



CENTRO INTERNACIONAL DE ESTUDOS
DE DOUTORAMENTO E AVANZADOS
DA USC (CIEDUS)

TESIS DE DOCTORADO

**BIOACCESIBILIDAD DEL
ARSÉNICO Y METALES
PESADOS EN ARROZALES DE
ECUADOR Y RIESGO PARA LA
SALUD HUMANA**

Oliva Atiaga Franco

ESCUELA DE DOCTORADO INTERNACIONAL
PROGRAMA DE DOCTORADO EN MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES

SANTIAGO DE COMPOSTELA

2019



DECLARACIÓN DEL AUTOR DE LA TESIS

Bioaccesibilidad del arsénico y metales pesados en arrozales de Ecuador y riesgo para la salud humana

Dña. Oliva Atiaga Franco

Presento mi tesis, siguiendo el procedimiento adecuado al Reglamento, y declaro que:

- 1) *La tesis abarca los resultados de la elaboración de mi trabajo.*
- 2) *En su caso, en la tesis se hace referencia a las colaboraciones que tuvo este trabajo.*
- 3) *La tesis es la versión definitiva presentada para su defensa y coincide con la versión enviada en formato electrónico.*
- 4) *Confirmando que la tesis no incurre en ningún tipo de plagio de otros autores ni de trabajos presentados por mí para la obtención de otros títulos.*

En Santiago de Compostela, 26 de noviembre de 2019.

Oliva Atiaga Franco



AUTORIZACIÓN DEL DIRECTOR DE LA TESIS

Bioaccesibilidad del arsénico y metales pesados en arrozales de Ecuador y riesgo para la salud humana

D. Xosé Luis Otero Pérez

INFORMA:

*Que la presente tesis, corresponde con el trabajo realizado por D/Dña. **Oliva Atiaga Franco**, bajo mi dirección, y autorizo su presentación, considerando que reúne los requisitos exigidos en el Reglamento de Estudios de Doctorado de la USC, y que como director de ésta no incurre en las causas de abstención establecidas en Ley 40/2015.*

En Santiago de Compostela, 26 de noviembre de 2019

Xosé Luis Otero



AGRADECIMIENTOS

A mi tutor Xosé Luis Otero por haberme brindado la oportunidad, orientación y ayuda incondicional en la realización de mi tesis.

A mi esposo, a mi hija y a mi querido nieto por estar acompañándome en todo momento y ser mi soporte.

A la Universidad de las Fuerzas Armadas-ESPE por haberme concedido una beca de estudios y hacer posible la realización de mis estudios de doctorado.

Al personal del laboratorio de Edafología, en especial a María Santiso por su ayuda en la realización de los análisis químicos.

Al Dr. Luis Nunes de la Universidad del Algarve de Portugal por su apoyo en la realización de los análisis estadísticos.

En especial, un homenaje póstumo, a mis adorados padres que siempre me impulsaron a alcanzar mis metas y que estarían muy orgullosos de este logro.



Esta tesis está relacionada con los siguientes trabajos:

Artículos publicados o en revisión

Otero, X. L., Tierra, W., Atiaga, O., Guanoluisa, D., Nunes, L. M., Ferreira, T. O., Ruales, J., 2016. Arsenic in rice agrosystems (water, soil and rice plants) in Guayas and Los Ríos provinces, Ecuador. *Science of The Total Environment*. 573, 778-787.

Atiaga, O., Otero, X.L., Gallego, A., Escobar, L., Bravo, J., Carrera, D., 2020. Analysis of total arsenic content in purchased rice from Ecuador, *Czech Journal of Food Sciences*. 37, 0-7.

Otero, X. L., Atiaga, O., Estrella R., Tierra W., Ruales J., Zayas L., Souza, V., Ferreira, T., Nuto, G., Oliveira, D., Queiroz, H., Nunes, L., Nunes, M. Arsenic in rice plants from Latin America (Ecuador, Brazil, and Peru) and the Iberian Peninsula (Spain and Portugal) in relation to geochemical processes. *Environmental Geochemistry and Health (EGAH)*. Aceptado.

Atiaga, O., Nunes, L., Otero, X. L. Effect of cooking on arsenic concentration in rice. *Environmental Science and Pollution*. Aceptado.

Artículos en elaboración

Atiaga, O., Nunes, L., Otero, X.L., Ruales, J., Estrella R., Yépez K. Distribución de arsénico y metales pesados en suelos y plantas de cultivos de arroz de Ecuador.

Congresos y conferencias

Atiaga, O., Gallego, A., Escobar, L., Bravo, J., Fernández, P., 2016. Determination of total arsenic in rice from Ecuador: A first assessment. *Toxicology Letters* 259, S137. Conference abstract. XIV International Congress of Toxicology. México. Lérída.

Atiaga, O., Otero, X.L., Ruales, J., Tierra, W., Jiménez L.C. Z., Ferreira, T.O. As total y especies de As en arroz comercial en Ecuador y otros países de Latinoamérica y de la península Ibérica. Comunicación oral. Congreso: XIV Encontro Galego Português de Química. PUBLICACIÓN: Libro de resúmenes (ISBN: 978-989-8124-24-1). Oporto (Portugal). 21-23 de noviembre de 2018.

Atiaga, O., Otero, X.L., Tierra, W., Ruales, J., Estrella, R. Metales pesados en arroz y suelos de Ecuador. Comunicación Oral. Congreso: XXIII Encontro Galego Português de Química. PUBLICACIÓN: Libro de resúmenes (ISBN: 978-84-697-7356-7). Ferrol (España). 15-17 de noviembre de 2017.

Atiaga, O., Otero, X.L., Tierra, W., Ruales, J., Estrella, R. Arsénico y especies de As en cultivo de arroz de Ecuador y otros países. Conferencia Magistral. Congreso de Ciencia y Tecnología. Quito-Ecuador. 25-29 de junio de 2018.

Atiaga, O., Otero, X.L., Estrella, R., Metales pesados en cultivos de arroz y su relación con propiedades del suelo y evaluación del riesgo en la salud humana. Conferencia Magistral. Congreso de Ciencia y Tecnología. Quito-Ecuador. 26-30 de junio de 2017.

ÍNDICE

RESUMEN	1
SUMMARY	3
1. INTRODUCCIÓN GENERAL.....	5
1.1 ANTECEDENTES	7
1.2 OBJETIVOS.....	9
1.2.1 Generales	9
1.2.2 Específicos	9
1.3 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	10
2. PROCESOS GEOQUÍMICOS EN LOS SUELOS DE CULTIVO DE ARROZ	13
2.1 CARACTERÍSTICAS DE LOS SUELOS DE CULTIVOS DE ARROZ	15
2.1.1 Potencial Redox y pH.	15
2.1.2 La materia orgánica en los suelos de cultivo de arroz	18
2.2 GEOQUIMICA DEL ARSÉNICO EN CULTIVOS DE ARROZ.....	19
2.2.1 Formas químicas del As	19
2.2.2 Influencia del pH y del Eh en la movilidad del As	20
2.2.3 Mecanismos de movilización del As	22
2.3 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	24
3. VARIACIÓN GEOGRÁFICA DEL CONTENIDO DE ARSÉNICO EN LA PLANTA DE ARROZ. ESTUDIO A NIVEL LOCAL, CONTINENTAL E INTERCONTINENTAL	29
RESUMEN	31
3.1 INTRODUCCIÓN.....	32

3.2 MATERIAL Y MÉTODOS.....	35
3.2.1 Muestreo	35
3.2.2 Análisis	39
3.2.3 Análisis estadístico	42
3.3 RESULTADOS.....	42
3.3.1 Características generales de los suelos de arroz.....	42
3.3.2 Arsénico total en suelos (As total).....	46
3.3.3 Contenido total de As (tAs) en grano de arroz	47
3.3.4 Formas de As en el grano de arroz comercial.....	47
3.3.5 Concentración de As en planta de arroz (tallos y hojas) en Ecuador	52
3.4 DISCUSIÓN.....	55
3.4.1 Variación espacial de la concentración de arsénico en grano de arroz.....	55
3.4.2 Arsénico en planta de arroz en relación a las condiciones ambientales del agrosistema.....	59
3.5 CONCLUSIONES.....	67
3.6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	68
4. EFECTO DE LA COCCIÓN SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE ARSÉNICO EN EL ARROZ	77
RESUMEN.....	79
4.4 INTRODUCCIÓN.....	80
4.5 MATERIAL Y MÉTODOS.....	81
4.5.1 Tratamiento del grano de arroz.....	81
4.5.2 Determinación de concentración de As en grano de arroz.....	83
4.5.3 Metodología para el cálculo del riesgo estimado de Cáncer (CR).....	84
4.5.4 Análisis estadístico.....	84

4.6 RESULTADOS	85
4.6.1 Efecto del lavado y/o cocción sobre el contenido de As total	85
4.6.2 Efecto del lavado y/o cocción sobre el contenido de formas de As.....	88
4.6.3 Ingesta diaria estimada (EDI) y Riesgo estimado de cáncer (CR).....	95
4.7 DISCUSIÓN	95
4.7.1 Arsénico en el arroz cocido	95
4.7.2 Riesgo estimado de Cáncer (CR)	96
4.8 CONCLUSIONES	97
4.9 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	97
5. DISTRIBUCIÓN DE ARSÉNICO Y METALES PESADOS EN SUELOS Y PLANTAS DE CULTIVOS DE ARROZ DE ECUADOR....	103
RESUMEN	105
5.1 INTRODUCCIÓN	106
5.2 MATERIAL Y MÉTODOS	108
5.2.1 Toma de muestras y preparación.....	108
5.2.2 Características físico químicas y textura de suelo.....	110
5.2.3 Contenido total de As y de metales pesados en el suelo ..	110
5.2.4 Biodisponibilidad de metales en suelos.....	110
5.2.5 Extracción secuencial de As y metales pesados.....	111
5.2.6 Contenido total de As y metales pesados en planta y grano de arroz.....	112
5.2.7 Evaluación del riesgo por exposición al As y metales pesados en arroz comercial de Ecuador	113
5.2.8 Análisis estadístico.....	113
5.3 RESULTADOS	114

5.3.1 Caracterización general de los suelos	114
5.3.2 Arsénico y metales pesados en suelos de arroz: Contenido total, biodisponibilidad y fraccionamiento geoquímico.	114
5.3.3 Contenido total de arsénico y metales pesados en grano de arroz.....	124
5.3.4 Elementos tóxicos en hoja y tallo de la planta de arroz en Ecuador	132
5.3.5 Riesgo a exposición por metales pesados.....	136
5.4 DISCUSIÓN.....	135
5.4.1 Calidad de los suelos agrícolas	135
5.4.2 Metales en granos de arroz.....	139
5.4.3 Riesgo para la salud	139
5.5 CONCLUSIONES.....	140
5.6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	141
ANEXOS	147
ANEXO 1 (CAPÍTULO 3).....	149
ANEXO 2 (CAPÍTULO 4).....	156
ANEXO 3 (CAPÍTULO 5).....	157

RESUMEN

Esta tesis doctoral analiza la variabilidad espacial del contenido total de arsénico y metales pesados en arrozales ubicados en Ecuador, otros países de Latinoamérica (Brasil y Perú) y en la península Ibérica. Se analizaron muestras de arroz comercial, así como grano de arroz obtenido directamente en los cultivos de arroz, planta de arroz (tallos, hojas, cáscara y fitolitos), residuos generados durante el procesamiento del grano de arroz y suelos de las zonas de cultivo.

