



**CUANTIFICACIÓN DE ARSÉNICO EN DOS TIPOS DE ARROZ (*Oryza sativa*)
COMERCIAL Y CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA DE LOS GRANOS**

OSCAR XAVIER TORRES GONZÁLEZ

Tesis presentada a la Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Asunción,
como requisito para optar al grado de Magister en Química Ambiental

SAN LORENZO - PARAGUAY

ABRIL - 2022

**CUANTIFICACIÓN DE ARSÉNICO EN DOS TIPOS DE ARROZ (*Oryza sativa*)
COMERCIAL Y CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA DE LOS GRANOS**

OSCAR XAVIER TORRES GONZÁLEZ

Orientador: PROF. MAGNA MARÍA MONTEIRO, D.Sc.

Co-Orientador: PROF. LAURA GRACIELA MERELES CEUPPENS, D.Sc.

Tesis presentada a la Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Asunción,
como requisito para optar al grado de Magister en Química Ambiental

SAN LORENZO - PARAGUAY

ABRIL - 2022

**CUANTIFICACIÓN DE ARSÉNICO EN DOS TIPOS DE ARROZ (*Oryza sativa*)
COMERCIAL Y CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE LOS GRANOS**

OSCAR XAVIER TORRES GONZÁLEZ

Aprobado en fecha de Abril de 2022

Tribunal examinador:

Prof. Dr. Nelson Alvarenga

FCQ/UNA

Prof. Dra. Shirley Duarte

FCQ/UNA

Prof. Dra. María Eugenia Flores Giubi

FCQ/UNA

Prof. Dr. Fernando Fertonani

UNSP

Prof. Magna Monteiro D.S.c.

Orientador

Prof. Dra. Laura Mereles D.S.c.

Co-orientador

Prof. Dra. Fátima Yubero

Directora de posgrado

DEDICATORIA

A mis abuelos, Victoria y Atilano

A mi madre, Mirna

A mis amigos y allegados más cercanos

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca del curso de maestría, el incentivo económico al estudio y el financiamiento del proyecto PINV018-1061 del cual forma parte este trabajo de tesis.

Al laboratorio de Bio y materiales, de la Facultad Politécnica de la Universidad Nacional de Asunción, por su colaboración en cuanto a la caracterización de las muestras.

Al departamento de Bioquímica, Alimentos y Nutrición de la Facultad de Ciencias Químicas, donde fueron realizados los análisis de arsénico total.

Al departamento de Fisicoquímica de la Facultad de Ciencias Químicas, donde fueron realizadas las digestiones en el horno de microondas.

A mi tutora Prof. Dra. Magna Monteiro y a mi co tutora Prof. Dra. Laura Mereles por el acompañamiento y consejos en cada etapa y su inmensa paciencia.

A la Prof. Bioq. C. Diana Diez Pérez por el acompañamiento, consejos y paciencia por sobre todo.

A la Prof. Dra. Fátima Yubero, directora del programa de Maestría en Química Ambiental por el acompañamiento, seguimiento y consejos dados durante la maestría.

Al Prof. Dr. José Ruben Chamorro Olivares, encargado de la sección ambiental del Servicio Agrícola y Ganadero de Chile

A mis compañeros de maestría, especialmente a Federico Colman y Derlysa Colman por su ayuda.

A mis amigos en general por el apoyo brindado desde siempre.

CUANTIFICACIÓN DE ARSÉNICO EN DOS TIPOS DE ARROZ (*Oryza sativa*) COMERCIAL Y CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA DE LOS GRANOS

Autor: OSCAR XAVIER TORRES GONZALEZ

Orientador: PROF. MAGNA MARÍA MONTEIRO, D.Sc.

Co-Orientador: PROF. DRA. LAURA GRACIELA MERELES CEUPPENS, D.Sc.

RESUMEN

El arsénico es un contaminante ambiental y con efecto cancerígeno reconocido, absorbido y bioacumulado en el grano de arroz, de allí su importancia ya que de esa forma se incorpora a la alimentación. En este trabajo se analizaron muestras de arroz (*Oryza sativa*) comercial pulido y descascarillados provenientes de las zonas de Caapucú y San Juan Bautista, ubicadas en la cuenca del río Tebicuary, con el objetivo de cuantificar los niveles de arsénico total y determinar si los niveles hallados se encuentran dentro de los límites máximos establecidos y representan un riesgo para la salud humana, y además caracterizar los granos de arroz mediante las técnicas de DRX, FTIR y MEB – EDS. Se construyó una curva de calibración evaluando los parámetros de linealidad ($r^2 = 0,994$), LOD (0,32g/mL), LOQ (1,09g/mL), porcentaje de recuperación ($99,8\% \pm 10,6\%$ para arroz pulido y $100,5\% \pm 7,6\%$ para arroz descascarillado) así como el análisis de residuales mostrando un comportamiento heterocedástico. Se detectó la presencia de arsénico en todas las muestras mostrando que existe contaminación y cuyos niveles en valores medios fueron de 169 $\mu\text{g/kg}$ para arroz pulido y 269 $\mu\text{g/kg}$ para arroz descascarillado, si bien estos valores no superan los límites algunos valores individuales se encontraron por encima de los límites máximos permitidos por lo que representa un riesgo para la salud humana. Los resultados del análisis DRX mostraron una fase cristalina característica de la amilosa parte de la estructura del almidón, el análisis FTIR mostró picos de grupos funcionales característicos de proteínas, lípidos, carbohidratos y almidón, por último mediante el análisis MEB - EDS se identificó la presencia de minerales tales como Fósforo, Potasio, magnesio, Azufre, Silicio y aluminio con una semejanza entre el contenido de Fosforo y arsénico por el parecido entre la estructural del ion arsenito y el ion fosfato.

**QUANTIFICATION OF ARSENIC IN TWO TYPES OF COMMERCIAL RICE
(*Oryza sativa*) AND PHYSICOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF THE
GRAINS**

Author: OSCAR XAVIER TORRES GONZALEZ

Advisor: PROF. MAGNA MARÍA MONTEIRO, D.S.c.

Co-Advisor: PROF. LAURA GRACIELA MERELES CEUPPENS, D.S.c.

SUMMARY

Arsenic is an environmental contaminant with a recognized carcinogenic effect, absorbed and bioaccumulated in the rice grain, hence its importance since it is incorporated into the diet in this way. In this work, samples of polished and husked commercial rice (*Oryza sativa*) from the areas of Caapucú and San Juan Bautista, located in the Tebicuary river basin, were analyzed with the objective of quantifying the levels of total arsenic and determining if the levels found are within the maximum limits established and represent a risk to human health, and also characterize the rice grains using the XRD, FTIR and MEB - EDS techniques. A calibration curve was constructed evaluating the linearity parameters ($r^2=0.994$), LOD (0.32g/mL), LOQ (1.09g/mL), recovery percentage ($99.8\% \pm 10.6\%$ for polished rice and $100.5\% \pm 7.6\%$ for husked rice) as well as the residual analysis showing heteroscedastic behavior. The presence of arsenic was detected in all the samples showing that there is contamination and whose levels in average values were 169 $\mu\text{g/kg}$ for polished rice and 269 $\mu\text{g/kg}$ for husked rice, although these values do not exceed the limits, some individual values are found above the maximum limits allowed, which represents a risk to human health. The results of the XRD analysis showed a characteristic crystalline phase of the amylose part of the starch structure, the FTIR analysis showed peaks of functional groups characteristic of proteins, lipids, carbohydrates and starch, finally by SEM - EDS analysis the presence of minerals such as Phosphorus, Potassium, magnesium, Sulphur, Silicon and aluminum with a similarity between the content of Phosphorus and arsenic due to the similarity between the structure of the arsenite ion and the phosphate ion.

ÍNDICE

1	INTRODUCCIÓN.....	7
2	JUSTIFICACIÓN	9
3	OBJETIVOS	11
3.1	Objetivo general.....	11
3.2	Objetivos específicos.....	11
4	REVISIÓN DE LA LITERATURA	12
4.1	Arsénico. Química e interacción con el medio.....	12
4.2	Arsénico y salud humana	13
4.3	Contaminación por arsénico en arroz.....	14
4.3.1	Antecedentes regionales	14
4.3.2	Antecedentes Nacionales	15
4.4	Técnicas analíticas	16
4.4.1	Digestión asistida por microondas	19
4.5	Técnicas analíticas para la caracterización de arroz como matriz de interés ambiental.....	19
4.5.1	Difracción de rayos-x.....	20
4.5.2	Espectroscopía infrarroja (IR)	20
4.5.3	Espectroscopia de energía dispersiva acoplada a un microscopio electrónico de barrido (MEB-EDS).....	21
5	MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
5.1	Diseño.....	23
5.2	Muestreo	23
5.3	Tratamiento pre analítico de las muestras	24
5.4	Control de calidad de muestras. Humedad y cenizas	24
5.5	Análisis del contenido de arsénico total	24
5.5.1	Preparación de la curva de calibración	24

5.5.2	Verificación del método de digestión ácida asistida por microondas	25
5.5.3	Mineralización de muestras en horno de microondas.....	25
5.5.4	Medición del contenido de arsénico total por EAA - GH	26
5.6	Caracterización fisicoquímica de granos de arroz molidos	26
5.7	Análisis estadístico de datos de control de calidad y cuantificación de arsénico total	27
5.8	Análisis de gráficos DRX y FTIR	27
6	RESULTADOS.....	29
6.1	Control de calidad de granos de arroz.....	29
6.1.1	Contenido de humedad en las muestras de arroz pulido y descascarillado	29
6.2	Contenido de cenizas en las muestras de arroz pulido y descascarillado	30
6.3	Verificación del proceso de digestión ácida asistida por microondas y determinación del contenido de arsénico total.....	31
6.4	Caracterización de granos de arroz	34
6.4.1	Difracción de rayos-x.....	34
6.4.2	Espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR).....	35
7	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	38
8	CONCLUSIÓN.....	43
9	RECOMENDACIONES.....	44
10	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Comparación del contenido de humedad de las muestras de arroz.	30
Figura 2. Comparación del contenido de cenizas en las muestras de arroz	30
Figura 3. Curva de calibración estándar de soluciones de As total.....	32
Figura 4. Gráfico de residuales para la curva de calibración de As Total.....	32
Figura 5. Contenido de arsénico total en las muestras analizadas de arroz pulido	33
Figura 6. Contenido de arsénico total en las muestras analizadas de arroz descascarillado ..	33
Figura 7. Patrón de difracción de rayos-x de las muestras de arroz pulido y descascarillado	35
Figura 8. Espectro FTIR de las muestras de arroz pulido y descascarillado.....	36
Figura 9. Gráfico comparativo de porcentaje en masa de elementos minerales presentes en las muestras	37

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Comparación de técnicas analíticas más comúnmente usadas para la cuantificación de arsénico total. Fuente: Elaboración propia	18
Tabla 2. Comparación de calentamiento por microondas vs calentamiento convencional....	19
Tabla 3. Condiciones de funcionamiento del horno de microondas para digestión de muestras de arroz pulido y descascarillado.....	31
Tabla 4. Parámetros de desempeño del método de cuantificación.....	31
Tabla 5. Reportes de arsénico total en arroz a nivel regional	40
Tabla 6. Comparación de valores medios de As Total con la normativa legal vigente	40

LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS Y SIMBOLOS

AOAC: Association of Analytical Communities

AOCS: American Oil Chemists Society

As: Arsénico

AsT: Arsénico total

BGR: Instituto Federal de Geociencias y Recursos Naturales (Alemania)

BPA: Buenas prácticas agrícolas

CEN: Comité Europeo de Normalización

CONACYT: Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología

DRX: Difracción de rayos x

EAA-GH: Espectroscopía de Absorción atómica – Generador de Hidruros

EPA: Environmental Protection Agency

FAO: Food and Agriculture Organization

FTIR: Fourier Transform Infrared

HACRE: Hidroarsenicismo Crónico Regional Endémico

HG-AFS: Hydride generation atomic fluorescence

IARC: International Agency for Research on Cancer

ICP-MS: Inductively coupled plasma-mass-spectrometry

ICP-AES: Inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry

INTN: Instituto Nacional de Tecnología y Normalización

ISO: International standardization Organization

K α : Energía de rayos-x emitida del orbital K de un átomo

LOD: Limit of detection

LOQ: Limit of Quantification

MEB-EDS: Microscopía Electrónica de Barrido – Espectroscopía de energía dispersiva

mL: Mililitro

OMS: Organización Mundial de la Salud

USA: United States of América

Ws: Working solution

μ g: Microgramo

ng: Nanogramo

Kg: Kilogramo

1 INTRODUCCIÓN

Pocos son los datos que se tienen a nivel nacional sobre la presencia de arsénico en suelos, agua y cultivos vegetales de alimentos como el arroz, que tiene la capacidad de absorber este elemento desde el suelo y aguas de riego. Por lo tanto, no se conoce con exactitud los posibles daños que pueda causar este elemento como contaminante en matrices ambientales, alimentos y en la salud humana tras su posible incorporación a la cadena alimentaria.

Se ha reportado la presencia de arsénico en provincias de Argentina cercanas al Paraguay, como es el caso de Formosa, con concentraciones próximas a 50 $\mu\text{g/L}$ en agua (Swiecky et al., 2006) y 451 $\mu\text{g/Kg}$ en arroz en la provincia de Misiones (Villaamil Lepori, 2015) así como en arroz de zonas de cultivo pertenecientes a la cuenca del río Tebicuary, hasta 270 $\mu\text{g/Kg}$ (Mereles Ceuppens et al., 2019). Sin embargo, son necesarios estudios adicionales para complementar los datos acerca de este elemento como contaminante en arroz en nuestro país y además identificar la fuente de este contaminante y que sea posible trazar la dinámica de su transporte a través de la cadena alimentaria.

