



UNIVERSIDAD DE JAÉN  
*Facultad de Ciencias Experimentales*

Trabajo Fin de Grado

# **Determinación y estudio de residuos de contaminantes inorgánicos en alimentos de origen vegetal**

**Alumno: Lidia Cruz Fuentes**

**Julio, 2019**



**UNIVERSIDAD DE JAÉN**

**FACULTAD DE CIENCIAS EXPERIMENTALES**

**Grado en Química**

**Trabajo Fin de Grado**

**Determinación y estudio de  
residuos de contaminantes  
inorgánicos en alimentos de  
origen vegetal**

**Lidia Cruz Fuentes**

**Julio, 2019**

## ÍNDICE

1. RESUMEN.....	3
2. INTRODUCCIÓN.....	4
2.1. Principales contaminantes inorgánicos en alimentos.....	5
2.1.1 Arsénico .....	6
2.1.2 Cadmio .....	13
2.1.3 Plomo .....	14
2.1.4 Zinc.....	15
2.2. Normativas que regulan la presencia de metales pesados en arroz.....	17
2.3. Estudios de presencia de arsénico en arroz .....	17
2.3.1 Forma de cultivo del arroz .....	18
2.3.2 Efecto del lavado del arroz sobre la concentración del arsénico .....	19
2.3.3 Variabilidad de la concentración de arsénico inorgánico en los campos de arroces españoles .....	21
2.3.4 Colectivos con mayor consumo de arsénico .....	22
2.4. Metodología analítica para la determinación de metales en alimentos .....	24
2.5. Estudios de especiación del arsénico .....	26
2.6. Objetivos .....	29
3. MATERIALES Y MÉTODOS .....	29
3.1. Material y reactivos .....	29
3.2. Procedimiento de análisis de las muestras de arroz .....	29
3.3. Estudio de la transferencia de arsénico .....	32
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	33
4.1. Determinación de arsénico en arroz .....	33
4.2. Determinación de cadmio en arroz .....	35
4.3. Determinación de plomo en arroz .....	36

4.4. Determinación de zinc en arroz .....	38
4.5. Determinación del factor del procesado del arroz .....	39
4.6. Discusión de los resultados .....	41
5. CONCLUSIONES .....	42
6. BIBLIOGRAFIA.....	45

## **1. RESUMEN**

Una de las aplicaciones del análisis de trazas inorgánico es la detección de metales pesados en alimentos. En este trabajo, se ha realizado la determinación de trazas de los metales tóxicos arsénico, cadmio zinc y plomo en 16 muestras de arroz de marcas comercializadas en España para determinar si cumplen los límites establecidos por la normativa. El método empleado consiste en una digestión ácida acelerada con microondas, usando ácido nítrico y peróxido de hidrógeno seguida de la determinación mediante Espectrometría de Masas con Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-MS), dado que permite unos límites de detección del orden de ng/kg a µg/kg dependiendo del analito. Al mismo tiempo, se ha llevado a cabo un estudio para evaluar el porcentaje de eliminación del arsénico durante su procesado normal en una cocina durante la etapa de cocción para estimar que porcentaje de arsénico se mantiene en el arroz que se consume.

## **ABSTRACT**

One of the main applications of inorganic trace analysis is the determination of toxic metals in foodstuffs. In this work, the determination of arsenic, cadmium, zinc and lead have been carried out in 16 Spanish rice samples from different supermarkets, to assess their concentration levels. The applied method consists of microwave-assisted digestion with nitric acid and hydrogen peroxide followed by determination by means of Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS), which provides satisfactory sensitivity allowing the detection of trace metals in the ng/kg range. Furthermore, in order to evaluate the arsenic removal during standard cooking (boiling), the study of processing factor of arsenic was also undertaken.

## 2. INTRODUCCIÓN

La contaminación ambiental por metales pesados concierne un peligro para la salud pública debido a su rápida propagación, alta toxicidad y al no ser ni química ni biológicamente degradables.

La capacidad de bioacumulación que presentan los metales pesados a través de la cadena trófica, aumenta su toxicidad, siendo la dieta la principal vía de exposición por la contaminación de suelos de cultivos, acuíferos, mares y lagos.

Algunos metales son elementos tóxicos relevantes como Pb, Cd, As, Cr y Hg, pero otros son esenciales para el correcto funcionamiento del organismo. Oligoelementos como Fe, I, Zn y Mg con posible toxicidad potencial con ingestas excesivas como Cu y Cr (III).

Una mención especial requiere el arsénico debido a su abundancia en la corteza terrestre, entorno 2,5 mg/kg, al formar parte del grupo de los Nictógenos y la elevada toxicidad de la especie inorgánica muy distribuida en el medioambiente. Su principal vía de acceso es a través de la cadena alimentaria, con la contaminación de los suelos de cultivo por el uso de productos fitosanitarios, o el empleo de aguas contaminadas con este metaloide, principalmente subterráneas para el riego de cultivos. Especialmente, el arroz como ocurre en zonas de Bangladesh (*Abedin Joinal, et al., 2002*) e India (*Meharg., Rahman., 2003*).

La Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria se encarga de la evaluación científica y objetiva sobre los riesgos relacionados con la alimentación y coopera junto con los gobiernos para crear una legislación que proteja a los consumidores.

La Comisión Europea realizó en 2004 la primera valoración sobre la exposición al arsénico, cadmio, mercurio y plomo en el pescado. En 2006, se establecieron los contenidos máximos de determinados contaminantes en productos alimenticios. En 2009 expuso los riesgos para la salud relacionados con la presencia de arsénico en los alimentos y los niveles de su exposición dietética. En el año 2015, por primera vez

se establecen límites al arsénico inorgánico presente en el arroz y en sus productos derivados. (EFSA, 2009) (Reglamento 2015/1006 de la Comisión Europea)

## **2.1. Principales contaminantes inorgánicos en alimentos**

El origen de la contaminación de los suelos por metales pesados puede ser geogénico a causa de la actividad volcánica, las mineralizaciones o la propia roca madre y antropogénico debido a la actividad agrícola, los residuos industriales, la fundición de metales ferrosos o la quema de combustibles fósiles para producir energía.

El suelo actúa como una barrera protectora de los medios hidrológicos y biológicos, filtrando y neutralizando los metales pesados para disminuir su biodisponibilidad en el medio. Su capacidad reguladora depende de varios factores como; la presencia de materia orgánica, carbonatos y oxihidróxidos de hierro y manganeso, tipo de minerales de la arcilla, pH y actividad microbiana. Por ello, para cada zona geográfica el poder regulador del suelo tiene un límite (Galán Huertos *et al.*, 2008).

En el caso del arsénico al ser un metal ubicuo en el medioambiente su distribución geográfica en España es variada. Localizándose en altas concentraciones en suelos, aguas superficiales y/o subterráneas próximas a explotaciones mineras de metales con presencia de sulfuros metálicos como ocurre en zonas de Galicia, Rio Tinto, Almería o Asturias.

Todos estos factores medioambientales junto con los fenómenos de movilización del arsénico, como su liberación por disolución oxidativa de sulfuros metálicos (arsenopirita). Influyen en la concentración de arsénico y de otros metales en los cultivos de arroz. Pero, controlando los puntos de mayor contaminación y los fenómenos de movilidad del metaloide en los campos de cultivos, la población no debería verse afectada (Bundschuh, J., Giménez Forcada, *et al.*, 2008).

La dieta es la principal vía de exposición a los metales pesados. Algunos de ellos son tóxicos relevantes como Cd, Pb, Cr, Hg y As. Mientras otros; Fe, Zn, I, Cu y Sn, forman los oligoelementos esenciales. Evaluando la exposición dietética a los metales pesados por la población de Valencia en cuanto a los grupos de alimentos más

consumidos en la dieta mediterránea, el arsénico es el contaminante que se presenta en mayor concentración, en cereales y pescado (Tabla 1) (Marín, S., et al 2018).

Tabla 1. Presencia de metales en alimentos (Marín et al 2018).

mgkg <sup>-1</sup> Alimentos	Pb	Cd	t-As	i-As	Cu	Cr	Sn
Arroz	0,0123	0,0091	0,1468	0,0740	1,3931	0,0789	0,0317
Carne	0,0273	0,0281	0,0233	0,0019	5,1891	0,2384	0,0273
Cereales	0,0438	0,0271	0,0133	0,0304	3,0958	0,0992	0,0551
Pescado	0,0349	0,0816	2,1669	0,0174	1,1390	0,1016	0,0642
Lácteos	0,0109	0,0085	0,0158	0,0006	0,0467	0,0294	0,0031

En el presente estudio se determinará la concentración de arsénico, cadmio, plomo y zinc presente en varias muestras de arroces comercializados en España

### 2.1.1 Arsénico

El arsénico es un metaloide presente en la atmósfera, en rocas, en la biosfera e hidrosfera y, ampliamente distribuido en suelos, como resultado de procesos naturales (meteorización, actividad volcánica, erosión de rocas o incendios forestales) y la actividad antropogénica. Los minerales que presentan mayores concentraciones de arsénico son los sulfuros; arsenopirita, calcopirita, galena y marcasita, donde el arsénico sustituye el sulfuro en su estructura, llegando a formar el 10% en peso del mineral.

Los compuestos arsenicales tienen diversas aplicaciones como la producción de semiconductores, vidrios, fertilizantes fosfatados, pesticidas, herbicidas, conservantes para estructuras de madera e incluso aditivos en piensos para animales, como la rosarxona (ácido 3-nitro-4-hidroxifenilarsénico) utilizada para aumentar el peso del animal en la producción de aves de corral (Cámara y Pérez Conde., 2011).

#### ➤ Toxicidad

La toxicidad del arsénico depende del estado de oxidación en el que se encuentre y del grupo químico al que esté unido.



La toxicidad de los compuestos inorgánicos es superior a los orgánicos. Como normal general, al contrario de lo que ocurre con el resto de metales en los que las especies orgánicas son más tóxicas debido a su mayor solubilidad en los tejidos lipídicos y a su capacidad para atravesar las membranas biológicas. La toxicidad del arsénico disminuye al aumentar el grado de metilación. Como muestran los valores de dosis letal media (LD<sub>50</sub>) expuestos en la Tabla 2. En cuanto al estado de oxidación, las especies trivalentes son más tóxicas que las pentavalentes, siguiendo el orden: As(III) > As(V) > MMA > DMA, y las especies arsenocolina y arsenobetaína se consideran no tóxicas (García Salgado, 2013).

Tabla 2. Valores LD<sub>50</sub> para diversas especies de arsénico (Cámara y Pérez-Conde, 2001).

Especie	LD <sub>50</sub> (g/kg)
<sup>1</sup> As (III)	0,034
<sup>2</sup> MMA(V)	1,8
<sup>3</sup> DMA (II)	1,2
<sup>4</sup> TMAO	10,6
<sup>5</sup> AsC	>6,5
<sup>6</sup> AsB	>10

La elevada toxicidad del arsenito se debe a que puede interferir con las funciones enzimáticas esenciales y en los procesos de transcripción celular, además de ser hidrosoluble en comparación con las especies organoarsenicales.

Las especies inorgánicas arsenito y arseniato difieren en el mecanismo de acción toxicológica en el organismo.

