

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**ARSÊNIO NO ARROZ E CEREAL INFANTIL E SEU POSSÍVEL IMPACTO
TOXICOLÓGICO NA SAÚDE**

NURYAN DOS SANTOS FÃO

Porto Alegre, 2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

ARSÊNIO NO ARROZ E CEREAL INFANTIL E SEU POSSÍVEL IMPACTO
TOXICOLÓGICO NA SAÚDE

Dissertação apresentada por **Nuryan
dos Santos Fão** para obtenção do
GRAU DE MESTRE em Ciências
Farmacêuticas

Orientadora: Prof. Dr. Solange Cristina Garcia

Porto Alegre, 2018

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, em nível de Mestrado, da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul em 29 de março de 2018 pela Banca Examinadora constituída por:

Prof. Dr. Marcelo Dutra Arbo

Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Prof. Dr. Marina Venzon Antunes

Universidade Feevale

Prof. Dr. Natália Brucker

Universidade Federal de Santa Maria (UFSM)

Dr. Sabrina Nunes do Nascimento (Banca Suplente)

Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

CIP - Catalogação na Publicação

dos Santos Fão, Nuryan
Arsênio no arroz e cereal infantil e seu possível
impacto toxicológico na saúde / Nuryan dos Santos
Fão. -- 2018.
79 f.
Orientador: SOLANGE CRISTINA GARCIA.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa
de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Porto
Alegre, BR-RS, 2018.

1. Toxicologia . 2. Arroz. 3. Cereal infantil. 4.
Arsênio. 5. Efeitos tóxicos. I. GARCIA, SOLANGE
CRISTINA, orient. II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Este trabalho foi desenvolvido sob a orientação da Prof. Dr. Solange Cristina Garcia no Laboratório de Toxicologia (LATOX) da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). A pesquisa foi financiada pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (Processo N° 440175/2014-3) pela aprovação da Chamada CNPq/ANVISA N° 05/2014 – Pesquisas em Vigilância Sanitária: “Linha 5. Avaliação de contaminantes e resíduos associados à produção de alimentos: (A) Ocorrência de arsênio inorgânico em arroz”. Nuryan dos Santos Fão recebeu bolsa de mestrado do CNPq.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida, pela saúde e por permitir que eu tenha pessoas incríveis ao meu redor.

À minha família, por todo o apoio, amor e carinho. Aos meus pais, Sonia e Mario Fão, pela minha vida e pelas oportunidades que sempre me proporcionaram. Agradeço especialmente à minha mãe, Sonia, por ser mais do que uma mãe, ser uma grande amiga, por sempre me apoiar e incentivar. Obrigado por todo o amor e cuidado que sempre dedicou a mim e por estar sempre preocupada comigo. E ao meu pai que foi fundamental para formação da minha personalidade e que me mostrou o real valor das coisas.

À minha namorada Deise Daiane, pelo amor, amizade e companheirismo e que mesmo à distância, foi minha parceira e melhor amiga. Obrigado por fazer parte de mais uma etapa importante da minha vida e por estar sempre ao meu lado nos momentos difíceis.

Aos meus amigos. Obrigada por todos os sorrisos e bons momentos compartilhados. Em especial, aos meus amigos daqui de Porto Alegre principalmente os do laboratório e da Faculdade de Farmácia da UFRGS que me ajudaram muito desde o primeiro dia. Saibam que minha vida não teria o mesmo valor sem a presença de vocês.

À Professora Solange Garcia, pela confiança depositada em mim. Por ter acreditado no meu potencial e pela oportunidade de fazer parte do seu grupo de pesquisa, o qual eu considero uma família. Obrigado por ter permitido que esse trabalho fosse realizado.

Às Professoras Adriana Gioda, Tatiana Saint´Pierre e seus alunos Enrique, Alex e Rafael, pela ótima recepção e pela colaboração neste trabalho.

Aos Professores Marcelo Arbo, Marina Antunes e Natália Brucker por aceitarem o convite para compor a banca examinadora desta dissertação.

A todos os amigos e colegas do grupo LATOX. Que passaram esses dois anos e meio comigo, obrigado por tudo, pela amizade, pelos vários momentos de alegria e risadas e também de muito trabalho e aprendizado. Fui realmente transformado nesse tempo que passei com vocês, aprendi muito, vocês foram mais que meus amigos foram minha família aqui desde o início. Muito obrigado: Gabi, Bruna, Elisa, Jé, Lari, Marcelo, Carol, Guilherme, Solange, Shanda, Wesley, Otávio, Ingrid, Daia, Yasmin, Kimberly e Nícolas.

E em especial à Sabrina, que me ajudou muito e foi extremamente fundamental neste trabalho. Sem ela com certeza eu não teria terminado essa dissertação e muito menos conseguido fazê-la. Então aqui está meu agradecimento de coração a você. Obrigado Sá.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul, por me proporcionar a oportunidade de cursar uma pós-graduação.

E ao CNPQ pelo fomento a pesquisa e pela concessão da bolsa.

APRESENTAÇÃO

Esta dissertação está estruturada na forma de encarte de publicações submetidas e/ou publicadas e dividida em seções da seguinte maneira: Introdução, Revisão da Literatura, Objetivos, Manuscrito presente no Capítulo 1, Discussão, Conclusões e Referências Bibliográficas.

A Introdução apresenta de uma forma geral o embasamento teórico no qual a proposta deste trabalho foi construída. Os Materiais e Métodos, Resultados e as Referências Bibliográficas pertinentes à publicação específica encontram-se dentro do Capítulo 1.

RESUMO

O arsênio (As) é um elemento tóxico classificado como pertencente ao grupo 1A de carcinogenicidade pela Agência Internacional de Pesquisa do Câncer (IARC). A exposição a este metaloide pode levar a vários riscos à saúde, especialmente muitos tipos de câncer como de pulmão, rim, pele e bexiga. As principais fontes de exposição ao As são por meio da ingestão de água e alimentos contaminados. O arroz (*Oryza sativa L.*) é um dos alimentos que pode conter contaminação por altas concentrações de As, uma vez que possui maior capacidade de absorver este elemento e por sua forma de cultivo ser realizada, na grande maioria, em solos alagados com condições anaeróbicas. Neste trabalho, o As total (tAs) foi quantificado por espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) nos principais tipos e marcas de arroz ($n=103$) e cereais infantis ($n=27$) comercializados e consumidos pela população brasileira. As concentrações de tAs encontradas nas amostras de arroz foram comparadas com os limites máximos de As permitidos por agências regulatórias, bem como as concentrações obtidas em outros estudos. Adicionalmente, foi avaliada a estimativa de ingestão diária de As do arroz consumido. As concentrações de tAs nas amostras de arroz variaram de <0.003 à $1,3$ mg/kg, com uma média de $0,263$ mg/kg. Cerca de 27% das amostras de arroz continham tAs acima do limite estabelecido pelo Mercosul ($0,3$ mg/kg) e 45% das amostras acima da legislação europeia ($0,2$ mg/kg). Comparando-se com a legislação da China, que preconiza um limite máximo de $0,15$ mg/kg, um dos maiores produtores e consumidores de arroz do mundo, 93 das 103 amostras (90%) seriam reprovadas. Dentre os cereais infantis, verificou-se que os cereais à base de arroz ou que continham arroz como um dos principais ingredientes apresentaram uma maior quantidade de tAs em comparação com os cereais multigrãos. Em resumo, conclui-se com este estudo que existem marcas de arroz e cereais infantis comercializadas que apresentam níveis de tAs elevados em comparação aos níveis máximos preconizados pelas legislações, tanto do Brasil quanto de outros países, podendo trazer riscos para a saúde da população exposta.

Palavras-chave: Arsênio; arroz; cereais infantis; ICP-MS; efeitos tóxicos.

ABSTRACT

Arsenic in rice and infant cereal and its possible toxicological impact on health

Arsenic (As) is a toxic element in the first position on the priority list of hazardous substances of the Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Exposure to this metalloid can lead to various health risks, especially many types of cancer like lung, kidney, skin and bladder. The main forms of exposure to As are through ingestion of contaminated food and water. Rice (*Oryza sativa* L.) is one of the foods that may contain contamination by high concentrations of As, since it has a greater capacity to absorb this element and because its cultivation is carried out mainly in soils flooded with anaerobic conditions. In this work, the total As (tAs) was quantified by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) in the main types and brands of rice ($n= 103$) and infant cereals ($n= 27$) marketed and consumed by the Brazilian population. The tAs concentrations found in this study in rice samples were compared with the maximum limits established by regulatory agencies, as well as with values obtained in other studies. In addition, we estimated the daily intake of As by Brazilians, by means of a calculation, which takes into account the consumption of rice. The concentrations of tAs in the rice samples ranged from <0.003 to 1.3 mg kg^{-1} , with a mean of 0.263 mg kg^{-1} . Approximately 27% of the rice samples contained tAs above maximum limit established by Mercosur (0.3 mg kg^{-1}) and 45% of samples above the maximum limit of the European legislation (0.2 mg kg^{-1}). Compared with China's legislation, which preconize a maximum limit of 0.15 mg kg^{-1} , one of the world's largest rice producers and consumers, 93 of the 103 samples (90%) would be disapproved. Among the infant cereals, it was found that rice cereals or that they contained rice as one of the main ingredients presented a higher amount of tAs compared to multigrain cereals. In summary, it is concluded that there are marketed rice and infant cereal brands which have high levels of tAs compared to maximum levels recommended by legislations, both from Brazil and from other countries, which could bring risks to the health of the exposed population.

Keywords: Arsenic; rice; infant cereals; ICP-MS; toxic effects.

LISTA DE ABREVIATURAS

Al	Alumínio
ANA	Agência Nacional de Águas
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
Arcd	Amount of Rice Consumed Daily
As	Arsênio
iAs	Arsênio inorgânico
tAs	Arsênio total
As ³⁺	Arsênio Trivalente
As ⁵⁺	Arsênio Pentavalente
ATSDR	Agency for Toxic Substances and Disease Registry
BW	Body Weight
CAs	Mean Concentration of As
Cd	Cádmio
CM	Chicken Manure
Co	Cobalto
Cu	Cobre
DMA	Ácido Dimetilarsínico
EDI	Estimation of the Daily Intake
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
EU	União Europeia
EUA	Estados Unidos da América
P	Fósforo
FAO	Food and Agriculture Organization
FDA	Food and Drug Administration
Fe	Ferro
g	Gramas
GBH	Glyphosate-Based Herbicide
HBBF	Healthy Babies Bright Futures
HCl	Ácido Clorídrico
Hg	Mercúrio
HNO ₃	Ácido Nítrico
IARC	International Agency for Research on Cancer
iAs	Arsênio Inorgânico
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICP-MS	Espectroscopia de Massas com Fonte de Plasma Indutivamente Acoplado
ISTP	Ingestão Semanal Tolerável Provisória
JECFA	Joint Expert Committee on Food Additives
Kg	Quilos
kg ha ⁻¹	Quilos por Hectare
LD	Limite de Detecção
LOD	Limit of detection
LOQ	Limit of Quantification

LQ	Limite de Quantificação
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
Mg	Magnésio
mg	Miligramas
mg/kg	Miligramas por Quilo
ML	Maximum Level
MMA	Ácido Monometilarsônico
ng	Nanogramas
ng/g	Nanogramas por Grama
O	Oxigênio
oAs	Arsênio Orgânico
OMS	Organização Mundial de Saúde
Pb	Chumbo
ppb	Partes por Bilhão
ppm	Partes por Milhão
PTWI	Provisional Tolerable Weekly Intake
PUC-RJ	Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro
S	Enxofre
t ha ⁻¹	Toneladas por Hectare
tAs	Arsênio Total
TSP	Triple Super Phosphate
UFRGS	Universidade Federal do Rio Grande do Sul
USA	United States of America
WHO	World Health Organization
Zn	Zinco
µg	Microgramas
µg/g	Microgramas por Grama
µg/kg	Microgramas por Quilo

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO.....	189
2.REVISÃO DA LITERATURA.....	221
2.1. Toxicologia ambiental e de alimentos	221
2.2. Metais e metaloides	222
2.2.1. Metais Essenciais e Metais Tóxicos	22
2.2.2. Fontes de exposição.....	23
2.2.3. Origem e utilização do Arsênio	24
2.3. Contaminação de alimentos e água por Arsênio.....	26
2.3.1. Fontes Naturais de Arsênio	26
2.3.2. Fontes externas de Arsênio	27
2.4. Agrotóxicos e fertilizantes	288
2.5. Anticoccidianos	299
2.6. Cultivo de arroz	30
3. OBJETIVOS.....	33
3.1 Objetivo geral	33
3.2 Objetivos específicos	33
capítulo 1 - MANUSCRITO	35
<i>Determination of total arsenic (<i>t</i>As) levels in brazilian rice and infant cereals.</i>	37
4. DISCUSSÃO.....	63
5.CONCLUSÕES.....	6767
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	689

1.INTRODUÇÃO

O elemento arsênio (As) é classificado como semimetal (metaloide), de cor cinza ou metálica, classificado pela Agência Internacional para Pesquisa do Câncer (IARC) como altamente tóxico e cancerígeno para os seres humanos (Grupo 1A), apresentando toxicidade aguda e crônica. É absorvido pelo organismo humano principalmente por inalação e ingestão e, apesar de ser obtido exclusivamente como subproduto na extração de outras substâncias, existe uma superprodução global de compostos de As (MÉNDEZ-GÓMEZ *et al.*, 2008).

Existem basicamente dois tipos de compostos de As: os compostos orgânicos e os inorgânicos. As formas inorgânicas (*i*As), arsenito (As^{3+}) e arsenato (As^{5+}), são cem vezes mais tóxicas que as formas orgânicas metiladas, ácido monometilarsônico (MMA) e ácido dimetilarsínico (DMA). O As^{3+} é cerca de sessenta vezes mais tóxico do que a forma pentavalente. Os ácidos DMA e MMA são considerados possivelmente cancerígenos para os seres humanos (Grupo 2B), enquanto arsenobetaina e arsenocolina são consideradas não tóxicas (IARC, 2012; PINHEIRO, 2016).

As diversas formas do As encontradas no ambiente são de origem tanto natural quanto antropogênica. Erosão de rochas que contêm As e erupções vulcânicas são as principais fontes naturais de As. A contaminação causada pela mineração e fundição de minérios e o uso de As em agrotóxicos são as principais fontes antropogênicas. Por meio destas fontes, o As contamina solos, água e ar (MARTINEZ *et al.*, 2011).

Assim, o elemento pode estar presente em muitos alimentos, incluindo grãos, frutas e legumes. Enquanto a maioria das culturas não absorve o As presente no solo, o arroz o absorve facilmente a partir do solo e da água, muito mais facilmente do que outros grãos porque a raiz da planta confunde as formas de *i*As, arsenito (As^{3+}) e arsenato (As^{5+}), com compostos de silício e fósforo, já que apresentam estruturas químicas muito parecidas (ácido silícico e fosfato), que são essenciais para a integridade estrutural e a saúde da planta (NORTON *et al.*, 2012). Além do arroz e outros grãos, alguns frutos do mar têm altos níveis de As devido à sua capacidade de absorvê-lo e metaboliza-lo (PINHEIRO, 2016).