En el presente trabajo se planteó la cuantificación del contenido de arsénico total en arroz (*Oryza sativa*) pulido y descascarillado de muestras comerciales mediante la aplicación de digestión ácida asistida por microondas según el compendio de métodos CEM Corporation y posterior determinación por espectroscopía de absorción atómica acoplada a generador de hidruros según el método validado por la sección ambiental del Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) de Chile y además caracterizar fisicoquímicamente los granos mediante las técnicas de espectroscopía de energía dispersiva acoplada a un

microscopio electrónico de barrido (MEB-EDS), difracción de rayos-X (DRX) y espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) de modo a analizar estos datos en el contexto de este estudio en relación al arsénico.

Se espera que los resultados obtenidos sirvan como pie de partida para la construcción de una importante base de datos científica para la elaboración de programas de monitoreo ambiental, técnicas de prevención y/o mitigación de la contaminación, así como para toma de decisiones en políticas en el marco de la seguridad alimentaria y ambiental y la utilización de métodos y técnicas analíticas más amigables con el medioambiente.

2 JUSTIFICACIÓN

Conocer los niveles de arsénico tiene una alta relevancia por la carcinogenicidad asociada, con implicaciones en la seguridad alimentaria y la comercialización de alimentos como el arroz, considerando que este metaloide puede acumularse en tejidos vegetales del arroz e introducirse en la cadena alimentaria. Existen límites máximos para As a nivel nacional y regional para aguas y a nivel regional para arroz, pero cuyos niveles de contaminación en alimentos son poco conocidos en nuestro país y no tienen una normativa establecida, lo que puede repercutir en el riesgo de contaminación por arsénico en humanos a través de la cadena alimentaria, así como también en el desarrollo normal y rendimiento de los cultivos de arroz y su comercio a nivel internacional y la limitación para adoptar una postura nacional en la toma de decisiones estratégicas sobre manejo de cultivo, etc. Investigaciones realizadas en países cercanos como Bolivia y Argentina donde se reporta la presencia de As en suelos y agua subterránea en concentraciones superiores a los límites máximos establecidos, incluyendo zonas lindantes a la frontera y cercanas a la cuenca del río Tebicuary, hace que sea posible el hallazgo de este elemento como contaminante. Actualmente no se cuenta con una metodología oficial de los organismos regulatorios para su monitoreo en estas matrices en el país. Es importante a nivel ambiental identificar la presencia de este contaminante y su concentración, pudiendo encontrarse de forma natural en nuestro suelo debido a la cercanía geográfica con regiones endémicas. Son necesarios datos científicos a nivel nacional para conocer el grado de contaminación por arsénico en arroz pulido y descascarillado, los cuales son los productos con mayor riesgo de contaminación debido a la absorción y bio acumulación de este contaminante, y basados en estas bases científicas, delinear sistemas de monitoreo futuros,

fijar límites de seguridad, generar guías de buenas prácticas de manufactura, necesarios para el comercio y la seguridad alimentaria de la población.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

,

Obtener datos científicos a nivel nacional para conocer el grado de contaminación por arsénico en arroz pulido y descascarillado y a partir de estos ampliar la base de datos respecto al arsénico como contaminante ambiental.

3.2 Objetivos específicos

- Cuantificar los niveles de humedad y cenizas en los granos como criterios de calidad;
- Determinar si los niveles de arsénico cuantificados representan un indicio de contaminación ambiental y un riesgo para la salud humana;
- Caracterizar los granos de arroz mediante las técnicas analíticas DRX, FTIR y MEB-EDS;

4 REVISIÓN DE LA LITERATURA

4.1 Arsénico. Química e interacción con el medio

El arsénico es un metaloide o semi metal, ubicado en el grupo VA de la tabla periódica, que puede encontrarse en los estados de oxidación -3, 0, +3 y +5, variando su toxicidad de acuerdo a la especie, siendo el estado +3 el de mayor toxicidad seguido del estado de oxidación +5 y los compuestos inorgánicos a su vez más tóxicos que los orgánicos. Entre los compuestos de interés ambiental se puede citar tres grandes grupos, los compuestos de arsénico inorgánico, orgánico y gas arsina (Carbonell Barrachina, Burló Carbonell, & Mataix Beneyto, 1995).

En la naturaleza el arsénico se encuentra principalmente en forma de sulfuro, en complejos minerales que contienen plata, plomo, níquel, cobre, antimonio, cobalto y hierro, entre otros y llega a los suelos y acuíferos como contaminante a causa de actividades antropogénicas como la minería, los herbicidas, insecticidas y aditivos para la madera ya que el As forma parte de los mismos y pueden llegar al terreno de cultivo de los arrozales (Kumarathilaka, Seneweera, Meharg, & Bundschuh, 2018) y en forma natural por actividad volcánica. Los principales minerales que contienen arsénico son arsenopirita (FeAsS), rejalgar (As_4S_4) y oropimente (As_2S_3) (Smedley & Kinniburgh, 2002) los cuales pueden sufrir erosión y deposición aluvial en zonas de cultivo de arroz.

El arsénico inorgánico es la especie crítica de este elemento para la evaluación del riesgo humano en la dieta, es común que se reporten como contribuyentes a la ingesta dietética de arsénico inorgánico en el agua, vegetales, frutas y bebidas, siendo el arsénico de origen geogénico el principal contaminante de aguas subterráneas (Cubadda et al., 2016).

4.2 Arsénico y salud humana

Según la OMS, el arsénico está presente de forma natural en niveles altos en las aguas subterráneas de varios países y es considerado un agente cancerígeno confirmado, siendo su forma inorgánica la más tóxica, causando problemas en la piel, por ejemplo, queratosis plantar y palmar, descamaciones y en forma más grave cáncer de piel, su mayor amenaza para la salud pública reside en la utilización de agua contaminada para beber, preparar alimentos y regar cultivos alimentarios (IARC, 2012).

La exposición crónica al arsénico inorgánico afecta casi todos los órganos y sistemas, pudiendo causar, además, cáncer de pulmón, vejiga, piel, hígado, riñón y próstata. Su absorción es mayor si está en forma hidrosoluble, como en el caso del arroz, pero su bioaccesibilidad podría reducirse por compuestos de la matriz alimenticia (Medina-Pizzali, Robles, Mendoza, & Torres, 2018).

A nivel mundial es sabido que existen zonas o regiones endémicas especialmente afectadas por la contaminación de arsénico (Swiecky et al., 2006). Se define como Hidroarsenicismo Crónico Regional Endémico (HACRE) a la enfermedad producida por el consumo crónico de arsénico a través del agua y los alimentos por un periodo de exposición largo, a concentraciones superiores a 10 ppb, pudiéndose manifestar los síntomas, incluso hasta 5 años después del inicio de la exposición (Swiecky et al., 2006).

Una manera de reducir o hasta mismo evitar la contaminación por arsénico es aplicar

técnicas que posibilitan prevenir la contaminación de los alimentos por arsénico, según lo reportado por el *Codex Alimentarius*, estas medidas son aplicables en el origen y medidas agrícolas, las primeras tratan de identificar y controlar la contaminación por arsénico en la fuente; agua, arrozales y suelo; la segunda trata de educar o informar a los agricultores sobre las buenas prácticas agrícolas (BPA), las cuales incluye orientaciones técnicas del manejo, para reducir el arsénico en el arroz.

Se ha observado que el proceso de pulido del arroz provee una reducción significativa en el contenido de arsénico, cuando es comparado el antes y después del pulido (Jo & Todorov, 2019). Por otro lado, el simple lavado del arroz ha demostrado disminuir el contenido de arsénico en productos a base de arroz con contenido superior a 100 µg/kg (Cano Ferrer, 2018).

4.3 Contaminación por arsénico en arroz

4.3.1 Antecedentes regionales

En Argentina el primer reporte de casos de intoxicación se dio en la ciudad de Belle Ville en provincia de Córdoba, llanura Chaco-Pampeana Central (Bundschuh et al., 2012), los registros acerca de hallazgos de concentraciones de arsénico superiores a lo establecido en la legislación vigente (entre 50 µg/L y 5000 µg/L) muestran, principalmente, una distribución en las regiones del norte y centro, en las provincias de Córdoba, Chaco, Salta, Tucumán, Santiago del Estero, Pampa, Formosa, Buenos Aires entre otros (Swiecky et al., 2006). Por otro lado, en el altiplano boliviano se ven afectados departamentos donde existen actividades mineras y volcánicas, dándose contaminaciones por lixiviación, principalmente cercana a causas hídricas como el río Pilcomayo. En Potosí, Oruro y La Paz, esta actividad data desde hace siglos, resultando en graves contaminaciones a través de los años, llegando a la cadena alimentaria (Bundschuh et al., 2012). Otros reportes indican que, muestras de agua subterránea extraídas en las cercanías del lago Poopó superan en un 90% los límites máximos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de 10 µg/L permitidos (Ormachea Muñoz et al., 2016). Así también, se ven

afectados los lagos Titicaca y la región de la bahía de Cohana, donde la principal fuente de arsénico podría darse por la alteración geológica de las rocas por actividad volcánica (Lima et al., 2019).

En Uruguay, se ha estudiado la presencia de arsénico desde relativamente hace poco tiempo, específicamente desde el 2005, en muestras de agua provenientes de acuíferos como el guaraní, Mercedes y Raigón, pudiéndose observar concentraciones superiores a las permitidas por la legislación uruguaya, de 5 ug/L para la clase 1, agua potable susceptible de ser tratada convencionalmente (Manganelli et al., 2007).

4.3.2 Antecedentes Nacionales

En el año 2017 se han reportado trabajos de investigación sobre contaminación con arsénico en agua de riego (10,2 $\mu\text{g/L}$), arroz descascarillado (116 - 278 $\mu\text{g/Kg}$) y arroz pulido (98,4 - 179,5 $\mu\text{g/Kg}$) en tres puntos correspondientes a molinos arroceros dentro de la cuenca del río Tebicuary, sin embargo, los autores no han establecido su procedencia. Para la cuantificación de arsénico en arroz fue validado un método de digestión ácida por calcinación en mufla y espectrometría de absorción atómica con generador de hidruros (Mereles Ceuppens et al., 2019).

Otros datos recabados de la reserva natural Tapytá (Caazapá), que se encuentra en la cabecera del río Tebicuary han mostrado concentraciones de arsénico de hasta 2,36 mg/L en arroyo, en pozo somero las concentraciones de arsénico reportadas fueron de 0,06 mg/L. Se menciona que es necesario realizar estudios en las matrices de suelo de zonas aledañas a fin de determinar la procedencia del arsénico (Fariña, Larroza, Presser, & Mallen, 2019).

Han sido reportadas además mediciones de 50 a 53 $\mu\text{g/L}$ en las localidades de Toro Blanco, San Juan Nepomuceno y coronel Bogado (Secretaría del Ambiente (SEAM);

Instituto Federal de Geociencias y Recursos Naturales (BGR), 2009). Estos valores citados se encuentran por encima de los valores máximos permitidos por las normativas nacionales para aguas (Resolución 222/02. Por la cual se establece el padron de calidad de aguas en el territorio nacional (Paraguay), n.d.) igual a 10 µg/L y la Norma Paraguaya 50 µg/L (INTN, 1980).

4.4 Técnicas analíticas

Varias son las técnicas analíticas que se utilizan para la cuantificación de arsénico en arroz. Algunas de las más comunes son: espectrometría de masas con plasma acoplado por inducción (ICP-MS), donde los átomos se ionizan mediante plasma de Argón a una temperatura de entre 6000 a 8000 K y pasan a través de un detector de cuadrupolo (Litter, Armienta, & Farías, 2009).

La espectroscopia de emisión atómica ICP (ICP-AES) también está basada en la ionización por plasma de Argón, con la diferencia de que los iones al desacelerarse emiten energía en el espectro visible y ultravioleta y esto es captado por un policromador que produce señales que se recogen en integradores analógicos individuales y luego los voltajes de salida se digitalizan, se transforman en concentraciones, se guardan y visualizan (Skoog, James Holler, & Nieman, 2001).

La espectroscopia de absorción atómica acoplada a generación de hidruros (HG-AAS) forma hidruros covalentes volátiles por reacción con el borohidruro de sodio en solución ácida, y su generación como gas permite que sean transferidos a una celda de cuarzo calentada a 900°C donde se produce la disociación y atomización de los mismos (Litter et al., 2009).

Generalmente, la ICP-AES es adecuada para determinar el total de arsénico en los

alimentos y su sensibilidad se puede mejorar acoplándola a HG. ICP-MS tiene la sensibilidad más elevada sin derivatización. HG-AAS y HG-AFS tienen límites de detección (LOD) en el margen de microgramo por kilogramo, que es adecuado para todos los alimentos. Para el análisis de arsénico total, las muestras pueden ser tratadas por vía húmeda o seca siendo el más común, el de mineralización húmeda por medio de microondas (Litter et al., 2009). Para ser aplicados, se necesitan métodos validados, tales como los determinados por la Organización Internacional para la Estandarización (ISO), AOAC International o la Organización Europea para la Estandarización (CEN) (FAO/O M S, 2011).

Los métodos a ser utilizados para investigaciones científicas deben estar debidamente respaldados ya sea por normas u organismos competentes y/o validados por ensayos inter-laboratorios. Según el laboratorio de referencia de la Unión Europea para Metales pesados en piensos y alimentos, existen varias metodologías analíticas oficiales y normalizadas disponibles en documentos para su uso referidas a diferentes matrices, una de ellas el arroz (European Comission, 2012). Dentro del documento se mencionan en forma separada, los organismos responsables por las metodologías y la denominación dada por cada uno de ellos, de la siguiente forma:

- Comité Europeo de Normalización (CEN) para su norma EN 14546:2005
- U. S. Environmental Protection Agency (U.S. EPA)
- AOAC internacional para su norma 986.15
- International Standarization Organization (ISO) para sus normas ISO 17239: 2004 como también ISO 6634: 1982 (European Comission, 2012)

Éste último, aunque sencillo y rápido, tiene los inconvenientes de que posee un Límite de detección de 0,005 mg/L y es un método ya antiguo (1982) (Litter et al., 2009)

En general, se cita en artículos científicos y normativas el uso de la técnica analítica de absorción atómica acoplada a generador de hidruros, pudiéndose hallar dos variantes en el equipamiento, con atomizador de llama y atomizador de horno de grafito.