Por un lado, las especies trivalentes interactúan con los grupos sulfhidrilo (-SH) presentes en proteínas y enzimas ricas en residuos de cisteínas, desencadenando la desnaturalización de las proteínas y enzimas del interior de las células, llegando a

---

<sup>1</sup> Arsenito

<sup>2</sup> Ácido monometilarsónico

<sup>3</sup> Ácido dimetilarsínico

<sup>4</sup> Óxido de trimetilarsina

<sup>5</sup> Arsenocolina

<sup>6</sup> Arsenobetaína

producir la muerte celular por el aumento de las especies reactivas de oxígeno (*Jomova, et al., 2011*).

Por otro lado, la especie pentavalente sustituye al fosfato en el organismo, interfiriendo en la transferencia de fosfato al adenosin difosfato (ADP) para formar el adenosin trifosfato (ATP), privando a la célula de energía.

No obstante, estas especies tras la reducción a arsenito son metiladas en el hígado mediante un proceso de desintoxicación, generando compuestos organoarsénicales con menor fijación en los tejidos y una rápida excreción (*AESAN, 2009*).

Los efectos de la exposición crónica al arsénico son: lesiones en la piel (hiperpigmentación), desarrollar diversos tipos de cáncer, enfermedades cardíacas, necrosis, diabetes y daños en el sistema nervioso central (*FAO/WHOM., 2014*).

#### ➤ Tipos de arsénico

Los diferentes tipos de arsénico surgieron cuando hace más de un siglo se encontraron altas concentraciones de arsénico en alimentos de origen marino, denominados arsenobetaínas, debido a su naturaleza orgánica y a una casi nula toxicidad. Así, surge el concepto de especiación dado que las diferentes formas químicas en las cuales puede presentarse un elemento hay que considerarlas de forma individual, ya que su reactividad química y los efectos que producen sobre los seres vivos son muy variables, por lo que el estudio total de la especie no es determinante para conocer su toxicidad sobre un sistema.

Los compuestos de arsénico se clasifican en tres grupos. Los compuestos inorgánicos se presentan en forma de oxoaniones en disolución, arsenito y arseniato, y como óxidos, cloruros y sulfuros en fase sólida o formando parte de los principales minerales como arsenopirita.

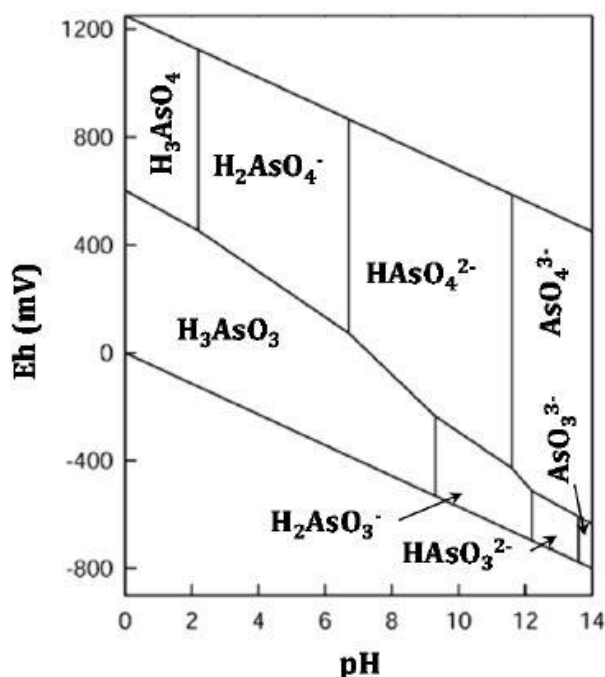
Los compuestos orgánicos como arsenobetaínas y arsenoazúcares, y un último grupo formado por el gas arsina o hidruro de arsénico, el cuál por su volatilidad y su fuerte carácter reductor no se encuentra en los alimentos.

➤ Arsénico inorgánico

La Agencia Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (IARC) clasificó al arsénico como el primer elemento cancerígeno, grupo I, para el ser humano. Las principales especies inorgánicas se exponen en la Tabla 3. Esta clasificación se justifica a partir de estudios toxicológicos en poblaciones por ingesta prolongada de agua contaminada, que han relacionado la exposición al arsénico con la incidencia de cáncer de pulmón, vejiga, piel, hígado y riñón. Principalmente con el arsénico inorgánico, al ser el más abundante en disolución (IARC, 1987, 2004).

Las especies inorgánicas son las más abundantes en la naturaleza y a través de procesos de biotransformación forman las especies orgánicas. Los ácidos arsenito y arseniato son polipróticos. La forma química predominante en un medio dependerá de las condiciones de acidez y del potencial redox (García Salgado, 2013).

Figura 1. Diagrama Potencial-pH para especies inorgánicas de arsénico a 25°C y a 1 bar de presión total (Smedley y Kinniburgh., 2002).



A partir del diagrama de potencial frente pH podemos afirmar:

- En un medio aeróbico, el estado de oxidación dominante es la forma oxidada As (V), la forma neutra  $H_3AsO_4$  predomina en medios muy ácidos,  $pH < 2$ .

Mientras que a valores de pH entre 2 y 11 se encuentra como  $\text{HAsO}_4^{2-}$  y  $\text{H}_2\text{AsO}_4^-$ .

- En medios acuosos anaeróbicos, bajo condiciones reductoras predomina la especie As (III) presente en forma neutra  $\text{H}_3\text{AsO}_3$  en un amplio intervalo de pH.
- En medios fuertemente reductores, algunas especies de arsénico son capaces de formar arsina ( $\text{AsH}_3$ ).

Tabla 3. Especies inorgánicas de arsénico (EFSA, 2009).

Arsenito	$\text{H}_3\text{AsO}_3$
Arseniato	$\text{H}_3\text{AsO}_4$
Óxido de arsénico (III)	$\text{As}_2\text{O}_3$
Óxido de arsénico (V)	$\text{As}_2\text{O}_5$
Arsina	$\text{AsH}_3$
Metilarsina	$\text{CH}_3\text{AsH}_2$
Dimetilarsina	$(\text{CH}_3)_2\text{AsH}_2$
Trimetilarsina	$(\text{CH}_3)_3\text{As}$

➤ Arsénico orgánico

Los compuestos orgánicos pueden ser formas metiladas como; el ácido monometilarsónico, el ácido dimetilarsínico, el óxido de trimetilarsina y el ion tetrametilarsonio. También hay que mencionar otras formas más complejas como arsenobetaína, arsenocolina, arsenoazúcar y compuestos de base proteica como metalotioneínas o fitoquelatinas.

Tabla 4. Principales compuestos orgánicos de arsénico (EFSA, 2009)

Ácido monometilarsónico MMA (V)	$\begin{array}{c} \text{OH} \\   \\ \text{H}_3\text{C}-\text{As}=\text{O} \\   \\ \text{O}^- \end{array}$
Ácido dimetilarsínico DMA (II)	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ \text{HO}-\text{As}=\text{O} \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$
Arsenobetaina (AsB)	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \\   \\ \text{H}_3\text{C}-\text{As}^+ \begin{array}{l} \diagup \text{---} \text{CH}_2\text{---} \text{COOH} \\   \\ \text{CH}_3 \end{array} \end{array}$
Arsenocolina (AsC)	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \\   \\ \text{H}_3\text{C}-\text{As}^+ \begin{array}{l} \diagup \text{---} \text{CH}_2\text{---} \text{OH} \\   \\ \text{H}_3\text{C} \end{array} \end{array}$
Ión tetrametilarsonio (TMA <sup>+</sup> )	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ \text{H}_3\text{C}-\text{As}^+-\text{CH}_3 \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$
Óxido de trimetilarsina (TMAO)	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ \text{H}_3\text{C}-\text{As}=\text{O} \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$
Ácido trimetilarsoniopropanoico (TMAP)	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \\   \\ \text{H}_3\text{C}-\text{As}^+ \begin{array}{l} \diagup \text{---} \text{CH}_2\text{---} \text{COO} \\   \\ \text{CH}_3 \end{array} \end{array}$
<p>Arsenoazúcares dimetilados</p> <p>R: -OH -OP<sub>3</sub>HCH<sub>2</sub>CH(OH)CH<sub>2</sub>OH -SO<sub>3</sub>H -OSO<sub>3</sub>H</p>	
<p>Arsenoazúcares trimetilados</p> <p>R: -OSO<sub>3</sub><sup>-</sup></p>	
Arsenolípidos	

- Arsenobetaina: principal especie organoarsénica presente en organismos marinos, formada por la metilación u oxidación de los compuestos simples metilados (MMA, DMA). Es inocua para el ser humano. Su presencia en organismos unicelulares como las algas se debe a su incapacidad de distinguir entre el arseniato y el fosfato disuelto en el agua marina. Así, recogen inconscientemente arseniato (potencialmente tóxico), que tras un proceso de metilación se transforma en arsenobetaina,  $(\text{CH}_3)_3\text{As}^+\text{CH}_2\text{COO}^-$  en lugar de fosfato para formar la glicina betaína  $(\text{CH}_3)_3\text{N}^+\text{CH}_2\text{COO}^-$ , una betaína nitrogenada que mantiene el equilibrio osmótico en condiciones de cambio de salinidad. Finalmente, la arsenobetaina se incorpora en nuestra dieta al consumir pescado.
- Arsenoazúcares: principal compuesto orgánico presente en algas marinas y en animales que se alimentan de ellas como mejillones y ostras.
- Arsenolípidos: formados por todos los lípidos solubles en grasas y contienen arsénico en su estructura. Presente en el aceite de hígado de bacalao y en pescados grasos como atún y caballa.
- Otras especies organoarsénicas presentes en alimentos: como el ácido trimetilarsénico propanoico similar a la arsenobetaina e identificado en especies de pescados, la arsenocolina presente en organismos marinos donde puede ser biotransformada en arsenobetaina, y el ácido monometilarsónico presente a nivel de trazas en pescados y mariscos (EFSA.,2009).

➤ Hidruro de arsénico

El arsénico presente en los suelos de cultivos como consecuencia del tratamiento con herbicidas genera compuestos como la arsina ( $\text{AsH}_3$ ), metilarsina ( $\text{CH}_3\text{AsH}_2$ ), dimetilarsina  $[(\text{CH}_3)_2\text{AsH}]$ , trimetilarsina  $[(\text{CH}_3)_3\text{As}]$ , como resultado de la actividad microbiana que puede interpretarse como un mecanismo de autoprotección frente a los efectos tóxicos del elemento (Cámara, Pérez Conde., 2011) .

### 2.1.2 Cadmio

El cadmio se encuentra de forma natural en el medio ambiente como especie inorgánica procedente de la meteorización. Las fuentes antropogénicas, han contribuido a los niveles de fondo de cadmio en los suelos, el agua y los organismos vivos. Así, como el uso de fertilizantes fosfatados y biosólidos (*Ramírez, 2002*).

En cuanto a la química del cadmio; es un elemento metálico del grupo XII (Zn, Cd, Hg) de la tabla periódica y su estado de valencia prevalente es +2. El metal es dúctil y blando, presenta color plateado o blanco. Se oxida rápidamente para producir óxido de cadmio en el aire, y gases como CO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>, SO<sub>3</sub>, y HCl reaccionan con el Cd<sup>2+</sup>, como ocurre en las pilas de humo industriales formando sales que se emiten al medio ambiente.