Sendo assim, a agência americana *Food and Drug Administration* (FDA) monitora desde 1991 a presença de As total (tAs), soma das frações orgânica e inorgânica, em uma variedade de alimentos, incluindo o arroz. A contaminação de As em alimentos pode ser originada durante seu plantio e/ou processamento, já que altos níveis do elemento encontram-se no solo ou na água utilizada oriunda de atividades industriais e/ou agropecuárias. Sua ingestão em longo prazo vem sendo associada a uma série de efeitos adversos à saúde humana, como lesões na pele, desenvolvimento de cânceres de pele, pulmão, bexiga e rim, doenças cardiovasculares (hipertensão, arritmias e disfunção vascular), desequilíbrio do metabolismo da glicose e diabetes. A exposição crônica pode resultar ainda em doenças como conjuntivite, hiperqueratose, hiperpigmentação e gangrena nos membros (PINHEIRO, 2016). Ainda, a exposição crônica a níveis baixos de As, em razão de sua alta toxicidade, também está correlacionada com náuseas e vômito, redução de glóbulos vermelhos e brancos, arritmias, lesão de vasos sanguíneos e sensação de formigamento na extremidade dos membros (MÉNDEZ-GÓMEZ *et al.*, 2008).

Assim, devido ao elevado grau de toxicidade do As, sua quantificação em alimentos exige um constante aprimoramento dos procedimentos analíticos visando detectar concentrações com precisão e exatidão. Neste contexto, o foco principal do presente estudo foi avaliar o nível de contaminação por tAs em amostras de arroz e cereais infantis produzidos e comercializados na região sul do Brasil, com adicional análise de risco à população.

2.REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Toxicologia ambiental e de alimentos

A toxicologia ambiental é uma das grandes áreas da toxicologia, voltada ao estudo dos efeitos tóxicos de contaminantes ambientais presentes no ar, água e solo, sobre os organismos vivos. Seu objetivo é conhecer os agentes tóxicos ambientais para que o controle destes possa ser realizado, visando prevenir ou minimizar danos a populações. Já a toxicologia de alimentos, outra grande área da toxicologia, está voltada ao estudo dos efeitos nocivos provocados por substâncias químicas presentes em alimentos, para definir as condições em que estes podem ser ingeridos sem causar danos ao organismo. Assim, ambas as áreas são fundamentais para se entender, estudar e identificar as possíveis fontes de contaminação na cadeia alimentar, tanto de fontes naturais como de atividades antropogênicas, incluindo a geração de resíduos industriais, esgoto, lixo e agrotóxicos (OGA, 2008).

Os agrotóxicos são produtos químicos extensivamente utilizados na agricultura para controlar pestes e insetos que atacam as plantações, e são um ponto comum de contaminação nas toxicologias ambiental e de alimentos (KHAN *et al.*, 2013). Embora beneficiem amplamente a vida humana por meio do controle de pragas na lavoura e da possibilidade de produção em larga escala, os agrotóxicos estão entre os principais contaminantes químicos ambientais dos dias de hoje (MOSTAFALOU E ABDOLLAHI, 2013).

O Brasil é um grande utilizador de agrotóxicos, sendo considerado o maior consumidor mundial (BENEDETTI *et al.*, 2013). Segundo dados da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), a região Sul representa 31% do consumo brasileiro e o Rio Grande do Sul está entre os Estados que mais utilizam agrotóxicos. Estes produtos têm a capacidade de causar efeitos adversos à saúde humana ao mesmo tempo em que contaminam o ambiente, devido à grande quantidade de substâncias químicas e metais na sua composição (KHAN *et al.*, 2013).

2.2. Metais e metaloides

Metais e metaloides (elementos químicos intermediários que possuem algumas características químicas e físicas tanto de metais quanto de ametais) estão amplamente distribuídos no meio ambiente e são extremamente significativos, pela sua infinidade de utilizações, sua natureza fundamental na nutrição dos seres humanos e por sua toxicidade (PRAKASH *et al.*, 2014).

Todas as formas de vida, de algum jeito, são afetadas pela presença de metais e metaloides. Alguns são benéficos, enquanto outros causam danos aos sistemas biológicos, dependendo da dose e da forma química em que se encontram (OGA,2008).

A exposição humana a estes elementos torna-se inevitável já que são utilizados em processos industriais ou produtos de consumo (DE CASARETT E DOULL, 2012). Porém, a contaminação por metais tóxicos, gerada principalmente por atividades humanas, continua sendo um dos principais problemas de saúde pública. Isto porque estas substâncias podem causar sérios danos aos seres vivos, pois alteram estruturas celulares, enzimas, substituem metais co-fatores de atividades enzimáticas (SOYLAK *et al.*, 2006) e são capazes de ficar muito tempo no ambiente ou são incorporados na dieta alimentar das pessoas de forma imperceptível (RONDON *et al.*, 2015).

2.2.1. Metais Essenciais e Metais Tóxicos

Alguns metais são responsáveis pela manutenção de processos vitais no organismo, sendo essenciais em pequenas quantidades (traços) para o homem, como o ferro (Fe), zinco (Zn), magnésio (Mg), cobre (Cu) e cobalto (Co). Estes metais exercem diversas funções vitais, incluindo atuação como ativadores e co-fatores de numerosas enzimas relacionadas ao metabolismo energético e formação da hemoglobina. Se a quantidade limite desses metais for ultrapassada, efeitos tóxicos podem ocorrer, ocasionando problemas de saúde (RONDON *et al.*, 2015).

Metais tóxicos, propriamente ditos, são todos os metais que tendem ao processo de bioacumulação, ou seja, que não são metabolizados pelos organismos vivos e que tendem a se acumular no organismo, causando doenças. Os sintomas

da presença destes metais no organismo variam de algo extremamente sutil a doenças sérias, se este acúmulo for contínuo e progressivo (RONDON *et al.*, 2015).

Os principais metais tóxicos encontrados em alimentos são mercúrio (Hg), chumbo (Pb), alumínio (Al), cádmio (Cd) e o metaloide As. Esses elementos são muito reativos, interagindo facilmente com outras substâncias químicas para formar reações. Assim, agredem rapidamente as moléculas orgânicas do nosso organismo e comprometem permanentemente a sua função (SOUSA *et al.*, 2007).

Alguns metais tóxicos, como o Hg e o As, já fizeram parte da composição de agrotóxicos, contribuindo para os casos de intoxicação, constituindo uma das várias fontes de exposição (ATSDR, 1999; MEHARG e ZHAO, 2012).

2.2.2. Fontes de exposição

As principais fontes de exposição aos metais e metaloides são por meio de água e alimentos contaminados, já que hoje as atividades agrícolas e industriais dominam o fluxo global de metais no meio ambiente e se tornaram predominantes fontes de ligação destes contaminantes (PRAKASH *et al.*, 2014).

Metais podem contaminar o solo e a água durante o plantio, processamento, armazenamento, embalagem e inclusão de produtos para saborização e conservação de alimentos. Assim, a exposição de uma população saudável, não exposta ocupacionalmente, a metais tóxicos se dá basicamente por meio da dieta, principalmente dos alimentos que são consumidos diariamente e por longos períodos de tempo (MARÍN-MARTÍNEZ *et al.*, 2016).

A Organização Mundial da Saúde (OMS), inclusive, já reconhece que a ingestão de água contaminada com As é um problema de saúde pública, determinando que a concentração do elemento na água para consumo humano não deve exceder 10 µg/L (EDITION, 2011). Alimentos como cereais, vegetais, frutas e peixes podem conter quantidades importantes de As, podendo contribuir com mais de 50% da ingestão total de As. Entre esses alimentos, está o arroz (*Oryza sativa* L.), que se destaca por possuir uma maior capacidade de absorver o As quando comparado com outros alimentos (WILLIAMS *et al.*, 2007). Essa maior tendência de absorção do arroz se deve a sua forma de cultivo que é, na grande maioria dos casos, realizada em solos alagados com condições anaeróbicas (XU *et al.*, 2008; RAHMAN, 2011).

Assim, o elemento fica predominantemente na sua forma mais tóxica, As^{3+} , que possui alta solubilidade em água e mobilidade no solo, sendo facilmente absorvido pelas raízes de arroz e transportado para toda planta chegando até os grãos, sendo transferido para produtos derivados do arroz, como biscoitos, cremes ou cereais. Além disso, o As pode se acumular no solo dos arrozais, agravando ainda mais o problema (MEHARG, 2003; XU *et al.*, 2008; WATSON, 2014; LI *et al.*, 2017).

2.2.3. Origem e utilização do Arsênio

O As é um metaloide, cristalino, inodoro, quebradiço, com um brilho quase metálico. Aproximadamente 0,00005% da crosta terrestre é composta por As, que ocupa 51º lugar da lista de elementos que ocorrem naturalmente. É distribuído em quantidades traço, em combinação com os elementos enxofre (S), oxigênio (O) e Fe, em rochas solidificadas, carvão, águas doces e marinhas, como também na fauna e flora. O As elementar e seus compostos são encontrados em maiores quantidades em minérios que contêm grupos sulfidrílicos ou ligado a metais que tenham sido obtidos destes (JAIN, 2000).

Paracelso foi quem, pela primeira vez, teria feito a descrição do As elementar. Durante muitos anos foi considerado o rei dos venenos, sendo um grande agente envenenador na Idade Média e no início do século XX, na qual suas características ajudaram na sua popularidade como veneno: o sabor adocicado, o aspecto inofensivo, insipidez, fácil de ser misturado a outros alimentos e falta de sintomas de intoxicação característicos, facilitando a simulação de uma doença (GONÇALVES, 2011).

Apesar de o As ter estado associado a envenenamentos criminais por muitos séculos, seu tópico de maior interesse hoje é sua contribuição na contaminação do meio ambiente por meio das suas várias formas de utilização. Os sais de As já foram frequentemente usados na preparação de fungicidas (MALS– bisdodecil-sulfeto de metil arsênico), raticidas e principalmente inseticidas, como arsenato de chumbo e, em menor frequência, como arsenato e arsenito de cálcio, sódio e acetoarsenato cúprico (Verde de Paris) (BRAIBANTE, 2012).

O As também possui aplicações eletrônicas, onde As de alta pureza é usado na produção de semicondutores (GaAs e InAs). Na medicina veterinária, é usado

para combater infecções e aliviar o envenenamento por selênio em animais e, na medicina atual, o As_2O_3 é usado como terapia alternativa quando pacientes com leucemia pró-mielocítica aguda não respondem ao tratamento quimioterápico convencional.

2.2.3.1. Toxicidade do Arsênio

A toxicidade do As é dependente da sua forma química e varia com seu estado de oxidação. Biologicamente, o As^{3+} é mais móvel no solo, solúvel em água e tóxico do que o As^{5+} , sendo as formas inorgânicas mais tóxicas que as orgânicas porque a metilação do As no organismo parece ser um processo de desintoxicação. Porém, ambas as formas de As são tóxicas e desencadeiam efeitos nocivos em seres humanos, plantas e animais (JAIN, 2000; JAYASUMANA *et al.*, 2015; LI *et al.*, 2017).

O As é classificado, segundo a IARC, como uma substância carcinogênica para humanos, do grupo 1A, extremamente tóxico (IARC, 2004). O elemento tem sido objeto de muito interesse, sob o ponto de vista ambiental e da saúde humana, pois possui propriedades mutagênicas, podendo causar aberrações cromossômicas e genotoxicidade (AHMED *et al.*, 2015).

A exposição crônica por meio do consumo de alimentos e/ou água contaminada com As está normalmente associada ao aparecimento de doenças da pele, bem como ao aumento da incidência de câncer de pulmão, pele, bexiga e outros órgãos. As manifestações clínicas gerais do envenenamento crônico são, geralmente, sintomas como lesões na pele, melanoses, conjuntivites e queratoses (BASU *et al.*, 2001; EDITION, 2011).

A ingestão aguda, geralmente está associada a incidentes criminais levando, geralmente, à morte causando sintomas como náuseas, vômitos, calor na garganta, sede excessiva e dores abdominais, que se produzem após 30 minutos da ingestão do elemento (PRAKASH *et al.*, 2014). Outras vias alternativas de intoxicação são por meio de inalação e exposição dérmica (PINHEIRO, 2016).

Na ingestão por via oral, a absorção se faz no estômago, intestino, seguida da passagem ao fluxo sanguíneo (PINHEIRO, 2016). Para produzir energia eficazmente, nosso corpo precisa metabolizar totalmente a glicose da alimentação.

Porém, o As é capaz de inibir enzimas importantes nesse processo. O elemento atua como substituto instável do fósforo na ampla gama de processos bioquímicos e nutricionais, impedindo o funcionamento normal do organismo e causando danos à saúde (MÉNDEZ-GÓMEZ *et al.*, 2008). O As também tem sido associado com o aumento da glicemia e diminuição da sensibilidade das células pela insulina, dificultando a absorção de glicose. A toxicidade do As afetaria as células beta-pancreáticas alterando a homeostase da glicose, refletindo em uma possível associação entre a exposição ao elemento e a incidência de diabetes mellitus (HASSAN *et al.* 2017).

A *Joint Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA)*, havia estabelecido uma ingestão semanal tolerável provisória (ISTP) para iAs de 15 µg/kg de peso corporal, ou 3,0 µg/kg de peso corporal por dia. No entanto, esta ISTP logo foi retirada. A incidência de uma série de efeitos adversos relacionados à exposição a iAs, como câncer de pulmão, foi relatada em exposições à iAs inferiores à ISTP, fazendo com que a JECFA não a considerasse mais apropriada (JOINT *et al.*,2010; LEE, *et al.*, 2018).

Na Resolução de 29 de agosto de 2013 (RDC nº 42), que dispõe sobre o regulamento técnico MERCOSUL sobre limites máximos de contaminantes inorgânicos em alimentos, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) do Brasil estabeleceu um nível máximo de 0,3 mg/kg para o As no arroz (BRAISL, 2013). No entanto, novos regulamentos da União Europeia recomendam o limite de 0,1 mg/kg para produtos destinados a lactantes (EUROPEAN COMMISSION, 2015).

A exposição ao As por meio dos alimentos é bastante preocupante para alguns grupos de risco, como asiáticos, que cobrem suas necessidades de carboidratos principalmente por meio do consumo de arroz, além de celíacos, que substituem grãos e cereais contendo glúten por arroz e seus produtos derivados, e crianças e bebês que podem ingerir maiores quantidades de As na alimentação em relação ao seu peso corporal (KARAGAS *et al.*, 2016).

2.3. Contaminação de alimentos e água por Arsênio

2.3.1. Fontes Naturais de Arsênio

O As é encontrado de forma natural em certas formações rochosas e alguns tipos de solos. Em rochas ígneas, as concentrações de As são baixas, atingindo valor médio de 1,5 mg/kg. Para as rochas metamórficas, o valor médio é cerca de 5 mg/kg, já para rochas sedimentares as concentrações variam entre 5 a 10 mg/kg. Em solos, as concentrações de As são da ordem de 5 a 10 mg/kg. Os solos que contêm naturalmente As estão relacionados a ambientes geológicos como: formações vulcânicas, formações vulcano-sedimentares, sistemas hidrotermais, bacias aluviais terciárias e quaternárias e filões mineralizados que são comuns em países com este tipo de formação geológica, tais como Malásia, Chile, Indonésia, Japão e Nicarágua (GONÇALVES, 2011).

