



**FURG**

**Dissertação de Mestrado**

**DISPERSÃO DA MATRIZ EM FASE SÓLIDA PARA  
ANÁLISE DE ESPECIAÇÃO DE ARSÊNIO EM ALGAS  
COMESTÍVEIS POR LC-ICP-MS**

---

**Ana Claudia Beduhn Luckow**

**PPGQTA**

**Rio Grande, RS - Brasil**

**2022**

# **DISPERSÃO DA MATRIZ EM FASE SÓLIDA PARA ANÁLISE DE ESPECIAÇÃO DE ARSÊNIO EM ALGAS COMESTÍVEIS POR LC-ICP-MS**

**por**

**ANA CLAUDIA BEDUHN LUCKOW**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química Tecnológica e Ambiental da Universidade Federal do Rio Grande (RS), como requisito parcial para obtenção do título de MESTRE EM QUÍMICA TECNOLÓGICA E AMBIENTAL.

PPGQTA

Rio Grande, RS - Brasil

2022

## Ficha Catalográfica

L941d Luckow, Ana Claudia Beduhn.  
Dispersão da matriz em fase sólida para análise de especiação de arsênio em algas comestíveis por LC-ICP-MS / Ana Claudia Beduhn Luckow. – 2022.  
72 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Programa de Pós-Graduação em Química Tecnológica e Ambiental, Rio Grande/RS, 2022.

Orientador: Dr. Bruno Meira Soares.

1. Algas marinhas comestíveis 2. MSPD 3. LC-ICP-MS 4. Análise de especiação 5. Preparo de amostra I. Soares, Bruno Meira II. Título.

CDU 582.26

Catálogo na Fonte: Bibliotecário José Paulo dos Santos CRB 10/2344

**Universidade Federal do Rio Grande - FURG**  
**Escola de Química e Alimentos**  
**Programa de Pós-Graduação em Química Tecnológica e**  
**Ambiental**

A comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação de Mestrado

**Dispersão da matriz em fase sólida para análise de especiação de**  
**arsênio em algas comestíveis por LC-ICP-MS**

Elaborado por

**Ana Cláudia Beduhn Luckow**

Como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Química Tecnológica  
e Ambiental

**Comissão Examinadora**

Documento assinado digitalmente  
 BRUNO MEIRA SOARES  
Data: 16/12/2022 14:23:40-0300  
Verifique em <https://verificador.iti.br>

---

**Prof. Dr. Bruno Meira Soares (FURG)**  
**(Presidente-Orientador)**

Documento assinado digitalmente  
 FABIO ANDREI DUARTE  
Data: 16/12/2022 15:36:21-0300  
Verifique em <https://verificador.iti.br>

---

**Prof. Dr. Fábio Andrei Duarte (UFSM)**

Documento assinado digitalmente  
 LUIZ FREDERICO RODRIGUES  
Data: 19/12/2022 17:10:57-0300  
Verifique em <https://verificador.iti.br>

---

**Prof. Dr. Luiz Frederico Rodrigues (FURG)**

Rio Grande, 15 de dezembro de 2022.

## AGRADECIMENTOS

---

---

Primeiramente quero agradecer a Deus, por toda proteção, saúde e sabedoria para seguir em frente sempre.

A Universidade Federal do Rio Grande por todas as oportunidades de aprendizado oferecidas durante este período. A CAPES pelo apoio financeiro para a realização do trabalho e a bolsa de estudos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química Tecnológica e Ambiental e aos órgãos de fomento, por tornarem possível a execução desse trabalho.

Ao Prof. Dr. Bruno Meira Soares, por ter depositado confiança em mim e ter aceitado me orientar, por toda paciência, dedicação recebida, pela tranquilidade passada nos momentos mais difíceis e os ensinamentos ao longo do mestrado.

Aos Prof. Dr Fábio Andrei Duarte e Prof. Dr. Luiz Frederico Rodrigues por fazerem parte da banca examinadora e contribuir para o aperfeiçoamento do trabalho.

Ao Prof. Dr Fábio Andrei Duarte por contribuir com o trabalho e possibilitar a ida a Universidade Federal de Santa Maria e realizar os experimentos junto ao seu grupo de pesquisa, o LAQIA.

À Letícia Brudi pela amizade, recepção no LAQIA, por toda ajuda oferecida na realização deste trabalho. Ao Gustavo Bitencourt, por todo auxílio oferecido durante a operação do ICP-MS e ao Cristian Andriolli pelo auxílio na operação do forno micro-ondas.

Ao Laboratório de Análises Químicas, Industriais e Ambientais - LAQIA, pela oportunidade de realizar os experimentos deste trabalho, pela recepção de todos os alunos do grupo e aos ensinamentos compartilhados.

Ao meu co-orientador Dr. Eliézer Quadro Oreste, pela amizade, por todos os ensinamentos ao longo dos anos, contribuições no desenvolvimento deste trabalho e pelo incentivo a fazer o mestrado na FURG.

À Maiara Helena de Melo Malinowski, à Dr. Sergiane Caldas Barbosa e ao Dr. Jean Lucas de Oliveira Arias, pela disposição sempre de ajudar e que me receberam muito bem no grupo do GEPAE, LACOM e no CIA.

Ao Laboratório de Compostos Orgânicos e Metais - LACOM, Laboratório de Eletroespectro Analítica - LEEA, ao Laboratório de Hidroquímica e o Centro Integrado de Análises - CIA pelo espaço concedido para a realização das análises e as colaborações para o desenvolvimento deste trabalho.

À minha família, meus pais Ersídio e Leda, com os quais sempre pude contar para absolutamente tudo, que nunca mediram esforços para que eu pudesse me dedicar a minha formação acadêmica, sempre me incentivando e não deixando desistir em nenhum momento. Ao meu irmão Régis, que está sempre ao meu lado, com o qual posso contar sempre, pra qualquer coisa.

Às minhas amigas Letícia e Taís, minhas irmãs de outra mãe, que estão sempre do meu lado e que posso contar com o apoio em qualquer momento, independente da situação.

# SUMÁRIO

---



---

LISTA DE FIGURAS.....	viii
LISTA DE TABELAS .....	ix
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS .....	x
RESUMO.....	xiii
ABSTRACT.....	xiiiiv
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>5</b>
<b>2.1 Algas.....</b>	<b>5</b>
<b>2.2 Arsênio.....</b>	<b>6</b>
2.2.1 Considerações Gerais.....	6
2.2.2 Espécies de Arsênio.....	7
<b>2.3 Técnicas analíticas empregadas para determinação de espécies de Arsênio.....</b>	<b>8</b>
2.3.1 Cromatografia Líquida acoplada à espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (LC-ICP-MS).....	9
<b>2.4 Métodos empregados para extração de Arsênio.....</b>	<b>10</b>
<b>2.5 Dispersão da Matriz em Fase Sólida (MSPD).....</b>	<b>27</b>
2.5.1 Princípios Básicos.....	27
2.5.2 Modificações da MSPD.....	28
2.5.3 Aplicações da MSPD.....	30
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>32</b>
<b>3.1 Instrumentação.....</b>	<b>32</b>
<b>3.2 Reagentes.....</b>	<b>33</b>
<b>3.3 Amostras.....</b>	<b>34</b>
<b>3.4 Pré-tratamento das amostras.....</b>	<b>34</b>
<b>3.5 Decomposição assistida por MAD.....</b>	<b>35</b>
<b>3.6 Extração das espécies de arsênio empregando a MSPD.....</b>	<b>35</b>
<b>3.7 Avaliação dos parâmetros da MSPD.....</b>	<b>36</b>

3.7.1 Avaliação do tipo de suporte sólido.....	37
3.7.2 Avaliação da massa de suporte sólido.....	37
3.7.3 Avaliação do tipo de solução extratora.....	37
3.7.4 Avaliação da etapa de aquecimento.....	38
<b>3.8 Determinação das espécies de arsênio por LC-ICP-MS.....</b>	<b>38</b>
<b>3.9 Fluxograma dos procedimentos empregados.....</b>	<b>39</b>
<b>3.10 Validação do método.....</b>	<b>39</b>
3.10.1 Linearidade.....	40
3.10.2 Limite de detecção e quantificação.....	40
3.10.3 Exatidão e precisão.....	40
<b>3.11 Análises estatísticas e <i>software</i>.....</b>	<b>41</b>
<b>3.12 Tratamento dos resíduos.....</b>	<b>41</b>
<b>4. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS .....</b>	<b>42</b>
<b>4.1 Determinação de arsênio total por ICP-MS após decomposição por MAD.....</b>	<b>42</b>
<b>4.2 Avaliação dos parâmetros da MSPD.....</b>	<b>43</b>
4.2.1 Avaliação do tipo de suporte sólido.....	43
4.2.2 Avaliação da massa de suporte sólido.....	45
4.2.3 Avaliação do tipo de solução extratora.....	47
4.2.4 Avaliação da influência do suporte sólido na maceração.....	49
4.2.5 Avaliação da etapa de aquecimento.....	50
<b>4.3 Análise de especiação de arsênio por LC-ICP-MS.....</b>	<b>52</b>
<b>4.4 Validação do método.....</b>	<b>54</b>
4.4.1 Linearidade.....	54
4.4.2 Limite de detecção e quantificação.....	54
4.4.3. Exatidão e precisão.....	55
4.4.4. Determinação das espécies de arsênio por LC-ICP-MS após extração por MSPD.....	56
<b>5. CONCLUSÕES .....</b>	<b>60</b>
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>62</b>

## LISTA DE FIGURAS

---

---

<b>Figura 1.</b> Esquema da MSPD original .....	28
<b>Figura 2.</b> Esquema com as etapas da VA-MSPD.....	29
<b>Figura 3.</b> Publicações extraídas da plataforma <i>Web of Science</i> contendo as palavras-chave “MSPD” e “ <i>Matrix solid-phase dispersion</i> ”, nos últimos 17 anos.....	30
<b>Figura 4.</b> Fluxograma dos procedimentos e estudos empregados neste trabalho.....	39
<b>Figura 5.</b> Influência do tipo de suporte sólido na eficiência de extração de As total por MSPD em amostras de alga do tipo Nori. As barras representam a concentração de As total ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ), os marcadores (quadrados brancos) representam a eficiência de extração e as barras de erro representam o desvio padrão ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ).....	44
<b>Figura 6.</b> Influência da massa de suporte sólido na eficiência de extração de As total por MSPD em amostras de alga do tipo Nori. As barras representam a concentração de As total ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ), os marcadores (quadrados brancos) representam a eficiência de extração e as barras de erro representam o desvio padrão ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ). .....	46
<b>Figura 7.</b> Influência do tipo de solução extratora na eficiência de extração de As total por MSPD em amostras de alga do tipo Nori. As barras representam a concentração de As total ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ), os marcadores (quadrados brancos) representam a eficiência de extração e as barras de erro representam o desvio padrão ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ).....	47
<b>Figura 8.</b> Influência da etapa de aquecimento na MSPD na eficiência de extração de As total por MSP em amostras de alga do tipo Nori, Kombu e Hijiki. As barras representam a eficiência de extração e as barras de erro representam o desvio padrão relativo (RSD) (%) obtidos pelo método proposto.....	51
<b>Figura 9.</b> Fluxograma da MSPD modificada otimizada.....	52
<b>Figura 10.</b> Cromatograma obtido por LC-ICP-MS após extração das espécies de As por MSPD (extratos 2x diluídos) em amostras de algas do tipo Nori, Kombu e Hijiki.....	53

## LISTA DE TABELAS

---

---

<b>Tabela 1.</b> Trabalhos sobre análise de especiação de As em alimentos, reportados na literatura.....	11
<b>Tabela 2.</b> Parâmetros instrumentais utilizados para determinação de As por ICP-MS.....	32
<b>Tabela 3.</b> condições cromatográficas empregadas na determinação das espécies de as por LC-ICP-MS.....	38
<b>Tabela 4.</b> Determinação de As total por ICP-MS, após decomposição por MAD em amostras de algas comestíveis (resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão, em $\mu\text{g g}^{-1}$ , n = 3).....	42
<b>Tabela 5.</b> Influência da areia do mar como suporte sólido durante a maceração na eficiência de extração de As total por MSPD em amostras do tipo Nori, Kombu e Hijiki (resultados de As total expressos como média $\pm$ desvio padrão, em $\mu\text{g g}^{-1}$ , n = 3).....	49
<b>Tabela 6.</b> Limite de detecção (LD) e quantificação (LQ) instrumental e do método proposto.....	55
<b>Tabela 7.</b> Determinação de espécies de As no CRM NIST 1568b.....	56
<b>Tabela 8.</b> Determinação de espécies de As por LC-ICP-MS em algas comestíveis, após extração por MSPD (resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão, $\mu\text{g g}^{-1}$ , n = 3).....	57

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

---

---

1. AAS, Espectrometria de absorção atômica, do inglês *atomic absorption spectrometry*
2. AFS, Espectrometria de fluorescência atômica, do inglês *atomic fluorescence spectrometry*
3. ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária
4. AsB, Arsenobetaina, do inglês *arsenobetaine*
5. AsC, Arsenocolina, do inglês *arsenocholine*
6. As(III), Arsenito, do inglês *arsenite*
7. As(V), Arsenato, do inglês *arsenate*
8. AsSug, Arsenoaçúcares, do inglês *arsenosugars*
9. AsSugOH, Arsenoaçúcar glicerol, do inglês *glycerol arsenosugars*
10. AsSugPO<sub>4</sub>, Arsenoaçúcar fosfato, do inglês *phosphate arsenosugars*
11. AsSugSO<sub>4</sub>, Arsenoaçúcar sulfato, do inglês *sulphate arsenosugars*
12. AsSugSO<sub>3</sub>, Arsenoaçúcar sulfonato, do inglês *sulphonate arsenosugars*
13. AsLip, Arsenolipídeos, do inglês *arsenolipids*
14. AsH<sub>3</sub>, Arsina, do inglês *arsine*
15. CE-ICP-MS, Eletroforese capilar acoplada à espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado, do inglês *capillary electrophoresis inductively coupled plasma mass spectrometry*
16. Cps, Contagens por segundo, do inglês *counts per second*
17. CRM, Material de Referência Certificado, do inglês *Certified Reference Material*
18. CZE-UV, eletroforese de zona capilar com detecção de absorção ultravioleta, do inglês *capillary zone electrophoresis with ultraviolet absorption detection*
19. DMA, Ácido dimetilarsínico, do inglês *dimethyl arsinate*
20. ED, Espécie desconhecida
21. ESI, Ionização por eletro spray, do inglês *electron spray ionization*
22. GC, Cromatografia a gás, do inglês *Gas Chromatography*
23. GC-MS, Cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massa, do inglês *gas chromatography coupled mass spectrometry*
24. GC-ICP-MS, Cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado, do inglês *gas chromatography inductively coupled plasma mass spectrometry*
25. HG, Geração de hidretos, do inglês *Hydride generation*

26. HG AAS, Espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos, do inglês *hydride generation atomic absorption spectrometry*
27. HG AFS, Espectrometria de fluorescência atômica com geração de hidretos, do inglês *hydride generation atomic fluorescence spectrometry*
28. IARC, Agência Internacional de Pesquisa sobre Câncer, do inglês *International Agency for Research on Cancer*
29. iAs, Espécies inorgânicas de Arsênio
30. IC-ICP-MS, Cromatografia de íons acoplada a espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado, do inglês *ion chromatography inductively coupled plasma mass spectrometry*
31. ICP-MS, Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado, do inglês *inductively coupled plasma mass spectrometry*
32. IUPAC, União Internacional de Química Pura e Aplicada, do inglês *International Union of Pure and Applied Chemistry*
33. LC, cromatografia a líquido, do inglês *liquid chromatography*
34. LC-HG-AFS, cromatografia a líquido com geração de hidretos acoplada à espectrometria de fluorescência atômica, do inglês *liquid chromatography hydride generation atomic fluorescence spectrometry*
35. LC-UV-HG-AFS, cromatografia a líquido com geração de hidretos e radiação ultravioleta acoplada à espectrometria de fluorescência atômica, do inglês *liquid chromatography ultraviolet radiation hydride generation atomic fluorescence spectrometry*
36. LC-ICP-MS, Cromatografia a líquido acoplada à espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado, do inglês *liquid chromatography inductively coupled plasma mass spectrometry*
37. LC-HG-AFS, Cromatografia a líquido com geração de hidretos acoplada à espectrometria de fluorescência atômica, do inglês *liquid chromatography hydride generation atomic fluorescence spectrometry*
38. LC-(VG)-HG-AFS, Cromatografia a líquido com geração de vapor e geração de hidretos acoplada à espectrometria de fluorescência atômica, do inglês *liquid chromatography-cold vapor-hydride generation-atomic fluorescence spectrometry*
39. FI-HG-ET AAS, Espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos e atomização eletrotérmica com análise por injeção em fluxo, do inglês *flow injection-hydride generation-electrothermal atomization atomic absorption spectrometry*
40. LMT, Limite Máximo Tolerado
41. LOD, Limite de Detecção, do inglês *Limit of Detection*
42. LOQ, Limite de Quantificação, do inglês *Limit of Quantification*
43. MAD, Decomposição assistida por micro-ondas, do inglês *microwave-assisted digestion*
44. MAE, Extração assistida por micro-ondas, do inglês *microwave-assisted extraction*
45. MMA, Ácido monometilarsônico, do inglês *monomethyl arsonate*
46. MSPD, Dispersão da matriz em fase sólida, do inglês *matrix solid-phase dispersion*

47. NIST, Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia, do inglês *National Institute of Standards and Technology*
48. PTFE, Politetrafluoroetileno
49. PPCPs, Produtos de Higiene e Cuidado Pessoal, do inglês *Pharmaceuticals and Personal Care Products*
50. PP, Polipropileno
51. PS-DVB, Poli(estireno-divinilbenzeno)
52. RSD, Desvio Padrão Relativo, do inglês *Relative Standard Deviation*
53. SPE, Extração em fase sólida, do inglês *solid-phase extraction*
54. TMA<sub>2</sub>O, Óxido de Trimetilarsina, do inglês *tetramethylarsine oxide*
55. TMAP, Trimetilarsônio propionato, do inglês *trimethylarsonio propionate*
56. TETRA, Tetrametilarsônio, do inglês *tetramethylarsonium*
57. TMA<sup>+</sup>, Íon Tetrametilarsônio, do inglês *tetramethylarsonium ion*
58. T<sub>R</sub>, Tempo de Retenção
59. UAE, Extração assistida por ultrassom, do inglês *ultrasound-assisted extraction*
60. UHPLC-UV, Cromatografia a líquido de ultra alta performance com detector ultravioleta, do inglês *ultra high performance liquid chromatography-ultraviolet detector*
61. VA-MSPD, Dispersão da matriz em fase sólida assistida por vórtex, do inglês *vortex-assisted matrix solid-phase dispersion*
62. WHO, Organização Mundial da Saúde, do inglês *World Health Organization*

## RESUMO

---

---

### **Título: Dispersão da matriz em fase sólida para análise de especiação de arsênio em algas comestíveis por LC-ICP-MS**

Autor: Ana Claudia Beduhn Luckow

Orientador: Prof. Dr. Bruno Meira Soares

Neste trabalho, está sendo proposto pela primeira vez o emprego da dispersão da matriz em fase sólida (MSPD) para a extração de espécies de arsênio arsenito (As(III)), arsenato (As(V)), ácido dimetilarsínico (DMA) e ácido monometilarsônico (MMA) em amostras de algas comestíveis para posterior separação e determinação por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (LC-ICP-MS). A MSPD foi avaliada utilizando a amostra de alga Nori (*Porphyra spp.*) e foi aplicada nas amostras de alga Kombu (*Laminaria ochroleuca*) e Hijiki (*Hizikia fusiformis*). Os principais parâmetros da MSPD foram avaliados e a MSPD foi proposta de forma modificada, utilizando 0,25 g de amostra juntamente com 0,25 g de areia (como suporte sólido), os quais foram macerados por 5 min. Posteriormente, foram adicionados 10 mL de água ultrapura como solução extratora e a mistura foi submetida a aquecimento em banho-maria a 50 °C por 10 min, agitação em vórtex por 1 min e centrifugação a 5000 rpm por 10 min. Por fim, o sobrenadante foi filtrado e analisado. O método se mostrou linear, o qual foi avaliado através da calibração com a espécie DMA ( $R^2 > 0,99$ ). O limite de detecção do método foi de 0,01  $\mu\text{g g}^{-1}$  para as espécies em estudo. A exatidão foi avaliada utilizando material de referência certificado de farinha de arroz (NIST 1568b), obtendo concordância de 107% para o DMA e 102% para o iAs (As(III) + As(V)) com os valores certificados. A eficiência de extração obtida com a MSPD esteve entre 83 e 104%, a recuperação cromatográfica esteve entre 61 e 66% e o balanço de massa esteve entre 51 e 68%.

Palavras-chave: Algas marinhas comestíveis; MSPD; LC-ICP-MS; Análise de especiação; Preparo de amostra

## ABSTRACT

---

---

**Title: Solid-phase matrix dispersion for arsenic speciation analysis in edible seaweed by LC-ICP-MS**

Author: Ana Claudia Beduhn Luckow

Advisor: Prof. Dr. Bruno Meira Soares

In this work, the use for the first time of the modified solid-phase matrix dispersion (MSPD) for the extraction of arsenic species arsenite (As(III)), arsenate (As(V)), dimethyl arsinic acid (DMA), and monomethyl arsonic acid (MMA) in edible seaweed for further separation and determination by liquid chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometry (LC-ICP-MS) has been proposed. MSPD was evaluated using the Nori (*Porphyra spp.*) and further applied for Kombu (*Laminaria ochroleuca*), and Hijiki (*Hizikia fusiformis*) seaweed samples. The main MSPD parameters were evaluated and the MSPD has been proposed in the modified form using 0.25 g of sample, 0.25 g of sea sand (as solid support), which were macerated for 5 min. Furtherly, 10 mL of ultrapure water was added as extraction solution and the moisture was heated in a water bath at 50 °C for 10 min, vortexed for 1 min, centrifugated for 10 min at 5000 rpm, and the supernatant was filtered and analyzed. The method proved to be linear, which was evaluated through the calibration curve with DMA ( $R^2 > 0.99$ ). The limit of detection of the method was 0.01  $\mu\text{g g}^{-1}$  for all species. The accuracy was evaluated using a certified reference material (CRM) of rice flour (NIST 1568b), obtaining agreement of 107% for DMA and 102% for iAs (As(III) and As(V)) with the certified values. The extraction efficiency ranged from 83 to 104%, the chromatographic recovery from 61 to 66%, and the mass balance from 51 to 68%.

