,0653	0,0672	0,0648	0,0711	0,0692	0,0684	4,8
Rh	¹²⁵ Te	0,0728	0,0656	0,0669	0,0643	0,0707	0,0691	0,0682	4,7
Pd	¹²⁵ Te	0,0731	0,0654	0,0668	0,0649	0,0707	0,0692	0,0683	4,8
Ag	¹²⁵ Te	0,1252	0,1102	0,1176	0,1096	0,1192	0,1199	0,1169	5,1
Cd	¹²⁵ Te	0,0033	0,0032	0,0033	0,0032	0,0034	0,0034	0,0033	1,9
Sn	¹²⁵ Te	4,4888	3,9237	4,0612	3,8984	4,3034	4,3031	4,1631	5,7
Sb	¹²⁵ Te	1,1215	0,9780	1,0107	0,9677	1,0686	1,0667	1,0355	5,8
Ba	¹⁷⁵ Lu	1,0478	0,9068	0,9383	0,9048	0,9898	0,9939	0,9636	5,9
Os	¹⁷⁵ Lu	0,0746	0,0668	0,0676	0,0657	0,0722	0,0701	0,0695	5,0
Ir	¹⁷⁵ Lu	0,0718	0,0643	0,0653	0,0633	0,0697	0,0675	0,0670	5,0
Pt	²⁰⁹ Bi	0,0765	0,0685	0,0692	0,0678	0,0735	0,0722	0,0713	4,8

Au	²⁰⁹ Bi	0,0725	0,0650	0,0658	0,0638	0,0695	0,0679	0,0674	4,8
Hg	²⁰⁹ Bi	0,0232	0,0225	0,0228	0,0223	0,0230	0,0233	0,0228	1,7
Tl	²⁰⁹ Bi	0,0059	0,0055	0,0056	0,0055	0,0058	0,0058	0,0057	3,0
Pb	²⁰⁹ Bi	0,0034	0,0033	0,0033	0,0033	0,0034	0,0034	0,0033	1,8

4.3.2. Testes quantitativos

Para o teste de precisão, cinco soluções de amostra A diluída 50 vezes foram adicionadas com 0,50J, 0,75J, 1,00J, 1,25J e 1,50J e analisadas usando uma curva de calibração de 0,50J, 0,75J, 1,00J, 1,25J e 1,50J. As recuperações de amostras com adições de variações de J devem ser de 70-150% do seu valor nominal para estar de acordo com o Capítulo 233 da USP.

Os testes de recuperação para soluções de amostra com 50 a 150% da concentração de J mostraram resultados entre 88-125% (Tabela 10), que atenderam ao critério de aceitação estabelecido no protocolo do Capítulo 233 da USP (70-150%). Alguns resultados, no entanto, indicam que houve uma tendência em valores de recuperação mais altos para alguns elementos, como Se, Ag, Sb e Hg (110-125%), que podem estar associados a problemas de contaminação (Ag e Hg) e aumento do sinal devido ao efeito de transferência de carga de C⁺ no plasma (Se e Sb).^{34,35}

Tabela 10: Limites de quantificação (LOQ) para o método proposto e MLOQ para a amostra A para Ag, As, Au, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ir, Li, Mo, Ni, Os, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru, Sb, Se, Sn, Tl e V, linearidade (R) e teste de recuperação como parte do protocolo de validação do capítulo 233 da USP.

Analito	PI	R	LQ (ng L ⁻¹)	LQM Amostra A (µg g ⁻¹)	Recuperação (%)				
					0,50J	0,75J	1,00J	1,25J	1,50J
Li	⁴⁵ Sc	0,9984	740	37	98	98	99	98	88
V	⁴⁵ Sc	0,9989	19,5	0,98	105	107	103	104	101
Cr	⁴⁵ Sc	0,9991	24,6	1,2	104	104	103	105	97
Co	⁴⁵ Sc	0,9992	50,0	2,5	98	102	102	97	94
Ni	⁷² Ge	0,9981	122	6,1	97	99	103	95	92
Cu	⁷² Ge	0,9985	48,1	2,4	99	98	104	100	91
As	⁷² Ge	0,9991	34,7	1,7	102	105	110	102	99
Se	⁷² Ge	0,9991	260	13	110	111	112	104	100
Mo	⁷² Ge	0,9994	240	12	100	100	104	103	94
Ru	¹²⁵ Te	0,9990	164	8,2	95	96	99	95	91
Rh	¹²⁵ Te	0,9992	90,0	4,5	94	96	98	96	92
Pd	¹²⁵ Te	0,9988	100	5,0	93	95	98	94	91
Ag	¹²⁵ Te	0,9973	240	12	102	110	115	108	110
Cd	¹²⁵ Te	0,9996	9,22	0,46	94	96	100	96	92
Sn	¹²⁵ Te	0,9999	8,30	0,42	93	93	100	100	91
Sb	¹²⁵ Te	0,9999	960	48	119	116	125	123	111
Ba	¹⁷⁵ Lu	0,9993	38,4	1,9	92	93	99	100	91
Os	¹⁷⁵ Lu	0,9974	64,4	3,2	96	98	101	98	94
Ir	¹⁷⁵ Lu	0,9974	82,8	4,1	92	94	97	94	90
Pt	²⁰⁹ Bi	0,9985	100	5,0	101	103	103	98	96
Au	²⁰⁹ Bi	0,9981	74,9	3,7	96	97	98	95	91
Hg	²⁰⁹ Bi	0,9972	52,0	2,6	116	115	117	109	106
Tl	²⁰⁹ Bi	0,9997	0,43	0,02	101	104	102	98	96
Pb	²⁰⁹ Bi	0,9974	2,61	0,13	96	99	100	96	98