Concentrações naturais de As em águas superficiais limpas não tratadas, geralmente não ultrapassam o intervalo de 1-10 µg/L. As grandes concentrações naturais de As na água (>1000 µg/L) são encontradas em águas subterrâneas de alguns locais específicos de países como Taiwan, Índia e Bangladesh, onde já ocorrem casos de intoxicação da população por As na água (SILVA, 2011).

2.3.2. Fontes externas de Arsênio

A diferença das contaminações de As de origem antropogênica para as de ocorrência natural é que a primeira é de caráter local e a segunda afeta grandes áreas, sendo de caráter regional. No Rio Grande do Sul, um dos Estados que mais cultivam e produzem arroz no Brasil, os solos são de origem não vulcânica e as rochas que originaram os solos não possuem As na sua composição (POLETTI, 2012; FEDEARROZ, 2017).

As fontes indiretas e externas de contaminação por As incluem conservantes de madeira, como o arseniato de cobre cromado, usado para aumentar o tempo de vida esperado da madeira e livrá-la de fungos e cupins mastigadores de madeira (NICO *et al.*, 2004), resíduos industriais de atividades de mineração e queima de carvão. Na China, por exemplo, o teor de As do carvão relativo à mineralização do ouro na Província de Guizhou chegou a 35 mil ppm. O carvão era queimado em ambientes abertos e, como resultado, o As era precipitado e posteriormente se concentrava em alimentos produzidos na região, como milho (5-20 ppm) e pimenta (100-800 ppm), resultando em sérios problemas de saúde à população local

(BAOSHAN *et al.*, 2005). Além disso, o As pode ser utilizado em produtos anticoccidianos na avicultura, como auxiliar no controle da coccidiose em frangos de corte. E principalmente ser utilizado na agricultura, em agrotóxicos e fertilizantes com As e/ou seu derivados em sua composição (GONÇALVES, 2011; JAYASUMANA *et al.*, 2015).

2.4. Agrotóxicos e fertilizantes

No século XIV, os chineses foram os primeiros a começarem a utilizar compostos de As para controlar insetos. Eles desenvolveram outros métodos de controle de pragas, como compostos à base de Hg e As para combater piolhos e outras pestes. No final do século XIX, foram sintetizados diversos compostos a fim de controlar diferentes pragas, dentre eles o arsenito de cobre, também conhecido como Verde de Paris para controlar o besouro da batata nos Estados Unidos (BRAIBANTE, 2012).

Em 1936, os primeiros inseticidas a serem utilizados na agricultura brasileira foram compostos inorgânicos e produtos de origem vegetal. Entre os compostos inorgânicos, eram utilizados o arsênico de cálcio, o arseniato de chumbo, a calda bordalesa e o Verde de Paris. Em 1944, os produtos de maior uso eram o arsênico, os arseniados, sulfato de cobre, sulfeto de carbono, enxofre e o Verde de Paris (PANCOTTO, 2013).

Até hoje, os Estados Unidos sofrem com a contaminação dos arrozais por As, pelo fato do arroz ser cultivado nestes campos contaminados que, no passado, foram utilizados para o plantio de algodão (MEHARG e ZHAO, 2012). Entre 1980 e 1990, por exemplo, foi relatado que cerca de 15 milhões de libras de agrotóxicos à base de As, que equivale a 6,8 milhões de kg de As, foram aplicados nos solos de Nova Jersey (EUA) (MURPHY, 1998).

Em 2013, na China, um estudo verificou que agrotóxicos à base de As haviam sido utilizados perto de um poço que fornecia água potável a uma família, em que oito membros foram diagnosticados com câncer de pele. Este estudo elucidou os efeitos dos compostos arsênicos sobre o meio ambiente e o impacto grave de sua exposição à saúde humana (LI *et al.*, 2016).

Muitos agrotóxicos atualmente utilizados possuem em sua composição uma grande combinação de compostos tóxicos e, devido à grande mistura química, estes geralmente não são relatados nos rótulos dos produtos (BRAIBANTE, 2012). No Sri Lanka, foram analisadas 273 amostras de agrotóxicos. A grande maioria dos agroquímicos estava contaminada com As, embora os agrotóxicos contendo As estejam proibidos no Sri Lanka. Os achados sugerem que os agroquímicos, especialmente os fertilizantes de fosfato, são uma importante fonte de As inorgânico (JAYASUMANA *et al.*, 2015).

Em um artigo publicado recentemente, Defarge e colaboradores (2018) mostraram que as avaliações regulatórias atuais dos herbicidas mais utilizados no mundo são incorretas, e que estes contêm componentes, como o As, em sua composição, sendo este encontrado regularmente em níveis tóxicos em herbicidas à base de glifosato (GBH), petróleo e outros pesticidas.

2.5. Anticoccidianos

Na avicultura, para se garantir uma melhor pigmentação da carne das aves, promover uma aceleração do crescimento, ganho de peso e eliminar parasitas causadores de doenças, como a coccidiose, aditivos alimentares à base de As são utilizados na ração dos frangos. Dentre eles, se destaca o roxarsone (3-Nitro[®]) ou ácido 3-nitro-4-hidroxifenilarsênico (DIONÍSIO, 2011).

O roxarsone, descoberto nos anos 40 pela indústria farmacêutica, era o aditivo mais comum à base de As orgânico utilizado na alimentação de frangos de corte. Era misturado na dieta de cerca de 70% dos 9 bilhões de frangos de corte produzidos anualmente nos EUA. Esse composto era considerado relativamente benigno, até surgirem suspeitas de que o perigo para a saúde humana poderia ser maior do que se pensava, porque a degradação metabólica desses compostos em galinhas poderia ser convertida às formas mais tóxicas do As, suas formas inorgânicas As^{3+} e As^{5+} (NACHMAN, 2013).

Em 1999, a preocupação com o As inorgânico no roxarsone estimulou a União Europeia a proibir seu uso, e um grande produtor de frangos dos EUA, Tyson, temendo problemas futuros, parou de usá-lo em 2004. O resto da indústria, porém, continuou o seu uso. Em 2006, o departamento de engenharia química e ambiental

da Universidade do Arizona informou que, sob condições anaeróbicas, o roxarsone era convertido a iAs, tornando-se altamente tóxico (CORTINAS, 2006).

Em 2007, foi relatado que micro-organismos do gênero *Clostridium*, comuns em ninhadas de frango, eram capazes de converter, em menos de 10 dias, o roxarsone das fezes do frango em As⁵⁺. O esterco, rico em matéria orgânica, e condições anaeróbicas fornecem as condições necessárias para que as populações microbianas nativas convertam o roxarsone em iAs, aumentando a concentração deste no solo, já que é espalhado em campos de fazenda e convertido em adubo granulado amplamente utilizado, movendo-se muito longe de sua origem e podendo ser facilmente lixiviado para águas subterrâneas (STOLZ, 2007).

Outros estudos encontraram níveis elevados de iAs na água da torneira, onde o estrume de frangos tratados com roxarsone se espalhou (HILEMAN, 2007) e níveis detectáveis de iAs ≥ 10 µg/kg de peso seco, em carnes de frango, de supermercado, criados com medicamentos à base de As (NACHMAN, 2013).

Assim, há três caminhos pelos quais anticoccidianos podem contribuir para a exposição humana ao As: ao ser excretado pelas ninhadas de frango, contaminando o solo e as águas subterrâneas; por meio da carne de frango, em pequenas quantidades, aumentando a ingestão dietética de As; e depois que o estrume é espalhado como adubo em pequenas plantações domésticas ou grandes lavouras agrícolas contaminando os produtos da plantação (NACHMAN, 2013; PENG *et al.*, 2017).

Os suplementos alimentares que contêm As foram banidos da União Europeia desde 1999 e na América do Norte em 2013. Porém, o roxarsone e outros anticoccidianos, como o Nitarsone ou QualipacM[®] (que contém 8g de ácido 3-nitro-4-hidroxifenilarsênico a cada 100 g de produto), ainda estão aprovados pelo Ministério da Agricultura, para uso em frangos e suínos, em países como México, Chile, Argentina, Peru, Venezuela, Brasil, Jordânia e Paquistão (WTO, 2015).

2.6. Cultivo de arroz

O mercado consumidor de produtos in natura ou processados tem exigido requerimentos fitossanitários rigorosos, o que exige uma visão diferenciada de produção de arroz, priorizando a segurança do alimento e do meio ambiente. Nesse

enfoque, a qualidade do grão é de vital importância para a conquista de novos nichos de mercado, principalmente quando considerada em relação ao Limite Máximo de Resíduos (LMR) aceito pelos países importadores e recomendado pelo Codex Alimentarius (FAO, 2017).

Se os resíduos químicos se encontram acima dos limites estabelecidos pelo Codex Alimentarius, podem causar enormes prejuízos aos produtores, visto a proibição imposta por mercados externos. Além disto, não oferecem segurança alimentar e ambiental para os consumidores internos, que estão exigindo uma produção mais limpa. Assim, níveis de resíduos de agrotóxicos devem ser monitorados para evitar barreiras econômicas.

A produção brasileira de arroz encontra-se dispersa em todo o território nacional. Existem dois tipos principais de sistemas básicos de produção, o arroz de "terras altas" e o irrigado, permitindo, ainda, a divisão em dois polos produtivos. O primeiro é na região Sul, produzindo arroz irrigado com alta tecnologia, destacando os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina; o segundo abrange as regiões Sudeste e Centro-Oeste, envolvendo São Paulo, Minas Gerais, Goiás e Mato Grosso. A área cultivada com arroz irrigado no Brasil atinge aproximadamente 1,3 milhões de hectares por ano, com uma produtividade média de 5200 kg/ha, perfazendo uma produção de 6,7 milhões de toneladas de arroz em casca (BATISTA *et al.*, 2011).

A cultura do arroz de sequeiro, pouco exigente em insumos e tolerante a solos ácidos, teve um destacado papel como cultura pioneira durante o processo de ocupação agrícola dos cerrados, iniciado na década de 60. Este processo de abertura de área teve seu pico no período entre 1975 e 1985, em que a cultura chegou a ocupar área superior a 4,5 milhões de hectares. Hoje, perfaz apenas 2,2 milhões de ha, mas a produção se mantém nos mesmos níveis da década de 70, devido ao grande aumento da produtividade, que cresceu para 2 t ha⁻¹ (50%). Em lavouras bem conduzidas, em áreas favorecidas quanto à distribuição de chuvas, como no Centro-Norte do Mato Grosso, pode-se alcançar mais de 4 t/ha, enquanto em nível experimental, tem-se obtido até 6 t/ha. A inserção do arroz como componente de sistemas agrícolas de sequeiro vem ocorrendo de forma gradual, especialmente na região Sudoeste e Centro-Norte do Mato Grosso (PINHEIRO, 2016).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Quantificar arsênio total (tAs) em amostras de arroz e cereais infantis consumidos pela população brasileira.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar as concentrações de tAs no arroz consumido pela população brasileira de diferentes marcas e tipos de arroz comercialmente disponíveis, provenientes da região Sul, Sudeste e Centro-Oeste;
- Avaliar as concentrações de tAs em amostras de cereais e farelos infantis, derivados e à base de arroz, consumidos pela população brasileira de diferentes marcas e tipos disponíveis, provenientes da região Sul, Sudeste e Centro-Oeste;
- Comparar os níveis de tAs encontrados nos diferentes tipos de arroz com legislações de segurança e estudos de outros locais e países;
- Calcular a estimativa de ingestão diária e semanal de As, considerando a média de As total no arroz branco consumida pela população brasileira.

CAPÍTULO 1 - MANUSCRITO

Determination of total arsenic (tAs) levels in brazilian rice and infant cereals

Submetido para publicação ao periódico *Drug and Chemical Toxicology*

Determination of total arsenic (tAs) levels in Brazilian rice and infant cereals

Nuryan Fão ^{a,b}; Sabrina Nascimento ^{a,b}; Alex De La Cruz ^c; Dionisio Calderon ^c; Rafael Rocha ^c; Tatiana Saint'Pierre ^c; Adriana Gioda ^c; Flavia V. Thiesen ^d; Natália Brucker ^e; Tatiana Emanuelli ^f; Solange Cristina Garcia^{a,b,*}

^aLaboratório de Toxicologia (LATOX), Departamento de Análises, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil.

^bPrograma de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil.

^cDepartamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC-Rio), Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

^dEscola de Ciências, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, RS, Brasil.

^eDepartamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria (UFSM), RS, Brasil.

^fPrograma de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brasil.

*Corresponding author at: Avenida Ipiranga 2752, Santa Cecília, Porto Alegre, RS, CEP: 90610-000, Brazil. Tel.: +55 3308 5297; fax: +55 51 3308 5437. E-mail address: solange.garcia@ufrgs.br (S.C. Garcia).

ABSTRACT

Arsenic (As) cause various health effects, especially cancer. The main sources of exposure to As are through ingestion of contaminated food and water. Rice (*Oryza sativa* L.) may contain high As concentrations, because has a great capacity to absorb this element and its cultivation is carried out mainly in soils flooded in anaerobic conditions. We quantified the total As (tAs) levels by ICP-MS in the main brands of rice (n= 103) and infant cereals (n= 27) consumed by Brazilians. Results were compared to the maximum limits preconized by regulatory agencies and the estimated daily intake (EDI) and margin of exposure (MOE) of As by the Brazilian population were also calculated. Moreover, tAs was determined in 11 pesticides used by Brazilian farmers. The tAs levels in rice ranged from <0.003 to 1.3 mg kg^{-1} (mean \pm SD: $0.26 \pm 0.15 \text{ mg kg}^{-1}$). Approximately 27% of samples contained tAs levels above the limit established by Mercosur (0.3 mg kg^{-1}) and 45% were above European legislation (0.2 mg kg^{-1}). In infant cereals, tAs levels ranged from <0.003 to 0.243 mg kg^{-1} (mean \pm SD: $0.084 \pm 0.06 \text{ mg kg}^{-1}$). Regarding pesticides, 10 had $tAs > 0.01 \text{ mg L}^{-1}$. The EDI showed that Brazilians consume $4.13 \mu\text{g As kg}^{-1}$ weekly. The present study has provided evidence that samples of rice and rice cereals marketed in Brazil showed high levels of tAs . This fact can be related to the contamination of As in pesticides and fertilizers leading to the accumulation of the metalloid in the soil.

Keywords: Arsenic; rice; infant cereals; ICP-MS; toxic effects.

Introduction

Arsenic (As) is a metalloid, commonly referred to as a metal, occurring naturally in the environment or coming from anthropogenic activities. It can be quantified in the form of total arsenic (tAs) or subdivided into organic (oAs) or inorganic (iAs) forms. Its major inorganic forms are As^{3+} (trivalent) and As^{5+} (pentavalent), while the organic forms are monomethylarsonic acid (MMA) and dimethylarsinic acid (DMA) (Alexander *et al.* 2009; Li *et al.* 2017). This element is one of the main toxic substances present on the Earth's crust, being, since 1997, the number one compound in the priority list of Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) of substances that pose the highest potential threat for human health (ATSDR 2018).