Keywords: Edible seaweed; MSPD; LC-ICP-MS; Speciation analysis; Sample preparation

# 1. INTRODUÇÃO

---

---

As algas são alimentos amplamente consumidos no mundo todo, mas principalmente nos países do continente Asiático como no Japão, China, Coreia do Sul, entre outros, devido às questões culturais na sua forma de alimentação. As algas são consumidas geralmente na forma de saladas, sopas, temperos e no preparo de caldos que são a base para diversas preparações. As algas também apresentam uma grande importância econômica para a indústria de alimentos, pois podem ser empregadas no preparo de diversos produtos devido as suas propriedades gelificantes e emulsificantes, sua capacidade de retenção de água, além de serem utilizadas na forma de aditivos (GULERI e TIWARI, 2020; PEREIRA, 2020).

No mercado, se encontram disponíveis diversas variedades de algas comestíveis, cada uma com as suas particularidades, tanto no sabor quanto na aparência. Como as algas podem absorver contaminantes do meio em que são cultivadas, ao longo do seu crescimento pode ocorrer a bioacumulação de elementos potencialmente tóxicos, como As, Cd, Pb, Sn, Hg, entre outros (MIRANDES *et al.*, 2011; WANG *et al.*, 2015). No entanto, a avaliação da concentração total de um elemento químico presente nos alimentos traz informações limitadas a respeito dos seus potenciais efeitos, os quais podem ser benéficos ou maléficos à saúde humana. Isso pode ser atribuído às diferentes formas químicas (espécies químicas) que os elementos químicos podem se apresentar (LIU *et al.*, 2017; MAHER *et al.*, 2015; NEARING *et al.*, 2014; REIS *et al.*, 2018; WANG *et al.*, 2015).

De acordo com a *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC), o termo “análise de especiação” é conceituado como a atividade analítica de identificação e/ou medição da quantidade de uma ou mais espécies químicas em uma amostra e “espécie química” é a forma específica de um elemento definida como a composição isotópica, estado de oxidação e/ou estrutura molecular ou na forma de complexo (TEMPLETON *et al.*, 2000). A análise de especiação tem sido reportada para vários elementos, como o As, Cr, Hg, I, Sb, Se, Sn, entre outros, em diversos tipos de matrizes (DRESSLER *et al.*, 2011; HART *et al.*, 2011; XIA *et al.*, 2017). Muitos estudos

na literatura abordam a importância da determinação de diferentes espécies químicas, entre as quais destaca-se a especiação de As, devido aos diferentes efeitos tóxicos que as espécies químicas desse elemento apresentam (BABA *et al.*, 2014; JUSKELIS *et al.*, 2013; NARUKAWA *et al.*, 2011; RUTTENS *et al.*, 2018).

Diversos estudos sobre a determinação de espécies de As podem ser encontrados literatura, onde os métodos dividem-se em métodos cromatográficos e não-cromatográficos. Nos métodos cromatográficos, as espécies de As são, geralmente, extraídas para uma fase e, posteriormente, utiliza-se a combinação de duas técnicas de análise, sendo uma responsável pela separação das espécies e outra para a detecção e quantificação. Para a detecção, as técnicas comumente utilizadas são baseadas em espectrometria atômica, espectrometria de massa, entre outras. Nos métodos não-cromatográficos, não existe a etapa de separação, as espécies são, normalmente, isoladas e etapas de oxidação ou redução permitem a detecção seletiva de uma ou mais espécies, sendo as demais quantificadas por diferença. Neste caso, as técnicas de espectrometria atômica e as eletroquímicas têm sido reportadas para detecção (YU *et al.*, 2020; KARON *et al.*, 2015; REZENDE *et al.*, 2014)

A técnica de espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) tem sido amplamente utilizada na determinação de espécies de As, pois apresenta excelente seletividade, alta sensibilidade, ampla linearidade e permite a detecção sequencial de vários elementos (KEMPAHANUMAKKAGARI *et al.*, 2017; ANAWAR *et al.*, 2012). A ICP-MS pode ser combinada com técnicas cromatográficas, como a cromatografia líquido (LC) ou cromatografia a gás (GC). Essa combinação permite a separação e detecção das espécies químicas em baixas concentrações. Quando o objetivo é a determinação de espécies orgânicas e inorgânicas de As, a técnica de LC pode ser facilmente acoplada ao sistema de introdução de amostra do instrumento de ICP-MS, permitindo uma separação eficiente e, em seguida, a detecção em baixas concentrações (MAHER *et al.*, 2015; SALGADO *et al.*, 2012). Desta forma, configura-se a técnica hifenada denominada cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (LC-ICP-MS) (HSIEH *et al.*, 2012; ACUÑA *et al.*, 2013; ZMOZINSKI *et al.*, 2015).

Sendo assim, para que possa ser feita a quantificação das espécies de As por essa combinação de técnicas, é necessário realizar uma extração eficiente dos analitos

em estudo, uma vez que necessitam que a amostra seja introduzida na forma líquida. Dessa forma, são necessários métodos de preparo de amostras que, comumente, baseiam-se na extração dos analitos. Durante todo o processo de preparo de amostra, que envolve desde a amostragem até a extração, deve haver um cuidado especial para que não ocorram perdas de analito por volatilização, degradação e/ou interconversão entre as espécies. Sendo assim, os parâmetros que devem ser considerados no procedimento de extração envolvem o tipo de solvente extrator, o tempo e a temperatura utilizados (YU *et al.*, 2020; KRUG, 2010).

Alguns dos métodos de extração de espécies de As relatados na literatura, envolvem o uso de ácido trifluoroacético (TFA) (RABER *et al.*, 2012) e metanol (CH<sub>3</sub>OH) (TAYLOR *et al.*, 2016), os quais apresentam maior risco de manipulação para o analista, bem como a geração de resíduos tóxicos para o meio ambiente. Como alternativa, algumas propostas têm empregado extrações com reagentes ácidos (HNO<sub>3</sub>, HCl, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> e HCOOH), além de solventes orgânicos como etanol, sendo estes menos agressivos e/ou utilizados de forma diluída, contribuindo assim com os princípios da Química Analítica Verde (GAC) (HUANG *et al.*, 2010; MIRANDES *et al.*, 2011; MIRANDES *et al.*, 2012). Esses reagentes combinados com o uso de extração assistida por vórtex (CHOI *et al.*, 2016), extração assistida por micro-ondas (MAE) (WOLLE *et al.*, 2018), extração com aquecimento em banho-maria ou extração assistida por ultrassom (UAE) (TAYLOR *et al.*, 2016), permitem realizar a extração eficiente das espécies de As. De forma geral, independentemente do método de extração utilizado, os extratos devem ser centrifugados e filtrados para posterior determinação das espécies através de separação cromatográfica (PICAZO *et al.*, 2014; TSAI *et al.*, 2011).

Atualmente, a tendência da Química Analítica é o desenvolvimento de métodos mais simples, que sejam rápidos, com um número reduzido de etapas e que permitam a diminuição do consumo de reagentes e energia, além de menor geração de resíduos (WIANOWSKA e GIL, 2019). Considerando essas características, a dispersão da matriz em fase sólida (MSPD) pode ser uma alternativa interessante para ser utilizada como método de preparo de amostras visando a posterior determinação de espécies de As, apresentando aspectos como simplicidade, baixo custo e robustez em comparação com os métodos de preparo de amostras supracitados (APRIOTTI *et al.*,

2010; CAPRIOTTI *et al.*, 2015; CAO *et al.*, 2016). Adicionalmente, na literatura também têm sido reportados trabalhos que empregam a MSPD e fazem uso de suportes sólidos verdes, como materiais que encontram-se disponíveis no ambiente, apresentando a mesma eficiência que os suportes disponíveis comercialmente. Suportes sólidos verdes como quitosana, terra diatomácea, casca de mexilhão e areia do mar (MALINOWSKI *et al.*, 2022) vêm sendo empregados, para diversas matrizes como algas, peixes, frutas e vegetais, entre outros, permitindo um isolamento seletivo de uma variedade de compostos (MOREDA-PIÑEIRO *et al.*, 2008; VIEIRA *et al.*, 2018; SANTOS *et al.*, 2019). É importante salientar, que a maioria dos trabalhos encontrados na literatura até o momento, empregam a MSPD como método de preparo de amostras para a extração de compostos orgânicos e poucos trabalhos têm investigado a MSPD para a extração de espécies químicas (MOREDA-PIÑEIRO *et al.*, 2008; DUARTE *et al.*, 2013). Até o momento, não foi encontrado nenhum relato na literatura sobre o emprego da MSPD para extração de espécies de As em algas comestíveis.

Portanto, este trabalho teve como objetivo desenvolver e validar um método analítico empregando a MSPD para a extração de espécies de As de algas comestíveis para a posterior separação e detecção/quantificação por LC-ICP-MS.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

---

### 2.1 Algas

Atualmente, existem muitas espécies de algas marinhas catalogadas, as quais são classificadas em três principais grupos, com base na sua pigmentação: algas vermelhas (*Rhodophyta*), marrons (*Phaeophyta*) e verdes (*Chlorophyta*). Essas algas podem ser consumidas diretamente ou adicionadas no preparo de diversos alimentos, sendo fontes de nutrientes, como proteínas, fibras alimentares, vitaminas, minerais e diversos compostos bioativos como polissacarídeos e polifenóis (AKYIL *et al.*, 2018).

As algas que recebem o nome de *Rhodophyta* são comercialmente conhecidas como algas vermelhas. Existem em torno de 7000 espécies conhecidas e em sua maioria crescem em águas salgadas. Essas algas apresentam uma grande importância econômica, pois os álgares retirados da sua parede celular são comumente usados como espessantes e estabilizadores em produtos lácteos como sorvetes e alimentos processados e ainda como base para a produção de diversos cosméticos. Em algumas regiões orientais ainda são comercializadas e consumidas como vegetais. As algas marrons são quase exclusivamente encontradas nos oceanos e nas águas frias do hemisfério Norte, compreendendo mais de 12 espécies. Comercialmente, as algas marrons são conhecidas como “Kombu” e “Wakame”, sendo as mais consumidas no mundo inteiro e uma fonte alimentar nutritiva e tradicional, também são usadas em sistemas de medicina tradicional por tratar várias condições de saúde, incluindo doenças da tireoide por ser rica em iodo, elemento que ajuda no seu funcionamento. As algas verdes são encontradas principalmente em águas doces e apresentam altas concentrações de amido em sua composição. São comercialmente conhecidas como “Nori” e “alfaces do mar”, existindo mais de 17000 espécies catalogadas em todas as águas do mundo. Além de serem essenciais para o equilíbrio do ecossistema, apresentam benefícios para a saúde como a regulação do metabolismo, o aumento da imunidade, a melhoria da saúde do coração, entre outras. Apresentam um elevado teor de proteínas e fibra alimentar solúvel e geralmente são consumidas em saladas ou

cozidas em sopas, molhos, refogados de legumes, entre outras formas (MIYASHITA *et al.*, 2013).

Cada espécie de alga requer seu próprio método de cultivo e fatores como temperatura, nutrientes e cinesia da água são determinantes para seu desenvolvimento. Ao longo do seu crescimento, as algas estão sujeitas a diferentes tipos de contaminação por elementos potencialmente tóxicos à saúde humana, os quais podem ser absorvidos no ambiente marinho. Um desses elementos é o As, que normalmente está presente em baixas concentrações na água do mar (em concentrações de aproximadamente  $10 \mu\text{g L}^{-1}$ ). No entanto, este elemento pode sofrer o processo de bioacumulação, onde os organismos aquáticos absorvem o As, principalmente o inorgânico, o qual pode sofrer o processo de biotransformação em espécies menos tóxicas, como as espécies orgânicas de As (MIYASHITA *et al.*, 2013; MIRANDES *et al.*, 2011).

## **2.2 Arsênio**

### **2.2.1 Considerações gerais**

O As é um elemento considerado tóxico dependendo da sua concentração no ambiente. No entanto, é um elemento naturalmente presente na água, solo e rochas. Geralmente, o As está presente em concentrações traço (na ordem de  $\mu\text{g L}^{-1}$  ou  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ), mas as concentrações podem ser mais elevadas em áreas afetadas por atividades antropogênicas. Como exemplo, destacam-se o emprego de pesticidas e fertilizantes na agricultura ou até mesmo pela água de irrigação utilizada (BAIRD, 2002; STANLEY, 2001).

Embora os pesticidas a base de compostos de As tenham sido substituídos por outros compostos orgânicos, ainda é possível encontrar esse elemento como contaminante em algumas culturas. Entre os alimentos, os de origem marinha são responsáveis por cerca de 90% da exposição humana ao As. Ao entrar em contato com o corpo humano, o As pode afetar os sistemas neurológico, cardiovascular e respiratório, causando diversos problemas de saúde e com efeitos mutagênicos e carcinogênicos (SOUZA *et al.*, 2015). Cabe ressaltar, que o As não é um elemento essencial para processos biológicos. Como não possui uma rota metabólica definida no organismo humano, o As inorgânico tende a ser acumulado nos tecidos, devido a sua

afinidade com proteínas e lipídios. Tem-se o conhecimento que o As é carcinógeno para seres humanos e sua inalação ou ingestão está associada a câncer de pulmão, pele e fígado (SOUZA *et al.*, 2015; RENNEN *et al.*, 2022).

Nesse sentido, existem legislações e normativas quanto a quantidade limite de As em água e em diversos alimentos. Segundo a RDC nº 42 de 29 de agosto de 2013 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, a qual estabelece os limites máximos para As, concentrações entre 100 e 500  $\mu\text{g L}^{-1}$  são os valores máximos permitidos em bebidas como sucos e néctares de frutas, bebidas alcóolicas fermentadas e fermento-destilladas. Alimentos como (castanhas, raízes e tubérculos, trigo, leite entre outros) possuem limites máximos de até 1  $\mu\text{g g}^{-1}$ , enquanto que para água potável o máximo permitido é de 10  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Adicionalmente, também existem limites para alimentos específicos quanto à concentração máxima de As, como arroz e derivados (0,3  $\mu\text{g g}^{-1}$ ), peixe (1  $\mu\text{g g}^{-1}$ ), moluscos (1  $\mu\text{g g}^{-1}$ ), cogumelos (0,3  $\mu\text{g g}^{-1}$ ), legumes (0,1  $\mu\text{g g}^{-1}$ ), entre outros. Cabe salientar, que os limites supracitados foram estabelecidos para a quantidade de As total, não havendo legislação para limites máximos de espécies de As em alimentos (MISTÉRIO DA SAÚDE, 2013).

### 2.2.2 Espécies de arsênio

A toxicidade do As está relacionada com a sua forma química, podendo ser encontrado de diversas formas dependendo do meio que estiver inserido. O As é considerado mais tóxico na forma do gás arsina ( $\text{AsH}_3$ ). Também se apresenta na forma inorgânica, com diferentes estados de oxidação (-3, 0, +3, +5), sendo os mais predominantes o ácido arsenoso (As(III)) em condições redutoras e o ácido arsênico (As(V)) em condições oxidantes, sendo que essas espécies são altamente tóxicas e pode ocorrer a interconversão entre as espécies dependendo das condições redox e pH. O As também pode ser encontrado na forma orgânica, sendo os principais compostos o ácido monometilarsênico (MMA), ácido dimetilarsônico (DMA), ácido *p*-arsanílico (*p*-ASA), arsenobetaína (AsB), arsenocolina (AsC), óxido de trimetilarsina (TMAO), trimetilarsônio (TMAP), tetrametilarsônio (TETRA), arsenoaçúcares (AsSug), arsenolipídeos (AsLip) e o íon tetrametilarsônio ( $\text{TMA}^+$ ), as quais são consideradas 100 vezes menos tóxicas que as espécies inorgânicas de As. As espécies de As geralmente identificadas nas algas marinhas em maior concentração são os

arsenoaçúcares e as espécies inorgânicas As(III) e As(V), além das espécies orgânicas como o MMA, DMA, TMAO, TMA<sup>s+</sup>, AsB e AsC (REZENDE *et al.*, 2014; SEVILLANO *et al.*, 2014; TAYLOR *et al.*, 2016; ATSDR, 2020; WHO, 2020).

As espécies AsC, AsB e AsSug são relativamente menos tóxicas, porém alguns estudos sugerem que os AsSug devem ser considerados compostos potencialmente tóxicos por serem metabolizados por seres humanos e até agora não há resultados conclusivos sobre sua toxicidade (WANG *et al.*, 2015; NARUKAWA *et al.*, 2012).

### **2.3 Técnicas analíticas empregadas para determinação de espécies de arsênio**

Estudos de especiação têm se tornado extremamente relevantes para diversas áreas de conhecimento, uma vez que somente a composição total traz informações limitadas a respeito de diversas características do elemento como toxicidade, mobilidade química, biodisponibilidade e bioacumulação.

Existem dois tipos de estratégias para realizar a análise de especiação, os métodos não cromatográficos e os métodos cromatográficos. Nos métodos não cromatográficos, utiliza-se normalmente uma técnica de detecção/quantificação seletiva de um analito e etapas de redução ou oxidação adicionais permitem a determinação do teor total do elemento, sendo a concentração dos demais analitos determinada por diferença. Entre as técnicas de detecção empregadas destacam-se a espectrometria de fluorescência atômica (AFS), a espectrometria de absorção atômica (AAS) e as técnicas voltamétricas (MAHER *et al.*, 2015). Como desvantagem, alguns métodos não cromatográficos não permitem a determinação de espécies orgânicas, apenas as inorgânicas.

Os métodos cromatográficos são os mais empregados em análise de especiação, os quais compreendem uma etapa de separação combinada com uma etapa de detecção/quantificação (YU *et al.*, 2019). Aspectos estruturais como carga, polaridade e propriedades físico-químicas como a pressão de vapor das espécies são fatores determinantes para a escolha da técnica de separação (HANTAO *et al.*, 2016). As técnicas de separação comumente empregadas são as técnicas cromatográficas, as quais podem ser acopladas com outra técnica de detecção como a ICP-MS, gerando uma técnica hifenada. Como exemplo, destacam-se a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (GC-ICP-MS) (ANTES

*et al.*, 2011), a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC-MS) (DUARTE *et al.*, 2013) e a eletroforese capilar acoplada à espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (CE-ICP-MS) (YANG *et al.*, 2009). Porém, o acoplamento mais empregado é a LC-ICP-MS (DA ROSA *et al.*, 2019). A seguir, serão discutidas as principais características e fundamentos dessa técnica, além das suas vantagens e desvantagens.

### **2.3.1 Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (LC-ICP-MS)**

A análise de especiação exige técnicas com elevada sensibilidade e boa seletividade, já que a separação de As é influenciada por parâmetros como a natureza da fase estacionária (coluna), temperatura da coluna, injetor, detector, volume de injeção, etc. Existem diversas técnicas que permitem a determinação elementar em baixas concentrações, porém de forma não seletiva para espécies. No entanto, a utilização de técnicas hífenadas, onde a instrumentação permite o acoplamento de uma técnica de separação a um instrumento de detecção (como a LC-ICP-MS), é capaz de fornecer separações cromatográficas com boa resolução e, conseqüentemente, a detecção e determinação seletiva de diferentes espécies químicas, incluindo as espécies orgânicas (YU *et al.*, 2020).

A técnica de LC permite a separação de um grande número de elementos e espécies, permitindo uma variedade de colunas e fases móveis, possibilitando assim, o seu emprego na separação de espécies de As não voláteis. Para isso, é possível utilizar materiais de baixa polaridade e com elevada área superficial como fase estacionária e soluções mais polares, como fase móvel. As colunas mais utilizadas são as de troca iônica, sendo colunas de troca aniônica como a PRP-X100 e de troca aniônica como a PRP-X200 e as de sílica recobertas com grupos C8 ou C18, o material da coluna de troca aniônica normalmente é composto por poli(estireno-divinilbenzeno) (PS-DVB) com grupos funcionais trimetilamônio, enquanto que o material das colunas de troca catiônica é composto por PS-DVB com grupos funcionais ácido sulfônico (YU *et al.*, 2020; JANDERA *et al.*, 2015).

As fases móveis são empregadas conforme o analito em estudo, para favorecer a separação eficiente das espécies em estudo, durante a análise é importante otimizar

a concentração e o pH da fase, pois isso influencia diretamente nos cromatogramas obtidos, conseqüentemente na separação das espécies. As fases móveis mais usuais em trabalhos de especiação são soluções preparadas em meio aquoso dos sais de dihidrogenofosfato de amônio ((NH<sub>4</sub>)H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), hidrogenofosfato de amônio ((NH<sub>4</sub>)HPO<sub>4</sub>), carbonato de amônio (NH<sub>4</sub>CO<sub>3</sub>), enquanto que o ácido fosfórico, ácido malônico, metanol e piridina são diluídos em água ou ainda podem ser empregadas misturas como metanol:água, entre outras (LAI *et al.*, 2013; JANDERA *et al.*, 2015).

A LC-ICP-MS é empregada para a separação e quantificação de espécies de As em diferentes matrizes, desde água até organismos marinhos. Como vantagens, além do acoplamento simples entre a técnica de separação e detecção, podem ser citados os baixos limites de quantificação (LOQ) (da ordem de ng g<sup>-1</sup>), instrumentação comercialmente disponível e amplamente aplicada para esse tipo de análise, tempos de separação cromatográfica geralmente inferiores a 20 min, possibilidade de eluição isocrática, entre outras. Em contrapartida, como desvantagens podem ser citados o custo do gás Argônio que é empregado para a manutenção do plasma durante a análise e a dificuldade de identificar espécies desconhecidas, uma vez que são necessárias soluções de referência para conhecer o tempo de retenção (t<sub>R</sub>) das espécies. Como exemplo, podem ser citadas espécies como As<sub>Sug</sub> e As<sub>Lip</sub> para as quais existe uma dificuldade em encontrar soluções de referência disponíveis comercialmente. Adicionalmente, o sistema LC-ICP-MS não permite a identificação de espécies desconhecidas, as quais podem ser identificadas em espectrômetros de massa de alta resolução com ionização por electrospray (ESI) (CORNELLES *et al.*, 2003; POPP *et al.*, 2010). Outra etapa importante em análise de especiação é o preparo de amostras, pois os analitos devem ser extraídos seletivamente das amostras.

#### **2.4 Métodos de extração de espécies de arsênio**

Na Tabela 1, estão apresentados os trabalhos que foram encontrados na literatura sobre análise de especiação de As em alimentos nos últimos 15 anos.

Tabela 1. Trabalhos sobre análise de especiação de As em alimentos, reportados na literatura.