Otras especies de cadmio como los haluros y el nitrato de cadmio, son solubles en agua, siendo más fácilmente absorbidas por los organismos acuáticos y un aumento de la salinidad reduce su bioacumulación. Mientras que el hidróxido es insoluble, el óxido de cadmio y el carbonato de cadmio son solubles a pH gástrico (*EFSA, 2009*). La población en general está expuesta al cadmio por diferentes fuentes, como el tabaco, pero para la población no fumadora la alimentación es la principal fuente de exposición, seguida de la actividad industrial. Así, los grupos de alimentos que más contribuyen son: cereales, verduras y hortalizas, frutos secos, moluscos, hongos silvestres y vísceras de animales como hígado y riñón, dado que en estos órganos se produce la acumulación de cadmio (*EFSA, 2012*).

#### ➤ Toxicidad

El cadmio es uno de los metales pesados más tóxicos debido a su carácter acumulativo y su nefrotoxicidad. En cuanto a su biodisponibilidad, esta depende de varios factores como la fisiología del individuo y de la fuente de ingesta, siendo mayor en alimentos como arroz en comparación con alimentos de origen marino. La exposición ambiental al cadmio está relacionada con enfermedades renales, cardiovasculares, diabetes y cáncer.

Los metales pesados son metabolizados en el hígado, donde se unen a proteínas de bajo peso molecular, metalotioneínas. Estas proteínas ampliamente distribuidas en el organismo, tienen en su estructura un alto contenido de cisteína, aminoácido capaz de formar complejos con cationes mediante el grupo sulfhidrilo que posee como radical, lo que le confiere una elevada afinidad para almacenar y reaccionar con metales como zinc, cadmio, cobre, plomo, mercurio, cobalto, hierro y níquel.

Una exposición crónica al cadmio incrementa la producción de metalotioneínas en el hígado y en el riñón, lo que genera una respuesta protectora para limitar su toxicidad. Una vez excedida la capacidad almacenativa de cadmio, éste se encuentra en forma libre con la capacidad de inducir la formación de anticuerpos a las metalotioneínas, los cuales son tóxicos para las células del túbulo proximal de la nefrona y se acumula en la mitocondria inhibiendo la cadena respiratoria del complejo III, generando disfunción mitocondrial y la formación de radicales libres, que desencadenan la apoptosis celular (*Sabath. Ludivina. 2012*).

### 2.1.3 Plomo

El plomo es un metal, blando, denso y dúctil. Sus principales estados de oxidación son +2 y +4, prevalece el estado divalente formando fosfatos o carbonatos. Como contaminante natural, se encuentra en rocas magmáticas y en sedimentos arcillosos, aunque su presencia ubicua en el medio ambiente y el incremento de la concentración de plomo en muestras medioambientales se debe a la actividad antropogénica, su uso en tuberías, baterías, pinturas o gasolina.

Debido a su fácil absorción y distribución por el organismo ha sido clasificado como elemento cancerígeno grupo 2A por la IARC, ya que puede incluso dañar el cerebro provocando daños neurotóxicos. Una vez ingerido es transportado por los eritrocitos y transferido a los tejidos blandos, incluido hígado y riñón, y el tejido óseo donde se deposita alcanzando una vida media de 10-30 años, produciendo enfermedades crónicas, cardiovasculares y fallos renales.

En el medio ambiente este metal aparece en dos clases de especies químicas; la orgánica de procedencia industrial y la inorgánica, predominante en el medioambiente



y los alimentos. Ambas formas difieren en su toxicocinética y toxicodinámica. Los compuestos orgánicos son más tóxicos que los inorgánicos, aunque la exposición es menor al estar relacionada con entornos laborales donde se absorbe por las vías respiratorias. Mientras que la especie inorgánica se debe a su absorción intestinal.

Entre las especies orgánicas de plomo destacan los derivados de alquilo, empleados como aditivos en combustibles como: tetralquilplomo (mejora el índice de octanos en la gasolina) y el tetrametil. Una vez inhalados, estos compuestos son desalquilados a iones de plomo divalentes por la actividad monoxigenasa del citocromo P450 (EFSA, 2010).

#### ➤ Toxicidad

El plomo se ingiere por vía oral o respiratoria y una vez accede al torrente sanguíneo se acumula dentro de los glóbulos rojos e interfiere en la síntesis del grupo hemo, ocasionando anemia. Estudios experimentales en ratones demuestran que el déficit de hierro aumenta la absorción del plomo, al aumentar su unión con las células portadoras del hierro. La vida media del plomo en sangre es de 30 días.

La intoxicación con plomo se trata suministrando por vía intravenosa agentes quelantes, entre ellos destaca el EDTA. Estos compuestos complejan los metales divalentes del plomo presentes en el sistema circulatorio, las paredes de las arterias o las articulaciones, formando complejos que serán excretados por la orina.

#### 2.1.4 Zinc

El zinc es considerado un metal aunque tiene completamente ocupados los orbitales 3d, comparte con el cobre y otros metales de transición la tendencia de formar complejos fuertes con ligandos orgánicos como aminoácidos y nucleótidos. Su estado de oxidación +2, forma compuestos de organozinc y sales inorgánicas. Tiene afinidad por los grupos sulfhidrilo e hidroxilo, y por los grupos que contiene nitrógeno donador.

La concentración de zinc en la litosfera es de 80 mg/kg y en el suelo varia geográficamente entre 10-800 mg/kg. Los principales minerales de zinc son; blenda, wurtzita, el carbonato y la hemimorfita ( $Zn_4Si_2O_7(OH)_2H_2O$ )

Una dieta con cantidades adecuadas de zinc debe contener: legumbres, carne roja, nueces, granos integrales de cereales y lácteos.

#### ➤ Toxicidad

No se han descrito efectos tóxicos graves por ingesta de zinc, dado que es el oligoelemento con menor toxicidad. Tan solo se han detectado algunos brotes tras la ingestión de alimentos contaminados con Zn procedentes de recipientes galvanizados.

El zinc está implicado fisiológicamente en todas las rutas metabólicas, sus efectos son muy diversos. Así, un exceso de zinc desencadena: (a) anemias, debido al déficit de cobre que produce su exceso dado que es necesario para la incorporación del hierro al grupo hemo; (b) Disminución de la respuesta inmune, y de los niveles de HDL en el suero; (c) Erosión gástrica; (d) Altera el metabolismo de las proteínas y produce daños en el páncreas.

No obstante, el zinc es un oligoelemento esencial por lo que su déficit provoca patologías severas como: retraso en el crecimiento, interrupción del ciclo estrogénico, complicaciones en el embarazo, pérdidas de peso, lesiones epiteliales y enfermedades hepáticas.

## 2.2. Normativas que regulan la presencia de metales pesados en arroz.

El contenido máximo permitido de metales pesados en cereales y legumbres por la Unión Europea se expone en la Tabla 5.

Tabla 5. Concentración máxima permitida de metales en cereales (Reglamento (CE) Nº 1881/2006).

Metal	Nivel máximo permitido (mg kg <sup>-1</sup> )
Cd	0,200
Pb	0,200
Zn	50

La Unión Europea regula los límites en cuanto al contenido máximo de arsénico inorgánico presente en varios tipos de arroz y en sus productos derivados.

Tabla 6 Concentración de i-As de acuerdo a la variedad de arroz. (Regulación 2015/1006 de la Comisión Europea)

Variedad de arroz	i-As (mg kg <sup>-1</sup> )
Arroz elaborado (pulido o blanco)	0,200
Arroz vaporizado	0,250
Tortitas, obleas y pasteles de arroz	0,300
Arroz destinado a la producción de alimentos infantiles	0,100

## 2.3. Estudios de presencia de arsénico en arroz

El arroz es uno de los cereales más consumidos alrededor del mundo, constituye la base de la alimentación en países del sur-este asiático, incluso es recomendado como la principal fuente de carbohidratos para las personas celiacas. Sin embargo, la contaminación del agua empleada para su cultivo, en muchos casos agua subterránea pone en riesgo su consumo. Se han detectado niveles de entre 10-200 µg As/L en países como Bangladesh, India, Chile, EEUU entre otros, superando los límites nacionales de 50 µg/L para aguas superficiales (*Boletín Oficial del Estado, 2011*). A modo de ejemplo, la exposición media diaria al arsénico de la población de varios países se expone en la Tabla 7.

Tabla 7. Exposición media al arsénico (Joint FAO/WHO Expert committee for Food additives, 2011).

País/ Región	Exposición media (µg/kg por día)
Europa (EFSA)	0,21 – 0,61 adultos 0,31-1,39 niños 1-8 años 0,03-1,63 < 12 meses
EEUU	0,08-0,20 adultos 0,12-0,32 niños 1-6 años 0,24-1,19 <12 meses
Chile	2,08-21,48 adultos
Bangladesh	1,68-3 adultos
China	0,24-0,76 adultos
Japón	0,36-0,46 adultos
Taiwán	0,91 adultos

### 2.3.1 Forma de cultivo del arroz

La presencia de arsénico en arroz frente a otros tipos de cereales como cebada, trigo y maíz, se debe a su forma de cultivo por inundación, (*Signes-Pastor et al., 2016*), que conlleva que el arsénico presente en el suelo se disuelva en el agua de riego, creando condiciones reductoras (anaerobiosis) que favorecen la movilidad del arsenito frente el arseniato.

Las plantas cultivadas en medios anaeróbicos oxigenan su rizosfera mediante la formación de placas de oxohidróxidos de hierro. Su formación está condicionada por la presencia de fósforo, aumentando cuando disminuye su concentración. Estas placas son las encargadas de secuestrar el arsénico presente en el agua de riego y evitar su paso a la plantación (*Islam et al 2016*).

Modificando las condiciones de cultivo como; la mineralización del suelo que puede formar especies de arsénico con baja solubilidad, el potencial de reducción, el pH, la concentración de nutrientes y las prácticas anaeróbicas de cultivo, hacia condiciones más aeróbicas que reducirían la biodisponibilidad del arsénico en la plantación, se conseguirían variedades de arroz más aptas para el consumo humano (*Carbonel-Barrachina., et al. 2012*).

Por último, evaluando la biodisponibilidad del arsénico en los suelos de cultivos tratados con agua contaminada con metales, que favorecen la absorción del arsénico por la plantación, se observa una mayor concentración de arsénico total en el grano de arroz como se muestra en la Tabla 13 (caso D). En cambio, en los arrozales presentes en suelos geogénicos, formados por la actividad volcánica, mineralizaciones o la propia roca madre, el arsénico se presenta en gran medida en forma más insoluble e inerte para su absorción por la plantación y en consecuencia en el grano de arroz (Khan et al., 2010).

### 2.3.2 Efecto del lavado del arroz sobre la concentración del arsénico

Según diversos estudios, el método de cocinado empleado puede influir en la concentración de arsénico en los productos alimenticios y en la exposición dietética real en comparación con el producto crudo (Meharg et al., 2019).

El método tradicional de cocinado del arroz reduce la concentración de arsénico en el arroz cocido frente al arroz crudo, normalmente se prepara con un pequeño ratio 2:1, agua-arroz. Sin embargo, un aumento del volumen del agua de cocción disminuiría la concentración del arsénico en el arroz cocido, como se muestra en la siguiente Tabla 8 para el arroz blanco (Meharg et al., 2019).

Tabla 8. Efecto del aumento del agua de cocción sobre la fracción total del arsénico (Meharg et al., 2019).