LQM = FD*10*Desvio Padrão_{10brancos}

Para o teste de precisão, foram utilizados os mesmos resultados obtidos para o procedimento limite (6.1). O protocolo do Capítulo 233 da USP para procedimentos quantitativos define não mais de 20% de RSD para a média das seis soluções adicionadas de J. Os resultados atenderam ao critério de aceitação, conforme descrito anteriormente (Seção 1). A especificidade para quantificação elementar é mencionada no Capítulo 233 da USP, e o critério de aceitação é atendido usando a célula de colisão com He ($4,0 \text{ L min}^{-1}$), que superou com êxito as interferências poliatômicas isobáricas. Além disso, como já demonstrado pelo estudo da formação dos íons m/z 75 (Seção 4.2.3), o uso da diluição de aerossol associada ao uso de DEC/DIC com He promove ainda melhor eliminação de interferências isobáricas poliatômicas provenientes da matriz.

Para atender aos requisitos para o teste de precisão intermediária do protocolo do Capítulo 233 da USP, para procedimentos quantitativos, seis soluções diluídas 50 vezes da amostra A, com concentrações de J, foram preparadas e analisadas com o mesmo instrumento e o mesmo operador, mas no dia seguinte, após preparo de nova curva analítica e sua medição pelo equipamento. A Tabela 11 mostra os resultados de RSD da média de 12 repetições de amostras adicionadas de padrão, sendo seis dados dos testes de precisão (Tabela 9) e seis dados deste novo experimento. Cada elemento teve a concentração corrigida pelo PI reportado na Tabela 9. O critério de aceitação para precisão intermediária é que o RSD não deve exceder 25%.

Tabela 11: Resultados da precisão intermediária (n = 12) como parte do protocolo de validação do Capítulo 233 da USP para a amostra A para Ag, As, Au, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ir, Li, Mo, Ni, Os, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru, Sb, Se, Sn, Tl e V.

Analito	Média* (mg L ⁻¹)	Replicatas (mg L ⁻¹)						Média (mg L ⁻¹)	%RSD
		7	8	9	10	11	12		
Li	0,3718	0,4029	0,3509	0,4233	0,5102	0,3728	0,4203	0,4075	12
V	0,0701	0,0694	0,0847	0,0771	0,0894	0,0618	0,0713	0,0748	11
Cr	7,8135	8,4304	8,1234	8,1124	7,8475	7,5943	8,2357	8,0225	4,9
Co	0,0348	0,0404	0,0303	0,0395	0,0335	0,0344	0,0323	0,0350	8,0
Ni	0,1387	0,1494	0,1395	0,1387	0,1406	0,1210	0,1305	0,1369	5,3
Cu	2,1277	2,3904	2,0938	2,0193	2,1309	2,1050	2,0003	2,1239	6,0
As	0,0108	0,0104	0,0119	0,0112	0,0098	0,0123	0,0110	0,0111	5,9
Se	0,1137	0,1233	0,1103	0,1093	0,1204	0,1293	0,1458	0,1217	9,0
Mo	2,1535	2,0394	2,0311	2,0123	2,0749	2,1103	2,5983	2,1457	8,2
Ru	0,0684	0,0839	0,0728	0,0659	0,0661	0,0683	0,0689	0,0706	7,5
Rh	0,0682	0,0827	0,0726	0,0577	0,0683	0,0732	0,0669	0,0700	8,8
Pd	0,0683	0,0600	0,0631	0,0683	0,0633	0,0611	0,0623	0,0638	6,1
Ag	0,1169	0,1233	0,1093	0,1321	0,1123	0,1384	0,1487	0,1259	10
Cd	0,0033	0,0032	0,0033	0,0037	0,0032	0,0032	0,0030	0,0033	5,0
Sn	4,1631	4,5938	4,0294	4,9825	4,2094	4,2898	4,5141	4,3974	7,3
Sb	1,0355	1,1223	1,2104	1,1816	1,0039	1,0933	0,9837	1,0901	7,6
Ba	0,9636	1,1029	1,0094	1,0038	1,1098	1,0938	1,0339	1,0453	7,0
Os	0,0695	0,0664	0,0698	0,0699	0,0676	0,0600	0,0722	0,0679	5,5
Ir	0,0670	0,0673	0,0699	0,0672	0,0699	0,0782	0,0632	0,0690	6,2
Pt	0,0713	0,0711	0,0735	0,0658	0,0674	0,0674	0,0623	0,0684	5,6
Au	0,0674	0,0611	0,0698	0,0615	0,0609	0,0613	0,0670	0,0641	6,0
Hg	0,0228	0,0243	0,0223	0,0334	0,0213	0,0235	0,0203	0,0240	14
Tl	0,0057	0,0057	0,0055	0,0061	0,0058	0,0051	0,0058	0,0057	4,4
Pb	0,0033	0,0034	0,0036	0,0030	0,0040	0,0031	0,0032	0,0034	7,6

* Média descrita na Tabela 9, conforme o teste de precisão descrito na Seção 1 (n = 6).

