

RESSALVA

Atendendo solicitação da autora,
o texto completo desta tese será
disponibilizado somente a partir
de 12/07/2026



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de São José do Rio Preto

Nathalia dos Santos Ferreira

**Biotransformação do arsênio inorgânico (As-i) em Tilápias do Nilo
(*Oreochromis niloticus*) e avaliação de seu antagonismo na presença de
selênio**

São José do Rio Preto - SP

2024

Nathalia dos Santos Ferreira

**Biotransformação do arsênio inorgânico (As-i) em Tilápias do Nilo
(*Oreochromis niloticus*) e avaliação de seu antagonismo na presença de
selênio**

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Química, junto ao Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: FAPESP – Proc. 2018/25002-0

Orientador: Prof. Dr. Mario Henrique Gonzalez

Co-orientadores: Profa. Dra. Ana Rita de Araújo Nogueira

Prof. Dr. Danilo Grünig Humberto da Silva

São José do Rio Preto - SP

2024

F383b Ferreira, Nathalia dos Santos
Biotransformação do arsênio inorgânico (As-i) em Tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e avaliação de seu antagonismo na presença de selênio / Nathalia dos Santos
Ferreira. -- São José do Rio Preto, 2024
111 p. : il., tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências
Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto
Orientador: Mario Henrique Gonzalez
Coorientadora: Ana Rita de Araújo Nogueira

1. Bioacumulação. 2. Toxicidade aguda. 3. Arsênio inorgânico. 4. LC-ICP-MS. 5.
Estresse oxidativo e biomarcadores. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Universidade Estadual Paulista (UNESP),
Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto. Dados fornecidos pelo autor(a).

Nathalia dos Santos Ferreira

**Biotransformação do arsênio inorgânico (As-i) em Tilápias do Nilo
(*Oreochromis niloticus*) e avaliação de seu antagonismo na presença de
selênio**

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Química, junto ao Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: FAPESP – Proc. 2018/25002-0

Comissão Examinadora

Prof. Dr. Mario Henrique Gonzalez
UNESP – São José do Rio Preto
Orientador

Prof. Dr. Anderson Rodrigo Moraes de Oliveira
USP – Ribeirão Preto

Profa. Dra. Cassiana Seimi Nomura
USP – São Paulo

Profa. Dra. Mirian Cristina dos Santos
UNESP – Araraquara

Profa. Dra. Wladiana Oliveira Matos
UFC – Fortaleza

São José do Rio Preto - SP

12 de julho de 2024

*Dedico esse trabalho à minha mãe Dorcelina,
por todo incentivo, carinho e amor incondicional.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter iluminado meu caminho, me dado força e sabedoria para superar todas as dificuldades e realizar essa etapa tão importante da minha vida.

A minha mãe Dorcelina e minha avó Luzia, por todo amor e apoio incondicional. Obrigada por sempre estarem ao meu lado, apesar de todas as dificuldades, me incentivando e confiando em tudo que faço.

Ao meu pai Jurandir, que de onde estiver, sei que estará sempre me guiando e protegendo de todo mal.

Ao meu noivo Pedro, por todo amor, apoio e paciência em todos momentos.

A todos meus familiares e amigos, pelo carinho e compreensão.

Ao Prof. Dr. Mario Henrique Gonzalez, pela orientação, confiança, amizade e compreensão. Obrigada por todo apoio e por sempre acreditar em mim, até mesmo quando pensei que não seria possível finalizar nosso trabalho.

A Profa. Dra. Ana Rita de Araújo Nogueira, pela coorientação e por possibilitar realizar as análises de especiação em seu laboratório na Embrapa. Um agradecimento especial ao seu aluno, Ívero, pela ajuda em bancada e auxílio durante as análises no LC-ICP-MS e tratamento dos dados.

Ao Prof. Dr. Danilo Grünig Humberto da Silva, pela coorientação, atenção e total disponibilidade em contribuir com o trabalho com seus conhecimentos. Um agradecimento especial as suas alunas, Victoria e Flaviene, pela ajuda nas análises bioquímicas, tratamento estatístico dos dados e escrita do artigo.

A todos do Grupo de Inovação em Química Analítica Verde (GIQAV) pela troca de experiências, ajuda, amizade e momentos de descontração.

A Embrapa Pecuária Sudeste pela infraestrutura concedida para que fosse possível realizar as análises de especiação por LC-ICP-MS e pelo estágio.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão da bolsa de pesquisa, sob o processo 2018/25002-0. Agradeço também ao financiamento dos projetos sob processos 2014/50945-4, 2015/08873-9, 2017/18531-3, 2018/26145-9, 2019/22113-8 e 2021/14759-5.

Ao Instituto Nacional de Tecnologias Alternativas para Detecção, Avaliação Toxicológica e Remoção de Micropoluentes e Radioativos (INCT- DATREM) por apoiar nosso trabalho.

A UNESP/IBILCE por conceder o espaço físico e ensino público de qualidade para o progresso dos meus estudos.

Ao programa de Pós Graduação em Química da UNESP São José do Rio Preto pela oportunidade e a todos professores que compartilharam seus conhecimentos, e que dessa forma contribuíram para a minha formação acadêmica.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, os meus sinceros agradecimentos!

“O período de maior ganho em conhecimento e experiência é o período mais difícil da vida de alguém.”

(Dalai Lama)

RESUMO

A especiação de arsênio (As) em peixes tem sido amplamente investigada, no entanto a bioacumulação e a biotransformação do As inorgânico em diferentes tecidos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) não são totalmente compreendidas. O presente estudo teve como objetivo investigar a bioacumulação do As inorgânico em tilápias do Nilo, bem como avaliar a distribuição das principais espécies de arsênio no fígado, estômago, brânquias e músculo após ensaios toxicológicos controlados com As(III) e (V) em concentrações de 5,0 e 10,0 mg L⁻¹ durante períodos de exposição de 1 e 7 dias. As determinações de As total foram realizadas por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS). Para ambas as exposições (As(III) e As(V)), os níveis de As total após 7 dias de exposição foram maiores no fígado e estômago e menores nas brânquias e músculo. No geral, a tilápia do Nilo exposta ao As(III) apresentou concentrações mais elevadas de As após os tratamentos, em comparação à exposição ao As(V). A especiação química de As nos tecidos estudados foram realizadas por cromatografia líquida acoplada a ICP-MS (LC-ICP-MS), e revelou que a biotransformação do As pode ter acontecido pela redução do As(V) para As(III), metilação para ácido monometilarsênico (MMA) e ácido dimetilarsênico (DMA), e subsequente conversão para arsenobetaína (AsB), que é a espécie não tóxica e a forma predominante de arsênio. As interações e efeitos antagônicos do selênio (Se) nos processos de bioacumulação foram testados pela exposição combinada do As inorgânico juntamente com selênio tetravalente (Se(IV)). Os resultados indicaram uma redução de 4-6 vezes da toxicidade do arsênio na tilápia do Nilo. Também foi foco do nosso trabalho investigar a atividade das enzimas antioxidantes catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), glutathione reductase (GR), além da enzima de biotransformação glutathione S-transferase (GST), bem como os níveis de oxidação de biomoléculas por meio da quantificação das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) nos tecidos estudados. Como resultado, foi observado que o tratamento com ambas as espécies de As causaram um padrão de inibição enzimática dos antioxidantes estudados, com a diminuição das atividades antioxidantes da maioria das enzimas estudadas nos diferentes tecidos da tilápia do Nilo.