Fracción Agua-Arroz	Arsénico total en arroz crudo (mg/kg)	Arsénico total en arroz cocido (mg/kg)
2:1	0,204	0,208
6:1		0,179
10:1		0,145

El uso de agua contaminada, sobre todo en las zonas endémicas de la producción del arroz, durante el proceso de cocción, aumenta el contenido de arsénico debido a su solubilización parcial en el salvado del grano. Hecho especialmente relevante en el caso del arroz integral al conservar el salvado y el germen, mientras que en el arroz blanco se eliminan durante el proceso de refinado (Signes Pastor et al., 2012).

En cambio, cuando la problemática no radica en el uso de agua contaminada sino en la concentración de arsénico inorgánico presente en el arroz, varios métodos pueden reducir sus niveles, aunque por el contrario, se pierde de la calidad nutricional del arroz. Entre estos métodos podemos incluir:

- (a) El lavado del arroz crudo previo a su consumo.
- (b) Someterlo a lavado varias veces hasta que el agua salga clara, y dejarlo en remojo unas horas, reduce entre un 10-28% su contenido de i-As (*Sengupta et al., 2006*).
- (c) Desechar el agua de lavado y utilizar agua limpia para la cocción del arroz elimina entre 3-43% la concentración de la especie inorgánica (*Randa., et al 2018*).

Una vez el contaminante es ingerido con la alimentación, la digestión y la absorción intestinal determinan su paso al torrente sanguíneo. Ambos procesos dependen de la biodisponibilidad, cantidad de arsénico susceptible al paso al torrente sanguíneo y la bioaccesibilidad, centrada en el sistema gástrico. No obstante, la mayoría de los métodos que los evalúan muestran limitaciones, como el sistema de simulación gástrica artificial empleado para evaluar si el proceso del lavado del arroz crudo disminuye la fracción de arsénico bioaccesible (*Randa et al 2018*).

En la mayoría de los casos de la Tabla 9, el lavado ayuda a retirar parte del arsénico excepto en aquellos con mayor contaminación. Como el procedente de Irak ( $\approx 700 \mu\text{g As kg}^{-1}$ ) se retira un 22% de arsénico bioaccesible con el lavado y para el caso de Marruecos, ( $< 200 \mu\text{g As kg}^{-1}$ ), se elimina un 33%.

Tabla 9. Porcentaje de arsénico bioaccesible retirado al lavar el arroz (*Randa, 2018*).

País de origen del arroz	Fracción bioaccesible As en arroz crudo (%)	Fracción As retirada al lavar el arroz crudo (%)	[As] bioaccesible después del lavado ( $\mu\text{g/ kg}$ )
Irak	$73 \pm 13$	$22,1 \pm 9,1$	$493 \pm 17$
EEUU	$93 \pm 14$	$42,9 \pm 7,8$	$130 \pm 11$
India	$81 \pm 13$	$36 \pm 16$	$160 \pm 22$
Marruecos	$80 \pm 19$	$34 \pm 19$	$17,5 \pm 2,3$
Yemen	$60,7 \pm 5,2$	$19,5 \pm 2,8$	$120 \pm 10$
Arabia Saudí	$56,4 \pm 8,7$	$29,2 \pm 5,6$	$49 \pm 4,9$

Simplemente lavar el arroz antes de su consumo con agua libre de arsénico, sobre todo en las zonas donde la contaminación de los cultivos de arroz es mayor como;

India, Yemen, Irak, EEUU (California) haría, por tanto, más seguro su consumo (Randa, et al., 2018).

### 2.3.3 Variabilidad de la concentración de arsénico inorgánico en los campos de arroz españoles

Los cultivos de arroz de España y Portugal, tienen un predominio de origen geogénico y derivado de la actividad minera. Representan el 36% de la producción total de arroz en Europa. Países como Bélgica, Reino Unido, Alemania y Francia son los principales consumidores de arroz español.

Evaluando la concentración de arsénico presente en los suelos de cultivos, se detectó que los arrozales de Portugal presentan unos valores medios tres veces superiores a los suelos de Murcia y Extremadura. En términos generales, hay una correlación positiva entre la concentración de arsénico presente en el suelo de cultivo y la fracción de arsénico inorgánico absorbida por la plantación, como ocurre en las zonas de Portugal y Cataluña. Sin embargo, factores como: el pH, contenido de materia orgánica, capacidad de cambio catiónico del suelo, actividad microbiana, tipo de minerales de la arcilla, carbonatos, etc. Pueden influir en la capacidad depuradora del suelo frente a los contaminantes. Así, el caso de Extremadura con un valor de 4,2 mg t-As/kg de suelo, presenta una concentración elevada de i-As 11mg/kg en los brotes de arroz.

En las Tablas 10 y 11 se exponen las concentraciones de arsénico presentes en los suelos de cultivos y brotes de arroz, en las principales zonas de producción de España

Tabla 10. Concentración media de arsénico total en los suelos de cultivo (Signes-Pastor et al., 2016).

Origen	$\Sigma$ t-As (mg/kg)
Portugal	15
Cataluña	11
Andalucía	10
Aragón	9,5
Navarra	8,8
Valencia	8,2
Murcia	5,4
Extremadura	4,2

Tabla 11. Concentración media de las especies inorgánicas y orgánicas en los brotes de arroz (Signes-Pastor et al., 2016).

Origen	$\Sigma$ i-A(mg/kg)	$\Sigma$ o-As (mg/kg)
Portugal	9,8	0,042
Cataluña	8,5	0,008
Andalucía	2,5	0,005
Aragón	1,8	0,011
Navarra	1,5	0,004
Valencia	2,9	0,004
Murcia	1,4	0,003
Extremadura	11	0,031

En cuanto al arroz comercializado en España, en la Tabla 12 se exponen las concentraciones del arsénico inorgánico en el arroz blanco procedente de las ocho principales regiones productoras (Signes-Pastor et al., 2016).

Tabla 12. Concentración de i-As en arroz comercializado según su procedencia (Signes-Pastor et al., 2016).

Origen	i-As (mg/kg)
Portugal	0,087
Cataluña	0,080
Andalucía	0,054
Aragón/Navarra	0,067
Valencia	0,063
Murcia	0,057
Extremadura	0,087

En todas estas regiones, los niveles de arsénico inorgánico se encuentran por debajo de lo establecido por la legislación 0,200 mg/kg. Por tanto, consumir el arroz elaborado en la Península Ibérica es seguro para nuestra salud. Sin embargo, esto no resulta fácil dado que la procedencia del arroz no suele aparecer en el etiquetado a no ser que posea la Denominación de Origen Protegida. Actualmente, en España tan sólo lo tienen el arroz del Delta del Ebro, arroz de Valencia y el arroz de Calasparra.

#### 2.3.4 Colectivos con mayor consumo de arsénico

La celiaquía es una enfermedad digestiva autoinmune que daña la membrana mucosa del intestino delgado por la intolerancia al gluten e interfiere en la correcta absorción de los nutrientes. Esta enfermedad provocada por la intolerancia a las proteínas del



gluten (glutenina y gliadina), presente en cereales como trigo, centeno y cebada, puede aparecer a cualquier edad una vez el gluten es introducido en la dieta (ESPGHAN, 2012).

El único tratamiento actual consiste en eliminar la ingesta de gluten, sustituyendo el trigo, centeno y cebada por; arroz, maíz, soja, quínoa y trigo sarraceno, entre otros. El arroz es el cereal más usado para la producción de alimentos sin gluten debido a su alto valor nutricional y su bajo potencial alérgico. No obstante, su alto contenido en arsénico y su elevada bioaccesibilidad en el tracto gastrointestinal, hacen que las personas celiacas ingieran una mayor cantidad de este metaloide.

Evaluando el contenido de arsénico presente en alimentos españoles a base de arroz destinados al consumo de niños con celiaquía, se detectó que los grupos de alimentos con mayor concentración de arsénico son aquellos que contienen un mayor porcentaje de arroz en su composición, Así, el contenido de arsénico inorgánico aumenta en el siguiente orden: galletas < pan < cereales < pasta. En este último, se encontraron niveles de arsénico total de  $256 \mu\text{g kg}^{-1}$  y  $128 \mu\text{g kg}^{-1}$  de la especie inorgánica. Siendo su ingesta diaria en estos productos a base de arroz de  $0,61-0,78 \mu\text{g kg}^{-1}$  peso corporal respectivamente. Estos valores se encuentran dentro del margen de referencia establecido por la EFSA, e indican que existe un 1% de riesgo para el cáncer de pulmón, vejiga o piel  $\text{BMDL}_{01}$   $0,3-8,0 \mu\text{g kg}^{-1}$  (Munera-Picazo., et al. 2014).

Existe otro estudio que también avala la correlación positiva entre el porcentaje de arroz incluido en los alimentos infantiles, como cereales, purés y leches de fórmula, y la cantidad de arsénico inorgánico detectado. Estima que la ingesta media de i-As para niños de 4, 6, 8, 12 meses es de  $0,05$ ,  $0,16$ ,  $0,25$  y  $0,26 \mu\text{g kg}^{-1}$  por día. Sin embargo, los niveles para niños que sufren celiaquía son  $0,26$ ,  $0,27$ ,  $0,41$  y  $0,40 \mu\text{g kg}^{-1}$  por día para las mismas edades. Aunque estos valores se consideren seguros, desde que se detecta la enfermedad una persona celiaca que sustituye el gluten, principalmente del trigo por cereales como arroz, consume arsénico de por vida. Si además se le suma la ingesta procedente de otras fuentes como carne, pescado o verduras, los valores se pueden incrementar hacia niveles menos seguros (Carbonell-Barrachina, et al., 2012).

Por tanto, se recomienda reducir el contenido de arroz en los alimentos infantiles, usando harina de maíz o almidón de patata. Sustituir las variedades de arroz con mayor contenido en arsénico por otras con menor concentración (*Carbonell-Barrachina, et al., 2012*) (*Signes-Pastor., et al., 2016*).

#### **2.4. Metodología analítica para la determinación de metales en alimentos**

Para determinar metales a nivel de trazas se suelen combinar dos técnicas; una disolución de la muestra sólida mediante una digestión en horno microondas seguida de la etapa de determinación mediante ICP-MS.

La digestión ácida asistida por microondas es uno de los métodos más usados para la disolución de muestras sólidas. Permite disolver un número elevado de muestras, en un periodo de tiempo pequeño y disminuye el riesgo de pérdida/ contaminación de los analitos, frente a las digestiones en vía seca como la bomba de combustión o el método de Schöniger. La muestra es calentada en vasos cerrados y utilizando material polimérico inerte a los reactivos empleados, como perfluoroalcoxi (PFA), junto con los ácidos utilizados para su degradación dependiendo del tipo de muestra; como ácido nítrico, ácido clorhídrico, ácido perclórico y mezclas oxidantes como el agua regia. Se suelen alcanzar temperaturas de entre 180-220°C.

En un horno convencional el calentamiento de las muestras se produce por convención. En un horno microondas, el calor se genera en las moléculas polares de la muestra, la radiación penetra en el recipiente, y se disipa térmicamente en la propia muestra, generando calor en todas las direcciones. Es un proceso mucho más rápido que por convención (*Cámara, 2011*). Otra gran ventaja del empleo de microondas es que permite la modificación de parámetros como la potencia en función del tiempo, la temperatura o la presión. Consiguiendo en un menor tiempo una digestión adecuada de la muestra para su posterior análisis (*Lafuente Hernández, L., 2017*).