Amostra	Espécies de arsênio	Preparo de amostra	Técnica de separação/deteção	Limites de deteção	Referência
Algas marinhas comestíveis	DMA, AsB, TeMAs, TMA <sub>Sug</sub> OH, TMA <sub>Sug</sub> PO <sub>4</sub> , TMA <sub>Sug</sub> SO <sub>4</sub> , TMA <sub>Sug</sub> SO <sub>3</sub> , DMA <sub>Sug</sub> SO <sub>4</sub> , DMA <sub>Sug</sub> Glycol, DMA <sub>Sug</sub> Adenina, DMA <sub>Sug</sub> Amino Sulfonato, DMA <sub>Sug</sub> OH e DMA <sub>Sug</sub> Carboxil	Extração a temperatura ambiente	LC-ICP-MS	(valores em µg g <sup>-1</sup> )	NISCHWITZ & PERGANTIS, 2006
				TeMAs: 0,001 AsB: 0,002 TMA <sub>Sug</sub> OH: 0,001 TMA <sub>Sug</sub> PO <sub>4</sub> : 0,001 TMA <sub>Sug</sub> SO <sub>4</sub> : 0,001 TMA <sub>Sug</sub> SO <sub>3</sub> : 0,001 DMA <sub>Sug</sub> Adenina: 0,001 DMA <sub>Sug</sub> Amino Sulfonato: 0,005 DMA <sub>Sug</sub> OH: 0,003 DMA: 0,001	
Algas marinhas comestíveis	As(III), As(V), MMA, DMA e AsB	Extração com auxílio de aquecimento em banho-maria	LC-ICP-MS	(valores em ng g <sup>-1</sup> ) As(III): 0,5 As(V): 0,7 MMA: 0,4 DMA: 0,4 AsB: 0,3	NAKAMURA <i>et al.</i> , 2008

Algas marinhas comestíveis	As(III), As(V), MMA, DMA e AsB	Extração enzimática assistida por micro-ondas	LC-ICP-MS	(valores em ng g <sup>-1</sup> ) As(III): 0,5 As(V): 0,7 MMA: 0,4 DMA: 0,4 AsB: 0,3	MAR <i>et al.</i> , 2009
Algas marinhas comestíveis	As(III), As(V), MMA, DMA, AsB, AsC, TMA <sub>2</sub> O, AsSugSO <sub>4</sub> , AsSugPO <sub>4</sub> e AsSugSO <sub>3</sub>	Extração a temperatura ambiente	LC-ICP-MS	0,007 µg g <sup>-1</sup>	MIRANDES <i>et al.</i> , 2011
Algas marinhas comestíveis	As(III), As(V), MMA, DMA, AsSugOH, AsSugPO <sub>4</sub> e AsSugSO <sub>3</sub>	UAE	LC-ICP-MS	Não informado	SARTAL <i>et al.</i> , 2012
Algas marinhas comestíveis	As(III), As(V), MMA, DMA, AsB, TETRA, TMA <sub>2</sub> O, AsSugPO <sub>4</sub> e AsSugSO <sub>3</sub>	MAE	LC-UV-HG AFS	(valores em µg g <sup>-1</sup> ) As(III): 0,045 As(V): 0,044 MMA: 0,027 DMA: 0,007 AsB: 0,033 TETRA: 0,067 TMAO: 0,064 AsSugPO <sub>4</sub> : 0,048 AsSugSO <sub>3</sub> : 0,063	GARCÍA-SALGADO <i>et al.</i> , 2012

Algas marinhas comestíveis	As(III), As(V), MMA, DMA, AsSugOH, AsSugPO <sub>4</sub> , AsSugSO <sub>4</sub> e AsSugSO <sub>3</sub>	UAE	LC-ICP-MS	0,3 ng g <sup>-1</sup>	TAYLOR & JACKSON, 2016
Tecidos de três estágios de crescimento de macroalgas	As(III), As(V), MMA, DMA, AsB, AsC e TETRA	MAE	LC-ICP-MS	Não informado	FOSTER <i>et al.</i> , 2008
Macroalgas, crustáceos e peixe	As(III), As(V), MMA, DMA, TMAOs, AsB, AsC, TeMAs, AsSugOH e AsSugPO <sub>4</sub>	UAE	LC-ICP-MS	0,25 a 0,49 µg L <sup>-1</sup>	MIYASHITA <i>et al.</i> , 2009
Peixe	As(III), As(V), MMA, DMA, AsB, AsC, TMAP, TETRA, TMAO, AsSugOH, AsSugPO <sub>4</sub> , AsSugSO <sub>4</sub> e AsSugSO <sub>3</sub>	Extração sob agitação a temperatura ambiente	LC-ICP-MS	Não informado	SOEROES <i>et al.</i> , 2005
Peixe	As(III), As(V), MMA, DMA, AsB, AsC, TMAO e TETRA	MAE	LC-ICP-MS	0,002 µg g <sup>-1</sup>	SLOTH <i>et al.</i> , 2005
Peixe	As(III), As(V), MMA e DMA	MAE	FI-HG-ET AAS	(valores em µg g <sup>-1</sup> ) As(III): 0,0035 As(V): 0,0051 DMA: 0,0046	SERAFIMOVSKI <i>et al.</i> , 2006

Peixe	As(III), As(V), MMA, DMA e AsB	Extração com Sistema de Soxhlet	LC-ICP-MS	(valores em $\mu\text{g g}^{-1}$ ) As(III): 0,01 As(V): 0,02 MMA: 0,01 DMA: 0,02 AB: 0,02	LIN <i>et al.</i> , 2008
Peixe	As (III), As (V), DMA, MMA e AsB	Agitação em vortex + UAE	HPLC-ICP-MS	(valores em $\mu\text{g g}^{-1}$ ) As (III): 0,01 As (V): 0,01 MMA: 0,08 DMA: 0,02 AsB: 0,004	ROSEMOND <i>et al.</i> , 2008
Comida para bebe à base de peixe	As(III), As(V), MMA, DMA e AsB	UAE	ET AAS	(valores em $\text{ng g}^{-1}$ ) iAs: 50 DMA e MMA: 25 AsB: 15	LÓPEZ-GARCIA <i>et al.</i> , 2011
Peixe e frutos do mar	As(III), As(V), MMA, DMA, AsB, AsC e TeMA	MAE	LC-HG-AFS	0,005 $\mu\text{g g}^{-1}$	BAEYENS <i>et al.</i> , 2009
Peixe e frutos do mar	As(III), As(V), MMA, DMA e AsB	MAE	LC-ICP-MS	0,001 $\text{ng g}^{-1}$	RUTTENS <i>et al.</i> , 2012

Peixes e frutos do mar	As(III), As(V), MMA, DMA, AsB e AsC	MSPD	LC-ICP-MS	(valores em ng g <sup>-1</sup> )	MOREDA-PINEIRO <i>et al.</i> , 2012
				As(III): 6,4 As(V): 23,3 MMA: 17,4 DMA: 13,5 AsB: 12,9 AsC: 9,7	
Peixe, folhas de mangue, folhas marinhas e algas	As(III), As(V), MMA, DMA, AsB, TETRA, AsSugPO <sub>4</sub> e AsSugSO <sub>3</sub>	MAE	LC-ICP-MS	0,005 µg g <sup>-1</sup>	FOSTER <i>et al.</i> , 2007
Peixe, camarão e ostra	As(III), As(V), MMA, DMA, AsB, AsC, TMAO e TeA	MAE	LC-ICP-MS	(valores em µg L <sup>-1</sup> )	HIRATA <i>et al.</i> , 2006
				As(III): 0,04 As(V): 0,04 MMA: 0,04 DMA: 0,03 AsB: 0,02 AC: 0,05; TMAO: 0,04 TeA: 0,1	

Camarão	As(III), As(V), MMA, DMA e <i>p</i> -As	MAE	CZE-UV	(valores em mg L <sup>-1</sup> ) As(III): 0,3 As(V): 0,06 MMA: 0,15 DMA: 0,12 <i>p</i> -As: 0,004	YANG <i>et al.</i> , 2009a
Ostras	As(III), As(V), MMA, DMA e AsB	Extração sob agitação com auxílio de aquecimento em banho-maria	HG-PCFT-AAS	(valores em µg g <sup>-1</sup> ) iAs: 0,002 MMA: 0,0015 DMA: 0,0017 AsB: 0,024	HSIUNG <i>et al.</i> , 2006
Mexilhões e algas mediterrâneas	As(III), As(V), MMA, DMA e MMA	MAE	FI-HG-ET AAS	0,02 mg kg <sup>-1</sup>	KARADJOVA <i>et al.</i> , 2007
Mexilhões	As(III) e As(V)	MAE	LC-ICP-MS	0,002 µg g <sup>-1</sup>	SLOTH <i>et al.</i> , 2008

				(valores em ng g <sup>-1</sup> )	
				As(III): 50	
				As(V): 55	
				MMA: 44	
				DMA: 80	
Frutos do mar	As(III), As(V), MMA, DMA, AsB, AsC, TMAO, TETRA, AsSugOH, AsSugPO <sub>4</sub> , AsSugSO <sub>4</sub> e AsSugSO <sub>3</sub>	Extração sob agitação a Temperatura ambiente	LC-(PO)-HG-AFS	AsB: 275 AsC: 220 TETRA: 385 TMAO: 1210 AsSugOH: 250 AsSugPO <sub>4</sub> : 330 AsSugSO <sub>4</sub> : 825 AsSugSO <sub>3</sub> : 1650	SCHAERFFER <i>et al.</i> , 2005
				(valores em µg L <sup>-1</sup> )	
				iAs: 200	
				MMA: 200	
Frutos do mar	As(III), As(V), MMA, DMA, AsB, AsC, TeMA e TMAO	MAE	LC/ESI-MS	DMA: 15 AsB: 3 AsC: 1,5 TeMA: 1,5 TMAO: 1,5	NINH <i>et al.</i> , 2006

Frutos do mar	As(III), As(V), MMA, DMA, AsB e AsC	MSPD	LC-ICP-MS	(valores em $\mu\text{g g}^{-1}$ ) As(III): 0,0004 As(V): 0,023 MMA: 0,017 DMA: 0,013 AsB: 0,013 AsC: 0,0097	MOREDA-PIÑERO <i>et al.</i> , 2008
Frutos do mar	As(III), As(V), MMA, DMA, AsC e AsB	UAE	LC-ICP-MS	Não informado	CAO <i>et al.</i> , 2009
Frutos do mar	As(III), As(V), MMA e DMA	MAE	CE-ICP-MS	(valores em $\text{ng g}^{-1}$ ) As(III): 1.0 As(V): 1.0 MMA: 1.9 DMA: 1.8	YANG <i>et al.</i> , 2009b

Frutos do mar	As(III), As(V), MMA, DMA, AsB, TETRA e TMA <sub>2</sub> O	UAE e MAE	LC-ICP-MS	(valores em ng g <sup>-1</sup> ) As(III): 5,2 As(V): 4,1 MMA: 4,1 DMA: 4,6 AsB: 5,9 TETRA: 3,5 TMAO: 1,0	ACUNA <i>et al.</i> , 2013
Frutos do mar	As(III), As(V), AsB, AsC, DMA, DMAA, DMAE, DMAP, TMA, TMAO e TMAP	MAE	LC-ICP-MS	(valores em ng g <sup>-1</sup> ) As(III): 0,8 As(V): 1,3 AsB: 0,5 AsC: 0,5 DMA: 0,8 DMAA: 0,6 DMAE: 0,6 DMAP: 0,7 TMA: 0,5 TMAO: 0,7 TMAP: 0,5	WOLLE <i>et al.</i> , 2018

Arroz	As(III), As(V) e DMA	Extração com auxílio de aquecimento em bloco digestor	LC-ICP-MS	0,012 $\mu\text{g g}^{-1}$	WILLIANS <i>et al.</i> , 2005
Arroz	As(III), As(V), MMA, DMA e AsB	UAE	LC-ICP-MS	(valores em $\text{ng L}^{-1}$ ) As(III): 19,6 As(V): 19,4 MMA: 14,3 DMA: 12,7 AsB: 13,6	SANZ <i>et al.</i> , 2007
Arroz	As(III), As(V), MMA, DMA, TMAO e AsB	Extração sob aquecimento	LC-ICP-MS	0,0024 $\mu\text{g g}^{-1}$	NAGAOKA <i>et al.</i> , 2008
Arroz	As(III), As(V), MMA e DMA	MAE	LC-ICP-MS	Não informado	MEHARG <i>et al.</i> , 2008
Arroz	As(III) e As(V)	Extração com agitação em vórtex	FI-HG-AAS	0,013 $\mu\text{g g}^{-1}$	ESCRIBANO <i>et al.</i> , 2008
Arroz	As(III), As(V), MMA e DMA	MAE	LC-ICP-MS	Não informado	ZHU <i>et al.</i> , 2008
Arroz	As(III), As(V), MMA e DMA	Extração aplicando aquecimento	LC-ICP-MS	0,007 $\text{mg kg}^{-1}$	GARCIA <i>et al.</i> , 2011

Arroz	As (III), As (V), MMA e DMA	MAE	IC-ICP-MS	(valores em $\mu\text{g L}^{-1}$ ) As(III): 0,09 As(V): 0,04 MMA: 0,04 DMA: 0,06	NARUKAWA <i>et al.</i> , 2018
Arroz	As(III), As(V), MMA e DMA	Extração sob agitação	LC-ICP-MS	1,3 $\text{ng g}^{-1}$	CHEN <i>et al.</i> , 2014
Arroz	As(III) e As(V)	Microextração líquido-líquido dispersiva com solidificação da gota orgânica flutuante (DLLME-SFO)	ET AAS	0,2 $\text{ng g}^{-1}$	JOUIBARI <i>et al.</i> , 2015
Arroz	As(III), As(V), MMA e DMA	Extração em ponto de nuvem (CPE)	ET AAS	0,009 $\mu\text{g L}^{-1}$	COSTA <i>et al.</i> , 2015
Arroz	As(III), As(V), MMA e DMA	Extração com auxílio de aquecimento em banho-maria	LC-ICP-MS	0,02 $\text{ng g}^{-1}$	CHOI <i>et al.</i> , 2016
Arroz, alimentos derivados de arroz, suco de maçã e outras frutas	As(III), As(V), MMA, DMA, AsB e AsC	Extração sob agitação	IC-ICP-MS	As(V): 72 $\text{ng kg}^{-1}$ As demais espécies: 2 a 4 $\text{ng kg}^{-1}$	ELLINGSON <i>et al.</i> , 2014

Arroz e frutos do mar	As(III), As(V), MMA e DMA	UAE	IC-ICP-MS	0,007 $\mu\text{g g}^{-1}$	DUFAILY <i>et al.</i> , 2011
Arroz, vegetais e legumes	As(III), As(V) e DMA	Extração com auxílio de aquecimento em bloco digestor	LC-ICP-MS	(valores em $\mu\text{g g}^{-1}$ ) iAs: 0,027 DMA: 0,033	WILLIAMS <i>et al.</i> , 2006
Arroz e farinha de trigo	As(III), As(V), MMA e DMA	MAE	IC-ICP-MS	(valores em $\text{ng L}^{-1}$ ) 0,006 0,009	TSAI <i>et al.</i> , 2011
Arroz, trigo, massas, pão e cereais matinais	As(III), As(V), MMA e DMA	MAE	LC-ICP-MS	(valores em $\mu\text{g g}^{-1}$ ) As(III): 0,002 As(V): 0,004 MMA: 0,002 DMA: 0,002	RUTTENS <i>et al.</i> , 2018
Arroz e cereais infantis	As(III), As(V), MMA e DMA	MAE	LC-ICP-MS	3 $\text{ng g}^{-1}$	MIRANDES <i>et al.</i> , 2012
Arroz, trigo e peixe	As(III), As(V), MMA e DMA	MAE	LC-ICP-MS	1 $\text{ng g}^{-1}$	RABER <i>et al.</i> , 2012
Farinha de arroz	As(III), As(V), MMA, DMA e AsB	Extração acelerada por solvente	LC-ICP-MS	Não informado	NAM <i>et al.</i> , 2006

Farinha de arroz	As(III), As(V), MMA, DMA, TMAO e TeMA	Agitação, UAE, acelerado por solvente e MAE	LC-ICP-MS	0,1 ng g <sup>-1</sup>	NARUKAWA <i>et al.</i> , 2008
Farinha de arroz	As(III), As(V) e DMA	Extração com aquecimento e MAE	LC-ICP-MS	(valores em ng g <sup>-1</sup> ) As(III): 0,01 As(V): 0,01 DMA: 0,03	NARUKAWA <i>et al.</i> , 2014
Cereais	As(III), As(V), MMA e DMA	UAE	LC-HG-AFS	(valores em ng g <sup>-1</sup> ) As(III): 1,3 As(V): 0,9 MMA: 0,6	REYES <i>et al.</i> , 2007
Cereais de arroz infantis	As(III), As(V), MMA e DMA	Extração sob agitação	LC-ICP-MS	(valores em ng g <sup>-1</sup> ) As(III): 1,68 As(V): 1,74 MMA: 1,18 DMA: 0,87	JUSKELIS <i>et al.</i> , 2013
Alimentos à base de cereais	As(III), As(V), MMA e DMA	MAE	IC-ICP-MS	(valores em µg kg <sup>-1</sup> ) iAs: 0,4 MMA: 0,3 DMA: 0,3	MIRANDES <i>et al.</i> , 2014

Trigo e produtos à base de trigo	As(III), As(V), MMA e DMA	UAE e MAE	LC-ICP-MS	(valores em ng g <sup>-1</sup> ) 0,17 0,54	AMATO <i>et al.</i> , 2011
Levedura, pão ralado, massas, torradas, bolos e cerveja (todos sem glúten)	As(III) e As(V)	Extração com auxílio de aquecimento	LC-HG-AFS	Não informado	PICAZO <i>et al.</i> , 2014
Frango	As(III), As(V), MMA, DMA e AsB	MAE e UAE	LC-(CV)-HG-AFS	Não informado	RODAS <i>et al.</i> , 2006
Frango, ovos de galinha, peixes, carne bovina e frutos do mar	As(III), As(V), MMA, DMA e AsB	UAE	LC-ICP-MS	(valores em ng g <sup>-1</sup> ) As(III): 0,9 As(V): 0,8 MMA: 0,7 DMA: 0,6 AsB: 1,3	BATISTA <i>et al.</i> , 2012
Fígado de porco e frango	<i>p</i> -As "roxarsone" (ROX) "nitarsona" (NIT)	UAE	LC-UV HG AFS	(valores em mg mL <sup>-1</sup> ) <i>p</i> -As: 0,00024 ROX: 0,00041 NIT:0,00074	CUI <i>et al.</i> , 2012

---

Óleo comestível	As(III), As(V), MMA, DMA, AsB e AsC	Extração com agitação em vortex	IC-ICP-MS	(valores em $\mu\text{g L}^{-1}$ ) As(III): 0,024 As(V): 0,013 MMA: 0,01 DMA: 0,008 AB: 0,01 AC: 0,015	CHU <i>et al.</i> , 2011
Cogumelo	As(III), As(V), DMA e AsB	Vortéx + UAE	LC-ICP-MS	0,07 mg kg <sup>-1</sup>	NEARING <i>et al.</i> , 2014

---

Existe uma variedade de métodos de preparo de amostras empregados para a extração de espécies de As em diferentes amostras de alimentos, desde estratégias que fazem a extração a temperatura ambiente com ou sem agitação até estratégias que utilizam auxílio de aquecimento. DEVESA *et al.* (2005) empregaram extração sólido-líquido a temperatura ambiente com uma mistura metanol:água 1:1 para a extração de As(III), As(V), MMA, DMA, AsB, AsC e TeMAs<sup>+</sup> em amostras de frutos do mar com determinação por LC-AFS. ACKERMAN *et al.* (2005) investigaram a extração com auxílio de aquecimento em forno a 100 °C por 6 h e ácido trifluoroacético (TFA) para a extração de As(III), As(V), MMA e DMA em amostras de arroz com determinação por IC-ICP-MS. Outros autores, têm empregado outras formas de aquecimento como a extração enzimática (com enzima pepsina) com auxílio de aquecimento em banho-maria a 37 °C por 2 h para As(III), As(V), MMA, DMA e AsB em amostras de alga Hijiki com determinação por LC-ICP-MS (NAKAMURA *et al.*, 2008). No entanto, os métodos de preparo de amostras que têm demonstrado maior aplicação para a extração de espécies de As em amostras de algas são a extração assistida por ultrassom (UAE) e a extração assistida por micro-ondas (MAE). SARTAL *et al.* (2012) realizaram a extração de As(III), As(V), MMA, DMA, AsSugOH, AsSugPO<sub>4</sub> e AsSugSO<sub>3</sub> em amostras de algas comestíveis Kombu, Wakame, Nori e alface do mar utilizando a UAE através da extração em banho ultrassônico por 1 h para a posterior determinação por LC-ICP-MS. FOSTER *et al.* (2007) empregaram a MAE para a extração de As(III), As(V), MMA, DMA, AsB, TETRA, AsSugPO<sub>4</sub> e AsSugSO<sub>3</sub> em amostras biológicas e algas marinhas utilizando HNO<sub>3</sub> 2% (v/v) como solução extratora a 95 °C (em forno micro-ondas) por 6 min, com posterior determinação das espécies por LC-ICP-MS.

Dentre as possibilidades de preparo de amostras reportadas na literatura para extração de espécies de As, a maioria utiliza solventes orgânicos tóxicos como metanol ou ácidos corrosivos como THF, HNO<sub>3</sub>, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, entre outros. Além disso, embora algumas formas simples de aquecimento sejam utilizadas como aquecimento em banho-maria ou em bloco digestor, a maioria das aplicações baseiam-se no uso da UAE e da MAE, demandando, principalmente no caso da MAE, instrumentos de alto custo como fornos micro-ondas. Portanto, a dispersão da matriz em fase sólida (MSPD) tem sido recentemente investigada para extração de espécies de As, um método simples, verde e de baixo custo.

## 2.5 Dispersão da matriz em fase sólida (MSPD)

### 2.5.1 Princípios básicos

A MSPD foi proposta pela primeira vez por Barker *et al.* (1989), surgindo como alternativa à extração em fase sólida (SPE), sendo o método baseado na mistura de amostras viscosas, semissólidas ou sólidas juntamente com um suporte sólido com características abrasivas, como por exemplo, a sílica ou o seu derivado funcionalizado com grupos octadecilsilanos (C18) na sua superfície (BARKER *et al.*, 1989).

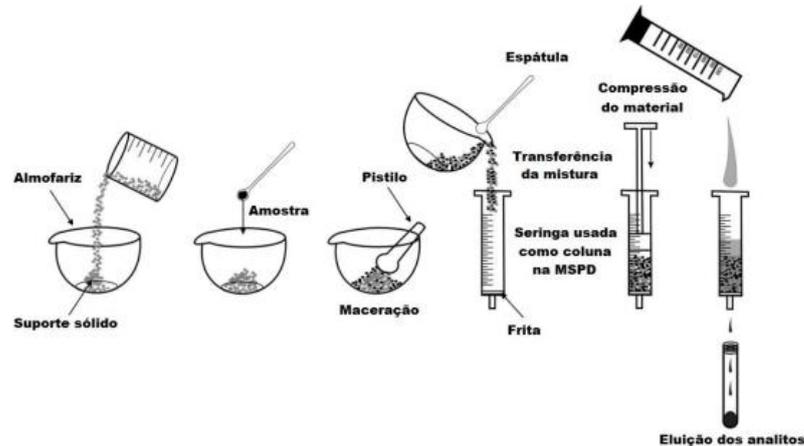
No método, este suporte juntamente com a amostra, são macerados em um almofariz (de porcelana, vidro ou ágata) e a característica abrasiva do suporte sólido juntamente com a força mecânica da maceração têm a função de promover o rompimento da estrutura física original da amostra, resultando em partículas com menor granulometria (BARKER *et al.*, 1989). Nesse processo, é diminuída a interação entre o analito e os demais constituintes da amostra, os quais são dispersos e dissolvidos sobre a superfície do suporte sólido, formando uma nova fase (BARKER *et al.*, 1989; CALDAS *et al.*, 2013).