Un análisis comparativo (Tabla 1) de las técnicas analíticas en cuanto a ventajas y desventajas de su uso revela que la más adecuada resulta ser la de absorción atómica acoplada a un generador de hidruros.

Tabla 1. Comparación de técnicas analíticas más comúnmente usadas para la cuantificación de arsénico total. Fuente: Elaboración propia

Metodologías de cuantificación de arsénico total más comúnmente usadas		
Metodología	Ventajas	Desventajas
Espectrometría de masas con plasma acoplado por inducción (ICP-MS)	• Sensibilidad • Análisis multi elemental en simultaneo	Disponibilidad del equipo Interferencias de matriz Saturación de la señal a concentración elevada • Equipamiento costoso • Instalaciones especiales • Analistas entrenados
Espectroscopia de emisión atómica ICP (ICP-AES)	• Sensibilidad	Mayor volumen de muestra • Equipamiento costoso • Analistas entrenados
Espectroscopia por absorción atómica acoplada con generación de hidruros (HG- AAS)	• Sensibilidad Resultados en menor tiempo Volumen de muestra Metodología sencilla • Instrumentación relativamente económica • Selectividad	Análisis mono elemental Generación de gases tóxicos
Espectroscopía por absorción atómica con horno de grafito	• Mayor sensibilidad • Permite trabajar con	Menor precisión Mayor número de

	volúmenes pequeños de muestras y alcanzar concentraciones de ppb	interferencias
--	--	----------------

4.4.1 Digestión asistida por microondas

La digestión asistida por microondas funciona como su nombre lo dice mediante la incidencia de microondas que son ondas electromagnéticas que constan de un componente eléctrico y magnético, cuando esta energía atraviesa la materia el dipolo de esta intenta alinearse con el campo magnético de las microondas generándose un calentamiento conocido como calentamiento dieléctrico, este calentamiento puede darse rápidamente por lo que alcanzar temperaturas elevadas puede tomar incluso solo minutos (de la Hoz, Diaz-Ortíz, & Prieto, 2016).

El calentamiento proporcionado se da directamente a las moléculas dentro del recipiente calentándolas en forma volumétrica por lo que se considera que es altamente eficiente. El método utiliza además recipientes cerrados por lo que permite que no se den pérdidas por volatilización durante el calentamiento (de la Hoz et al., 2016). Una comparación entre el calentamiento por microondas y el calentamiento convencional se observa en la siguiente tabla (Tabla 2).

Tabla 2. Comparación de calentamiento por microondas vs calentamiento convencional

Calentamiento por microondas	Calentamiento convencional
Acoplamiento energético	Conducción/Convección
Acoplamiento a nivel molecular	Calentamiento superficial
Rápido	Lento
Volumétrico	Superficial
selectivo	No selectivo

Adaptado de de la Hoz et al., 2016

4.5 Técnicas analíticas para la caracterización de arroz como matriz de interés

ambiental

4.5.1 Difracción de rayos-x

Un material sólido cristalino está caracterizado por su estructura, es decir, por el arreglo espacial regular de sus átomos. El método de difracción permite identificar estructuras cristalinas. La difracción de rayos-X (DRX) de polvos es una técnica muy utilizada para la identificación de muestras naturales de minerales y rocas, así como para la identificación de fases producidas por reacciones en el laboratorio. El método implica la interacción de la radiación electromagnética con los átomos de la muestra. Cuando el haz de rayos-X bombardea una muestra, el haz difractado refleja los planos de la estructura cristalina, que interfieren constructivamente. Esta interferencia sólo ocurre cuando la diferencia en la trayectoria es un múltiplo entero “n” de la longitud de onda λ . Los rayos difractados por cada cristalito, que se encuentra orientado en forma aleatoria formando un ángulo θ con el haz, que deben satisfacer la ecuación de Bragg:

$\lambda = 2d \sin \theta$ donde, λ es la longitud de onda de la radiación, θ es el ángulo de incidencia del haz con los planos del cristal y d corresponde al espaciado entre los planos en el cristal. El difractograma exhibe la intensidad de la difracción observada en función del ángulo de incidencia. Este difractograma es característico de la muestra, y la identificación de las fases presentes se realiza por comparación con los espectros de patrones disponibles en un banco de datos internacional (Litter et al., 2009).

4.5.2 Espectroscopía infrarroja (IR)

La radiación infrarroja se subdivide en infrarrojo cercano (14000 cm^{-1} a 4000 cm^{-1}), infrarrojo medio (4000 cm^{-1} a 400 cm^{-1}) e infrarrojo lejano (400 cm^{-1} a 4 cm^{-1}). La mayor parte de las moléculas absorbe luz en el infrarrojo medio. El movimiento vibracional causado por la absorción en el infrarrojo es complejo, pero puede ser analizado como constituido por un determinado número de vibraciones, llamadas modos normales de vibración (Litter et al., 2009).

Las energías vibracionales de las moléculas son cuantizadas. Cuando una molécula absorbe radiación infrarroja, sufre una transición a un nivel de energía vibracional más alto. Esta transición sólo es posible cuando la energía de la radiación que incide en la molécula es igual a la diferencia de energía entre los niveles de energía vibracionales. Por lo tanto, las dos condiciones necesarias para que ocurra absorción en el infrarrojo son la variación del momento dipolar de la molécula durante la vibración y la incidencia de radiación con energía correspondiente a la diferencia de los niveles vibracionales. Un espectro infrarrojo mostrará bandas de absorción a valores de energía correspondientes a esas vibraciones (Litter et al., 2009).

La espectroscopía infrarroja presenta algunas ventajas como técnica de análisis químico. Pueden, en principio, ser analizados por esta técnica sólidos, líquidos, gases, semisólidos, polvos y polímeros. El espectro infrarrojo es rico en información: la posición, intensidad, altura y formato de los picos en un espectro proporcionan información sobre las uniones químicas presentes. Es una técnica relativamente rápida, fácil y sensible. Pequeñas cantidades (microgramos) de muestra pueden ser preparadas y analizadas en menos de 5 minutos. Por último, los equipos son relativamente baratos. La mejor manera de trabajar con mezclas complejas es, por ejemplo, separar sus constituyentes para facilitar la identificación de las bandas (Litter et al., 2009).

4.5.3 Espectroscopia de energía dispersiva acoplada a un microscopio electrónico de barrido (MEB-EDS)

Respecto a la microscopía electrónica se puede decir que es un microscopio electrónico (ya sea de barrido o de transmisión) constituido por un cañón de electrones, lentes electromagnéticas y una pantalla, y el responsable de la generación del haz de electrones, el cañón de electrones, cuya fuente puede ser de dos tipos, termoiónicas o de emisión de campo. En un emisor termoiónico (usado más comúnmente), los electrones se emiten a partir de un material incandescente, el Tungsteno, que permite soportar por más

tiempo temperaturas elevadas (2600 a 3000 K), los electrones emitidos son desplazados hacia un plano de mínima sección aumentando la densidad de electrones por unidad de área en un punto llamado de entrecruzamiento y que se conoce como la fuente efectiva de electrones (Sorrivas de Lozano, Morales, & Yañez, 2014).

Se sabe que cada orbital tiene una cantidad discreta de energía que es característica para cada elemento. Por lo tanto, la diferencia de energía entre orbitales es también una cantidad discreta y característica de un átomo en particular. La espectroscopía de rayos x dispersiva en energía (EDS), brinda información sobre la composición elemental de la muestra (Sorrivas de Lozano et al., 2014).

5 MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Diseño

Estudio observacional descriptivo, con componente analítico (Hernández Sampieri, Fernández Collado, & Baptista Lucio, 2014). El mismo fue desarrollado en los meses de mayo a noviembre del 2021, los ensayos fueron realizados en el laboratorio del Departamento de Bioquímica de alimentos de la Facultad de Ciencias Químicas U.N.A. y el Laboratorio de Bio y materiales de la Facultad Politécnica U.N.A dentro del marco del proyecto CONACYT PINV18-1061 denominado ``Distribución de arsénico total en la biosfera de la cuenca del río Tebicuary, Paraguay``.

Para determinación del contenido de As Total en las muestras de arroz se tomó como referencia normativa a nivel regional la Norma general para los contaminantes y las toxinas presentes en los alimentos y piensos (CXS 193-1995) perteneciente al *Codex Alimentarius*, que fija los valores máximos permitidos en 350 µg/Kg de As para arroz descascarillado y 200 µg/Kg para arroz pulido (Codex Alimentarius, 2019).

5.2 Muestreo

La toma de muestras se realizó por conveniencia de muestras comerciales de 1Kg identificadas como pertenecientes a la zona de interés del estudio. Las muestras colectadas corresponden a las localidades Caapucú y San Juan Bautista, ubicadas en la cuenca del río

Tebicuary.

5.3 Tratamiento pre analítico de las muestras

Los paquetes de arroz comercial fueron mezclados uniformemente usando 3 lotes por cada una obteniéndose un pool de muestras, a partir de la misma fue sacada una sub muestra por cuarteo la cual fue sometida a molienda en una procesadora y posteriormente tamizada en una malla de 30 mesh (0,595 mm) hasta obtener un total de 250 gramos que fueron guardados y etiquetados en pots de plástico con tapa (Polietileno).

5.4 Control de calidad de muestras. Humedad y cenizas

La determinación de humedad se realizó de acuerdo al método oficial de la A.O.C.S. con balanza termogravimétrica, pesando la muestra homogeneizada y tamizada. Los resultados se expresaron porcentaje. La determinación de cenizas se realizó siguiendo el método oficial de A.O.A.C. 972.15 método gravimétrico, donde se pesó la muestra en crisoles de 50 mL, llevándola a calcinación sobre plancha a una temperatura de 250 °C y posteriormente en mufla por 12 horas a una temperatura de 550 °C.

5.5 Análisis del contenido de arsénico total

5.5.1 Preparación de la curva de calibración

La curva de calibración se preparó a partir de una solución estándar de arsénico As+5 (como ácido arsénico) certipur Merck de concentración 1000 ppm (1000 mg/L), a partir de la cual fue preparada una solución Intermedia (SI) 10 µg/mL, posteriormente se tomó 1 mL de esta dilución para preparar una solución de Trabajo (WS) de 100 ng/mL. Las disoluciones de la Curva de Calibración se prepararon tomando 100 µL, 250 µL, 500

μL , 1000 μL , 2 mL y 4 mL de la solución de 100 ng/mL (WS) con pipeta automática y llevadas a matraces de 50 mL, para obtener las soluciones de la curva con concentraciones de 0,2; 0,5; 1; 2; 4; y 8 ppb, respectivamente.

5.5.2 Verificación del método de digestión ácida asistida por microondas

Para la Verificación de un método de análisis se considera un proceso de selección de una serie de factores que se adecuen de una mejor manera a los objetivos propuestos en base a una metodología ya establecida para la determinación de un analito. En este estudio fueron considerados como parámetros de verificación del procedimiento analítico la linealidad, límite de detección, límite de cuantificación, el análisis de residuales y el porcentaje de recuperación, el cual se realizó con un agregado de 200 ppb de Arsénico a la matriz previa digestión, esto junto con los demás valores calculados a partir de la construcción de la curva de calibración (Salas, Torrez, Amaro, Ibarra, & González, 2019) y de cálculos analíticos.

Se realizó la verificación del proceso de digestión siguiendo las indicaciones dadas en el compendio de métodos CEM Corporation y la sección ambiental del Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) de Chile utilizando 0,5 g de muestra en combinación con la utilización de HNO_3 (c) + HCl (c) en una relación 4:1 a una potencia de 1080 WATT y una presión de 800 psi.

5.5.3 Mineralización de muestras en horno de microondas

Las muestras fueron pesadas en balanza analítica dentro de tubos de digestión para microondas por triplicado y luego se agregaron bajo campana HNO_3 (65% for analysis, libre de As, EMSURE ISO 1.00456.2500) y HCl conc. (37 – 38 % for analysis) con pipeta volumétrica, para posteriormente dejar reposar el tubo de digestión abierto bajo campana extractora durante 15 min (pre-digestión).

Para la digestión en microondas se utilizó un horno de microondas (MARS 2, USA) con el programa "arroz II" en Classic Methods (Rampa Temperatura: 20 min, Temperatura 210 °C, mantenimiento; 15 min, y enfriamiento 15 min, Potencia; 1080 Watts) de acuerdo al Compendio de métodos CEM Corporation y la sección ambiental del Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) de Chile para digestión ácida asistida por microondas. El contenido de los tubos fue transferido cuantitativamente a erlenmeyers de 100 mL, y calentados a 80 °C en placa calefactora para evaporar el ácido hasta reducción de volumen a 2 mL aproximadamente. Una vez enfriada la muestra el contenido fue transferido nuevamente a matraces volumétricos de 50 mL en forma cuantitativa haciendo lavados de los erlenmeyers con agua destilada.

Se agregó a los matraces HCl 4,5 M primeramente junto con I (sólido) y Ac. Ascórbico (sólido) al mismo tiempo previamente pesados en tubos eppendorfs como agentes reductores para una pre reducción del $[\text{As}]^{(+5)}$ a $[\text{As}]^{(+3)}$, por último, se llevó a volumen con agua ultra pura homogeneizando en forma vigorosa para luego dejar reposar 1 hora.

5.5.4 Medición del contenido de arsénico total por EAA - GH

El análisis de arsénico total se realizó por medio de la técnica de espectroscopia de absorción atómica con generador de hidruros (EAA-GH) previa digestión ácida asistida por microondas.