Exposure to As can lead to a number of toxicological effects in virtually all organs and tissues (Pineiro 2016; ATSDR 2018). According to the International Agency for Research on Cancer (IARC), iAs is classified as a recognized human carcinogen (Group 1), while the organic forms DMA and MMA are classified as possible human carcinogens (Group 2B). The occurrence of several types of cancer, such as skin, bladder, lung, liver, kidney, and prostate has been related to iAs exposure (Tapio and Grosche 2006; ATSDR 2007; IARC 2012). The main non-carcinogenic toxic effects resulting from exposure to As are hyperkeratinization and changes in skin pigmentation; peripheral neuropathy; effects on the renal system (chronic kidney disease); increased liver alterations; disorders in the hematological, endocrine, reproductive, and immune systems; hypertension and cardiovascular diseases. In addition, in children and infants, As may cause neurodevelopmental changes, reduction of intelligence quotient (IQ) and neurobehavioral alterations, and in pregnant women, it can increase the incidence of abortions, premature births and stillborn fetuses. The organic forms of As are

easily transferred from mother to fetus across the placenta, and cross the blood-brain barrier in infants (Alexander *et al.* 2009; Naujokas *et al.* 2013; Chiger and Lynch 2017).

The main sources of exposure to As are through the air and by ingestion of contaminated food and water (Al Rmali *et al.* 2005; Watson *et al.* 2014; Pinheiro 2016). The World Health Organization (WHO) determines that the concentration of As in water for human consumption should not exceed 0.01 mg L⁻¹ (WHO 2011). Besides that, many studies have shown that foods such as cereals, vegetables, fish and fruits may contain significant amounts of As (Sharma *et al.* 2014; Pinheiro 2016; De la Calle *et al.* 2017).

Rice (*Oryza sativa* L.) stands out for having a greater capacity to absorb As compared to other plants (Williams *et al.* 2007; Chiger and Lynch 2017). This great tendency to absorb As is explained by the physiological characteristics of rice and agricultural practices for this crop, which is mainly grown in flooded soils under anaerobic conditions (Xu *et al.* 2008; Rahman and Hasegawa 2011). As is predominantly found in rice in its most toxic form, As³⁺, which has high solubility in water and soil mobility. As is easily absorbed by rice roots transported to other plant parts, reaching the grains. Besides that, As can be accumulated in the soil of rice paddies aggravating the problem (Meharg and Rahman 2003; Watson *et al.* 2014; Li *et al.* 2017). Rice represents the staple food in diets around the world, including in Brazil, where the prevalence of rice consumption amounts to more than 80% of the population (IBGE 2010; Federarroz 2018). In this line, studies from Brazil have quantified As in samples of rice and derivatives in order to verify the degree of exposure that the population is subjected and the damages to health that this exposure can cause (Batista *et al.* 2011; Poletti *et al.* 2012; Mataveli *et al.* 2016; Ciminelli *et al.* 2017).

In addition, foods such as cereals, cookies, creams, baby porridge and other rice products may also contain significant amounts of As, being able to contribute with more than 50% of the total ingestion of the metalloid through the food. Because children daily diet is

based on these food products and they have lower body weight, they may ingest larger amounts of As relative to their body weight. Moreover, they are at a greater risk of health problems, especially if we take into account the non-carcinogenic effects of As (Karagas *et al.* 2016; Chiger and Lynch 2017).

Therefore, the aim of this study was to quantify the μAs in samples of rice and infant cereals consumed by the Brazilian population and calculate the estimated daily intake (EDI) and margin of exposure (MOE) of As through rice. Besides, the levels of μAs levels in the main pesticides used by Brazilian farmers were also determined to identify a possible source of rice contamination.

Material and methods

Collection and classification of samples

Rice samples

Between July 2016 and August 2017, 103 samples of 1 kg of different brands, and types of rice were purchased in supermarkets from Porto Alegre and metropolitan region. This location was chosen because Porto Alegre is the capital of Rio Grande do Sul State, the greater rice producer state in Brazil, contributing to more than 65% of Brazilian rice production. The samples are representative of the South, Southeast and Center-West regions of Brazil, totalizing 57 different brands and all were of the long thin class type 1, being divided by its subgroups as follows: white rice (polished) (n= 57); polished parboiled rice (n= 27); integral parboiled rice (n= 14) and brown rice (n= 5).

Infant cereal samples

Between July 2016 and August 2017, 27 infant cereal samples including cereals, creams, cookies and baby porridge of different brands, and types were purchased in supermarkets from Porto Alegre and metropolitan region, Southern Brazil. The samples are representative of all Brazilian regions totalizing 11 different brands and were divided as follows: cereals, creams and porridge made of rice (n= 4), cereals, creams and porridge with rice as the main ingredient (n= 6), cereals, creams and porridge with brown rice flour claimed in the formulation (n= 6) and cereals, creams and porridge made of multigrain and other ingredients (n=11).

Reagents

The water used was distilled, deionized and subsequently ultra-purified by the system Milli-Q (Millipore, Bedford, USA). The nitric acid (HNO₃) 65% P.A. (ISO FAR, Duque de Caxias, Brazil) was purified and sub-distilled prior to use in the digestion of the samples. For decontamination of conical tubes and other materials, a 1:1 solution of 50% alcohol and 10% nitric acid (HNO₃) (v/v) was used.

Acid digestion of samples

The purpose of acid digestion is to digest the organic matter of the samples until their complete mineralization. The method used was an adaptation of the method 3050B EPA (US Environmental Protection Agency). Sterile Falcon® conical tubes of 50 mL (polypropylene conical tube) were separated and left for 24 hours in the solution of HNO₃ and 50% alcohol for decontamination. After, the tubes were washed with Milli-Q water, dried and each sample of rice and cereals was crushed using an industrial blender, encoded and placed into the conical tubes. Then, 0.5 g of each sample was weighed in triplicate, in new tubes and the exact weight of each sample was respectively noted. For the digestion of the samples, 2.5 mL

of sub-distilled nitric acid was added to the tubes (including blank tubes) and left to rest for 24 hours. After that, the samples were placed on a metal heating plate at 90°C where they stayed for approximately 5 hours. In this period, the cover of each tube was slightly opened, from time to time, to relieve the internal pressure caused by the gases formed by heating (carbon dioxide and nitrous gas). After each can was taken off the heating plate and were left to cool, 22.5 mL of Milli-Q water were added completing a total volume of 25 mL per tube.

Quantification of total arsenic (μ As) by ICP-MS

Concentrations of μ As were determined by inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS; NexION 300X; PerkinElmer-Sciex, USA), in rice, infant cereal samples, and in 11 formulations of pesticides (Dithane[®] NT, Mertin[®] 400, Score[®], Furadan[®] 350, Talstar[®] 100 EC, Cypermethrin, Orthene[®] 750 BR, Ricer[®], Gamit[®] 360 CS, Boral[®] 500 SC and Glyphosate), according to the method of Mateus *et al.* (2013). A calibration curve of the ICP-MS was prepared, using Rhodium (20 ppb) as internal standard. The samples were analyzed starting from the curve, the blank tubes, two reference samples (IMEP-19 and 1567a) and then the samples in triplicate. For the optimization of the method, the linearity of the calibration curves was analyzed by the linear correlation coefficient and the detection limits and standard deviations of the measurements were calculated. The Limit of Detection (LOD) and the Limit of Quantification (LOQ) of As determined were 0.003 and 0.009 mg kg⁻¹ (ppm), respectively.

Estimation of the daily intake (EDI) of As from rice consumption by Brazilians

The daily intake was estimated using the equation: $EDI = (CAs \times Arcd)/BW$, where CAs is the mean concentration of As found for white rice; Arcd is the amount of rice daily consumed by Brazilians; and BW is the average body weight. The EDI was expressed in μ g

kg⁻¹ day⁻¹, and the estimation was made using only the mean concentration of As for white rice because it is the more consumed rice type in Brazil in relation to others (Batista *et al.* 2011, IBGE 2010). Arcd and BW data were obtained from a household budget survey conducted from 2008 to 2009 by the Brazilian Institute of Geography and Statistics (IBGE 2010). The Arcd was separated into the following groups of Brazilian population: total population (men and women); sex (men and women); regions (North, Northeast, Southeast, South and Midwest); age group (teenagers, adults and elderly). The BW for each group was calculated using the mean weight taking into consideration how much each age group and gender represent in the studied population. Therefore, for the groups "Brazil" and "Regions" body weight data were from men and women aged 20 years old or more, and for groups by age body weight data were from men and women with ages ranging as follows: teenagers aged 10 to 19 years old, adults aged 20 to 64 years old, and elderly aged 65 years and older. The EDI was multiplied by seven to obtain the weekly intake of As.

The possible health risk for consumers was assessed by calculating the margin of exposure (MOE) as recommended by The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). MOE provides a possible prioritization of potential adverse health effects risks, which was calculated whereas intake levels against the median estimate of a BMDL_{0.5} of 3.0 µg/kg bw/day as presented by JECFA. For a carcinogen, a smaller potential risk is expected when the estimated value of MOE exceeds 100 (Benford 2010; Brandon *et al.* 2014; Jallad 2018).

Statistical analysis

Statistical analyses were performed using the CRAN R version 3.3.2 free software (Team R Core, 2016), employing the following CRAN R packages *plotrix* and *ggplot2*; Microsoft Excel 2013 (Microsoft, Washington, USA) and Graphpad Prism 6.0 (GraphPad

Software, La Jolla, USA). The normal distribution of the variables was assessed using the Kolmogorov-Smirnov test. The Kruskal-Wallis test was used to compare the variables between groups. The results were expressed as mean \pm standard deviation (SD), and significance level was considered when $p < 0.05$.

Results

Concentrations of ^{67}As in rice

The ^{67}As quantification in the current work was performed in 103 rice samples. The concentrations varied from <0.003 to 1.3 mg kg^{-1} , with a mean of $0.26 \pm 0.15 \text{ mg kg}^{-1}$. Of these, 57 were of white rice (polished), 27 polished parboiled rice, 14 integral parboiled rice and 5 brown rice. The mean concentration of ^{67}As in white rice was not different from that found for brown rice, polished parboiled rice or integral parboiled rice as demonstrated in Figure 1.

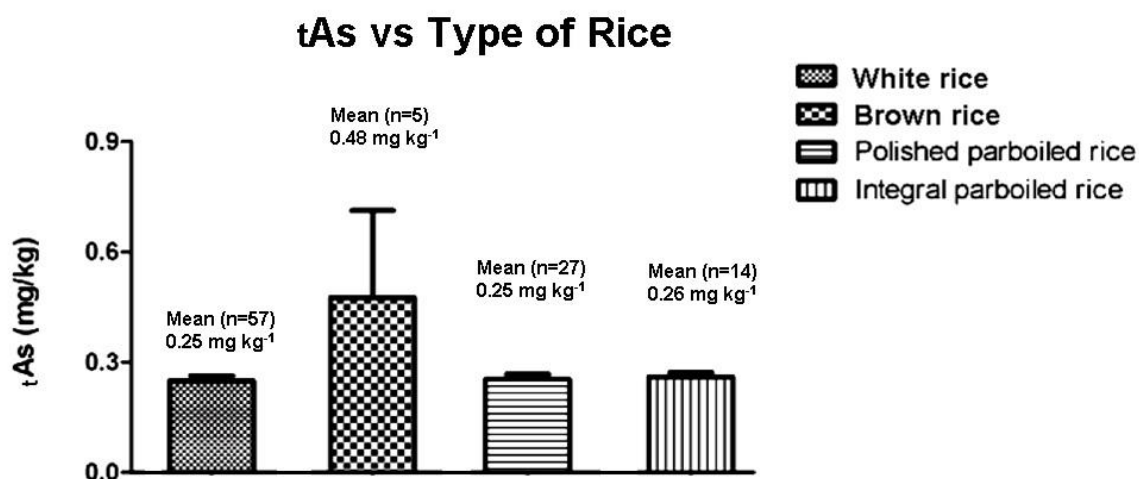


Figure 1. Mean of ^{67}As concentrations (mg kg^{-1}) in rice samples separated by type (Kruskal-Wallis test).

The tAs levels according to the type of rice and maximum limits recommended by Mercosur and European legislations are presented in Figure 2. Among 57 samples of white rice, 15 (26%) were above the maximum limit established by Mercosur for As (0.3 mg kg^{-1}). Among the 27 samples of polished parboiled rice, 7 samples (35%) were above this limit, whereas among 14 samples of integral parboiled, 3 samples (21%) were above this limit. Among 5 samples of brown rice, 3 samples (60%) were above 0.3 mg kg^{-1} and one sample presented 1.3 mg kg^{-1} , four times the limit value. When we compared our results with the maximum limit of As recommended by the European legislation, which is 0.25 mg kg^{-1} (European Commission 2015), we observed that 23 samples of white rice (40%), 12 samples of polished parboiled rice (44%), 8 samples of integral parboiled rice (57%) and 4 samples of brown rice (80%) were above this value.

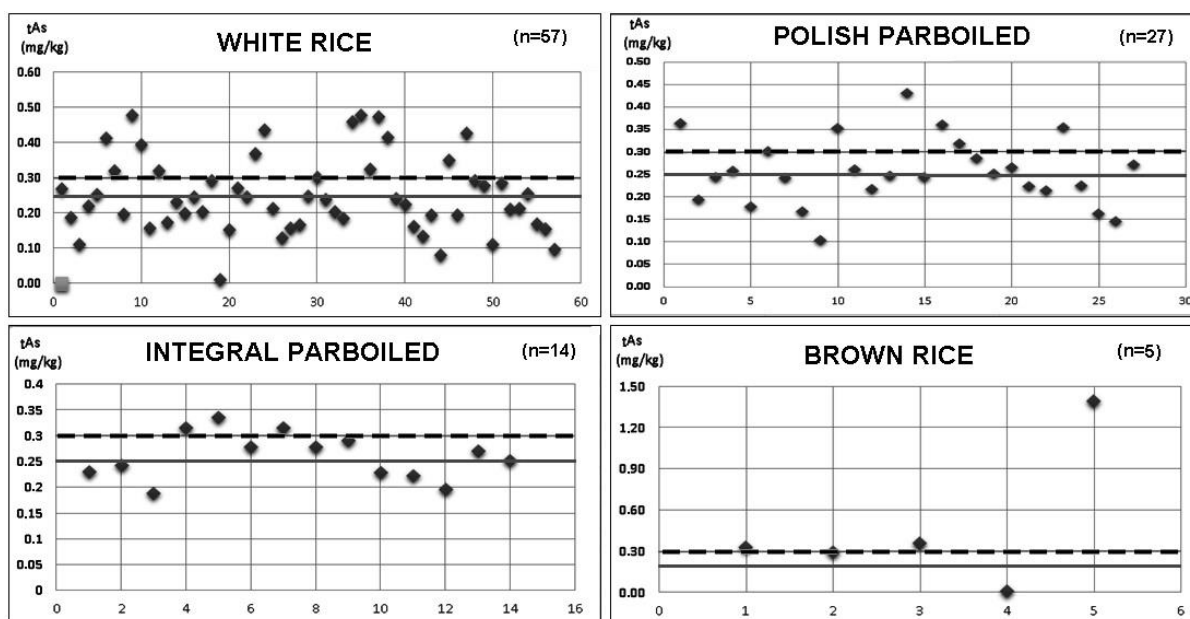


Figure 2. Total As concentrations (mg kg^{-1}) in rice samples separated by type and compared to the maximum limits recommended by Mercosur (0.3 mg kg^{-1} ; red line) and European legislation (0.25 mg kg^{-1} ; blue line).

