

ARSÊNIO E ARROZ: TOXICIDADE, METABOLISMO E SEGURANÇA ALIMENTAR

Juliana M. O. Souza^a, Maria F. H. Carneiro^a, Ana Carolina C. Paulelli^a, Denise Grotto^b, Ariano M. Magalhães Júnior^c, Fernando Barbosa Júnior^a e Bruno L. Batista^{a,d,*}

^aDepartamento de Análises Clínicas, Toxicológicas e Bromatológicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 14040-903 Ribeirão Preto – SP, Brasil

^bDepartamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade de Sorocaba, 18023-000 Sorocaba – SP, Brasil

^cEstação Experimental Terras Baixas - Campus Universitário, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) Clima Temperado, 96010-971 Pelotas – RS, Brasil

^dCentro de Ciências Naturais e Humanas, Universidade Federal do ABC, 09090-400 Santo André – SP, Brasil

Recebido em 03/06/2014; aceito em 19/08/2014; publicado na web em 08/10/2014

ARSENIC AND RICE: TOXICITY, METABOLISM, AND FOOD SAFETY. Arsenic is considered a semimetal, and its wide distribution in the Earth's crust in different chemical forms, including organic and inorganic species, has a great deal of influence on the mechanisms of toxicity. Exposure to arsenic can be either through occupational practice (use of pesticides) or by the consumption of water and food containing the element. Rice is considered a fundamental constituent of the basic diet of Brazilians and is usually cultivated in flooded conditions. Such a plantation system results in an increased amount of As in the soil and hence a greater accumulation of As in the plant, which is highlighted by the inorganic species' classification as highly toxic. Besides the use of mitigation techniques to reduce the toxicological risk, monitoring the concentration of As and its chemical species in rice and rice products is required through the establishment of legislation in the area. Thus, some world organizations are conducting improved research to determine and establish acceptable concentrations of As and its chemical species in rice, *e. g.*, in 2012, FDA researchers described a chemical speciation methodology for As in rice and rice products. Hence, the application of existing chemical speciation methods and the establishment of parameters for ensuring food security and exposure risk assessment deserve particular consideration.

Keywords: arsenic; rice; mitigation; chemical speciation; risk assessment.

INTRODUÇÃO

Aspectos toxicológicos do arsênio e suas fontes de exposição

O arsênio (As) é elemento químico de massa atômica 75, considerado tóxico e amplamente distribuído na biosfera,¹ podendo ser encontrado na atmosfera, na água, em solos, sedimentos e organismos.² É considerado um metaloide ou ametal, já que partilha características físico-químicas tanto de metais quanto de ametais.¹ O elemento pode se apresentar em formas químicas orgânicas, como o ácido monometilarsônico (MMA), ácido dimetilarsínico (DMA), arsenobetaina (AsB) e arsenocolina (AsC); e inorgânicas - reconhecidas mais tóxicas - formadas por íons arsenato (As⁵⁺) e arsenito (As³⁺).³ Na Tabela 1 estão descritas as espécies de As mais frequentemente relatadas na literatura, suas respectivas fórmulas e abreviaturas.

Compostos de As são facilmente absorvidos, tanto por via oral quanto pela inalação, e a extensão da absorção depende da solubilidade de cada composto.⁴ Em termos de As inorgânico (As-i), a absorção através do pulmão é estimada em 30-60%,⁵⁻⁷ e cerca de 95% do As trivalente ingerido é absorvido a partir do trato gastrointestinal.^{8,9} Alguns estudos mostram que a absorção de MMA e DMA via trato gastrointestinal corresponde a cerca de 75 a 85%,¹⁰⁻¹⁵ embora também possa ocorrer absorção de compostos orgânicos por via inalatória.¹⁶ Considerando a via dérmica, são raros os estudos mas sabe-se que a absorção pela pele tem sido subestimada.¹⁷ Recentemente, comprovou-se, por meio de um estudo *in vitro* com a utilização de pele humana, que a penetração e o acúmulo de As é fortemente dependente de sua espécie. Arseno-açúcares (AsSug) e DMA⁵⁺ apresentaram mínimo acúmulo, enquanto que As³⁺ e As⁵⁺ acumularam-se tanto na

epiderme quanto na derme.¹⁸ No entanto, segundo os autores, mais estudos são necessários a fim de obter-se resultados mais consistentes.

Uma vez na corrente sanguínea, 95 a 99% do As é distribuído aos eritrócitos, ligado principalmente à hemoglobina e em menor escala aos leucócitos e às proteínas do plasma. Decorridas cerca de 24 horas neste compartimento, o As é distribuído para a maioria dos tecidos.^{19,20} Compostos inorgânicos solúveis são distribuídos rapidamente para órgãos ou tecidos ricos em grupamentos sulfidrila como fígado, rins, baço e glândulas adrenais.²¹ Em razão da grande afinidade por ligação aos grupos sulfidrila, compostos de As podem ser detectados em altas concentrações no cabelo, unhas e pele de 2 a 4 semanas da exposição. Após 4 semanas, o As acumula-se nos ossos, coincidindo com a diminuição das concentrações no fígado e rins.^{19,20,22} Fei *et al.* constataram ocorrência de transferência transplacentária de As após exposição de mulheres por meio da água de beber (0,36 µg L⁻¹ para As total), podendo, portanto, afetar o desenvolvimento do feto.²³ Ainda, estudos sobre o efeito de valência do As evidenciaram que as concentrações de As nos rins, fígado, bile, cérebro, ossos, pele e sangue são de 2 a 25 vezes maiores para o As³⁺ do que para o As⁵⁺.^{24,25}

No metabolismo, o fígado atua principalmente convertendo o As-i a As orgânico, que é eficientemente excretado na urina.²⁶ A biometilação é fundamentada pela adição oxidativa de um grupamento metila na espécie trivalente de As.²⁷ Em geral, o As⁵⁺ é rapidamente reduzido pela enzima arsenoreductase a As³⁺, que é 60 vezes mais tóxico que o As⁵⁺.²⁸ O As³⁺ é metilado a metil-arsenato (MMA⁵⁺) e, sequencialmente, ao ácido dimetil-arsínico (DMA⁵⁺) pela enzima As-metil-transferase.²⁹

A principal via de excreção do As é a urinária. As proporções relativas de As³⁺, As⁵⁺, MMA e DMA na urina podem variar de acordo com condições da exposição, via de administração, dose, e espécies animais expostas.¹⁷ Em geral, após a exposição em longo

*e-mail: bruno.lemos@ufabc.edu.br

Tabela 1. Principais espécies de As relatadas na literatura, suas respectivas abreviaturas e fórmulas estruturais (Adaptado de Barra *et al.*)⁴

Composto	Abreviatura	Fórmula Estrutural
Arsina	AsH ₃	AsH ₃
Ácido Arsenioso	As ³⁺	
Ácido Arsênico	As ⁵⁺	
Ácido Dimetilarsínico	DMA ⁵⁺	
Ácido Monometilarsônico	MMA ⁵⁺	
Arsenobetaina	AsB	
Arsenocolina	AsC	
Arseno-açúcares	AsSug-	
Arsenolipídeos	AsLip	

prazo, o DMA é o metabólito em maior proporção (60-80%), seguido de menores concentrações de MMA (10-20%) e As-i (10-20%).^{28,30} Os compostos orgânicos AsB e AsC, encontrados em alimentos de origem marinha, não são biotransformados, sendo excretados inalterados na urina.³¹⁻³³

Em relação à toxicidade, os compostos inorgânicos de As são cerca de 100 vezes mais tóxicos do que as formas parcialmente metiladas (MMA⁵⁺ e DMA⁵⁺).³⁴ De acordo com Borba *et al.*, a ordem crescente de toxicidade dos compostos de As é: compostos orgânicos de As⁵⁺ < compostos orgânicos de As³⁺ < compostos inorgânicos de As⁵⁺ < compostos inorgânicos de As³⁺.³⁵

A exposição ao As vem sendo associada a muitas desordens cardiovasculares, dentre elas hipertensão e arritmias, disfunção vascular endotelial, indução do estresse oxidativo, indução da arterosclerose e regulação de alguns intermediadores químicos celulares como fator de necrose tumoral alfa, interleucina-1 e fator de crescimento endotelial que induz doenças cardiovasculares.³⁶ Comparações entre diferentes graus de exposição ao As (<5 µg L⁻¹ e 20-170 µg L⁻¹) mostraram que certas populações no Irã e Bangladesh apresentaram maiores incidências de hipertensão e diabetes.^{37,38} A exposição crônica ao As também pode resultar em conjuntivite, hiperqueratose, hiperpigmentação e gangrena nos membros.⁴ Espécies inorgânicas de As são consideradas carcinógenos humanos classe I, pois estão associadas

ao desenvolvimento de cânceres de pele, pulmão, bexiga e rim.³⁹ No entanto, os dados de toxicidade para as espécies orgânicas de As ainda são escassos, sendo observados mais efeitos na pele e no trato gastrointestinal decorrente de exposição pela via oral.¹⁷

Os mecanismos de toxicidade e carcinogenicidade são influenciados pela espécie química e pela biotransformação.⁴⁰ Por exemplo, compostos trivalentes de As são considerados tióis reativos e, desta forma, irão interagir com sítios de proteínas e enzimas alterando reações bioquímicas essenciais, estado redox das células. Já o As⁵⁺ é um desacoplador da fosforilação oxidativa na mitocôndria devido à semelhança com o fosfato inorgânico e, com isso, o substitui na formação do ATP (adenosina trifosfato).^{17,41} Além destes mecanismos, inúmeros outros têm sido identificados como dano oxidativo, alteração no estado de metilação do DNA e comprometimento do seu mecanismo de reparo, instabilidade genômica, apoptose, necrose e alteração nos mecanismos de regulação da proliferação celular.^{17,41,42}

Assim, é de grande relevância conhecer e minimizar as fontes de exposição ao As. Exemplos de fontes de exposição incluem fumaças e poeiras industriais (fundição) e produtos de uso agropecuário (inseticidas, fungicidas, herbicidas e outros), que estão mais relacionadas à questão ocupacional (fabricação e aplicação).⁴³ Considerando exposição ambiental, as principais fontes são água e alimentos contaminados.²⁶ Bangladesh é um exemplo muito conhecido da exposição ao As pelo consumo de água contaminada. Na tentativa de se reduzir casos de cólera, muitos poços artesanais foram perfurados no país, sem o conhecimento prévio da composição do solo, mais especificamente, da concentração de As, resultando na exposição de milhões de pessoas.⁴⁴

Os alimentos, por sua vez, podem ser fontes de exposição ao As já durante a produção caso se trate, por exemplo, de solo, água ou fitossanitário aplicado contendo compostos de As. Dentre os alimentos que reconhecidamente possuem As estão os peixes, crustáceos e outros frutos do mar que contêm, em geral, altas concentrações de AsB, AsC e AsSug.^{45,46} Em 1999, um estudo sobre a concentração de As em alimentos da cesta básica nos Estados Unidos chamou a atenção por revelar altas concentrações de As-i no arroz quando comparado a outros alimentos,⁴⁷ trazendo à luz da ciência inúmeros trabalhos envolvendo As e arroz relacionados a monitoramento, compreensão do metabolismo e mitigação dessa contaminação, uma vez que este cereal é grande importância na alimentação global.⁴⁸

Relação entre arsênio e arroz

O arroz cultivado e consumido na maior parte do mundo pertence à espécie *Oryza sativa* L., sendo considerada uma monocotiledônea da família das *Poaceae* (gramíneas).⁴⁸ A morfologia da planta é de fundamental importância para a compreensão da relação As e arroz.