5.6 Caracterización fisicoquímica de granos de arroz molidos

La caracterización de granos de arroz se realizó mediante las técnicas de difracción de rayos-X (DRX), espectroscopia de energía dispersiva acoplada a un microscopio electrónico de barrido (MEB-EDS) y espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR).

Se utilizó un microscopio electrónico de barrido con un detector EDS acoplado (Marca Zeiss, modelo EVO15) este posibilita la determinación de la composición química de los elementos presentes mediante dispersión de rayos x. Se siguió el procedimiento descrito por Sorrivás de Lozano et al., 2014 dispersando las partículas ya previamente separadas por tamiz, en un líquido inerte (alcohol isopropílico) y su posterior evaporación antes de colocar en el porta muestras del microscopio. Las muestras fueron metalizadas con carbono para posibilitar la conducción eléctrica en las muestras y la verificación de la composición química.

El análisis de los granos de arroz para la identificación de los grupos funcionales que forman parte de la composición se realizó mediante la técnica de espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier. El método utilizado fue el de la pastilla de Bromuro de potasio (KBr) y la lectura de los picos se realizó en el rango de longitud de onda de 4000 a 400 cm^{-1} (MERCOSUR, 2015).

5.7 Análisis estadístico de datos de control de calidad y cuantificación de arsénico total

Para el registro de los datos analíticos obtenidos de la determinación de arsénico total se utilizó una planilla electrónica Excel 2016 y para el tratamiento estadístico de los datos derivados del control de calidad en cuanto a humedad y cenizas en arroz se utilizó el software Graph Pad Prism 6.2 para comparación de medias a 95% de intervalo de confianza mediante el test de ANOVA para el análisis de la diferencia de medias, con post test de Tuckey con valor $p < 0,05$ que establece entre cuales de las muestras existe diferencia significativa.

5.8 Análisis de gráficos DRX y FTIR

Para el análisis de los datos de caracterización fisicoquímica y visualización de los espectros FTIR y DRX fue utilizado el software Origin pro 2021.

6 RESULTADOS

En este apartado se muestran los resultados observados, primeramente, aquellos obtenidos del control de calidad de arroz en cuanto a humedad y cenizas, la elaboración de la curva de calibración y los valores de arsénico total encontrados en las muestras de arroz y los espectros FTIR y gráficos de datos obtenidos de dispersión de rayos x (EDS).

6.1 Control de calidad de granos de arroz

6.2 Contenido de humedad en las muestras de arroz pulido y descascarillado

Se muestra el gráfico obtenido del análisis estadístico de los datos de la determinación de humedad (Anexo 3) en balanza termogravimétrica hechas por quintuplicado.

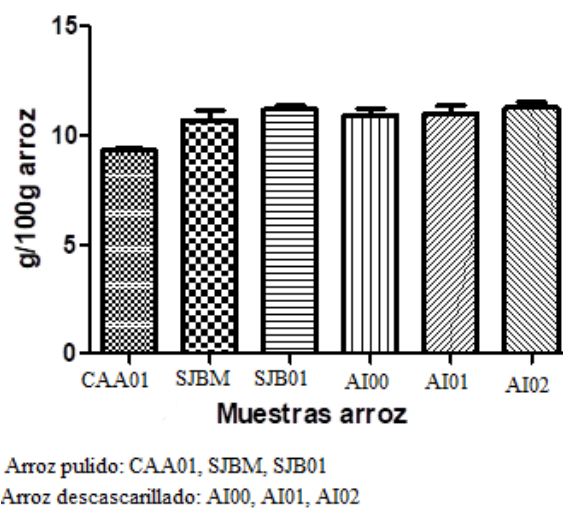


Figura 1. Comparación del contenido de humedad de las muestras de arroz.

6.3 Contenido de cenizas en las muestras de arroz pulido y descascarillado

Se muestra el gráfico obtenido del análisis estadístico de los datos de la determinación de cenizas (Anexo 4) por el método gravimétrico hechas por triplicado.

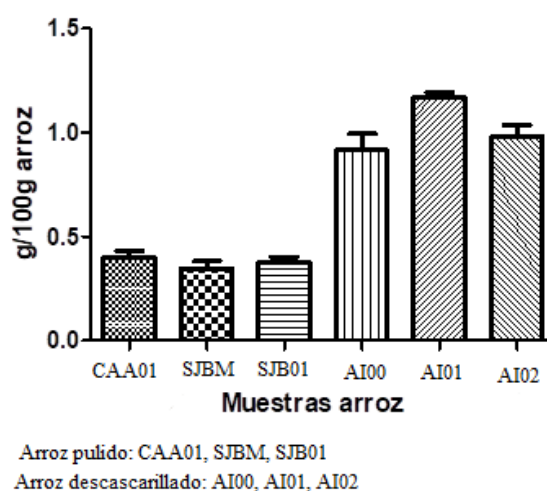


Figura 2. Comparación del contenido de cenizas en las muestras de arroz

6.4 Verificación del proceso de digestión ácida asistida por microondas y determinación del contenido de arsénico total

Para la realización de la digestión fueron ajustados los valores del programa “Arroz II” (Tabla 3). Los valores de los parámetros de desempeño que resultaron de la verificación del método se observan en la Tabla 4.

Tabla 3. Condiciones de funcionamiento del horno de microondas para digestión de muestras de arroz pulido y descascarillado

Etapas	Tiempo (Minutos)	Temperatura (°C)
Rampa de calentamiento	20	Hasta 210
Mantenimiento	15	210
Enfriamiento	15	40-60

Tabla 4. Parámetros de desempeño del método de cuantificación.

$*LD = Y_0 + 3s$ (ng/mL)	$*LC = Y_0 + 10s$ (ng/mL)	r^2 (linealidad)	% De recuperación **
0,32	1,09	0,994	99,8% ± 10,6% (A. Pulido)
			100,5% ± 7,6% (A. Descascarillado)

*LD: Límite de Detección; LC: Límite de Cuantificación

**Rango de aceptación: 80 % - 110% de recuperación. Fuente (MAPA-LANAGRO, 2015)

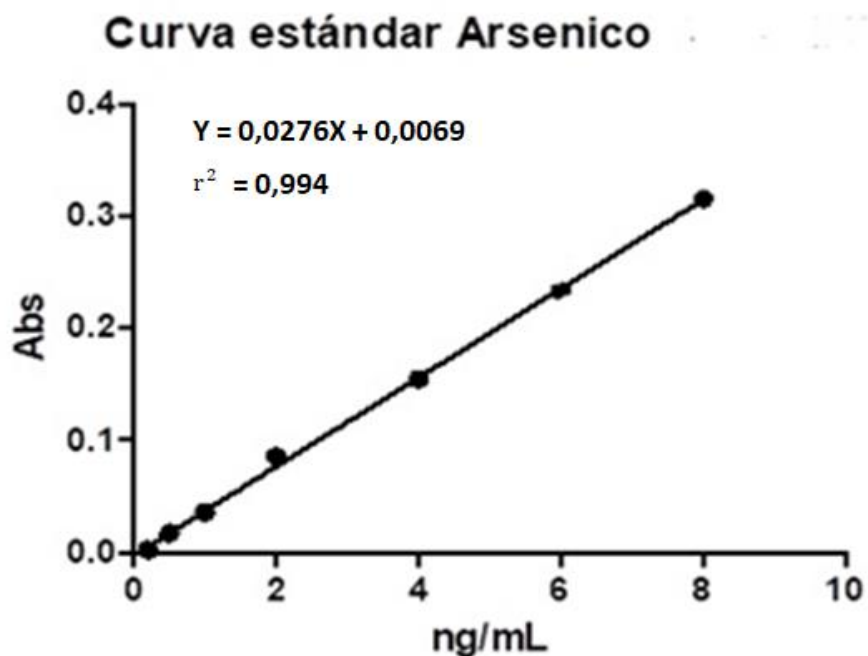


Figura 3. Curva de calibración estándar de soluciones de As total

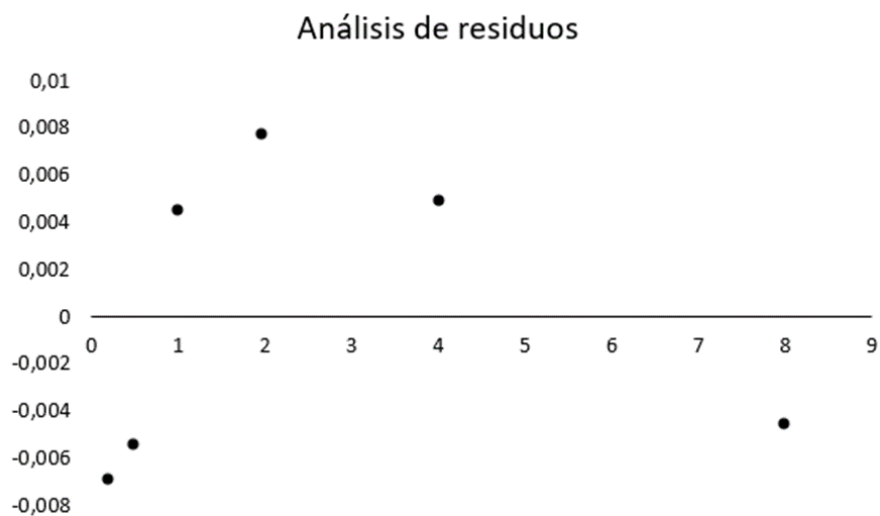


Figura 4. Gráfico de residuales para la curva de calibración de As Total

Para la determinación del contenido de arsénico total se analizaron 6 muestras por triplicado 3 de arroz pulido y 3 de arroz descascarillado, con 2 fortificados por tipo de arroz con una recuperación del 99,8 % ± 10,6% para arroz pulido y 100,5 % ± 7,6% para el arroz descascarillado. La curva de calibración (figura 1) fue realizada con 7 puntos a

0,2; 0,5; 1; 2; 4; 6 y 8 ng/mL respectivamente con una correlación $r^2=0,994$ obteniéndose valores de concentración entre 155,056 $\mu\text{g/kg}$ y 346,450 $\mu\text{g/kg}$ de arsénico total, siendo el límite máximo de 200 $\mu\text{g/Kg}$ para arroz pulido y 350 $\mu\text{g/Kg}$ para arroz descascarillado (Codex Alimentarius, 2019).

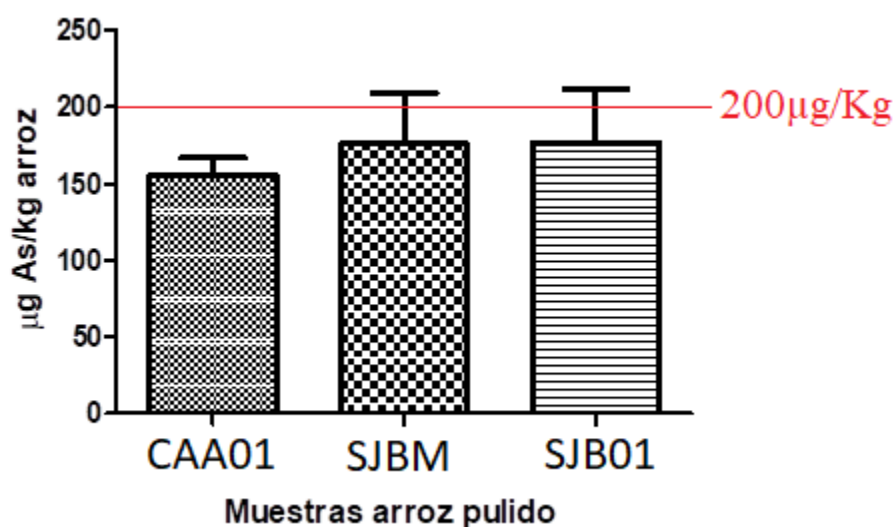


Figura 5. Contenido de arsénico total en las muestras analizadas de arroz pulido

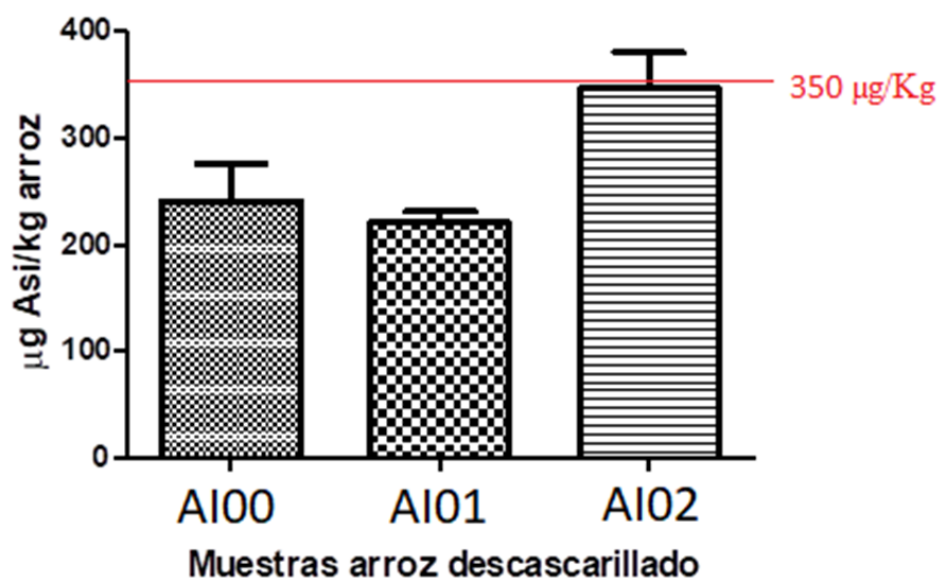


Figura 6. Contenido de arsénico total en las muestras analizadas de arroz descascarillado
Los resultados promedio generales fueron de 169 $\mu\text{g/Kg}$ para arroz pulido y 269 $\mu\text{g/Kg}$

para arroz descascarillado.