Palavras-chave: Bioacumulação; toxicidade aguda; arsênio inorgânico; LC-ICP-MS; estresse oxidativo; biomarcadores.

ABSTRACT

The speciation of arsenic in fish has been widely investigated, but bioaccumulation and biotransformation of inorganic As in different tissues of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) are not fully understood. The present study aimed to investigate the bioaccumulation of As in Nile tilapia, as well as to evaluate the distribution of the main arsenic species in liver, stomach, gill, and muscle, after controlled exposures to As(III) and As(V) at concentrations of 5.0 and 10.0 mg L⁻¹ during periods of 1 and 7 days. Total As determinations were performed by inductively coupled plasma mass spectroscopy (ICP-MS). For both exposures (As(III) and As(V)), the total As levels after 7-day exposure were highest in the liver and stomach and lowest in the gills and muscle. Overall, Nile tilapia exposed to As(III) showed higher As concentrations after treatments compared to exposure to As(V). Chemical speciation of As in the studied tissues was performed by liquid chromatography coupled with ICP-MS (LC-ICP-MS), and revealed that the biotransformation of As may have occurred through the reduction of As(V) to As(III), methylation to monomethylarsonic acid (MMA) and dimethylarsinic acid (DMA), and subsequent conversion to arsenobetaine (AsB), which is the nontoxic species and the predominant form of arsenic. The interactions and antagonistic effects of selenium (Se) on bioaccumulation processes were tested by the combined exposure of inorganic As together with tetravalent selenium (Se(IV)). The results indicated a 4-6-fold reduction in arsenic toxicity in Nile tilapia. Our work also focused on investigating the activity of the antioxidant enzymes catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), glutathione reductase (GR), and the biotransformation enzyme glutathione S-transferase (GST), as well as the oxidation levels of biomolecules by quantifying thiobarbituric acid reactive species (TBARS) in the tissues studied. As a result, it was observed that treatment with both As species caused a pattern of enzymatic inhibition of the studied antioxidants, with the decrease in the antioxidant activities of most of the enzymes studied in the different tissues of Nile tilapia.

Keywords: Bioaccumulation; acute toxicity; inorganic arsenic; LC-ICP-MS; oxidative stress; biomarkers.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1 - Principais espécies de arsênio..... | 23 |
| Figura 2 - Similaridade química e estrutural entre o As(V) e o íon fosfato | 24 |
| Figura 3 - Vias toxicológicas de entrada do As(III) e (V) nas células e mecanismo de biotransformação | 26 |
| Figura 4 - Sistemas antioxidantes enzimáticos: superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx) e glutathione redutase (GR) | 37 |
| Figura 5 - Tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) | 44 |
| Figura 6 - Tanque de piscicultura da UNESP, São José do Rio Preto | 44 |
| Figura 7 - Tanques de aclimação | 45 |
| Figura 8 - Esquema do ensaio toxicológico com As(III) e (V) para avaliar a bioacumulação e biotransformação | 47 |
| Figura 9 - Coleta dos tecidos de interesse: fígado, estômago, brânquias e músculo..... | 48 |
| Figura 10 - Ensaio toxicológico de bioacumulação e biotransformação com As(III) e (V)..... | 53 |
| Figura 11 - Bioacumulação de As ($\mu\text{g g}^{-1}$) nos diferentes tecidos de <i>O. niloticus</i> após exposição à As(III) | 57 |
| Figura 12 - Bioacumulação de As ($\mu\text{g g}^{-1}$) nos diferentes tecidos de <i>O. niloticus</i> após exposição à As(V) | 59 |
| Figura 13 - Separação cromatográfica das espécies de As usando 10 mmol L^{-1} $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ diluída em 1% (v v ⁻¹) de metanol como fase móvel no método LC-ICP-MS | 62 |
| Figura 14 - Cromatogramas para (a) DOLT-5, (b) DORM-4, (c) TORT-3, e (d) amostra real | 63 |

| | |
|--|----|
| Figura 15 - Frações de massa de AsB ($\mu\text{g g}^{-1}$) em diferentes tecidos após exposição das tilápias do Nilo ao As(III)..... | 69 |
| Figura 16 - Frações de massa de AsB ($\mu\text{g g}^{-1}$) em diferentes tecidos após exposição das tilápias do Nilo ao As(V)..... | 70 |
| Figura 17 - Tanque de piscicultura do Instituto da Pesca, São José do Rio Preto..... | 73 |
| Figura 18 - Esquema do ensaio de toxicidade aguda..... | 74 |
| Figura 19 - Ensaio de toxicidade aguda | 77 |
| Figura 20 - Gráfico para a LC_{50} para o selênio tetravalente | 78 |
| Figura 21 - Tendência de recuperação versus vazão de He utilizada nas análises de ^{78}Se para o CRM TORT-2..... | 81 |
| Figura 22 – Atividade das enzimas CAT, GPx, GST, GR e níveis de TBARS no fígado de <i>O. niloticus</i> expostos por 7 dias ao As(III) e (V)..... | 91 |
| Figura 23 - Atividade das enzimas CAT, GPx, GST, GR e níveis de TBARS no estômago de <i>O. niloticus</i> expostos por 7 dias ao As(III) e (V)..... | 93 |
| Figura 24 - Atividade das enzimas CAT, GPx, GST, GR e níveis de TBARS nas brânquias de <i>O. niloticus</i> expostos por 7 dias ao As(III) e (V)..... | 94 |
| Figura 25 – Atividade das enzimas CAT, GPx, GST, GR e níveis de TBARS no músculo de <i>O. niloticus</i> expostos por 7 dias ao As(III) e (V)..... | 95 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1 - Parâmetros operacionais e instrumentais do ICP-MS | 50 |
| Tabela 2 - Parâmetros operacionais e instrumentais do LC-ICP-MS..... | 52 |
| Tabela 3 - Peso e tamanho das tilápias utilizadas nos ensaios toxicológicos de bioacumulação e biotransformação | 54 |
| Tabela 4 - Valores certificados e determinados pelo método proposto de determinação de As em CRMs de pescados por ICP-MS | 55 |
| Tabela 5 - Concentração de As total ($\mu\text{g g}^{-1}$) nos diferentes tecidos estudados durante o ensaio de bioacumulação/biotransformação com As(III) ($n = 3, \pm \text{SD}$)..... | 56 |
| Tabela 6 - Concentração de As total ($\mu\text{g g}^{-1}$) nos diferentes tecidos estudados durante o ensaio de bioacumulação/biotransformação com As(V) ($n = 3, \pm \text{SD}$)..... | 58 |
| Tabela 7 - Fração de massa de As total e espécies de As ($\mu\text{g g}^{-1}$) nos materiais de referência certificados (DOLT-5, DORM-4 e TORT-3) ($n = 3; \pm \text{SD}$)..... | 62 |
| Tabela 8 - Frações de massa das espécies de As ($\mu\text{g g}^{-1}$) em diferentes tecidos após exposição de tilápia do Nilo ao As(III) ($n = 3, \pm \text{SD}$) | 65 |
| Tabela 9 - Frações de massa das espécies de As ($\mu\text{g g}^{-1}$) em diferentes tecidos após exposição de tilápia do Nilo ao As(V) ($n = 3, \pm \text{SD}$) | 66 |
| Tabela 10 - Porcentagem de mortes cumulativas a cada 24 horas | 77 |
| Tabela 11 - Principais interferentes dos isótopos de selênio | 79 |
| Tabela 12 - Equações matemáticas de correção para o Se | 80 |
| Tabela 13 - Concentração de As total ($\mu\text{g g}^{-1}$) nos diferentes tecidos estudados após exposição a As(III) e Se(IV) ($n = 3, \pm \text{SD}$) | 83 |
| Tabela 14 - Concentração de Se ($\mu\text{g g}^{-1}$) nos diferentes tecidos estudados após exposição a As(III) e Se(IV) ($n = 3, \pm \text{SD}$) | 84 |