En las muestras de suelo se llevó a cabo una caracterización general de sus propiedades y se determinó el contenido total, la fracción biodisponible y fraccionamiento geoquímico del arsénico y metales pesados.

En las muestras de arroz se analizó el contenido de metales tóxicos y As. Adicionalmente para el As se determinó las formas químicas de arsénico: orgánicas (ácido dimetil arsínico, DMA, ácido monometil arsónico, MMA y arsenobetaina, AsB) e inorgánicas (As (V), As (III)).

También se investigó el efecto del lavado y la cocción sobre el contenido de arsénico total y sus formas orgánicas e inorgánicas en arroces de Ecuador y España, para lo cual se aplicaron cinco diferentes tipos de tratamiento. Los resultados mostraron que el lavado y cocción del arroz con exceso de agua o simplemente el lavado con agua son dos métodos eficientes para reducir significativamente la ingesta de arsénico en la población.

En Ecuador, la concentración media de tAs en el arroz integral comercial ($0.221 \pm 0.014 \text{ mg kg}^{-1}$) fue mayor que la concentración del arroz precocinado ($0.156 \pm 0.021 \text{ mg kg}^{-1}$), mientras que la concentración en el arroz pulido ($0.130 \pm 0.034 \text{ mg kg}^{-1}$) fue más baja que los otros arroces comerciales, éstas diferencias se atribuyen a los procesos a los que se somete el grano de arroz para su obtención.

La concentración de tAs en el arroz comercial de Ecuador y de los países Latinoamericanos fueron similares entre ellos y significativamente más bajas que los arroces comerciales de los países de la península Ibérica. Sin embargo, la concentración de iAs fue similar entre las dos áreas geográficas, siendo la concentración de

DMA la forma responsable entre el contenido total de As en la península Ibérica y el arroz de Latinoamérica.

Las concentraciones promedios de metales pesados en arroz comercial de Ecuador fueron: Zn(17.84 mg kg^{-1}) > Cu(3.63 mg kg^{-1}) > Cr(1.75 mg kg^{-1}) > Ni (0.654 mg kg^{-1}) > As (0.109 mg kg^{-1}) > Pb (0.069 mg kg^{-1}) > Cd (0.041 mg kg^{-1}) > Hg (0.004 mg kg^{-1}), estas concentraciones fueron similares a los contenidos de arroces de Ecuador recogidos directamente en el campo, excepto para el Pb, Zn y Ni. Además, el contenido de As y Cd en arroz de campo de la provincia de El Oro fue significativamente más elevado que de las otras provincias (Guayas y Los Ríos).

Por otro lado, el contenido de As, Cd, Hg y Cu en muestras de arroz comercial presentaron también diferencias significativas entre países, específicamente, las concentraciones de Cd y Cu en Ecuador fueron más elevadas que en los países de la península Ibérica.

Finalmente, las concentraciones medias de As y metales pesados en grano de arroz comercial y de grano de campo de Ecuador y de los otros países, no sobrepasan los valores umbral establecidos por las regulaciones actuales de la Unión Europea y otras regulaciones, exceptuando pocas muestras de Brasil (Cr y Pb) y tAs en muestras de España, no obstante, la concentración de iAs en los arroces de Latinoamérica y de la península Ibérica se ubican dentro de valores aceptables para el consumo humano.

Además, los valores del cociente de peligrosidad (TQH_i) para iAs y metales pesados, así como el valor del riesgo de cáncer determinado para el iAs indican que no hay riesgo para la salud humana.

SUMMARY

This doctoral thesis analyzes spatial variability in total arsenic and heavy metals content in rice paddies located in Ecuador, other countries from Latin America (Brazil and Peru) and in the Iberian Peninsula. Commercial rice samples were analyzed, as well as grain obtained directly from rice crops, rice plant (stem, leaves, husk and phytoliths), residues generated during rice grain processing and paddy soils of the rice crop areas.

In soil samples, a general characterization of its properties was carried out and the samples were analyzed to determine total content, bioavailable fraction and geochemical fraction of arsenic and heavy metals.

In rice samples, contents of heavy metals and arsenic were determined. In addition, the partitioning of arsenic was performed to determine organic arsenic (dimethylarsinic acid, DMA; monomethylarsonic acid, MMA, and arsenobetaine, AsB) and inorganic arsenic forms (As (V), As (III)).

This study is also focused on the investigation of the effect of rinsing and boiling on total content of As (tAs) and of its chemical forms in rice from Spain and Ecuador. For this, rice was subjected to five different treatments. The results showed that the rinsing and boiling rice in excess water or simply rinsing rice grains with As-free water are two efficient methods to significantly reduce As intake in the population.

Mean tAs concentration in brown rice from Ecuador ($0.221 \pm 0.014 \text{ mg kg}^{-1}$) was higher than in parboiled rice ($0.156 \pm 0.021 \text{ mg kg}^{-1}$), while the concentration in polished rice ($0.130 \pm 0.034 \text{ mg kg}^{-1}$) was lower than other commercial rice, these differences are attributed to rice grain processing.

Concentrations of tAs in commercial rice from Ecuador and Latin American countries were similar to each other and significantly lower than commercial rice from Iberian countries. However, iAs concentration was similar in both geographical regions, being DMA concentration responsible among total arsenic content in the rice of the Iberian Peninsula and Latin America.

In commercial rice from Ecuador, values of heavy metals concentrations were: Zn (17.84 mg kg^{-1}) > Cu (3.63 mg kg^{-1}) > Cr (1.75 mg kg^{-1}) > Ni (0.654 mg kg^{-1}) > As (0.109 mg kg^{-1}) > Pb (0.069 mg kg^{-1}) > Cd (0.041 mg kg^{-1}) > Hg (0.004 mg kg^{-1}), these concentrations were similar to the contents in rice from Ecuador collected directly in the field, except for Pb, Zn y Ni that were higher. In addition, the content of As and Cd in field rice from El Oro province was significantly higher than in the other provinces (Guayas and Los Ríos).

On the other hand, As, Cd, Hg and Cu content in commercial rice samples also showed significant differences between countries, specifically, Cd and Cu concentrations were higher than in the Iberian Peninsula countries.

Finally, arsenic and heavy metals concentrations in commercial rice grain and field rice grain from Ecuador and other countries not exceed the threshold values established by the current EU regulations and other regulations, with the exception of a few samples from Brazil (Cr and Pb) and Spain (As), however, iAs concentrations both in rice from Latin America and from the Iberian Peninsula are within the acceptable range for human consumption. Furthermore, the target hazard quotient values to iAs and heavy metals, as well as the cancer risk value determined for the iAs indicate that there is no risk to human health.

1. INTRODUCCIÓN GENERAL





1.1 ANTECEDENTES

El arroz (*Oryza sativa*) es el principal alimento para más del 50% de la población mundial (Kögel-Knabner et al., 2010), al tiempo que es una fuente importante de calorías y proteínas para el ser humano (Cheajesadagul et al., 2013). Así, en países del Sudeste asiático el consumo medio de arroz puede llegar a superar los 500 g/persona/día (Meharg y Zhao, 2012). El continente Latinoamericano es la segunda región en importancia después de Asia, con un consumo medio de 80 g/persona/día. Ecuador es uno de los países con mayor consumo de arroz en Sudamérica con un consumo per cápita de 123 g/día (FAOSTAT, 2018).

Por otra parte, el creciente deterioro de la calidad de los agrosistemas, como consecuencia de la contaminación de suelos y aguas con elementos como arsénico (As) y otros metales como cadmio (Cd), cromo (Cr), cobre (Cu), mercurio (Hg), plomo (Pb), selenio (Se) se ha incrementado rápidamente debido a la industrialización y urbanización (Kwon, 2017). Además, las plantas que crecen en suelos contaminados contienen niveles elevados de As y metales pesados (Kwon, 2017). Estos elementos traza incorporados a través de la dieta acaban acumulándose en diferentes tejidos como el hígado, los músculos y los huesos, y poniendo en peligro a medio y largo plazo su salud (Naseri et al., 2015). Algunos estudios indican cantidades excesivas de metales pesados como el cadmio, cromo y plomo y arsénico en el arroz en diferentes países p. ej., China, Korea, USA, Francia, Italia, España, Brasil (Zhang et al., 2018, Kwon et al., 2017, Raber et al., 2012, Signes-Pastor et al., 2016, Batista et al., 2011) que en algunos casos ha derivado en un dramático impacto negativo sobre la salud y calidad de vida de la población. Por ejemplo, en Japón la contaminación de los campos de arroz con Cd generó decenas de muertos debido a una enfermedad degenerativa del sistema óseo denominada itai-itai (Inaba et al., 2005). Asimismo, en Bangladesh, país afectado por la ingesta de altas concentraciones de As en el agua potable y arroz, se estima que del orden de 35 y 77 millones de personas están en riesgo de intoxicación por arsénico (Rahman et al., 2018).

El arsénico presente en la mayoría de los suelos agrícolas es fundamentalmente de origen geogénico (Smedley y Kinniburgh, 2002).