6.5 Caracterización de granos de arroz

6.5.1 Difracción de rayos-x

El análisis de difracción de rayos X (DRX) (figura 6) mostró la presencia de amilosa, componente del almidón (Kanazawa, Sanabria, & Monteiro, 2021) con un patrón de difracción característico con picos diversos formando un patrón entre tipo A y B con picos fuertes en alrededor de 15.05° , 17.1° , 18.01° y 23.06° y picos débiles en 19.89° , 26.51° y 30.3° en la escala de Bragg (2θ) que se cumple para las muestras CAA01, SJB01, SJBM, AI02 y AI00 en concordancia con lo observado por (Singh & Prasad, 2016) exceptuando a la muestra AI01 la cual presenta picos débiles en su totalidad en 15.05° , 17.1° , 19.89° y 23.06° .

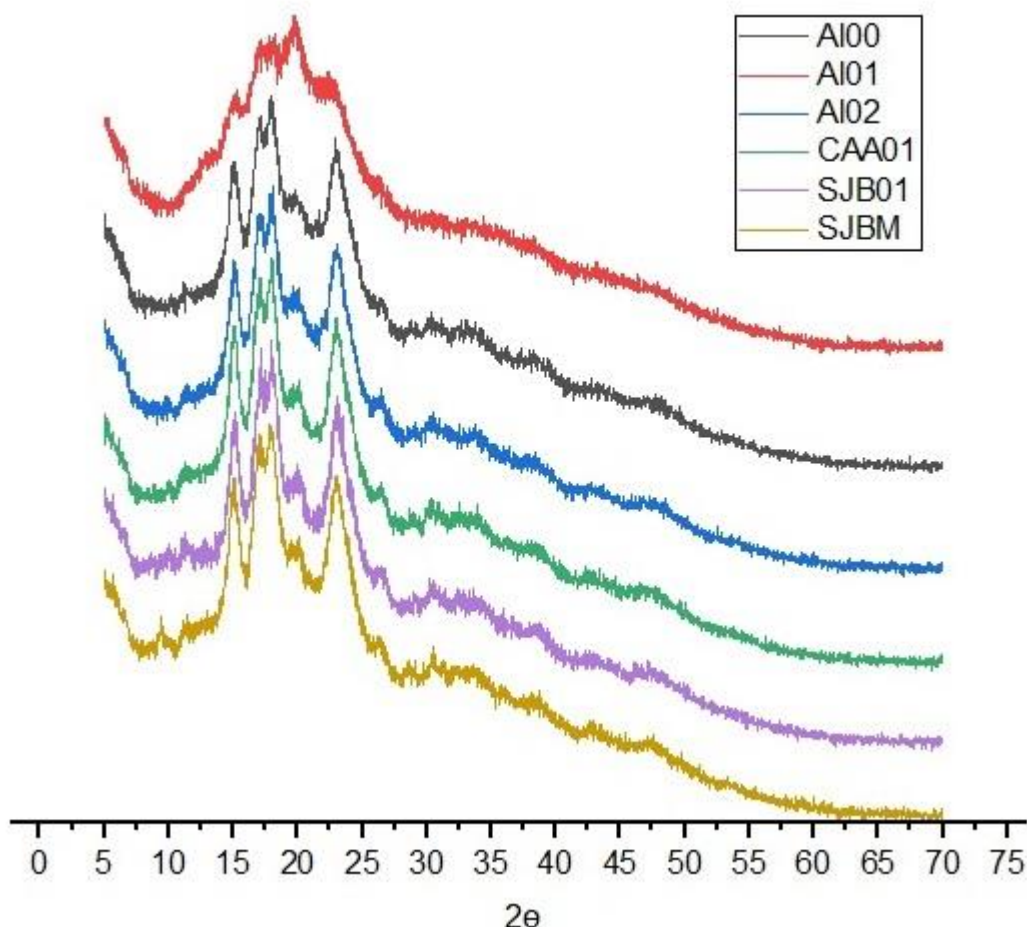


Figura 7. Patrón de difracción de rayos-x de las muestras de arroz pulido y descascarillado

6.5.2 Espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR)

Los resultados de FTIR se obtuvieron realizando barridos en el rango de 4000 cm^{-1} a 400 cm^{-1} , se muestran espectros característicos (figura 3) con picos en 3314 cm^{-1} de estiramiento H-O pudiendo ser del agua contenida en la muestra y de grupos hidroxilo parte de la estructura de azúcares y proteínas, a 2923 cm^{-1} estiramiento del enlace C-H (estiramiento simétrico CH_2) asociado a la presencia de lípidos, a 1747 cm^{-1} se observa un pico característico del grupo carbonilo ($=\text{O}$) asociado a la presencia de proteínas, con una mayor intensidad en las muestras SJB01 y AI01 sin desplazamiento de pico, a 1638

cm se observa estiramiento del grupo carbonilo atribuido a aldehídos. En la región de la huella dactilar de 1000 cm^{-1} a 1154 cm^{-1} se observa estiramiento del enlace C-O asociado a la presencia de polisacáridos (Srinuttrakul et al., 2021) más específicamente a 1003 cm^{-1} se observa un pico característico con alta intensidad excepto en las muestras SJB01 y AI01 donde se observa una notable reducción en intensidad, este pico se asocia específicamente a carbohidratos (Naveda, Jorge, Flores, & Visitación, 2019) y vibración de C-OH de los almidones, debida a la interacción de enlaces de hidrógeno entre el almidón y el agua (Cao et al., 2020).

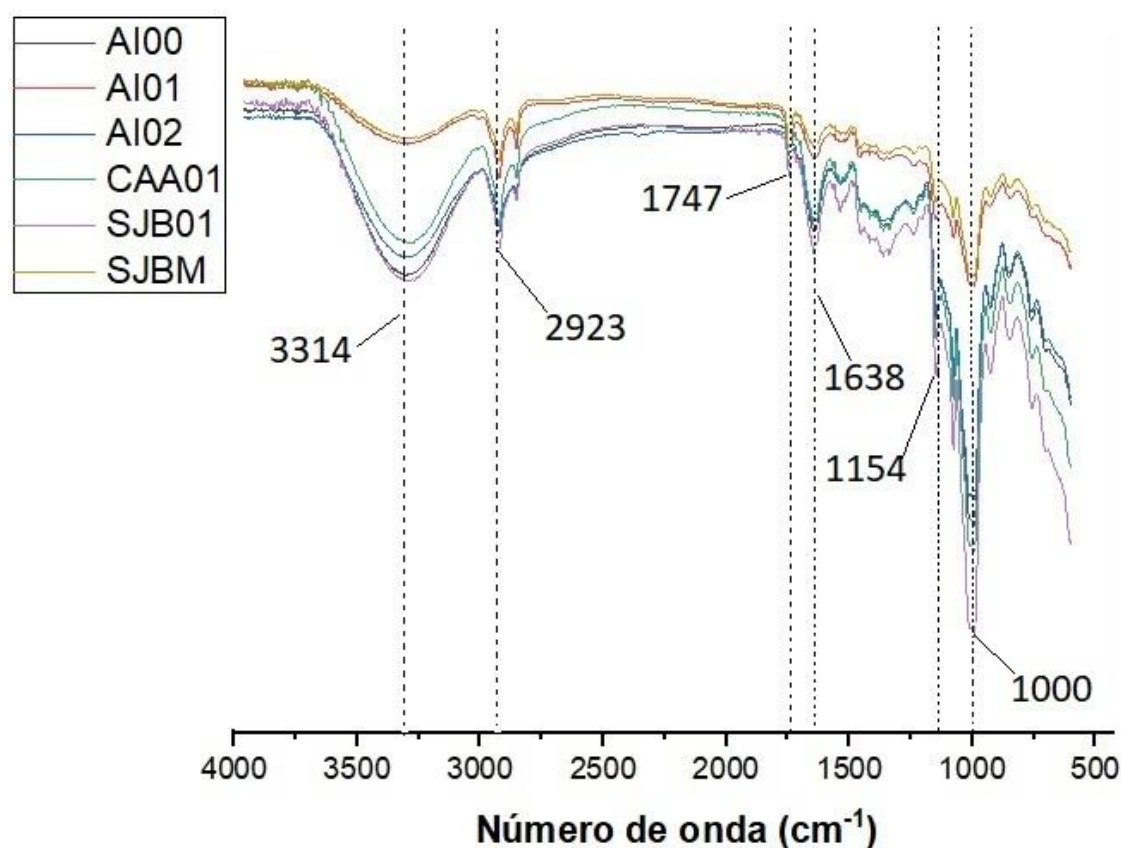


Figura 8. Espectro FTIR de las muestras de arroz pulido y descascarillado

6.5.2.1 Análisis de dispersión de energía de rayos x

Los espectros de dispersión de energía de rayos-x (figura 5) obtenidos de las muestras determinaron la presencia de los elementos potasio, magnesio, aluminio, fósforo y azufre.

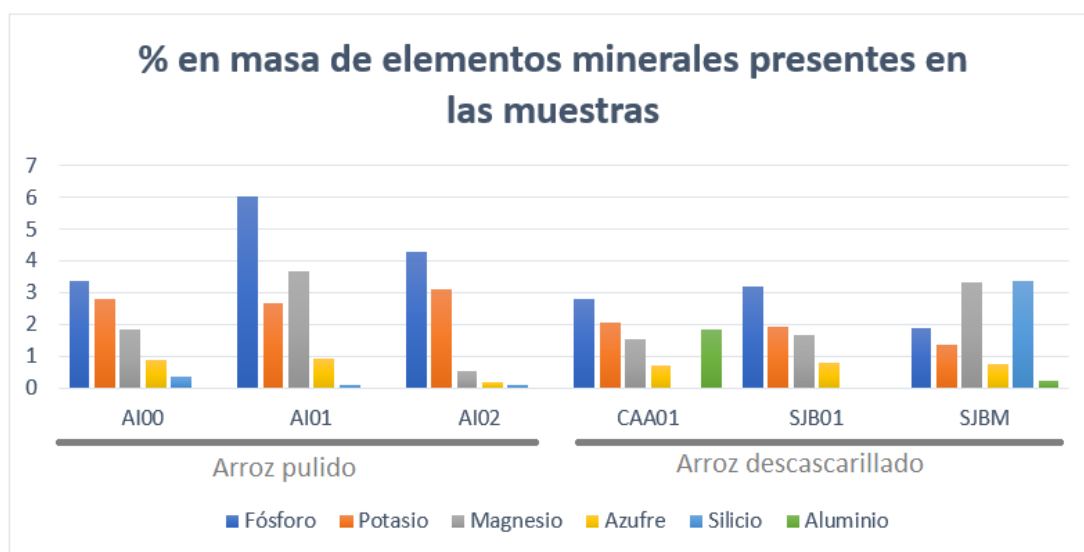


Figura 9. Gráfico comparativo de porcentaje en masa de elementos minerales presentes en las muestras

7 DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Control de calidad

Se realizó un análisis de varianza ANOVA con post test de Tuckey para el tratamiento de datos obtenidos de humedad y cenizas, verificándose que existe diferencia significativa en el contenido de humedad para las muestras de arroz pulido, no así en el caso de las muestras de arroz descascarillado en las cuales se evidencio diferencia significativa, hallándose los valores en todos los casos por debajo del límite máximo permitido (15%) según la norma del *Codex alimentarius* CXS 198-1995 en su actualización 2019.

En general las muestras de arroz descascarillado mostraron mayor contenido de humedad que las muestras de arroz pulido, esto debido a la composición de los granos descascarillados los cuales presentan mayor contenido de proteínas y por lo tanto una mayor absorción de agua (Cerdeja Mejía, Cerdeja Mejía, Pilamala Rosales, Miranda Moreno, & Pérez Martínez, 2017).

Los datos obtenidos de contenido de cenizas mostraron que no existe diferencia significativa para el caso de las muestras de arroz pulido y si existe diferencia significativa entre las muestras de arroz descascarillado. En una comparación entre ambos tipos de arroz se pudo verificar que las muestras de arroz descascarillado presentaron mayor contenido de cenizas, lo que es de esperarse en cereales integrales y lo que se traduce en un mayor contenido de minerales, debido a que la distribución de minerales no es uniforme dentro del grano y se concentran en las capas exteriores (Pighin & De Landeta, 2019).

Verificación del método para la digestión asistida por microondas

Se realizó la verificación del método de digestión acida asistida por microondas recomendado por el compendio de métodos CEM Corporation y la sección ambiental del

Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) de Chile utilizando los parámetros de límite de detección, límite de cuantificación, linealidad, % de recuperación de $99,8\% \pm 10,6\%$ (A. Pulido) $100,5\% \pm 7,6\%$ (A. Descascarillado), con un rango de aceptación de -20% a $+10\%$ utilizado para concentraciones mayores a $10 \mu\text{g/Kg}$ (MAPA-LANAGRO, 2015), mostrando que la curva de calibración posee una buena correlación, así como valores de LOD y LOQ dentro del rango de concentraciones que se esperaba para este trabajo, sin embargo el análisis de residuales mostro que el modelo de regresión utilizado tiene un comportamiento heterocedástico, pudiendo haber otros modelos que provean una mayor fidelidad de los datos obtenidos, es decir aquellos que presenten un comportamiento homocedástico que se da cuando la varianza de los datos es constante (Lopez Maurandi, 2015) sin embargo se optó por utilizar este modelo debido a que dentro de las limitaciones fue el que tuvo mejor ajuste esto teniendo en cuenta la disponibilidad de recursos y tiempo, así como la variabilidad de la respuesta del equipo de absorción atómica, la cual presentaba oscilaciones dando valores discontinuos y por otra parte el hecho de que el equipo era utilizado para lectura del mismo analito en la matriz suelo con concentraciones mucho más altas, lo que saturaba el equipo alterando la señal analítica.

Entre otras cosas el método de digestión por microondas permitió el tratamiento de muestras múltiples en tiempos cortos lo que facilito el trabajo y acorto el tiempo total del análisis, así como también se pudo lograr un consumo de reactivos razonable.