According to the Codex Alimentarius Commission of the Food and Agriculture Organization (FAO/CODEX), countries may use a previous screening by performing tAs

determination in rice. For samples with ${}^i\text{As}$ levels above the maximum limit (ML) of 0.2 mg kg^{-1} , speciation analysis must be performed. On the other hand, if ${}^i\text{As}$ levels found were lower than ML, no further test is required (Segura *et al.* 2016, Codex Alimentarius Commission 2014). Therefore, in the majority of our samples, 73 out of 103 (70%), the As speciation should be performed (Figure 3).

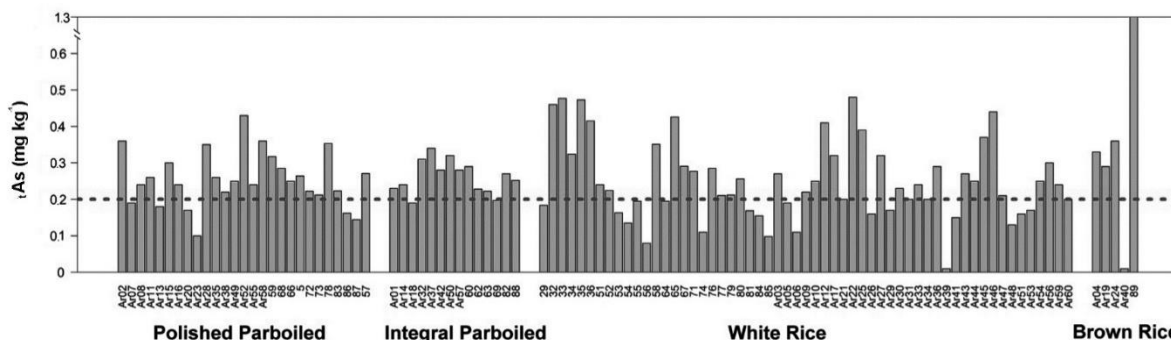


Figure 3. Samples of rice ($n=73$) with ${}^i\text{As}$ above 0.20 mg kg^{-1} , the maximum level (ML) recommend by the FAO/CODEX (CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION *et al.*, 2014).

Comparison of ${}^i\text{As}$ concentrations with studies from other countries

Table 1 shows a comparison between the ${}^i\text{As}$ concentrations of the present study and the ${}^i\text{As}$ levels obtained in other studies from different countries. Concerning to these studies, it is possible to observe that the ${}^i\text{As}$ levels varied in rice samples from different countries.

The concentrations of ${}^i\text{As}$ found in white rice in our study were higher compared to samples from Bangladesh, China, Egypt, India, Italy, Pakistan, and Switzerland but were close to the values of samples from France and previous studies in Brazil, is very similar to the results from the USA. Regarding brown rice, our results were more than twice higher than previous data from Brazil, Japan, and Switzerland. Egypt and India were the countries with the lowest concentrations of ${}^i\text{As}$ in white rice compared to other countries.

Table 1. μAs concentrations (mg kg^{-1}) in raw rice from different countries.

Country	Rice type	Mean of μAs (mg kg^{-1})	Range levels (mg kg^{-1})	Reference
Brazil	W	0.25	<0.01 – 0.48	Present study
	PP	0.25	0.10 – 0.43	Present study
	IP	0.26	0.19 – 0.34	Present study
	B	0.48	0.01 – 1.39	Present study
	W	0.22	0.11 – 0.38	Batista <i>et al.</i> (2011)
	PP	0.21	0.11 – 0.37	Batista <i>et al.</i> (2011)
	IP	0.27	0.23 – 0.32	Batista <i>et al.</i> (2011)
	PP	0.16	0.11– 0.23	Poletti (2012)
	B	0.21	0.13 – 0.34	Segura <i>et al.</i> (2016)
	W	0.13	0.03 – 0.19	Segura <i>et al.</i> (2016)
Bangladesh	W	0.13	0.02 – 0.33	Meharg <i>et al.</i> (2009)
China	O	0.12	<0.01 – 0.35	Xiao <i>et al.</i> (2018)
Egypt	W	0.05	0.01 – 0.58	Meharg <i>et al.</i> (2009)
	W	0.09	0.03 – 0.15	Shraim (2017)
France	W	0.28	0.09 – 0.56	Meharg <i>et al.</i> (2009)
India	W	0.10	0.02 – 0.22	Shraim (2017)
Italy	W	0.15	0.07 – 0.33	Meharg <i>et al.</i> (2009)
Japan	W	0.19	0.07 – 0.42	Meharg <i>et al.</i> (2009)
	W	0.14	0.02 – 0.41	Naito <i>et al.</i> (2015)
	B	0.22	0.04 – 0.48	Naito <i>et al.</i> (2015)
	W	0.11	0.06 – 0.16	Arao <i>et al.</i> (2018)
	B	0.17	0.10 – 0.24	Arao <i>et al.</i> (2018)
Kingdom of Saudi Arabia	W	0.13	0.02 – 0.46	Shraim (2017)
Pakistan	W	0.14	0.05 – 0.25	Shraim (2017)
Spain	W	0.20	0.05 – 0.82	Meharg <i>et al.</i> (2009)
Switzerland	W	0.14	0.06 – 0.28	Guillod-Magnin <i>et al.</i> (2018)
	B	0.20	0.14 – 0.23	Guillod-Magnin <i>et al.</i> (2018)
Thailand	W	0.14	0.01 – 0.39	Meharg <i>et al.</i> (2009)
	W	0.20	0.18 – 0.25	Shraim (2017)
USA	W	0.25	0.03 – 0.66	Meharg <i>et al.</i> (2009)
	W	0.24	0.07 – 0.78	USFDA (2013)
	PP	0.21	0.13 – 0.30	USFDA (2013)
	W	0.25	0.12 – 0.46	Shraim (2017)

Notes: W: white; PP: polished parboiled; IP: integral parboiled; B: brown NS: not specified; O: others.

Concentrations of μAs in infant cereals

In the current study, 27 infant cereal samples including cereals, creams, cookies, and baby porridge, were analyzed for the tAs concentration. The tAs levels varied from <0.003 to 0.243 mg kg^{-1} , with a mean of $0.0843 \pm 0.065 \text{ mg kg}^{-1}$. Multigrain cereals containing rice but also corn, wheat, oats, granola, cocoa, among others ($n=11$), presented the lowest tAs mean $0.0304 \pm 0.015 \text{ mg kg}^{-1}$. Cereals containing brown rice flour ($n= 6$) had a mean tAs level of $0.0769 \pm 0.0221 \text{ mg kg}^{-1}$; cereals containing rice among the main ingredients ($n= 6$) had mean levels of $0.1293 \pm 0.0624 \text{ mg kg}^{-1}$; and finally, cereals made from rice alone ($n= 4$) had mean level of $0.1761 \pm 0.0457 \text{ mg kg}^{-1}$. Therefore, rice-based cereals or cereals containing rice as one of the main ingredients had a higher amount of tAs than multigrain cereals (Figure 4).

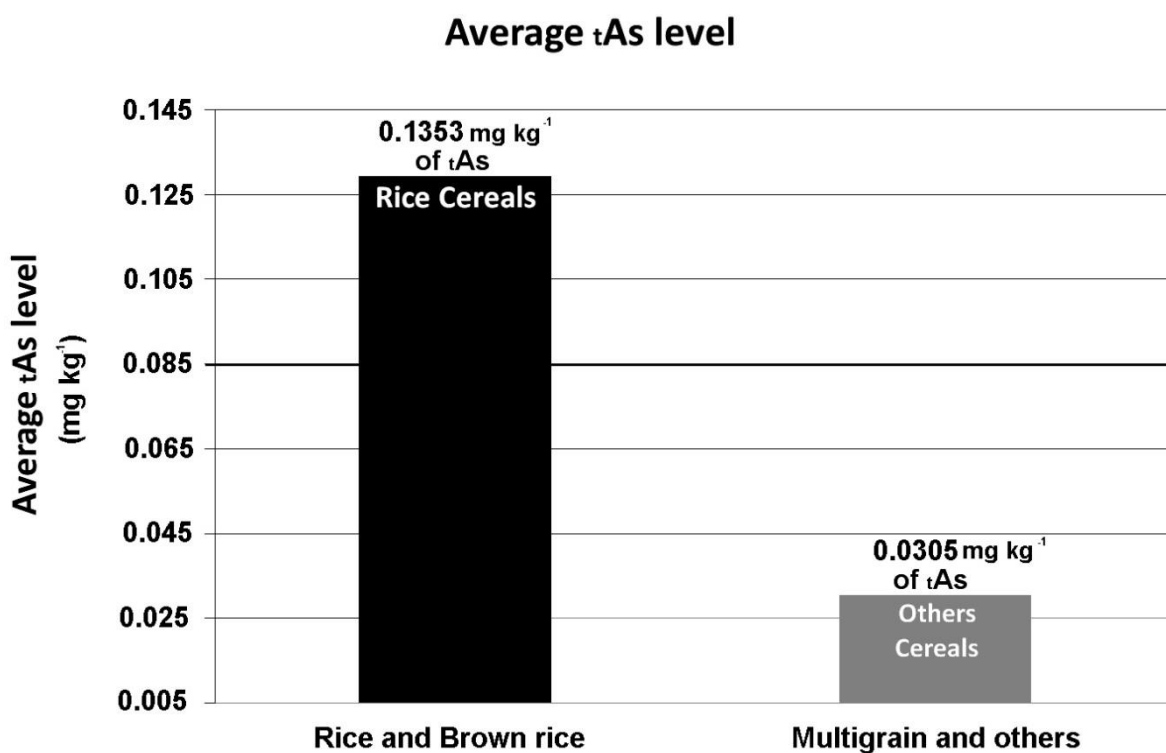


Figure 4. Comparison between mean tAs concentrations in white rice and brown rice cereals and multigrain cereals.

Concentrations of tAs in pesticides

Among the 11 analyzed pesticides, 3 were fungicides, 5 were insecticides, and 3 were herbicides. The results showed that, with exception of the fungicide Mertin[®] 400, all analyzed

pesticides formulations presented tAs levels above 0.01 mg L⁻¹, the preconized limit for As in water by the legislations of Europe, USA, and Brazil (European Comission 2018; WHO 2011; Conama 2005) (Table 2).

Table 2. tAs levels in formulations of pesticides (n= 11).

Pesticide	tAs (mg L⁻¹) levels
<i>Fungicides</i>	
Dithane [®] NT	0.132
Mertin [®] 400	0.005
Score [®]	0.151
<i>Insecticides</i>	
Furadan [®] 350	0.021
Talstar [®] 100 EC	0.064
Cypermethrin	0.294
Orthene [®] 750 BR	0.104
Racer [®]	0.029
<i>Herbicide</i>	
Gamit [®] 360 CS	0.257
Boral [®] 500 SC	0.315
Glyphosate	0.025

Estimation of the daily intake (EDI) of As from rice consumption by Brazilians

Table 3 shows the EDI obtained in the present study. Based on the mean concentration of tAs in white rice, our results demonstrated that Brazilian population consumes 4.13 µg tAs kg⁻¹ per week. Moreover, men had higher ingestion of tAs in comparison to women. Among the regions, the Midwest region showed the higher EDI. In contrast, the Southern region was the one with the lowest EDI. Finally, when the age groups were compared, teens demonstrated a higher EDI than adults and elderly. Furthermore, in Table 3, the MOE values for all groups of the Brazilian population were under 100, ranging from 3.80 to 6.24.

Table 3. Estimated daily intake (EDI) and margin of exposure (MOE) of As from white rice in Brazil.

	Amount of rice consumed (g day ⁻¹)	Body weight (kg)	Daily intake (µg kg ⁻¹ day ⁻¹)	Weekly intake (µg kg ⁻¹)	MOE* (µg kg ⁻¹ pc dia ⁻¹)
Intake by adult population in Brazil					
Whole population	160.3	67	0.59	4.13	5.08
Men	189.9	72	0.66	4.62	4.54
Women	132.7	62	0.53	3.71	5.66
Intake by adult population in Brazilian regions					
North	156.6	65	0.60	4.20	5.00
Northeast	142.6	64	0.55	3.85	5.54
Southeast	175.6	69	0.64	4.48	4.69
Southern	133.8	70	0.48	3.36	6.25
Midwest	194.5	68	0.71	4.97	4.22
Intake by age groups in Brazil					
Teenagers	158.9	50	0.79	5.53	3.80
Adults	165.0	68	0.61	4.27	4.92
Elderly	138.8	62	0.56	3.92	5.36

*MOE: Margins of exposure.

Discussion

The levels of ¹⁰⁹As were quantified in several types of rice and infant cereals marketed and consumed by the Brazilian population. Moreover, we have compared the ¹⁰⁹As concentrations found in the current study with ¹⁰⁹As limits preconized by regulatory agencies, since some studies have already shown that most As in rice products are ¹⁰⁹As (75.2–90.1%) (Sun *et al.* 2009; Carbonell-Barrachina *et al.* 2012; Karagas *et al.* 2016; Guillod-Magnin *et al.* 2018). Moreover, ¹⁰⁹As is also dominant in the infant rice cereal (Chiger and Lynch 2017; Rego *et al.* 2018).

Rice, in contrast to other grains, readily absorbs and concentrates As from soil and water. It concentrates about ten times more As than other grains (Williams *et al.* 2007; Chiger and Lynch 2017). When it is grown in regions or soils where As is abundant, the problem is

even greater. Soils that naturally contain As are those related to geological environments such as volcanic formations, volcanic-sedimentary formations, hydrothermal systems, tertiary and quaternary alluvial basins (Gonçalves 2011). On the other hand, anthropogenic activities may release As to the environment contributing to contaminate soil, water, and food systems. Among them, we highlight the use of arsenical anticoccidials in aviculture and mainly, the use of pesticides and fertilizers with high levels of heavy metals and metalloids, including As, in their composition. Agricultural soil affects public health via the quantity and quality of human food supply (Gonçalves 2011; Jiao *et al.* 2012; Jayasumana *et al.* 2015).

Among rice samples analyzed in the present study, 28 (27%) had As levels above the maximum limit established by the Brazilian Health Regulatory Agency (ANVISA) and the Southern Common Market (Mercosur) (Brasil 2013) for As in rice (0.3 mg kg^{-1}). Moreover, 47 samples (45%) were above the maximum limit established by the European legislation (0.25 mg kg^{-1}) (European Commission 2018). In addition, comparing our results with the Chinese legislation, one of the world's largest rice producers and consumers, which establishes a maximum limit of 0.15 mg kg^{-1} for As in rice (Zhu *et al.* 2008), 93 out of 103 samples (90%) would be rejected.