En Latinoamérica, el arsénico del suelo procede de la alteración de cenizas y rocas volcánicas, principalmente de composición intermedia a riolítica (Bundschuh et al., 2012 a,b). En Ecuador, la presencia de elevadas concentraciones de As está asociada a zonas con intensa actividad hidrotermal en regiones volcánicas (De la Torre et al., Cumbal et al., 2010, Bundschuh et al., 2012a) y puntualmente en áreas con actividad minera (Appleton et al., 2001).

Los metales pesados son tomados por las plantas a través de los tejidos corticales de las raíces, debido a su similitud con algunos micronutrientes esenciales (como zinc) (Sarwar et al., 2017). Específicamente para el arsénico, hay dos principales mecanismos relacionados con la toma de arsénico por las raíces de la planta de arroz: la primera ruta a través de los transportadores de fosfato, ya que los arseniatos son análogos a los fosfatos, la segunda ruta es a través de los canales de las acuaporinas, a través de las cuales son tomados los arsenitos (análogo al ácido silícico) (Syu et al., 2015).

La contaminación de los campos de cultivo y su transferencia al arroz cosechado puede también producirse a través de un uso inadecuado de fertilizantes y pesticidas que contienen arsénico, cadmio, plomo y otros metales pesados (Naseri et al., 2015). Varios estudios indican que el arroz que se cultiva en suelos contaminados tienen mayores concentraciones de elementos tóxicos, que el cultivado en suelos no contaminados (Azizur et al., 2014), sin embargo la transferencia del suelo a la planta y del tallo al grano es un proceso que no está totalmente claro. La absorción de metales pesados en las plantas de arroz se ve favorecida, respecto a otros cultivos, por una serie de factores que incluyen las propiedades del suelo, el cultivo en régimen de inundación, la especiación química, y se reconoce universalmente que el fósforo juega un papel decisivo (Jiang et al., 2014).

En la mayor parte de países y, especialmente en el Ecuador, apenas se han llevado a cabo estudios sobre la calidad de los agrosistemas productores de arroz y de la presencia de elementos tóxicos en el grano de arroz, los estudios principalmente se enfocan en la presencia de estos elementos en aguas destinadas al consumo humano, por lo cual, siendo el arroz un alimento básico en la dieta de los ecuatorianos se debe garantizar la seguridad en el consumo de este alimento (ver por ejemplo

Bundschuh et al., 2012 a,b,c). En este sentido la presente Tesis Doctoral pretende dar respuesta a las siguientes preguntas: ¿Cuál es el grado de contaminación de suelos de los agrosistemas productores de arroz en el Ecuador?, ¿Cuál es la concentración de As y metales tóxicos en el grano de arroz?, ¿Existe alguna relación entre la concentración de As y metales tóxicos en el suelo y en la planta? y ¿Es el arsénico presente en el grano de arroz un riesgo para la salud de los Ecuatorianos?

Adicionalmente, también se pretende establecer en que medida las condiciones ambientales, especialmente el suelo, favorecen o intervienen en la biodisponibilidad de As. Para ello se ha realizado un estudio a diferentes escalas: Local (Ecuador), continental (Sudamérica) y Global (península Ibérica versus Sudamérica).

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Generales

- Determinar la concentración de arsénico y metales pesados en suelo y planta de arroz en las principales provincias arroceras del Ecuador.
- Identificar las variables edafogeoquímicas implicadas con la bioaccesibilidad del As y metales pesados.
- Determinar la concentración de As y metales pesados en diferentes clases de arroz comercial de consumo en el Ecuador y relacionar las concentraciones encontradas con variables ambientales (pH, potencial redox, etc.) y los contenidos de hierro existentes en los suelos de la cuenca y evaluar el riesgo en la salud humana en la zona de estudio.
- Realizar un estudio comparativo entre los contenidos de As y especies de As, y metales pesados de arroz comercial de Ecuador con arroces comerciales de otros países como España, Brasil y Portugal

1.2.2 Específicos

- Establecer la calidad de los agrosistemas productores de arroz en Ecuador.

- Establecer el contenido de tAs y sus formas (inorgánicas y orgánicas) y metales tóxicos en la planta de arroz, incluyendo grano, hojas, tallos y residuos.
- Identificar las variables ambientales que pueden contribuir a la biodisponibilidad de As para la planta.
- Determinar la variabilidad espacial de As en el grano de arroz a diferentes escalas: nacional (Ecuador), continental (Sudamérica) y global (Sudamérica versus península Ibérica).
- Evaluar el riesgo por ingestión de arroz contaminado con As y otros metales en la salud humana de la población.

1.3 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Appleton, J.D.T.M., Williams, T.M., Orbea, H., Carrasco, M. 2001. Fluvial contamination associated with artisanal gold mining in the Ponce Enríquez, Portovelo-Zaruma and Nambija areas, Ecuador. *Water Air Soil Pollut*, 13, 19–39.

Azizur, M., Hasegawa. H., 2011. High levels of inorganic arsenic in rice in areas where arsenic- contaminated water is used for irrigated and cooking. *Science of the Total Environment*, 409, 4645-4655.

Batista, B.L., Souza, J.M.O., De Souza, S.S., Barbosa, F., 2011. Speciation of arsenic in rice and estimation of daily intake of different arsenic species by Brazilians through rice consumption. *Journal of Hazardous Materials*, 191, 342-348.

Bundschuh, J. et al. 2012a. Arsenic in Latin America, an unrevealed continent: Occurrence, health effects and mitigation. *Science Total Environment*, 429, 1

Bundschuh, J. et al. 2012b. 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.

Bundschuh, J. et al. 2012c. Arsenic in the food chain: the Latin America perspective. *Science of Total Environment*, 429, 92-106.

Cheajesadagul, P., Shiwatana, J., Siripinyanond, A. y Szpunar, J. 2013. *Rice Comprehensive, Analytical Chemistry*, 60, 623-655.

Cumbal L., Vallejo P., Rodríguez B., Lopez D. 2010. Arsenic in geothermal sources at the north-central Andean region of Ecuador:

Concentrations and mechanisms of mobility. *Environment Earth Science* 61, 299–310.

De la Torre E., Guevara A., Muñoz G., Criollo E. 2004. Estudio de aguas superficiales y sedimentos de la cuenca de los ríos Sucus, Tambo y Papallacta. Quito, Ecuador: Unpublished report for the Ecuadorian Congress.

FAOSTAT, 2018. Food and Agriculture Organization. Food Balance Sheets.

Inaba, T., Kobayashi, E., Suwazono, Y., Uetani, M., Oishi, M., Nakagawa, H., Nogawa, K. 2005. Estimation of cumulative cadmium intake causing Itai-itai disease. *Toxicology Letters*, 159, 193-201.

Kögel-Knabner, I., Amelung, W., Cao, Z., Fiedler, S., Frenzel, P., Jahn, R. et al. 2010. Biogeochemistry of paddy soils. *Geoderma*, 157, 1-14.

Kwon, J.C.; Nejad, Z.D.; Jung, M.C. 2017. Arsenic and heavy metals in paddy soil and polished rice contaminated by mining activities in Korea. *CATENA*, 148, 92-100.

Meharg, A.A & Zhao, F.J. 2012. *Arsenic y Rice*, Springer Netherlands.

Naseri M., Vazirzadeh A., Kazemi R., Zaheri F. 2015. Concentration of some heavy metals in rice types available in Shiraz market and human health risk assessment. *Food Chemistry*, 175, 243–248.

Raber, G., Stock, N., Hanel, P., Murko, M., Navratilova, J., Francesconi, K.A. 2012. An improved HPLC–ICPMS method for determining inorganic arsenic in food: Application to rice, wheat and tuna fish. *Food Chemistry*, 134, 524-532.

Rahman, M.A.; Rahman, I.M.M.; Hasegawa, H. 2019. Effects of cooking on dietary exposure to arsenic from rice and vegetables: human health risks☆. *Encyclopedia of Environmental Health (Second edition)*, 248-255.

Signes-Pastor, A.J., Carey, M., Carbonell-Barrachina, A.A., Moreno-Jiménez, E., Green, A.J., Meharg, A. 2016. Geographical variation in inorganic arsenic in paddy field samples and commercial rice from the Iberian Peninsula. *Food Chemistry*, 202, 356-363

Smedley, P.L., Kinniburgh, D.G. 2002. A review of the source, behaviour and distribution of arsenic in natural waters. *Applied Geochemistry*, 17, 517–568.

Zhang, Ji, Li, H., Zhou, Y., Dou, L., Mo, L., You, J. 2018. Bioavailability and soil-to-crop transfer of heavy metals in farmland soils: A case study in the Pearl River Delta, South China. *Environmental Pollution*, 235, 710-719.



2. PROCESOS GEOQUÍMICOS EN LOS SUELOS DE CULTIVO DE ARROZ





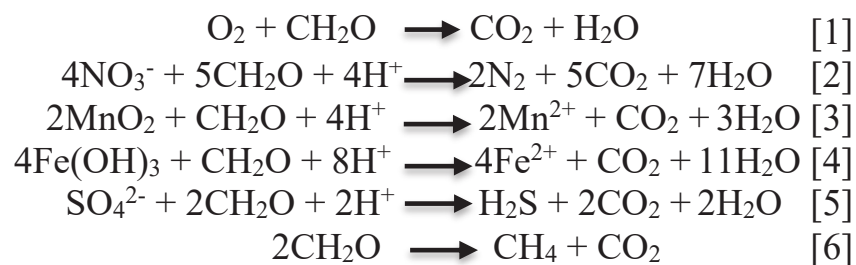
2.1 CARACTERÍSTICAS DE LOS SUELOS DE CULTIVOS DE ARROZ

El cultivo de arroz se realiza comúnmente en condiciones de inundación, lo que influye en los procesos biogeoquímicos y en las propiedades del suelo. Durante el cultivo de arroz las condiciones de inundación prevalecen durante casi todo el período de cultivo, sin embargo, los suelos inundados deben drenarse una o dos semanas antes de la cosecha para permitir una maduración más rápida del arroz y una cosecha más fácil (Kögel-Knabner et al., 2010). Estos períodos de inundación y drenajes sucesivos conducen a una alternancia de los procesos redox que pueden afectar considerablemente las propiedades del suelo (por ejemplo: acidez, color) y composición del suelo (por ejemplo: mineralogía) (Pan et al., 2014).