Alguns elementos, como Li, V, Ag e Hg, apresentaram RSD variando entre 10 a 14%, o que pode estar associado à contaminação durante a preparação ou introdução da amostra ao ICP-MS. Isso não foi motivo de preocupação neste caso, uma vez que o teste de precisão intermediária, considerando 12 repetições, mostrou concordância com o critério de aceitação estabelecido no protocolo do Capítulo 233 da USP (RSD <25%).

4.3.3. Testes quantitativos para as amostras B a E (validação parcial segundo critérios do Capítulo 233 da USP).

As amostras B a E foram submetidas ao principal teste do protocolo de validação do Capítulo 233 da USP, utilizando o método proposto, e os resultados mostraram boa concordância com os critérios estabelecidos. Como o protocolo de validação completo do Capítulo 233 da USP foi demonstrado para a amostra A, a Tabela 12 destaca resultados representativos para o teste quantitativo usando soluções diluídas das amostras B, C, D e E adicionadas de seus respectivos 0,50J e determinadas em curvas analíticas contendo 0,50J, 0,75 J, 1,00J, 1,25J e 1,50J para cada amostra.

Embora todos os analitos tenham mostrado recuperações aceitáveis entre 70-150%, alguns elementos estão próximos do mínimo (Ag, 79%, amostra C) e do máximo (Sb, 127%, amostra D; As, 122% e Sb, 139%, amostra E) dos valores de recuperação permitidos. A prata foi observada neste trabalho com resultados heterogêneos, referentes aos testes de precisão e exatidão. Estes resultados podem ser associados ao meio de HCl usado para todas as soluções e à presença de íons cloreto nas matrizes, que é teoricamente diferente entre as A e E, e provavelmente contribuem para a estabilidade do elemento na solução, pois existem resultados para Ag dentro de 90-112 % de

recuperações (por exemplo, amostra B, 112% e amostra D, 92%). Quanto a As e Sb, as amostras D e E apresentam alto teor de compostos orgânicos (como açúcares e estabilizadores) e, mesmo com fatores de diluição de 50 (D) e 10 (E) vezes, o efeito de transferência de carga de C^{+} ^{34,35} provavelmente é o motivo das recuperações entre 122-139%.

Tabela 12: Resultados para o teste quantitativo de adição de 0,50J nas amostras B a E, como parte do protocolo de validação do capítulo 233 da USP, usando o método proposto.

Analito	PI	Amostra B		Amostra C		Amostra D		Amostra E	
		0.50J (mg L ⁻¹)	Rec (%)	0.50J (mg L ⁻¹)	Rec (%)	0.50J (mg L ⁻¹)	Rec (%)	0.50J (µg L ⁻¹)	Rec (%)
Li	⁴⁵ Sc	3,67	92	0,117	102	0,713	112	28	87
V	⁴⁵ Sc	0,667	99	0,021	100	0,130	103	5,0	84
Cr	⁴⁵ Sc	73,3	103	2,34	101	14,3	99	550	99
Co	⁴⁵ Sc	0,333	100	0,011	104	0,065	99	2,5	97
Ni	⁷² Ge	1,33	114	0,043	97	0,259	101	10	109
Cu	⁷² Ge	20,0	109	0,638	95	3,89	109	150	95
As	⁷² Ge	0,100	113	0,003	93	0,019	118	0,75	122
Se	⁷² Ge	1,00	97	0,032	109	0,195	120	7,5	115
Mo	⁷² Ge	20,0	96	0,638	110	3,89	93	150	88
Ru	¹²⁵ Te	0,667	103	0,021	102	0,130	94	5,0	97
Rh	¹²⁵ Te	0,667	102	0,021	103	0,130	102	5,0	103
Pd	¹²⁵ Te	0,667	101	0,021	102	0,130	96	5,0	101
Ag	¹²⁵ Te	1,000	112	0,032	79	0,195	92	7,5	83
Cd	¹²⁵ Te	0,067	105	0,001	111	0,006	93	0,25	100
Sn	¹²⁵ Te	40,0	105	1,28	97	7,78	121	300	91
Sb	¹²⁵ Te	8,00	106	0,255	98	1,56	127	60	139
Ba	¹⁷⁵ Lu	9,33	101	0,298	103	1,82	100	70	104
Os	¹⁷⁵ Lu	0,667	98	0,021	110	0,130	89	5,0	102
Ir	¹⁷⁵ Lu	0,667	102	0,021	96	0,130	104	5,0	109
Pt	²⁰⁹ Bi	0,667	104	0,021	102	0,130	103	5,0	104
Au	²⁰⁹ Bi	0,667	95	0,021	97	0,130	106	5,0	102
Hg	²⁰⁹ Bi	0,200	93	0,006	100	0,039	111	1,5	85
Tl	²⁰⁹ Bi	0,053	95	0,002	108	0,010	107	0,40	99
Pb	²⁰⁹ Bi	0,033	89	0,001	99	0,006	109	0,25	90

As amostras A a E foram analisadas usando o método proposto e os resultados ficaram entre 0,5J e o LQM para cada amostra. Como o LQM é menor que J, então é possível afirmar que as amostras consideradas neste estudo atendem aos requisitos do Capítulo 232 da USP.