| | |
|--|----|
| Tabela 15 - Concentração de As total ($\mu\text{g g}^{-1}$) nos diferentes tecidos estudados após exposição a As(V) e Se(IV) ($n = 3, \pm \text{SD}$)..... | 85 |
| Tabela 16 - Concentração de Se ($\mu\text{g g}^{-1}$) nos diferentes tecidos estudados após exposição a As(V) e Se(IV) ($n = 3, \pm \text{SD}$) | 85 |
| Tabela 17 - Efeitos causados pela exposição de 7 dias ao As(III) e As(V) em <i>O. niloticus</i> nos diferentes tecidos estudados..... | 96 |

LISTA DE ABREVIATURAS

ANOVA – Análise de variância

As – Arsênio

As(III) – Arsênio trivalente

As(V) – Arsênio pentavalente

As3MT – Arsênio metil-transferase

AsB – Arsenobetaína

AsC – Arsenocolina

As^{III}(GS)₃ – Arsenotriglutationa

ATP – Trifosfato de adenosina

BSA – Albumina de soro bovino

CAT – Catalase

CEUA – Comissão de Ética no Uso dos Animais

CRM – Material de referência certificado

DMA – Ácido dimetilarsínico

ERO – Espécies Reativas de Oxigênio

GLM – Modelo Linear Geral

GPx – Glutaciona peroxidase

GR – Glutaciona redutase

GSH – Glutaciona reduzida

GSSG – Glutaciona dissulfeto ou glutaciona oxidada

GST – Glutaciona S-transferase

H₂O₂ – Peróxido de hidrogênio

He – Hélio

HNO₃ – Ácido nítrico

IARC – Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer

ICP-MS – Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado

KED – Discriminação por energia cinética

LC₅₀ – Concentração letal média

LC-ICP-MS – Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado

LOD – Limite de detecção

LOQ – Limite de quantificação

MMA – Ácido monometilarsônico

MW-AD – Digestão ácida assistida por radiação micro-ondas

NADPH – Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reduzida

O₂•- – radical superóxido

OECD – Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico

OH• – radical hidroxila

R² – Coeficiente de determinação

ROO• – radical peroxil

SAM – S-adenosilmetionina

SD – Desvio padrão

Se – Selênio

Se(IV) – Selênio tetravalente

SEM – Erro padrão da média

TBARS – Espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico

TETRA – Íon tetrametilarsônico

TMAO – Óxido de trimetilarsina

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 17 |
| 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 19 |
| 2.1. Bioindicadores e contaminação aquática | 19 |
| 2.2. Toxicidade e metabolismo do arsênio | 21 |
| 2.3. Especiação química de As | 27 |
| 2.4. Interação entre arsênio e selênio | 32 |
| 2.5. Biomarcadores de contaminação aquática e estresse oxidativo | 35 |
| 3. OBJETIVOS | 41 |
| 3.1. Objetivos gerais | 41 |
| 3.2. Objetivos específicos | 41 |
| 3.2.1. Objetivos específicos da Seção 4 | 41 |
| 3.2.2. Objetivos específicos da Seção 5 | 42 |
| 3.2.3. Objetivos específicos da Seção 6 | 42 |
| 4. BIOACUMULAÇÃO E BIOTRANSFORMAÇÃO DE ARSÊNIO INORGÂNICO EM DIFERENTES TECIDOS DE TILÁPIA DO NILO | 43 |
| 4.1. Materiais e métodos | 43 |
| 4.1.1. Organismo-teste | 43 |
| 4.1.2. Delineamento experimental | 45 |
| 4.1.3. Preparo das amostras | 48 |
| 4.1.4. Determinação de As total por ICP-MS | 49 |
| 4.1.5. Extração das espécies de As | 50 |
| 4.1.6. Especiação de As por LC-ICP-MS | 51 |
| 4.2. Resultados e discussão | 53 |
| 4.2.1. Ensaio toxicológico de bioacumulação e biotransformação | 53 |
| 4.2.2. Bioacumulação do As | 54 |
| 4.2.3. Especiação de As por LC-ICP-MS | 61 |

| | | |
|-------------|--|------------|
| 4.2.4. | Biotransformação do As | 64 |
| 4.3. | Conclusão..... | 71 |
| 5. | AVALIAÇÃO DOS EFEITOS ANTAGÔNICOS DO ARSÊNIO INORGÂNICO NA PRESENÇA DE SELÊNIO..... | 72 |
| 5.1. | Materiais e métodos | 72 |
| 5.1.1. | Ensaio de toxicidade aguda com Se(IV)..... | 72 |
| 5.1.2. | Ensaio antagônico com As inorgânico e Se(IV)..... | 75 |
| 5.1.3. | Preparo das amostras | 75 |
| 5.1.4. | Determinação de As total por ICP-MS..... | 75 |
| 5.1.5. | Desenvolvimento e otimização do método para determinação de Se em ICP-MS | 76 |
| 5.2. | Resultados e discussão | 76 |
| 5.2.1. | Ensaio de toxicidade aguda com Se(IV)..... | 76 |
| 5.2.2. | Desenvolvimento e otimização do método para a determinação de Se em ICP-MS | 79 |
| 5.2.3. | Avaliação dos efeitos antagônicos entre As e Se | 83 |
| 5.3. | Conclusão..... | 86 |
| 6. | AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES DE CONTAMINAÇÃO EM TILÁPIAS DO NILO EXPOSTAS AO ARSÊNIO INORGÂNICO | 87 |
| 6.1. | Materiais e métodos | 87 |
| 6.1.1. | Análises bioquímicas | 87 |
| 6.1.2. | Análises estatísticas | 90 |
| 6.2. | Resultados e discussão | 90 |
| 6.3. | Conclusão..... | 99 |
| 7. | CONSIDERAÇÕES FINAIS..... | 100 |
| | REFERÊNCIAS | 102 |