2.1.1 Potencial Redox y pH.

Las características y propiedades de los suelos inundados se encuentran fuertemente influenciadas por los procesos de reducción y oxidación (redox) que tienen lugar como resultado del agotamiento de oxígeno del suelo una vez inundado. El agua de inundación es poca profunda, sin embargo el transporte de oxígeno al suelo subyacente es demasiado lento, por lo que únicamente una capa delgada es aeróbica, presentando habitualmente elevadas concentraciones altas de Mn^{2+} , Fe^{2+} y de productos orgánicos resultado de la respiración anaeróbica (Kirk, 2004).

La reducción en un suelo inundado procede aproximadamente de acuerdo a la siguiente secuencia (Kirk, 2004):



Una vez inundado el suelo el oxígeno se agota en un período corto de tiempo (~ 1 día) (Kögel-Knabner et al., 2010, Kirk, 2004, Ponnampereuma, 1972), por lo que la oxidación de la materia orgánica se lleva a cabo usando como oxidantes otras especies y minerales presentes en el suelo, según el orden: nitratos (NO_3^-), óxidos de manganeso y óxidos/hidróxidos de hierro, sulfatos y metanogénesis (Meharg y Zhao, 2012, Ponnampereuma, 1972, Sahrawat, 2015). La Fig. 2.1 muestra las reacciones de reducción indicadas y las semi reacciones de reducción de elementos traza, como el cobre, selenio, uranio y arsénico (Meharg y Zhao, 2012).

Sin embargo, en ausencia de oxígeno generalmente el Fe (III) es el principal oxidante en el suelo. Su concentración supera las concentraciones de NO_3^- , Mn (IV) o SO_4^{2-} por al menos en un orden de magnitud, siendo reducido a Fe^{2+} (Kirk, 2004). Muchas de las reacciones en suelos son catalizadas por microorganismos apropiados, sin ellos las reacciones redox son pueden ser muy lentas (Kirk, 2004).

El cultivo de arroz en régimen de inundación le confiere a los suelos condiciones reductoras, mientras que cuando son drenados las condiciones se vuelven oxidantes. Por ello, los valores de Eh muestran un amplio rango de variación (-300 +700 mV) (Yu et al., 2016, Li et al., 1992). El valor mínimo de Eh puede estar acompañado por la liberación de gas H_2 , debido a reacciones de respiración anaeróbica de las bacterias del suelo (Kirk, 2004). Durante la respiración anaeróbica la materia orgánica es oxidada y los componentes del suelo son reducidos (Ponnampereuma, 1972) y simultáneamente, los iones H^+ son consumidos en las reacciones de reducción y esto explica porque el pH en suelos ácidos tiende a incrementarse hasta cerca de la neutralidad después de la inundación (Kirk, 2004). Por otro lado, el CO_2 producido por la respiración de los microorganismos se libera muy lentamente, por lo que el CO_2 se acumula bajando el pH de los suelos alcalinos (Kirk, 2004). Por lo tanto, luego de la inundación el pH tiende a estar entre 6.5 y 7 (Meharg y Zhao, 2012).

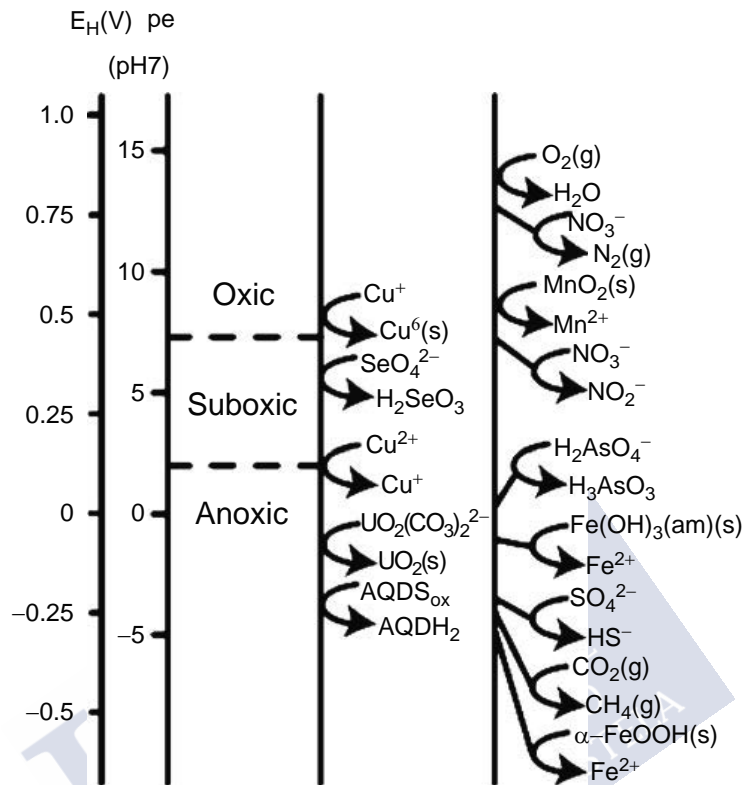


Figura. 2.1 Principales reacciones redox en ambientes de suelos inundados (Meharg y Zhao, 2012).

Las condiciones redox pueden influenciar también en la solubilidad y biodisponibilidad de los elementos, por ejemplo la reducción de óxidos e hidróxidos de Fe puede liberar elementos traza adsorbidos u ocluidos en los oxihidróxidos de Fe/Mn.

Se ha observado en suelos inundados que la biodisponibilidad de fosfatos y arseniatos puede incrementarse para la planta de arroz a causa de los procesos de reducción (Kirk, 2004, Meharg y Zhao, 2012). En contraste, la biodisponibilidad de algunos elementos traza puede decrecer después de la inundación debido a la formación de carbonatos o sulfuros (ejem. $ZnCO_3$, CdS) (Meharg y Zhao, 2012).

Además, el pH y el potencial redox pueden afectar en gran medida a los procesos de adsorción, especialmente a aquellos en los que intervienen los oxihidróxidos de Fe. Otros metales también se ven afectados por las condiciones redox, el Cr^{6+}

(anión) es muy móvil y tóxico, mientras que el Cr^{3+} es relativamente insoluble y se adsorbe fuertemente sobre las superficies, además de ser menos tóxico (Calvo de Anta R., 1997, Pais y Jones, 1997).

Después del drenaje y laboreo, sin embargo, los suelos pueden revertir sus condiciones reducidas y volverse óxicos (Kögel-Knabner et al., 2010). La presencia de sulfuros metálicos (principalmente piritita, FeS_2) puede conducir a una fuerte acidificación, degradación del suelo y contaminación de las aguas, se disuelven y hay cambio de pH a sus valores iniciales (Ponnamperuma, 1972).

2.1.2 La materia orgánica en los suelos de cultivo de arroz

Los suelos de cultivo de arroz se caracterizan por entradas altas de carbono a través de abonos y el residuo de la propia planta. La tasa de descomposición de la materia orgánica del suelo es más baja en condiciones anaeróbicas que en condiciones aeróbicas, lo que conduce a una acumulación de materia orgánica (Kögel-Knabner et al., 2010). La acumulación de materia orgánica se debe a la falta de oxígeno y de aceptores de electrones, especialmente Fe^{3+} y SO_4^{2-} (Li Z. y Li D., 2003).

Los procesos de reducción ocurren en paralelo con la oxidación de materia orgánica, por lo que la materia orgánica se liberará comitentemente en la solución del suelo después de la inundación (Pan et al., 2014). La materia orgánica del suelo es uno de los principales adsorbentes que controla la concentración de metales pesados entre la fase sólida y la de solución del suelo, por lo que determina las especies y la biodisponibilidad de éstos en la matriz del suelo (Shi et al., 2018, Gustafsson et al., 2003).

Es complejo cuantificar la contribución de la materia orgánica en la biodisponibilidad y toxicidad de los metales pesados debido a que es una mezcla compleja de componentes no definidos (Shi et al., 2017). Sin embargo, debido a que la materia orgánica tiene una elevada afinidad y área superficial, numerosos sitios reactivos y de enlace para metales (Seguin et al., 2004, Wu et al., 2004), está relacionada con la adsorción, redistribución y biodisponibilidad en suelos de elementos como As, Cu, Zn, Cd y Pb (Mladenov et al., 2015, Paikaray et al., 2005, Shi et al., 2018).

2.2 GEOQUIMICA DEL ARSÉNICO EN CULTIVOS DE ARROZ

La bioacumulación del As en la planta de arroz, la biodisponibilidad y fitotoxicidad de As depende de muchos factores incluyendo la fuente y la concentración del elemento, la naturaleza de las especies de arsénico, las propiedades del suelo tales como el contenido de arcilla, pH y condiciones de equilibrio redox (Naidu et al., 2006). Los procesos de adsorción-desorción y los procesos en los que intervienen microorganismos son también factores predominantes que controlan la biodisponibilidad de arsénico (Naidu et al., 2006).

2.2.1 Formas químicas del As

El arsénico (Fig. 2.2) se presenta principalmente en dos formas químicas: inorgánicas (arsenito (As (III)), y arseniato (As (IV)) y orgánicas (ácido monometil arsónico (MMA) y ácido dimetil arsínico (DMA) (Yamaguchi et al., 2011, Honma et al., 2016, Jia et al., 2012).

Además de estas formas orgánicas, pueden estar en bajas concentraciones otras especies orgánicas como la arsenobetaina (AsB), arsenocolina (AsC), entre otras (Suriyagoda et al., 2018).

Generalmente, el As (V) se presenta como H_2AsO_3^- o HAsO_4^{2-} y el As (III) está presente como H_3AsO_3 a pH neutro (Seyfferth y Fendorf, 2012). Los arseniatos son análogos a los fosfatos por lo que son tomados por las raíces de la planta de arroz a través de las proteínas transportadoras de fosfato (OsPHT1;8(OsPT8)) (Wang et al., 2016), mientras que los arsenitos son análogos al ácido silícico, accediendo a la planta de arroz a través de las proteínas de membrana Aquaporin LSi1(OsNIP2;1) (Ma et al., 2008, Seyfferth y Fendorf, 2012, Li et al., 2009), esto puede deberse a la similitud de tamaño y constante de disociación (Ma et al., 2008) para ambos compuestos ($\text{Si}(\text{OH})_4$ y As (III)).