A Brazilian study published in 2016 compared the concentrations of As in organic rice and conventional rice (polished and husked non-organic rice), and found that 20.7% of polished rice samples presented $\text{As} > 0.20 \text{ mg kg}^{-1}$. The authors also verified that As in organic rice samples were higher than in conventional rice samples and that no significant differences were found for As concentration between organic rice and conventional rice or between organic husked rice and conventional husked rice (Segura *et al.* 2016). Corroborating with our results, other studies also found higher As content in brown rice than in white rice (Meharg *et al.* 2008; Lombi *et al.* 2009; Naito *et al.* 2015; Arao *et al.* 2018). This finding can be explained mainly by the fact that most As is concentrated in pericarp and aleurone, outer

layers of rice grain. They are removed during rice polishing but remain in brown rice and integral parboiled rice (Meharg *et al.* 2008).

In addition, ^{109}As was also quantified in infant cereals in the current study. Our findings showed that rice-based cereals or cereals containing rice as one of the main ingredients contained higher amount of ^{109}As as compared to multigrain cereals. A recent study evaluated the contamination with As in 105 cereals of the main brands in the USA, looking for the safest option for children's health. The study showed that non-rice and multigrain varieties including oatmeal, corn, barley, and others, contained 84% less As, on average, than leading brands of infant rice cereal. All but one samples among the 42 rice-containing cereals evaluated had higher As levels than the other 63 cereal samples included in the study (Chiger and Lynch 2017). The authors found average ^{109}As content amounting to 0.085 mg kg^{-1} in rice cereals, six times higher than other infant cereals, including oatmeal and multigrain, which average was 0.014 mg kg^{-1} . Among the 27 of infant cereal samples analyzed in the present study, 12 samples (44%) had higher ^{109}As levels than the 0.085 mg kg^{-1} found by the study of Chiger and Lynch (2017). In our study, white rice- and brown rice-based cereals had 150% or 1.5 times higher ^{109}As levels than previous data (Chiger and Lynch 2017). Although our results are on ^{109}As and not ^{75}As , they are still alarming.

Rice cereals are the major source of As for infants, accounting for 55% of their total dietary exposure (Shibata 2016). Karagas *et al.* (2016) showed that, among 759 infants, approximately 80% consumed rice cereals in the first year of life. The total urinary As concentrations were twice as high among infants who consumed white or brown rice compared with those who reported no rice intake and were intermediately elevated among infants who consumed foods mixed with rice (Karagas *et al.* 2016). In this same study, ^{109}As concentrations ranged from 0.0365 to 0.568 mg kg^{-1} in the nine different rice-based infant snack foods reported as being consumed by infants, with roughly an equal distribution

between inorganic and methylated As species (Karagas *et al.* 2016). In the present study, the rice cereals tested (rice porridge and rice flour) contained iAs levels ranging from 0.1437 to 0.243 mg kg^{-1} .

The use of pesticides and fertilizers in agriculture represent an important source of As, which contribute to the high levels of the xenobiotic found in foods, including rice. Since 2008, Brazil is the first in the world ranking of pesticide consumption, and Brazilian pesticide market experienced a rapid expansion in the last years (190%), at a pace of growth more than double that of the global market (Rigotto *et al.* 2014; Nascimento *et al.* 2018). Moreover, it is known that most of them are contaminated with heavy metals that are not declared on labels (Braibante and Zarpe 2012). In this line, we quantified iAs levels in the main pesticides used by Brazilian farmers, according to a previous investigation of our research group (Nascimento *et al.* 2017). The results showed that among the 11 analyzed pesticides, 10 (almost 100%) had iAs levels above the allowed level for water in European Union, USA, and Brazil (0.01 mg L^{-1}) (European Commission 2018; WHO 2011; Conama 2005). In a recent similar investigation, Defarge *et al.* (2018) quantified iAs in 22 pesticides and found levels above 0.1 mg L^{-1} in 19 samples (86%). According to the authors, heavy metals in pesticides can be originated from the contamination of formulations due to their manufacturing process, such as petroleum or industrial waste. In addition, heavy metals can be intentionally added as nanoparticles in pesticides (Defarge *et al.* 2018). In a recent study, 273 samples of pesticides were analyzed in Sri Lanka, and most agrochemicals were contaminated with As. These findings suggest that agrochemicals, especially phosphate fertilizers, are an important source of iAs . The Triple Super Phosphate (TSP), a fertilizer widely used in rice cultivation, had the highest amount of As (31 mg kg^{-1}), and despite the fact that the import of As containing pesticides is illegal in Sri Lanka, all 31 pesticide brands of 21 different active ingredients contained As in their composition (Jayasumana *et al.* 2015).

Furthermore, the estimation of daily intake (EDI) of As from rice consumption by Brazilian population showed higher As ingestion by men than women, due to the higher amount of rice consumed by this group. The Midwest region showed the highest EDI of iAs probably because it is the region that consumes greatest amount of rice. On the other hand, the Southern region was the one with the lowest EDI because it is the region that consumes smaller amounts of rice. Finally, when the age groups were compared, teens demonstrated a higher EDI than adults and elderly, due to the fact that they consume higher amounts of food in relation to their body weight than the other age groups. An important limitation in the calculation of EDI is the fact that there are no limits of consumption for all As forms (organic, inorganic, and total arsenic). In the present study, the limit for iAs was used since there are no limit for tAs. Although the limit for iAs intake that was in force until 2011 is no longer considered to be safe, the EDI obtained for each group was compared to this limit ($15 \mu\text{g kg}^{-1}$ BW per week) (WHO 2018). Moreover, another limitation in the calculation of EDI for teenagers is the fact that the age group classified as teenagers (10-19 years) by IBGE has a great range in body weight and in the amount of rice consumed. Ideally, the calculation of EDI should use narrower age ranges, which would contribute to the acquisition of more reliable data. Furthermore, MOE value was recognized as the essential parameter for assessing the health risks associated with the consumption of contaminated food by toxic elements. Thus, chronic exposure estimate to carcinogenic As was high causing low MOE, which demonstrated that high use of rice is at risk of high iAs exposure in the Brazilian population and potential health risk cannot be excluded (Brandon *et al.* 2014; Jallad 2018).

Conclusion

Although the analysis of As speciation was not performed in our study, our work showed that, there were samples of rice and rice cereals marketed in Brazil with high levels of

As in relation to the Brazilian and European legislations. In addition, our data suggest that it is necessary to create a better control in the measurement of As and more attention must be given to the pesticides used in the rice cultivation since they may be contaminated with heavy metals, including As, as demonstrated in this study. Our study showed that the rice contamination with As also affects rice-derived products such as cookies, cereals, and baby porridge, being an increasing and invisible risk that can cause damages in medium and long-term to the healthy population, especially children and infants. The Brazilian population is at particular risk due to a possible relationship between the high use of pesticide and rice consumption as the basis of daily food. In this line, most frequent quantification and refinement on techniques analyzing As in Brazilian rice are important, mainly in the irrigated rice. In this sense, more studies are needed to identify As sources of food contamination, and development measures to reduce As levels, promoting a diet that does not generate excessive and unnecessary risks to the health of population.

Acknowledgments

The authors would like to thank by the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) by the funding (Process N° 440175/2014-3). N. Fão had a CNPq MSc. Research fellowship and S.C. Garcia is a recipient of CNPq research fellowship.

Declaration of interest statement

The authors declare that they have no conflict of interest.

References

- Al Rmalli, S.W., *et al.*, 2005. A survey of arsenic in foodstuffs on sale in the United Kingdom and imported from Bangladesh. *Science of the Total Environment*, 337 (1-3), 23-30.
- Alexander, J., *et al.*, 2009. Marine biotoxins in shellfish—Summary on regulated marine biotoxins Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain. *The EFSA Journal*, 1306, 1-23.
- ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 42, de 29 de agosto de 2013. Dispõe sobre o Regulamento Técnico MERCOSUL sobre Limites Máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimentos. Available from: http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/rdc0042_29_08_2013.pdf/c5a17d2d-a415-4330-90db-66b3f35d9fbd [Accessed 4 October 2018].
- Arao, T., *et al.*, 2018. Effect of air temperature after heading of rice on the arsenic concentration of grain. *Soil Science and Plant Nutrition*, 1-5.
- ATSDR, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2007. Toxicological profile for arsenic. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. Available from: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp.asp?id=22&tid=3> [Accessed 16 September 2018].
- ATSDR, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2018. Substance Priority List. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. Available from: <https://www.atsdr.cdc.gov/spl/> [Accessed 16 September 2018].
- Batista, B.L., *et al.*, 2011. Speciation of arsenic in rice and estimation of daily intake of different arsenic species by Brazilians through rice consumption. *Journal of Hazardous Materials*, 191 (1-3), 342-348.
- Benford, D., *et al.*, 2010. Application of the margin of exposure (moe) approach to substances in food that are genotoxic and carcinogenic. *Food and Chemical Toxicology*, 48 (1), S42-S48.

Braibante, M.E. F., Zarpe, J.A., 2012. A química dos agrotóxicos. *Química Nova na Escola*, 34 (1), 10-15.

Brandon, E.F., *et al.*, 2014. Arsenic: bioaccessibility from seaweed and rice, dietary exposure calculations and risk assessment. *Food additives & contaminants. Part A, Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment*, 31(12): 1993-2003.

Carbonell-Barrachina, A.A. *et al.*, 2012. Inorganic arsenic contents in rice-based infant foods from Spain, UK, China and USA. *Environmental Pollution*, 163, 77-83.

Chiger, A., Lynch, M.T., 2017. Effects of Inorganic Arsenic in Infant Rice Cereal on Children's Neurodevelopment.

Available from: http://www.healthybabycereals.org/sites/healthybabycereals.org/files/2017-12/AbtAssociates_2017_EffectsOfInorganicArsenicInInfantRiceCerealOnChildren%27sNeurodevelopment.pdf [Accessed 5 September 2018].

Ciminelli, V.S.T., *et al.*, 2017. Dietary arsenic exposure in Brazil: The contribution of rice and beans. *Chemosphere*, 168, 996-1003.

Codex Alimentarius Commission, 2014. Report of the Eighth Session of the Codex Committee on Contaminants in Food. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Available from: file:///C:/Users/Sabrina/Desktop/REP14_CFe.pdf [Accessed 20 September 2018].

Conama, Conselho Nacional do Meio Ambiente, 2005. Resolução Nº 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Available from: <http://www2.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf> [Accessed 16 September 2018].

De la Calle, M.B., *et al.*, 2017. Determination of Inorganic Arsenic in a Wide Range of Food Matrices using Hydride Generation-Atomic Absorption Spectrometry. *Journal of visualized experiments: JoVE*, 127, 1-8.

Defarge, N., *et al.*, 2018. Toxicity of formulants and heavy metals in glyphosate-based herbicides and other pesticides. *Toxicology Reports*, 5, 156-163.

European Commission, 2018. Commission regulation (EU) 2015/1006 of 25 June 2015 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels of inorganic arsenic in foodstuffs. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32015R1006&from=EN> [Accessed 16 September 2018].

Federarroz, Federação das Associações dos Arrozeiros do Rio Grande do Sul, 2018. Available from: <http://federarroz.com.br/> [Accessed 16 September 2018].

Gonçalves, J.A.C., 2011. A contaminação natural por arsênio em solos e águas subterrâneas na área urbana de Ouro Preto (MG). *Dissertation*. Federal University of Ouro Preto.

Guillod-Magnin, R., *et al.*, 2018. Arsenic species in rice and rice-based products consumed by toddlers in Switzerland. *Food additives & contaminants. Part A, Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment*, 35(6), 1164-1178.

IARC, The International Agency for Research on Cancer, 2012. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Available from: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol100C/mono100C.pdf> [Accessed 15 September 2018].

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2010. Pesquisa de Orçamento Familiar (POF):2008-2009: análise do consumo alimentar pessoal no Brasil Rio de Janeiro: IBGE. Available from: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv45419.pdf> [Accessed 16 September 2018].

Jallad, K.N., 2018. The hazards of an ubiquitous metalloid, arsenic, hiding in infant diets: detection, speciation, exposure, and risk assessment. *Biological Trace Element Research*, 1-13.

Jayasumana, C., *et al.*, 2015. Phosphate fertilizer is a main source of arsenic in areas affected with chronic kidney disease of unknown etiology in Sri. *Springerplus*, 4 (90), 1-8.

Jiao, W., *et al.*, 2012. Environmental risks of trace elements 887 associated with long-term phosphate fertilizers applications: a review. *Environmental Pollution*, 168, 44-53.

Karagas, M.R. *et al.*, 2016. Association of rice and rice-product consumption with arsenic exposure early in life. *JAMA pediatrics*, 170 (6), 609-616.

Li, H-Bo, *et al.*, 2017. Arsenic Relative Bioavailability in Rice Using a Mouse Arsenic Urinary Excretion Bioassay and Its Application to Assess Human Health Risk. *Environmental Science & Technology*, 51 (8), 4689-4696.

Lombi, E., *et al.*, 2009. Speciation and distribution of arsenic and localization of nutrients in rice grains. *New Phytologist*, 184 (1), 193-201.

Mataveli, L.R.V., *et al.*, 2016. Total arsenic, cadmium, and lead determination in Brazilian rice samples using ICP-MS. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 1-9.

Mateus, V.L. *et al.*, 2013. Study of the chemical composition of particulate matter from the Rio de Janeiro metropolitan region, Brazil, by inductively coupled plasma-mass spectrometry and optical emission spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 86, 131-136.

Meharg, A.A., *et al.*, 2008. Speciation and localization of arsenic in white and brown rice grains. *Environmental Science & Technology*, 42 (4), 1051-1057.

Meharg, A.A.; Rahman, M.M., 2003. Arsenic contamination of Bangladesh paddy field soils: implications for rice contribution to arsenic consumption. *Environmental Science & Technology*, 37 (2), 229-234.

Naito, S., *et al.*, 2015. Effects of polishing, cooking, and storing on total arsenic and arsenic species concentrations in rice cultivated in Japan. *Food chemistry*, 168, 294-301.

Nascimento, S.N., *et al.*, 2017. Environmental exposure and effects on health of children from a tobacco-producing region. *Environmental Science and Pollution Research*, 24 (3), 2851–2865.

Nascimento, S.N., *et al.*, 2018. Exposure to environment chemicals and its possible role in endocrine disruption of children from a rural area. *Environmental Research*, 167, 488-498.

Naujokas, M.F., *et al.*, 2013. The broad scope of health effects from chronic arsenic exposure: update on a worldwide public health problem. *Environmental Health Perspectives*, 121 (3), 295.

Pinheiro, F.C., 2016. Determinação de arsênio total e inorgânico em sucos de frutas e arroz por ICP-MS. *Dissertation*. Federal São Carlos University.

Poletti, J., 2012. Quantificação de elementos-traço em arroz. *Completion of course work*. Federal University of Rio Grande do Sul.