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos tem se observado um crescimento elevado no mercado de pescados, uma vez que eles são tidos como alimentos mais saudáveis quando comparados com outros tipos de carnes, por oferecerem uma variedade de vitaminas e nutrientes, além de ser uma opção de proteína com baixo teor de gordura saturada (ERSOY; ÖZEREN, 2009; MORALES; HIGUCHI, 2018). Além da importância nutricional, os pescados desempenham uma função econômica e social, pois a sua cadeia produtiva gera empregos e renda para o pequeno e grande produtor (PEIXE BR, 2023).

A tilápia está no topo dos peixes mais cultivados e consumidos no Brasil, com destaque para a região Sul e Sudeste, em especial o noroeste do estado de São Paulo. De acordo com o Anuário 2023, publicado pela Associação Brasileira de Piscicultura (Peixe BR), a produção de tilápias atingiu 550.060 toneladas, o que representou 63,9 % de toda piscicultura brasileira em 2022. Com esse resultado, o Brasil consolidou-se na 4ª posição entre os maiores produtores de Tilápia no mundo, e por essa razão, ela foi escolhida como objeto de estudo do nosso trabalho.

Apesar dos inúmeros benefícios, os peixes podem estar expostos a inúmeros contaminantes inorgânicos tóxicos presentes nas águas, como por exemplo, o arsênio (As), desencadeando processos de bioacumulação e biotransformação nas espécies aquáticas por meio da cadeia alimentar. Na maioria das vezes a determinação total de um elemento não é suficiente para fornecer informações a respeito de sua toxicidade, biodisponibilidade e função bioquímica, sendo necessários estudos de fracionamento e/ou especiação química para complementação das informações. A determinação de arsênio em peixes é de grande interesse analítico devido à sua toxicidade, uma vez que os efeitos tóxicos do arsênio estão relacionados às suas formas químicas e seus estados de oxidação, sendo as formas inorgânicas As(III) e (V) mais tóxicas que as formas orgânicas (ácido monometilarsênico (MMA), ácido dimetilarsínico (DMA) e arsenobetaína (AsB)) (MARTINEZ et al., 2011; CHEN et al., 2020).

Este trabalho teve como objetivo principal a investigação da biotransformação do arsênio inorgânico para espécies metiladas em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), assim como a avaliação da distribuição das espécies de arsênio (As(III), As(V), MMA, DMA e AsB) nos tecidos de fígado, estômago, brânquias e músculo pela hifenação das

técnicas de cromatografia líquida e espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (LC-ICP-MS), após os ensaios ecotoxicológicos com tilápias do Nilo expostas à As(III) e (V) em concentrações definidas. Também foi avaliado os efeitos antagônicos que o selênio pode causar sobre a toxicidade do As inorgânico nas tilápias do Nilo durante o processo de bioacumulação.

Outro foco do nosso trabalho foi investigar a atividade de enzimas que estão envolvidas nos mecanismos de defesa antioxidante, biotransformação e desintoxicação do As nos tecidos envolvidos. As enzimas glutathione peroxidase (GPx), glutathione reductase (GR), catalase (CAT), glutathione S-transferase (GST) foram estudadas. Além disso, foi realizada a quantificação das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).

Esses resultados trarão dados adicionais e importantes sobre a distribuição das diferentes espécies químicas do As durante o processo de bioacumulação, informações bioquímicas que ocorrem durante o processo de bioacumulação/biotransformação e os efeitos antagônicos do selênio sobre a toxicidade do As. Assim esse trabalho vem para contemplar, dar continuidade e contribuir com maiores informações e dados sobre o ciclo do As inorgânico em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), linha de pesquisa estudada pelo nosso grupo de pesquisa (Grupo de Inovação em Química Analítica Verde – GIQAV).

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) mostrou-se eficiente na determinação de As em tecidos biológicos, apresentando boa exatidão e precisão. A exatidão do método foi confirmada por meio da análise dos CRMs, que apresentaram valores de recuperação na faixa de 81 a 107%. O uso do ICP-MS foi uma boa ferramenta analítica para a determinação de As total nas amostras de tecido de peixe, não apresentando problemas de interferência espectral na razão massa/carga 75, possibilitando o seu uso no modo padrão de funcionamento sem a necessidade de utilizar a célula de colisão (KED). De acordo com os ensaios toxicológicos com As(III) e (V) nas concentrações de 5 e 10 mg L⁻¹ e tempos de exposição de 1 e 7 dias, as maiores concentrações de As foram determinadas no fígado e estômago, seguidas das brânquias e músculo. As tilápias do Nilo expostas à As(III) apresentaram níveis mais altos de As em todos os tecidos estudados, em comparação com a exposição à As(V).

A combinação das técnicas de cromatografia líquida e espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (LC-ICP-MS) foi empregada no método otimizado para especiação de As nas amostras provenientes dos ensaios toxicológicos com As(III) e (V). O método proposto apresentou bons parâmetros analíticos, caracterizado por sua ótima sensibilidade, linearidade e seletividade. Como resultado dos ensaios de biotransformação, as espécies inorgânicas de As foram biotransformadas em formas orgânicas metiladas (MMA e DMA), com subsequente conversão para AsB, espécie predominante de As.

Os ensaios antagônicos entre as espécies inorgânicas de As e a espécie tetravalente de selênio (Se(IV)) com as tilápias do Nilo em concentrações pré-definidas (abaixo do valor da LC₅₀) avaliou o efeito protetor do selênio na toxicidade do As, e mostrou uma redução da toxicidade em 4-6 vezes, indicando que o Se atua como antagonista químico do As. A metodologia para a determinação do Se por ICP-MS para ser aplicada nas amostras provenientes dos ensaios antagônicos foi desenvolvida e otimizada, e as análises foram realizadas no modo KED com a vazão de 1,5 mL min⁻¹ de He para ⁸²Se, com o uso de equação de correção. O método apresentou boa exatidão e precisão, que foi confirmada pela análise dos CRMs, com valores de recuperação na faixa de 76 a 92%.

Por fim, pela avaliação dos biomarcadores de contaminação aquática, podemos concluir que os tecidos estudados apresentam diferentes padrões de resposta enzimática, sugerindo que o As pode induzir diferentes respostas em termos de estresse oxidativo e defesas antioxidantes.