Tabela 13: LQMs para Ag, As, Au, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ir, Li, Mo, Ni, Os, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru, Sb, Se, Sn, Tl e V para as amostras B a E.

Analito	PI	LQM ($\mu\text{g g}^{-1}$)			
		Amostra B	Amostra C	Amostra D	Amostra E
Li	^{45}Sc	111	37,0	37,0	7,40
V	^{45}Sc	2,93	0,975	0,975	0,195
Cr	^{45}Sc	3,69	1,23	1,23	0,246
Co	^{45}Sc	7,50	2,50	2,50	0,500
Ni	^{72}Ge	18,3	6,10	6,10	1,22
Cu	^{72}Ge	7,21	2,40	2,40	0,481
As	^{72}Ge	5,20	1,73	1,73	0,347
Se	^{72}Ge	39,0	13,0	13,0	2,60
Mo	^{72}Ge	36,0	12,0	12,0	2,40
Ru	^{125}Te	24,6	8,20	8,20	1,64
Rh	^{125}Te	13,5	4,50	4,50	0,900
Pd	^{125}Te	15,0	5,00	5,00	1,00
Ag	^{125}Te	36,0	12,0	12,0	2,40
Cd	^{125}Te	1,38	0,461	0,461	0,0922
Sn	^{125}Te	1,24	0,415	0,415	0,0830
Sb	^{125}Te	144	48,0	48,0	9,60
Ba	^{175}Lu	5,76	1,92	1,92	0,384
Os	^{175}Lu	9,66	3,22	3,22	0,644
Ir	^{175}Lu	12,4	4,14	4,14	0,828
Pt	^{209}Bi	15,0	5,00	5,00	1,00
Au	^{209}Bi	11,2	3,74	3,74	0,749
Hg	^{209}Bi	7,80	2,60	2,60	0,520
Tl	^{209}Bi	0,0645	0,0215	0,0215	0,00430
Pb	^{209}Bi	0,391	0,130	0,130	0,0261

5. CONCLUSÕES

Este estudo demonstrou a capacidade analítica de um sistema de ICP-MS empregando diluição de aerossol para a determinação de impurezas elementares para atendimento da USP <232,233>. O uso de ICP-MS traz várias vantagens quando comparado ao uso de ICP OES em rotina: versatilidade em se trabalhar com medicamentos que são administrados por vias oral, parenteral e inalatória; possibilidade de maior ou menor diluição prévia de amostra, visto que os LQs de Ag, As, Au, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ir, Li, Mo, Ni, Os, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru, Sb, Se, Sn, Tl em um ICP-MS são menores do que os oferecidos por ICP OES; e emprego de estratégias de aumento de robustez, como o uso de cela de colisão com He usando DEC/DIC e diluição de aerossol.

A determinação do fator de diluição da amostra antes do procedimento de análise é fundamental, já que os PDEs e DMDs dos medicamentos são parâmetros fixos e o valor de J é basicamente alterado com a diluição da amostra. Esta etapa do trabalho mostrou que diferentes diluições para medicamentos líquidos de composições distintas são necessárias, pois o comportamento dos elementos no meio ácido estudado pode apresentar variação de amostra para amostra. Com base nos resultados obtidos, e conhecendo os limites de quantificação do instrumento, foi possível definir os fatores de diluição prévios das amostras antes da realização dos ensaios de validação segundo o Capítulo 233 da USP, evitando assim novas tentativas de diluições diferentes em uma eventual falha do atendimento aos critérios de validação.

O uso de gás diluidor durante a etapa de transporte do aerossol das soluções das amostras até o plasma e o emprego de gás He na cela de colisão é uma estratégia poderosa para a análise de amostras de medicamentos líquidos, para atendimento dos

limites exigidos pelo Capítulo 232 da USP. Através de PFCs, foi observado que há uma interação significativa entre a vazão de gás de diluição e a vazão de gás He sobre os resultados de formação de íons com dupla carga ($^{140}\text{Ce}^{2+}/^{140}\text{Ce}^{+}$) e de íons óxido ($^{140}\text{Ce}^{16}\text{O}^{+}/^{140}\text{Ce}^{+}$), bem como para a sensibilidade para quase todas as impurezas elementares do Capítulo 232 da USP. Os resultados do estudo de formação de íons m/z 75 mostraram que interferências isobáricas da matriz não contribuem significativamente para a quantificação de As quando a diluição de aerossol combinada e He com DEC/DIC estão sendo usadas. Diferentes estratégias de análise podem ser adotadas usando a diluição em aerossol - dos procedimentos de *dilute-and-shoot*, como demonstrado, até para complementar um procedimento onde a digestão da amostra é necessária - com benefícios de condições robustas do plasma, como níveis mais baixos de formação de íons óxido e de íons com dupla carga.