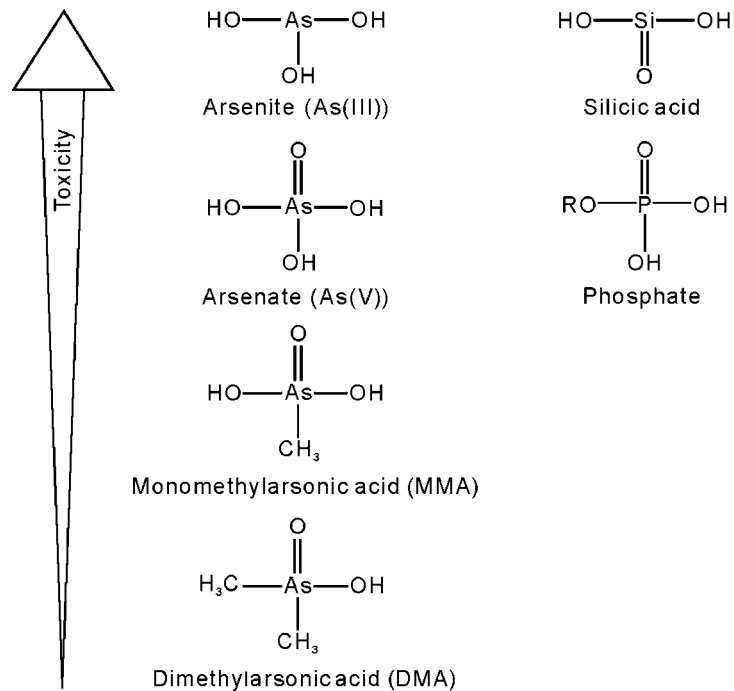


Figura 2.2 Estructura química de las principales formas de arsénico en suelos y gradiente de toxicidad, en relación con la estructura de la molécula del fosfato y ácido silícico. En el fosfato $\text{R} = \text{H}^+$, Na^+ o K^+ (Suriyagoda et al., 2018).

2.2.2 Influencia del pH y del Eh en la movilidad del As

La Fig. 2.3 muestra los principales procesos de transformación de especies de arsénico en suelos, los cuales influyen en la biodisponibilidad de este elemento para las plantas. El As (V) es generalmente más estable que el As (III) a Eh más altos entre 100 y 300mV a pH 8 y 4, respectivamente (Inskeep et al., 2002). En los suelos bajo condiciones aeróbicas, el As es menos móvil a causa de que el As (V) es fuertemente adsorbido por la mayoría de minerales, incluyendo oxihidróxidos de Fe y Al y aluminosilicatos, bajo pH 8.5.

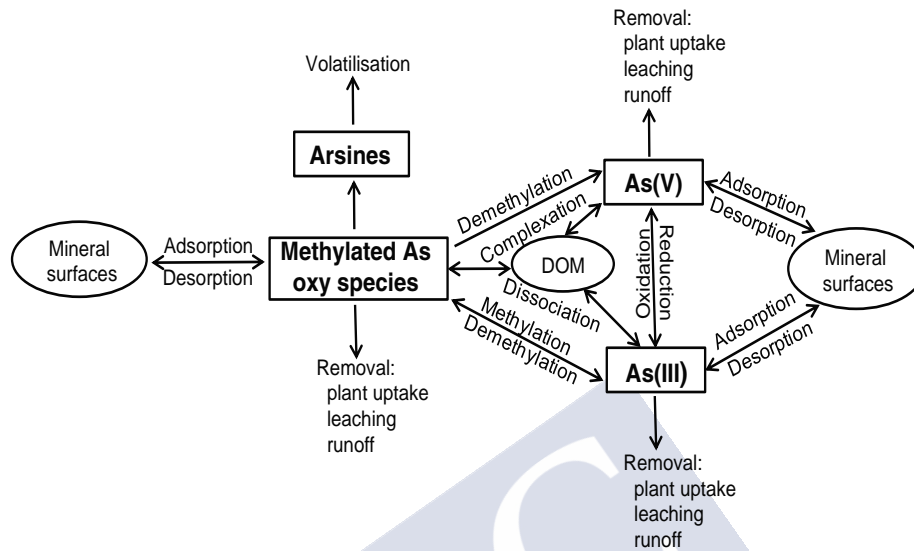


Figura 2.3 Procesos de transformación del arsénico en suelos (Tomado de Meharg y Zhao, 2012).

En contraste, el As es muy móvil bajo condiciones anaeróbicas, ya que el arseniato se reduce a arsenito (As (III)) en condiciones de inundación (Xu et al., 2008, Arao et al., 2009). La capacidad de adsorción del hidróxido de aluminio es menor para As (III) que para As (V), por lo que el As (III) puede ser liberado con mayor facilidad. A diferencia de los oxihidróxidos de Fe la capacidad de adsorción es mayor para As (III) que para As(V) a $\text{pH} > 6$. A causa de la selectiva adsorción de As (III) por oxihidróxidos de Fe, el arsénico es asociado con la fase mineral del Fe, en suelos bajo condiciones anaeróbicas. A pesar de la adsorción alta del As (III) en los oxihidróxidos de Fe, comparado con la de As (V), la razón de desorción para el As (III) es mayor que para el As (V) (Herbel y Fendorf, 2006), debido a que el complejo de As (III) incluye un complejo de esfera externa y múltiples complejos de esfera interna, mientras que el As (V) forma únicamente un complejo de esfera interna (Fendorf et al., 1997, Sherman y Randall, 2003).

Los efectos del pH y del Eh sobre la movilidad y especiación del As se pueden observar en la Fig. 2.4. La solubilidad del arsenito se incrementa rápidamente cuando el Eh baja (< 200

mV), mientras que la solubilidad del arseniato decrece concomitantemente. En el rango de -200 a +100 mV, el arsenito representa el 87-98% del As total. La solubilidad del arseniato es generalmente baja, excepto a valores altos de pH y Eh. Una vez que se desarrollan condiciones anóxicas la especie predominante es el arsenito (Meharg y Zhao, 2012).

2. 2.3 Mecanismos de movilización del As

Bajo condiciones anaeróbicas el oxígeno liberado de las raíces de la planta de arroz induce a la formación de depósitos de hierro y manganeso sobre la superficie de las raíces (Zhang et al., 1999). Esta placa principalmente de hierro está constituida por una mezcla de oxihidróxidos de Fe amorfos y cristalinos como

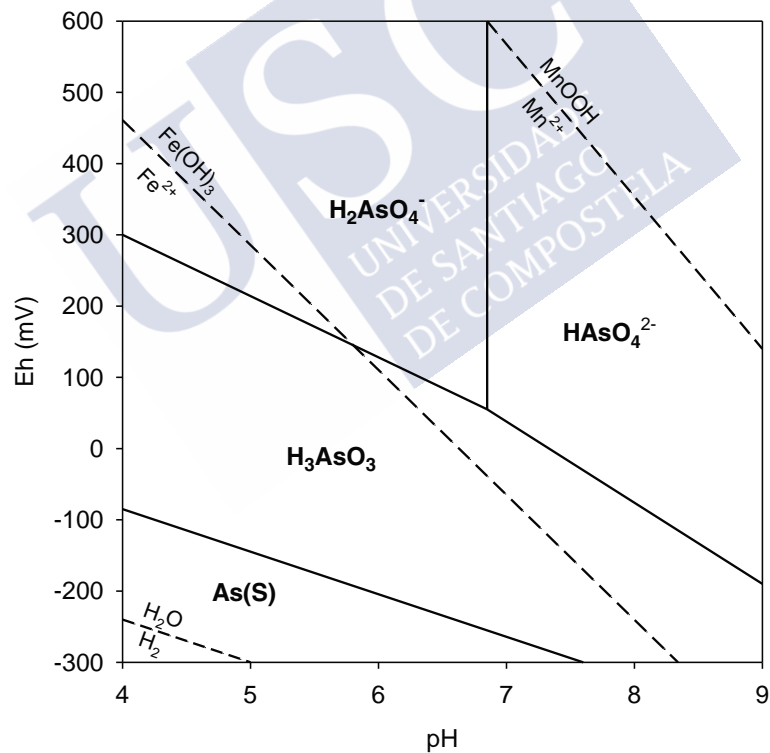
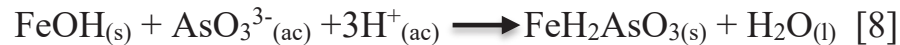
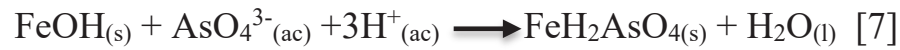


Figura 2.4 Diagrama Eh-pH para el sistema As-H₂O en relación a la estabilidad de los óxidos e hidróxidos de Fe y Mn (Meharg y Zhao, 2012).

la ferrihidrita ($\text{Fe}_3\text{HO}_8 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), lepidocrocita (γ - FeOOH), hematita (α - Fe_2O_3) y goethita (α - FeOOH) (Zhuang et al., 2015).

Esta placa tiene un significativo efecto sobre la adsorción de As (III) y As(V) (Liu et al., 2004):



Los oxihidróxidos de Fe con el desarrollo de condiciones anaeróbicas sufren una disolución reductora debido a la actividad de las bacterias reductoras de Fe, las mismas que son ubicuas en suelos (Das et al., 2016). El arsénico adsorbido en los óxidos-hidróxidos de Fe se libera concomitantemente a la solución debido a la pérdida de la fase de adsorción (Kumarathilaka et al., 2019, Yamaguchi et al., 2011, Meharg y Zhao, 2012). Se considera que este proceso es el mecanismo predominante que causa altas concentraciones de arsénico en las aguas subterráneas del sur de Asia (Nickson et al., 2000). Una situación análoga sucede con el fosfato, la diferencia radica en que el fosfato no experimenta transformaciones redox en el suelo, mientras que el arseniato pueden ser reducido a arsenito o incluso transformado a especies metiladas (Meharg y Zhao, 2012). Por otro lado, el tipo y propiedades (grado de cristalinidad) de los oxihidróxidos de Fe tienen una fuerte influencia sobre la disolución reductiva y la movilización del arsénico. Por ejemplo, la ferrihidrita ($\text{Fe}(\text{OH})_3$) es de baja cristalinidad y con una elevada superficie específica ($100\text{-}700 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$) por lo que se reduce más fácilmente que otros oxihidróxidos de Fe cristalinos (goethita, hematita). Sin embargo, su disolución puede conducir a la formación de minerales secundarios de Fe, como la magnetita Fe_3O_4 (Yamaguchi et al., 2011, Meharg y Zhao, 2012), los cuales adsorben el arsénico inicialmente liberado, proporcionando un nuevo sitio de sorción para el arsénico. La conversión de ferrihidrita a otras fases cristalinas de óxidos de Fe como la goethita (área superficial: $8\text{-}200 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$) y la hematita (área superficial: $2\text{-}115 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$) puede decrecer significativamente la capacidad de adsorción de As,

debido a la reducción de los sitios de adsorción (Kumarathilaka et al., 2018).