REFERÊNCIAS

- ADEDARA, I. A. et al. Neuroprotective mechanisms of selenium against arsenic-induced behavioral impairments in rats. **NeuroToxicology**, v. 76, p. 99–110, 2020.
- ALAM, M. G. M. et al. A comparison of trace element concentrations in cultured and wild carp (*Cyprinus carpio*) of Lake Kasumigaura, Japan. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 53, n. 3, p. 348–354, 2002.
- ALLEVATO, E. et al. Mechanisms of arsenic assimilation by plants and countermeasures to attenuate its accumulation in crops other than rice. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 185, p. 109701, 2019.
- ALMEIDA, E. A. et al. Protective effect of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPx) against lipid peroxidation in mussels *Perna* exposed to different metals. **Marine Pollution Bulletin**, v. 49, n. 5-6, p. 386-392, 2004.
- ATENCIO, L. et al. Effects of dietary selenium on the oxidative stress and pathological changes in tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to a microcystin-producing cyanobacterial water bloom. **Toxicon**, v. 53, n. 2, p. 269–282, 2009.
- AZIZUR RAHMAN, M.; HASEGAWA, H.; PETER LIM, R. Bioaccumulation, biotransformation and trophic transfer of arsenic in the aquatic food chain. **Environmental Research**, v. 116, p. 118–135, 2012.
- BARBOSA, K. B. F. et al. Estresse oxidativo: Conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629-643, 2010.
- BARRA, C. M. et al. Especificação de arsênio - Uma revisão. **Química Nova**, v. 23, n. 1, p. 58–70, 2000.
- BATISTA, B. L. et al. Rapid sample preparation procedure for As speciation in food samples by LC-ICP-MS. **Food additives & contaminants. Part A, Chemistry, analysis, control, exposure & risk assessment**, v. 29, n. 5, p. 780–788, 2012.
- BELIAEFF, B.; BURGEOT, T. Integrated biomarker response: a useful tool for ecological risk assessment. **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 21, n. 6, p. 1316-1322, 2002.
- BERVOETS, L.; BLUST, R. Metal concentrations in water, sediment and gudgeon (*Gobio gobio*) from a pollution gradient: Relationship with fish condition factor. **Environmental Pollution**, v. 126, n. 1, p. 9–19, 2003.
- BEUTLER, E. A manual of biochemical methods. **New York**, p. 62-94, 1975.
- BHATTACHARYA, A.; BHATTACHARYA, S. Induction of oxidative stress by arsenic in *Clarias batrachus*: Involvement of peroxisomes. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 66, n. 2, p. 178–187, 2007.

BODNAR, M.; KONIECZKA, P.; NAMIESNIK, J. The Properties, Functions, and Use of Selenium Compounds in Living Organisms. **Journal of Environmental Science and Health, Part C**, v. 30, n. 3, p. 225–252, 2012.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, v. 72, p. 248–54, 1976.

CABEZAS-SANCHEZ, P. et al. Impact of selenium co-administration on methylmercury exposed eleutheroembryos and adult zebrafish (*Danio rerio*): Changes in bioaccumulation and gene expression. **Chemosphere**, v. 236, p. 124295, 2019.

CARLBERG, I. ; MANNERVIK, B. Glutathione reductase. In: **Methods in enzymology**. Academic press, 1985. p. 484-490.

CARVALHO, C. DOS S. et al. Biomarker responses as indication of contaminant effects in *Oreochromis niloticus*. **Chemosphere**, v. 89, n. 1, p. 60–69, 2012.

CERVEIRA, C. Especificação química de arsênio inorgânico em arroz por espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos. 2015.

CHALLENGER, F. Biological methylation. **Science progress**, v. 35, n. 139, p. 396–416, 1947.

CHEN, J. et al. Organoarsenical compounds: Occurrence, toxicology and biotransformation. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 50, n. 3, p. 217–243, 2020.

CHEN, L. et al. Effects of acclimation on arsenic bioaccumulation and biotransformation in freshwater medaka *Oryzias mekongensis* after chronic arsenic exposure. **Environmental Pollution**, v. 238, p. 17–25, 2018.

CHEN, Y. et al. A Prospective Study of Blood Selenium Levels and the Risk of Arsenic-Related Premalignant Skin Lesions. **Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention**, v. 16, n. 2, p. 207–213, 2007.

CHIARELLI, R.; ROCCHERI, M. C. Marine Invertebrates as Bioindicators of Heavy Metal Pollution. **Open Journal of Metal**, 2014.

CIARDULLO, S. et al. Arsenic speciation in freshwater fish: Focus on extraction and mass balance. **Talanta**, v. 81, n. 1–2, p. 213–221, 2010.

COLASSO, C. G.; FRANÇA, T. C. Agentes Vesicantes. **Revista Virtual de Química**, v. 6, n. 3, p. 724-743, 2014.

COVANTES-ROSALES, C. E. et al. Phagocytosis and ROS production as biomarkers in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) leukocytes by exposure to organophosphorus pesticides. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 84, p. 189–195, 2019.

CUI, D. et al. Biotransformation of dietary inorganic arsenic in a freshwater fish *Carassius auratus* and the unique association between arsenic dimethylation and oxidative damage. **Journal of Hazardous Materials**, v. 391, p. 122153, 2020.

CUNNINGHAM, P. A. et al. Assessment of metal contamination in Arabian/Persian Gulf fish: A review. **Marine Pollution Bulletin**, 2019.

DA SILVA, J. M. B.; BARRIO, R. J.; MOREIRA, J. C. Arsênico-saúde: uma relação que exige vigilância. **Vigilância Sanitária em Debate: Sociedade, Ciência & Tecnologia**, v. 2, n. 1, p. 57-63, 2014.

DE ALMEIDA, E. A.; DE OLIVEIRA RIBEIRO, C. A. (Ed.). **Pollution and fish health in tropical ecosystems**. CRC Press, 2014.

DI GIULIO, R. T. et al. Biochemical responses in aquatic animals: a review of determinants of oxidative stress. **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 8, n. 12, p. 1103-1123, 1989.

DOPP, E. et al. Uptake of inorganic and organic derivatives of arsenic associated with induced cytotoxic and genotoxic effects in Chinese hamster ovary (CHO) cells. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 201, n. 2, p. 156-165, 2004.

ERSOY, B.; ÖZEREN, A. The effect of cooking methods on mineral and vitamin contents of African catfish. **Food Chemistry**, 2009.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA). Scientific opinion on arsenic in food. EFSA panel on contaminants in the food chain (CONTAM). **EFSA Journal**, 7, 1351-1550, 2009.

FERREIRA, N. S. et al. Bioaccumulation and acute toxicity of As(III) and As(V) in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Chemosphere**, p. 349-354, 2019.

FOSTER, S. et al. A microwave-assisted sequential extraction of water and dilute acid soluble arsenic species from marine plant and animal tissues. **Talanta**, v. 71, n. 2, p. 537-549, 2007.