Os testes de validação previstos no Capítulo 233 foram executados para a amostra A e atenderam com sucesso aos requisitos exigidos, com atenção especial a As e Sb, que atenderam a todos os critérios de aceitação, porém apresentaram alguns resultados superestimados, indicando provavelmente que o fenômeno de transferência de carga de C^{+} ocorra devido ao conteúdo de matéria orgânica presente nas amostras. Testes parciais de validação do Capítulo 233 da USP para as amostras B a E foram realizados, com recuperações de adição de padrão que também atendem aos critérios de validação estabelecidos, indicando que o procedimento proposto é robusto. Para as indústrias farmacêuticas, que necessitam atender aos critérios da USP <232,233>, o procedimento de *dilute-and-shoot* com a utilização de diluição de aerossol por ICP-MS é interessante pois evita principalmente a etapa de preparo de amostra com digestão assistida por

micro-ondas, tornando o procedimento mais barato, rápido e menos suscetível a erros analíticos.

REFERÊNCIAS

- 1) **Associação da Indústria Farmacêutica de Pesquisa**. Guia 2019 Interfarma. Disponível em < <https://www.interfarma.org.br/public/files/biblioteca/guia-interfarma-2019-interfarma2.pdf> >. Acesso em 16 de Janeiro de 2020.
- 2) **Estadão**. O Ranking das 1500 Maiores Companhias do Brasil 2018, págs. 74-77. Disponível em < <https://publicacoes.estadao.com.br/empresasmais2018/wp-content/themes/empresasmais2018/assets/download/pdf-revista.pdf> >. Acesso em 16 de Janeiro de 2020.
- 3) ANVISA. Biblioteca de Medicamentos. Disponível em <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/4967127/Biblioteca+de+Medicamentos_Portal-qadQwCxt.pdf/4942174b-8496-48b0-9df3-fbc849f1a1a7>. Acesso em 16 de Janeiro de 2020.
- 4) KOVALEVA, E. L.; BELANOVA, A. I.; PANOVA, L. I. Structure of chemical compounds, methods of analysis and process control. Current requirements for assessment of elemental impurities (heavy metals) in medicines. **Pharmaceutical Chemistry Journal**, v. 52, n. 1, p. 84-89, 2018.
- 5) PLUHÁČEK, T.; RUČKA, M.; MAIER, V. A direct LA-ICP-MS screening of elemental impurities in pharmaceutical products in compliance with USP and ICH-Q3D. **Analytical Chimica Acta**, v. 1078, p. 1-7, 2019.

6) The United States Pharmacopeia Convention, The United States Pharmacopeia, Chapter 231: heavy metals. Revision Bulletin. Oficial em 1º. De Abril de 2015. Disponível em < https://www.uspnf.com/sites/default/files/usp_pdf/EN/USPNF/revisions/231-rb.pdf >. Acesso em 16 de Janeiro de 2020.

7) The United States Pharmacopeia Convention, Elemental Impurities Updates. Disponível em < <https://www.usp.org/chemical-medicines/elemental-impurities-updates> >. Acesso em 16 de Janeiro de 2020.

8) The United States Pharmacopeia Convention, The United States Pharmacopeia, Chapter 232: Elemental Impurities - Limits. First Supplement to USP 40-NF 35. Oficial em 1º. De Dezembro de 2017. Disponível em < <https://www.usp.org/sites/default/files/usp/document/our-work/chemical-medicines/key-issues/232-40-35-1s.pdf> >. Acesso em 16 de Janeiro de 2020.

9) The United States Pharmacopeia Convention, The United States Pharmacopeia, Chapter 233: Elemental Impurities - Procedures. Revision Bulletin. Oficial em 1º. De Abril de 2015. Disponível em < <https://www.usp.org/sites/default/files/usp/document/our-work/chemical-medicines/key-issues/c233.pdf> >. Acesso em 16 de Janeiro de 2020.

10) MARTINS, D. T. de OLIVEIRA; RODRIGUES, E.; CASU, L.; BENÍTEZ, G.; LEONTI, M. The historical development of pharmacopoeias and the inclusion of exotic herbal drugs

with a focus on Europe and Brazil, **Journal of Ethnopharmacology**, v. 240, 111891, 2019.

11) International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use. Guideline for Elemental Impurities Q3D(R1), Versão final, 22 de Março de 2019. Disponível em < https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/international-conference-harmonisation-technical-requirements-registration-pharmaceuticals-human-use_en-32.pdf >. Acesso em 16 de Janeiro de 2020.

12) PINHEIRO, F. C.; BARROS, A. I.; NÓBREGA, J. A. Microwave-assisted sample preparation of medicines for determination of elemental impurities in compliance with United States Pharmacopeia: How simple can it be?, **Analytica Chimica Acta**, v. 1065, p. 1-11, 2019.