Rahman, M.A., Hasegawa, H., 2011. High levels of inorganic arsenic in rice in areas where arsenic-contaminated water is used for irrigation and cooking. *Science of the Total Environment*, 409 (22), 4645-4655.

Rego, A., *et al.*, 2018. Amino acid contents and toxically relevant arsenic of rice varieties consumed in Portugal. *Measurement*, 113, 189-195.

Rigotto, R.M., *et al.*, 2014. Pesticide use in Brazil and problems for public health. *Caderno de Saúde Pública*, 30(7), 1360-1362.

Segura, F.R., *et al.*, 2016. Arsenic speciation in Brazilian rice grains organically and traditionally cultivated: Is there any difference in arsenic content? *Food Research International*, 89, 169-176.

Sharma, A.K., *et al.*, 2014. Review of arsenic contamination, exposure through water and food and low cost mitigation options for rural areas. *Applied Geochemistry*, 41, 11-33.

Shibata, T., *et al.*, 2016. Risk assessment of arsenic in rice cereal and other dietary sources for infants and toddlers in the US. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 13 (361), 1-10.

Sun, G-X., *et al.*, 2009. Survey of arsenic and its speciation in rice products such as breakfast cereals, rice crackers and Japanese rice condiments. *Environment International*, 35 (3), 473-475.

Tapio, S., Grosche, B., 2006. Arsenic in the aetiology of cancer. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 612 (3), 215-246.

Watson, R.R., *et al.*, 2014. *Wheat and Rice in Disease Prevention and Health: Benefits, risks and mechanisms of whole grains in health promotion*. 1st ed. London: Elsevier.

WHO, World Health Organization, 2011. *Guidelines for Drinking-Water Quality*. 4th ed. Geneva: Switzerland.

WHO, World Health Organization, 2018. Evaluations of the Joint Fao/WHO expert committee on food additives (JECFA). Available from: <http://apps.who.int/food-additives-contaminants-jecfa-database/chemical.aspx?chemID=1863> [Accessed 19 September 2018].

Williams, P.N., *et al.*, 2007. Greatly enhanced arsenic shoot assimilation in rice leads to elevated grain levels compared to wheat and barley. *Environmental Science & Technology*, 41 (19), 6854-6859.

Xu, X.Y., *et al.*, 2008. Growing rice aerobically markedly decreases arsenic accumulation. *Environmental Science & Technology*, 42 (15), 5574-5579.

Zhu, Y-G., *et al.*, 2008. Exposure to inorganic arsenic from rice: a global health issue? *Environmental Pollution*, 154, (2), 169-171.

4. DISCUSSÃO

O arsênio (As) é um metaloide encontrado naturalmente na crosta terrestre, podendo estar presente no solo, água e em alimentos (ATSDR, 2007). Adicionalmente, o As também pode ser encontrado em alimentos em altos níveis, como um contaminante de toxicidade relevante. O arroz é um dos alimentos no qual o As pode estar presente em altas concentrações. A presença de As no arroz como um contaminante pode estar relacionada a três fatores relacionados com a sua produção, tais como: devido à concentração de As presente nos agrotóxicos e adubos (cama de frango) empregados no seu plantio, na água utilizada para irrigação e no solo onde o arroz é plantado (SAHOO e KIM, 2013; SHARMA *et al.*, 2014; WATSON *et al.*, 2014).

Nosso estudo quantificou as concentrações de As nas principais amostras de arroz produzidas e comercializadas na região sul do Brasil. Dentre as 103 amostras analisadas, as concentrações de As variaram de <Limite de Detecção (LD) a 1,3 mg/kg, tendo uma média total de 0,263 mg/kg. Se considerarmos que grande parte do As é formado por As , como foi mostrado por estudos anteriores (SUN *et al.*, 2009; CARBONELL-BARRACHINA *et al.*, 2012; KARAGAS *et al.*, 2016; GUILLOD-MAGNIN *et al.* 2018), e compararmos nossos resultados com a legislação vigente no Brasil, que preconiza um limite máximo de 0,3 mg de As/kg arroz (BRASIL, 2013), verificamos que uma parte considerável das amostras de arroz investigadas em nosso estudo, mais especificamente 28 das 103 amostras (27%), apresentou níveis de As acima do limite máximo permitido pela legislação.

Ainda, fazendo uma comparação entre as concentrações de As encontradas neste estudo e os níveis de As obtidos em estudos realizados em outros países, observamos que as concentrações de As encontradas no arroz branco em nosso estudo foram maiores do que as encontradas em arroz branco produzidos em países como Bangladesh, China, Egito, Índia, Itália, Paquistão e Suíça. Os países com as menores concentrações de As no arroz branco foram o Egito e a Índia (MEHARG *et al.* 2009; BATISTA *et al.* 2011; USFDA, 2013; SEGURA *et al.*, 2016; SHRAIM, 2017; XIAO *et al.*, 2018).

Também observamos que não houve diferenças significativas em relação às concentrações de As encontradas nos diferentes tipos de arroz (arroz branco,

parboilizado polido, parboilizado integral e integral) investigados. Nossos resultados, assim como os achados de outros estudos prévios (LOMBI *et al.*, 2009; NAITO *et al.*, 2015; ARAO *et al.*, 2018), demonstraram que as concentrações de As foram mais altas nas amostras de arroz que mantinham a casca e a película do grão, onde está concentrada a maior parte dos minerais e das vitaminas, como o arroz integral e parboilizado integral. Nestes tipos de arroz, as médias de As encontradas foram de 0,48 e 0,26 mg/kg, respectivamente.

O efeito da contaminação do solo por As nos grãos de arroz pode ser visto no estudo de Khan e colaboradores (2009), no qual as amostras de arroz foram cultivadas em dois tipos de solos, um com uma concentração baixa e outro com uma concentração alta de As . Os resultados mostraram que as concentrações de As nas amostras de arroz cultivadas no solo com alta concentração de As foram até 50% maiores do que aquelas cultivadas no solo com baixa concentração do metaloide. No mesmo estudo, as amostras de arroz foram irrigadas com 3 diferentes tipos de água, um tipo de água que não continha As e dois tipos de água com concentrações de 1 mg/L e 2 mg/L de As . Os resultados demonstraram que as amostras irrigadas com as águas contendo 1 e 2 mg/L de As possuíam 50% e 100% mais As , respectivamente, quando comparadas com a amostra irrigada com a água sem a presença de As .

Neste sentido, estudos investigando os níveis de As em solos e águas utilizadas para o cultivo de arroz são importantes, uma vez que auxiliam na estimativa de contaminação ao As por meio destas fontes (KHAN *et al.*, 2009). Além disso, a utilização de água contaminada com As para cozinhar o arroz também representa uma importante fonte de exposição ao metaloide, pois se sabe que o arroz pode absorver de 89 a 105% da quantidade de As presente na água (ACKERMAN *et al.*, 2005). No estudo de Laparra e colaboradores (2005), investigou-se se a utilização de água deionizada e água deionizada contaminada com As (0,5 mg/L) interferiam na quantidade final de As no arroz. Os resultados mostraram que não foi observado aumento na quantidade de As quando o arroz foi cozido com a água deionizada sem As em comparação ao arroz cru. No entanto, observou-se que quando o arroz foi cozido com a água deionizada contaminada com As ocorreu um incremento de 5 a 17 vezes na quantidade de As em comparação ao arroz cru.

Naito e colaboradores (2015) verificaram que o polimento do arroz foi o fator que mais reduziu as concentrações de As e iAs nas amostras de arroz por eles analisadas. Lombi e colaboradores (2009) verificaram que as altas concentrações de As parecem estar presentes em tecidos como a aleurona e partes externas do endosperma do grão de arroz, observando uma diminuição dramática na concentração de As desde a casca que circunda o grão até o próprio grão. A grande concentração e presença de As na casca, provavelmente deriva do transporte xilemático do As .

Adicionalmente, um dos mais importantes resultados encontrados no nosso estudo foram as concentrações de As presentes nos cereais infantis. As concentrações de As variaram de <0.003 à $0,243$ mg/kg, com uma média de $0,0843$ mg/kg. Nossos resultados demonstraram que os cereais à base de arroz ou que continham arroz como um dos principais ingredientes possuíam uma maior quantidade de As em comparação com cereais multigrãos. Os cereais que continham farinha de arroz integral em suas formulações, mesmo que em quantidades menores ou como um dos últimos ingredientes, ainda possuíam um nível consideravelmente alto de As em comparação com outros cereais, mostrando novamente que o arroz integral contém uma maior concentração de As do que os outros tipos de arroz.

Este achado corrobora um estudo realizado em 2017, que mostrou que o cereal de arroz infantil contém uma média de As seis vezes maior do que outros cereais de grãos do mercado. Foram testadas 105 amostras de cereais infantis de nove marcas em diferentes varejistas nos Estados Unidos. Além dos cereais de arroz e arroz integral, as amostras incluíam cereais feitos de 11 outros grãos, como milho, farinha de aveia e trigo, e cereais multigrãos, alguns dos quais continham arroz. Em média, os cereais multigrãos e os que não continham arroz em seus ingredientes tinham 84% menos As do que os cereais feitos com apenas arroz (HBBF, 2017).

De uma forma geral, bebês e crianças pequenas estão expostas a níveis mais elevados de As em sua dieta do que os adultos, porque geralmente comem muito cereal de arroz infantil e consomem maiores quantidades de As em relação ao seu peso corporal. As crianças com menos de cinco anos que estão em uma dieta livre de glúten, ou membros de determinados grupos étnicos podem consumir mais

produtos à base de arroz e, portanto, terem exposições ao As muito superiores (KARAGAS *et al.*, 2016).

Uma avaliação de risco foi determinada neste estudo, por meio do cálculo da estimativa de ingestão diária e semanal de As, por meio do consumo de arroz branco pela população brasileira, já que este é um dos principais alimentos base de toda a população do Brasil. Os resultados mostraram que homens estão mais expostos ao As por meio do consumo de arroz, assim como a população do centro-oeste e os adolescentes.

Nosso estudo teve algumas limitações. Primeiramente, a falta de análise de especiação do As, em suas formas orgânicas e inorgânicas, e a pequena quantidade de amostras de arroz integral (n=5) analisadas, dificultando, assim, algumas análises mais aprofundadas dos resultados obtidos. Ainda assim, o presente estudo demonstra a importância de se realizar a quantificação dos níveis de As de uma forma contínua no arroz produzido pelo Brasil, a fim de prevenir eventuais danos à saúde da população, uma vez que esta consome arroz diariamente estando, portanto, cronicamente exposta ao As por meio da alimentação.

5.CONCLUSÕES

- Uma parte considerável das amostras de arroz consumidas pela população brasileira possui concentrações de As acima do permitido pela legislação brasileira;

- O uso excessivo de pesticidas e herbicidas, com metais pesados não declarados nas formulações, pode ser uma possível fonte de As no solo e alimentos, em especial o arroz;

- Como em outros estudos, o arroz integral e seus produtos derivados concentram uma maior quantidade de As;

- A população, principalmente as crianças, encontra-se exposta a níveis de As que podem causar prejuízos a sua saúde em longo prazo, como a ocorrência de câncer;

- Mesmo o estudo possuindo algumas limitações, como a não especificação das formas do As presentes nas amostras de arroz, este estudo sugere que, atualmente, não existe um nível seguro à saúde conhecido de exposição ao As;

- Brasileiros podem ser uma população em risco devido à possível relação entre a grande utilização de agrotóxicos no país e a contaminação de As no arroz, alimento base da dieta destas pessoas;

- Nesse sentido, mais estudos são necessários para certificar e relacionar as fontes de As nos alimentos, podendo, então, desenvolver e implementar medidas que reduzam os níveis de As nestes produtos, especialmente no arroz, promovendo uma alimentação que não gere riscos excessivos e desnecessários à saúde da população.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABT, Associations. **Effects of Inorganic Arsenic in Infant Rice Cereal on Children's Neurodevelopment.** <http://www.healthybabycereals.org> 07.dec.2017 [Acesso em 23 fev 2018] Disponível em: http://www.healthybabycereals.org/sites/default/files/2017-12/AbtAssociates_2017_EffectsOfInorganicArsenicInInfantRiceCerealOnChildren%27sNeurodevelopment.pdf

AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS (Brasil). Atlas irrigação: uso da água na agricultura irrigada / Agência Nacional de Águas Brasília: ANA, 2017.

AHMED, Md Kawser *et al.* Toxicological assessment of arsenic-induced hematological alterations and chromosomal aberrations in Tilapia *Oreochromis mossambicus*. **Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal**, v. 21, n. 1, p. 146-156, 2015.

AL RMALLI, S. W. *et al.* A survey of arsenic in foodstuffs on sale in the United Kingdom and imported from Bangladesh. **Science of the Total Environment**, v. 337, n. 1-3, p. 23-30, 2005.

ALEXANDER, Jan *et al.* Marine biotoxins in shellfish—Summary on regulated marine biotoxins Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain. **The EFSA Journal**, v. 1306, p. 1-23, 2009.

ALMAZ, M. G.; HALIM, R. A.; MARTINI, M. Y. Effect of Combined Application of Poultry Manure and Inorganic Fertiliser on Yield and Yield Components of Maize Intercropped with Soybean. *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science*, v. 40, n. 1, 2017.

ARAO, Tomohito *et al.* Effect of air temperature after heading of rice on the arsenic concentration of grain. **Soil Science and Plant Nutrition**, p. 1-5, 2018.

ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). **The ATSDR 2017 Substance Priority List**. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. 2018. Disponível em: <<https://www.atsdr.cdc.gov/spl/>>

ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). Toxicological profile for arsenic. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. 2007. Disponível em <http://www.atsdr.cdc.gov>

ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). Toxicological profile for mercury. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. 1999. Disponível em <http://www.atsdr.cdc.gov>

BAOSHAN, Zheng *et al.* Endemic arsenosis caused by indoor combustion of high-As coal in Guizhou Province, PR China. **Environmental geochemistry and health**, v. 27, n. 5-6, p. 521-528, 2005.

BÁRÁNY, E. *et al.* Trace elements in blood and serum of Swedish adolescents: relation to gender, age, residential area, and socioeconomic status. *Environmental research*, v. 89, n. 1, p. 72-84, 2002c. ISSN 0013-9351.

BATISTA, Bruno L. *et al.* Speciation of arsenic in rice and estimation of daily intake of different arsenic species by Brazilians through rice consumption. **Journal of hazardous materials**, v. 191, n. 1-3, p. 342-348, 2011.

BENEDETTI, D. *et al.* Genetic damage in soybean workers exposed to pesticides: evaluation with the comet and buccal micronucleus cytome assays. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, v. 752, n. 1, p. 28-33, 2013. ISSN 1383-5718.

BRAIBANTE, Mara Elisa Fortes; ZAPPE, Janessa Aline. A química dos agrotóxicos. *Química Nova na Escola*, v. 34, n. 1, p. 10-15, 2012.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 42, de 29 de agosto de 2013. Dispõe sobre o Regulamento Técnico MERCOSUL sobre Limites Máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimentos. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 30 ago. 2013. Seção 1, p. 33-35. Disponível em:
<http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/rdc0042_29_08_2013.pdf/c5a17d2d-a415-4330-90db-66b3f35d9fbd>

CARBONELL-BARRACHINA, Ángel A. *et al.* Inorganic arsenic contents in rice-based infant foods from Spain, UK, China and USA. **Environmental Pollution**, v. 163, p. 77-83, 2012.