Posteriormente, após a maceração, essa mistura é transferida e empacotada em uma coluna vazia, na qual é colocada uma frita (filtro de polietileno) antes e após o empacotamento, sendo que as colunas mais empregadas são seringas vazias ou cartuchos empregados na SPE. Em seguida, a mistura é eluída com um solvente adequado. Durante a eluição, os analitos podem ficar retidos no cartucho, enquanto os demais constituintes são eluídos em uma etapa de lavagem, sendo os analitos posteriormente eluídos com um solvente adequado. Além disso, os componentes da matriz também podem ser retidos seletivamente no cartucho, sendo os analitos eluídos diretamente (BARKER *et al.*, 1989; CALDAS *et al.*, 2013). A última etapa, consiste na eluição dos analitos sob vácuo (alternativamente o solvente é evaporado para concentrar os analitos) (WIANOWSKA e GIL, 2019).

A seletividade da MSPD está diretamente relacionada com a combinação entre o suporte sólido e o solvente empregado. Comumente, são utilizados materiais clássicos de fase reversa como C18 e C8, assim como suportes sólidos de fase normal como alumina, florissil e sílica. Recentemente, materiais alternativos têm sido reportados na literatura, também chamados de “suportes sólidos verdes”. Além disso, existem estudos que mostram a possibilidade do reaproveitamento do C18 de cartuchos de

SPE, os quais após o uso, passam por uma lavagem com solventes de diferentes polaridades, sendo secos em estufa e, posteriormente, reaproveitados com a mesma eficiência (SU *et al.*, 2011; CASADO *et al.*, 2013). Na Figura 1, estão representadas as etapas envolvidas na MSPD original.

Figura 1 - Esquema da MSPD original.



Fonte: Adaptado de Barker *et al.* (1989).

A MSPD original possui algumas limitações que podem comprometer a eficiência do método, por se tratar de um processo manual, na etapa de empacotamento do cartucho podem ocorrer problemas associados à formação de caminhos preferenciais na mistura que compõe o recheio, o que pode afetar a precisão do método. Sendo assim, a MSPD vem sofrendo algumas modificações ao longo dos anos afim de tornar o método mais simples e rápido, buscando minimizar variações que ocorrem entre as repetições das extrações, eluir preferencialmente os analitos em detrimento dos interferentes presentes na matriz e diminuir o número de etapas envolvidas (SU *et al.*, 2011; CASADO *et al.*, 2013).

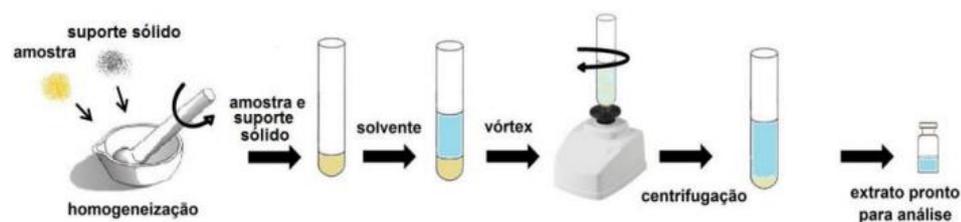
### 2.5.2 Modificações da MSPD

As modificações na MSPD em relação ao seu procedimento original, têm o objetivo de atender os princípios da Química Analítica Verde (GAC), visando reduzir custos, tempo e reagentes. Sendo assim, estudos recentes têm investigado o emprego de suportes sólidos alternativos, sendo eles naturais ou sintéticos, reduzindo os custos

no desenvolvimento e as quantidades de resíduos gerados. Assim, tendo como referência as propriedades dos analitos e a complexidade das amostras em estudo vários suportes sólidos têm sido utilizados, desde materiais comerciais, como C18 e C8, alumina, florisil e sílica (CAPRIOTTI *et al.*, 2010), até suportes sólidos verdes como areia, quitosana, quitina e concha de mexilhão (CALDAS *et al.*, 2013; ROMBALDI *et al.*, 2015; HERTZOG *et al.*, 2015; VIEIRA *et al.*, 2018; MALINOWSKI *et al.*, 2022).

Nesse sentido, o trabalho desenvolvido por Sebastià *et al.* (2010), propôs substituir a etapa de transferência e empacotamento da mistura nos cartuchos de SPE pela transferência direta para tubos de vidro de fundo cônico, seguido de agitação e centrifugação. Posteriormente, no estudo de Caldas *et al.* (2013), os autores empregaram esta modificação e utilizaram a nomenclatura dispersão da matriz em fase sólida assistida por vórtex (VA-MSPD), onde a amostra passa pela etapa de maceração juntamente com o suporte sólido, sendo empregado neste trabalho o C18, da mesma forma que na MSPD original. Em seguida, a mistura foi colocada em tubos de polipropileno de 50 mL, seguido da adição do solvente de eluição. Posteriormente, a mistura foi submetida a uma agitação em vórtex, seguido de centrifugação. A etapa da agitação em vórtex foi adicionada com o objetivo de propiciar a extração quantitativa de resíduos de pesticidas a partir de fígado de peixe e hepatopâncreas de siri com determinação por cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massa (GC-MS). A modificação permite a extração de diversos compostos a partir de matrizes complexas em um menor tempo de extração e melhora a eficiência de extração, devido o aumento do tempo de contato da amostra com o solvente, a redução do consumo de solvente e a eliminação de uma etapa (TU e CHEN, 2018). Na Figura 2, estão representadas as etapas envolvidas na MSPD modificada.

Figura 2 - Esquema com as etapas da VA-MSPD.

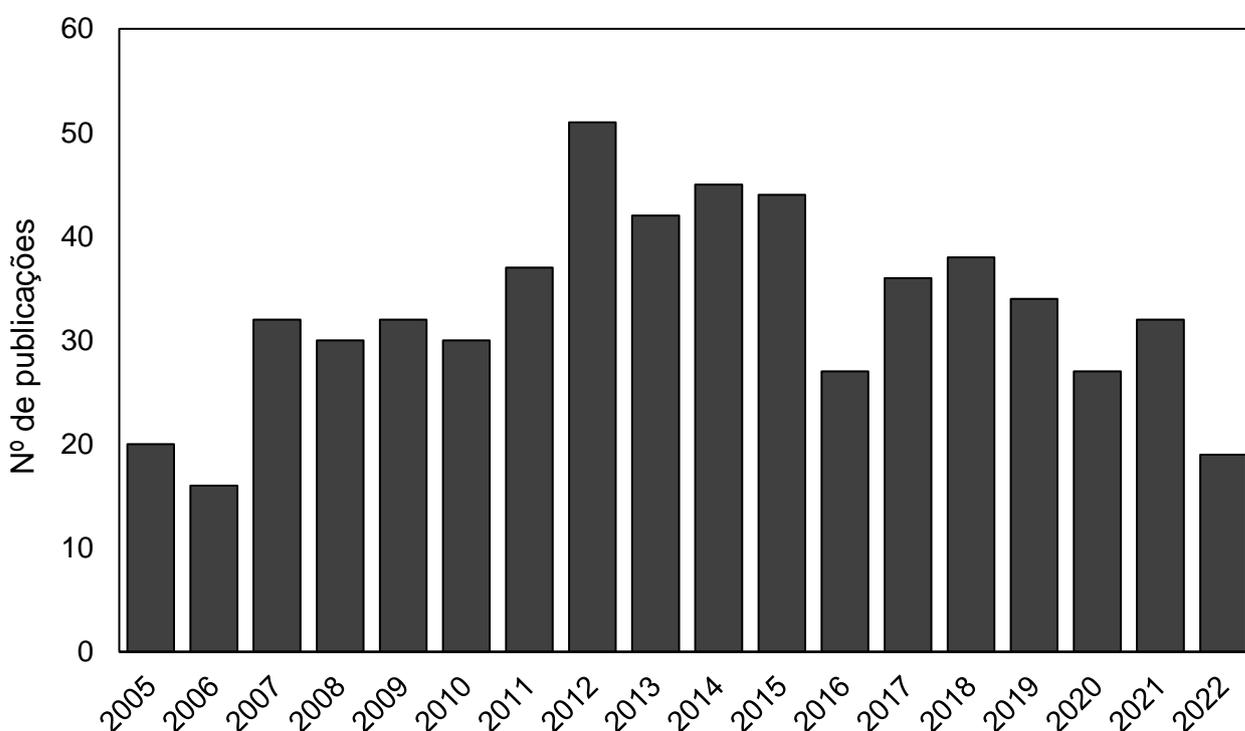


Fonte: Adaptado de CALDAS *et al.* (2013).

### 2.5.3 Aplicações da MSPD

Existem muitos trabalhos na literatura que empregam a MSPD como método de extração para compostos orgânicos em diversas amostras. Como exemplo, destacam-se a determinação de agrotóxicos (MOURA *et al.*, 2021), produtos de higiene e cuidado pessoal (PPCPs) (CALDAS *et al.*, 2014), entre outros. Na Figura 3, estão apresentados os trabalhos que empregaram a MSPD como método de preparo de amostras nos últimos 17 anos, extraídos da plataforma *Web of Science*.

Figura 3 - Publicações extraídas da plataforma *Web of Science* contendo as palavras-chave “MSPD” e “*Matrix solid-phase dispersion*”, nos últimos 17 anos.



De 2005 até o presente momento, foram encontrados na plataforma *Web of Science* aproximadamente 600 trabalhos contendo as palavras-chave “MSPD” e “*Matrix solid-phase dispersion*”. No entanto, poucos trabalhos têm investigado a MSPD como método de preparo de amostras para a determinação elementar ou análise de especiação. O primeiro trabalho que empregou a MSPD (na forma original) para extração de espécies de As, foi desenvolvido por MOREDA-PIÑEIRO *et al.* (2008), onde os autores propuseram a extração das espécies As(III), As(V), MMA, DMA, AsB e

AsC em amostras de frutos do mar com determinação por LC-ICP-MS. A extração consistiu na pesagem de 0,25 g de amostra e mistura/maceração com 1,75 g de terra diatomácea por 5 min em um almofariz de vidro. Esta mistura foi transferida para uma seringa de 20 mL contendo 2,0 g de C18. As espécies de As foram eluídas empregando seringas de 10 mL por gravidade e uma mistura contendo metanol:água ultrapura (1:1) como solvente extrator. MOREDA-PIÑEIRO *et al.* (2012) também utilizaram este método para extrair as mesmas espécies de As em amostras de peixes e amêijoas, empregando a mesma técnica de determinação.

DUARTE *et al.* (2013), empregaram a MSPD (modificada através do uso de vórtex), para a extração de espécies de mercúrio ( $\text{CH}_3\text{Hg}^+$  e  $\text{Hg}^{2+}$ ) em tecidos de peixe, utilizando  $\text{SiO}_2$  como suporte sólido, solução contendo HCl diluído e NaCl e determinação por GC-MS. CHEN *et al.* (2017) propuseram a aplicação de nanotubos de carbono como suporte sólido para a extração das espécies de Hg em amostras de órgãos de peixes. No trabalho de MALINOWSKI *et al.* (2022), foi empregada a MSPD com a modificação contendo a agitação em vórtex para a determinação de halogênios (Cl, F, Br e I) em amostras de algas comestíveis Nori, Hijiki, Wakame e Kombu através da técnica de cromatografia de íons (IC). Neste estudo, a areia do mar foi empregada como suporte sólido e uma solução de  $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$  diluída foi empregada como solução extratora. CAO *et al.* (2016) empregaram a MSPD como uma proposta miniaturizada para a microextração de iodo inorgânico e aminoácidos a base de iodo em amostras de algas marinhas. A determinação foi realizada por cromatografia a líquido de ultra alta eficiência acoplada ao detector por ultravioleta (UHPLC-UV).

Diante do exposto, embora apresente diversas vantagens, poucos trabalhos têm sido encontrados na literatura visando a determinação elementar ou especiação química aplicando a MSPD e, até o momento, não tem sido encontrado nenhum trabalho que aplicou a MSPD para extração de espécies de As em amostras de algas comestíveis.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

---

---

#### 3.1 Instrumentação

A determinação da concentração de As total foi feita em um espectrômetro de massa com plasma indutivamente acoplado, modelo NexION 3000 (PerkinElmer, USA). A análise de especiação de As foi feita em um equipamento de ICP-MS, modelo ELAN DRC II (PerkinElmer, EUA). Ambos equipados contêm um nebulizador concêntrico (Meinhardt Associates, USA), uma câmara de nebulização ciclônica (Glass Expansion, Inc., Austrália) e uma tocha com tubo injetor de quartzo com 2 mm de diâmetro interno (PerkinElmer). Na Tabela 2, estão apresentados os parâmetros instrumentais utilizados nos dois instrumentos para as determinações de As total.

Tabela 2 - Parâmetros instrumentais utilizados nas determinações por ICP-MS.

Parâmetro	ICP-MS	
	NexION 3000	ELAN DRC II
Potência de radiofrequência (W)	1300	1300
Vazão do gás principal (L min <sup>-1</sup> )	18	15
Vazão do gás auxiliar (L min <sup>-1</sup> )	1,2	1,2
Vazão do gás de nebulização (L min <sup>-1</sup> )	1,18	1,18
Isótopo ( <i>m/z</i> )	<sup>75</sup> As	<sup>75</sup> As
<i>Sampler e Skimmer</i>	Pt	Pt
Modo de operação	<i>Standard</i> (Sem DRC)	<i>Standard</i> (Sem DRC)

As determinações de As total foram realizadas nas amostras digeridas e nos extratos da MSPD com o objetivo de determinar a eficiência de extração das espécies. Para a digestão das amostras, foi utilizado um forno micro-ondas (modelo MARSPress, CEM, USA) equipado com frascos de PTFE. Para os estudos envolvendo análise de especiação, a separação das espécies foi feita em um

sistema cromatográfico (acoplado ao ICP-MS), composto por uma bomba quaternária para cromatografia líquida (modelo Series 200 LC Pump, PerkinElmer) e um degaseificador a vácuo (modelo Flexar LC Pump, PerkinElmer, USA). Para a separação das espécies foi utilizada uma coluna de troca aniônica (modelo PRP-X100, Hamilton) (250 x 4,1 mm d.i., 10 µm de diâmetro de partícula). O material da coluna de troca aniônica é composto por poli(estireno-divinilbenzeno) (PS-DVB) com grupos funcionais de trimetilamônio. A injeção das soluções de referência e amostras foi feita com auxílio de uma seringa de vidro (Hamilton) com capacidade para 1,25 mL. A saída da coluna cromatográfica foi acoplada diretamente ao nebulizador do equipamento de ICP-MS.

As amostras foram pesadas em uma balança analítica (modelo AY220, Shimadzu, Japão), com resolução de 0,0001 g e carga máxima de 220 g. Para a filtração dos extratos foram utilizadas seringas de polipropileno pulverizadas com polietileno, com volume de 5 mL (B. Braun Melsungen AG, Alemanha) e filtros de nylon (N66) com poro de 0,30 µm (Macherey-Nagel, Alemanha). Todos os extratos foram centrifugados previamente à etapa de filtração utilizando uma centrífuga (modelo Q222T208, Quimis Aparelhos Científicos LTDA, Brasil). O aquecimento das amostras em banho-maria foi feito com o auxílio de uma chapa de aquecimento modelo Are heating magnetic stirrer (VELP Scientifica, Itália). Sistema de banho ultrassônico 45 kHz com potência nominal (Transsonic TI-H-5 3,5 L, Elma GmbH & Co., Singen, Alemanha), sonda ultrassônica com potência de 80 kHz (Singen, Alemanha). O monitoramento da temperatura dos extratos e do banho-maria foi feito com o auxílio de um termômetro digital modelo AK05 (AKSO Produtos Eletrônicos, Brasil). O ajuste do pH das fases móveis foi feito utilizando um potenciômetro digital modelo 781 pH/Ion Meter (Metrohm, Suíça) equipado com um eletrodo combinado de pH para meio aquoso modelo 6.0262.100 (Metrohm).

### **3.2 Reagentes**

Todas as soluções de referência e reagentes foram preparadas em água ultrapura, obtida através de destilação, deionização em coluna de troca iônica e osmose reversa e purificação em sistema Milli-Q (Millipore, USA), com resistividade de 18,2 MΩ cm. O HNO<sub>3</sub> 65% (Merck, Alemanha) utilizado para o preparo das

soluções extratoras na MSPD, preparo de soluções de referência e na decomposição das amostras foi purificado em sistema de sub-ebulição (modelo duoPUR 2.01E, Milestone, Itália).

As soluções de referência para a determinação de As total foi preparada a partir da solução estoque multielementar  $10 \text{ mg L}^{-1}$  em  $\text{HNO}_3$  5% v/v (Spex CertiPrep®, USA). Para a avaliação da separação cromatográfica por LC-ICP-MS, foram preparadas soluções estoque contendo  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  de As a partir da dissolução de As(III) (Merck), As(V) (Riedel-de Haën, Alemanha), MMA, DMA (Sigma Aldrich, USA) em água ultrapura. Para a quantificação das espécies de As por LC-ICP-MS, foram preparadas soluções de referência de calibração a partir de diluições a partir da solução estoque de DMA. A fase móvel utilizada foi preparada pela dissolução dos sais de  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  (Merck), em água ultrapura. O ajuste do pH foi feito com soluções na concentração de  $\text{HNO}_3$  50% (v/v) ou  $\text{NH}_4\text{OH}$  (28 - 30% v/v, Merck). No ICP-MS foi utilizado Ar com 99,998% de pureza (Air Liquide, França), como gás do plasma, auxiliar e de nebulização. Os suportes sólidos avaliados foram florisil 100 - 200 mesh (Sigma Aldrich), alumina (Sigma Aldrich), terra diatomácea (Sigma Aldrich) (obtidos comercialmente) e areia do mar (obtida a partir de coletas na Praia de Bojuru, São José do Norte - RS).

### 3.3 Amostras

A amostra de alga do tipo Nori (*Porphyra spp.*) foi utilizada para os experimentos de otimização da MSPD, por ser amplamente consumida na culinária oriental e facilmente encontrada no mercado local, além de apresentar a menor concentração de Cl entre as amostras em estudo, de acordo com o trabalho de MALINOWSKI *et al.* (2022). A aplicação do método proposto, assim como algumas etapas da otimização da MSPD também foram realizadas nas amostras de alga do tipo Kombu (*Laminaria ochroleuca*) e Hijiki (*Hizikia fusiformis*), as quais foram adquiridas em lojas virtuais especializadas.

### 3.4 Pré-tratamento das amostras

O tratamento preliminar das amostras consistiu em separar cerca de 100 g de cada variedade, as quais foram inicialmente cortadas à mão, acondicionadas em

recipientes de polipropileno e congeladas em ultrafreezer a uma temperatura de -80 °C por um período de 24 h. Após, as amostras foram retiradas do ultrafreezer e liofilizadas em um liofilizador modelo L101 (Liotop®, Brasil) por 48 h e, em seguida, foram homogeneizadas com um triturador de alimentos. As amostras foram moídas em moinho com almofariz e pistilo motorizado modelo MA590 (Marconi, Brasil) e, posteriormente, peneiradas através de uma peneira de 0,841 mm (20 mesh) para garantir a uniformidade das amostras. O moinho utilizado passou por descontaminação por imersão em solução de HNO<sub>3</sub> 20% por 24 h antes da primeira amostra e entre uma amostra e outra. Por fim, as amostras foram identificadas e armazenadas em frascos de polipropileno.

### **3.5 Decomposição das amostras por MAD**

A fim de comparar os resultados de As total obtidos nas extrações empregando a MSPD foi feita a decomposição das amostras de alga com auxílio da radiação micro-ondas, a fim de obter um valor de referência para a concentração de As total presente nas amostras, bem como para o cálculo da eficiência de extração. O método de decomposição foi baseado no trabalho de SOARES *et al.* (2012), onde foram pesados 500 mg de amostra e transferidos para os tubos de PTFE com a posterior adição de 6 mL de HNO<sub>3</sub> concentrado. Em seguida, as amostras foram submetidas ao seguinte programa de irradiação: *i*) 1400 W (rampa de 15 min); *ii*) 1400 W por 10 min e *iii*) 0 W por 20 min (etapa de resfriamento). Após o resfriamento, as soluções resultantes foram aferidas a 30 mL com água ultrapura para posterior quantificação do As total pela técnica de ICP-MS.

### **3.6 Extração das espécies de As empregando a MSPD**

A extração por MSPD consistiu na pesagem de 0,25 g de amostra e 0,25 g de areia do mar (como suporte sólido), os quais foram macerados em almofariz e pistilo de vidro por 5 min. Após, a mistura foi transferida para tubos de PP de 15 mL e a mistura foi submetida a aquecimento em banho-maria a 50 °C por 10 min. A mistura resultante (amostra, suporte sólido e solução extratora) passou por agitação em vórtex por 1 min e centrifugação a 8000 rpm por 5 min. Em seguida, o sobrenadante

foi retirado com auxílio de uma pipeta de *Pasteur* e transferido para um novo tubo de PP de 15 mL. Por fim, o extrato foi filtrado com filtros de seringa (0,45 µm de tamanho de poro) para posterior determinação de As total por ICP-MS ou das espécies de As por LC-ICP-MS.

### 3.7 Avaliação dos parâmetros da MSPD

Foram avaliados alguns parâmetros da MSPD, a fim de obter a melhor eficiência de extração, os quais incluem o tipo de suporte sólido (areia do mar, alumina, florissil, terra diatomácea, sílica e sem suporte sólido), massa de suporte sólido (0,25; 0,5; 0,75 e 1 g), tipo de solução extratora (HNO<sub>3</sub> 0,01; 0,05; 0,1; 0,5 e 1 mol L<sup>-1</sup> e água ultrapura) e o tipo de aquecimento na etapa de extração sólido-líquido (banho-maria, banho ultrassônico e sonda ultrassônica), sendo todos os ensaios realizados em triplicata (n = 3). As equações 1, 2 e 3 foram utilizadas para o cálculo da eficiência de extração (%), da recuperação cromatográfica (%) e do balanço de massa (%), respectivamente (KRUG & ROCHA, 2019).

$$EE(\%) = \frac{C_E}{C_D} \times 100\% \quad (1)$$

onde, EE(%) representa a eficiência de extração, em percentual; C<sub>E</sub> corresponde à concentração de As total determinada por ICP-MS no extrato da MSPD e C<sub>D</sub> corresponde à concentração de As total determinada por ICP-MS no digerido, após MAD.

$$RC(\%) = \frac{C_1 + C_2 + C_3 + \dots}{C_E} \times 100\% \quad (2)$$

onde, RC(%) representa a recuperação cromatográfica, em percentual; C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub> correspondem às concentrações de cada espécie (como As) no extrato da MSPD e C<sub>E</sub> é concentração de As total determinada por ICP-MS no extrato da MSPD (a mesma descrita na equação 1).

$$BM(\%) = \frac{EE(\%) \times RC(\%)}{100\%} \quad (3)$$

onde, BM(%) representa o balanço de massa, EE(%) representa a eficiência de extração (a mesma descrita na equação 1) e RC(%) representa a recuperação cromatográfica (a mesma descrita na equação 2).