13) Agilent Technologies. USP <232>/<233> and ICH Q3D Elemental Impurities Analysis: Agilent's ICP-MS solution. White Paper. PN 5991-8149, Maio 2017. Disponível em < https://www.agilent.com/cs/library/whitepaper/public/ICP-MS-5991-8149EN-USP232_whitepaper.pdf >. Acesso em 16 de Janeiro de 2020.

14) MENOUTIS, J.; PARISI, A.; VERMA, N. Study of the use of axial viewed inductively coupled plasma atomic emission spectrometry with ultrasonic nebulization for the determination of select elemental impurities in oral drug products. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 152, p. 12-16, 2018.

15) THOMAS, R. Practical Guide to ICP-MS: A Tutorial For Beginners, **CRC Press**, 3a. Edição, 2013.

16) Agilent Technologies. Raise your expectations with the new generation of ICP-MS. Sales Flyer. PN 5991-3719EN. Disponível em < <https://www.agilent.com/cs/library/brochures/5991-3719EN.pdf> >. Acesso em 17 de Janeiro de 2020.

17) CHAINET, F.; DESPREZ, A.; CARBONNEAUX, S.; AYOUNI, L.; MILLIAND, M.; LIENEMANN, C. Investigation of the potential of the ICP-MS/MS for total and speciation analysis in petroleum fractions. **Fuel Processing Technology**, v. 188, p. 60-69, 2019.

18) CHOE, K.; GAJEK, R. Determination of trace elements in human urine by ICP-MS using sodium chloride as a matrix matching component in calibration. **Analytical Methods**, v. 8, p. 6754-6763, 2016.

19) PANOVA, M.; KMETOV, V.; DAVCHEVA, D.; TOMOVA, T.; TOMOV, D. Optimizing the determination of mercury in human urine by ICP-MS with a collision cell mode. **Bulgarian Chemical Communications**, Special Issue G, v. 49, p. 88-92, 2017.

20) SUORANTA, T.; BOKHARI, S. N. H.; MEISEL, T.; NIEMELÄ, M.; PERÄMÄKI, P.; Elimination of Interferences in the Determination of Palladium, Platinum and Rhodium

Mass Fractions in Moss Samples using ICP-MS/MS. **Geostandards and Geoanalytical Research**, n. 4, v. 40, p. 559-569, 2016.

21) PINHEIRO, F.C.; LORENÇATTO, R.; BARROS, A.I.; AMARAL, C. D. B.; NÓBREGA, J. A. Fit-for-Purpose ICP-MS Procedure Supporting Brazilian Regulations on Inorganic Constituents in Fresh and Saline Waters, **Journal of Brazilian Chemical Society**, n. 7, v. 29, p. 1570-1578, 2018.

22) NOGUEIRA, R.; MELO, E.A.; FIGUEIREDO, J. L. C.; SANTOS, J. J.; NETO, A. P. N. Arsenic Speciation in Fish and Rice by HPLC-ICP-MS Using Salt Gradient Elution. **Journal of Brazilian Chemical Society**, n. 8, v. 29, p. 1593-1600, 2018.

23) Agilent Technologies. Benefits of the Agilent 8900 ICP-QQQ with MS/MS operation for routine analysis. Technical Note. PN 5991-6943EN. Abril de 2017. Disponível em < <https://www.agilent.com/cs/library/applications/5991-6943EN.pdf> >. Acesso em 17 de Janeiro de 2020.

24) Agilent Technologies. Eliminate the Dilution Step from ICP-MS Sample Prep with the Agilent High Matrix Introduction System. Technical Flyer. PN 5989-8573EN. Maio de 2008. Disponível em < https://www.agilent.com/cs/library/technicaloverviews/public/5989_8573EN.pdf >. Acesso em 17 de Janeiro de 2019.

25) BARROS, A. I., PINHEIRO, F. C., AMARAL, C. D. B., LORENÇATTO, R. Aerosol dilution as a simple strategy for analysis of complex samples by ICP-MS. **Talanta**, v. 178, p. 805-810, 2018.

26) DÖKER, S.; Exploiting aerosol dilution for the determination of ultra-trace elements in honey by collision/reaction cell inductively coupled plasma mass spectrometry (CRC-ICP-MS) without thermal digestion. **Analytical Methods**, n. 11, v. 9, p. 1710-1717, 2017.

27) LI, Y.; GUO, W.; WU, Z.; JIN, L.; KE, Y.; GUO, Q.; HU, S. Determination of ultra-trace rare earth elements in high-salt groundwater using aerosol dilution inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) after iron hydroxide co-precipitation. **Microchemical Journal**, v. 126, p. 194-199, 2016.

28) TAO, D.; GUO, W.; XIE, W.; JIN, L.; GUO, Q.; HU, S.; Rapid and accurate determination of gold in geological materials by an improved ICP-MS method. **Microchemical Journal**, v. 135, p. 221-225, 2017.