CIGANA C. Uso de agrotóxicos no Rio Grande do Sul chega quase ao dobro da média nacional. Zero Hora 24.nov.2013 [Acesso em 19 fev 2018]. Disponível em:
<<http://zh.clicrbs.com.br/rs/noticias/economia/noticia/2013/11/uso-de-agrotoxicos-no-rio-grande-dosul-chega-a-quase-o-dobro-da-media-nacional-4343596.html>>.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION *et al.* Report of the Eighth Session of the Codex Committee on Contaminants in Food; The Hague, The Netherlands; 31 March–4 April 2014. **Rep14/CF. Food and Agriculture Organization of the United Nations**, 2014.

CORTINAS, Irail *et al.* Anaerobic biotransformation of roxarsone and related N-substituted phenylarsonic acids. **Environmental science & technology**, v. 40, n. 9, p. 2951-2957, 2006.

DE CASARETT E DOULL. Fundamentos em Toxicologia, Segunda edição, Editora AMGH Ltda. Porto Alegre, 2012.

DEFARGE, N.; DE VENDÔMOIS, J. Spiroux; SÉRALINI, G. E. Toxicity of formulants and heavy metals in glyphosate-based herbicides and other pesticides. **Toxicology Reports**, 2018.

DONGARRÀ, G. *et al.* Concentration and reference interval of trace elements in human hair from students living in Palermo, Sicily (Italy). *Environmental toxicology and pharmacology*, v. 32, n. 1, p. 27-34, 2011. ISSN 1382-6689.

EDGEELL, Kenneth. **US EPA method study 37 SW-846 method 3050 acid digestion of sediments, sludges, and soils**. US Environmental Protection Agency, Environmental Monitoring Systems Laboratory, 1989.

EDITION, Fourth. Guidelines for drinking-water quality. **WHO chronicle**, v. 38, n. 4, p. 104-8, 2011.

ESSIG B. Preço do glifosato encarece produção no Rio Grande do Sul. <http://www.canalrural.com.br> 01.nov.2017 [Acesso em 19 fev 2018]. Disponível em: <http://www.canalrural.com.br/noticias/rural-noticias/preco-glifosato-encarece-producao-rio-grande-sul-6960>

EUROPEAN COMMISSION. Commission regulation (EU) 2015/1006 of 25 June 2015 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels of inorganic arsenic in foodstuffs.

FEDEARROZ, Federação das Associações dos Arrozeiros do Rio Grande do Sul, 2017.

FELINI, Felício Zanin; BONO, José Antonio Maior. Produtividade de soja e milho, em sistema de plantio com uso de cama de frango na região de Sidrolândia-MS. *Ensaio e Ciência: C. Biológicas, Agrárias e da Saúde*, v. 15, n. 5, 2015.

GONÇALVES, José Augusto Costa. A contaminação natural por arsênio em solos e águas subterrâneas na área urbana de Ouro Preto (MG). 2011.

GOYER, R. A.; CLARKSON, T. W. Toxic effects of metals. Casarett & Doull's Toxicology. The Basic Science of Poisons, Fifth Edition, Klaassen, CD [Ed]. McGraw-Hill Health Professions Division, ISBN, v. 71054766, 1996.

GUIDELINES FOR DRINKING-WATER QUALITY, World Health Organization (WHO) 4^a ed. 2011.

GUILLOD-MAGNIN, Roxane *et al.* Arsenic species in rice and rice-based products consumed by toddlers in Switzerland. **Food Additives & Contaminants: Part A**, n. just-accepted, 2018.

HASSAN, Fatima Ismail *et al.* The relation between rice consumption, arsenic contamination, and prevalence of diabetes in South Asia. **EXCLI journal**, v. 16, p. 1132, 2017.

Healthy Babies Bright Futures (HBBF). **Effects of Inorganic Arsenic in Infant Rice Cereal on Children's Neurodevelopment**. ABT Associates. December 7, 2017

HILEMAN, Bette. Arsenic in chicken production. **Chem. Eng. News**, v. 85, n. 15, p. 34-35, 2007.

IARC (2012). The International Agency for Research on Cancer. *IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans*. Disponível em: <<http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol100C/mono100C.pdf>>.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). *Pesquisa de Orçamento Familiar (POF):2008-2009: Análise do consumo alimentar pessoal no Brasil* Rio de Janeiro: IBGE; 2011.

JAYASUMANA, Channa *et al.* Phosphate fertilizer is a main source of arsenic in areas affected with chronic kidney disease of unknown etiology in Sri Lanka. **SpringerPlus**, v. 4, n. 1, p. 90, 2015.

KARAGAS, Margaret R. *et al.* Association of rice and rice-product consumption with arsenic exposure early in life. **JAMA pediatrics**, v. 170, n. 6, p. 609-616, 2016.

KHAN, D. A. *et al.* Pesticide exposure and endocrine dysfunction in the cotton crop

agricultural workers of southern Punjab, Pakistan. *Asia-Pacific Journal of Public Health*, v. 25, n. 2, p. 181-191, 2013. ISSN 1010-5395.

KORDAS, K. *et al.* Prevalence and predictors of exposure to multiple metals in preschool children from Montevideo, Uruguay. *Science of the total environment*, v. 408, n. 20, p. 4488-4494, 2010. ISSN 0048-9697

LEMON, Jim *et al.* Package 'plotrix'. 2017.

LI, Hong-Bo *et al.* Arsenic Relative Bioavailability in Rice Using a Mouse Arsenic Urinary Excretion Bioassay and Its Application to Assess Human Health Risk. *Environmental Science & Technology*, v. 51, n. 8, p. 4689-4696, 2017.

LI, Yongfang *et al.* Chronic arsenic poisoning probably caused by arsenic-based pesticides: findings from an investigation study of a household. **International journal of environmental research and public health**, v. 13, n. 1, p. 133, 2016.

LOMBI, Enzo *et al.* Speciation and distribution of arsenic and localization of nutrients in rice grains. **New Phytologist**, v. 184, n. 1, p. 193-201, 2009.

MARIA, B. *et al.* Determination of Inorganic Arsenic in a Wide Range of Food Matrices using Hydride Generation-Atomic Absorption Spectrometry. **Journal of visualized experiments: JoVE**, n. 127, 2017.

MARÍN-MARTÍNEZ, Ruth *et al.* Aluminium, nickel, cadmium and lead in candy products and assessment of daily intake by children in Spain. *Food Additives & Contaminants: Part B*, v. 9, n. 1, p. 66-71, 2016.

MATEUS, V.L. *et al.* Study of the chemical composition of particulate matter from the Rio de Janeiro metropolitan region, Brazil, by inductively coupled plasma-mass spectrometry and optical emission spectrometry. **Spectrochim. Acta Part B At Spectrosc.**, v. 86, p. 131-136, 2013.

MEHARG, Andrew A. *et al.* Geographical variation in total and inorganic arsenic content of polished (white) rice. **Environmental Science & Technology**, v. 43, n. 5, p. 1612-1617, 2009.

MEHARG, Andrew A. *et al.* Speciation and localization of arsenic in white and brown rice grains. **Environmental Science & Technology**, v. 42, n. 4, p. 1051-1057, 2008.

MEHARG, Andrew A.; RAHMAN, Md Mazibur. Arsenic contamination of Bangladesh paddy field soils: implications for rice contribution to arsenic consumption. **Environmental Science & Technology**, v. 37, n. 2, p. 229-234, 2003.

MEHARG, Andrew A.; ZHAO, Fang-Jie. **Arsenic & rice**. Springer Science & Business Media, 2012.

MOSTAFALOU, S.; ABDOLLAHI, M. Pesticides and human chronic diseases: evidences, mechanisms, and perspectives. *Toxicology and applied pharmacology*, v. 268, n. 2, p. 157-177, 2013. ISSN 0041-008X.

NACHMAN, Keeve E. *et al.* Roxarsone, inorganic arsenic, and other arsenic species in chicken: a US-based market basket sample. **Environmental health perspectives**, v. 121, n. 7, p. 818, 2013.

NAITO, Shigehiro *et al.* Effects of polishing, cooking, and storing on total arsenic and arsenic species concentrations in rice cultivated in Japan. **Food chemistry**, v. 168, p. 294-301, 2015.

NAUJOKAS, Marisa F. *et al.* The broad scope of health effects from chronic arsenic exposure: update on a worldwide public health problem. **Environmental health perspectives**, v. 121, n. 3, p. 295, 2013.

NICO, Peter S. *et al.* Chemical structure of arsenic and chromium in CCA-treated wood: implications of environmental weathering. **Environmental science & technology**, v. 38, n. 19, p. 5253-5260, 2004.

NORTON, Gareth J. *et al.* **Variation in grain arsenic assessed in a diverse panel of rice (*Oryza sativa*) grown in multiple sites.** *New Phytologist*, v. 193, n. 3, p. 650-664, 2012.

OGA, S. *Fundamentos de Toxicologia*, Terceira edição, Editora Atheneu. São Paulo, 2008.

PANCOTTO, Laís. *Presença de transtornos mentais comuns e do uso de agrotóxicos no município de Monte Belo do Sul-RS: um estudo exploratório.* 2013.

PENG, Hanyong *et al.* Methylated Phenylarsenical Metabolites Discovered in Chicken Liver. ***Angewandte Chemie International Edition***, v. 56, n. 24, p. 6773-6777, 2017.

PINHEIRO, Fernanda Costa. **Determinação de arsênio total e inorgânico em sucos de frutas e arroz por ICP-MS.** 2016

POLETTI, J. Quantificação de elementos-traço em arroz. 2012. 38f. **Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso)-Curso de Química Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Química, Porto Alegre, RS.**

PRAKASH, P. *et al.* Assessment of Heavy Metal Contamination (Nickel and Arsenic) using GF-AAS in Local Brand Chocolates and Candies from Tiruchirappalli. 2014.

RAHMAN, M. Azizur; HASEGAWA, Hiroshi. High levels of inorganic arsenic in rice in areas where arsenic-contaminated water is used for irrigation and cooking. ***Science of the Total Environment***, v. 409, n. 22, p. 4645-4655, 2011.

REGO, Andreia *et al.* Amino acid contents and toxically relevant arsenic of rice varieties consumed in Portugal. ***Measurement***, v. 113, p. 189-195, 2018.

RHONDA FOLIO, M.; HENNIGAN, C.; ERRERA, J. A comparison of five toxic

metals among rural and urban children. *Environmental Pollution Series A, Ecological and Biological*, v. 29, n. 4, p. 261-269, 1982. ISSN 0143-1471.

RONDON, Wendy *et al* . Remoción de plomo en soluciones acuosas empleando nanoaluminofosfatos amorfos. *Rev. Ambient. Água, Taubaté* , v. 10, n. 1, p. 59-70, Mar. 2015

ROSSI M. O “alarmante” uso de agrotóxicos no Brasil atinge 70% dos alimentos. São Paulo. *El Pais*, 30.abr.2015 [Acesso em 19 fev 2018] Disponível em: <https://brasil.elpais.com/brasil/2015/04/29/politica/1430321822_851653.html>.

SEGURA, Fabiana Roberta *et al*. Arsenic speciation in Brazilian rice grains organically and traditionally cultivated: Is there any difference in arsenic content?. ***Food Research International***, v. 89, p. 169-176, 2016.

SHRAIM, Amjad M. Rice is a potential dietary source of not only arsenic but also other toxic elements like lead and chromium. ***Arabian Journal of Chemistry***, v. 10, p. S3434-S3443, 2017.

SILVA, Aurora Futuro; FIÚZA, António. Distribuição e comportamento do arsénio em ambientes naturais. Faculdade de Engenharia, Universidade do Porto, 2011.

SMITH, E.; NAIDU, Ravendra. Chemistry of inorganic arsenic in soils: kinetics of arsenic adsorption–desorption. ***Environmental geochemistry and health***, v. 31, n. 1, p. 49-59, 2009.

SOUSA, Francisco W. *et al*. Uso da casca de coco verde como adsorbente na remoção de metais tóxicos. *Química Nova*, v. 30, n. 5, p. 1153, 2007.

SOYLAK, M. *et al*. Trace metal content of snacks and appetizers consumed in Turkey. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, v. 76, n. 3, p. 436-441, 2006.

STOLZ, John F. *et al.* Biotransformation of 3-nitro-4-hydroxybenzene arsonic acid (roxarsone) and release of inorganic arsenic by Clostridium species. **Environmental Science & Technology**, v. 41, n. 3, p. 818-823, 2007.

SUN, Guo-Xin *et al.* Survey of arsenic and its speciation in rice products such as breakfast cereals, rice crackers and Japanese rice condiments. **Environment international**, v. 35, n. 3, p. 473-475, 2009.

TAPIO, Soile; GROSCHE, Bernd. Arsenic in the aetiology of cancer. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, v. 612, n. 3, p. 215-246, 2006.

TEAM, R. Core. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2014. 2016.

USFDA (U.S. Food and Drug Administration). (2013). Arsenic in rice: Full analytical results from rice/rice products. Available: <http://www.fda.gov/downloads/Food/FoodborneIllnessContaminants/Metals/UCM352467.pdf>

WANG, G.; FOWLER, B. A. Roles of biomarkers in evaluating interactions among mixtures of lead, cadmium and arsenic. *Toxicology and Applied Pharmacology*, v. 233, n. 1, p. 92-99, 2008. ISSN 0041-008X.

WATSON, Ronald Ross; PREEDY, Victor R.; ZIBADI, Sherma (Ed.). **Wheat and Rice in Disease Prevention and Health: Benefits, risks and mechanisms of whole grains in health promotion**. Cap 28, Academic Press, Elsevier, 2014.

WICKHAM, Hadley. *ggplot2: elegant graphics for data analysis*. Springer, 2016.

WILLIAMS, Paul N. *et al.* Greatly enhanced arsenic shoot assimilation in rice leads to elevated grain levels compared to wheat and barley. **Environmental Science & Technology**, v. 41, n. 19, p. 6854-6859, 2007.

WHO (World Trade Organization). Draft Standards for Veterinary Drug Residue Limits in Foods (Amendment part), 2015. Disponível em: https://docs.wto.org/dol2fe/Pages/FE_Search/FE_S_S007.aspx?SymbolList=G%2fS PS*&IssuingDateFrom=26%2f10%2f2015&AllTranslationsCompleted=1&MetaCollection=WTO&Id=135439&PageAnchorPosition=135439&SearchPagePageNumber=10&SearchPageCurrentIndex=1&SearchPageView#

XIAO, Gexin *et al.* Spatial autocorrelation analysis of monitoring data of heavy metals in rice in China. **Food Control**, v. 89, p. 32-37, 2018.

ZHU, Yong-Guan; WILLIAMS, Paul N.; MEHARG, Andrew A. Exposure to inorganic arsenic from rice: a global health issue?. **Environmental pollution**, v. 154, n. 2, p. 169-171, 2008.