### 3.7.1 Avaliação do tipo de suporte sólido

Para a extração das espécies de As empregando a MSPD foram avaliados 5 suportes sólidos: sílica, florissil, terra diatomácea e alumina, os quais foram obtidos comercialmente. A areia do mar, avaliada neste trabalho, sendo um suporte sólido verde, foi coletado na Praia de Bojuru, na cidade de São José do Norte - RS, conforme descrito por SANTOS *et al.* (2019). Ainda foi feita a avaliação da extração sem a presença de suporte sólido (apenas através da maceração da amostra). Vale ressaltar ainda, que a areia do mar foi descontaminada de acordo com o procedimento proposto por MALINOWSKI *et al.* (2022), que consistiu em pesar 10 g da areia em tubos de polipropileno de 50 mL e adicionou-se 20 mL de  $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$  50 mmol L<sup>-1</sup>, em seguida foi agitado em vórtex por 3 min e foi centrifugado por 5 min a 6000 rpm, separou-se o sobrenadante, que foi descartado, este procedimento foi repetido 5 vezes e, por fim, a areia foi colocada em uma placa de Petri e seco em estufa durante 24 h a 50 °C.

### 3.7.2 Avaliação da massa de suporte sólido

Após a definição do tipo de suporte sólido, foi avaliada a massa de suporte sólido através dos valores de 0,25; 0,50; 0,75 e 1,0 g, com a massa de amostra fixada em 0,25 g.

### 3.7.3 Avaliação do tipo de solução extratora

O volume da solução extratora na MSPD foi fixado em 10 mL, com base na literatura, onde muitos trabalhos empregam esse volume de solução extratora para a extração de arsênio. Visando selecionar a solução extratora mais eficiente para a extração das espécies de As, foram avaliadas soluções de HNO<sub>3</sub> nas concentrações 0,01; 0,05; 0,1; 0,5 e 1 mol L<sup>-1</sup> e somente adição de H<sub>2</sub>O ultrapura.

### 3.7.4 Avaliação da etapa de aquecimento

Também foi avaliada a necessidade de uma etapa de aquecimento, após a maceração e adição da solução extratora na MSPD, essa mistura foi submetida a uma etapa de aquecimento. Foram avaliadas as seguintes condições: *i*) aquecimento do extrato em banho-maria a 50 °C por 10 min; *ii*) aquecimento do extrato em banho ultrassônico por 10 min e *iii*) aquecimento do extrato com sonda ultrassônica (15 W de potência) por 5 min.

### 3.8 Determinação de espécies de As por LC-ICP-MS

As condições cromatográficas empregadas para a técnica LC-ICP-MS foram adaptadas do trabalho de SEEGER (2019), visando obter uma separação cromatográfica com boa seletividade e resolução dos picos cromatográficos para as espécies de As nas amostras. As condições cromatográficas foram aplicadas tanto para as soluções individuais como em misturas das espécies As(III), DMA, MMA e As(V) na concentração de 5 µg L<sup>-1</sup> (como As) e para as amostras do tipo Nori, Kombu e Hijiki. Na Tabela 3, estão apresentadas as condições cromatográficas empregadas na técnica de LC-ICP-MS.

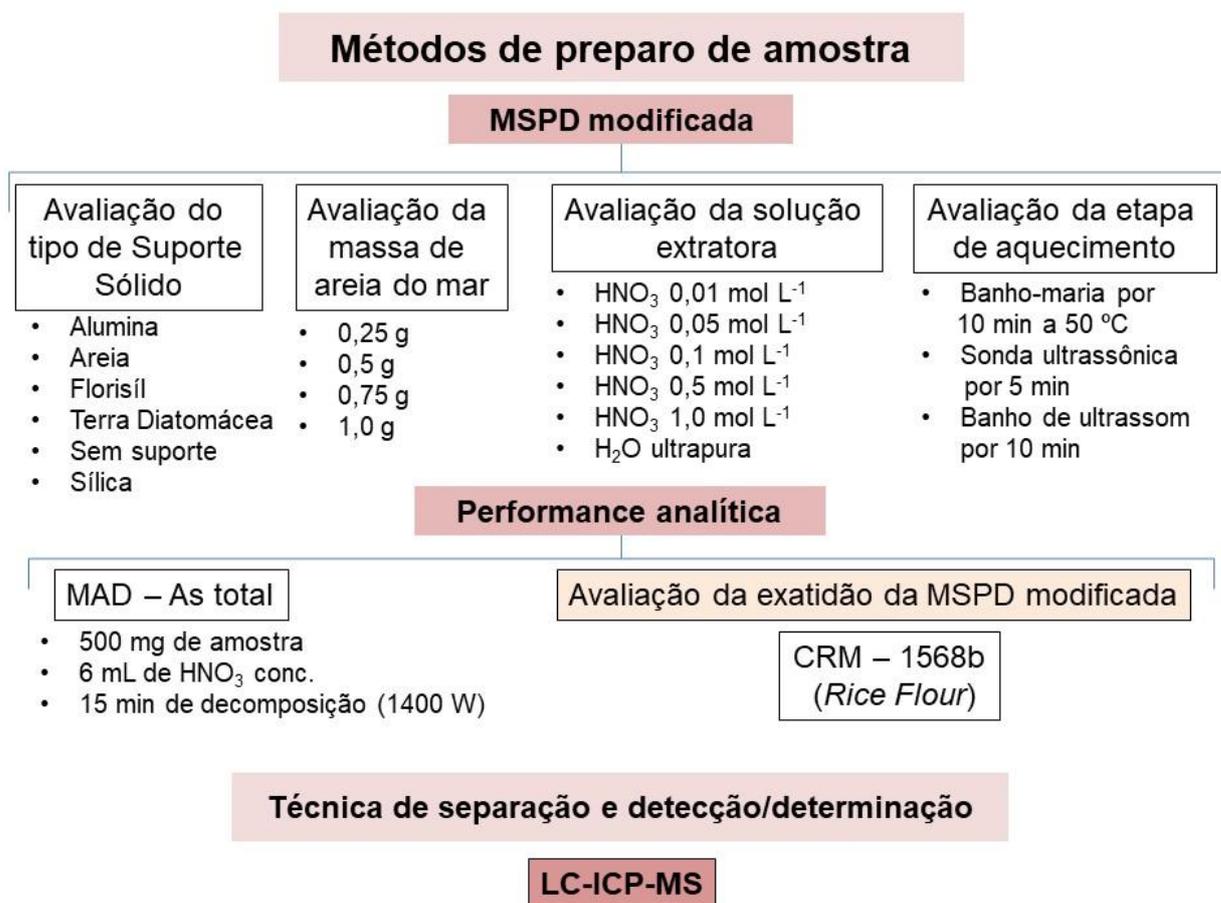
Tabela 3 - Condições cromatográficas empregadas na determinação das espécies de As por LC-ICP-MS.

Coluna cromatográfica	Troca aniônica PRP-X100
Fase móvel	(NH <sub>4</sub> )H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 8,0 mmol L <sup>-1</sup>
pH da fase móvel	8,0
Vazão da fase móvel	1,5 mL min <sup>-1</sup>
Modo de eluição	Isocrático
Volume de injeção	200 µL

### 3.9 Fluxograma dos procedimentos empregados

Na Figura 4, estão apresentados todos os procedimentos aplicados, assim como todas as condições que foram avaliadas neste trabalho.

Figura 4 - Fluxograma dos procedimentos avaliados neste trabalho.



### 3.10 Validação do método

Segundo a ANVISA, a validação consiste em garantir através de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados, ou seja, que os parâmetros de desempenho avaliados atendem aos critérios de aceitação preconizados (ANVISA, 2017). Sendo assim, neste trabalho foram avaliados parâmetros como linearidade, limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ), exatidão e precisão.

#### 3.10.1 Linearidade

A linearidade, expressa a faixa na qual os dados de um analito podem ser obtidos sem que ocorra o comprometimento da exatidão e da precisão, fornecendo respostas analíticas diretamente proporcionais à concentração do analito em uma amostra. A curva de calibração, é construída a partir de análises de soluções com

concentrações conhecidas, geralmente diferentes diluições de uma solução padrão, deve ser avaliada a relação linear em toda a faixa estabelecida para o método, da menor concentração a maior concentração do analito na amostra (ANVISA, 2017; INMETRO 2020).

A linearidade do método foi avaliada através de uma curva de calibração externa, utilizando soluções de referência contendo somente a espécie de DMA, com concentração entre 0,25 e 10  $\mu\text{g L}^{-1}$ . A curva de calibração foi preparada em meio da fase móvel ( $(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$  8,0  $\text{mmol L}^{-1}$ ), a partir de uma solução estoque de 100  $\mu\text{g L}^{-1}$  de DMA. A partir desta curva de calibração, foram obtidos os parâmetros de regressão linear, seu respectivo coeficiente angular e seu respectivo coeficiente de determinação ( $R^2$ ).

### 3.10.2 Limite de detecção e de quantificação

É muito importante saber qual o menor valor de concentração do analito que pode ser detectado pelo método, principalmente quando se trabalha com analitos presentes em baixas concentrações. Portanto, estimar o LOD do método analítico, corresponde em obter a sua menor concentração presente na amostra que pode ser detectada durante a análise, mas não necessariamente quantificada sob as condições experimentais estabelecidas. Assim, é necessário estimar o LOQ, que corresponde a menor concentração do analito na amostra que pode ser quantificada com exatidão e precisão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas (ANVISA, 2017; INMETRO, 2020).

O LOD e LOQ do método proposto foram calculados com base na relação sinal/ruído, estabelecendo a concentração mínima na qual o analito pode ser detectado (LOD) ou quantificado (LOQ). Uma relação sinal/ruído de 3:1 é considerada aceitável para estimar o LOD e de 10:1 para o LOQ.

### 3.10.3 Exatidão e precisão

Para fazer a avaliação da exatidão de um método, a qual é avaliada através do grau de concordância entre resultados obtidos em relação a um valor aceito como verdadeiro, foi empregado CRM de farinha de arroz (NIST 1568b) o qual possui

valores certificados para as espécies de As (DMA, MMA e iAs (soma do As(III) e As(V))). Todas as determinações foram realizadas em triplicata.

A avaliação da precisão consiste na concordância entre os resultados obtidos por meio de ensaios independentes realizados nas mesmas condições. Assim, a precisão foi realizada através da repetibilidade das concentrações obtidas nas replicatas da mesma amostra, usando como critério do desvio padrão relativo (RSD) entre as medidas.

### **3.11 Análises estatísticas e softwares**

Os tratamentos de dados durante a avaliação da MSPD foram realizados com o auxílio do programa *Microsoft Excel 2010*. Na comparação dos resultados obtidos na avaliação da MSPD, para a comparação entre três ou mais médias, foi utilizada a análise de variância (ANOVA), optando-se pelo teste de múltiplas comparações de *Tukey-Kramer*, com nível de confiança de 95%. Na determinação das espécies de As por LC-ICP-MS, as áreas dos picos cromatográficos foram integradas utilizando o programa *Origin 8* (versão 8.0724, OriginLab Corporation).

### **3.12 Tratamento dos resíduos**

Os resíduos gerados durante o desenvolvimento desse trabalho foram armazenados em frascos devidamente rotulados de acordo com as normas definidas pela Comissão de Resíduos da Universidade Federal do Rio Grande, sendo posteriormente guardados em local adequado para posterior recolhimento pela Instituição e envio a uma empresa contratada com o objetivo de realizar o seu tratamento.

## 4. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

---

---

### 4.1 Determinação de As total por ICP-MS após decomposição por MAD

Inicialmente, foi feita a decomposição (MAD) das amostras do tipo Nori, Kombu e Hijiki e determinada a concentração de As total por ICP-MS, com o objetivo de utilizar estes valores como referência e determinar a eficiência de extração durante as otimizações da MSPD. Na Tabela 4, estão apresentados os resultados da quantificação de As total por ICP-MS.

Tabela 4 - Determinação de As total por ICP-MS após decomposição por MAD em algas (resultados expressos como média  $\pm$  desvio padrão, em  $\mu\text{g g}^{-1}$ , n = 3).

Algas	Valor determinado
Nori ( <i>Porphyra spp.</i> )	17,8 $\pm$ 0,61
Kombu ( <i>Laminaria ochroleuca</i> )	69 $\pm$ 4,6
Hijiki ( <i>Hizikia fusiformis</i> )	66 $\pm$ 0,48

Após as determinações, os valores estiveram entre 17,8 e 69,0  $\mu\text{g g}^{-1}$ , com RSDs inferiores a 7%. Entre as algas analisadas, a alga do tipo Nori apresentou a menor concentração de As e alga do tipo Kombu a maior concentração. Os resultados estão de acordo com o trabalho de LLORENTE-MIRANDES *et al.* (2011), os quais determinaram As total por ICP-MS em algas do tipo Nori, Kombu, entre outras, também após decomposição por MAD. Os valores encontrados pelos autores foram 18,2 e 56,8  $\mu\text{g g}^{-1}$ , respectivamente.

Nas determinações por ICP-MS pode haver uma interferência espectral causada pelos íons poliatômicos  $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$  no monitoramento do isótopo  $^{75}\text{As}$ . Dessa forma, o teor de Cl foi determinado em amostras do mesmo tipo no trabalho de MALINOWSKI *et al.* (2022), os quais foram 6528, 93692 e 29707  $\mu\text{g g}^{-1}$  nas algas do tipo Nori, Kombu e Hijiki, respectivamente. Embora as concentrações de Cl sejam

elevadas nas amostras em estudo, Muller *et al.* (2015) verificaram que em concentrações inferiores a  $50 \text{ mg L}^{-1}$  de Cl, as determinações de As empregando o isótopo  $^{75}\text{As}$  não são influenciadas pela interferência poliatômica  $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$ . Portanto, neste trabalho as determinações de As total por ICP-MS nos digeridos e extratos da MSPD sofreram diluições que variaram de 50 a 200x, e não foram observadas interferências espectrais causadas pelo elemento Cl.

## 4.2 Avaliação dos parâmetros da MSPD

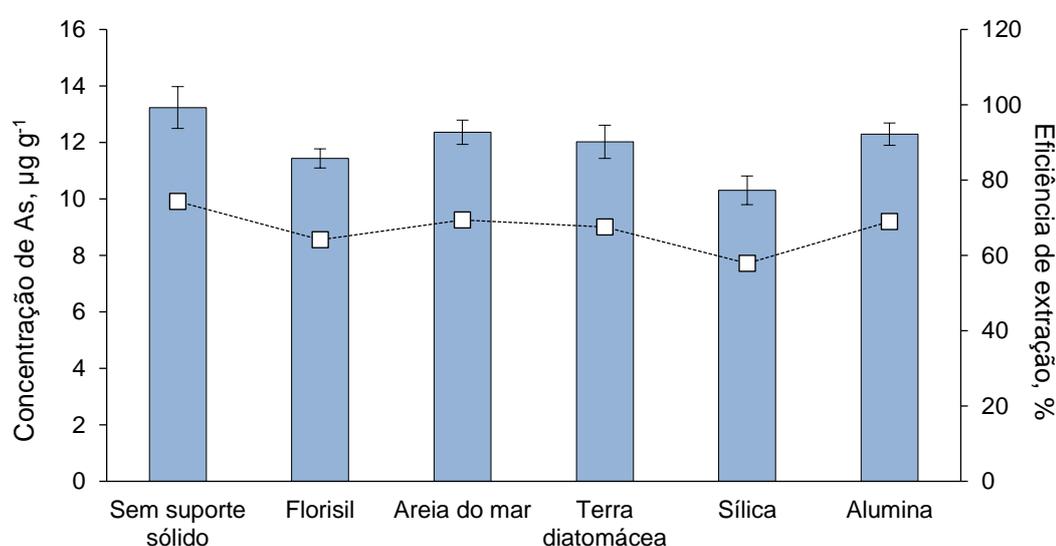
### 4.2.1 Avaliação do tipo de suporte sólido

A eficiência de extração na MSPD depende da natureza do suporte sólido empregado, pois durante a maceração da amostra com o suporte sólido, ocorre a dispersão da amostra na superfície do suporte e o rompimento da estrutura física da matriz, visando facilitar a posterior extração dos analitos (CALDAS *et al.*, 2013b). Foram avaliados 5 suportes sólidos, alumina, florissil, sílica, terra diatomácea e areia do mar. Com o objetivo de avaliar o efeito do suporte sólido na extração das espécies de As nas amostras de alga por MSPD, a maceração também foi realizada sem a presença de suporte sólido e todas as avaliações da MSPD foram realizadas com a amostra de alga do tipo Nori.

Inicialmente, foi avaliada a proporção 1:4 entre massa de amostra (0,25 g) e massa de suporte sólido (1,0 g), pois de acordo com BARKER (2007), na MSPD as proporções variam entre 1:1 e 1:4, dependendo do tipo de amostra, tipo de suporte sólido e analito. Como solução extratora, foi testada inicialmente uma solução de  $\text{HNO}_3$   $0,01 \text{ mol L}^{-1}$  e sem a etapa de aquecimento após a maceração. A escolha do suporte sólido foi feita com base na eficiência de extração, a qual foi calculada de acordo com a equação 1 (como descrito no item 3.7), onde a concentração de As total no extrato da MSPD foi comparada com a concentração de As total no digerido (obtido após MAD), ambas determinadas por ICP-MS. Durante todas as otimizações da MSPD, o cálculo da eficiência de extração foi utilizado como parâmetro, pois como foi possível obter a concentração total de As na decomposição por MAD, essa equação permite avaliar a relação do quanto do analito está sendo extraído pelo método proposto, do total presente na amostra, sem a etapa de separação

cromatográfica. Na Figura 5, estão apresentados os resultados obtidos na avaliação do tipo de suporte sólido.

Figura 5 - Influência do tipo de suporte sólido na eficiência de extração de As total por MSPD em amostras de alga do tipo Nori. As barras representam a concentração de As total ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ), os marcadores (quadrados brancos) representam a eficiência de extração e as barras de erro representam o desvio padrão ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ).



Condições: 0,25 g de amostra; 1,0 g de suporte sólido; maceração por 5 min; 10 mL de  $\text{HNO}_3$  0,01 mol  $\text{L}^{-1}$ ; agitação em vórtex por 1 min e centrifugação a 8000 rpm por 5 min.

As eficiências de extração variaram entre 58 e 74% para todas as condições avaliadas. As menores eficiências de extração foram observadas para os suportes sólidos florisil e sílica, sendo de 61 e 57%, respectivamente. A areia, terra diatomácea, alumina e a condição sem suporte sólido apresentaram valores de eficiência de extração entre 64 e 74% e não foram observadas diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) entre os resultados. O experimento onde não foi utilizado suporte sólido na maceração mostrou que a presença dos suportes sólidos avaliados pode não influenciar a eficiência de extração das espécies de As na alga do tipo Nori, mostrando assim que apenas reduzir o tamanho de partícula, aumentando a superfície de contato com o solvente extrator, é suficiente para alcançar uma

extração eficiente. No entanto, como o princípio da MSPD consiste na combinação da maceração junto a um suporte sólido para que ocorra a liberação do analito para o meio e também, quando o método fosse aplicado para os outros tipos de algas em estudo, visto que as mesmas diferem bastante na sua composição, poderia influenciar a presença de suporte sólido, sendo assim, optou-se por seguir os experimentos empregando a areia do mar por ser um suporte sólido verde.

A mesma areia do mar avaliada neste trabalho foi empregada em outros trabalhos relatados na literatura para MSPD, com vistas a extração de pesticidas em frutas e vegetais (SANTOS *et al.*, 2019) e para a extração de halogênios em algas comestíveis (MALINOWSKI *et al.*, 2022). Na sua composição, a areia possui Al, Ca, Fe, Mn, Na, Mg, Ti, Si e V, sendo que Ti (11,4%) e Fe (11,3%) estão presentes em maior concentração. Na forma de óxidos, predominam o CaO, TiO<sub>2</sub> e Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (SALCEDO *et al.*, 2020). A presença de óxidos indica que o material possui característica abrasiva, da mesma forma que os demais suportes sólidos sílica (SiO<sub>2</sub>), florisil (MgSiO<sub>3</sub>), alumina (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) e terra diatomácea (SiO<sub>2</sub>).

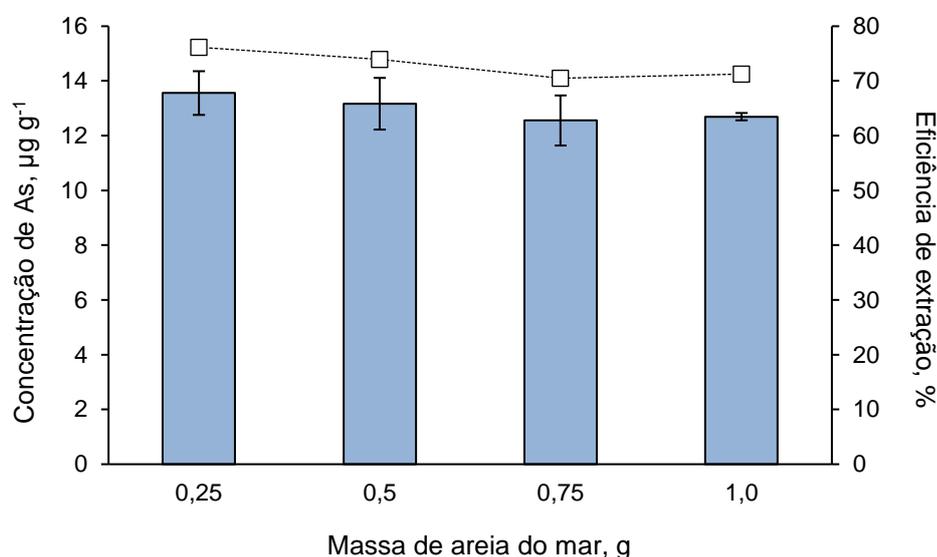
#### **4.2.2 Avaliação da massa de suporte sólido**

Para a avaliação da massa de suporte sólido, foi fixada a massa de amostra em 0,25 g e foram avaliadas as proporções 1:1, 1:2, 1:3 e 1:4, entre amostra e suporte sólido, as proporções recomendadas por Barker (2007) para a MSPD. Na Figura 6, estão apresentados os resultados obtidos na avaliação da massa de suporte sólido.