Análisis de arsénico total

En cuanto a los datos obtenidos de arsénico total en las muestras evaluadas y datos disponibles de reportes de arsénico total a nivel regional (Tabla 8) se observan valores medios similares, exceptuando el caso de Argentina el cual presenta un valor promedio de arsénico total considerablemente más alto ($303 \mu\text{g/Kg}$), esto debido a que es un país endémico de contaminación por arsénico (Villaamil Lepori, 2015). Estos datos suponen una similitud probablemente asociada a la ubicación geográfica de nuestro país y por ende a las fuentes origen de este contaminante, el suelo y el agua (Kato, De Nadai Fernandes,

Raab, Bacchi, & Feldmann, 2019; Mondal et al., 2020; Roel, Campos, Verger, Huertas, & Carracelas, 2021).

Tabla 5. Reportes de arsénico total en arroz a nivel regional

País	Concentración media de AsT (µg/Kg)	Referencia
Paraguay	169(AP)* – 269(AD)*	Este estudio
Argentina**	303	(Oteiza et al., 2020)
Brasil**	174	(Kato et al., 2019)
Uruguay**	178	(Roel et al., 2021)
Perú **	168	(Mondal et al., 2020)

* AP: Arroz pulido; AD: Arroz descascarillado

** Arroz Pulido

Por otra parte, realizando una comparación de los valores medios obtenidos en este estudio con la normativa legal vigente se pudo observar que los mismos no sobrepasan los límites máximos permitidos tanto para arroz pulido como para arroz descascarillado y se puede observar que el valor medio de arsénico total para las muestras de arroz pulido es mucho menor que el valor medio de arsénico total para las muestras de arroz descascarillado por lo que se cumple lo dicho por Jo & Todorov, 2019 en cuanto a que el pulido del arroz disminuye el contenido de arsénico en los granos de arroz.

Tabla 6. Comparación de valores medios de As Total con la normativa legal vigente

Valores medios obtenidos en este estudio		<i>Codex Alimentarius</i>		Unión Europea	
Arroz pulido	Arroz descascarillado	Arroz pulido	Arroz descascarillado	Arroz pulido	Arroz descascarillado
169 µg/Kg	269 µg/Kg	200 µg/Kg	350 µg/Kg	200 µg/Kg	250 µg/Kg

Anterior a este trabajo Mereles Ceuppens et al., 2019 determinaron el contenido de arsénico inorgánico en muestras de arroz, siendo el único estudio de este tipo en ésta matriz y a la par de este estudio Gómez González, 2021 comprobó la existencia de niveles representativos de arsénico en suelos de cultivos ubicados dentro de la cuenca del río Tebicuary, mismo lugar al que pertenecen los molinos arroceros productores de donde se obtuvieron las muestras por lo tanto es posible que exista una relación entre el contenido de arsénico en suelos y el contenido de arsénico en arroz, teniendo que comprobarse esto mediante un análisis estadístico de correlación entre estos datos en un estudio posterior.

A nivel nacional no se tiene un marco regulatorio para arsénico en arroz, por lo que también debe hacerse una revisión de la norma paraguaya, la cual se encuentra desactualizada ya que su versión vigente corresponde al año 1985 y además es necesario reajustar el límite máximo en la normativa legal aplicada a nivel regional, teniendo en cuenta tanto el contenido de arsénico total como el de arsénico inorgánico a fin de reducir dicho límite teniendo en cuenta los niveles de arsénico en arroz reportados a nivel regional y en este estudio.

Caracterización del arroz

La presencia de picos agudos en los resultados de difracción de rayos-x se pueden asociar con una mayor cristalinidad, siendo el grado de trituración de la muestra y el porcentaje de humedad los factores responsables de la pérdida de estructura cristalina dando picos de menor intensidad como se observa en la muestra AI01 (Singh & Prasad, 2016).

Se realizó una comparación con otros estudios tal como lo recomienda Litter et al., 2009 para matrices complejas (macromoléculas) y de acuerdo a esto fue identificada una fase cristalina característica, la cual corresponde a la Amilosa del almidón de arroz

(Kanazawa et al., 2021).

A partir de los espectros de FTIR se pudo verificar la presencia de estiramientos de enlace de los grupos C-H, C-H₂ y C=O, así como vibración del enlace C-OH atribuidos a la presencia de lípidos, proteínas y carbohidratos, más específicamente, tal como lo sugieren Cao et al., 2020; Naveda et al., 2019; Srinuttrakul et al., 2021. En cuanto a las proteínas y carbohidratos el arsénico puede encontrarse particularmente unido a estos, en aquellas proteínas que posean el grupo tiol (SH) al cual es afín y a los carbohidratos formando lo que se conoce como arsenoazucares (Litter et al., 2009).

En cuanto al análisis EDS permitió identificar y obtener datos semicuantitativos en porcentaje de los elementos presentes en la muestra encontrándose fósforo, potasio, magnesio, azufre, silicio y aluminio en orden decreciente respectivamente como componentes minerales mayoritarios, lo cual concuerda con lo descrito por (Pighín & De Landeta, 2019) en su análisis de distintos tipos de arroz comercial, resalta la presencia de azufre, el cual está asociado al arsénico en forma de minerales como arsenopirita (FeAsS), rejalgar (As₄S₄) y oropimente (As₂S₃) según lo mencionado por Smedley & Kinniburgh, 2002 y a grupos tiol (SH) como se había mencionado anteriormente. Por otra parte, se observó que el contenido de arsénico en las muestras de arroz descascarillado se ve aumentado en forma similar al que lo hace el contenido de fósforo, esto debido a que el ion arsenito (forma soluble del arsénico en el arroz) es un análogo estructural del ion fosfato (Alarcón, Leal, Martín, Miranda, & Benavides, 2013), el cual es absorbido posiblemente mediante mecanismos similares en los cultivos de arroz, sin embargo, los datos obtenidos no son suficientes para establecer una correlación directa entre los mismos o con algún otro mineral, es necesario realizar mediciones cuantitativas y análisis estadísticos de correlación entre otros.

Estos resultados servirán para reforzar lo que se sabe acerca del arsénico como contaminante ambiental en arroz en nuestro país, sirviendo como base de partida para otros estudios del mismo tipo y además otros que incluyan una correlación con la posible

fuentes de este contaminante.

8 CONCLUSIÓN

Los valores de humedad y cenizas para las muestras analizadas se encuentran dentro de los criterios de calidad de acuerdo a la normativa vigente.

Se evidenció la presencia de arsénico en todas las muestras analizadas, lo cual sugiere que sí existe contaminación por arsénico, si bien los niveles promedio cuantificados en este estudio se encuentran por debajo del límite máximo permitido para arsénico total (200 $\mu\text{g/Kg}$ para arroz pulido y 350 $\mu\text{g/Kg}$ para arroz descascarillado) según el *Codex alimentarius*, algunos de los valores individuales de muestras superaron éste límite, por lo que esto representa un riesgo para la salud humana.

En cuanto a la caracterización de las muestras, por la técnica de difracción de rayos-x se observó que las muestras de arroz presentaron una fase cristalina característica con un patrón de difracción perteneciente a la amilosa, parte de la estructura del almidón y similar para todas las muestras excepto una de las muestras de arroz descascarillado (AI01) posiblemente debido al contenido de humedad la cual altera la estructura cristalina.

De acuerdo a los espectros FTIR se observó la presencia de picos característicos para almidón, polisacáridos, carbohidratos, proteínas y lípidos con modos de vibración principalmente de estiramiento de los grupos C-H, C-H₂, H-O y del grupo carbonilo.

Mediante el análisis de espectroscopia de energía dispersiva acoplada a un microscopio electrónico de barrido (MEB-EDS) se observó la presencia de fósforo, potasio, magnesio, azufre, silicio y aluminio, con una posible relación entre el contenido de fósforo y arsénico.

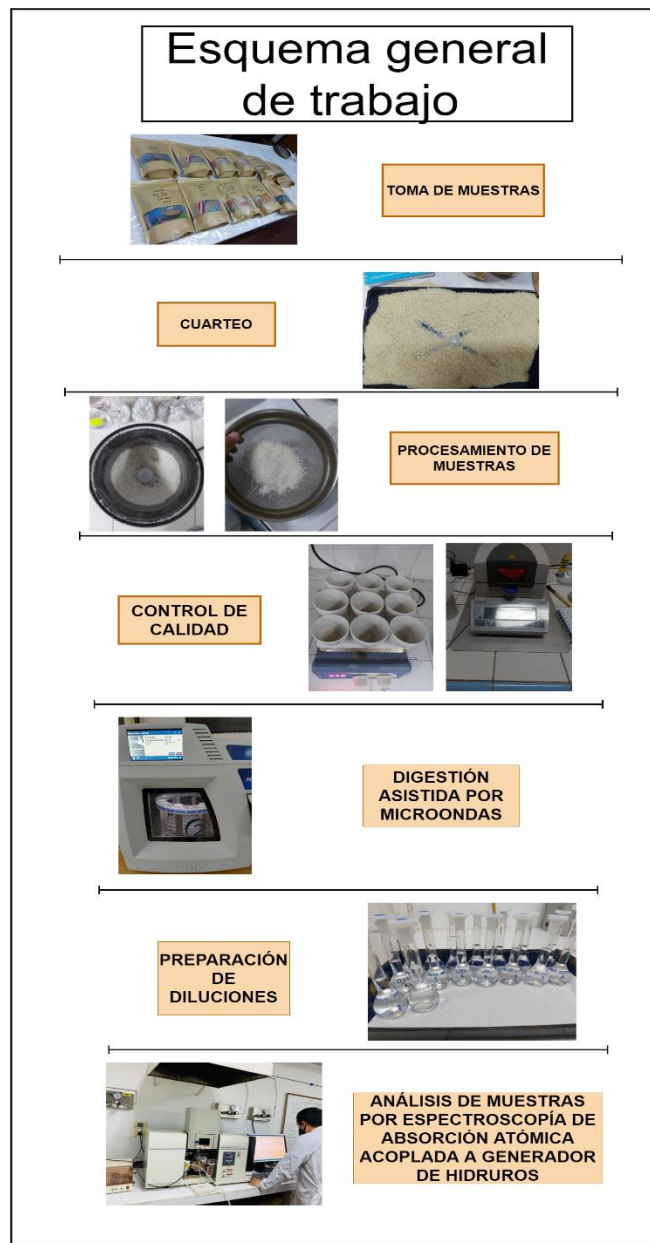
9 RECOMENDACIONES

Evaluar la influencia de las variedades de arroz en la acumulación de arsénico en las condiciones de cultivo del Paraguay.

Gestionar estrategias de monitoreo para detectar variaciones de concentración de arsénico en diferentes épocas del año tanto en cultivos como en suelos.

A nivel analítico, es recomendable incluir técnicas acopladas tales como la cromatografía líquida y/o gaseosa acoplada a absorción atómica con generador de hidruros para facilitar la separación, identificación y cuantificación de las especies de arsénico presentes.

ANEXO 1: ESQUEMA DE TRABAJO PARA EL ANÁLISIS DE ARSÉNICO TOTAL EN MUESTRAS DE ARROZ



ANEXO 2: FUNDAMENTO DE VERIFICACIÓN DE MÉTODOS SEGÚN GUÍA EURACHEM

4 ¿Cuándo debe validarse o verificarse un método?

4.1 Validación de un método

Un método debe ser validado cuando es necesario demostrar que sus características de desempeño son adecuadas para el uso previsto. Por ejemplo, se indica en el apartado 5.4.5.2 de la Norma ISO/IEC 17025 [1] que el laboratorio debe validar:

- métodos no normalizados;
- métodos diseñados/desarrollados por el laboratorio;
- métodos normalizados usados fuera de su ámbito de aplicación;
- ampliaciones o modificaciones de métodos normalizados.

La validación debe ser tan amplia como sea necesaria para cumplir con los requisitos en relación con el uso dado o la aplicación [23]. La extensión ('alcance') de la validación dependerá de la aplicación, la naturaleza de los cambios realizados y de las circunstancias en que el método se va a utilizar.

También debe validarse cuando es necesario demostrar la equivalencia de los resultados obtenidos por dos métodos, por ejemplo, un método recientemente desarrollado y un método normalizados existente.

4.2 Verificación de un método

Para los métodos normalizados, tales como los publicados por, ejemplo, ISO o ASTM, no es necesario validar el método utilizado por el laboratorio. Sin embargo, el laboratorio necesita verificar el desempeño del método como se detalla en la norma ISO/IEC 17025 apartado 5.4.2:

... El laboratorio debe confirmar que puede operar adecuadamente los métodos normalizados antes de introducir los ensayos o calibraciones.

También es necesaria la verificación cuando hay cambios importantes, como el uso de un equipo nuevo (pero similar), traslado de equipos, etc.

En los laboratorios clínicos la mayor parte de los ensayos se realizan con procedimientos comerciales previamente validados por los fabricantes y que deben ser verificados por el usuario final [24]. La ISO 15189 [2] hace hincapié en que *los procedimientos de examen usados sin modificaciones deben estar sujetos a una verificación independiente antes de ser usados como métodos de rutina*. También puede tenerse en cuenta la actualización del software de un equipo, o cuando los resultados de control de calidad indica que el desempeño del método cambia con el tiempo.

ANEXO 3: RESULTADOS DE HUMEDAD Y CENIZAS

Código de muestra	% de Humedad promedio *
CAA01	9,314 ± 0,08
SJB01	11,168 ± 0,21
SJBM	10,890 ± 0,32
AI00	10,942 ± 0,26
AI01	10,976 ± 0,37
AI02	11,263 ± 0,24

. Porcentaje de humedad promedio en muestras de arroz pulido y descascarillado.

* Los resultados se expresan en promedios analíticos ± desviación estándar.

Código de muestra	Cenizas* (g/100g arroz)
CAA01	0,397 ± 0,03
SJB01	0,373 ± 0,03
SJBM	0,348 ± 0,03
AI00	0,914 ± 0,08
AI01	1,168 ± 0,02
AI02	0,9790 ± 0,06

Contenido promedio de cenizas en muestras de arroz pulido y descascarillado.