El detector más utilizado para la detección de especies de arsénico es ICP-MS dado que presenta una alta sensibilidad, amplio rango lineal y la posibilidad de realizar análisis multianalítico. El ICP-MS resulta de la unión de dos instrumentos, un plasma

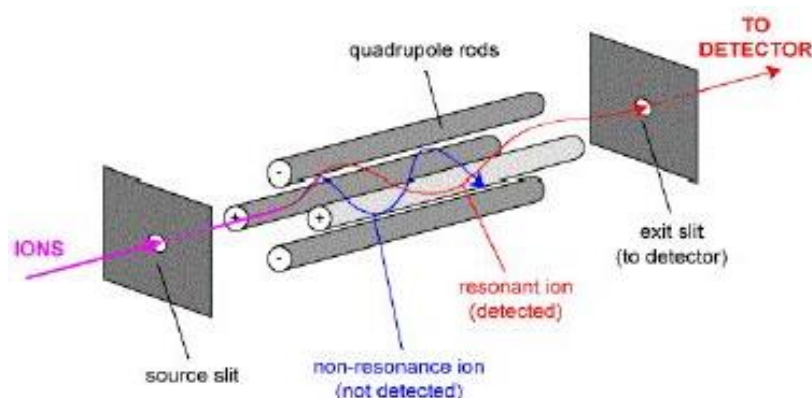
acoplado inductivamente para producir iones monovalentes que a continuación son separados en función de su relación masa/carga por el espectrómetro de masas.

La ionización alcanzada en el seno del plasma es imprescindible para la medida y depende del potencial de ionización del analito. El plasma más utilizado es el de argón (PI=15,76 eV), cualquier elemento con un potencial menor, estará ionizado. En el caso del arsénico (PI=9.81 eV) lo estará en un 30-40%.

Los iones generados en el ICP tienen que pasar desde la presión atmosférica al alto vacío requerido en el espectrómetro de masas, lo que requiere una interfase adecuada para asegurar que se extrae una fracción importante. El haz finalmente transferido tiene la misma composición iónica que la zona del plasma de la que se extraen los iones, esto significa que no solo contiene iones propios del analito sino otros procedentes del gas que genera el plasma: aductos de argón con metales e incluso iones poliatómicos de componentes de la muestra. Estos originan las principales interferencias, que se pueden resolver mediante el empleo de equipos con celdas de colisión.

En cuanto al analizador de masas, el más empleado actualmente en equipos ICP-MS es el analizador de cuadrupolo sencillo, que consiste en un filtro de masas que permite el paso de los iones con una relación de  $m/z$  dada en función de la combinación de voltajes a los que se opera.

Figura 2. Analizador de cuadrupolo



El espectro de masas obtenido no es simultáneo sino secuencial, porque es función del barrido de voltajes, pero es tan rápido que puede considerarse simultáneo. En

contra, el analizador de cuadrupolo presenta una baja resolución, por ello un importante avance ha sido el desarrollo de las celdas de colisión. En ellas, los iones procedentes del plasma de argón se hacen reaccionar con una celda normalmente de He o H<sub>2</sub>, con el fin de fragmentar los iones poliatómicos antes de su separación por el cuadrupolo. Así, se eliminan interferencias como óxidos poliatómicos de argón y se mejoran los límites de detección para algunos analitos, como el arsénico o el selenio (*Cámara, 2011*).

## **2.5. Estudios de especiación del arsénico**

El estudio de especiación es de gran interés debido a la diferencia de toxicidad y la capacidad de bioacumulación, entre las especies arsenicales. Para ello, se han desarrollado diversas metodologías analíticas (Tabla 13) que suelen estar basadas en la separación previa de los analitos mediante técnicas cromatografías en columna, seguida por la medida con un detector atómico o de masas.

No obstante, las dificultades de este proceso residen en que las especies químicas no sean suficientemente estables para ser identificadas y determinadas como tales, siendo necesario un tratamiento de la muestra que produce alteraciones en el pH o modificaciones que afectan al equilibrio químico, pudiéndose cambiar la distribución del total del elemento en sus diferentes especies (*Cámara, 2011*).

Tabla 13. Resumen de algunas de las principales metodologías de especiación del arsénico

Metales analizados	Tipo de Muestra	Técnica analítica	Tratamiento de muestra	Niveles detectados (mg kg <sup>-1</sup> )	Referencia
A) As-t	Cereales infantiles a base de arroz	ICP-MS	-Digestión a microondas: HNO <sub>3</sub> + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0,006-0,619	Carbonell-Barrachina, et al., 2012
i-As (AsO <sub>3</sub> <sup>-3</sup> , AsO <sub>4</sub> <sup>-3</sup> ) y DMA		HPLC-ICP-MS		i-As= 0,007-0,121 o-As=0,005-0,198	
B) As-t	Arroz blanco elaborado en España	ICP-MS	-Liofilización -Digestión a microondas: HNO <sub>3</sub> + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0,064-0,224	Signes Pastor, et al., 2016
i-As (AsO <sub>3</sub> <sup>-3</sup> , AsO <sub>4</sub> <sup>-3</sup> ) y DMA	Arroz blanco	IC-ICP-MS		As-i= 0,054-0,087 As-o=0,009-0,139	
C) As-t	Arroz blanco Brasil	ICP-MS	-Digestión ácida: HNO <sub>3</sub> -Calentamiento 2h en un digestor de bloques	0,0336-0,1962	Segura, F.R., et al 2016
i-As (AsO <sub>3</sub> <sup>-3</sup> , AsO <sub>4</sub> <sup>-3</sup> ). MMA y DMA	Arroz blanco Brasil	HPLC-ICP-MS	-Digestión ácida: HNO <sub>3</sub> -Calentamiento en un baño termostático a 95°C durante 2h -Filtración: filtro de celulosa (0,2µm)	i-As = 0,0224-0,0926 o-As = 0,01652-0,1068	

D)	t-As	Arroz cultivado en Bangladesh, Corea, India. Regado con agua contaminada con $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	ICP-MS	-Digestión ácida: agua regia ( $\text{HNO}_3\text{-HCl}$ ) -Digestión a microondas	0,456-1,095	S.Bolan et al., 2017
E)	t-As	Arroz blanco España	HG-AFS	-Digestión: $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , $\text{MgO}$ y $\text{HNO}_3$ -Mineralización: horno a $450^\circ\text{C}$	0,105	Matos-Reyes et al., 2010
F)	t-As	Arroz blanco España (Valencia)	ICP-MS	-Liofilización -Digestión a microondas: $\text{HNO}_3$	0,116-0,233	Marín, S., et al 2018
	i-As		FI-HG-AAS	-Liofilización -HCl + $\text{H}_2\text{O}$ desionizada -Extracción, $\text{CHCl}_3$ -Reducción: $\text{HBr} + \text{N}_2\text{H}_6\text{SO}_4$ -Extracción, $\text{CHCl}_3$ -Extracción: $\text{MgNO}_3 + \text{MgO}$ - $\text{HNO}_3$ -Horno mufla -Reducción: $\text{KI} + \text{Ac. Ascórbico}$	0,0740	

## 2.6. Objetivos

Los objetivos que se persiguen en el siguiente estudio son:

- Determinar la concentración de los principales metales pesados en arroz.
- Verificar si el arroz que se comercializa en España cumple con los niveles máximos permitidos por la Unión Europea.
- Estudiar la transferencia del arsénico durante el procesado del arroz crudo

## 3. MATERIALES Y MÉTODOS

### 3.1. Material y reactivos

- Ácido nítrico de alta pureza al 69%
- Peróxido de hidrógeno al 33%
- Agua desionizada de alta pureza
- Balanza analítica con una precisión  $\pm 0,0001\text{g}$
- Placa calefactora
- Muestras de arroz molidas
- Tubos PFA
- Tubos Falcón de 45 mL
- Molino de análisis IKA A11 basic
- Equipo de microondas de la marca CEM, modelo Mars Xpress
- Espectrómetro de masas ICP Agilent 7900

### 3.2. Procedimiento de análisis de las muestras de arroz

Las muestras de arroz fueron recolectadas en varias cadenas de supermercados de Jaén. Se han analizado un total de dieciséis muestras tanto de marcas blancas como de firmas comerciales, elaboradas en España, Italia y Portugal.

En la Tabla 14 se exponen los diferentes tipos de arroz analizados, su origen y la marca que los comercializa.

Tabla 14. Procedencia de las muestras de arroz recolectadas

Muestra	Marca	Categoría	Origen
M1	La Cigala	Redondo extra	Sevilla
M2	Signo	Redondo extra	Valencia
M3	Campolargo	Redondo extra	Valencia
M4	Brillante Sabroz	Redondo extra	Sevilla
M5	Hacendado	Vaporizado	Portugal
M6	Hacendado	Integral	Valencia
M7	IFA	Redondo extra	Madrid
M8	Scotti	Arborio	Italia (Pavia)
M9	Alteza	Redondo extra	Sevilla (Isla Mayor)
M10	La Fallera	Redondo extra	Valencia (Silla)
M11	El Corte Ingles	Redondo extra	Tarragona
M12	Día	Redondo extra	Madrid
M13	Aliada	Largo	Madrid
M14	SOS	Redondo extra	Valencia
M15	Calasparra	Bomba	Murcia
M16	Hacendado	Basmati	Tailandia

El procedimiento de análisis de las muestras se describe a continuación. Utilizando un molino de análisis se consigue harina de arroz de cada una de las muestras. Se pesaron 0,5 g con una precisión de  $\pm 0,0001$ g y se introducen en los tubos de perfluoroalcoxi (PFA).



Figura 3. Equipo de microondas, marca CEM, modelo Mars Xpress.

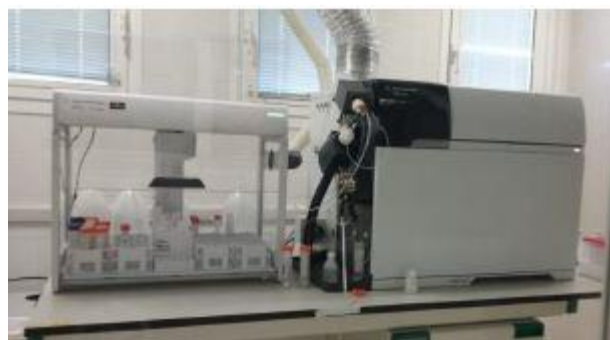
A cada muestra y a los blancos preparados por duplicado se le añade 5 mL de HNO<sub>3</sub> (69%) y 2 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (33%) y 1 mL de agua de alta pureza desionizada. La presencia de esta agua desionizada en la mezcla de mineralización ayuda a prevenir la evolución



de gases como consecuencia del alto contenido de carbohidratos en la muestra de arroz. Una vez sellados los tubos de PFA se someten a una digestión asistida por microondas (Figura 3), cuyo programa de temperaturas es el siguiente: 5 minutos a 100°C, 5 minutos a 125°C y 5 minutos a 150°C. Una vez digeridas las muestras y enfriadas, con precaución y dentro de campana, se arrastran las soluciones de digestión hacia los tubos falcón y se enrasarán hasta los 40 mL, con agua de alta pureza desionizada.

La recta de calibrado se preparó a partir de una disolución madre de 10 mg/L multipatrón en HNO<sub>3</sub> al 2% por dilución con agua de alta pureza desionizada para conseguir las concentraciones: 0 µg/L, 0,1 µg/L, 0,5 µg/L, 1 µg/L, 5 µg/L, 10 µg/L, 50 µg/L, 100 µg/L y 500 µg/L. De la misma forma se preparó una mezcla que contenía los patrones internos <sup>45</sup>Sc, <sup>72</sup>Ge, <sup>103</sup>Rh y <sup>193</sup>Ir, empleados para la determinación de los metales. Por último, las disoluciones preparadas son medidas en el equipo de ICP-MS.