El otro mecanismo importante de movilización del arsénico es que puede ser reducido a arsenito, el cual no es adsorbido en la misma proporción que el arseniato y tiene una mayor tendencia de liberarse en la fase de solución del suelo (Yamaguchi et al., 2011).

Finalmente, la materia orgánica puede ser adsorbida sobre los oxihidróxidos de Fe (FeOOH) y limitar la adsorción de As (III) y As (V) (Mladenov et al., 2015), en contraste a la elevada afinidad de la materia orgánica por el As (Paikaray, 2005) que puede limitar su movilidad.

2.3 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Arao, T., Kawasaki, A., Baba, K., Mori, S., Matsumoto, S. 2009. Effects of water management on cadmium and arsenic accumulation and dimethylarsinic acid concentrations in Japanese rice. *Environmental Science Technology*, 43, 9361–9367.

Calvo de Anta R., 1997. El conocimiento del suelo como principio básico de la gestión de suelos contaminados. *Revista de la Sociedad Española de Ciencia del Suelo*. Volumen 3-0. 50 Aniversario, 211.

Das, S., Chou, M., Jean, J., Liu, C., Yang, H. 2016. Water management impacts on arsenic behavior and rhizosphere bacterial communities and activities in a rice agro-ecosystem. *Science of the Total Environment*, 542, 642-652.

Herbel, M., Fendorf, S. 2006. Biogeochemical processes controlling the speciation and transport of arsenic within iron coated sands. *Chemical Geology*. 228, 16–32.

Fendorf, S., Eick, M.J., Grossl, P., Sparks, D.L. 1997. Arsenate and chromate retention mechanisms on goethite. 1. Surface structure. *Environmental Science. Technology*, 31, 315–320.

Gustafsson, J. P.; Pechova, P., Berggren, D. 2003. Modeling metal binding to soils: the role of natural organic matter. *Environmental Science Technology*, 37, 2767–2774.

Honma, T., Ohba, H., Kaneko-Kadokura, A., Makino, T., Nakamura, K., Katou, H. 2016. Optimal soil Eh, pH, and water

management for simultaneously minimizing arsenic and cadmium concentrations in rice grains. *Environmental Science Technology*, 50, 4178–4185.

Inskeep, W.P., McDermott, T.R., Fendorf, S. 2002. Arsenic (V)/(III) cycling in soils and natural waters: chemical and microbiological processes. In: Frankenberger, W.T. (Ed.), *Environmental Chemistry of Arsenic*. Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 183–215.

Jia, Y., Huang, H., Sun, G.-X., Zhao, F.-J., Zhu, Y.-G. 2012. Pathways and relative contributions to arsenic volatilization from rice plants and paddy soil. *Environmental Science Technology*, 46, 8090–8096.

Kirk G. 2004. *The biogeochemistry of submerged soils*. Wiley, Chichester

Kögel-Knabner, I., Amelung, W., Cao, Z., Fiedler, S. Frenzel, P., Jahn, R., Kalbitz, K., Kölbl, A., Schloter, M., 2010. Biogeochemistry of paddy soils. *Geoderma*, 157, 1-14.

Kumarathilaka, P., Seneweera, S., Ok, Y.S., Meharg, A.A., Bundschuh, J., 2019. Mitigation of arsenic accumulation in rice: An agronomical, physico-chemical, and biological approach – A critical review. *Crit. Rev. Environmental Science Technology*, 1-41.

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.

Li, Q.-K., 1992d. Redox potential of paddy soils. In: Chen, P.-L., Fan, S.-Q., Wang, H.-J. (Eds.), *Paddy soils of China*. Science Press, Beijing, 208–223.

Li, Z., Velde, B., Li, D. 2003. Loss of K-bearing clay minerals in flood-irrigation, rice- growing soils in Jiangxi Province, China. *Clay. Clay. Miner*, 51, 75–82.

Liu, W., Zhu, Y., Smith, F., & Smith, S. 2004. Do iron plaque and genotypes affect arsenate uptake and translocation by rice seedlings (*Oryza sativa* L.) grown in solution culture?. *Journal of Experimental Botany*, 55(403), 1707–1713.

Li, R.Y., Ago, Y., Liu, W.J., Mitani, N., Feldmann, J., McGrath, S.P., Ma, J.F., Zhao, F.J. 2009. The rice aquaporin

Ls1l mediates uptake of methylated arsenic species. *Plant Physiology*, 150, 2071-2080.

Pais, I., Jones Jr., J.B. 1997. *The Handbook of Trace Elements*. St. Lucie Press, Boca Raton, Florida

Parr, J.F., Sullivan, L.A. 2005. Soil carbon sequestration in phytoliths. *Soil Biology Biochemistry*, 37, 117–124

Ma, J. F., Yamaji, N., Mitani, N., Xu, X.-Y., Su, Y.-H., McGrath, S. P., y Zhao, F.-J. 2008. Transporters of arsenite in rice and their role in arsenic accumulation in rice grain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(29), 9931–9935.

Meharg, A.A, Zhao, F.J. 2012. *Arsenic and Rice*. Springer Netherlands.

Naidu, R., Smith, E., Owens, G., Bhattacharya, P. 2006. *Managing Arsenic in the Environment: From Soil to Human Health*. CSIRO publish.

Mladenov, N., Zheng, Y., Simone, B., Bilinski, T.M., McKnight, D.M., Nemerut, D., Radloff, K.A., Rahman, M.M., Ahmed, K.M. 2015. Dissolved organic matter quality in a shallow aquifer of Bangladesh: implications for arsenic mobility. *Environmental Science Technology*, 49, 10815-10824.

Nickson, R.T., McArthur, J.M., Ravenscroft, P., Burgess, W.G., Ahmed, K.M. 2000. Mechanism of arsenic release to groundwater, Bangladesh and West Bengal. *Appl. Geochem.* 15, 403–413.

Paikaray, S., Banerjee, S., Mukherji, S. 2005. Sorption of arsenic onto Vindhyan shales: role of pyrite and organic carbon. *Curr. Sci.* 1580-1585.

Ponnamperuma, F.N. 1972. The chemistry of submerged soils. *Adv. Agron.* 24, 29–96. 1981. Some Aspects of the Physical Chemistry of Paddy Soils. In: *Proceedings of Symposium on Paddy Soils*. Springer, Berlin, Heidelberg.

Pan, Y., Koopmans, G.F., Bonten, L.T.C., Song, J., Luo, Y., Temminghoff, E.J.M., Comans, R.N.J., 2014. Influence of pH on the redox chemistry of metal (hydr)oxides and organic matter in paddy soils. *Journal of Soils and Sediments* 14, 1713-1726.

Sahrawat, K.L. 2015. Redox potential and pH as major drivers of fertility in submerged rice soils: a conceptual

framework for management. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 46, 1597–1606.

Seguin, V., Gagnon, C., Courchesne, F. 2004. Changes in water extractable metals, pH and organic carbon concentrations at the soil-root interface of forested soils. *Plant Soil*, 260, 1-17.

Seyfferth, A.L., Fendorf, S. 2012. Silicate mineral impacts on the uptake and storage of arsenic and plant nutrients in rice (*Oryza sativa L.*). *Environ. Sci. Technol.* 46, 13176-13183.

Sherman, D.M., Randall, S.R. 2003. Surface complexation of arsenic (V) to iron (III) (hydr)oxides: structural mechanism from ab initio molecular geometries and EXAFS spectroscopy. *Geochim. Cosmochim. Acta* 67, 4223–4230

Shi, Z., Peltier, E., Sparks, D.L. 2012. Kinetics of Ni Sorption in Soils: Roles of Soil Organic Matter and Ni Precipitation. *Environmental Science Technology*, 46, 2212-2219.

Shi, W., Jin, Z., Hu, S., Fang, X., Li, F. 2017. Dissolved organic matter affects the bioaccumulation of copper and lead in *Chlorella pyrenoidosa*: A case of long-term exposure. *Chemosphere*, 174, 447-455.

Shi, J., Wu, Q., Zheng, C., Yang, J. 2018. The interaction between particulate organic matter and copper, zinc in paddy soil. *Environmental Pollution*, 243, 1394-1402.

Suriyagoda, L.D.B., Dittert, K., Lambers, H. 2018. Arsenic in Rice Soils and Potential Agronomic Mitigation Strategies to Reduce Arsenic Bioavailability: A Review. *Pedosphere*, 28, 363-382.

Wang, P., Zhang, W., Mao, C., Xu, G., Zhao, F.-J. 2016. The role of OsPT8 in arsenate uptake and varietal difference in arsenate tolerance in rice. *Journal of Experimental Botany*, 67(21), 6051–6059.

Wu, F.C., Mills, R.B., Evans, R.D., Dillon, P.J. 2004. Kinetics of metal-fulvic acid complexation using a stopped-flow technique and three-dimensional excitation emission fluorescence spectrophotometer. *Analytical Chemistry*, 76, 110-113.

Xu, X.Y., McGrath, S.P., Meharg, A.A., Zhao, F.J. 2008. Growing rice aerobically markedly decreases arsenic

accumulation. *Environmental Science Technology*, 42, 5574–5579.

Yamaguchi, N., Nakamura, T., Dong, D., Takahashi, Y., Amachi, S., y Makino, T. 2011. Arsenic release from flooded paddy soils is influenced by speciation, Eh, pH, and iron dissolution. *Chemosphere*, 83, 925-932.