A planta se caracteriza por colmos ocos, flores reduzidas de cor verde e aquênios especializados (cariopses) como frutos. A morfologia da planta pode ser descrita da seguinte forma (Figura 1): i) raízes: adventícias (produzidas a partir de nós inferiores dos colmos jovens) e fibrosas (possui muitas ramificações e pelos radiculares); ii) folhas: do colmo principal originam-se de 8 a 14 folhas, conforme o ciclo da cultivar onde a última folha em cada colmo, denomina-se folha-bandeira (comprimento, largura, ângulo de inserção, pubescência e cor das folhas variam com o genótipo); iii) caule: é composto por um colmo principal e um número variável de colmos primários e secundários, ou filhos e; iv) panículo: inflorescência particular desta planta onde se formam os grãos, sendo localizada sobre o último entrenó do caule e precedida pela folha-bandeira.⁴⁸

Da parte externa para a parte interna, a morfologia dos grãos segue a seguinte ordem: casca, pericarpo, tegumento, nucelo, aleurona, endosperma e embrião (Figura 1). Após a colheita os grãos

maduros podem sofrer diferentes tipos de beneficiamento. O arroz integral, ao contrário do arroz polido, é o grão que não sofreu o processo de polimento, ou seja, a retirada da parte que recobre o grão que vai do pericarpo até a aleurona (também chamado farelo). Já o arroz parboilizado (do inglês “partial boiled”) é aquele parcialmente cozido com a casca, onde o grão absorve nutrientes da casca como elementos químicos e vitaminas. Assim, por exemplo, o arroz pode ser parboilizado e depois descascado somente, gerando o arroz integral parboilizado; ou parboilizado, descascado e polido, gerando o arroz polido (branco) parboilizado; ou somente descascado, gerando o arroz integral; ou descascado e posteriormente polido, gerando o arroz polido branco comum.⁴⁸

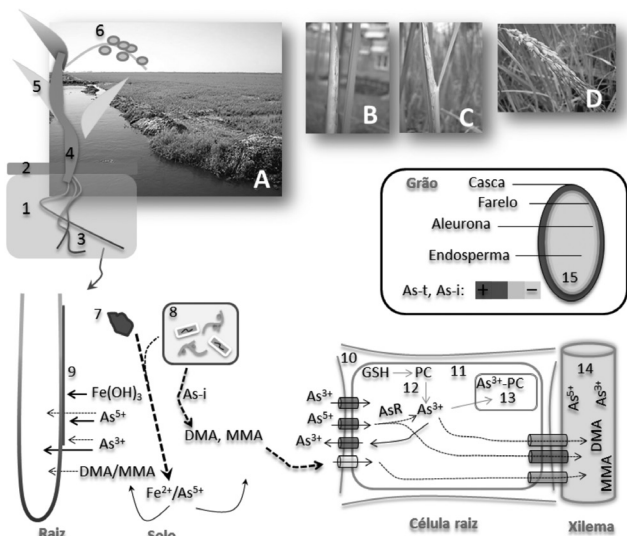


Figura 1. Etapas do desenvolvimento do arroz no cultivo irrigado e painel esquemático de variáveis envolvidas na relação arroz/As. A: taipa de cultura de arroz, em Rio Grande, RS, Brasil; B: floração do arroz (“embarrigamento”); C: aparecimento da folha bandeira; D: panículo com grãos maduros; 1: solo; 2: lâmina de água (irrigado); 3: raízes; 4: colmo; 5: folhas; 6: panículo; 7: óxido/hidróxido de Fe; 8: microrganismos de solo; 9: placa de Fe; 10: parede celular; 11: citoplasma; 12: ligação fitoquelatina (PC)-As³⁺/transporte; 13: vacúolo celular; 14: xilema; 15: diferentes partes do grão e influência na concentração de As. Seta tracejada: biotransformação ou menor intensidade de absorção; AsR: As redutase

Este alimento chega à mesa de mais de 50% da população mundial, sendo uma das maiores culturas, após o milho e o trigo.⁴⁸ No Brasil, maior produtor não asiático, o consumo chega a mais de 50 kg de arroz/habitante/ano sendo, portanto, um componente da cesta básica do brasileiro.⁴⁹ A produção agrícola é de mais de 13 milhões de toneladas de arroz por ano, sendo a região subtropical, principalmente os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina, responsável por mais de 80% da produção nacional, que é totalizada considerando a soma do arroz de terras altas (sequeiro, sem solo inundado com lâmina de água) e o arroz irrigado tradicional, com solo inundado (com lâmina de água).⁴⁸

Na literatura, muitos trabalhos relacionando As e arroz podem ser encontrados, especialmente onde os solos são naturalmente contaminados e/ou onde o consumo deste cereal é alto.⁵⁰⁻⁵⁴ Já outros estudos focam na compreensão da absorção, metabolismo, distribuição e efeitos do acúmulo de As nas plantas de arroz.⁵⁵⁻⁶³

O arroz, diferente de outros cereais, é cultivado, geralmente, em solos inundados (cultivo irrigado), onde o excesso de água leva a uma maior mobilização do As (especialmente As-i) e, conseqüentemente, a um aumento no acúmulo pela planta, principalmente nos

grãos. O As³⁺, espécie mais tóxica encontrada em alimentos, tem alta solubilidade em água, o que aumenta sua mobilidade no solo, sendo eficientemente absorvido pelas raízes, chegando aos grãos e, portanto, introduzido na alimentação.^{64,65} Por estes motivos, estudos de especiação química de As em grãos são de suma importância, pois a concentração de As total não é o melhor parâmetro para se avaliar o risco do consumo de arroz, uma vez que os grãos podem conter alta concentração de As total, porém desse total, baixas concentrações das espécies mais tóxicas (As-i).⁶⁶

Com relação à absorção das diferentes espécies de As pelas raízes do arroz, o DMA e MMA são absorvidos mais lentamente que o As³⁺ e o As⁵⁺, porém são transportados mais eficientemente no xilema e floema da planta.^{57,58,64,67,68} Neste sentido, Batista *et al.* demonstraram, por meio de estudos de especiação de As, o aumento nas concentrações de DMA e MMA em grãos de diferentes cultivares de arroz em oposição ao As-i.⁷³ A absorção de ambas as espécies, especialmente MMA, é sensível ao pH do meio, ocorrendo diminuição com o aumento do pH de 4,5 a 6,5.⁸³ Também sugere-se que as moléculas de MMA e DMA não dissociadas são as principais espécies absorvidas pelas raízes do arroz por meio de transportadores de silicato (canais aquaporinas Lsi1) bastante eficientes. Além deste mecanismo, há uma possibilidade pouco conhecida de absorção de MMA e DMA na forma dissociada.⁸³

Geralmente nas formas O=As-OH e O=As-(OH)₃, As³⁺ e As⁵⁺ são absorvidos por transportadores de silicato e fosfato, respectivamente, devido às similaridades na dimensão da molécula (Figura 1).^{57,58,64,67,68} Os canais aquaporinas Lsi1 correspondem aos principais transportadores de influxo de ácido silícico em raízes de arroz e, conseqüentemente, de As³⁺.⁸³

Os transportadores de membrana de fosfato não são capazes de diferenciar entre fosfato e As⁵⁺, assim, após entrar nas células da raiz, o As⁵⁺ é prontamente convertido em As³⁺ por ação de uma As redutase (AsR). O As³⁺, então, pode sofrer efluxo para o meio através de canais Lsi1 ou transportados para o xilema por meio dos canais Lsi2. Esse mecanismo é o mais importante no controle do efluxo de silício e As³⁺ das raízes, sendo essencial para reduzir o acúmulo de As.^{63,64} Além deste efluxo, a planta possui alguns sistemas de detoxificação nas raízes como a conversão As³⁺→As⁵⁺,⁶⁹ a complexação/sequestro de As³⁺ por grupos de compostos contendo tiol, conhecidos como fitoquelatinas (PCs), e transporte/armazenamento nos vacúolos das células da raiz.⁷⁰⁻⁷³ Esse sequestro ocorre principalmente com As-i (As³⁺), uma vez que altas concentrações de espécies metiladas foram encontradas em grãos sugerindo que, apesar de serem mais lentamente absorvidas, essas espécies orgânicas não são aprisionadas nas raízes, sendo, portanto, lentamente e constantemente absorvidas, transportadas e acumuladas nos grãos (Figura 1).⁷³ A produção das PCs pode ser induzida pela exposição da planta ao arsênio.⁷³ Sua molécula é estruturalmente relacionada à glutatona (GSH) e, portanto, sua produção é dependente da disponibilidade de enxofre e de fatores genéticos da planta.^{136,138}