Una vez las disoluciones están preparadas para el análisis se colocan los blancos, las muestras y las disoluciones patrón en un muestrador automático, donde serán recogidas por un brazo robot automático, el cual las inyecta en el equipo ICP-MS Agilent 7900 (Agilent Technologies, Santa Clara, EE.UU). Los patrones internos son inyectados automáticamente al mismo tiempo a través de un sistema de flujo continuo con una válvula rotatoria de 7 vías. El equipo de ICP-MS se muestra en la Figura 4.



*Figura 4. Espectrómetro de masa, ICP Agilent 7900*

### 3.3. Estudio de la transferencia de arsénico

Para determinar si se produce transferencia de arsénico durante su procesado, y estimar la fracción de arsénico que queda en el arroz cocido y en el agua de cocción, se ha seguido el procedimiento que se describe a continuación y que se muestra esquematizado en la Figura 5. Se realizan 3 réplicas de la muestra M14 (arroz marca SOS) al tener un valor medio de  $0,203 \pm 0,0032$  mg As/kg (Tabla 17). Para ello, se pesan con exactitud 50 g de cada una de las réplicas y se someten a su cocción con 300 mL de agua de grifo a las que se controló la ausencia de As empleando ICP-MS. Tras 15 min, se filtra para obtener por un lado el agua de lavado (midiendo el volumen) y por otro, el arroz cocido hidratado. Para su análisis, mediante digestión ácida acelerada con microondas, como se ha expuesto anteriormente, se tomaron 5 mL del agua de cocción, y 1,35 g de arroz cocido, que se sometieron al mismo tratamiento de digestión en horno. Todas las muestras serán llevadas a un volumen total de 40 mL para su determinación mediante ICP-MS.

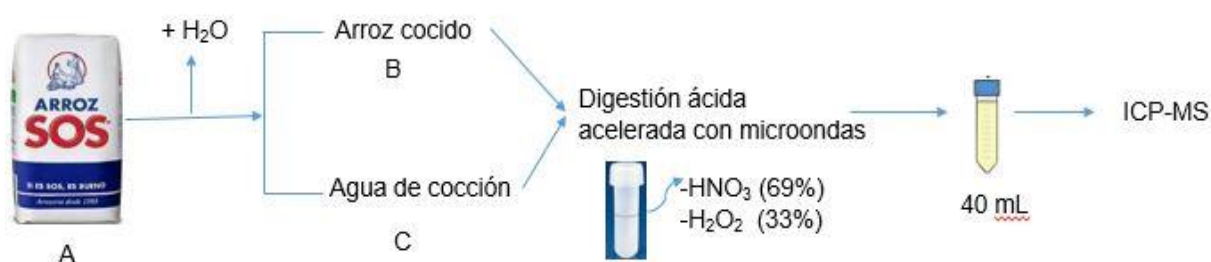


Figura 5. Esquema experimental del procesado del arroz

Del esquema anterior, A, corresponde a la masa de As presente en el arroz crudo, B a la masa de As presente en el arroz cocido y que normalmente es consumido, y C, la masa de As presente en el agua de cocción, esta fracción no es consumida, menos en el caso de arroces secos o paellas.

Realizando un balance de materia a partir de la relación en masa de arsénico presente en el agua de cocción y en el arroz crudo, se puede obtener el porcentaje efectivo de eliminación de arsénico durante el proceso de cocción, ignorando las pérdidas por evaporación.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La determinación de la concentración total de arsénico, cadmio, plomo y zinc en las muestras de arroz expuestas en la Tabla 14, se realiza mediante el calibrado de patrón interno, este método corrige la deriva instrumental ya que el patrón interno se adiciona en concentración conocida y constante, a cada punto del calibrado y a cada una de las muestras. No se observó efecto matriz de ningún tipo por lo que no es necesario llevar a cabo el método de adición de patrón para ninguna de las muestras estudiadas.

### 4.1. Determinación de arsénico en arroz

- Recta de calibrado para el As

Tabla 15. Datos recta de calibrado del As

[As] ( $\mu\text{g/L}$ )	CPS Patrones/CPS P.I ( $^{72}\text{Ge}$ )
0,1	1,281 E-3
0,5	6,592 E-3
1	13,161 E-3
5	66,391 E-3
10	131,55 E-3

Se muestra en la Figura 6 la recta de calibrado para el arsénico, el isótopo  $^{72}\text{Ge}$  es el patrón interno empleado.

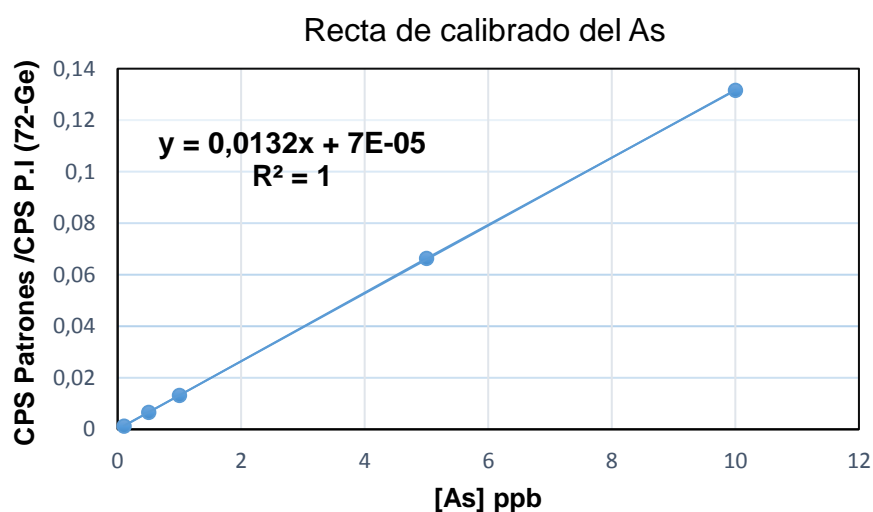


Figura 6. Recta de calibrado del As

- Concentración de arsénico en las muestras de arroz

Tabla 16. Concentración de As en las muestras de arroz

Muestras	CPS/CPS P.I ( <sup>72</sup> Ge)	X (µg/L)	[As] µg/kg muestra	[As] mg/kg muestra
M1	0,0379	2,87	227,4	0,227
M2	0,0316	2,39	177,1	0,177
M3	0,0337	2,55	202,1	0,202
M4	0,0376	2,85	226,4	0,226
M5	0,0683	5,18	403,4	0,403
M6	0,0332	2,51	200,0	0,200
M7	0,0403	3,06	237,1	0,237
M8	0,0713	5,41	422,4	0,422
M9	0,0216	1,64	129,8	0,130
M10	0,0253	1,91	151,8	0,152
M11	0,0360	2,73	216,7	0,217
M12	0,0183	1,38	110,6	0,111
M13	0,0319	2,41	190,8	0,191
M14	0,0342	2,59	202,7	0,203
M15	0,0223	1,69	134,4	0,134
M16	0,0245	1,85	146,8	0,147

La normativa de la Comisión Europea 2015/1006 (Tabla 6) establece en 0,200 mg/kg el máximo de arsénico permitido en arroz. Las muestras 1,4, 5, 7, 8, 11 y 14 (Tabla 16) superan este límite.

La muestra M14, es la elegida para el estudio del procesado del arroz, para ello se realizan tres réplicas de la misma muestra (Tabla 17).

Tabla 17. Concentración de As en las réplicas de la muestra M14

Réplicas M14	CPS/CPS P.I ( <sup>72</sup> Ge)	X (µg/L)	[As] µg/kg muestra	[As] mg/kg muestra
1	0,0345	2,61	207,5	0,207
2	0,0348	2,64	205,2	0,205
3	0,0334	2,53	195,3	0,195

## 4.2. Determinación de cadmio en arroz

- Recta de calibrado para el Cd

Tabla 18. Datos de la recta de calibrado del Cd

[Cd] (µg/L)	CPS Patrones/CPS P.I (103Rh)
0,1	0,131 E-3
0,5	0,649 E-3
1	1,293 E-3
5	6,374 E-3
10	13,04 E-3
50	65,74 E-3

La Figura 7 muestra la recta de calibrado para el cadmio, el isótopo empleado como patrón interno es el  $^{103}\text{Rh}$ .

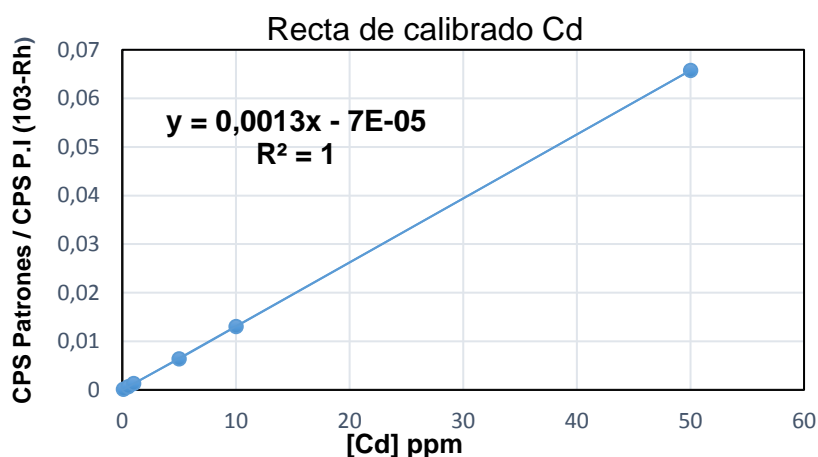


Figura 7. Recta de calibrado del Cd

- Concentración de Cd en las muestras de arroz

Tabla 19. Concentración de Cd en las muestras de arroz

Muestras	CPS/CPS P.I (103Rh)	X (µg/L)	[Cd] µg/kg muestra	[Cd] mg/kg muestra
M1	-	-	-	<LOQ
M2	0,0001	0,15	11,05	0,011
M3	0,0014	1,09	86,19	0,086
M4	-	-	-	<LOQ
M5	-	-	-	<LOQ
M6	-	-	-	<LOQ
M7	-	-	-	<LOQ

M8	0,0012	0,93	72,62	0,073
M9	0,0011	0,87	69,08	0,069
M10	0,0020	1,58	125,4	0,125
M11	-	-	-	<LOQ
M12	0,0007	0,59	47,32	0,047
M13	0,0001	0,10	7,65	0,008
M14	-	-	-	<LOQ
M15	-	-	-	<LOQ
M16	-	-	-	<LOQ

<LOQ: Por debajo del límite de detección del método

Para las muestras 1,4, 5, 6, 7, 11, 14, 15 y 16 de la Tabla 19, no se detectan niveles de cadmio. Dado que la señal CPS de las muestras es del mismo orden o más pequeña que las señales CPS del blanco procedimental medido.

Las muestras 2, 3, 8, 9, 10,12 y 13 no superan el límite establecido por la Comisión Europea N° 1881/2006 (Tabla 5) de 0,200 mg/kg para el cadmio.