Yu, H., Li, F., Liu, C., Huang, W., Liu, T., Yu, W. 2016. Iron Redox Cycling Coupled to Transformation and Immobilization of Heavy Metals: Implications for Paddy Rice Safety in the Red Soil of South China. Capítulo 5, *Advances in Agronomy*, 137, 279-317.

Zhang, X., Zhang, F y Mao, D. 1999. Effect of iron plaque outside roots on nutrient uptake by rice (*Oriza sativa*L.): Phosphorus uptake. *Plant and soil*, 209, 187-192.

Zhuang, L., Xu, J., Tang, J., & Zhou, S. 2015. Effect of ferrihydrite biomineralization on methanogenesis in an anaerobic incubation from paddy soil. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences*, 120(5), 876–886.

**3. VARIACIÓN GEOGRÁFICA DEL
CONTENIDO DE ARSÉNICO EN LA
PLANTA DE ARROZ. ESTUDIO A NIVEL
LOCAL, CONTINENTAL E
INTERCONTINENTAL**





RESUMEN

La información disponible sobre el contenido de arsénico en el arroz de Latinoamérica y de la península Ibérica es todavía escasa. En este trabajo se estudió la variabilidad espacial en el contenido total de arsénico y sus formas orgánicas (ácido dimetil arsínico, DMA, ácido monometil arsónico, MMA y arsenobetaína, AsB) e inorgánicas (As (V), As (III)) en diferentes tipos de arroces (comercial, grano de arroz de planta, integral, precocinado), residuos y en la planta de arroz (cáscara, tallo y hojas) de países de Latinoamérica (Ecuador, Brasil y Perú) y de la península Ibérica (España y Portugal). En Ecuador se realizó un muestreo intensivo en tres provincias de la Costa y del Oriente. Se recolectaron muestras de suelo y de planta de arroz (grano, hoja, tallo) y otros residuos generados durante el procesamiento del grano de arroz. En Brasil también se recolectaron muestras de suelos de cultivos de arroz.

La concentración de tAs en el arroz comercial de los países Latinoamericanos fueron similares entre ellos y significativamente más bajas que los arroces comerciales de los países de la península Ibérica. Sin embargo, la concentración de iAs fue similar entre las dos áreas geográficas, siendo la concentración de DMA la forma responsable de las diferencias significativas entre ambas áreas (península Ibérica: $0.072 \pm 0.030 \text{ mg kg}^{-1}$; Latinoamérica: $0.041 \pm 0.022 \text{ mg kg}^{-1}$). Para los arroces de Latinoamérica el orden de abundancia de las formas de As fue As (III) > DMA ~ As (V) > MMA >> AsB, mientras que en la península Ibérica fue DMA la forma dominante. Sin embargo, combinando los resultados obtenidos en este trabajo con los de otros trabajos previos, se ha observado que el orden de abundancia de las formas de As cambia sustancialmente según aumenta el contenido tAs en el grano de Arroz. Para valores bajos de tAs ($tAs \sim 0.300 \text{ mg kg}^{-1}$) las formas inorgánicas son las formas dominantes, mientras que para valores superiores el oAs incrementa sustancialmente, pasando el DMA a ser la forma dominante en el grano de arroz. No obstante, la concentración de iAs en los arroces de Latinoamérica y de la península Ibérica se ubica dentro de valores aceptables para el consumo humano.

Por otra parte, los resultados muestran que suelos con una elevada concentración de óxidos e hidróxidos amorfos de Fe y Al en el

suelo, capaces de adsorber fuertemente oxianiones (como arseniatos) conducen a concentraciones significativamente más bajas de As en la planta de arroz. Adicionalmente, las altas concentraciones de As (V) en tallos y hojas, y bajas concentraciones de As en fitolitos en relación al arsénico asociado con la materia orgánica en tallos y cáscara sugiere que la planta de arroz toma el arsénico como arseniato (As (V)) más que arsenito (As (III)), consistentemente con las condiciones óxicas encontradas en suelos de cultivos de arroz.

3.1 INTRODUCCIÓN

El consumo medio de arroz en Latinoamérica fue en 2013 de 80g/persona/día (FAOSTAT, 2018); sin embargo, países como Perú o Ecuador superan sustancialmente esta cifra. Perú con un consumo per cápita de 134 g/día y Ecuador con 123 g/día son dos de los países de Latinoamérica con mayor consumo de arroz, mientras que en Brasil es ligeramente inferior (88 g/día) (FAOSTAT, 2018). La producción de este alimento también adquiere una cierta relevancia en la economía del sector agrícola de estos países. Así, Brasil con una producción anual de 10.6 millones ton/año es el productor de arroz no asiático más importante del mundo (FAOSTAT, 2018). La producción en Ecuador alcanza los 1.5 millones ton/año en el año 2016, concentrándose más del 90% en las provincias costeras de El Oro, Guayas y Los Ríos (INIAP, 2007). Perú es el segundo país productor de arroz de la región con una producción para el año 2016 de 3.2 millones ton/año.

En Europa, la mayor producción de arroz con cerca del 40% corresponde a Italia, mientras que la producción de España (865,812 ton/año) representa alrededor del 20% y Portugal (169,289 ton/año) representa el 4% (FAOSTAT, 2018). El consumo de arroz en los países Europeos es netamente menor que en Latinoamérica, siendo Portugal el país con mayor consumo con aproximadamente 40,7 g/persona/día, mientras que en España el consumo medio es sustancialmente inferior (22.8 g/persona/día) (FAOSTAT, 2018).

Por otra parte se ha puesto de manifiesto que el As se acumula eficientemente en el grano en comparación con otros cereales, siendo en países del Sur y Suroeste asiático la segunda fuente en magnitud de ingesta (ver por ej. Meharg y Zhao, 2012). La concentración del As

presente en el arroz varia según un amplio número de parámetros, como son la variedad de la planta (variación genética), localización (variación geográfica), manejo de cultivo y condiciones ambientales como son propiedades y composición de agua y suelos, periodo de cosecha, etc. (Kahn et al., 2010; Norton, 2012; Suriyadoga et al., 2018).

El As presente en la mayoría de los suelos agrícola es fundamentalmente de origen geogénico (Smedley y Kinniburgh, 2002), aunque el cultivo continuado y el uso de fitosanitarios puede incrementar sustancialmente su contenido y el de otros elementos traza (Alloway 2013). En Latinoamérica, el As presente en los suelos procede de la alteración de cenizas y rocas volcánicas, principalmente de composición intermedia a riolítica (Bundschuh et al., 2012a, 2012b). En Ecuador la presencia concentraciones anormalmente elevadas de As está asociada a zonas con intensa actividad hidrotermal de zonas volcánicas (Bundschuh et al., 2012a; Cumbal et al., 2010, De La Torre et al., 2004) y puntualmente en áreas con actividad minera (Appleton et al., 2001).

El conocimiento sobre el contenido de As y su comportamiento geoquímico en suelos de producción de arroz es todavía escaso para la mayoría de los países de Latinoamérica y de la península Ibérica. Así, no se conocen datos para los suelos de cultivo de arroz de Perú, en Brasil se han obtenido valores medios menores de 10 mg kg^{-1} (Segura et al., 2018), mientras que para Portugal fueron menores a 15 mg kg^{-1} y en España oscilaron entre $4.2\text{-}11 \text{ mg kg}^{-1}$ (Signes-Pastor et al., 2016).

El cultivo de arroz mayoritariamente se lleva a cabo por inundación, de manera que los suelos suelen presentar condiciones redox anóxicas-subóxicas (Eh 100-300 mV; Otero et al., 2016). Bajo condiciones anaerobias la biodisponibilidad de As es mayor que en condiciones óxicas, debido a la disolución reductiva de los oxihidróxidos de hierro, que acaban liberando al agua intersticial el As adsorbido o coprecipitado con los oxihidróxidos de Fe (Otero et al., 2016, Yu et al., 2017), incrementado su biodisponibilidad y acumulación en la planta de arroz (Fransisca et al., 2015; Islam et al., 2016; Yamaguchi et al., 2011). La concentración de As en el arroz es aproximadamente 10 veces superior a la de otros cereales y es

considerado, después del agua, la segunda vía de ingesta de As para el hombre (Rasheed et al., 2018; Williams et. al., 2007a, 2007b)

El As en la planta de arroz puede presentarse en diferentes formas, las cuales muestran una de toxicidad variable. Las especies mayoritarias en arroz son las formas inorgánicas (As (III) y As (V)) y ácido dimetilarsínico (DMA), siendo las formas inorgánicas las más tóxicas (Chen et al., 2016; Wang and Forsyth, 2012; Zhu et al., 2008).

Sin embargo, la información disponible sobre el contenido de As en cultivos de arroz es todavía escasa para la mayor parte de los países de Sudamérica. En Ecuador, recientemente se han publicado algunos trabajos en los que se analizaron el contenido de arsénico total (tAs), arsénico inorgánico (iAs) y arsénico orgánico (oAs) en la planta de arroz así como el contenido de As en agua de inundación en el suelo en las dos principales provincias productoras de arroz (Otero et al., 2016; Nunes y Otero, 2017). En Brasil, la información disponible se limita al contenido tAs y iAs (Dos Santos et al., 2017; Segura et al., 2016), únicamente Batista et al. (2011) y Pedrón et al., (2016) presentan resultados de especies orgánicas de As. En España los trabajos de Torres-Escribano et al. (2008) y Pizarro et al. (2003) determinan iAs y tAs, mientras que Signes-Pástor et al. (2016) determina especies orgánicas e inorgánicas. En Portugal, Pinto et al. (2016) cuantificó arsénico total en arroz blanco, integral y parbolizado, mientras Rego et al. (2018) determinó especies orgánicas e inorgánicas en arroz pulido e integral. Finalmente de Perú no hay información disponible.