Em se tratando da biometilação de As na planta, evidências da ocorrência do processo em menores proporções são relatadas, sugerindo-se também a possibilidade de metilação mediada por microrganismos previamente a absorção das espécies pela planta.¹³⁶

Com relação à toxicodinâmica do As no arroz, este liga-se a grupos sulfidríla na planta, ação que leva ao acúmulo do elemento causando o desacoplamento do fosfato da adenosina tri-fosfato e peroxidação lipídica, com geração de radicais livres. Este processo causa reduções na germinação, crescimento e desenvolvimento de raízes e da parte aérea, e, finalmente, decréscimo na produtividade da cultura.^{62,74-77}

Devido à importância do arroz na dieta do brasileiro, esforços vêm sendo realizados no sentido de avaliar as concentrações de As

e suas espécies no arroz comercializado no Brasil, além de estudos de toxicocinética e biorremediação relacionados a As e arroz.^{52-54,73} Em algumas amostras brasileiras foram encontradas concentrações de As maiores que 300 ng g⁻¹, valor este estabelecido para grãos de arroz pela consulta pública realizada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Além disso, foram evidentes as diferenças nas concentrações de As de acordo com o tipo de processamento do arroz (branco, branco parboilizado, integral, integral parboilizado, parboilizado orgânico e branco orgânico).^{53,78}

Considerando a concentração média de As total nas amostras de arroz do Brasil e o consumo de arroz por habitante, a ingestão diária de As total por um indivíduo de 70 kg é de 20,85 µg dia⁻¹. Para o As-i essa ingestão chega a 11,2 µg dia⁻¹.⁵³ Estima-se que a ingestão de As através do consumo de arroz por um brasileiro, durante 70 anos de sua vida, seja de 556,3 mg de As,⁵³ um valor maior que a ingestão de As pelo consumo de água de 10 µg de As L⁻¹, que corresponde à concentração limite para As preconizada pelo Ministério da Saúde e Organização Mundial da Saúde.⁷⁹

Portanto, assim como evidenciado em outros países, no Brasil o arroz representa uma fonte de exposição significativa ao As principalmente às formas mais tóxicas (As³⁺ e As⁵⁺), que correspondem a cerca de 50% do total de As no arroz.^{17,80} Por este motivo, o desenvolvimento de estudos para compreender e minimizar, ou ainda remediar a contaminação do arroz, é altamente relevante.

Monitoramento: estudos de especiação química

De acordo com a *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC), a análise de especiação é definida como um processo de identificação e/ou quantificação de uma ou mais espécies químicas em uma mesma amostra, e especiação química de um elemento é definido como a distribuição de um elemento entre espécies químicas definidas em um sistema.⁸¹

Para o desenvolvimento de um método de especiação química de As é imprescindível manter a estabilidade das espécies químicas, principalmente quando se deseja diferenciar as espécies inorgânicas. A garantia da estabilidade é fundamental, pois procedimentos utilizados para a conservação, tratamento e análises das amostras podem resultar em conversão das espécies como a demetilação.⁸² Quando procedimentos de extração das espécies químicas são realizados, é importante garantir também que os solventes não interfiram na análise e que haja eficiência de extração. Esta eficiência pode ser avaliada pela comparação entre a concentração de As total determinada na amostra e a soma da concentração de cada espécie química identificada e quantificada.⁸³

O preparo de amostras sólidas geralmente inclui procedimentos como trituração, liofilização, moagem, tamização e extração com a utilização de inúmeros solventes. Alguns trabalhos descrevem o preparo de amostras de arroz para a determinação da concentração de As

total utilizando adição de ácido nítrico (HNO₃),^{84,85} HNO₃ e peróxido de hidrogênio (H₂O₂)^{53,65,86-89} ou mistura de HNO₃, ácido perclórico (HClO₄) e ácido fluorídrico (HF),⁹⁰ seguidas de aquecimento assistida por micro-ondas. Outros métodos utilizam adição de HNO₃ seguida de pré-digestão com repouso *overnight* da amostra em meio ácido, e posterior aquecimento a 120°C.^{50,80,91,92} Nota-se que, em geral, os métodos aplicados na extração das espécies utilizam ácidos em baixas concentrações e aquecimento brando (~100 °C).

Como descrito na Tabela 2, várias técnicas analíticas podem ser utilizadas para a determinação da concentração de As total. Entretanto, elas apresentam diferenças em alguns parâmetros que são significativos quando se deseja escolher uma técnica com sensibilidade adequada. Considerando a importância de se trabalhar com melhores limites de detecção, a espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) e a espectroscopia de fluorescência atômica com geração de hidretos (HG-AFS) são as técnicas mais adequadas para a quantificação de As.⁸³

Em se tratando de análises de especiação química, técnicas hífenadas envolvendo uma separação de alta eficiência com detectores de alta sensibilidade têm se tornado as técnicas de escolha. Métodos de separação baseados em cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, do inglês *High Performance Liquid Chromatography*), cromatografia gasosa, cromatografia por fluido supercrítico e eletroforese capilar acoplados a detectores como ICP-MS, HG-AAS, GF AAS, espectroscopia de absorção atômica por chama ou espectrometria de massas com ionização por eletronebulização (ESI-MS), têm sido aplicados para a especiação de As.⁹³ A utilização do acoplamento entre HPLC e ICP-MS tem-se mostrado simples e eficiente em vários estudos envolvendo especiação química de As em arroz^{50,53,65,80,85-87,90,91,94,95} por fornecer vantagens como extrema sensibilidade, capacidade multielementar e amplo intervalo de linearidade.⁹⁶ Outro aspecto relevante é que a cromatografia líquida é a mais fácil técnica de separação cromatográfica para acoplar com ICP-MS, devido às vazões da ordem de 0,1 a 1,0 mL min⁻¹, compatíveis com o sistema de introdução de amostras no ICP-MS, e vários nebulizadores que podem ser usados para corresponder a esse fluxo.⁹⁷ Por outro lado, limitações do acoplamento estão relacionadas à utilização de alguns tipos de solventes orgânicos (redução na potência do plasma) e interferência causada por íons poliatômicos, como ⁴⁰Ar³⁵Cl⁺ (mesma *m/z* do ⁷⁵As⁺).⁹⁸

Os métodos mais comuns de separação aplicados em HPLC são o pareamento iônico e a troca iônica. O pareamento iônico é aplicado para a determinação de espécies neutras e ionizadas utilizando colunas de cromatografia em fase reversa, como C8 e C18. Neste caso a fase móvel contém um par aniônico ou um par catiônico como o hidróxido ou fosfato de tetrabutilamônio, fazendo a ligação entre o analito e a fase estacionária.⁹³ Dependendo das características iônicas dos compostos de As, a troca iônica é o melhor método de separação, sendo que a troca aniônica é mais comumente utilizada para determinação de As³⁺, As⁵⁺, MMA e DMA⁹³ e é descrita como técnica de

Tabela 2. Vantagens e desvantagens de diferentes abordagens analíticas para determinação da concentração de As total (Adaptado de Meharg e Zhao)⁸³

Técnica	Custo relativo	Exigência de infraestrutura	Experiência do analista	LOD (µg L ⁻¹) instrumental	Interferência analítica
ICP-MS ^a	Alta	Alta	Alta	~0,1	Limitada e controlável
ICP OES ^b	Moderada	Alta	Alta	~5	Menor
HG-AAS ^c	Baixa	Moderada	Baixa	~1	Considerável
GF AAS ^d	Moderada	Moderada	Moderada	~10	Limitada e controlável
HG-AFS ^e	Baixa	Baixa	Baixa	~0,1	Considerável
NAA ^f	Muito alta	Muito alta	Alta	-	Menor

Sendo ^aEspectrometria de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado; ^bEspectroscopia de Emissão Ótica com Plasma Indutivamente Acoplado; ^cEspectroscopia de Absorção Atômica com Geração de Hidretos; ^dEspectroscopia de Absorção Atômica com Forno de Grafite; ^eEspectroscopia de Fluorescência Atômica com Geração de Hidretos e ^fAnálise de Ativação de Nêutrons.

escolha pela *Food and Drug Administration* dos EUA (FDA) em sua metodologia validada para especiação de As em arroz.⁹⁵ Já a troca catiônica é mais utilizada para separar as espécies AsB, AsC, óxido de trimetilarsina e tetrametilarsênio.⁹³

Além das técnicas de separação e detecção, o preparo de amostras para a análise de especiação química é também etapa crucial no delineamento do estudo. Narukawa *et al.* avaliaram diferentes misturas de solventes e métodos para a extração anteriormente à análise por HPLC-ICP-MS, sendo que a extração assistida por micro-ondas utilizando água a 80 °C por 30 minutos mostrou maior eficiência.⁹⁰ Utilizando este mesmo tipo de método, porém com a adição de HNO₃, espécies de As foram determinadas em arroz.^{85,86,88,92} Para a extração, Batista *et al.*, Huang *et al.* e pesquisadores da FDA descreveram a utilização de HNO₃ seguida de aquecimento a 95 °C por 90 minutos.^{53,82,95} Já Sofuoglu *et al.* utilizaram este mesmo ácido, porém com aquecimento a 90 °C em banho maria.⁹⁴ A utilização de ácido trifluoroacético e aquecimento a 100 °C também é descrita.^{50,65,80,91}

Além da extração em fase líquida, a extração em fase sólida é uma técnica de pré-tratamento de amostras com a finalidade de extrair e pré-concentrar diferentes espécies químicas de As, garantindo baixo custo, eficiência de recuperação e de pré-concentração. Adsorventes convencionais, como resinas de troca iônica, nanomateriais funcionais contendo grupamentos específicos de ligação, como nanofibras e nanopartículas magnéticas e materiais biológicos, como membranas de casca de ovo com abundância em grupos funcionais e elevada área superficial, estão sendo utilizados no desenvolvimento desta técnica.⁹⁹ Chen & Chen e Rasmussen *et al.* utilizaram este método de preparo de amostras para especiação química de As-i de amostras de arroz.^{100,101}

Métodos de preparo de amostras utilizando princípio de hidrólise enzimática também são descritos. Como exemplo tem-se o estudo desenvolvido por Sanz *et al.*¹⁰² Eles avaliaram a utilização de enzimas hidrolíticas, como a α -amilase, e de uma sonda ultrassônica para acelerar o processo de extração das espécies de As de amostras de arroz (espanhol e indiano), garantindo aumento da eficiência de extração. As espécies extraídas foram quantificadas por HPLC-ICP-MS. A rapidez e simplicidade do método garantiram ampla faixa de aplicação.¹⁰² Entretanto, Huang *et al.*, consideraram esse tipo de metodologia como difícil de ser executada, de alto custo e passível de contaminação. Ainda destacaram que os vários métodos reportados na literatura não levam em consideração a variedade de tipos de grãos de arroz comercializados e sugerem o uso de HNO₃ 0,28 mol L⁻¹ a 95 °C por 90 minutos como um método simples, econômico e que abrange os vários tipos de arroz.⁸²

Importante destacar que, para toda análise, o uso de material de referência certificada é imprescindível para garantir a precisão e exatidão do método em estudo. Idealmente, a validação de um procedimento analítico é realizada com a utilização de um material de referência certificada, elaborado na mesma matriz de estudo.⁹⁸ Para a matriz arroz é descrita a utilização de *Rice Flour* 1568a da *National Institute of Standards and Technology* (NIST). Muitos laboratórios utilizam este material como parte da validação do método para determinação de As³⁺, As⁵⁺, MMA e DMA. Apesar deste material ser apenas certificado para valores de As total (290 ± 30 µg kg⁻¹), sugere-se que não há conversão entre as espécies ou perda das mesmas durante condições de armazenamento.