FOSTER, S.; MAHER, W. Arsenobetaine and thio-arsenic species in marine macroalgae and herbivorous animals: Accumulated through trophic transfer or produced in situ? **Journal of environmental sciences (China)**, v. 49, p. 131-139, 2016.

FOWLER, B. A. et al. Arsenic. In: NORDBERG, G. F. **Handbook on the toxicology of metals**. 3. ed., 2007. p. 367-406.

FRANCESCONI, K. A.; KUEHNELT, D. Determination of arsenic species: a critical review of methods and applications, 2000-2003. **Analyst**, v. 129, n. 5, p. 373-395, 2004.

FREITAS, R. et al. Looking for suitable biomarkers in benthic macroinvertebrates inhabiting coastal areas with low metal contamination: Comparison between the bivalve *Cerastoderma edule* and the Polychaete *Diopatra neapolitana*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 75, n. 1, p. 109-118, 1 jan. 2012.

GAILER, J. Chronic toxicity of AsIII in mammals: The role of (GS)₂AsSe⁻. **Biochimie**, v. 91, n. 10, p. 1268-1272, 2009.

GAILER, J. et al. A Metabolic Link between Arsenite and Selenite: The Seleno-bis(S - glutathionyl) Arsinium Ion. **Journal of the American Chemical Society**, v. 122, n. 19, p. 4637–4639, 2000.

GAO, Y. et al. Arsenic speciation in fish and shellfish from the North Sea (Southern bight) and Açu Port area (Brazil) and health risks related to seafood consumption. **Chemosphere**, v. 191, p. 89–96, 2018.

GAO, Y. et al. Arsenic speciation in fish and shellfish from the North Sea (Southern bight) and Açu Port area (Brazil) and health risks related to seafood consumption. **Chemosphere**, v. 191, p. 89–96, 2018.

GARBINSKI, L. D.; ROSEN, B. P.; CHEN, J. Pathways of arsenic uptake and efflux. **Environment International**, v. 126, p. 585-597, 2019.

GEORGE, G. N. et al. Observation of the seleno bis-(S-glutathionyl) arsinium anion in rat bile. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 158, p. 24–29, 2016.

GOBI, N. et al. Bioaccumulation, cytotoxicity and oxidative stress of the acute exposure selenium in *Oreochromis mossambicus*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 162, p. 147–159, 2018.

GOESSLER, W.; PAVKOV, M. Accurate quantification and transformation of arsenic compounds during wet ashing with nitric acid and microwave assisted heating. **The Analyst**, v. 128, n. 6, p. 796, 2003.

GONZALEZ, M. H. et al. Microwave-assisted digestion procedures for biological samples with diluted nitric acid: Identification of reaction products. **Talanta**, v. 79, n. 2, p. 396–401, 2009.

GREANI, S. et al. Effect of chronic arsenic exposure under environmental conditions on bioaccumulation, oxidative stress, and antioxidant enzymatic defenses in wild trout *Salmo trutta* (Pisces, Teleostei). **Ecotoxicology**, v. 26, n. 7, p. 930–941, 2017.

GRECH, A. et al. Toxicokinetic models and related tools in environmental risk assessment of chemicals. **Science of The Total Environment**, v. 578, p. 1–15, 2017.

HALLIWELL, Barry; GUTTERIDGE, John MC. **Free radicals in biology and medicine**. Oxford University Press, USA, 2015.

HAMED, M. et al. Assessment the effect of exposure to microplastics in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) early juvenile: I. blood biomarkers. **Chemosphere**, v. 228, p. 345–350, 2019.

HAUSER-DAVIS, R. A. et al. Acute selenium selenite exposure effects on oxidative stress biomarkers and essential metals and trace-elements in the model organism zebrafish (*Danio rerio*). **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 33, p. 68–72, 2016.

HEDAYATI, A. Fish biomarkers, suitable tools for water quality monitoring. **International Journal of Veterinary and Animal Research**, v. 1, n. 3, p. 63-69, 2018.

HOPPER, J. L.; PARKER, D. R. Plant availability of selenite and selenate as influenced by the competing ions phosphate and sulfate. **Plant and Soil**, v. 210, p. 199-207, 1999.

HUGHES, M. F. Arsenic toxicity and potential mechanisms of action. **Toxicology Letters**, v. 133, n. 1, p. 1-16, 2002.

IBOR, O. R. et al. Xenobiotic biotransformation, oxidative stress and obesogenic molecular biomarker responses in *Tilapia guineensis* from Eleyele Lake, Nigeria. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 169, p. 255–265, 2019.

JANASIK, B. et al. Relationship between arsenic and selenium in workers occupationally exposed to inorganic arsenic. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 42, p. 76–80, 2017.

JAVED, M. et al. Studies on biomarkers of oxidative stress and associated genotoxicity and histopathology in *Channa punctatus* from heavy metal polluted canal. **Chemosphere**, v. 151, p. 210–219, 2016.

JIA, Y. et al. Speciation analysis of six arsenic species in marketed shellfish: Extraction optimization and health risk assessment. **Food Chemistry**, v. 244, p. 311–316, 2018.

JUNCOS, R. et al. Interspecific differences in the bioaccumulation of arsenic of three Patagonian top predator fish: Organ distribution and arsenic speciation. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 2019.

KALANTZI, I. et al. Arsenic speciation in fish from Greek coastal areas. **Journal of Environmental Sciences**, v. 56, p. 300–312, 2017.

KAUSHAL, J. et al. Catalase enzyme: Application in bioremediation and food industry. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 16, p. 192-199, 2018.

KEEN, J. H.; HABIG, W. H.; JAKOBY, W. B. Mechanism for the several activities of the glutathione S-transferases. **Journal of Biological Chemistry**, v. 251, n. 20, p. 6183-6188, 1976.

KOMOROWICZ, I.; SAJNÓG, A.; BARAŁKIEWICZ, D. Total arsenic and arsenic species determination in freshwater fish by ICP-DRC-MS and HPLC/ICP-DRC-MS techniques. **Molecules**, v. 24, n. 3, p. 607,. 2019.

KOUBA, A. et al. Supplementation with sodium selenite and selenium-enriched microalgae biomass show varying effects on blood enzymes activities, antioxidant response, and accumulation in common barbel (*Barbus barbus*). **BioMed Research International**, v. 2014, 2014.

KUBITZA, F.; KUBITZA, L. M. M. Qualidade da água, sistemas de cultivo, planejamento da produção, manejo nutricional e alimentar e sanidade. **Panorama da Aquicultura**, v. 10, n. 59, p. 44-53, 2000.

KUMAR, N. et al. Impacts of acute toxicity of arsenic (III) alone and with high temperature on stress biomarkers, immunological status and cellular metabolism in fish. **Aquatic Toxicology**, v. 214, p. 105233,. 2019.