*Los resultados se expresan en promedios analíticos ± desviación estándar.

ANEXO 4: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LAS DETERMINACIONES DE HUMEDAD POR ANOVA Y POST TEST DE TUCKEY

Table Analyzed	Humedad				
Data sets analyzed	A-F				
ANOVA summary					
F	37,36				
P value	<,001				
P value summary	***				
Significant diff. among means (P < 0.05)?	Yes				
R squared	0,8861				

Number of families	1					
Number of comparisons per family	15					
Alpha	0,05					
Tukey's multiple comparisons test	Mean Diff,	95,00% CI of diff,	Below threshold?	Summary	Adjusted P Value	
CAA01 vs. SJB01	-1,853	-2,370 to -1,337	Yes	***	<,001	A-B
CAA01 vs. SJBM	-1,576	-2,092 to -1,059	Yes	***	<,001	A-C
CAA01 vs. AI02	-1,949	-2,465 to -1,432	Yes	***	<,001	A-D
CAA01 vs. AI01	-1,661	-2,178 to -1,145	Yes	***	<,001	A-E
CAA01 vs. AI00	-1,628	-2,144 to -1,111	Yes	***	<,001	A-F
SJB01 vs. SJBM	0,2776	-0,2389 to 0,7941	No	ns	0,568	B-C
SJB01 vs. AI02	-0,0954	-0,6119 to 0,4211	No	ns	0,992	B-D
SJB01 vs. AI01	0,1922	-0,3243 to 0,7087	No	ns	0,855	B-E
SJB01 vs. AI00	0,2256	-0,2909 to 0,7421	No	ns	0,755	B-F

SJBM vs. AI02	-0,373	-0,8895 to 0,1435	No	ns	0,26	C-D
SJBM vs. AI01	-0,0854	-0,6019 to 0,4311	No	ns	0,995	C-E
SJBM vs. AI00	-0,052	-0,5685 to 0,4645	No	ns	>,999	C-F
AI02 vs. AI01	0,2876	-0,2289 to 0,8041	No	ns	0,531	D-E
AI02 vs. AI00	0,321	-0,1955 to 0,8375	No	ns	0,414	D-F
AI01 vs. AI00	0,0334	-0,4831 to 0,5499	No	ns	>,999	E-F

\

ANEXO 5: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LAS DETERMINACIONES DE CENIZAS POR ANOVA Y POST TEST DE TUCKEY

Table Analyzed	Cenizas				
Data sets analyzed	A-F				
ANOVA summary					
F	207,9				
P value	<,001				
P value summary	***				
Significant diff. among means (P < 0.05)?	Yes				
R squared	0,9895				

Number of families	1			
Number of comparisons per family	15			
Alpha	0,05			
Tukey's multiple comparisons test	Mean Diff,	95,00% CI of diff,	Below threshold?	Summary
CAA01 vs. SJB01	0,024	-0,09657 to 0,1446	No	ns
CAA01 vs. SJBM	0,04917	-0,07141 to 0,1697	No	ns
CAA01 vs. AI00	-0,5175	-0,6523 to -0,3827	Yes	***
CAA01 vs. AI 01	-0,7713	-0,8919 to -0,6508	Yes	***
CAA01 vs. AI02	-0,583	-0,7036 to -0,4624	Yes	***
SJB01 vs. SJBM	0,02517	-0,09541 to 0,1457	No	ns
SJB01 vs. AI00	-0,5415	-0,6763 to -0,4067	Yes	***
SJB01 vs. AI 01	-0,7953	-0,9159 to -0,6748	Yes	***

SJB01 vs. AI02	-0,607	-0,7276 to - 0,4864	Yes	***
SJBM vs. AI00	-0,5667	-0,7015 to - 0,4318	Yes	***
SJBM vs. AI 01	-0,8205	-0,9411 to - 0,6999	Yes	***
SJBM vs. AI02	-0,6322	-0,7527 to - 0,5116	Yes	***
AI00 vs. AI 01	-0,2539	-0,3887 to - 0,1190	Yes	***
AI00 vs. AI02	- 0,06552	-0,2003 to 0,06929	No	ns
AI 01 vs. AI02	0,1883	0,06776 to 0,3089	Yes	**

ANEXO 6: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE DETERMINACIONES DE ARSÉNICO TOTAL

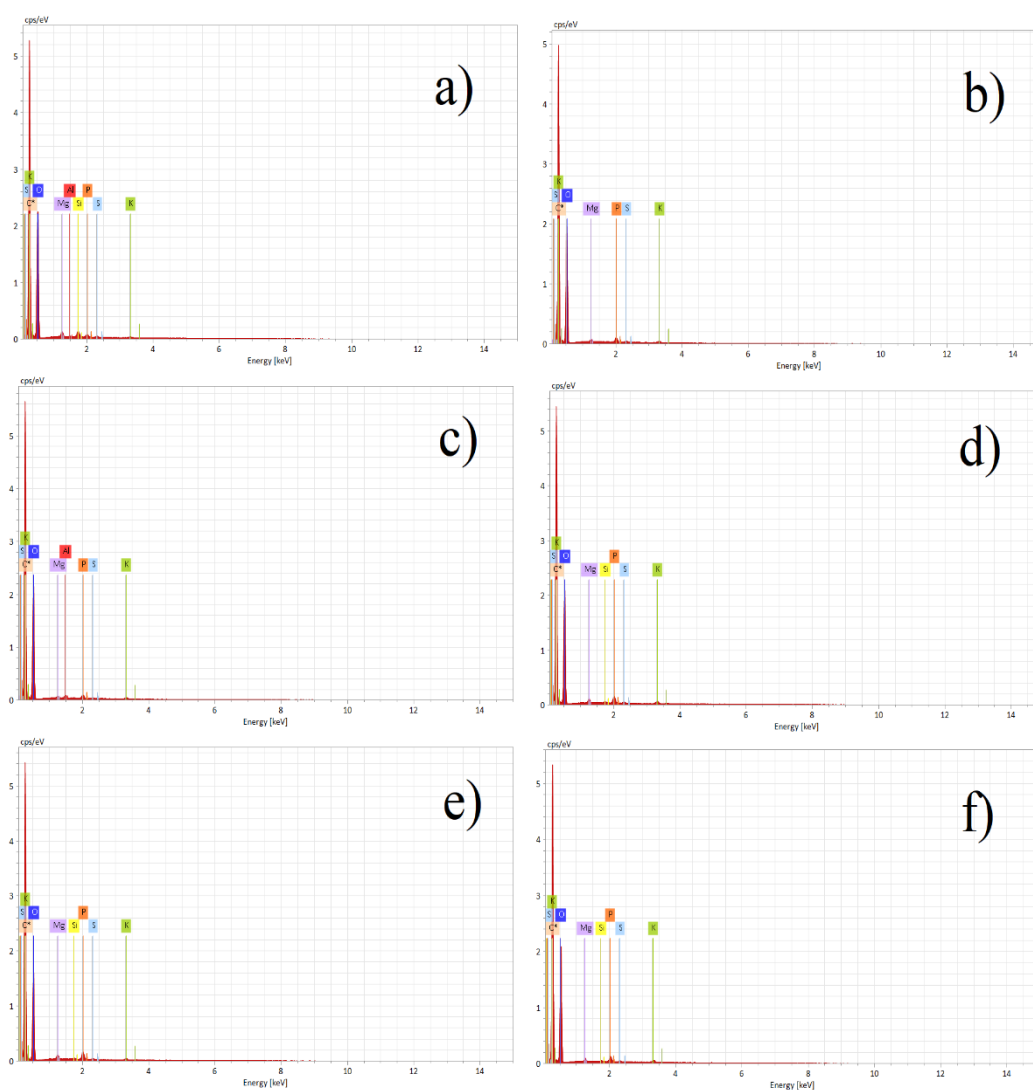
ARROZ PULIDO CAA, Marca "SELECTA". Procedencia: Caapucu					
CÓDIGO TUBO		Peso Muestra	Abs	Conc. X (ug/mL)	Conc. Final ug/kg
CAA	CAA 1 04.08.21	0,5028	0,0484	1,504	149,52
CAA	CAA 2 04.08.21	0,5002	0,0534	1,685	168,41
CAA	CAA 3 05.08.21	0,5094	0,0483	1,500	147,23
	Promedio	0,5041			155,056
	SD				11,622
	CV				
ARROZ PULIDO SJB 05.08.21 Marca "Cotidiano". Procedencia: San Juan Bautista Misiones, Empresa AGROZAFRA					
		Peso Muestra	Abs	Conc. X (ug/mL)	Conc. Final ug/kg
SJB	SJB 1 AP3	0,5028	0,0475	1,471	146,28
SJB	SJB 2 AP4	0,5009	0,0656	2,127	212,30
SJB	SJB 3 AP5	0,5089	0,0544	1,721	169,09
	Promedio	0,5042			175,89
	SD				33,529
	CV				
ARROZ PULIDO marca "Cuenca". Empresa Agroalanza					
		Peso Muestra	Abs	Conc. X (ug/mL)	Conc. Final ug/kg
SJB01.1	AP7 11.08.21	0,5028	0,0667	2,167	215,46
SJB01.2	AP8 11.08.21	0,5081	0,0545	1,725	169,71
SJB01.3	AP9 11.08.21	0,5046	0,0475	1,471	145,76
	Promedio	0,5052			176,98
	SD				35,413
	CV				
ARROZ PULIDO marca "Cuenca". Empresa Agroalanza FORTIFICADO					
		Peso Muestra	Abs	Conc. X (ug/mL)	Conc. Final ug/kg
SJB01.1	AP7 11.08.21	0,5087	0,1752	6,098	599,35
SJB01.2	AP8 11.08.21	0,5087	0,1558	5,395	530,27
SJB01.3	AP9 11.08.21	0,5087	0,1558	5,395	530,27
	Promedio	0,5087			553,30
	SD				39,888
	CV				
ARROZ DESCASCARILLADO 3 INTEGRAL Empresa AGROZAFRA Marca "cotidiano" 05.08.21					
		Peso Muestra	Abs	Conc. X (ug/mL)	Conc. Final ug/kg
AI00	AP3 05.08.21	0,5082	0,0709	2,319	228,14
AI00	AP4 05.08.21	0,5086	0,0855	2,848	279,97
AI00	AP5 05.08.21	0,5062	0,0671	2,181	215,44
	Promedio				241,185
	SD				34,181
	CV				
ARROZ DESCASCARILLADO 1 Marca "Don Arroz" Empresa. VERI					
		Peso Muestra	Abs	Conc. X (ug/mL)	Conc. Final ug/kg
AI01	AD1 05.08.21	0,5069	0,0698	2,279	224,80
AI01	AD2 05.08.21	0,5090	0,0711	2,326	228,50
AI01	AD3 05.08.21	0,5019	0,0648	2,098	208,99
	Promedio	0,5059			220,760
	SD				10,361
	CV				
ARROZ DESCASCARILLADO 2 5.08.21 Marca "IDEAL" Empresa IDEAL SRL					
		Peso Muestra	Abs	Conc. X (ug/mL)	Conc. Final ug/kg
AI02	AD7	0,5069	0,0932	3,127	308,42
AI02	AD8	0,5011	0,1060	3,591	358,27
AI02	AD8	0,5012	0,1100	3,736	372,66
	Promedio				346,450
	SD				33,707
	CV				
ARROZ DESCASCARILLADO Marca "IDEAL" Empresa IDEAL SRL FORTIFICADO					
		Peso Muestra	Abs	Conc. X (ug/mL)	Conc. Final ug/kg
AI02	AD7	0,5069	0,2710	9,569	943,86
AI02	AD8	0,5011	0,2480	8,736	871,63
AI02	AD8	0,5012	0,2480	8,736	871,46
	Promedio				895,650
	SD				41,750
	CV				

ANEXO 7: PLANILLA DE RECEPCIÓN DE MUESTRAS

Universidad Nacional de Asunción
Facultad de Ciencias Químicas
Dirección de Investigación-Dpto de Bioquímica de Alimentos
Ficha de muestras

N°	Fecha de recepción	Fecha de cosecha aproximada	Lote	Código de muestra de BAN	Nombre común	Nombre científico	Ciudad o localidad de origen	Ubicación GPS	Cantidad (g)	Descripción breve de la muestra	Tipo de envase
1	12/03/21	25/01/21	00213	CA401	Arroz largo	Oryza sativa	Caapucur	-26.145416 -53.362391	1000	Arroz pulido	Plástico/ papel mader
2	12/03/21	25/01/21	00214	CA401	Arroz largo	Oryza sativa	Caapucur	-26.145416 -53.362391	1000	Arroz pulido	Plástico/ papel mader
3	12/03/21	25/01/21	00210	CA401	Arroz largo	Oryza sativa	Caapucur	-26.145416 -53.362391	1000	Arroz pulido	Plástico/ papel mader
4	12/03/21	25/01/21	00235	S3801	Arroz largo	Oryza sativa	Son Juan	-26.145416 -53.362391	1000	Arroz pulido	Plástico/ papel mader
5	12/03/21	25/01/21	00214	S3801	Arroz largo	Oryza sativa	Son Juan	-26.145416 -53.362391	1000	Arroz pulido	Plástico/ papel mader
6	12/03/21	25/01/21	00156	S3801	Arroz largo	Oryza sativa	Son Juan	-26.145416 -53.362391	1000	Arroz pulido	Plástico/ papel mader
7	12/03/21	25/01/21	410021	S3801	Arroz largo	Oryza sativa	Son Juan	-26.145416 -53.362391	1000	Arroz pulido	Plástico/ papel mader
8	12/03/21	25/01/21	410021	S3801	Arroz largo	Oryza sativa	Son Juan	-26.145416 -53.362391	1000	Arroz pulido	Plástico/ papel mader
9	12/03/21	25/01/21	410021	S3801	Arroz largo	Oryza sativa	Son Juan	-26.145416 -53.362391	1000	Arroz pulido	Plástico/ papel mader
10	12/03/21	25/01/21	410021	S3801	Arroz largo	Oryza sativa	Son Juan	-26.145416 -53.362391	1000	Arroz pulido	Plástico/ papel mader
11	12/03/21	25/01/21	410021	S3801	Arroz largo	Oryza sativa	Son Juan	-26.145416 -53.362391	1000	Arroz pulido	Plástico/ papel mader
12	12/03/21	25/01/21	410021	S3801	Arroz largo	Oryza sativa	Son Juan	-26.145416 -53.362391	1000	Arroz pulido	Plástico/ papel mader
13	12/03/21	25/01/21	410021	S3801	Arroz largo	Oryza sativa	Son Juan	-26.145416 -53.362391	1000	Arroz pulido	Plástico/ papel mader
14	12/03/21	25/01/21	410021	S3801	Arroz largo	Oryza sativa	Son Juan	-26.145416 -53.362391	1000	Arroz pulido	Plástico/ papel mader

ANEXO 8: GRÁFICOS EDS DE ELEMENTOS PERESENTES EN LAS MUESTRAS



- . Identificación elemental de las muestras por EDS. a) Arroz pulido SJBm; b) Arroz pulido SJB01; c) Arroz pulido CAA01; d) Arroz descascarillado AI02; e) Arroz descascarillado AI01; f) Arroz descascarillado AI02

\

ANEXO 9: METODOLOGÍA ANALÍTICA PARA LA DIGESTIÓN EN HORNO DE MICROONDAS, CEM CORPORATION.