O *Institute for Reference Materials and Measurements* (IRMM) suplementa materiais de referência certificada que foram produzidos segundo guias específicos da Comissão Europeia para garantia dos mais altos padrões de qualidade e confiabilidade. Alguns destes materiais foram desenvolvidos tanto para a concentração total de um dado elemento químico quanto para a concentração de algumas de suas espécies em determinada matriz. Para o arroz, o material *Rice Flour* IRMM-804 foi certificado para concentração de As total (0,049±0,004 mg kg⁻¹). Em

se tratando de dados referentes à especiação química, o material *Rice* ERM-BC211 foi desenvolvido para avaliação da concentração de As total (260±13 µg kg⁻¹), DMA (119±13 µg kg⁻¹) e soma das concentrações de As³⁺ e As⁵⁺ (124±1 µg kg⁻¹).¹⁰³

Mitigação para redução do risco toxicológico

Seguindo uma ordem cronológica, da cadeia de produção até a mesa do consumidor, o primeiro ponto a ser avaliado em estudos de remediação do impacto tóxico do As é o preparo do solo e o sistema de plantio e de cultivo. Após, tem-se inúmeras práticas culturais que podem interferir no acúmulo pela planta, tais como manejo da irrigação, fertilização, aplicação de praguicidas, entre outras. Seguindo o ciclo cultural, o arroz terá absorvido e acumulado As nos grãos, que serão colhidos e beneficiados até chegarem ao consumidor. O beneficiamento e o processo de preparo do arroz também poderão alterar o conteúdo do mesmo.

Plantas hiperacumuladoras de As são geralmente utilizadas para estudos de extração, estabilização (evitar a dispersão), imobilização (diminuir a mobilidade e solubilidade) e/ou volatilização do As presente no solo.¹⁰⁴⁻¹⁰⁸ Porém, na prática, esta medida reduz o espaço para cultivo e consequentemente a produtividade por área. O uso de plantas geneticamente modificadas para volatilização também seria prejudicial uma vez que, além de ser pequena a volatilização, as formas gasosas de As (arsinas) são as mais tóxicas.¹⁰⁹

Técnicas de cultivo diferenciadas utilizando a interação com outros elementos (como silício (Si), fósforo (P), ferro (Fe) e enxofre (S)) e práticas agrícolas como irrigação intermitente,¹¹⁰⁻¹²⁰ uso de microrganismos da microbiota natural que adsorvem, acumulam e/ou metabolizam o As presente no solo,¹²¹⁻¹²⁸ controle da expressão genética para metilar, conter o As-i absorvido ou aumentar a resistência da planta,^{72,129,130} polimento do grão,^{56,60,131} e preparo para o consumo¹³²⁻¹³⁵ parecem ser as estratégias mais viáveis do ponto de vista prático para a redução da concentração de As pelos grãos e transferência deste para o consumidor final.

Como exemplo, em 2009, Li *et al.* cultivaram duas variedades de arroz (J7089 e J7091) na presença de Si (20 g SiO₂ gel / kg de solo) sob condições de inundação. A fertilização com Si reduziu em 78 e 16% a concentração de As total na casca e no grão, respectivamente. Além disso, houve redução na concentração de As-i em 59% e aumento da concentração de As orgânico em 33%. Devido à competição pelos transportadores na raiz, não houve aumento da absorção de As e consequentemente não houve redução na produtividade de grãos (e casca, subproduto vendido a granjas de aves).¹¹⁵ Guo *et al.* observaram efeitos similares do Si quanto à diminuição da absorção de As, porém, provavelmente pelas diferenças entre cultivares, também foi notada uma redução na concentração de P da variedade Weiyou 77 (raízes e caules), cultivada em hidroponia.¹²⁰

O fosfato (HPO₄²⁻) e o As⁵⁺ são análogos, entram nas células pelo mesmo transportador, sendo que o As⁵⁺ interfere no metabolismo do P, gerando efeitos danosos às plantas.¹³⁶ Vários estudos foram realizados no sentido de se utilizar o HPO₄²⁻ como forma de remediar a absorção de As. Entretanto, estes estudos apenas demonstram uma redução nos efeitos tóxicos do As quando a planta é tratada com HPO₄²⁻. Quanto à absorção, os resultados não demonstram eficácia, uma vez que estes elementos, além de competirem pelos mesmos sítios de absorção, competem pela adsorção nas placas de Fe das raízes.^{55,113,136}

As placas de Fe são formadas a partir da oxidação do Fe²⁺→Fe³⁺ no solo e formação de hidróxidos/oxidróxidos de Fe (Fe(OH)₃) que se depositam na superfície da raiz.^{55,113} Essa placa tem alta afinidade por As⁵⁺ e HPO₄²⁻, funcionando como depósito ou fonte desses compostos, dependendo das condições físico-químicas do solo. Além disso, sua presença nas raízes aumenta a absorção de As³⁺.^{112,113,136}

Guo *et al.* relacionou os 4 elementos: Si, P, Fe (placa) e As⁵⁺. Neste estudo, os autores constataram que a presença de Si na solução de hidroponia reduziu a concentração de P e As⁵⁺ na planta, mecanismo não relacionado à competição por transportadores.¹³⁷

Uma vez absorvido, o As ainda pode ser contido na raiz por peptídeos contendo grupo tiol (-SH), conhecidos como fitoquelatinas. Esses compostos podem sequestrar o As-i (As³⁺) e acumular nos vacúolos das raízes, impedindo seu transporte até os grãos. Zhang *et al.* e Duan *et al.* observaram que a privação de S e a diminuição da produção de glutatona e fitoquelatinas aumentam a translocação do As, das raízes para o caule e do caule para os grãos, respectivamente.^{61,138} Portanto, manter concentrações suficientes de S para a planta é apontado também como uma alternativa para reduzir a concentração de As nos grãos.^{73,136}

Ainda com relação a esses processos bioquímicos de armazenamento e transporte, alguns autores descrevem a superexpressão gênica de transportadores vacuolares de complexos fitoquelatina-As nas raízes como solução para redução da concentração de As nas partes comestíveis de plantas.⁷² Outros exploram genes de tolerância ao As (AsTol) e entrecruzamento de variedades resistentes ao As como forma de entender os mecanismos envolvidos e, por exemplo, aplicar no arroz para maior segurança alimentar.¹²⁹

Finalmente, Meng *et al.* exploraram a transgênese como ferramenta para a biorremediação da contaminação do arroz com As. Sabe-se que o As-i, através de metil-transferases, pode ser metilado a MMA e DMA, de menor toxicidade. Porém, também é conhecido que estas enzimas não estão presentes em plantas. Os autores então promoveram a expressão do gene *arsM* da bactéria de solo *Rhodospseudomonas palustris* na variedade de arroz Nipponbari (*Oryza sativa*). Eles observaram, após 12 dias, maior concentração de espécies de As metiladas e voláteis nas plantas transgênicas, apontando como uma nova estratégia para fitorremediação.¹³⁰

Aliado às estratégias acima citadas, estudos têm sido desenvolvidos no sentido de diminuir a absorção de As através do manejo da irrigação. Rahaman e Sinha observaram uma redução em torno de 24% na concentração de As nos grãos sob um sistema de irrigação intermitente. Esse regime consistia em, durante o 15º ao 40º dia após o transplante, irrigar as plantas e, após o nível da água se reduzir, esperar de 2-4 dias para irrigar novamente. Outros métodos foram avaliados como o cultivo aeróbico e sistema de irrigação de saturação do solo, com reduções de 22 e 21% de As total nos grãos, respectivamente. Todos estes métodos foram comparados ao sistema comum de cultivo (inundado com lâmina de água). Apesar da redução das concentrações de As, os autores também identificaram uma redução na concentração de Fe e Zn, fato atribuído a menor concentração de O₂ em solos alagados, tornando os íons destes elementos mais disponíveis.¹¹⁸

Como no estudo anterior, Sarkar *et al.* desenvolveram seus experimentos em áreas com água e solos contaminados com As: Rio Bengala na Índia. O cultivo nesta área geralmente é realizado de janeiro a abril. Neste período estima-se que de 50-150 mg As/m² é adicionado ao solo através da irrigação das plantações com água contaminada. O estudo com irrigação intermitente também demonstrou ser promissor, uma vez que as menores concentrações de As em folhas e grãos foram encontradas neste tipo de cultivo. Além disso, este tipo de cultivo apresentou uma produtividade de 4,33 mg ha⁻¹, sem aparente significado estatístico quando comparado aos 4,69 mg ha⁻¹ do sistema de alagadiço, considerado o de maior produtividade.¹¹⁹