#### 4.3. Determinación de plomo en arroz

- Recta de calibrado de Pb

Tabla 20. Datos de la recta de calibrado del Pb

[Pb] (µg/L)	CPS Patrones/CPS P.I ( <sup>193</sup> Ir)
0,1	1,238 E-3
0,5	7,625 E-3
1	15,68 E-3
5	80,44 E-3
10	162,1 E-3
50	818,1 E-3
100	1629 E-3

En la Figura 8 se expone la recta de calibrado del plomo, el patrón interno empleado es el <sup>193</sup>Ir.

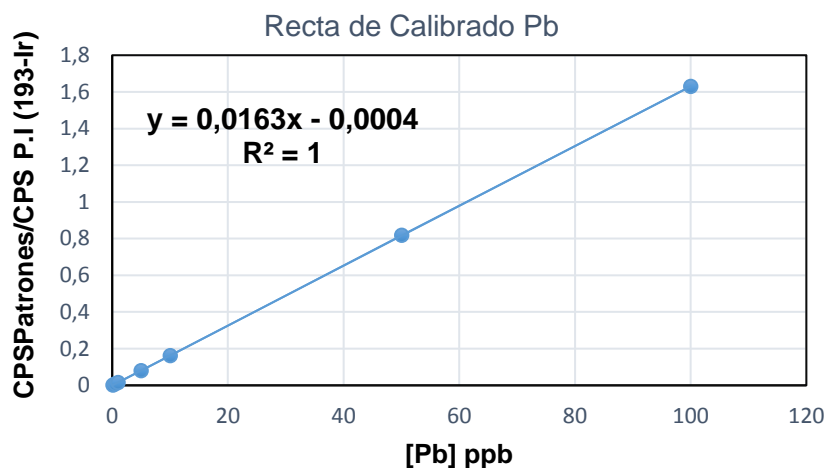


Figura 8. Recta de calibrado del Pb

- Concentración de Pb en las muestras de arroz

Tabla 21. Concentración de Pb en las muestras de arroz

Muestras	CPS/CPS P.I ( <sup>193</sup> Ir)	X (µg/L)	[Pb] µg/kg muestra	[Pb] mg/kg muestra
M1	-	-	-	<LOQ
M2	0,0012	0,10	7,39	0,007
M3	0,1197	7,363	583,22	0,583
M4	0,0052	0,345	27,42	0,027
M5	-	-	-	<LOQ
M6	-	-	-	<LOQ
M7	-	-	-	<LOQ
M8	0,0150	0,94	73,53	0,074
M9	0,0627	3,87	307,2	0,307
M10	0,0806	4,97	394,1	0,394
M11	-	-	-	<LOQ
M12	-	-	-	<LOQ
M13	-	-	-	<LOQ
M14	-	-	-	<LOQ
M15	-	-	-	<LOQ
M16	-	-	-	<LOQ

<LOQ: Por debajo del límite de detección del método

Solo las muestras 2, 3, 4, 8, 9 y 10 de la Tabla 21 presentan niveles de plomo detectados. Para el resto de muestras las concentraciones de plomo se encuentran por debajo del límite de detección del método empleado. Las señales CPS de las

muestras son del mismo orden o incluso inferior que la señal CPS del blanco procedimental medido.

Las muestras 3, 9 y 10 superan el límite de 0,200 mg/kg establecido por la Comisión Europea N° 1881/2006 (Tabla 5).

#### 4.4. Determinación de zinc en arroz

- Recta de calibrado para el Zn

Tabla 22. Datos de la recta de calibrado del Zn

[Zn] (µg/L)	CPS Patrones/CPS P.I. ( <sup>45</sup> Sc)
0,1	3,184 E-3
0,5	4,758 E-3
1	17,71 E-3
5	51,50 E-3
10	105,5 E-3
50	517,5 E-3
100	1039 E-3
500	5147 E-3

En la Figura 9 se muestra la recta de calibrado para el zinc, el patrón interno empleado es el <sup>45</sup>Sc.

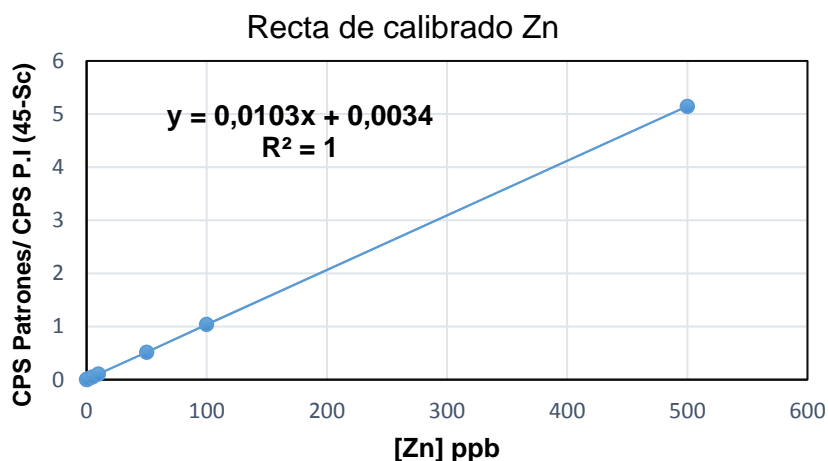


Figura 9. Recta de calibrado del Zn



- Concentración de zinc en las muestras de arroz

Tabla 23. Concentraciones de Zn en las muestras de arroz

Muestras	CPS/CPS P.I ( <sup>45</sup> Sc)	X (µg/L)	[Zn] mg/kg muestra
M1	1,76	170,2	13,5
M2	3,17	308,1	24,4
M3	2,78	269,5	21,4
M4	1,35	131,2	10,4
M5	0,89	86,6	6,9
M6	2,54	246,9	19,6
M7	1,91	184,0	14,6
M8	4,05	393,0	31,1
M9	1,91	185,4	4,71
M10	1,56	151,6	12,0
M11	1,37	132,5	10,5
M12	1,67	162,2	13
M13	2,06	200,1	16
M14	1,98	192,2	15,3
M15	1,98	192,4	15,3
M16	2,31	224,0	17,8

En la Tabla 23 se exponen las concentraciones de zinc para las 16 muestras analizadas, ninguna de ellas supera el límite establecido por el Reglamento (CE) N° 1881/2006 de 50 mg/kg expuesto en la Tabla 5.

#### 4.5. Determinación del factor del procesado del arroz

Los resultados obtenidos en el estudio del procesado del arroz para la marca comercial SOS, realizando tres réplicas son los siguientes:

##### A. Fracción en masa del arsénico en el arroz crudo

Tabla 24. Arsénico en el arroz crudo

	[As] µg/kg	kg muestra	As µg
1	207,47	0,050	10,135
2	205,24	0,050	10,138
3	195,32	0,051	10,314
media	202,67		

## B. Fracción en masa del arsénico en el arroz cocido

Tabla 25. Arsénico en el arroz cocido

	[As] µg/kg	kg muestra	As µg
1	69,81	0,133	9,277
2	84,20	0,101	8,470
3	77,18	0,094	7,285

## C. Fracción en masa del arsénico en el agua de cocción.

Para la cocción de cada réplica de la muestra M14 se emplea 300 mL de agua, la cual tiene una concentración de  $1,3 \times 10^{-5}$  mg As/L.

Tabla 26. Arsénico en el agua de cocción

	[As] µg/L	Agua de cocción. L	As µg
1	53,057	0,052	2,759
2	25,878	0,136	3,519
3	25,461	0,138	3,514

En la Tabla 27 se expone el porcentaje del arsénico que permanece en el arroz una vez cocido, y por tanto se consume, B. El porcentaje efectivo de eliminación de arsénico durante el proceso de cocción del arroz, C.

Tabla 27. % As en el arroz cocido y en el agua de cocción

	%B	% C
1	72,6	27,2
2	65,3	34,7
3	65,9	34,1

#### 4.6. Discusión de los resultados

El método ICP-MS empleado para la determinación, de metales pesados en arroz, proporciona los siguientes intervalos de concentración; arsénico (0,111-0,422 mg/kg), cadmio (0,008-0,125 mg/kg), zinc (4,71-31,1 mg/kg) y plomo (0,007-0,583 mg/kg).

Las concentraciones detectadas en las muestras de arroz de cadmio y zinc, se encuentran dentro de los límites establecidos por la Comisión Europea N° 1881/2006 (Tabla 5) de 0,200 mg/kg y 50 mg/kg respectivamente. Ninguna de las marcas comerciales analizadas supera este límite.

En cambio, para el plomo las marcas de arroz, Campolargo (0,583 mg/kg), Alteza (0,307 mg/kg) y Fallera (0,394 mg/kg) superan el límite de 0,200 mg/kg establecido en la normativa (Tabla 5).

Para el caso del arsénico, metaloide que requiere una mayor atención debido a la toxicidad de la especie inorgánica. Las marcas comerciales que superan la normativa (Tabla 6) de 0,200 mg/kg son; La Cigala (0,227 mg/kg), Brillante (0,226 mg/kg), Hacendado vaporizado (0,403 mg/kg), IFA (0,237 mg/kg), Scotti (0,422 mg/kg), el Corte Ingles (0,217 mg/kg) y SOS (0,203 mg/kg). Para estas marcas habría que realizar un estudio más detallado, incluyendo varias réplicas para cerciorar que efectivamente no cumplen la normativa.

En la determinación de cadmio y plomo para la mitad de las muestras no se ha detectado ninguna concentración, ya que las señales (CPS) de las muestras son del mismo orden o incluso inferior a las señales (CPS) del blanco procedimental medio. Por tanto, se encuentra por debajo del límite de cuantificación.

Las concentraciones de los metales Pb, Cd y As son despreciables frente a las concentraciones de Zn obtenidas. Valores altos, pero que en ningún caso superan el límite de 50 mg/kg de Zn. Como se ha descrito, al ser un oligoelemento esencial su ingesta está permitida en niveles más elevados, dado que su déficit altera el metabolismo de las proteínas y disminuye la respuesta inmune, entre otras patologías.

El procesado del arroz es un método útil para disminuir los niveles de arsénico presentes en el arroz crudo. El agua de cocción se retira antes de que el arroz reabsorba la fracción de arsénico disuelta.

El estudio del procesado para la muestra M14 dio los resultados expuestos en la Tabla 28, donde se confirma que el método de cocinado ayuda a la eliminación de parte del arsénico contenido en el arroz crudo de entre un 27-34% del arsénico inicial.

Tabla 28. Resultados muestra M14 del estudio del procesado del arroz.

	As total en el arroz crudo ( $\mu$ )	As total en el arroz cocido ( $\mu$ )	As total en el agua cocción ( $\mu$ )	% As permanece arroz cocido	%As Retirado
1	10,135	9,277	2,759	72,6	27,2
2	10,138	8,470	3,519	65,3	34,7
3	10,314	7,285	3,514	65,9	34,1

## 5. CONCLUSIONES

Realizados los análisis se exponen las siguientes conclusiones:

- La principal vía de exposición al arsénico para el ser humano es la alimentación, siendo el arroz el cereal que requiere una mayor atención en cuanto a su consumo al formar la base de la alimentación de varios países y del colectivo celiaco, cada vez más en aumento. Además, su forma de cultivo por inundación lo hace óptimo para concentrar el arsénico en el grano. Por ello, de los metales pesados analizados, el arsénico es el metaloide que en un mayor número de muestras supera el límite de 0,200 mg/kg establecido por la Comisión Europea 2015/1006.