29) DÖKER, S.; USLU, M.; Aerosol Dilution Technique for Direct Determination of Ultra-Trace Levels of Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, and Zn in Edible Salt Samples by Collision/Reaction Cell Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (CRC-ICP-MS). **Food Analytical Methods**, v. 7; p. 683-689, 2014.

30) CHAHROUR, O.; MALONE, J.; COLLINS, M.; SALMON, V.; GREENAN, C.; BOMBARDIER, A.; MA, Z.; DUNWOODY, N. Development and validation of an ICP-MS

method for the determination of elemental impurities in TP-6076 active pharmaceutical ingredient (API) according to USP <232>/<233>. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 145, p. 84-90, 2017.

31) JIN, C. Clean chemistry for elemental impurities analysis of pharmaceuticals in compliance with USP 232. **American Association of Pharmaceutical Scientists PharmSciTech**, n. 5, v. 17, p. 1141-1149, 2015.

32) BALARAM, V. Recent advances in the determination of elemental impurities in pharmaceuticals – Status, challenges and moving frontiers. **Trends in Analytical Chemistry**, v.80, p.83-95, 2016.

33) PINHEIRO, F. C.; BARROS, A. I.; NÓBREGA, J. A.; Evaluation of dilute-and-shoot procedure for determination of inorganic impurities in liquid pharmaceutical samples by ICP OES. **Microchemical Journal**, v. 146, p. 948-956, 2019.

34) AN, J.; LEE, H.; NAM, K.; YOON, H. Effect of methanol addition on generation of isobaric polyatomic ions in the analysis of arsenic with ICP-MS. **Microchemical Journal**, v. 131, p. 170-173, 2017.

35) GAJEK, R.; CHOE, K. Determination of ultra-trace elements in human plasma or serum by ICP-MS using sodium in the presence of carbon as a single calibration matrix-match component. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 30, p. 1142-1153, 2015.

36) FINLEY-JONES, H. J.; MOLLOY, J. L.; HOLCOMBE, J. A. Choosing internal standards based on a multivariate analysis approach with ICP(TOF)MS. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, n. 9, v. 23, p. 1169-1316, 2008.

37) ZELYANSKII, A. V.; ZHUKOVA, L. V., KITAEV, G. A. Solubility of AgCl and AgBr in HCl and HBr. **Inorganic Materials**, n. 5, v. 37, p. 523-526, 2001.

38) VENZAGO, C.; POPP, M.; KOVAC, J.; KUNKEL, A. Pharmacopeial requirements for elemental impurities: a novel approach to the trace determination of osmium by oxidative pressure vessel sample digestion and measurement using inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) after complexation and stabilization. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 28, p. 1125-1129, 2013.

39) Inorganic Ventures. Samples containing ruthenium and osmium. Disponível em < <https://www.inorganicventures.com/sample-preparation-guide/samples-containing-ruthenium-and-osmium> >. Acesso em 18 de Janeiro de 2020.

40) NURUBEILI, T. K. Effect of doubly charged ions in forming the mass spectra of solid-state substances in a mass spectrometer with inductively coupled plasma. **Surface Engineering and Applied Eletrochemistry**, n 4, v. 54, p. 395-400, 2018.

41) PUPYSHEV, A. A.; SEMENOVA, E. V. Formation of doubly charged atomic ions in the inductively coupled plasma. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 56, p. 2397-2418, 2001.

42) TANNER, S. D.; BARANOV, V. I.; BANDURA, D. R. Reaction cells and collision cells for ICP-MS: a tutorial review. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 57, p. 1361-1452, 2002.

43) YANG, Y.; WU, F.; XIE, L.; CHU, Z.; YANG, J. Re-evaluation of interferences of doubly charged ions of heavy rare earth elements on Sr isotopic analysis using multi-collector inductively coupled plasma mass spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 97, p. 118-123, 2014.

44) JACKSON, B. P.; LIBA, A.; NELSON, J. Advantages of reaction cell ICP-MS on doubly charged interferences for arsenic and selenium analysis in foods. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, n. 30, p. 1179-1183, 2015.

45) SHIBATA, N.; FUDAGAWA, N.; KUBOTA, M. Oxide formation in eletrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry. **Spectrochimica Acta**, n. 9, v. 48B, p. 1127-1137, 1993.

46) BECKER, J. S.; DIETZE, H. Oxide ion formation of long-lived radionuclides in double-focusing sector field inductively coupled plasma mass spectrometry and their analytical applications. **International Journal of Mass Spectrometry**, v. 202, p. 69-79, 2000.

47) POUSSEL, E.; MERMET, J.; DERUAZ, D. Dissociation of analyte oxide ions in inductively coupled plasma mass spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 9, p. 61-66, 1994.

APÊNDICE

Figura A1: Intensidade de sinal (CPS) de ^{51}V em quatro diferentes modos de diluição de aerossol, em soluções diluídas das amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.

Figura A2: Intensidade de sinal (CPS) de ^{52}Cr em quatro diferentes modos de diluição de aerossol, em soluções diluídas das amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.

Figura A3: Intensidade de sinal (CPS) de ^{59}Co em quatro diferentes modos de diluição de aerossol, em soluções diluídas das amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.