Outro caminho ainda não muito explorado na questão do arroz especificamente é o uso de microrganismos para (bio)remediação. Os microrganismos de solo mostram um papel ambiental importante na absorção e resistência das plantas ao As. Em uma revisão Zhao *et al.* divide os efeitos produzidos pelos fungos no metabolismo do As pelas

plantas:⁶³ i) as colônias da micorriza podem suprimir a alta afinidade do sistema de transporte de P das raízes, levando a uma redução da absorção de As;¹²⁴ ii) os fungos da micorriza podem aumentar a resistência realizando efluxo do As ao meio, ação claramente demonstrada por Sharples *et al.*, na qual o fungo *Hymenoscyphus ericae* secreta As³⁺ no meio e absorve As⁵⁺, um mecanismo comum em bactérias e fungos;^{125,126} iii) aumentar a aquisição e nutrição de P da planta hospedeira, aumentando assim o crescimento da planta e a diluição do As nos tecidos;^{127,139,140} iv) restringir a transferência do As das raízes para o caule sendo esse mecanismo ainda não esclarecido.^{124,127,128}

A resistência destes microrganismos às altas concentrações de elementos tóxicos como o As deve-se, entre outros mecanismos, à ligação destes elementos a proteínas ou, assim como no arroz, a peptídeos específicos conhecidos como fitoquelatinas.^{141,142} Além da resistência ao As, alguns organismos utilizam o As na respiração¹⁴³⁻¹⁴⁸ e/ou como doador de elétrons,¹⁴⁸⁻¹⁵⁰ sendo que outros mecanismos como a metilação¹⁵¹ e a demetilação^{66,148,152} também podem ser considerados vias de detoxificação do As e resistência. *Aspergillus glaucum*, *Candida humicola*, *Scorpiularipsis brevicaulis*, *Gliocladium roseum*, *Penicillium gladioli* e *Fusarium* são exemplos de fungos capazes de biotransformar o As em trimetilarsina volátil através de uma redução e metilação a partir de As-i e espécies metiladas.^{66,153}

Li *et al.* avaliaram a influência de fungos no aumento da produtividade, tolerância e absorção de As pelo arroz. Foram estudados dois cultivares de arroz e dois fungos adquiridos de coleções. Verificou-se que em solos contaminados com As os cultivares Guanyinzhao e Handao 502 inoculados respectivamente com *Glomus intraradices* e *Glomus geosporum* apresentaram um aumento na produtividade e na tolerância ao As; já invertendo os fungos com a variedade de arroz observou-se uma menor produtividade e uma maior absorção de As. Os autores concluíram que deve ser avaliada uma combinação de microrganismos para haver uma maior produtividade e uma menor absorção de As.¹⁵⁴

Em outro estudo o mesmo grupo avaliou, em exposição aguda, a absorção das diferentes espécies de As (DMA, MMA, As⁵⁺ e As³⁺) em arroz cultivado sob sistemas de irrigação e sequeiro na presença do fungo *Glomus intraradices*.¹⁵⁵ Foi observado que a inoculação do fungo reduziu a absorção de As³⁺ e MMA pelo caule e pelas raízes das cultivares de arroz Guanyinzhao e Handao 502 em ambos os sistemas de irrigação. Os autores sugerem que esses microrganismos, por meio de sinalização molecular, sub-regulam a expressão do Lsi1, ou atuam como enzima substrato neste canal, impedindo a absorção de As pela planta.¹⁵⁵

Ressaltam-se ainda dois outros procedimentos para mitigação: o polimento e o cozimento do arroz. Segundo Sun *et al.* o farelo do arroz, parte retirada do pericarpo até a aleurona após, polimento, contém de 10 a 20 vezes mais As que o endosperma (maior parte do grão). Conhecidamente um superalimento oferecido a crianças mal nutridas, os autores reforçam a avaliação de risco do consumo do farelo, especialmente para crianças, uma vez que as concentrações encontradas neste produto em amostras dos EUA e Japão foram de 0,61 a 1,9 mg kg⁻¹ de As-i.¹³¹ Portanto, o polimento do arroz parece ser uma interessante ferramenta para a segurança alimentar. Porém, Meharg *et al.* demonstraram que cobre (Cu), Fe, manganês (Mn) e zinco (Zn) têm a mesma localização do As, consequentemente, polindo-se o arroz perde-se As e estes elementos essenciais.⁵⁶ Lombi *et al.* observaram uma proporção de 56-75% de As-i no farelo sendo que 50% estava complexado com moléculas contendo grupo tiol.⁶⁰

Para o cozimento a literatura dispõe de vários estudos para a redução do risco de consumo do arroz contendo As. Em 2002, Bae *et al.* investigaram o efeito do cozimento do arroz com água contaminada com cerca de 300 ng g⁻¹ de As em Bangladesh na razão água/arroz de cerca de 1,38. Este estudo revelou que o arroz absorveu

parte do As da água contaminada implicando no aumento do risco do consumo de arroz contaminado.¹⁵⁶ Sengupta *et al.* avaliaram três métodos de cozimento de arroz. O método tradicional indiano utilizando água com concentração baixa de As ($< 3 \text{ ng ml}^{-1}$) para lavagem até clareamento, cozimento com razão água:arroz de 6:1 e descarte da água de cozimento reduziu a concentração do As em 57%. Aproximadamente metade desta percentagem foi na 1ª lavagem e outra metade na água desprezada no cozimento. Por outro lado, a pré-lavagem e cozimento com razão água:arroz 1,5-2:1 reduziu em 28% e a não lavagem e cozimento nesta mesma razão água:arroz não modificou as concentrações.¹⁵⁷ Raab *et al.* reportaram que a lavagem do arroz na razão 6:1 reduziu em 35 e 45% as concentrações de As nos tipos grão longo e basmati, respectivamente.¹³²

Legislação e demandas internacionais por controle e mitigação

Diante da gama de efeitos tóxicos relatados decorrentes da exposição ao As e da sua presença nos grãos de arroz, diversos órgãos como a *Food and Agriculture Organization* (FAO) da Organização Mundial de Saúde (WHO), a *United States Food and Drug Administration* (FDA), a *Food Standards Agency* (FSA) e a *European Food Safety Authority* (EFSA) estão em intensa discussão sobre a concentração de As seguras à saúde humana.

Além da presença de As no arroz, alimentos alternativos, como derivados de arroz, estão sendo amplamente consumidos por indivíduos (incluindo crianças) com doença celíaca e intolerância a lactose. Com relação aos derivados de arroz, vários estudos reportaram concentrações elevadas de As nesses alimentos. Segundo Sun *et al.*, de 75,2 a 90,1% do As presente em produtos contendo arroz (cereais matinais, bolachas e condimentos) era As-i.⁸⁵ Com relação a alimentos para bebês, Carbonell-Barrachina *et al.* analisaram amostras da China, Reino Unido, Espanha e Estados Unidos. Eles verificaram concentrações acima de 150 ng g^{-1} (limite chinês) para 23% das amostras e, em geral, os alimentos para bebês apresentaram 60% de As-i, sendo o restante basicamente DMA.⁸⁸ Isso implica em dizer que a ingestão diária de As por bebês de 4-12 meses é maior que para um adulto consumindo água no valor máximo permitido para As pela Organização Mundial de Saúde ($10 \mu\text{g L}^{-1}$).⁷⁹ Nos dois estudos os autores destacam a importância do monitoramento dos alimentos, uma vez que estes produtos refletem as concentrações de As dos grãos.

Dentro desta perspectiva, a EFSA recomenda uma redução na ingestão de alimentos contendo As. Crianças menores de 3 anos de idade são o principal grupo que recebe atenção, uma vez que estão expostas de 2 a 3 vezes mais que um adulto.¹⁵⁸ A FSA, do Reino Unido, também emitiu parecer em que crianças menores do que 4 anos de idade não devem tomar leite de arroz, pois o consumo diário destas bebidas em quantidades semelhantes ao consumo médio de leite de vaca (um copo, aproximadamente 280 mL por uma criança) levaria a uma exposição alimentar significativa.¹⁵⁹ Segundo Meharg e Zhao, apesar da concentração de As ser bem menor em produtos líquidos de arroz comparados aos produtos sólidos, as concentrações ultrapassam padrões estabelecidos para água potável.⁸³

A EFSA do Painel dos Contaminantes da Cadeia Alimentar avaliou os riscos para a saúde humana relacionado com a presença de As nos alimentos. Suas principais conclusões foram: (i) há uma necessidade urgente para a realização de estudos de especiação, (ii) as concentrações de As^{3+} e As^{5+} na dieta devem ser reduzidas, (iii) crianças com menos de três anos de idade são as mais expostas a As^{3+} e As^{5+} (iv) e que a exposição dietética para As^{3+} e As^{5+} em lactentes está diretamente relacionada com a ingestão de produtos à base de arroz.¹⁵⁸

Além disso, a EFSA concluiu que ingestão semanal tolerável provisória (PTWI, do inglês *Provisional tolerable weekly intake*) de $15 \mu\text{g}$

kg^{-1} de peso corporal estabelecido pelo Comitê de Especialistas Joint FAO / WHO sobre Aditivos Alimentares¹⁶⁰ não era mais apropriada segundo dados de que o As-i provoca câncer de pulmão, de bexiga urinária, de pele, e outros efeitos adversos.¹⁵⁸ Assim, concluiu-se que os valores para limite de confiança inferior a dose de referência ($\text{BMDL}_{0,1}$) de 0,3 a $8 \mu\text{g kg}^{-1}$ de peso corporal por dia deve ser utilizado para avaliação e caracterização dos riscos relacionados a exposição.¹⁵⁸

O Comitê *Codex* sobre Contaminantes em Alimentos¹⁶¹, em sua 7ª sessão, discutiu a possibilidade de desenvolver um código de práticas para a prevenção e redução da contaminação de As em arroz considerando: fonte direta e acompanhamento da eficácia de medidas, práticas agrícolas (utilização de materiais agrícolas, controle da água de irrigação e seleção de cultivares), processamento e cozimento. Além destas medidas, devem-se levar em consideração os fatos científicos e as estratégias gerais para reduzir a exposição humana ao As em alimentos tais como: redução da absorção de As em culturas alimentares, aumento da proporção de formas orgânicas e redução da concentração de As em alimentos por métodos de processamento, preparo ou cozimento.¹⁶²

Desde 1991, dentro do programa *Total Diet Studies* (TDS), a FDA vem fazendo monitoramento da concentração de elementos tóxicos, inclusive o As, em uma variedade de alimentos, incluindo arroz e sucos.¹⁶³ Em 2012 a FDA divulgou nota informando que avaliou mais de 1300 alimentos e que as concentrações de As encontradas nas amostras não são altas o suficiente para causar um dano imediato à saúde. Os resultados não informam, porém, qual o efeito na saúde em exposições crônicas, nem o que pode ser feito para reduzir essa concentração. Ainda assim, a coleta e análise de dados é o primeiro passo de um grande esforço para assegurar o consumo de arroz e derivados.¹⁶⁴

Também em 2012, pesquisadores da FDA descreveram um método de análise de especiação química de As em arroz e produtos de arroz com a finalidade de obtenção de informações quanto à concentração e o tipo de espécie química para avaliação do risco de consumo pela população exposta.⁹⁵ Adicionalmente, a FDA está avaliando os efeitos da exposição prolongada a elevadas concentrações de As.