En cambio, para el plomo solo tres muestras (M3, M9, M10) superan la normativa, y para el cadmio y zinc, ninguna de las muestras analizadas superan los límites (CE N°1881/2006).

- Factores como la concentración de metales pesados presentes en el suelo de cultivo y en el agua de regadío, son determinantes en cuanto a los niveles de

arsénico en la plantación de arroz. Así, se observa en los arroces cultivados en España como; La Cigala (0,227 mg/kg), Brillante (0,226 mg/kg), IFA (0,237 mg/kg) frente a los procedentes de Portugal (0,403 mg/kg) e Italia (0,422 mg/kg) donde la concentración de arsénico se duplica.

- Las posibles soluciones para minimizar la concentración de arsénico en arroz sería; modificar las técnicas de cultivo hacía condiciones aeróbicas donde se reduzca la absorción del arsénico por la plantación, el lavado del arroz previo a su consumo, o consumir arroz cultivado en España con denominación de origen protegida, como la muestra M15 Calasparra (0,134 mg As/kg).
- Las marcas de arroz Signo, Campolargo, Fallera y Hacendado integral, tienen concentraciones de arsénico similares, entorno 0,200 mg/kg. Debido, a que son cultivadas en la misma zona, Valencia, regadas con una misma agua y en un mismo suelo de cultivo. Por tanto, la concentración de arsénico no depende de la marca comercial ni del proceso de elaboración que haya seguido, sino de las características físicas y químicas del suelo de cultivo, y las técnicas empleadas para su recolección.
- El método tradicional de cocción del arroz, ayuda a la eliminación de parte del arsénico presente en el arroz crudo inicial. La eliminación efectiva del arsénico aumenta conforme se emplea un mayor volumen de agua para su cocción y este se retira antes de su reabsorción por el arroz, como ocurre en arroces secos o paellas.
- El uso de agua contaminada con arsénico para su cocción, como ocurre en las zonas endémicas de su producción, aumentaría su concentración en el grano de arroz. Produciendo el efecto contrario al obtenido en este trabajo, al usar agua libre de arsénico.
- Realizar estudios de especiación, utilizando técnicas cromatográficas para la separación de las distintas especies arsenicales como: As (III), As (V), MMA y DMA, previa a su determinación mediante ICP-MS, proporcionaría una

evaluación más exhaustiva sobre los niveles de arsénico inorgánico presentes en el arroz. Debido a la diferencia de toxicidad entre sus especies inorgánicas y orgánicas. En el presente estudio los datos están referidos a su concentración inorgánica, lo que llevaría a una sobreestimación de su toxicidad, aunque de esta forma es como se han llevado a cabo la mayoría de los estudios descritos hasta ahora.

## 6. BIBLIOGRAFIA

- Abedin Joinal, M., Cotter-Howells, J., Meharg,A.A., (2002) Arsenic uptake and accumulation in rice (*Oryza sativa L.*) irrigated with contaminated water. *Plant and Soil* 240: 311-319; 2002.
- Boletín Oficial del Estado: BOE-A-2011-1139.
- Bolan, S., Kunhikrishnan, A., Seshadri,B., (2017) Comparative analysis of speciation and bioaccessibility of arsenic in rice grains and complementary medicines. *Chemosphere* 182 433-440
- Bundschuh,J., Gímenez Forcada, E., Guéréquiz, R., Pérez Carrera, A., García, E., Mello, J., Deschamps, E. (2008) IBEROARSEN. Distribución del arsénico en las regiones Ibérica e Iberoamericana. Editado por CYTED. *Capítulo 3, página 33.*
- Galán Huertos, E., Romero Baena, A., (2008) Contaminación de suelos por metales pesados. *Conferencia: Departamento de Cristalografía, Mineralogía y Química Agrícola. Facultad de Química. Universidad de Sevilla.*
- Cámara, C., Pérez Conde, C., (2011). Análisis químico de trazas. Editorial Síntesis
- Carbonell-Barrachina, A.A., Xiangchun, W., Ramírez Gandolfo, A., Norton Gareth, J., Burló, F., Deacon, C., Meharg Andrew, A., (2012). Inorganic arsenic contents in rice-based infant foods from Spain, UK, China and USA. *Environmental Pollution* 163 (2012) 77-83.
- EFSA 2009a. (European Food Safety Authority). Scientific Opinion on Arsenic in Food. EFSA panel on contaminants in food chain (CONTAM), Vol 7 Disponible en: [www.efsa.europa.eu](http://www.efsa.europa.eu).
- EFSA 2010 Scientific Opinion on Lead in Food. EFSA panel on contaminants in food chain (CONTAM) EFSA Journal 2010. Disponible en: [www.efsa.europa.eu](http://www.efsa.europa.eu)
- EFSA 2012. Cadmium Dietary Exposure in the European Population. Disponible en <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2012.2551>
- EFSA 2009b. Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM); Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain, Cadmium in Food.
- ESPGHAN (European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition) 2012. *Guidelines for diagnosis of coeliac disease.*Disponible en [http://www.espghan.org/fileadmin/user\\_upload/Endorsed\\_Events/Paediatric\\_Coeliac\\_Disease\\_Manifesto\\_FINAL\\_30.04.pdf](http://www.espghan.org/fileadmin/user_upload/Endorsed_Events/Paediatric_Coeliac_Disease_Manifesto_FINAL_30.04.pdf)

- FAO/WHO (Food and Agriculture Organization/World Health Organization). 2014. UN strengthens regulations on lead in infant formula and arsenic in rice. Food and Agriculture Organization of the United Nations; World Health Organization, Geneva. Available from: <http://www.fao.org/news/story/en/item/238802/icode/>.
- Farré Rovira R., Cacho Palomar J.F., Carneán Fernández A., Más Barón Albert., Delgado Cobos Pilar. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición, relativo a la evaluación del riesgo asociado a la posible presencia de arsénico en algas destinadas al consumo humano. Número de referencia: AESAN-2009-10
- Galán Huertos, E., Romero Baena, A., (2008). Contaminación de suelos por metales pesados. Revista de la Sociedad Española de Mineralogía. [http://www.ehu.es/~sem//macla\\_pdf/macla10/Macla10\\_48.pdf](http://www.ehu.es/~sem//macla_pdf/macla10/Macla10_48.pdf)
- García Salgado, S., (2013). Estudios de presencia de arsénico y acumulación de metales en muestras de interés medioambientales. Tesis doctoral. *Universidad Politécnica de Madrid*.
- IARC (2004). Monographs, Arsenic in drinking water, monographs vol. 84. Disponible en: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol84/mono84-6.pdf>
- Islam, S., Mohammand, M.R., Islam, M.R., Naidu. R. (2016). Arsenic accumulation in rice: Consequences of rice genotypes and management practices to reduce human health risk. *Environment International* 96-2016.139-155.
- *Joint FAO/WHO Expert committee for Food additives. Evaluation of Certain Contaminants in Food. (2011). 959 2011 1*
- Jomova, K.; Jenisova, Z.; Feszterova, M.; Baros, S.; Liska, J.; Hudecova, D.; Rhodes, C.J.; Valko, M.(2011). Arsenic: toxicity, oxidative stress and human disease. *J. Appl. Toxicol.* , 31, 95-107.
- Khan, M.A., Stroud, J. L., Zhu, Y. G., McGrath, S.P., Zhao, F. J. (2010). Arsenic bioavailability to rice is elevated in Bangladesh in paddy soils. *Environmental Science and Technology*, 44(22), 8515-8521. <http://dx.doi.org/10.1021/es101952f>.
- Marín, S., Pardo, O., Sánchez, A., Sanchis, Y., Vélez, D., Devesa, V., Font, G., Yusá, V., (2018). Assessment of metal levels in foodstuffs from the Region of Valencia (Spain). *Toxicology Reports* 5 (2018) 654-670.
- Matos-Reyes, M.N., Cervera, M.L. Campos, R.C., de la Guardia, M., (2010). Total content of As, Sb, Se, Te and Bi in Spanish vegetables, cereals and pulses and



- estimation of the contribution of these foods to the Mediterranean daily intake of trace elements. *Food Chemistry* 122 (2010) 188-194
- 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: 229-234.
  - Meharg, A.A., Kumarathilaka, P., Seneweera, S., Bundschuh, J., (2019) Arsenic in cooked rice foods: Assessing health risks and mitigation options. *Environment International* 127 (2019) 584-591.
  - Munera-Picazo, S., Ramírez Gandolfo, A., Burló, F., Carbonell-Barrachina, A., (2014) Inorganic and total arsenic contents in rice-based foods for children with celiac disease. *Journal of Food Science Vol 79. Nr.1, 2014.*
  - Lafuente Hernández, L., (2017) Optimización de un procedimiento de digestión en muestras ambientales con horno microondas y su aplicación a la separación radioquímica del PO-210. *Trabajo final de grado, Universidad Politécnica de Valencia.*
  - Ramírez, A. (2002). Toxicología del cadmio. Conceptos actuales para evaluar exposición ambiental u ocupacional con indicadores biológicos. In *Anales de la Facultad de Medicina* (Vol. 63, No. 1, pp. 51-64).
  - Randa Althobiti, A., Nausheen Sadiq, W., Beauchemin, D. (2018). Realistic risk assessment of arsenic in rice. *Food Chemistry*, 257(2018) 230-236.
  - Reglamento (CE) 1881/2006 de la Comisión de 19 de diciembre de 2006. Disponible en :[https://eur-lex.europa.eu/legalcontent/ESALL/?uri=CEL\\_EX%3A32006R1881](https://eur-lex.europa.eu/legalcontent/ESALL/?uri=CEL_EX%3A32006R1881)
  - Reglamento 2015/1006 de la Comisión Europea disponible en: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/PDF/?uri=CELEX:32015R1006&from=ES>
  - Sabath, E., Ludivina Robles-Osorio, M., (2012) Medio ambiente y riñón: nefrotoxicidad por metales pesados. *Revista de Nefrología. Órgano oficial de la sociedad española de nefrología*, 2012; 32(3):279-86.
  - Segura, F.R., Oliveira Souza, J., Silva de Paula, E., Cunha Martins, A., Cavalheiro Paulelli, A., Barbosa, F., Lemos Batista, B., (2016) Arsenic speciation in Brazilian rice grains organically and traditionally cultivated: Is there any difference in arsenic content?. *Food Research International* 89-2016 169-176.

- Sengupta, M. K., Hossain, M. A., Mukherjee, A., Ahamed, S., Das, B., Nayak, B.Chakraborti, D. (2006). Arsenic burden of cooked rice: Traditional and modern methods. *Food and Chemical Toxicology*, 44, 1823–1829
- Signes-Pastor, A.J., Carey,M., Carbonell Barrachina, A., Moreno Jiménez, E., Green Andy,J., Meharg Andrew, A.,(2016). Geographical variation in inorganic arsenic in paddy field samples and commercial rice from the Iberian Peninsula. *Food Chemistry* 202(2016) 356-363.
- Signes-Pastor, A.J., Al-Rmalli Shaban, W., Jenkins Richard., Carbonell Barrachina, A., Haris Parvez, I. (2012) Arsenic bioaccessibility in cooked rice as affected by arsenic in cooking water. *Journal of Food Science Vol. 77-2012*.
- Smedley, P.L.; Kinniburgh, D.G. (2002). A review of the source, behaviour and distribution of arsenic in natural waters. *Applied Geochemistry*. Vol. 17, 517-568.