Microwave Digestion of Rice

Procedure

Weigh 0.5 g of the sample into the digestion vessel. Add 10 mL of HNO_3 . Gently swirl the mixture and wait approximately 15 minutes before closing the vessel.

Notes

The addition of Conc. HCl (0-4 mL) is appropriate for the stabilization of Ag, Ba and Sb, and high concentrations of Fe and Al in solution. The amount of HCl will vary depending on the matrix and the concentration of the analytes. The addition of HCl may, however, limit the techniques or increase the difficulties of analysis.

Recommended Equipment

MARS 6
MARS 6 iWave

Recommended Vessels

EasyPrep
EasyPrep Plus
MARSPress
MARSPress Plus

Reagents

HNO_3

Max Sample Weight

0.5 g

Sample Type

Organic

Control Type

Ramp to Temperature

Method Type

One Touch

Heating Program

Stage	Temp (°C)	*Ramp (mm:ss)	Hold (mm:ss)	Pressure (psi)	* Power (W)	Stirring
1	210	20:00	15:00	800	900-1800	Off

* Ramp times and power may vary depending on the type and number of vessels.

Results

Sample was clear, colorless, and particle free upon dilution to 50 mL.

10 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alarcón, M., Leal, L., Martín, I., Miranda, S., & Benavides, A. (2013). Arsénico en Agua: presencia, cuantificación analítica y mitigación. In *Cimav* (Vol. 2). Retrieved from [https://cimav.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1004/1056/1/Libro 2013-Arsenico en el Agua con ISBN.pdf](https://cimav.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1004/1056/1/Libro%2013-Arsenico%20en%20el%20Agua%20con%20ISBN.pdf)
- Bundschuh, J., Litter, M. I., Parvez, F., Román-Ross, G., Nicolli, H. B., Jean, J.-S., ... Toujaguez, R. (2012). One century of arsenic exposure in Latin America: A review of history and occurrence from 14 countries. *Science of The Total Environment*, 429, 2–35. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.06.024>
- Cano Ferrer, G. (2018). “*efecto del lavado en el contenido de arsénico de diferentes tipos de arroz (oryza sativa)* .” Universidad Miguel Hernandez de Elche.
- Cao, C., Shen, M., Hu, J., Qi, J., Xie, P., & Zhou, Y. (2020). Comparative study on the structure-properties relationships of native and debranched rice starch. *CYTA - Journal of Food*, 18(1), 84–93. <https://doi.org/10.1080/19476337.2019.1710261>
- Cerda Mejía, L., Cerda Mejía, V., Pilamala Rosales, A., Miranda Moreno, C., & Pérez Martínez, A. (2017). Proteína de harinas de maíz, cebada, quinoa, trigo nacional y papa: características y funcionalidad como sustitutos de la proteína de harina de trigo importado en la producción de pan y fideos. *Revista Amazónica Ciencia y Tecnología*, 6(December), 201–216.
- Codex Alimentarius. (2019). *CXS 193-1995. NORMA GENERAL PARA LOS CONTAMINANTES Y LAS TOXINAS PRESENTES EN LOS ALIMENTOS Y PIENSOS*.
- Cubadda, F., Jackson, B. P., Cottingham, K. L., Ornelas, Y., Horne, V., & Kurzius-spencer, M. (2016). Science of the Total Environment Human exposure to dietary inorganic arsenic and other arsenic species : State of knowledge , gaps and uncertainties. *Science of the Total Environment*. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.11.108>
- de la Hoz, A., Diaz-Ortíz, A., & Prieto, P. (2016). Síntesis orgánica verde asistida por

- microondas. In *Fuentes de energía alternativa para la química verde* (pp. 1–33).
- European Comission. (2012). *Official methods for the determination of heavy metals in feed and food*. Geel.
- FAO/O M S, P. C. S. N. A. (2011). *Programa conjunto FAO/OMS sobre normas alimentarias Comité del CODEX sobre contaminantes de los alimentos 5° reunion* (Vol. 9). Retrieved from http://www.fao.org/tempref/codex/Meetings/CCCCF/cccf5/cf05_10s.pdf
- Fariña, S., Larroza, F., Presser, J. L. B., & Mallen, G. (2019). *Caracterización de los Recursos Hídricos para la Gestión de la Protección de la Biósfera del Bosque Mbaracayu (Departamento Canindeyú) y de la Reserva Natural de Tapytá (Departamen...* (October). <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.12415.56480>
- Gómez González, M. L. (2021). *DESARROLLO METODOLÓGICO DE IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES QUÍMICAS DE ARSÉNICO EN SUELOS Y SEDIMENTOS DE LA CUENCA DEL RÍO TEBICUARY MEDIANTE IR Y DRX COMBINADOS*. Universidad Nacional de Asunción.
- Hernández Sampieri, R., Fernández Collado, C., & Baptista Lucio, M. delpilar. (2014). *Metodología de la investigación* (6ta Edició).
- IARC. (2012). Arsenic, metals, fibres, and dusts. *IARC MONOGRAPHS*, 100(Arsenic, metals, fibres, and dusts), 407–443. Retrieved from <https://www.iarc.fr/>
- INTN. (1980). AGUA POTABLE. Requisitos Generales. *Norma Paraguaya*, 3–6.
- Jo, G., & Todorov, T. I. (2019). Distribution of nutrient and toxic elements in brown and polished rice. *Food Chemistry*, 289(November 2018), 299–307. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.03.040>
- Kanazawa, S., Sanabria, M., & Monteiro, M. (2021). Influence of the fermentation methods on the resistant starch formation by X-ray diffraction. *SN Applied Sciences*, 3(2). <https://doi.org/10.1007/s42452-021-04240-0>
- Kato, L. S., De Nadai Fernandes, E. A., Raab, A., Bacchi, M. A., & Feldmann, J. (2019). Arsenic and cadmium contents in Brazilian rice from different origins can vary

- more than two orders of magnitude. *Food Chemistry*, 286(October 2018), 644–650.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.02.043>
- Kumarathilaka, P., Seneweera, S., Meharg, A., & Bundschuh, J. (2018). Arsenic accumulation in rice (*Oryza sativa* L.) is influenced by environment and genetic factors. *Science of The Total Environment*, 642, 485–496.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.06.030>
- Lima, I. Q., Muñoz, M. O., Ramos, O. E. R., Bhattacharya, P., Choque, R. Q., Aguirre, J. Q., & Sracek, O. (2019). Hydrochemical assessment with respect to arsenic and other trace elements in the Lower Katari Basin, Bolivian Altiplano. *Groundwater for Sustainable Development*, 8, 281–293.
<https://doi.org/10.1016/j.gsd.2018.11.013>
- Litter, M. I., Armienta, M. A., & Farías, S. S. Metodologías analíticas para la determinación y especiación de arsénico en aguas y suelos. , IBEROARSEN, CYTED, Buenos Aires, Argentina 242 (2009).
- Lopez Maurandi, A. (2015). *Estadísticos Para Investigación . (Nivel Inicial)*. Murcia.
- Manganelli, A., Goso, C., Guerequiz, R., Fernández Turiel, J. L., García Vallès, M., Gimeno, D., & Pérez, C. (2007). Groundwater arsenic distribution in South-western Uruguay. *Environmental Geology*, 53(4), 827–834. <https://doi.org/10.1007/s00254-007-0695-9>
- MAPA-LANAGRO. (2015). *Manual de Garantia da Qualidade Analítica*.
- Medina-Pizzali, M., Robles, P., Mendoza, M., & Torres, C. (2018). [Arsenic Intake: Impact in Human Nutrition and Health]. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 35(1), 93–102.
<https://doi.org/10.17843/rpmesp.2018.351.3604>
- MERCOSUR. (2015). *FARMACOPEA MERCOSUR: ESPECTROFOTOMETRÍA INFRARROJO*.
- Mereles Ceuppens, L. G., Diez Peres, D., Caballero, S. B., Yubero, F., Cano, P., López, M., & López, C. (2019). VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE ANÁLISIS Y

ESTUDIO PRELIMINAR DE LOS NIVELES DE ARSÉNICO TOTAL EN ARROZ PARAGUAYO Y SUS CORRESPONDIENTES AGUAS DE RIEGO. In *CyTAL®-ALACCTA 2019* (pp. 943–944).

Mondal, D., Periche, R., Tineo, B., Bermejo, L. A., Rahman, M. M., Siddique, A. B., ... Cruz, G. J. F. (2020). Arsenic in Peruvian rice cultivated in the major rice growing region of Tumbes river basin. *Chemosphere*, 241, 125070.

<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125070>

Naveda, R. A., Jorge, P. A., Flores, L., & Visitación, L. (2019). REMOCIÓN DE LIGNINA EN EL PRETRATAMIENTO DE CASCARILLA DE ARROZ POR EXPLOSIÓN CON VAPOR. *Rev Soc Quím Perú*, 85(3), 352–362.

Ormachea Muñoz, M., Garcia Aróstegui, J. L., Bhattacharya, P., Sracek, O., Garcia Moreno, M. E., Kohfahl, C., ... Bundschuh, J. (2016). Geochemistry of naturally occurring arsenic in groundwater and surface-water in the southern part of the Poopó Lake basin, Bolivian Altiplano. *Groundwater for Sustainable Development*, 2–3, 104–116. <https://doi.org/10.1016/j.gsd.2016.04.002>

Oteiza, J. M., Barril, P. A., Quintero, C. E., Savio, M., Befani, R., Cirelli, A. F., ... Buedo, A. (2020). Arsenic in Argentinean polished rice: Situation overview and regulatory framework. *Food Control*, 109(September 2019), 106909. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106909>

Pighín, A. F., & De Landeta, M. C. (2019). Contenido de minerales en arroces y productos industriales elaborados a base de arroz. *Diaeta (B. Aires)*, 37(167), 30–40.

Resolución 222/02. Por la cual se establece el padron de calidad de aguas en el territorio nacional (Paraguay).

Roel, A., Campos, F., Verger, M., Huertas, R., & Carracelas, G. (2021). Regional variability of arsenic content in Uruguayan polished rice. *Chemosphere*, 288(P1), 132426. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132426>

Salas, J., Torrez, B., Amaro, R., Ibarra, C., & González, I. (2019). *Optimization of*

analytical method for simultaneous determination of organochlorine and organophosphorus pesticides in quinoa samples using GC/MS. 297–305.

- Singh, Y., & Prasad, K. (2016). Effect of grinding methods for flour characterisation of Pusa 1121 basmati rice brokens. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 10(1), 80–87. <https://doi.org/10.1007/s11694-015-9279-7>
- Skoog, D. A., James Holler, F., & Nieman, T. A. (2001). *Douglas A. Skoog & F. James Holler & Timothy A. Nieman - Principios de análisis instrumental (5ed, McGrawHill).pdf* (pp. 1–856). pp. 1–856.
- Smedley, P. ., & Kinniburgh, D. . (2002). A review of the source, behaviour and distribution of arsenic in natural waters. *Applied Geochemistry*, 17(5), 517–568. [https://doi.org/10.1016/S0883-2927\(02\)00018-5](https://doi.org/10.1016/S0883-2927(02)00018-5)
- Sorriwas de Lozano, V., Morales, A., & Yañez, M. J. (2014). *Principios y práctica de la microscopía electrónica* (1ra Edició; V. S. de Lozano, Ed.). Bahia Blanca.
- Srinuttrakul, W., Mihailova, A., Islam, M. D., Liebisch, B., Maxwell, F., Kelly, S. D., & Cannavan, A. (2021). Geographical differentiation of hom mali rice cultivated in different regions of thailand using ftir-atr and nir spectroscopy. *Foods*, 10(8). <https://doi.org/10.3390/foods10081951>
- Swiecky, C., García, S., Vllaamil Lepori, E., Paredes, G., Frías, S., Ponce, R., & Moreno, I. (2006). *EPIDEMIOLOGÍA DEL HIDROARSENICISMO CRÓNICO REGIONAL ENDÉMICO EN LA REPÚBLICA ARGENTINA ESTUDIO COLABORATIVO MULTICÉNTRICO*. Retrieved from http://www.msal.gob.ar/politicassocioambientales/images/stories/descargas/recursos/2006_epidemiologia_del_hacre_en_argentina.pdf
- Villaamil Lepori, E. C. (2015). Hidroarsenicismo crónico regional endémico en Argentina Chronicendemic regional hydroarsenicism. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 48(1), 83–104.