Recentemente, em 17 de julho de 2014, em Geneva, o comitê *Codex Alimentarius*, juntamente com a FAO/WHO, adotaram novas normas para proteger a saúde do consumidor em todo o mundo, dentre elas, o estabelecimento da concentração máxima aceitável de $0,2 \text{ mg kg}^{-1}$ para As-i em arroz. Esta comissão tem a função de estabelecer padrões internacionais de segurança e qualidade dos alimentos para os consumidores em âmbito mundial, os quais são bastante utilizados como base para a legislação nacional.¹⁶⁵

Todos estes investimentos em pesquisa nos Estados Unidos, destinados à garantia da segurança alimentar, especialmente envolvendo As, suas espécies químicas e o consumo de arroz e derivados, contribuem como forma de alerta ao governo e às instituições de pesquisas no Brasil quanto à necessidade de estudos aprofundados e consistentes e de legislações neste âmbito.

CONCLUSÃO

O As é conhecido pelos seus efeitos tóxicos e por suas diversas formas químicas com diferentes toxicidades. O arroz, alimento de quase metade da população mundial, tem certa predileção pelo As naturalmente presente no solo. Em razão do risco de exposição ao As pela alimentação, com destaque para o arroz e derivados, o estabelecimento de legislações para garantia da segurança alimentar é primordial. Assim, deve-se associar e divulgar a utilização de técnicas de remediação durante o plantio com mínimo da produção. O desenvolvimento e aplicação de metodologias analíticas para determinação total e especiação química de As devem ser incentivadas para controle

de qualidade do alimento e a avaliação do risco toxicológico nutricional, assim como pesquisas nas áreas de mitigação e fisiologia vegetal a fim de se entender e controlar essa contaminação.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio às pesquisas que levaram à redação da presente revisão.

REFERÊNCIAS

- Watanabe, T.; Hirano, S.; *Arch. Toxicol.* **2013**, *87*, 969.
- Farias, J. S.; Milani, M. R.; Niencheski, L. F. H.; Paiva, M. L.; *Quim. Nova* **2012**, *35*, 1401.
- Faita, F.; Cori, L.; Bianchi, F.; Andreassi, M. G.; *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2013**, *10*, 1527.
- Barra, C. M.; Santelli, R. E.; Abrão, J. J.; Guardia, M. L.; *Quim. Nova* **2000**, *23*, 58.
- Holland, R. H.; Mccall, M. S.; Lanz, H. C.; *Cancer Res.* **1959**, *19*, 1154.
- Pinto, S. S.; Varner, M. O.; Nelson, K. W.; Labbe, A. L.; White, L. D.; *J. Occup. Med.* **1976**, *18*, 677.
- Vahter, M.; *Acta Pharmacol. Toxicol.* **1986**, *59*, 31.
- Zheng, Y.; Wu, J.; Ng, J. C.; Wang, G.; Lian, W.; *Toxicol. Lett.* **2002**, *133*, 77.
- Bettley, F. R.; O'Shea, J. A.; *Br. J. Dermatol.* **1975**, *92*, 563.
- Buchet, J.P.; Lauwerys, R.; Roels, H.; *Int. Arch. Occup. Environ. Health* **1981**, *48*, 71.
- Marafante, E.; Vahter, M.; Norin, H.; Envall, J.; Sandstrom, M.; Christakopoulos, A.; Ryhage, R.; *J. Appl. Toxicol.* **1987**, *7*, 111.
- Vahter, M.; Marafante, E.; Dencker, L.; *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **1984**, *13*, 259.
- Yamauchi, H.; Yamamura, Y.; *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **1984**, *74*, 134.
- Hughes, M. F.; Devesa, V.; Adair, B. M.; Styblo, M.; Kenyon, E. M.; Thomas, D. J.; *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2005**, *208*, 186.
- Yamauchi, H.; Yamato, N.; Yamamura, Y.; *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **1988**, *40*, 280.
- Stevens, J. T.; Hall, L. L.; Farmer, J. D.; DiPasquale, L. C.; Chernoff, N.; Durham, W. F.; *Environ. Health Perspect.* **1977**, *19*, 151.
- <http://www.atsdr.cdc.gov/toxguides/toxguide-2.pdf>, acessada em Fevereiro 2014.
- Ouypornkochagorn, S.; Feldmann, J.; *Environ. Sci. Technol.* (2010), doi: 10.1021/ES903667Y.
- Jolliffe, D. M.; Budd, A. J.; Gwilt, D.J.; *Anaesthesia* **1991**, *46*, 288.
- Schoolmeester, W. L.; White, D. R.; *South. Med. J.* **1980**, *73*, 198.
- Quatrehomme, G.; Ricq, O.; Lapalus, P.; Jacomet, Y.; Ollier, A.; *J. Forensic Sci.* **1992**, *37*, 1163.
- Winship, K. A.; *Acute Poisoning Rev.* **1984**, *3*, 129.
- Fei, D. L.; Koestler, D. C.; Li, Z.; Giambelli, C.; Sanchez-Mejias, A.; Gosse, J. A.; Marsit, C. J.; Karagas, M. R.; Robbins, D. J.; *Environ. Health* (2013), doi: 10.1186/1476-069X-12-58.
- Environmental Protection Agency. EPA; Research Triangle Park, NC, US. 1984.
- Lugo, G.; Cassady, G.; Palmisano, P.; *Am. J. Dis. Child.* **1969**, *117*, 328.
- World Health Organization. WHO; "Arsenic". *Environmental Health Criteria - number 18*, Geneva, 1981.
- Thompson, D. J.; *Chem. Biol. Interactions* **1993**, *88*, 89.
- Aposhian, H. V.; Aposhian, M. M.; *Chem. Res. Toxicol.* **2006**, *19*, 1.
- Liu, J.; Goyer, R. A.; Waalkes, M. P. *Em Toxic effects of metals in Casarett and Doull's Toxicology: The basic science of poisons*; Klaassen, C. D., ed; McGraw-Hill: Medical Publishing Division, 2008, cap. 23.
- Feldmann, J.; Lai, VW-M.; Cullen, W. R.; Ma, M.; Lu, X.; Le, X. C.; *Clin. Chem.* **1999**, *45*, 1988.
- Brown, R. M.; Newton, D.; Pickford, C. J.; Sherlock, J. C.; *Hum. Exp. Toxicol.* **1990**, *9*, 41.
- Kalman, D. A.; *Extended Abstracts from the Second Nordic Symposium*, Odense, Copenhagen: World Health Organization, 1987.
- Tam, G. K. H.; Lacroix, G.; *J. - Assoc. Off. Anal. Chem.* **1982**, *65*, 647.
- Chatterjee, A.; Das, D.; Mandal, B. K.; Chowdhury, T. R.; Samanta, G.; Chakabrtori, D.; *Analyst* **1995**, *120*, 643.
- Borba, R. P.; Coscione, A. R.; Figueiredo, B. R.; Zambello, F.; *Quim. Nova* **2009**, *32*, 970.
- Balakumar, P.; Kaur, J.; *Journal of Cardiovascular Toxicology* **2009**, *9*, 169.
- Mahram, M.; Shahsavari, D.; Oveisi, S.; Jalilolghadr, S.; *J. Res. Med. Sci.* **2013**, *18*, 408.
- Pan, W. C.; Seow, W. J.; Kile, M. L.; Hoffman, E. B.; Quamruzzaman, Q.; Rahman, M.; Mahiuddin, G.; Mostofa, G.; Lu, Q.; Christiani, D. C.; *Am. J. Epidemiol.* **2013**, *178*, 1563.
- International Agency for Research on Cancer. IARC; *Working Group on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Iarc Monogr. Eval. Carcinog. Risks Hum.*, 2004.
- Hughes, M. F.; *Toxicol. Lett.* **2002**, *133*, 1.
- National Research Council. NRC; *Arsenic in Drinking Water*. National Academy of Sciences, Washington, DC, 2001.
- Rossmann, T. G.; *Mutat. Res.* **2003**, *533*, 37.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry. ATSDR; Atlanta, GA, 2005.
- British Geological Survey. BGS; Arsenic contamination of groundwater in Bangladesh. 2001. Em: Saha, G. C.; Ali, M. A.; *Sci. Total Environ.* **2007**, *379*, 180.
- Shibata, Y.; Morita, M.; Fuwa, K.; *Adv. Biophys.* **1992**, *28*, 31.
- Hsueh, Y. M.; Hsu, M. K.; Chiou, H. Y.; Yang, M. H.; Huang, C. C.; Chen, C. J.; *Toxicol. Lett.* **2002**, *133*, 83.
- Schoof, R. A.; Yost, L. J.; Eickhoff, J.; Crecelius, E. A.; Cragin, D. W.; Meacher, D. M.; Menzel, D. B.; *Food Chem. Toxicol.* **1999**, *37*, 839.
- Gomes, A. S.; Magalhães Júnior, A. M.; *Arroz Irrigado no Sul do Brasil*, 1ª Ed., EMBRAPA Informação Tecnológica: Brasília, 2004.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. IBGE; *Aquisição alimentar domiciliar per capita anual, por Grandes Regiões, segundo os produtos, período 2008-2009*, 2013.
- Williams, P. N.; Price, A. H.; Raab, A.; Hossain, S. A.; Feldmann, J.; Meharg, A. A.; *Environ. Sci. Technol.* **2005**, *39*, 5531.
- Liang, F.; Li, Y.; Zhang, G.; Tan, M.; Lin, J.; Liu, W.; Li, Y.; Lu, W.; *Food Addit. Contam.* **2010**, *27*, 810.
- Batista, B. L.; De Oliveira Souza, V. C.; Da Silva; F. G.; Barbosa Jr, F.; *Food Addit. Contam., Part B* **2010**, *3*, 253.
- Batista, B. L.; Souza, J. M. O.; De Souza, S. S.; Barbosa Jr, F.; *J. Hazard. Mater.* **2011**, *191*, 342.
- Batista, B. L.; Nacano, L. R.; Freitas, R.; Oliveira-Souza, V. C.; Barbosa, F.; *Food Nutr. Sci.* **2012**, *3*, 129.
- Liu, W. J.; Zhu, Y. G.; Hu, Y.; Williams, P. N.; Gault, A. G.; Meharg, A. A.; Charnock, J. M.; Smith, F. A.; *Environ. Sci. Technol.* **2006**, *40*, 5730.
- Meharg, A. A.; Lombi, E.; Williams, P. N.; Scheckel, K. G.; Feldmann, J.; Raab, A.; Zhu, Y.; Islam, R.; *Environ. Sci. Technol.* **2008**, *42*, 1051.
- Abedin, M. J.; Feldmann, J.; Meharg, A. A.; *Plant Physiol.* **2002**, *128*, 1120.
- Abedin, M. J.; Cresser, M. S.; Cotter-Howells, J.; Meharg, A. A.; Feldmann, J.; *Environ. Sci. Technol.* **2002**, *36*, 962.
- Carey, A. M.; Scheckel, K. G.; Lombi, E.; Newville, M.; Choi, Y.; Norton, G. J.; Charnock, J. M.; Feldmann, J.; Prince, A. H.; Meharg, A. A.; *Plant Physiol.* **2010**, *152*, 309.
- Lombi, E.; Scheckel, K. G.; Pallon, J.; Carey, A. M.; Zhu, Y. G.; Meharg, A. A.; *New Phytol.* **2009**, *184*, 193.