Figura A4: Intensidade de sinal (CPS) de ^{60}Ni em quatro diferentes modos de diluição de aerossol, em soluções diluídas das amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.

Figura A5: Intensidade de sinal (CPS) de ^{63}Cu em quatro diferentes modos de diluição de aerossol, em soluções diluídas das amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.

Figura A6: Intensidade de sinal (CPS) de ^{75}As em quatro diferentes modos de diluição de aerossol, em soluções diluídas das amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.

Figura A7: Intensidade de sinal (CPS) de ^{78}Se em quatro diferentes modos de diluição de aerossol, em soluções diluídas das amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.

Figura A8: Intensidade de sinal (CPS) de ^{95}Mo em quatro diferentes modos de diluição de aerossol, em soluções diluídas das amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.

Figura A9: Intensidade de sinal (CPS) de ^{101}Ru em quatro diferentes modos de diluição de aerossol, em soluções diluídas das amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.

Figura A10: Intensidade de sinal (CPS) de ^{103}Rh em quatro diferentes modos de diluição de aerossol, em soluções diluídas das amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.

Figura A11: Intensidade de sinal (CPS) de ^{111}Cd em quatro diferentes modos de diluição de aerossol, em soluções diluídas das amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.

Figura A12: Intensidade de sinal (CPS) de ^{118}Sn em quatro diferentes modos de diluição de aerossol, em soluções diluídas das amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.

Figura A13: Intensidade de sinal (CPS) de ^{121}Sb em quatro diferentes modos de diluição de aerossol, em soluções diluídas das amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.

Figura A14: Intensidade de sinal (CPS) de ^{137}Ba em quatro diferentes modos de diluição de aerossol, em soluções diluídas das amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.

Figura A15: Intensidade de sinal (CPS) de ^{193}Ir em quatro diferentes modos de diluição de aerossol, em soluções diluídas das amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.

Figura A16: Intensidade de sinal (CPS) de ^{195}Pt em quatro diferentes modos de diluição de aerossol, em soluções diluídas das amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.

Figura A17: Intensidade de sinal (CPS) de ^{205}Tl em quatro diferentes modos de diluição de aerossol, em soluções diluídas das amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.

Figura A18: Intensidade de sinal (CPS) de ^{208}Pb em quatro diferentes modos de diluição de aerossol, em soluções diluídas das amostras A, B, C, D e E, conforme as proporções de vazões de gás diluidor e de nebulização descritos na Tabela 5.

JAAS

Journal of Analytical Atomic Spectrometry
rsc.li/jaas

ISSN 0267-9477

PAPER

Pedro Vitoriano Oliveira *et al.*
Direct analysis of liquid drugs by inductively coupled
plasma mass spectrometry using aerosol dilution

Figura A19: Contra capa do Artigo - R. Lorençatto, G. G. A. de Carvalho, P. V. Oliveira, Direct analysis of liquid drugs by ICP-MS using aerosol dilution, **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, Vol 35, n. 10, October 2020, p. 2077-2396.

SÚMULA CURRICULAR

DADOS PESSOAIS

Nome: Rodolfo Lorençatto

Local e data de nascimento: Campinas, 07/06/1985

EDUCAÇÃO

Ensino médio:

Colégio Oswaldo Cruz, Campinas - SP, 2000-2002.

Ensino superior:

Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro - RJ, 2003-2009:

Graduação em Astronomia (2003-2004) – transferência de curso em 2004.

Graduação em Química com Atribuições Tecnológicas – 2004-2009.

Pós-graduação:

Mestrado em Química, Instituto de Química, **Universidade Federal do Rio de Janeiro**, Rio de Janeiro, 2011-2012 (créditos concluídos, porém o curso foi interrompido por mudança de emprego).

MBA em Gestão com Ênfase em Marketing e Mídias Digitais, **Fundação Getúlio Vargas**, Rio de Janeiro – RJ, 2020 – atual.

OCUPAÇÃO

Fundação Bio-Rio, Rio de Janeiro – RJ.

Químico (Agosto de 2009 a Maio de 2012)

Agilent Technologies Brasil Ltda, Barueri - SP (Remoto).

Especialista de Suporte Técnico em Espectrometria Atômica (Junho 2012 – Fevereiro 2016).

Cientista de Aplicações de Espectrometria Atômica, pré-vendas (Março 2016 – presente)

PRODUÇÃO CIENTÍFICA

1) R. Lorençatto, G. G. A. de Carvalho, P. V. Oliveira, Direct analysis of liquid drugs by ICP-MS using aerosol dilution, **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, Vol. 35, n. 10, October 2020, p. 2077-2396.

2) Evaluation of combination of conventional dilution and aerosol dilution as sampling procedure for liquid drugs analysis according to USP <232,233>, Pôster, ENQA 2018, Caldas Novas – GO.

3) A chemometric approach to access doubly charged and oxide formations and sensitivity for USP <232> elements on liquid drug samples using aerosol dilution for ICP-MS, Trabalho aceito no 19o EWCPs 2019, Pau (França).