- KUMARI, B. et al. Toxicology of arsenic in fish and aquatic systems. **Environmental Chemistry Letters**, v. 15, n. 1, p. 43-64, 2017.
- LEE, J. W. et al. Significance of adverse outcome pathways in biomarker-based environmental risk assessment in aquatic organisms. **Journal of Environmental Sciences**, v. 35, p. 115-127, 2015.
- LIAO, C. M. et al. Acute toxicity and bioaccumulation of arsenic in tilapia (*Oreochromis mossambicus*) from a blackfoot disease area in Taiwan. **Environmental Toxicology**, v. 18, n. 4, p. 252–259, 2003.
- LIAO, Z. H. et al. Bioaccumulation of arsenic and immunotoxic effect in white shrimp (*Penaeus vannamei*) exposed to trivalent arsenic. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 122, p. 376–385, 2022.
- LOMARTIRE, S.; MARQUES, J. C.; GONÇALVES, A. M. M. Biomarkers based tools to assess environmental and chemical stressors in aquatic systems. **Ecological Indicators**, v. 122, p. 107207, 2021.
- ŁUCZYŃSKA, J.; PASZCZYK, B.; ŁUCZYŃSKI, M. J. Fish as a bioindicator of heavy metals pollution in aquatic ecosystem of Pluszne Lake, Poland, and risk assessment for consumer's health. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 153, p. 60–67, 2018.
- MALIK, J. A. et al. Selenium antagonises the toxic effects of arsenic on mungbean (*Phaseolus aureus* Roxb.) plants by restricting its uptake and enhancing the antioxidative and detoxification mechanisms. **Environmental and Experimental Botany**, v. 77, p. 242–248, 2012.
- MANSOUR, S. A.; SIDKY, M. M. Ecotoxicological studies. 3. Heavy metals contaminating water and fish from Fayoum Governorate, Egypt. **Food Chemistry**, v. 78, n. 1, p. 15–22, 2002.
- MARTINEZ, V. D. et al. Arsenic exposure and the induction of human cancers. **Journal of Toxicology**, 2011.
- MATOS, W. O. **Desenvolvimento de procedimentos de digestão e especiação para amostras biológicas**. Tese de Doutorado. Tese (Doutorado em Ciências – Química Analítica) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP. 2011.
- MEERMANN, B.; NISCHWITZ, V. ICP-MS for the analysis at the nanoscale-a tutorial review. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 33, n. 9, p. 1432–1468, 2018.
- MELGAR, M. J.; NÚÑEZ, R.; GARCÍA, M. Á. Selenium intake from tuna in Galicia (Spain): Health risk assessment and protective role against exposure to mercury and inorganic arsenic. **Science of the Total Environment**, v. 694, 2019.
- MOLIN, M. et al. Arsenic in the human food chain, biotransformation and toxicology – Review focusing on seafood arsenic. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 31, p. 249–259, 2015.

- MONTEIRO, D. A.; RANTIN, F. T.; KALININ, A. L. The effects of selenium on oxidative stress biomarkers in the freshwater characid fish matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869) exposed to organophosphate insecticide Folisuper 600 BR® (methyl parathion). **Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology**, v. 149, n. 1, p. 40–49, 2009.
- MORALES, L. E.; HIGUCHI, A. Is fish worth more than meat? – How consumers' beliefs about health and nutrition affect their willingness to pay more for fish than meat. **Food Quality and Preference**, v. 65, p. 101–109, 2018.
- MOXON, A. L.; DUBOIS, K. P. The influence of arsenic and certain other elements on the toxicity of seleniferous grains: three figures. **The Journal of Nutrition**, v. 18, n. 5, p. 447-457, 1939.
- NANDI, D.; PATRA, R. C.; SWARUP, D. Effect of cysteine, methionine, ascorbic acid and thiamine on arsenic-induced oxidative stress and biochemical alterations in rats. **Toxicology**, v. 211, n. 1–2, p. 26–35, 2005.
- NAWROCKA, A. et al. Simple and reliable determination of total arsenic and its species in seafood by ICP-MS and HPLC-ICP-MS. **Food Chemistry**, v. 379, p. 132045, 2022.
- NOGUEIRA, L. et al. Biochemical biomarkers in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) after short-term exposure to diesel oil, pure biodiesel and biodiesel blends. **Chemosphere**, v. 85, n. 1, p. 97–105, 2011.
- NOGUEIRA, R. et al. Arsenic Speciation in Fish and Rice by HPLC-ICP-MS using Salt Gradient Elution. **J. Braz. Chem. Soc**, v. 29, n. 8, p. 1593–1600, 2018.
- NURCHI, V. M. et al. Arsenic Toxicity: Molecular Targets and Therapeutic Agents. **Biomolecules**, v. 10, n. 2, 2020.
- OHKI, A. et al. Studies on the accumulation and transformation of arsenic in freshwater organisms I. Accumulation, transformation and toxicity of arsenic compounds on the Japanese Medaka, *Oryzias latipes*. **Chemosphere**, v. 46, n. 2, p. 319-324, 2002.
- OLIVEIRA, L. H. B. et al. Evaluation of distribution and bioaccumulation of arsenic by ICP-MS in tilapia (*oreochromis niloticus*) cultivated in different environments. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 28, n. 12, p. 2455–2463, 2017.
- ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT (OECD). **Test 203: fish, acute toxicity test**. In: **OECD guidelines for the testing of chemicals**: section 2, 1992.
- OSAWA, C. C. et al. Teste de TBA aplicado a carnes e derivados: métodos tradicionais, modificados e alternativos. **Química Nova**, v. 28, p. 655-663, 2005.
- ÖZCAN, Ş.; BAKIRDERE, S.; ATAMAN, O. Y. Speciation of Arsenic in Fish by High-Performance Liquid Chromatography-Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry. **Analytical Letters**, v. 49, n. 15, p. 2501–2512, 2016.

PADMINI, E.; RANI, M. U. Evaluation of oxidative stress biomarkers in hepatocytes of grey mullet inhabiting natural and polluted estuaries. **Science of the Total Environment**, v. 407, n. 15, p. 4533-4541, 2009.

PEIXE BR. Anuário brasileiro da piscicultura Peixe BR 2023. Associação brasileira da piscicultura, 2023.

POKHREL, G. R. et al. Effect of selenium in soil on the toxicity and uptake of arsenic in rice plant. **Chemosphere**, v. 239, 2020.

POPOWICH, A.; ZHANG, Q.; LE, X. C. Arsenobetaine: the ongoing mystery. **National science review**, v. 3, n. 4, p. 451–458, 2016.

RADOMYSKI, A. et al. Bioaccumulation of trace metals in aquatic food web. A case study, Liaodong Bay, NE China. **Marine Pollution Bulletin**, v. 137, p. 555–565, 2018.

RAHMAN, M. A.; HASSLER, C. Is arsenic biotransformation a detoxification mechanism for microorganisms? **Aquatic toxicology (Amsterdam, Netherlands)**, v. 146, p. 212–219, 2014.