61. Zhang J.; Zhao, Q.-Z.; Duan, G.-L.; Huang, Y.-C.; *Environ. Exp. Bot.* **2010**, *72*, 34.
62. Shri, M.; Kumar, S.; Chakrabarty, D.; Trivedi, P. K.; Mallick, S.; Misra, P.; Shukla, D.; Mishra, S.; Srivastava, S.; Tripathi, R. D.; Tuli, R.; *Eco-toxicol. Environ. Saf.* **2009**, *72*, 1102.
63. Zhao, F. J.; Ma, J. F.; Meharg, A. A.; McGrath, S. P.; *New Phytol.* **2008**, *181*, 777.
64. Ma, J. F.; Yamaji, N.; Mitani, N.; Xu, X. Y.; Su, Y. H.; Mcgrath, S. P.; Zhao, F.; *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2008**, *105*, 9931.
65. Xu, X. Y.; McGrath, S. P.; Meharg, A. A.; Zhao, F.; *J. Environ. Sci. Technol.* **2008**, *42*, 5574.
66. Cullen, W.R.; Reimer, K.J.; *Chem. Rev. Am. Chem. Soc.* **1989**, *89*, 713.
67. Ma, J. F.; Tamai, K.; Yamaji, N.; Mitani, N.; Konish, S.; Katsuhara, M.; Ishiguro, M.; Murata, Y.; Yano, M.; *Nature* **2006**, *440*, 688.
68. Meharg, A. A.; Naylor, J.; Macnair, M. R.; *J. Environ. Qual.* **1994**, *23*, 234.
69. Xu, X.Y.; McGrath, S. P.; Zhao, F. J.; *New Phytol.* **2007**, *176*, 590.
70. Raab, A.; Schat, H.; Meharg, A. A.; Feldmann, J.; *New Phytol.* **2005**, *168*, 551.
71. Raab, A.; Ferreira, K.; Meharg, A. A.; Feldmann, J.; *J. Exp. Bot.* **2007**, *58*, 1333.
72. Song, W. Y.; Park, J.; Mendoza-Cózatl, D. G.; Suter-Grotemeyer, M.; Shim, D.; Hörtensteiner, S.; Geisler, M.; Weder, B.; Rea, P. A.; Rentsch, D.; Schroeder, J. I.; Lee, Y.; Martinoia, E.; *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2010**, *107*, 21187.
73. Batista, B. L.; Nigar, M.; Mestrot, A.; Rocha, B. A.; Barbosa Júnior, F.; Price, A. H.; Raab, A.; Feldmann, J.; *J. Exp. Bot.* **2014**, *65*, 1467.
74. Carbonell-Barrachina, A. A.; Burló-Carbonell, F.; Mataix-Beneyto, J.; *J. Plant Nutr.* **1995**, *18*, 1237.
75. Carbonell-Barrachina, A. A.; Aarabi, M. A.; DeLaune, R. D.; Gambrell, R. P.; Patrick Jr., W. H.; *Plant Soil* **1998**, *198*, 33.
76. Knauer, K.; Behra, R.; Hemond, H.; *Aquat. Toxicol.* **1999**, *46*, 221.
77. Zhang, F.; Shi, W.; Jin, Z.; Shen, Z.; *J. Plant Nutr.* **2002**, *26*, 1779.
78. <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/1c396c80447ab90d93e1d37d15359461/CP+N%C2%BA+101+GGALI.pdf?MOD=AJPERES>, acessada em Fevereiro 2012.
79. World Health Organization. WHO; *Guidelines for drinking-water quality [electronic resource]: incorporating 1st and 2nd addenda, Vol.1, Recommendations. – 3rd Ed.*, 2008.
80. Meharg, A. A.; Williams, P. N.; Adomako, E.; Lawgali, Y. Y.; Deacon, C.; Villada, A.; Cambell, R. C. J.; Sun, G.; Zhu, Y. G.; Feldmann, J.; Raab, A.; Zhao, F. J.; Islam, R.; Hossain, S.; Yanai, J.; *Environ. Sci. Technol.* **2009**, *43*, 1612.
81. Templeton, D. M.; Ariese, F.; Cornelis, R.; Danielsson, L.-G.; Muntau, H.; Leeuwen, H. P. V.; Lobinski, R.; *Pure Appl. Chem.* **2000**, *72*, 1453.
82. Huang, J.-H.; Ilgen, G.; Fecher, P.; *J. Anal. At. Spectrom.* **2010**, *25*, 800.
83. Meharg, A. A.; Zhao, F. J.; *Arsenic & Rice*, Springer: Berlin, 2012.
84. Pasiak, I.N.; Thomaidis, N. S.; Piperaki, E. A.; *Microchem. J.* **2013**, *108*, 1.
85. Sun, G.-X.; Williams, P. N.; Zhu, Y.-G.; Deacon, C.; Carey, A. M.; Raab, A.; Feldmann, J.; Meharg, A. A.; *Environ. Int.* **2009**, *35*, 473.
86. Rintala, E.-A.; Ekholm, P.; Koivisto, P.; Peltonen, K.; Venäläinen, E.-R.; *Food Chem.* **2014**, *150*, 199.
87. Sommella, A.; Deacon, C.; Norton, G.; Pigna, M.; Violante, A.; Meharg, A.A.; *Environ. Pollut.* **2013**, *18*, 38.
88. Carbonell-Barrachina, A. A.; Wu, X.; Ramírez-Gandolfo, A. Norton, G. J.; Burló, F.; Deacon, C.; Meharg, A. A.; *Environ. Pollut.* **2012**, *163*, 77.
89. Williams, P. N.; Villada, A.; Deacon, C.; Raab, A.; Figuerola, A. J.; Green, A. J.; Feldmann, J.; Meharg, A. A.; *Environ. Sci. Technol.* **2007**, *41*, 6854.
90. Narukawa, T.; Inagaki, K.; Kuroiwa, T.; Chiba, K.; *Talanta* **2008**, *77*, 427.
91. Smith, E.; Juhasz, A. L.; Weber, J.; Naidu, R.; *Sci. Total Environ.* **2008**, *392*, 277.
92. 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.; *Environ. Sci. Technol.* **2008**, *42*, 5008.
93. Gong, Z.; Lu, X.; Ma, M.; Watt, C.; Le, X. C.; *Talanta* **2002**, *58*, 77.
94. Sofuoglu, S.C.; Güzelkaya, H.; Akgül, O.; Kavcar, P.; Kurucaovali, F.; Sofuoglu, A.; *Food Chem. Toxicol.* **2014**, *64*, 184.
95. <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm328363.htm>, Acessada em Fevereiro 2014.
96. Parsons, P. J.; Barbosa, F.; *Spectrochim. Acta, Part B* **2007**, *62*, 992.
97. Sutton, K. L.; Caruso, J. A.; *J. Chromatogr. A* **1999**, *856*, 243.
98. McSheehy, S.; Szpunar, J.; Morabito, R.; Quevauviller, F.; *Trends Anal. Chem.* **2013**, *22*, 4.
99. Chen, M.-L.; Ma, L.-Y.; Chen, X. W.; *Talanta* **2014**, *125*, 78.
100. Chen, G.; Chen, T.; *Talanta* **2014**, *119*, 202.
101. Rasmussen, R. R.; Qian, Y.; Sloth, J. J.; *Anal. Bioanal. Chem.* **2013**, *405*, 7851.
102. Sanz, E.; Muñoz-Olivas, R.; Cámara, C.; *J. Chromatogr.* **2005**, *1097*, 1.
103. <https://ec.europa.eu/jrc/en/publication/eur-scientific-and-technical-research-reports/certification-mass-fractions-total-arsenic-dimethylarsinic-acid-and-sum-arsenite-and?search>, acessada em Março 2014.
104. Doyle, M. O.; Otte, M. L.; *Environ. Pollut.* **1997**, *96*, 1.
105. Goa, S.; Burau, R. G.; *J. Environ. Qual.* **1997**, *26*, 753.
106. Ma, L. Q.; Komar, K. M.; Tu, C.; Zhang, W.; Cai, Y.; Kennelley, E. D.; *Nature* **2001**, *409*, 579.
107. Porter, E. K.; Peterson, P. J.; *Sci. Total Environ.* **1975**, *4*, 365.
108. Rugh, C. L.; Wilde, H. D.; Stack, N. M.; Thompson, D. M.; Summers, A. O.; Meagher, R. B.; *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1996**, *93*, 3182.
109. Fitz, W. J.; Wenzel, W. W.; *J. Biotechnol.* **2002**, *99*, 259.
110. Arao, T.; Kawasaki, A.; Baba, K.; Mori, S.; Matsumoto, S.; *Environ. Sci. Technol.* **2009**, *43*, 9361.
111. Bogdan, K.; Schenk, M. K.; *Environ. Sci. Technol.* **2008**, *42*, 7885.
112. Chen, Z.; Zhu, Y. G.; Liu, W. J.; Meharg, A. A.; *New Phytol.* **2005**, *165*, 91.
113. Hossain, M. B.; Jahiruddin, M.; Loeppert, R. H.; Panaullah, G. M.; Islam, M. R.; Duxbury, J. M.; *Plant Soil* **2009**, *317*, 167.
114. Hu, P.; Li, Z.; Yuan, C.; Ouyang, Y.; Zhou, L.; Huang, J.; Huang, Y.; Luo, Y.; Christie, P.; Wu, L.; *J. Soils Sediments* **2013**, *13*, 916.
115. Li, R. Y.; Stroud, J. L.; Ma, J. F.; McGrath, S. P.; Zhao, F. J.; *Environ. Sci. Technol.* **2009**, *43*, 3778.
116. Liu, W.-J.; Zhu, Y.-G.; Smith, F. A.; Smith, S. E.; *New Phytol.* **2004**, *162*, 481.
117. Rahaman, S.; Sinha, A. C.; Mukhopadhyay, D.; *J. Environ. Sci.* **2011**, *23*, 633.
118. Rahaman, S.; Sinha, A. C.; *Paddy and Water Environment* **2013**, *11*, 397.
119. Sarkar, S.; Basu, B.; Kundu, C. K.; Patra, P. K.; *Agric., Ecosyst. Environ.* **2012**, *146*, 147.
120. Guo, W.; Hou, Y.-L.; Wang, S.-G.; Zhu, Y.-G.; *Plant Soil* **2005**, *272*, 173.
121. Su, S.; Zeng, X.; Bai, L.; Li, L.; Duan, R.; *Sci. Total Environ.* **2011**, *409*, 5057.
122. Edvantoro, B. B.; Naidu, R.; Megharaj, M.; Merrington, G.; Singleton, I.; *Applied Soil Ecology* **2004**, *25*, 207.
123. Srivastava, P. K.; Vaish, A.; Dwivedi, S.; Chakrabarty, D.; Singh, N.; Tripathi, R. D.; *Sci. Total Environ.* **2011**, *409*, 2430.
124. Gonzalez-Chavez, C.; Harris, P. J.; Dodd, J.; Meharg, A. A.; *New Phytol.* **2002**, *155*, 163.
125. Sharples, J. M.; Meharg, A. A.; Chambers, S. M.; Cairney, J. W. G.; *Plant Physiol.* **2000a**, *124*, 1327.
126. Sharples, M.; Meharg, A. A.; Chambers, S. M.; Cairney, G. T. C.; *Nature* **2000b**, *404*, 951.
127. Chen, B. D.; Xiao, X. Y.; Zhu, Y. G.; Smith, F. A.; Xie, Z. M.; Smith, S. E.; *Sci. Total Environ.* **2007**, *379*, 226.