Na avaliação da massa de suporte sólido (areia do mar), a eficiência de extração variou entre 70 e 76%. No entanto, não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre as massas avaliadas. Sendo assim, foi selecionada a menor massa (0,25 g) de areia do mar para os próximos experimentos, com o objetivo de minimizar o consumo de reagentes. Embora a areia do mar seja obtida na natureza, o material passou por um processo de descontaminação utilizando o procedimento proposto por MALINOWSKI *et al.* (2022), visando principalmente diminuir a concentração de Cl na areia e, conseqüentemente, o teor dos brancos analíticos. Para o caso da sua utilização para a determinação de As por ICP-MS, a descontaminação também minimizou as possibilidades de interferência espectral causada pelos íons

poliatômicos  $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$  no monitoramento do isótopo  $^{75}\text{As}$  na técnica de ICP-MS. Embora BARKER *et al.* (2007) tenham recomendado proporções entre massa de amostra e massa de suporte sólido entre 1:1 e 1:4, existe uma variedade de proporções empregadas na literatura. Os resultados obtidos no método proposto estão de acordo com a proporção (1:1) estabelecida no trabalho de MOREDA-PIÑEIRO *et al.* (2008), os quais empregaram a MSPD convencional para a extração de espécies de As(III), As(V), MMA, DMA e AsB em frutos do mar. DUARTE *et al.* (2013) empregaram a proporção 1:2,5 entre amostra e suporte sólido na MSPD para a extração de  $\text{CH}_3\text{Hg}^+$  e  $\text{Hg}^{2+}$  em tecidos de peixes. No entanto, MALINOWSKI *et al.* (2022) utilizaram uma proporção bem distinta, 1:10 entre amostra e suporte sólido, para a extração de F, Cl, Br e I em algas comestíveis empregando a MSPD.

Figura 6 - Influência da massa de suporte sólido na eficiência de extração de As total por MSPD em amostras de alga do tipo Nori. As barras representam a concentração de As total ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ), os marcadores (quadrados brancos) representam a eficiência de extração e as barras de erro representam o desvio padrão ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ).

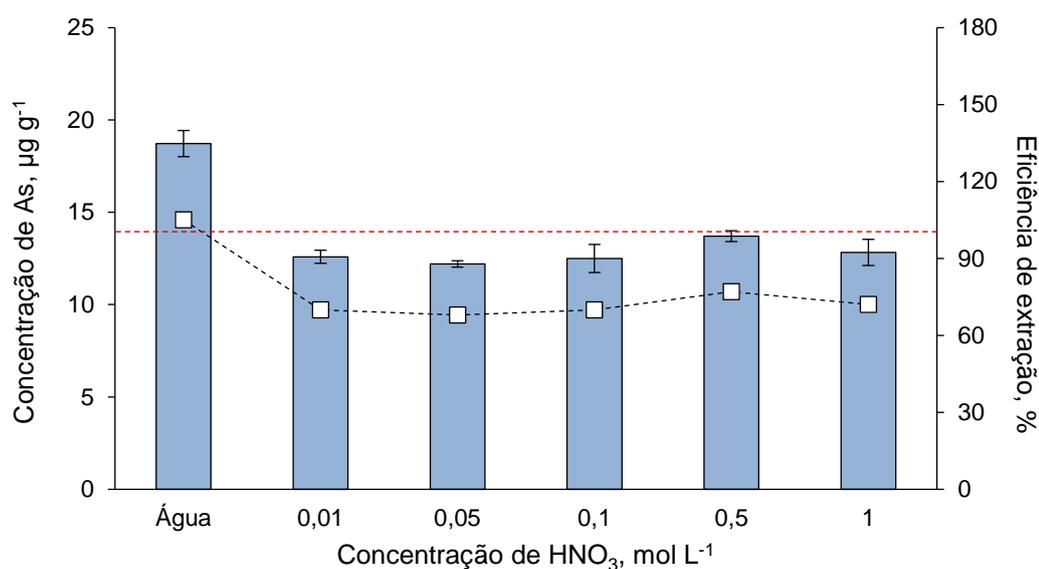


Condições: 0,25 g de amostra; maceração por 5 min; 10 mL de  $\text{HNO}_3$  0,01 mol  $\text{L}^{-1}$ ; agitação em vórtex por 1 min e centrifugação a 8000 rpm por 5 min.

### 4.2.3 Avaliação do tipo de solução extratora

A natureza da solução extratora pode ser um parâmetro relevante na MSPD, dependendo do tipo de analito e amostra, pois é na etapa de extração sólido-líquido que os analitos migram da amostra para a solução extratora. Após a definição do tipo de suporte sólido e massa de areia do mar, foram avaliadas diferentes concentrações de  $\text{HNO}_3$  (0,01; 0,05; 0,1; 0,5 e 1  $\text{mol L}^{-1}$ ) e apenas água ultrapura como soluções extratoras. Na Figura 7, estão apresentados os resultados para a avaliação do tipo de solução extratora.

Figura 7 - Influência do tipo de solução extratora na eficiência de extração de As total por MSPD em amostras de alga do tipo Nori. As barras representam a concentração de As total ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ), os marcadores (quadrados brancos) representam a eficiência de extração e as barras de erro representam o desvio padrão ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ).



Condições: 0,25 g de amostra; 0,25 g de areia do mar; maceração por 5 min; 10 mL de solução extratora; agitação em vórtex por 1 min e centrifugação a 8000 rpm por 5 min.

Na comparação entre as diferentes concentrações de  $\text{HNO}_3$  para a extração das espécies de As, não foram observadas diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) entre as concentrações de  $\text{HNO}_3$  de 0,01 a 1,0  $\text{mol L}^{-1}$ , onde as eficiências de extração

estiveram entre 68 e 77%, resultados semelhantes aos que já haviam sido obtidos nas avaliações anteriores. No entanto, quando foi empregada a água ultrapura na etapa de extração sólido-líquido, obteve-se uma eficiência de extração de 105% e foi a condição selecionada para os próximos experimentos.

No trabalho de SEEGER (2019) também foi avaliada a extração de espécies de As empregando a MAE e a UEA em algas onde foram avaliadas diferentes concentrações de  $\text{HNO}_3$ , além do uso de água ultrapura, e a melhor eficiência de extração foi obtida utilizando o  $\text{HNO}_3$   $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ . Porém, foi observada uma interconverção de uma espécie desconhecida (provavelmente algum tipo de AsSug) em As(III) e essa interconversão foi observada em todas as concentrações de  $\text{HNO}_3$  acima de  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ .

Na literatura existem alguns trabalhos que realizaram a extração de espécies de As em diferentes amostras de alimentos empregando a água como solvente extrator em diferentes métodos de extração. MAR *et al.* (2009) realizaram a extração das espécies As(III), As(V), MMA e DMA em amostras de arroz por MAE empregando 10 mL de água como solvente extrator. Da mesma forma, CARVALHO *et al.* (2010) investigaram a UAE para a extração de As(III), As(V), MMA, DMA, AsB, AsC e TMAO em amostras de algas marinhas utilizando 10 mL de água ultrapura. No entanto, muitos estudos reportam o uso de metanol ou mistura metanol:água como solvente extrator, como é o caso do trabalho de MOREDA-PINEIRO *et al.* (2008), os quais empregaram uma mistura 1:1 metanol:água na MSPD para a extração de espécies de arsênio em frutos do mar. Também no estudo de D'MATO *et al.*, (2012), foi utilizada uma mistura de metanol-água (1:1, v/v) e empregada a UAE para extração de espécies de As em amostras de macroalgas, crustáceos e peixes. Já no trabalho de Batista *et al.* (2012), os autores propuseram a utilização de 1 mL de uma mistura de metanol 10% (v/v) e  $\text{HNO}_3$  2% (v/v) para a extração das espécies de As por UAE em amostras de peito de frango (músculo), tilapia, músculo bovino, ovos de galinha, mexilhões, polvo, pescada, atum e camarão, adicionou a mistura com 1,0 mL de uma solução contendo  $\text{HNO}_3$  2% v/v e MeOH 10% v/v.

Portanto, assim como o uso da areia do mar (um suporte sólido verde), o emprego de água como solução/solvente extrator caracteriza o método proposto como um método ambientalmente amigável para a extração de espécies de As em

algas comestíveis. Portanto, a água ultrapura foi selecionada como solução/solvente extrator para os próximos experimentos.

#### 4.2.4 Avaliação da influência do suporte sólido na maceração

Após a otimização dos parâmetros da MSPD, o método proposto foi aplicado para as demais amostras para verificar se a eficiência de extração seria a mesma obtida para a amostra do tipo Nori. Adicionalmente, também foi empregada a condição sem suporte sólido para avaliar a influência da areia do mar na maceração e a água ultrapura como solvente extrator, na eficiência de extração de As total, com o objetivo de avaliar este efeito para as demais amostras, além da alga do tipo Nori. Os resultados estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 - Influência da areia do mar como suporte sólido durante a maceração na eficiência de extração de As total por MSPD em amostras do tipo Nori, Kombu e Hijiki (resultados de As total expressos como média  $\pm$  desvio padrão, em  $\mu\text{g g}^{-1}$ ,  $n = 3$ ).

Algas	As total (sem areia)	As total (com areia)	Eficiência de extração (%) (sem areia)	Eficiência de extração (%) (com areia)
Nori ( <i>Porphyra spp.</i> )	16,3 $\pm$ 0,3	16,1 $\pm$ 0,8	92	91
Kombu ( <i>Laminaria ochroleuca</i> )	49,7 $\pm$ 0,5	49,8 $\pm$ 3,0	72	72
Hijiki ( <i>Hizikia fusiformis</i> )	20,9 $\pm$ 3,4	34,1 $\pm$ 2,0	32	52

Condições: 0,25 g de amostra; 0,25 g de areia do mar (nos experimentos com suporte sólido); maceração por 5 min; 10 mL de água (como solução extratora); agitação em vórtex por 1 min e centrifugação a 8000 rpm por 5 min.

A partir dos dados Tabela 5, é possível observar que quando o método otimizado anteriormente foi aplicado nas amostras do tipo Kombu e Hijiki, as eficiências de extração (72 e 52%, respectivamente) estiveram abaixo dos valores obtidos para a amostra do tipo Nori (91%). Para tentar entender este comportamento, foi avaliada a maceração sem a presença da areia do mar, pois na

avaliação do tipo de suporte sólido (item 4.2.1), esta condição também se mostrou promissora para a alga do tipo Nori. Para as amostras do tipo Nori e Kombu, não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os valores de eficiência de extração, mostrando que a maceração com areia do mar não exerce influência significativa na extração de As total. No entanto, observa-se que a maceração com a areia do mar influencia significativamente ( $p < 0,05$ ) a eficiência de extração (52%) de As total na amostra do tipo Hijiki, em comparação com a condição em que não foi utilizado suporte sólido na maceração (32%). Portanto, considerando a necessidade de otimizar a eficiência de extração de As total para todas as amostras em estudo, a utilização de areia do mar como suporte sólido foi mantida para os próximos experimentos.

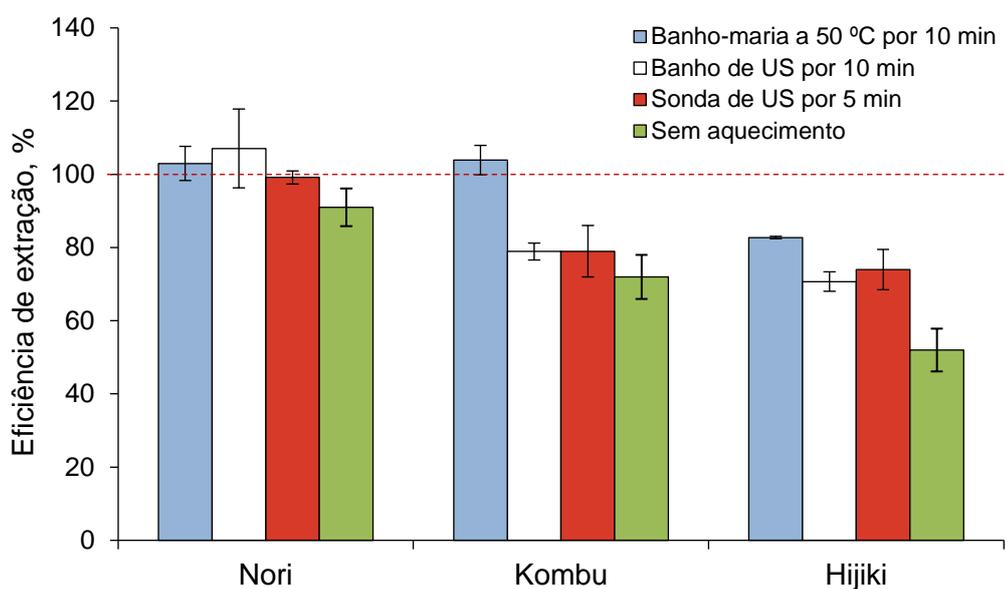
#### 4.2.5 Avaliação da etapa de aquecimento

Observando os trabalhos da literatura que realizaram a extração de espécies de As, foi verificado que a maioria utiliza alguma forma de aquecimento (NARUKAWA *et al.*, 2014; WOLLE *et al.*, 2018). Embora as aplicações da MSPD ocorram majoritariamente a temperatura ambiente, foram avaliadas três possibilidades de fornecimento de energia na MSPD através do aquecimento do extrato da MSPD, como descrito a seguir: *i*) aquecimento em banho-maria a 50 °C por 10 min; *ii*) Banho ultrassônico por 10 min e *iii*) aquecimento com sonda ultrassônica por 5 min. Cabe salientar, que a etapa de aquecimento foi realizada após a adição da água ultrapura à mistura resultante da maceração, assim foi feito um aquecimento durante o período que o solvente extrator ficou em contato com a mistura de amostra e suporte sólido. Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 8.

Em geral, foi verificado um aumento de eficiência de extração para todas as formas de aquecimento empregadas em todas as amostras quando comparadas com a condição “sem aquecimento”. Para a amostra de alga do tipo Nori, as três formas de aquecimento forneceram bons resultados (99 a 107%). Para as algas do tipo Kombu e Hijiki, o aquecimento em banho-maria forneceu um aumento na eficiência de extração (104 e 83%, respectivamente) significativo ( $p < 0,05$ ) em comparação com as demais condições avaliadas. Portanto, esta condição foi

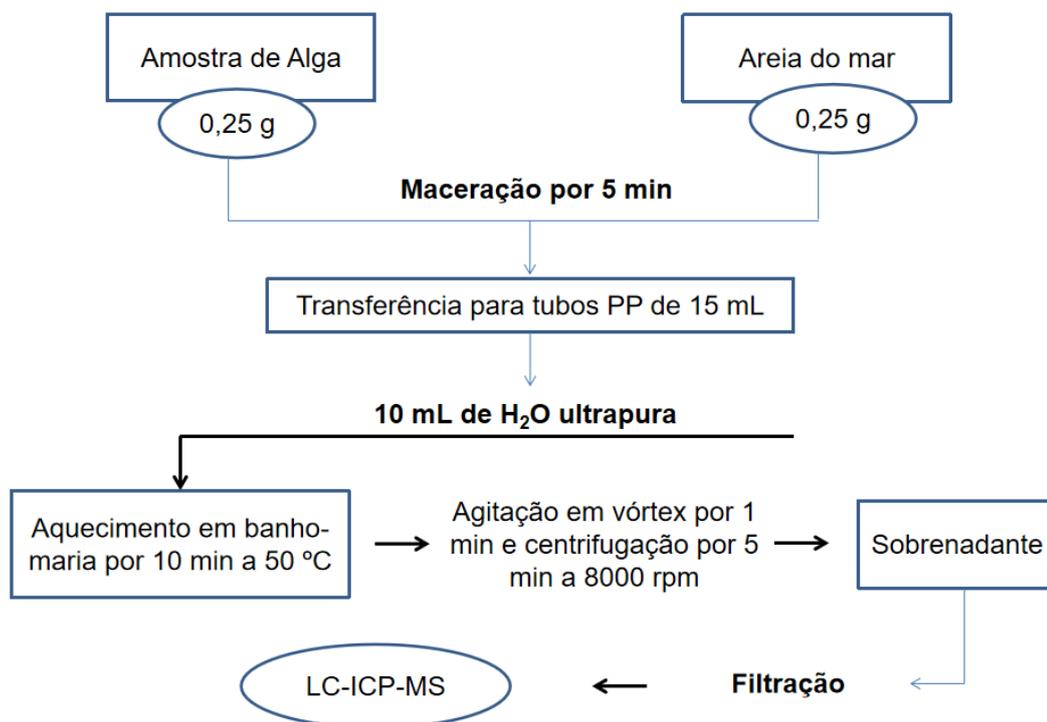
selecionada para os próximos experimentos. Após as otimizações da MSPD, o método de preparo otimizado ficou definido de acordo com a Figura 9.

Figura 8 - Influência da etapa de aquecimento na MSPD na eficiência de extração de As total por MSPD em amostras de alga do tipo Nori, Kombu e Hijiki. As barras representam a eficiência de extração e as barras de erro representam o desvio padrão relativo (RSD) (%) obtidos pelo método proposto.



Condições: 0,25 g de amostra; 0,25 g de areia do mar; maceração por 5 min; 10 mL de água (como solução extratora); aquecimento do extrato (alga + areia do mar + água ultrapura); agitação em vórtex por 1 min e centrifugação a 8000 rpm por 5 min.

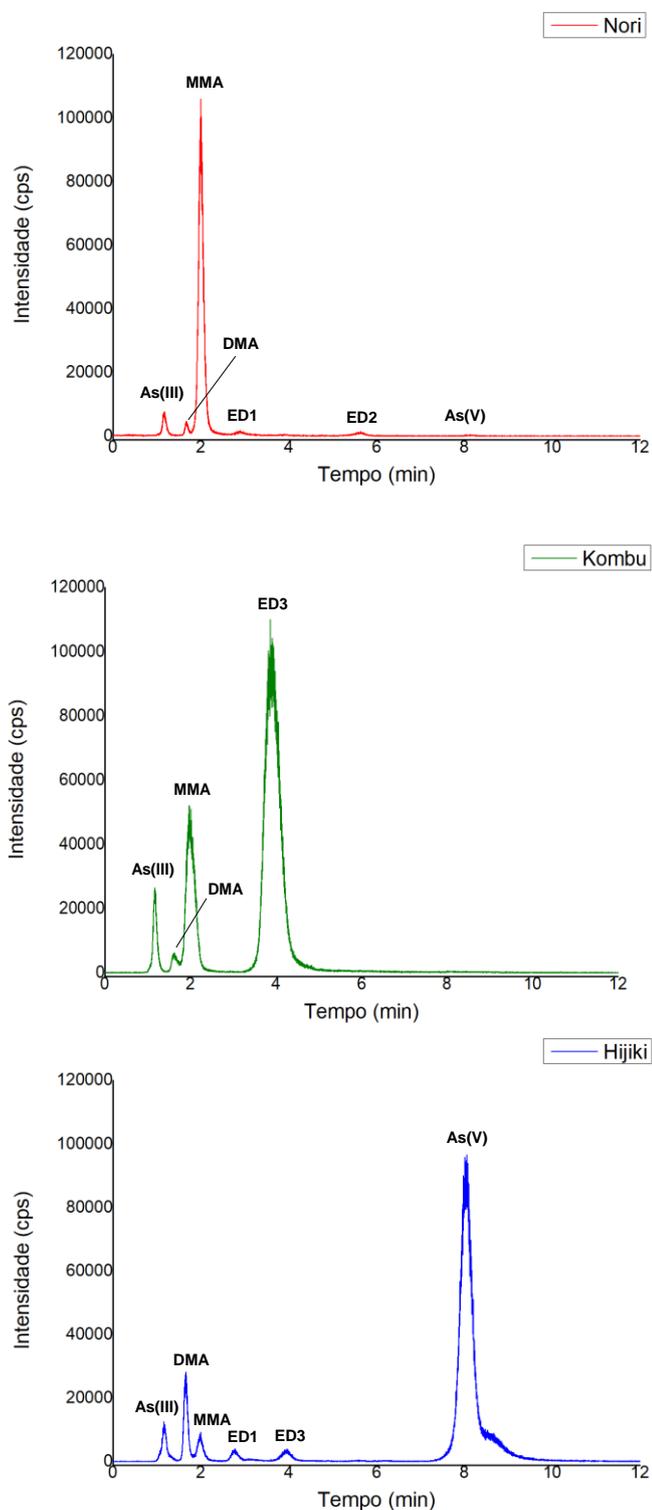
Figura 9 - Fluxograma da MSPD modificada otimizada.



#### 4.3 Análise de especiação de As por LC-ICP-MS após extração por MSPD

Após definidas as melhores condições da MSPD, foram aplicadas e adaptadas as condições cromatográficas (como descrito na Tabela 3, item 3.8) do trabalho de SEEGER *et al.* (2019) visando obter uma separação cromatográfica adequada das espécies de As presentes nas amostras. Inicialmente, foi injetada no sistema LC-ICP-MS uma solução mista contendo as espécies As(III), DMA, MMA e As(V) na concentração de  $5 \mu\text{g L}^{-1}$ , para obter os tempos de retenção ( $t_r$ ) de cada espécie e posteriormente possibilitar a identificação destas nas amostras em estudo. Cabe salientar, que só foi possível identificar as espécies que se tinha disponibilidade de padrões no laboratório. Na Figura 10, estão mostrados os cromatogramas obtidos após as extrações por MSPD nas três amostras em estudo no instrumento de ICP-MS modelo ELAN DRC II.

Figura 10 - Cromatogramas obtidos por LC-ICP-MS após extração das espécies de As por MSPD (extratos 2x diluídos) em amostras do tipo Nori, Kombu e Hijiki.



Condições: eluição isocrática com vazão da fase móvel de  $1,5 \text{ mL min}^{-1}$ , em pH 8,0.

Programa de eluição: 0-12 min a 8 mmol L<sup>-1</sup> de (NH<sub>4</sub>)H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>. Coluna de troca aniônica PRP-X100.

Foram obtidos cromatogramas com boa resolução e separação dos picos cromatográficos, sendo adequadas para realizar a posterior quantificação das espécies de As em estudo. Também foi possível observar que durante a análise cromatográfica, algumas espécies desconhecidas foram eluídas, as quais foram denominadas de “ED, espécie desconhecida”. Na alga do tipo Nori, foram identificadas as espécies As(III), DMA, MMA e As(V), sendo a espécie MMA a espécie majoritária. No entanto, outras duas espécies foram eluídas com a coluna PRP-X100 de troca aniônica, as quais foram denominadas de ED1 ( $t_r = 2,9$  min) e ED2 ( $t_r = 5,6$  min). Na alga do tipo Kombu, foram identificadas as espécies As(III), DMA e MMA. A espécie majoritária foi uma espécie desconhecida, que foi denominada ED3 ( $t_r = 3,9$  min). Na alga do tipo Hijiki, foram identificadas as espécies As(III), DMA, MMA e As(V) e duas espécies que eluíram nos mesmos tempos de retenção das espécie que haviam sido denominadas ED1 e ED3. As espécies desconhecidas podem ser espécies de AsSug, as quais geralmente são solúveis em meio aquoso e amplamente presentes em algas.