RAHMAN, M. M. et al. Selenium and zinc protections against metal-(loids)-induced toxicity and disease manifestations: A review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 168, p. 146-163, 2019.

RANZANI-PAIVA, M. J. T. et al. Acute toxicity of sodium selenite and sodium selenate to tilapia, *Oreochromis niloticus*, fingerlings. **Boletim do Instituto de Pesca São Paulo**, v. 37, n. 2, p. 191-197, 2011.

RATHER, I. A. et al. The sources of chemical contaminants in food and their health implications. **Frontiers in pharmacology**, v. 8, p. 830, 2017.

REIS, V. A. T.; DUARTE, A. C. Analytical methodologies for arsenic speciation in macroalgae: A critical review. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 102, p. 170–184, 2018.

ROY, N. K.; MURPHY, A.; COSTA, M. Arsenic Methyltransferase and Methylation of Inorganic Arsenic. **Biomolecules**, v. 10, n. 9, p. 1–13, 2020.

SÁ, Ívero Pita; DA SILVA, Carlos Alberto; NOGUEIRA, Ana Rita A. Chemical Speciation of Arsenic and Chromium in Seafood by LC-ICP-MS. **Braz. J. Anal. Chem.** **13**, p. 1-19, 2023.

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, 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.

- SCHENONE, N. F.; VACKOVA, L.; FERNANDEZ CIRELLI, A. Differential tissue accumulation of arsenic and heavy metals from diets in three edible fish species. **Aquaculture Nutrition**, v. 20, n. 4, p. 364-371, 2014.
- SCHLECHTRIEM, C.; FLIEDNER, A.; SCHÄFERS, C. Determination of lipid content in fish samples from bioaccumulation studies: contributions to the revision of guideline OECD 305. **Environmental Sciences Europe**, v. 24, n. 1, p. 1-7, 2012.
- SCHMIDT, L. et al. A feasible method for As speciation in several types of seafood by LC-ICP-MS/MS. **Food chemistry**, v. 255, p. 340–347, 2018.
- SHINKAI, Y. et al. Role of aquaporin 9 in cellular accumulation of arsenic and its cytotoxicity in primary mouse hepatocytes. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 237, n. 2, p. 232–236, 2009.
- SIES, H. et al. Increased biliary glutathione disulfide release in chronically ethanol-treated rats. **Febs Letters**, v. 103, n. 2, p. 287-290, 1979.
- SODHI, K. K. et al. Perspectives on arsenic toxicity, carcinogenicity and its systemic remediation strategies. **Environmental Technology and Innovation**, p. 100462, 2019.
- SONG, D. et al. Gut microbiota promote biotransformation and bioaccumulation of arsenic in tilapia. **Environmental pollution (Barking, Essex: 1987)**, v. 305, n. 119321, p. 119321, 2022.
- SQUADRONE, S. et al. Heavy metals distribution in muscle, liver, kidney and gill of European catfish (*Silurus glanis*) from Italian Rivers. **Chemosphere**, v. 90, n. 2, p. 358–365, 2013.
- SUN, H. (Ed.). **Biological chemistry of arsenic, antimony and bismuth**. John Wiley & Sons, 2010.
- SUN, Y.; LIU, G.; CAI, Y. Thiolated arsenicals in arsenic metabolism: Occurrence, formation, and biological implications. **Journal of Environmental Sciences**, v. 49, p. 59–73, 2016.
- TAWHEEL, A.; SHUHAIMI-OTHMAN, M.; AHMAD, A. K. Assessment of heavy metals in tilapia fish (*Oreochromis niloticus*) from the Langat River and Engineering Lake in Bangi, Malaysia, and evaluation of the health risk from tilapia consumption. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 93, p. 45–51, 2013.
- TEMPLETON, D. M. et al. Guidelines for terms related to chemical speciation and fractionation of elements: definitions, structural aspects, and methodological approaches (IUPAC recommendations 2000). **Pure and Applied Chemistry**, v. 72, n. 8, p. 1453-1470, 2000.
- TOPPO, S. et al. Catalytic mechanisms and specificities of glutathione peroxidases: Variations of a basic scheme. **BBA - General Subjects**, v. 1790, p. 1486–1500, 2009.
- TOUFEKTSIAN, M. C. et al. Effects of selenium deficiency on the response of cardiac tissue to ischemia and reperfusion. **Toxicology**, v. 148, n. 2–3, p. 125–32, 2000.

TSAI, J. W.; LIAO, C. M. A dose-based modeling approach for accumulation and toxicity of arsenic in tilapia *Oreochromis mossambicus*. **Environmental Toxicology**, v. 21, n. 1, p. 8–21, 2006.

VAN DER OOST, R.; BEYER, J.; VERMEULEN, N. P. E. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: A review. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 13, n. 2, p. 57-149, 2003.

VASKEN APOSHIAN, H. et al. A review of the enzymology of arsenic metabolism and a new potential role of hydrogen peroxide in the detoxication of the trivalent arsenic species. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 198, n. 3, p. 327–335, 2004.

VENTURA-LIMA, J. et al. Effects of different inorganic arsenic species in *Cyprinus carpio* (Cyprinidae) tissues after short-time exposure: Bioaccumulation, biotransformation and biological responses. **Environmental Pollution**, v. 157, n. 12, p. 3479-3484, 2009.

VENTURA-LIMA, J.; BOGO, M. R.; MONSERRAT, J. M. Arsenic toxicity in mammals and aquatic animals: A comparative biochemical approach. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 74, n. 3, p. 211–218, 2011.

VILLANUEVA, C.; KROSS, R. D. Antioxidant-induced stress. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, n. 2, p. 2091-2109, 2012.

WANG, J. et al. Effects of dietary Cu and Zn on the accumulation, oxidative stress and the expressions of immune-related genes in the livers of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Fish and Shellfish Immunology**, v. 100, p. 198–207, 2020.

YOSIM, A.; BAILEY, K.; FRY, R. C. Arsenic, the " King of Poisons," in: Food and Water. **American Scientist**, v. 103, n. 1, p. 34, 2015.

ZHANG, W. et al. Arsenic bioaccumulation and biotransformation in aquatic organisms. **Environment International**, v. 163, p. 107221, 2022.

ZHANG, W. et al. Biotransformation and detoxification of inorganic arsenic in Bombay oyster *Saccostrea cucullata*. **Aquatic Toxicology**, v. 158, p. 33–40, 2015.

ZHANG, W. et al. Physiologically based pharmacokinetic model for the biotransportation of arsenic in marine medaka (*Oryzias melastigma*). **Environmental science & technology**, v. 54, n. 12, p. 7485–7493, 2020.

ZHANG, W.; HUANG, L.; WANG, W. X. Arsenic bioaccumulation in a marine juvenile fish *Terapon jarbua*. **Aquatic Toxicology**, v. 105, n. 3-4, p. 582-588, 2011.