128. Ultra, V. U. Y.; Tanaka, S.; Sakurai, K.; Iwasaki, K.; *Soil Sci. Plant Nutr.* **2007**, *53*, 499.
129. Dasgupta, T.; Hossain, S. A.; Meharg, A. A.; Price, A. H.; *New Phytol.* **2004**, *163*, 45.
130. Meng, X.-Y.; Qin, J.; Wang, L.-H.; Duan, G.-L.; Sun, G.-X.; Wu, H.-L.; Chu, C. C.; Ling, H.-Q.; Rosen, B. P.; Zhu, Y.-G.; *New Phytol.* **2011**, *191*, 49.
131. Sun, G.-X.; Williams, P. N.; Carey, A.-M.; Zhu, Y.-G.; Deacon, C.; Raab, A.; Feldmann, J.; Islam, R. M.; Meharg, A. A.; *Environ. Sci. Technol.* **2008**, *42*, 7542.
132. Raab, A.; Baskaran, C.; Feldmann, J.; Meharg, A. A.; *J. Environ. Monit.* **2009**, *11*, 41.
133. Signes, A.; Mitra, K.; Burlo, F.; Carbonell-Barrachina, A. A.; *Food Addit. Contam.* **2008**, *25*, 1345.
134. Sun, G.-X.; Wiele, T. V.; Alava, P.; Tack, F.; Laing, G. D.; *Environ. Pollut.* **2012**, *162*, 241.
135. Torres-Escribano, S.; Leal, M.; Vélez, D.; Montoro, R.; *Environ. Sci. Technol.* **2008**, *42*, 3867.
136. Zhao, F.-J.; McGrath, S. P.; Meharg, A. A.; *Annu. Rev. Plant Biol.* **2010**, *61*, 535.
137. Guo, W.; Zhu, Y.-G.; Liu, W.-J.; Liang, Y.-C.; Geng, C.-N.; Wang, S.-G.; *Environ. Pollut.* **2007**, *148*, 251.
138. Duan, G.-L.; Hu, Y.; Liu, W.-J.; Kneer, R.; Zhao, F.-J.; Zhu, Y.-G.; *Environ. Exp. Bot.* **2011**, *71*, 416.
139. Liu, Y.; Zhu, Y. G.; Chen, B. D.; Christie, P.; Li, X. L.; *Environ. Int.* **2005**, *31*, 867.
140. Ahmed, F. R. S.; Killham, K.; Alexander, I.; *Plant Soil* **2006**, *283*, 33.
141. Ecker, D. J.; Bundas, T. R.; Sternberg, E. J.; Neeper, M. P.; Debouck, C.; Gorman, J.A.; Crooke, S. T.; *J. Biol. Chem.* **1986**, *261*, 16895.
142. Kneer, R.; Kutchan, T. M.; Hochberger, A.; Zenk, M. H.; *Arch. Microbiol.* **1992**, *157*, 305.
143. Macy, J. M.; Nunan, K.; Hagen, K. D.; Dixon, D. R.; Harbour, P. J.; Cahill, M.; Sly, L. I.; *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **1996**, *46*, 1153.
144. Macy, J. M.; Santini, J. M.; Pauling, B. V.; O'Neill, A. H.; Sly, L.; *Arch. Microbiol.* **2000**, *173*, 49.
145. Newman, D. K.; Beveridge, T. J.; Morel, F.; *Appl. Environ. Microbiol.* **1997a**, *63*, 2022.
146. Newman, D. K.; Kennedy, E. K.; Coates, J. D.; Ahmann, D.; Ellis, D. J.; Lovley, D. R.; Morel, F. M. M.; *Arch. Microbiol.* **1997b**, *168*, 380.
147. Stolz, J. F.; Oremland, R. S.; *FEMS Microbiol. Rev.* **1999**, *23*, 615.
148. Silver, S.; Phung, L. T.; *Appl. Environ. Microbiol.* **2005**, *71*, 599.
149. Santini, J. M.; Sly, L. I.; Schnagl, R. D.; Macy, J. M.; *Appl. Environ. Microbiol.* **2000**, *66*, 92.
150. Gihring, T. M.; Banfield, J. F.; *Microbiol. Lett.* **2001**, *204*, 335.
151. Qin, J.; Rosen, B. P.; Zhang, Y.; Wang, G.; Franke, S.; Rensing, G.; *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2006**, *103*, 2075.
152. Silver, S.; Misra, T. K.; *Basic Life Sci.* **1984**, *28*, 23.
153. Lin, Z.-Q. Em *Volatilization in Ecological processes. Encyclopedia of Ecology*; Jorgensen, S. E.; Fath, B. D., eds.; Elsevier: Oxford, 2008.
154. Li, H.; Ye, Z. H.; Chan, W. F.; Chen, X. W.; Wu, F. Y.; Wu, S. C.; Wong, M. H.; *Environ. Pollut.* **2011a**, *159*, 2537.
155. Li, H.; Wu, C.; Ye, Z. H.; Wu, S. C.; Wu, F. Y.; Wong, M. H.; *J. Hazard. Mater.* **2011b**, *194*, 414.
156. Bae, M.; Watanabe, C.; Inaoka, T.; Sekiyama, M.; Sudo, N.; Bokul, M. H.; Ohtsuka, R.; *Lancet* **2002**, *360*, 1839.
157. Sengupta, M. K.; Hossain, A.; Mukherjee, A.; Ahamed, S.; Das, S.; Nayak, B.; Pal, A.; Chakraborti, D.; *Food Chem. Toxicol.* **2006**, *44*, 1823.
158. European Food Safety Authority. EFSA; *EFSA J.* 2009.
159. <http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/fsis0209arsenicinrice.pdf>, acessada em Março 2014.
160. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. JECFAa; Evaluation of certain contaminants in food: thirty third report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, World Health Organization: Geneva, 1988.
161. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. JECFAc; Discussion paper on possibility to develop a code of practice for the prevention and reduction of arsenic contamination in rice: seventh session, Moscow, Russian Federation, 2013.
162. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. JECFAb; Evaluation of certain contaminants in food: seventy-second report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, World Health Organization: Rome, 2010.
163. <http://www.fda.gov/Food/FoodborneIllnessContaminants/Metals/ucm280202.htm>, acessada em Março 2014.
164. <http://www.fda.gov/food/foodborneillnesscontaminants/metals/ucm319870.htm>, acessada em Março 2014.
165. <http://www.fao.org/news/story/en/item/238802/icode/>, acessada em Julho 2014.