#### **4.4 Validação do método**

##### **4.4.1 Linearidade**

A quantificação das espécies de As foram feitas utilizando uma curva de calibração para espécie DMA na faixa de 0,25 a 10 µg L<sup>-1</sup>. Essa forma de calibração utilizando apenas uma espécie foi possível uma vez que a separação cromatográfica foi feita no modo isocrático e, desta forma, as espécies de As possuem a mesma sensibilidade. Cabe também destacar, que a curva de calibração foi preparada em fase móvel NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 8,0 mmol L<sup>-1</sup>, para evitar a oscilação/vale (*drift*) da linha base. O método foi linear ( $R^2 = 0,9998$ ) na faixa de calibração avaliada.

##### **4.4.2 Limite de detecção e quantificação**

O LOD e LOQ instrumental e do método foram calculados conforme descrito no item 3.11.2, considerando a concentração proporcional a uma razão sinal:ruído

de 3:1 e 10:1 para o LOD e LOQ, respectivamente, para a espécie DMA, conforme mostrado na Tabela 6.

Tabela 6 - Limites de detecção e quantificação instrumentais e do método proposto.

Limites de detecção/quantificação	DMA
LOD <sub>i</sub> ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	0,25
LOD <sub>m</sub> ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	0,010
LOQ <sub>i</sub> ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	0,83
LOQ <sub>m</sub> ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	0,033

LOD<sub>i</sub>: Limite de detecção instrumental; LOD<sub>m</sub>: Limite de detecção do método; LOQ<sub>i</sub>: Limite de quantificação instrumental; LOQ<sub>m</sub>: Limite de quantificação do método.

O valor do LOD instrumental foi de  $0,25 \mu\text{g L}^{-1}$  e o LOD do método foi de  $0,01 \mu\text{g g}^{-1}$ . Da mesma forma, o LOQ instrumental foi de  $0,83 \mu\text{g L}^{-1}$  e o LOQ do método foi de  $0,033 \mu\text{g g}^{-1}$ . Estes valores estão de acordo com as faixas de concentração determinadas nas amostras, permitindo a quantificação da maioria das espécies em estudo em todas as amostras, também permitindo quantificar a maioria das espécies presentes no CRM empregado no estudo.

#### 4.4.3 Exatidão e precisão

A exatidão foi avaliada aplicando o método proposto no CRM de farinha de arroz (NIST 1568b). A precisão foi avaliada em termos de repetibilidade. Na Tabela 7, estão representados os resultados obtidos para o CRM NIST 1568b.

Tabela 7 - Determinação de espécies de As no CRM NIST 1568b.

Espécies de As	MSPD/LC-ICP-MS	Valor certificado
Asi, As(III) + As(V)	0,094 ± 0,004	0,092 ± 0,010
As(III)	0,017 ± 0,001	-
As(V)	0,077 ± 0,004	-
DMA	0,192 ± 0,001	0,180 ± 0,012
MMA	< 0,033	0,0116 ± 0,0035

Os valores determinados pelo método proposto apresentaram boa concordância para as espécies DMA (107%) e as espécies inorgânicas iAs (102%), com RSDs inferiores a 7%. Além disso, não foi observada diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os valores determinados e os valores certificados. Para a espécie MMA, os valores determinados ficaram abaixo do LOQ.

#### 4.4.4 Determinação das espécies de As por LC-ICP-MS após extração por MSPD

Na Tabela 8, estão demonstrados os resultados obtidos a partir da determinação de espécies de As por LC-ICP-MS após extração por MSPD, além de determinações de As total por ICP-MS após extração por MSPD e digestão por MAD. Para a determinação das espécies de As foram feitas diluições de 2 vezes nos extratos da MSPD. Ao avaliar as concentrações das espécies de As na amostra de alga do tipo Nori, após extração por MSPD, observa-se que a maior concentração foi obtida para a espécie MMA ( $11,3 \mu\text{g g}^{-1}$ ). As espécies As(III) ( $0,56 \mu\text{g g}^{-1}$ ) e DMA ( $0,28 \mu\text{g g}^{-1}$ ) também foram detectadas e quantificadas e os RSDs foram inferiores a 11%. As espécies ED1, ED2 e As(V) estiveram abaixo do LOQ. O somatório da concentração das espécies no extrato da MSPD na alga do tipo Nori foi de  $12,1 \mu\text{g g}^{-1}$  e a concentração de As total obtida no extrato resultante da MSPD foi de  $18,3 \mu\text{g g}^{-1}$ . Já a concentração de As total no digerido (após MAD) foi de  $17,8 \mu\text{g g}^{-1}$ . Esses valores representam uma eficiência de extração de 103%, mostrando que a MSPD

extraiu as espécies de As presentes na amostra. No entanto, a recuperação cromatográfica esteve em 66%, mostrando que nem todas as espécies de As presentes no extrato da MSPD foram eluídas e detectadas/quantificadas utilizando as condições cromatográficas empregadas nesse estudo.

Tabela 8: Determinação de espécies de As por LC-ICP-MS em algas comestíveis, após extração por MSPD (resultados expressos como média  $\pm$  desvio padrão,  $\mu\text{g g}^{-1}$ ,  $n = 3$ ).

Espécies	Nori	Kombu	Hijiki
As(III)	0,56 $\pm$ 0,032	2,4 $\pm$ 0,075	1,20 $\pm$ 0,070
DMA	0,28 $\pm$ 0,030	0,52 $\pm$ 0,052	2,19 $\pm$ 0,073
MMA	11,3 $\pm$ 1,14	9,0 $\pm$ 0,41	0,88 $\pm$ 0,037
As(V)	< 0,033	< 0,033	28 $\pm$ 0,78
ED 1	< 0,033	-	0,47 $\pm$ 0,061
ED 2	< 0,033	-	-
ED 3	-	34 $\pm$ 1,34	0,67 $\pm$ 0,017
$\Sigma$ espécies de As <sup>a</sup>	12,1 $\pm$ 1,14	46 $\pm$ 1,41	33 $\pm$ 0,79
As total no extrato <sup>b</sup>	18,3 $\pm$ 0,85	72 $\pm$ 2,9	54 $\pm$ 0,16
As total no digerido <sup>c</sup>	17,8 $\pm$ 0,61	69 $\pm$ 4,6	66 $\pm$ 0,48
Eficiência de extração (%)	103	104	83
Recuperação cromatográfica (%)	66	64	61
Balanço de massa (%)	68	67	51

<sup>a</sup> Somatório da concentração das espécies de As determinadas por LC-ICP-MS após extração por MSPD (condições otimizadas).

<sup>b</sup> Concentração de As total determinada por ICP-MS após extração por MSPD (condições otimizadas).

<sup>c</sup> Concentração de As total determinada por ICP-MS após digestão por MAD.

Quando foi avaliada a concentração das espécies de As na alga do tipo Kombu, obteve-se a maior concentração para a espécie ED3 ( $34 \mu\text{g g}^{-1}$ ). As espécies As(III), DMA e MMA apresentaram as concentrações de 2,4; 0,52 e  $9,1 \mu\text{g g}^{-1}$ , respectivamente, com RSDs inferiores a 10%. Já a espécie As(V) esteve abaixo do LOQ. A concentração de As total no extrato resultante da MSPD foi de  $72 \mu\text{g g}^{-1}$  e a concentração de As total no digerido (após MAD) foi de  $69 \mu\text{g g}^{-1}$ , o que representa uma eficiência de extração de 104%, comprovando assim, igualmente como na alga do tipo Nori, uma extração completa das espécies de As. No entanto, considerando que o somatório da concentração das espécies no extrato da MSPD foi de  $44 \mu\text{g g}^{-1}$ , a recuperação cromatográfica foi de 64%, indicando que algumas espécies não foram eluídas e posteriormente detectadas/quantificadas nas condições empregadas.

Na determinação das espécies de As na amostra de alga do tipo Hijiki, a menor concentração foi obtida para a espécie ED1 ( $0,47 \mu\text{g g}^{-1}$ ) e a maior concentração foi observada para a espécie As(V) ( $28 \mu\text{g g}^{-1}$ ), além das espécies As(III) ( $1,20 \mu\text{g g}^{-1}$ ), DMA ( $2,19 \mu\text{g g}^{-1}$ ), MMA ( $0,88 \mu\text{g g}^{-1}$ ) e ED1 ( $0,47 \mu\text{g g}^{-1}$ ), com RSDs inferiores a 13%. A concentração de As total no extrato proveniente da MSPD foi de  $54 \mu\text{g g}^{-1}$  e a concentração de As total no digerido (após MAD) foi de  $66 \mu\text{g g}^{-1}$ , correspondendo a uma eficiência de extração de 83%. Embora seja um percentual significativo, esse resultado evidencia que algumas espécies não foram extraídas na MSPD. O somatório das espécies de  $33 \mu\text{g g}^{-1}$ , proporcionou uma recuperação cromatográfica de 61%, indicando que algumas espécies também não puderam ser eluídas e posteriormente quantificadas nas condições cromatográficas empregadas.

Nas três amostras em estudo, os valores de recuperação cromatográfica estiveram entre 61 e 66%. As algas marinhas possuem uma grande variabilidade de espécies de As, que variam desde as quantificadas nesse estudo (As(III), DMA, MMA e As(V)), como AsSug e AsLip. Portanto, algumas espécies não possuem afinidade pela coluna de troca aniônica utilizada, como os AsLip, sendo utilizadas normalmente colunas de C18 para a especiação de As por LC-ICP-MS nos trabalhos que fazem a determinação destas espécies. Ainda, a extração de espécies AsLip é comumente feita empregando solventes como o metanol, hexano e diclorometano, o que pode explicar uma menor eficiência de extração obtida para a alga do tipo Hijiki

(83%) empregando água como solvente extrator (PÉTURSDÓTTIR *et al.*, 2019; RAAB *et al.*, 2013). Portanto, para promover uma extração quantitativa das espécies de As na amostra Hijiki, o ideal seria um estudo de fracionamento.

## 5. CONCLUSÕES

---

A MSPD modificada combinada com a LC-ICP-MS se mostrou adequada para a determinação de As total e as espécies As(III), As(V), DMA e MMA. Ainda, foram quantificadas três espécies desconhecidas nas amostras de algas comestíveis do tipo Nori (*Porphyra spp.*), Kombu (*Laminaria ochroleuca*) e Hijiki (*Hizikia fusiformis*) e foram otimizados os principais parâmetros da MSPD.

A proposta de empregar como solução extratora a água ultrapura e um suporte sólido verde como a areia do mar, mostrou-se eficiente para extrair o As total e as espécies de As presentes nas amostras. Esta combinação de água ultrapura e areia do mar agregam ao método características que contribuem com os princípios da Química Analítica Verde, gerando um resíduo de baixa toxicidade e reduzindo os custos do método de preparo da amostra. Com os resultados obtidos, mostrou-se que é possível empregar um suporte sólido verde, como a areia do mar, sem nenhuma perda de eficiência comparada aos suportes sólidos comerciais. Adicionalmente, verificou-se que sem a utilização de suporte sólido foram obtidas eficiências de extração adequadas para as amostras de alga do tipo Nori e os resultados foram semelhantes aos obtidos com a areia do mar para as amostras do tipo Nori e Kombu. No entanto, para a amostra do tipo Hijiki, a presença de areia do mar como suporte sólido na maceração influenciou na extração de espécies de As por MSPD.

O estudo da linearidade foi feito com a espécie DMA, a qual apresentou linearidade na faixa de 0,25 a 10  $\mu\text{g L}^{-1}$ . O LOD do método obtido para a espécie DMA foi de 0,010  $\mu\text{g g}^{-1}$  e o LOQ foi de 0,033  $\mu\text{g g}^{-1}$ , assim foi possível quantificar as espécies em estudo como As(III), As(V), DMA e MMA e três espécies desconhecidas (EDs). O método proposto apresentou exatidão e precisão adequadas através da avaliação do CRM de farinha de arroz, onde foi obtida uma concordância de 107% para o DMA e 102% para as espécies inorgânicas iAs.

Assim, este trabalho colabora para o desenvolvimento de métodos de preparo de amostras para a determinação de As total e espécies de As de forma inédita, visto que é o primeiro trabalho que emprega a MSPD para a determinação de espécies de As em amostras de algas comestíveis, além de propor a extração

empregando água ultrapura como solução extratora e um suporte sólido verde, areia do mar. Além disso, o método apresentou uma boa eficiência de extração, exigindo instrumentação simples e de baixo custo para o preparo da amostra. Assim, este trabalho também contribuiu para o desenvolvimento de métodos mais acessíveis para laboratórios com menos disponibilidade de instrumentação, contribuindo também com os princípios da Química Analítica Verde.

Como perspectivas futuras, sugere-se investigar a utilização de colunas C18 para a separação e quantificação de espécies desconhecidas, como AsLip, o fracionamento propondo a extração de espécies AsLip com solventes não aquosos, bem como a investigação através da identificação das espécies desconhecidas com instrumentação adequada, como LC-ESI-MS/MS de alta resolução.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

---

ACUÑA, M. C.; BARRERA, T. G.; SEVILLANO, M. A. G.; ARIZA, J. L. G.; Speciation of arsenic in marine food (*Anemonia sulcata*) by liquid chromatography coupled to inductively coupled plasma mass spectrometry and organic mass spectrometry. **Journal Chromatography**, v. 1282, p. 133-141, 2013.

ALONSO, E. V.; CORDERO, M. T. S.; TORRES, A. G. de.; RUDNER, P. C.; PAVÓN, J. M. C.; Mercury speciation in sea food by flow injection cold vapor atomic absorption spectrometry using selective solid phase extraction. **Talanta**, v. 77, p. 53–59, 2008.

AMATO, M. D.; AURELI, F.; CIARDULLO, S.; RAGGI, A.; CUBADDA, F. Arsenic speciation in wheat and wheat products using ultrasound- and microwave-assisted extraction and anion exchange chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry. **Journal Analytical Atomic Spectrometry**, v. 26, p. 207-213, 2011.

ANAWAR, H. M., Arsenic speciation in environmental samples by hydride generation and electrothermal atomic absorption spectrometry, **Talanta**, v. 88, p. 30-42, 2012.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC Nº 166 - Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. 2017.

ATSDR. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological profile for arsenic. <<http://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles>> Acessado: 20 de outubro de 2022.

BABA, K.; ARAO, T.; YAMAGUCHI, N.; WATANABE, E.; EUN, H.; ISHIZAKA, M.; Chromatographic separation of arsenic species with pentafluorophenyl column and application to rice. **Journal of Chromatography A**, v. 1354, p. 109–116, 2014.

BAEYENS, W.; GAO, Y.; GALAN, S.; BILAU, M.; LAREBEKE, N. M.; LEERMAKERS, M. Dietary exposure to total and toxic arsenic in Belgium: Importance of arsenic speciation in North Sea fish. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 53, p. 558 – 565, 2009.

BATISTA, B. L.; RODRIGUES, J. L.; SOUZA, S. S. de.; SOUZA, V. C. O.; Jr, F. B.; Mercury speciation in seafood samples by LC–ICP-MS with a rapid ultrasound-assisted extraction procedure: Application to the determination of mercury in Brazilian seafood samples. **Food Chemistry**, v. 126, p. 2000–2004, 2011.

BURLÓ, F.; GANDOLFO, A.R.; PASTOR, A. J. S.; HARIS, P. I.; BARRACHINA, A. A. C.; Arsenic Contents in Spanish Infant Rice, Pureed Infant Foods, and Rice. **Journal of Food Science**, v. 71, p. 1-8, 2012.

CALDAS, S. S.; BOLZAN, C. M.; MENEZES, E. J. D.; ESCARRONE, A. L. V.; MARTINS, C. D. M. G.; BIANCHINI, A.; PRIMEL, E. G. A vortex-assisted MSPD method for the extraction of pesticide residues from fish liver and crab hepatopancreas with determination by GC–MS. **Talanta**, v. 112, p. 63-68, 2013.

CALDAS, S. S.; ROMBALDI, C.; CERQUEIRA, M. B. R. ; SOARES, B. M. ; PRIMEL, E. G. . Avanços recentes da MSPD para extração de resíduos de agrotóxicos,

PPCPs, compostos inorgânicos e organometálicos. **Scientia Chromatographica**, v. 5, p. 190-213, 2014.

CALDAS, S. S.; ROMBALDI, C.; CERQUEIRA, M. B. R.; SOARES, B. M.; PRIMEL, E. G. Avanços recentes da MSPD para extração de resíduos de agrotóxicos, PPCPs, compostos inorgânicos e organometálicos. **Scientia Chromatographica**, v. 5, p. 190-213, 2013.

CAO, J.; PENG, L. Q.; XU, J. J.; DU, L. J.; ZHANG, Q. D. Simultaneous microextraction of inorganic iodine and iodinated amino acids by miniaturized matrix solid-phase dispersion with molecular sieves and ionic liquids. **Journal of Chromatography A**, v. 1477, p. 1-10, 2016.

CAPRIOTTI, A. L.; CAVALIERE, C.; FOGLIA, P.; SAMPERI, R.; STAMPACHIACCHIERE, S.; VENTURA, S.; LAGANÀ, A. Recent advances and developments in matrix solid-phase dispersion. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 71, p. 186-193, 2015.

CAPRIOTTI, A. L.; CAVALIERE, C.; GIANSAINTI, P.; GUBBIOTTI, R.; SAMPERI, R.; LAGANÀ, A. Recent developments in matrix solid-phase dispersion extraction. **Journal of chromatography A**, v. 1217, p. 2521-2532, 2010.

CAREY, A. M., LOMBI, E., DONNER, E., JONGE, M. D. DE, PUNSHON, T., JACKSON, B. P., GUERINOT, M. L., PRICE, A. H., MEHARG, A. A.; A review of recent developments in the speciation and location of arsenic and selenium in rice grain. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 402, p. 3275–3286, 2012.

CHEN, G.Y.T.; CHEN, W. SPE speciation of inorganic arsenic in rice followed by hydride-generation atomic fluorescence spectrometric quantification. **Talanta**, v. 119, p. 202-206, 2014.

CHOI, J. Y.; KHAN, N.; NHO, E. Y.; CHOI, H.; PARK, K. S.; KIM, K. S. Speciation of Arsenic in Rice by High-Performance Liquid Chromatography – Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometry. **Analytical Letters**, v. 19, p. 1-24, 2016.

CHU, Y. L.; JIANG, S. J. Speciation analysis of arsenic compounds in edible oil by ion chromatography–inductively coupled plasma mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, p. 5175–5179, 2011.

CLÉMENS, S.; MONPERRUS, M.; DONARD, O. F. X.; AMOUROUX, D.; GUÉRIN, T.; MERCURY speciation in seafood using isotope dilution analysis: A review. **Talanta**, v. 89, p. 12–20, 2012.

COSTA, B. E. D. S.; COELHO, N. M. M.; COELHO, L.M. Determination of arsenic species in rice samples using CPE and ETAAS. **Food Chemistry**, v. 178, p. 89-95, 2015.

CUI, J.; XIAO, Y.; DAI, L.; ZHAO, X.; WANG, Y. Speciation of Organoarsenic Species in Food of Animal Origin Using Accelerated Solvent Extraction (ASE) with Determination by HPLC-Hydride Generation-Atomic Fluorescence Spectrometry (HG-AFS). **Food Analytical Methods**, v. 6, p. 370–379, 2013.

DA ROSA, F. C.; NUNES, M. A. G.; DUARTE, F. A. ; FLORES, É. M. de M. ; HANZEL, F. B. ; VAZ, A. S. ; POZEBON, D. ; DRESSLER, V. L. Arsenic speciation analysis in rice milk using LC-ICP-MS. **Food Chemistry**, v. 2, p. 100-128, 2019.

DUARTE, FABIO A.; SOARES, BRUNO M. ; VIEIRA, AUGUSTO A. ; PEREIRA, EDERSON R. ; MACIEL, JULIANA V. ; CALDAS, SERGIANE S. ; Primel, Ednei G. Assessment of Modified Matrix Solid-Phase Dispersion as Sample Preparation for the Determination of CH<sub>3</sub>Hg<sup>+</sup> and Hg<sup>2+</sup> in Fish. *Analytical Chemistry* (Washington), v. 85, p. 5015-5022, 2013.

MALINOWSKI, M. H. M. ; MACIEL, P. K.; CHAVES, M. DE J. S.; BARBOSA, S. C.; PRIMEL, E. G. ; DUARTE, F. A.; SOARES, B. M. Vortex-assisted matrix solid-phase dispersion: An eco-friendly alternative for the determination of halogens in edible seaweed. **TALANTA**, v. 244, p. 123395, 2022.

DRESSLER, V. L., ANTES, F. G., MOREIRA, C. M., POZEBON, D., DUARTE, F. A. As, Hg, I, Sb, Se and Sn speciation in body fluids and biological tissues using hyphenated-ICP-MS techniques: A review. **International Journal of Mass Spectrometry**, v. 307, p. 149-162, 2011.

DUARTE, F. A.; SOARES, B. M.; V., AUGUSTO A.; P., EDERSON R; MACIEL, J. V.; CALDAS, S. S.; PRIMEL, E. G. Assessment of Modified Matrix Solid-Phase Dispersion as Sample Preparation for the Determination of CH<sub>3</sub>Hg<sup>+</sup> and Hg<sup>2+</sup> in Fish. **Analytical Chemistry**, v. 85, p. 5015-5022, 2013.

DUFAILY, V.; NICOLAS, M.; RICHOSZ-PAYOT, J.; POITEVIN, E. Validation of a Method for Arsenic Speciation in Food by Ion Chromatography-Inductively Coupled Plasma/Mass Spectrometry After Ultrasonic-Assisted Enzymatic Extraction. **Journal of AOAC International**, v. 94, p. 3-12, 2011.

ELLINGSON, D.; ZYWICKI, R.; SULLIVAN, D. Analytical Method for the Determination of Various Arsenic Species in Rice, Rice Food Products, Apple Juice, and Other Juices by Ion Chromatography-Inductively Coupled Plasma/Mass Spectrometry. **Journal of AOAC International**, v. 97, p. 6-15, 2014.

ESCRIBANO, S. T.; LEAL, M.; VÉLEZ, D.; MONTORO, R. Total and Inorganic Arsenic Concentrations in Rice Sold in Spain, Effect of Cooking, and Risk Assessments. **Environmental Science Technology**, v. 42, p. 3867–3872, 2008.

FLOREZ, M.R., RUIZ, E. G., FERNANDEZ, E. B., VANHAECKE, F., RESANO, M.; A simple dilute-and-shoot approach for the determination of ultra-trace levels of arsenic in biological fluids via ICP-MS using CH<sub>3</sub>F/He as a reaction gas. **Journal Analytical Atomic Spectrometry**, v. 31, p. 245-251, 2016.

FOSTER, S.; MAHER, W.; KRIKOWA, F.; APTE, S. A microwave-assisted sequential extraction of water and dilute acid soluble arsenic species from marine plant and animal tissues. **Talanta**, v. 71, p. 537–549, 2007.

FOSTER, S.; MAHER, W.; KRIKOWA, F. Changes in proportions of arsenic species within an Ecklonia radiata food chain. **Environmental Science Technology**, v. 5, p. 176–183, 2008.

GARCÍA, I. L.; BRICENO, M.; CÓRDOBA, M. H.; Non-chromatographic screening procedure for arsenic speciation analysis in fish-based baby foods by using electrothermal atomic absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 699, p. 11–17, 2011.

GRIJALBA, A. C.; QUINTAS, P. Y.; FIORENTINI, E. F.; WUILLOUD, R. G.; Usefulness of ionic liquids as mobile phase modifiers in HPLC-CV-AFS for mercury speciation analysis in food. **Journal Analytical Atomic Spectrometry**, v. 33, p. 822-829, 2018.

GULERI, S.; TIWARI, A. Algae and Ageing. In: *Microalgae Biotechnology for Food, Health and High Value Products*. **Springer Singapore**, v. 1, p. 267-293, 2020.

HART, D. J.; FAIRWEATHER-TAIT, S. J.; BROADLEY, M. R.; DICKINSON, S. J.; FOOT, I.; KNOTT, P.; MCGRATH, S. P.; MOWAT, H.; NORMAN, K.; SCOTT, P. R.; STROUD, J. L.; TUCKER, M.; WHITE, P. J.; ZHAO, F. J.; HURST, R.; Selenium concentration and speciation in biofortified flflour and bread: Retention of selenium during grain biofortification, processing and production of Se-enriched food. **Food Chemistry**, v. 126, p. 1771–1778, 2011.

HERTZOG, G. I.; SOARES, K. L., CALDAS, S. S.; PRIMEL, E. G. Study of vortexassisted MSPD and LC-MS/MS using alternative solid supports for pharmaceutical extraction from marketed fish. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 407, p. 4793-4803, 2015.

HIRATA, S.; TOSHIMITSU, H.; AIHARA, M.; Determination of arsenic species in marine samples by HPLC-ICP-MS. **Analytical Science**, v. 22, p. 39-43, 2006.

HIRATA, S.; TOSHIMITSU, H.; Determination of arsenic species and arsenosugars in marine samples by HPLC–ICP–MS. **Analytical Bioanal Chemical**, v. 383, p. 454–460, 2005.

HSIEH, Y. J., JIANG, S. J.; Application of HPLC-ICP-MS and HPLC-ESI-MS procedures for arsenic speciation in seaweeds, *J. Agric. Food Chemistry*, v. 60, p. 2083-2089, 2012.

HSIUNG, T.; HUANG, C. Quantitation of Toxic Arsenic Species and Arsenobetaine in Pacific Oysters Using an Off-line Process with Hydride Generation–Atomic Absorption Spectroscopy. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v. 54, p. 2470–2478, 2006.

HUANG, J. H.; ILGEN, G.; FECHER, P.; Quantitative chemical extraction for arsenic speciation in rice grains. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 25, p. 749–904, 2010.

ICH Harmonised Guideline. **Validation of analytical procedures: Q2 (R2)**, v. 4, p. 1-39, 2022.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL-INMETRO. **DOQ-CGCRE-008**, Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos. Revisão 8: abril de 2020.

JOUIBARIA, T. A.; FATTAHIB, N. Speciation of inorganic arsenic species and total inorganic arsenic in rice using microwave-assisted dispersive liquid–liquid micro-extraction and electrothermal atomic absorption spectrometry. **Food Additives & Contaminants: Part A**, v. 32, p. 1140–1147, 2015.

JUSKELIS, R.; LI, W.; NELSON, J.; CAPPOZZO, J. C.; Arsenic Speciation in Rice Cereals for Infants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, p. 10670–10676, 2013.

- KARADJOVA, I. B.; PETROV, P. K.; SERAFIMOVSKI, I.; STAFILOV, T.; TSALEV, D. L. Arsenic in marine tissues — The challenging problems to electrothermal and hydride generation atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 62, p. 258–268, 2007.
- KARON, K.; LAPKOWSHI, M.; Carbazole electrochemistry: a short review. *J Solid State Electrochemical*, v. 2, p. 1-10, 2015.
- KEMPAHANUMAKKAGARI, S., DEEP, A., KIM, K. H., KAILASA, S. K., YOON, H. O., Nanomaterial-based electrochemical sensors for arsenic - A review, *Biosens. Bioelectron*, v. 95, p. 106-116, 2017.
- KRUG, J. F. Métodos de preparo de amostras: Fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar. 1ª Edição rev. 2010.
- LADEIRA, A. C. Q., PANIAGO, E. B., DUARTE, H. A., CALDEIRA, C. L.; Especificação Química e sua Importância nos Processos de Extração Mineral e de Remediação Ambiental, v. 8, p. 18-23, 2014.
- LIN, H. T.; CHEN, S.; SHEN, C.; CHU, C. Arsenic Speciation in Fish on the Market. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 16, p. 70-75, 2008.
- LIU, L. H., HE, B., YUN, Z. J., SUN, J., JIANG, G.B.; Speciation analysis of arsenic compounds by capillary electrophoresis on-line coupled with inductively coupled plasma mass spectrometry using a novel interface. **Journal Chromatography A**, v. 1, p. 227-233, 2013.
- LIU, Q.; LU, X.; PENG, H.; POPOWICH, A.; TAO, J.; UPPAL, J. S.; YAN, X.; BOE, D.; LE, X. C.; Speciation of arsenic - A review of phenylarsenicals and related arsenic metabolites. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 2, p. 1-12, 2017.
- LORENZANA, R. M., YEOW, A. Y., COLMAN, J. T., CHAPPELL, L. L., CHOUDHURY, H.; Arsenic in Seafood: Speciation Issues for Human Health Risk Assessment. **Human and Ecological Risk Assessment**, v. 15, p. 185–200, 2009.
- MAHER, W. A. et al. Measurement of arsenic species in environmental, biological fluids and food samples by HPLC-ICPMS and HPLC-HG-AFS. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 30, p. 2129-2183, 2015.
- MAHER, W., KRIKOWA, F., ELLWOOD, M. J., RABER, G., FOSTER, S.; Measurement of arsenic species in environmental, biological fluids and food samples by HPLC-ICPMS and HPLC-HG-AFS. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 5, p. 1-114, 2015.
- MAHER, W.A., ELLWOOD, M.J., KRIKOWA, F., RABER, G., FOSTER, S.; Measurement of arsenic species in environmental, biological fluids and food samples by HPLC-ICPMS and HPLC-HG-AFS, **Journal Analytical Atomic Spectrometry**, v. 30, p. 2129-2183, 2015.
- MAR, J. L. G.; REYES, L. H.; RAHMAN, G. M. M.; KINGSTON, H. M. S. Simultaneous Extraction of Arsenic and Selenium Species From Rice Products by Microwave-Assisted Enzymatic Extraction and Analysis by Ion Chromatography-Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v. 57, p. 3005–3013, 2009.

- MEHARG, A. A.; LOMBI, E.; WILLIAMS, P. N.; SCHECKEL, K. G.; FELDMANN, J.; RAAB, A.; ZHU, Y.; ISLAM, R. Speciation and Localization of Arsenic in White and Brown Rice Grains. **Environmental Science Technology**, v. 42, p. 1051–1057, 2008.
- MIRANDES, T. L.; CALDERÓN, J.; SÁNCHEZ, J. F. L.; CENTRICH, F.; RUBIO, R.; A fully validated method for the determination of arsenic species in rice and infant cereal products. **Pure Apply Chemistry**, v. 84, p. 225–238, 2012.
- MIRANDES, T. L.; CHANCHO, M. J. R.; BARBERO, M.; RUBIO, R.; SANCHEZ, J. F. L.; Determination of Water-Soluble Arsenic Compounds in Commercial Edible Seaweed by LC-ICPMS. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 12963–12968, 2011.
- MIYASHITA, S.; SHIMOYA, M.; KAMIDATE, Y.; KUROIWA, T.; SHIKINO, O.; FUJIWARA, S.; FRANCESCONI, K. A.; KAISE, T.; Rapid determination of arsenic species in freshwater organisms from the arsenic-rich Hayakawa River in Japan using HPLC-ICP-MS. **Chemosphere**, v. 75, p. 1065–1073, 2009.
- MOREDA-PINEIRO, J.; ALONSO-RODRI, E.; LÓPEZ-MAHI, P.; MUNIATEGUILORENZO, S.; PRADA-RODRI, D.; ROMARIS-HORTAS, V.; MIGUEZ-FRAMIL, M.; MOREDA-PINEIRO, A.; BERMEJO-BARRERA, P. Matrix solid-phase dispersion of organic compounds and its feasibility for extracting inorganic and organometallic compounds. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 28, p. 110-116, 2008.
- MOURA, R. R.; CALDAS, S.S.; FERNANDES, C. L. F.; PENTEADO, J. O.; MUCCILLO-BAISCH, A. L.; PRIMEL, E. G.; SILVA JUNIOR, F. M. R. Vortex-assisted matrix solid phase dispersion method for the determination of multiclass pesticides in earthworm. **Exatas Online**, v. 12, p. 75-91, 2021.
- MULLER, A. L. H. et al. Study and determination of elemental impurities by ICP-MS in active pharmaceutical ingredients using single reaction chamber digestion in compliance with USP requirements. **Talanta**, v. 136, p. 161-169, 2015.
- NAGAOKA, M. H.; NISHIMURA, T.; MATSUDA, R.; MAITANI, T. Evaluation of a Nitric Acid-based Partial-digestion Method for Selective Determination of Inorganic Arsenic in Rice. **Journal Food Hyg. Society Japan**, v. 2, p. 49-57, 2008.
- NAKAMURA, Y.; NARUKAWA, T.; YOSHINAGA, J. Cancer Risk to Japanese Population from the Consumption of Inorganic Arsenic in Cooked Hijiki. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 2536-2540, 2008.
- NAM, S.; CHENG, J.; MINDAK, W. R.; CAPAR, S. G. Preliminary Results of Extraction, Separation and Quantitation of Arsenic Species in Food and Dietary Supplements by HPLC-ICP-MS. **Arsenic Species in Food and Dietary Supplements**, v. 27, p. 903-908, 2006.
- NARUKAWA, T.; IWAI, T.; CHIBA, K. Determination of Inorganic Arsenic in Grape Products Using HPLC-ICP-MS. **Analytical Sciences**, v. 34, p. 687-691, 2018.
- NARUKAWA, T.; HIOKI, A.; CHIBA, K.; Speciation and Monitoring Test for Inorganic Arsenic in White Rice Flour. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 1122–1127, 2012.

NARUKAWA, T.; INAGAKI, K.; KUROIWA, T.; CHIBA, K.; The extraction and speciation of arsenic in rice flour by HPLC-ICP-MS. **Talanta**, v. 77, p. 427–432, 2008.

NARUKAWA, T.; SUZUKI, T.; INAGAKI, K.; HIOKI, A. Extraction techniques for arsenic species in rice flour and their speciation by HPLC-ICP-MS. **Talanta**, v. 130, p. 213–220, 2014.

NEARING, M. M., KOCH, I., REIMER, K. J.; Complementary arsenic speciation methods: A review. **Spectroc. Acta, Part B**, v. 99, p. 150–162, 2014.

NINH, T. D.; NAGASHIMA, Y.; SHIOMI, K. Quantification of seven arsenic compounds in seafood products by liquid chromatography/electrospray ionization-single quadrupole mass spectrometry (LC/ESI-MS). **Food Additives and Contaminants**, v. 23, p. 1299–1307, 2006.

PASTOR, A. J. S.; MITRA, K.; SARKHEL, S.; HOBBS, M.; BURLO, F.; GROOT, W. T. de.; BARRACHINA, A. A. C.; Arsenic Speciation in Food and Estimation of the Dietary Intake of Inorganic Arsenic in a Rural Village of West Bengal, India. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 56, p. 9469–9474, 2008.

PEREIRA, L. Characterization of Bioactive Components in Edible Algae. 2020.

PÉTURSDÓTTIR, A. H.; BLAGDEN, J.; GUNNARSSON, K.; RAAB, A.; STENGEL, D.; FELDMANN, J.; GUNNLAUGSDÓTTIR, H. Arsenolipids are not uniformly distributed within two brown macroalgal species *Saccharina latissima* and *Alaria esculenta*. **Analytical and Bionalytical Chemistry**, v. 411, p. 4973–4985, 2019.

PICAZO, S. M.; BURLÓ, F.; BARRACHINA, A. A. C.; Arsenic speciation in rice-based food for adults with celiac disease. **Food Additives & Contaminants: Part A**, v. 31, p. 1358–1366, 2014.

PIÑEIRO, A. M.; VÁZQUEZ, E. P.; HERBELLO, P. H.; BARRERA, P. B.; PIÑEIRO, J. M.; RODRÍGUEZ, E. A.; LORENZO, S. M.; MAHÍA, P. L.; RODRÍGUEZ, D. P.; Matrix Solid-Phase Dispersion as a Sample Pretreatment for the Speciation of Arsenic in Seafood Products. **Analytical Chemistry**, v. 80, p. 9272–9278, 2008.

PIÑEIRO, J. M.; RODRÍGUEZ, E. A.; ROMARÍS-HORTAS, V.; MOREDA-PIÑEIRO, A.; LÓPEZ-MAHÍA, P.; MUNIATEGUI-LORENZO, S.; PRADA-RODRÍGUEZ, D.; BERMEJO-BARRERA, P. Assessment of the bioavailability of toxic and non-toxic arsenic species in seafood samples. **Food Chemistry**, v. 130, p. 552–560, 2012.

POPP, M.; HANN, S.; KOELLENSPERGER, G. Environmental application of elemental speciation analysis based on liquid or gas chromatography hyphenated to inductively coupled plasma mass spectrometry - A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 668, p. 114–129, 2010.

RAAB, A., FECHER, P., FELDMANN, J.; Determination of Arsenic in Algae – Results of an Interlaboratory Trial: Determination of Arsenic Species in the Water-Soluble Fraction. **Microchemical Acta**, v. 151, p. 153–166, 2005.

RAAB, A.; NEWCOMBE, C.; PITTON, D.; EBEL, R.; FELDMANN, J. Comprehensive Analysis of Lipophilic Arsenic Species in a Brown Alga (*Saccharina latissima*). **Analytical Chemistry**, v. 85, p. 2817–2824, 2013.

REIS, V. A. T.; DUARTE, A. C.; Analytical methodologies for arsenic speciation in macroalgae: a critical review. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 3, p. 1-41, 2018.

REYES, M. N. M.; CERVERA, M. L.; CAMPOS, R.C.; GUARDIA, M. Determination of arsenite, arsenate, monomethylarsonic acid and dimethylarsinic acid in cereals by hydride generation atomic fluorescence spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 62, p. 1078–1082, 2007.

REZENDE, H. C., ALMEIDA, I. L. S., COELHO, L. M., COELHO, N. M. M., MARQUES, T. L.; Non-chromatographic methods focused on speciation of arsenic and selenium in food and environmental samples. **Sample Preparation**, v. 2, p. 31–48, 2014.

RODAS, D. S.; GÓMEZ-ARIZA, J. L.; OLIVEIRA, V. Development of a rapid extraction procedure for speciation of arsenic in chicken meat. **Analytical Bioanalytical Chemistry**, v. 385, p. 1172–1177, 2006.

ROMBALDI, C.; DE OLIVEIRA ARIAS, J. L.; HERTZOG, G. I.; CALDAS, S. S.; VIEIRA, J. P.; PRIMEL, E. G. New environmentally friendly MSPD solid support based on golden mussel shell: characterization and application for extraction of organic contaminants from mussel tissue. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 407, p. 4805-4814, 2015.

ROSEMOND, S. DE; XIE, Q.; LIBER, K. Arsenic concentration and speciation in five freshwater fish species from Back Bay near Yellowknife, NT, CANADA. **Environ Monit Assess**, v. 147, p. 199–210, 2008.

RUTTENS, A.; BLANPAIN, A.C.; TEMMERMAN, L. DE; WAEGENEERS, N. Arsenic speciation in food in Belgium Part 1: Fish, molluscs and crustaceans. **Journal of Geochemical Exploration**, v. 121, p. 55–61, 2012.

RUTTENS, A.; CHEYNS, K.; BLANPAIN, A. C.; TEMMERMAN, L. DE.; WAEGENEERS, N.; Arsenic speciation in food in Belgium. Part 2: Cereals and cereal products. **Food and Chemical Toxicology**, v. 118, p. 32–41, 2018.

SALGADO, S.; QUIJANO, M. A.; BONILLA, M. M. Arsenic speciation in edible alga samples by microwave-assisted extraction and high-performance liquid chromatography coupled to atomic fluorescence spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 714, p. 38-46, 2012.

SANTOS, C. M. M. et al. Evaluation of microwave and ultrasound extraction procedures for arsenic speciation in bivalve mollusks by liquid chromatography-inductively coupled plasma-mass spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B - Atomic Spectroscopy**, v. 86, p. 108-114, 2013.

SANTOS, E. O. D.; GONZALES, J. O.; ORES, J. C.; MARUBE, L. C.; CALDAS, S. S.; FURLONG, E. B.; PRIMEL, E. G. Sand as a solid support in ultrasound-assisted MSPD: A simple, green and low-cost method for multiresidue pesticide determination in fruits and vegetables. **Food chemistry**, v. 297, p. 124926, 2019.

SANZ, E.; MUÑOZ-OLIVAS, R.; CÁMARA, C.; KUMAR, M.; AHAMED, S. Arsenic speciation in rice, straw, soil, hair and nails samples from the arsenic-affected areas of Middle and Lower Ganga plain. **Journal of Environmental Science and Health, Part A**, v. 42, p. 1695–1705, 2007.

SARTAL, C. G.; BARCIELA-ALONSO, M. DEL C.; BERMEJO-BARRERA, P.; Effect of the cooking procedure on the arsenic speciation in the bioavailable (dialyzable) fraction from seaweed. **Microchemical Journal**, v. 105, p. 65–71, 2012.

SCHAEFFER, R.; SOEROES, C.; IPOLYI, I.; FODOR, P.; THOMAIDIS, N. S. Determination of arsenic species in seafood samples from the Aegean Sea by liquid chromatography–(photo-oxidation)–hydride generation–atomic fluorescence spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 547, p. 109–118, 2005.

SEBASTIA, N.; SOLER, C.; SORIANO, J. M.; MANES, J. Occurrence of aflatoxins in tignuts and their beverages commercialized in Spain. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 58, p. 2609-2612, 2010.

SEEGER, T. da S.; Avaliação das condições de extração para posterior especificação de arsênio em alimentos por LC-ICP-MS. **Tese**. Universidade Federal de Santa Maria. 2019.

SERAFIMOVSKI, I. et al. Determination of total arsenic and toxicologically relevant arsenic species in fish by using electrothermal and hydride generation atomic absorption spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 83, p. 55-60, 2006.

SLOTH, J. J.; LARSEN, E. H.; JULSHAMN, K. Survey of Inorganic Arsenic in Marine Animals and Marine Certified Reference Materials by Anion Exchange High-Performance Liquid Chromatography–Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v. 53, p. 6011–6018, 2005.

SLOTH, J. J.; JULSHAMN, K. Survey of Total and Inorganic Arsenic Content in Blue Mussels (*Mytilus edulis* L.) from Norwegian Fiords: Revelation of Unusual High Levels of Inorganic Arsenic. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v. 56, p. 1269–1273, 2008.

SOEROES, C.; GOESSLER, W.; FRANCESCONI, K. A.; KIENZL, N.; SCHAEFFER, R.; FODOR, P.; KUEHNELT, D.; Arsenic Speciation in Farmed Hungarian Freshwater Fish. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 9238–9243, 2005.

STANLEY, M. E. **Fundamentals of environmental chemistry**. Boca Raton: CRC Press LLC, p. 993-998. 2001.

SUÑER, M. A. et al. Application of column switching in high-performance liquid chromatography with on-line thermo-oxidation and detection by HG-AAS and HG-AFS for the analysis of organoarsenical species in seafood samples. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 16, p. 390-397, 2001.

TAYLOR, V. F.; JACKSON, B. P.; Concentrations and speciation of arsenic in New England seaweed species harvested for food and agriculture. **Chemosphere**, v. 163, p. 6-13, 2016.

TAI, C. Y.; JIANG, S. J.; Microwave-assisted Extraction and Ion Chromatography Dynamic Reaction Cell Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry for the Speciation Analysis of Arsenic and Selenium in Cereals. **Analytical Sciences**, v. 27, p. 271-276, 2011.

TU, X.; CHEN, W. A review on the recent progress in matrix solid phase dispersion. **Molecules**, v. 23, p. 2767, 2018.

VIEIRA, A. A.; CALDAS, S. S.; ESCARRONE, A. L. V.; ARIAS, J. L. D. O.; PRIMEL, E. G. Environmentally friendly procedure based on VA-MSPD for the determination of booster biocides in fish tissue. **Food chemistry**, v. 242, p. 475-480, 2018.

VIEIRA, A. A.; CALDAS, S. S.; ESCARRONE, A. L. V.; ARIAS, J. L. D. O.; PRIMEL, E. G. Environmentally friendly procedure based on VA-MSPD for the determination of booster biocides in fish tissue. **Food chemistry**, v. 242, p. 475-480, 2018.

WANG, R. Y. et al. Speciation analysis of arsenic and selenium compounds in environmental and biological samples by ion chromatography-inductively coupled plasma dynamic reaction cell mass spectrometer. **Analytica Chimica Acta**, v. 590, p. 239-244, 2007.

WANG, Y.; LI, Y.; LV, K.; CHEN, X.; YU, X. A simple and sensitive non-chromatographic method for quantification of four arsenic species in rice by hydride generation-atomic fluorescence spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 149, p. 197-202, 2018.

WIANOWSKA, D.; GIL, M. New insights into the application of MSPD in various fields of analytical chemistry. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 112, p. 29-51, 2019.

WILLIAMS, P. N.; PRICE, A. H.; RAAB, A.; HOSSAIN, S. A.; FELDMANN, J.; MEHARG, A. A.; Variation in Arsenic Speciation and Concentration in Paddy Rice Related to Dietary Exposure. **Environempal Society Technology**, v. 39, p. 5531-5540, 2005.

WOLLE, M. M.; CONKLIN, S. Speciation analysis of arsenic in seafood and seaweed: Part I—evaluation and optimization of methods. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 410, p. 5675–5687, 2018.

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

YU, H.; LI, C.; TIAN, Y.; JIANG, X. Recent developments in determination and speciation of arsenic in environmental and biological samples by atomic spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 152, p. 104-150, 2020.

ZHU, Y. G.; SUN, G. X.; LEI, M.; TENG, M.; LIU, Y. X.; CHEN, N. C.; WANG, L. H.; CAREY, A. M.; DEACON, C.; RAAB, A.; MEHARG, A. A.; WILLIAMS, P. N. High Percentage Inorganic Arsenic Content of Mining Impacted and Nonimpacted Chinese Rice. **Environ. Sci. Technology**, v. 42, p. 5008–5013, 2008.