En este sentido, el presente trabajo pretende contribuir a un mejor conocimiento sobre el contenido de As y sus formas en el arroz a nivel iberoamericano. Para ello se han seleccionado dos grandes regiones: Latinoamérica y la península Ibérica. Los objetivos planteados fueron: 1) evaluar la variabilidad espacial en el contenido total de As y de sus formas a diferentes escalas: local, continente e intercontinental 2) Investigar y comparar la distribución del tAs y sus formas (orgánicas e inorgánicas) en diferentes partes de la planta de arroz, incluyendo hojas, tallos, cáscara, grano y fitolitos. Para ello, se ha analizado un amplio número de muestras de grano de arroz comercial (integral, pulido) y obtenido directamente en el campo, así como de las diferentes partes de la planta de arroz (tallo, hoja, cáscara) de Ecuador, mientras que para

los demás países se han analizado únicamente arroces comerciales. En las muestras se analizó tAs, las formas inorgánicas (As (V), As (III)) y las formas orgánicas (ácido dimetil arsínico (DMA), ácido monometil arsónico (MMA) y arsenobetaina (AsB). Adicionalmente, también se ha realizado una caracterización fisicoquímica y mineralógica de los suelos de Ecuador y Brasil.

3.2 MATERIAL Y MÉTODOS

3.2.1 Muestreo

3.2.1.1 Muestreo de suelos

El muestreo de suelos se llevó a cabo únicamente en Ecuador y en Brasil. Se recolectaron 112 muestras compuestas de suelo de las capas superficiales (0-20 cm). Cada muestra simple fue obtenida por la mezcla de 5 sub-muestras (~500 g) tomadas de diferentes partes del sitio de cultivo. En el laboratorio cada sub-muestra fue secada a 45°C y pasada a través de un tamiz de 2mm.

En Ecuador se realizó un muestreo intensivo de suelos de las principales provincias arroceras del país (Fig 3.1) y que en su conjunto representan más del 95% de la producción total del Ecuador (INEC, 2013; Otero et al., 2016).

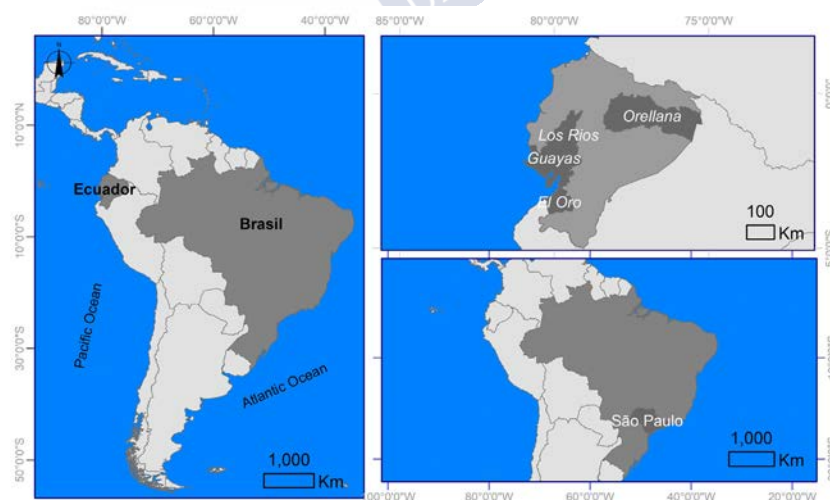


Figura 3.1 Localización de las zonas de muestreo en Ecuador y Brasil.

Un total de 94 muestras fueron recogidas en las provincias costeras de Ecuador: Guayas (63 muestras), Los Ríos (21 muestras), El Oro (10 muestras) y 8 muestras para la zona oriental de Ecuador, provincia de Orellana (Fig. 3.2).

Las tres primeras provincias están ubicadas en la zona costera en donde predomina un clima subtropical seco, con suelos desarrollados sobre sedimentos fluviales marinos (Otero et al., 2016), mientras que la provincia de Orellana está ubicada en la zona oriental del país y corresponde a un medio de clima tropical húmedo con suelos fuertemente intemperizados, fundamentalmente Oxisoles (Espinosa et al., 2018). En Brasil fueron recogidas 10 muestras compuestas de suelos en el valle de Rio Paraíba do Sul (municipio Tremembé), una de las principales zonas arroceras del estado de Sao Paulo. El clima de la zona de muestreo es subtropical y suelos desarrollados sobre sedimentos fluviales también fuertemente intemperizados, (Soil Taxonomy, 2010).

3.2.1.2 Muestreo de arroz comercial y campo

Las muestras de arroz comercial (57 muestras) se adquirieron en supermercados de todos los países evaluados (Ecuador, Brasil, Perú, Portugal y España) de diferentes tipos (pulido, integral y parbolizado o precocinado).

3.2.1.3 Muestreo de planta de arroz

En Ecuador se obtuvieron un total de 27 muestras de grano, 32 de tallo, 32 de hoja y 9 de otras partes o subproductos del arroz (cáscara, arrocillo, polvillo de arroz) según se señala en la Tabla 3.1. En las zonas arroceras de Ecuador se tomaron muestras de grano, planta de arroz (tallo y hoja) y también de diferentes residuos generados durante el procesamiento del grano de arroz como cáscara, arrocillo (arroz desechable que corresponde a trozos de arroz granos pequeños) y polvillo de arroz (residuo resultante del pulido de arroz).

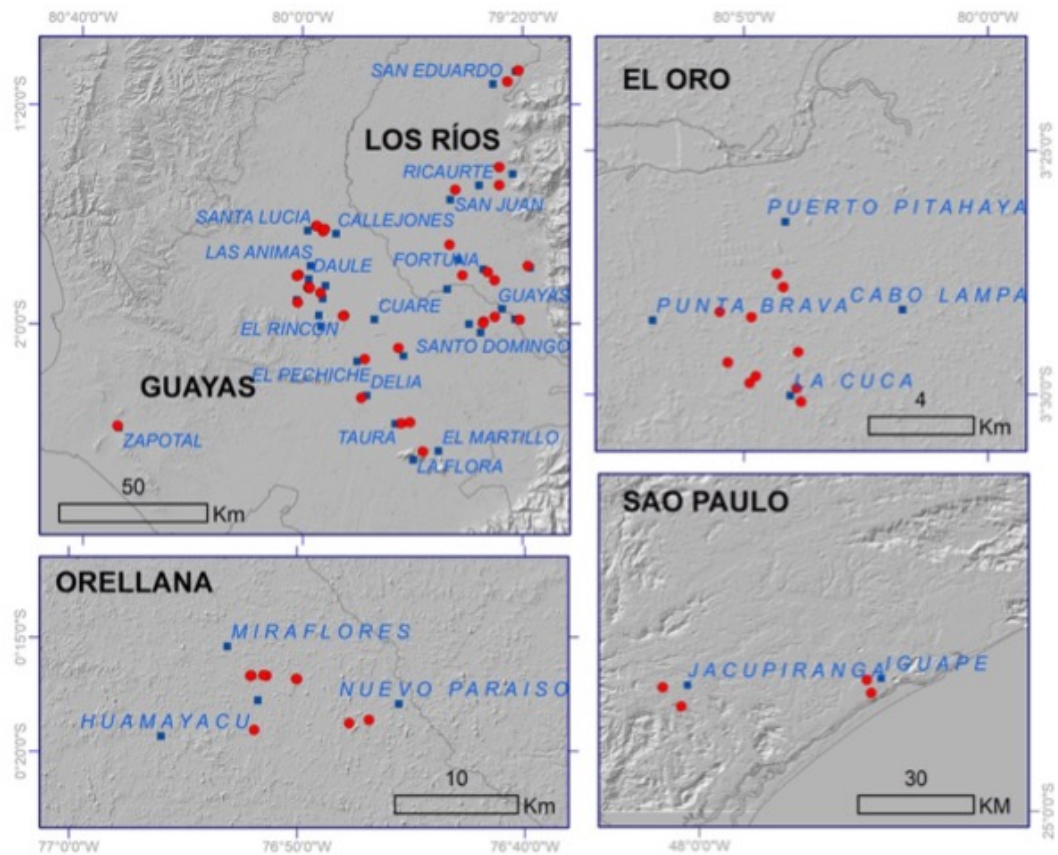


Figura 3.2 Localización de los puntos de muestreo en las provincias de Guayas, Los Ríos, El Oro y Orellana de Ecuador y Sao Paulo de Brasil.

Las muestras de grano de arroz y planta fueron obtenidas mezclando 5-8 plantas recogidas en un mismo punto de muestreo. En el laboratorio, estas muestras fueron lavadas de 3-5 veces con agua destilada. El grano de arroz descascarado (grano de campo) fue separado y las muestras de tallos, hojas y arroz descascarado se secaron a 45°C, para luego ser molidas y preservadas en fundas plásticas hasta ser analizadas. Las muestras de grano de arroz de campo solo pudieron muestrearse en las provincias costeras (El Oro, Guayas y Los Ríos), en la provincia de Orellana en el momento del muestreo las plantas no se habían desarrollado lo suficiente por lo que no se analizó grano de arroz de campo.

Tabla 3.1 Origen y tipo de muestras. * residuos de arroz rechazados para consumo humano.** Polvo de arroz residuales generados durante el proceso de pulido del arroz

Origen	Tipo de muestra	número
Ecuador	Grano de arroz comercial pulido	28
	Grano de arroz comercial integral	2
	Grano de arroz comercial parbolizado	3
	Grano de arroz de campo	27
	Tallo	32
	Hoja	32
	Productos de la producción de arroz: residuos* (2), polvo de arroz** (2), y cáscara de arroz (5)	9
Perú	Grano de arroz comercial pulido	3
Brasil	Grano de arroz comercial pulido	5
	Grano de arroz comercial parbolizado	2
	Grano de arroz comercial integral parbolizado	3
España	Grano de arroz comercial pulido	8
	Grano de arroz comercial parbolizado	1
Portugal	Grano de arroz comercial pulido	2

3.2.2 Análisis

3.2.2.1 Análisis de suelos

El pH, el potencial redox (Eh) y la conductividad eléctrica fueron determinados “in situ” con electrodos portátiles (HANNA Instruments INC, Woonsocket, RI, U.S.A.). Los valores de Eh fueron corregidos adicionando el potencial de un electrodo de referencia (+244 mV). El carbono orgánico total (TOC) se determinó en muestras de suelo previamente molidas, en un analizador Leco100 S – C 144DR (LECO Corporation, St. Joseph MI, EE.UU.). El tamaño de las partículas fue determinado usando el método de la pipeta (Gee y Bauder, 1986). El As biodisponible (AsMe) se extrajo mediante el método Mehlich 3 (Mehlich, 1984) y los óxidos e hidróxidos de Fe amorfo (Fe_{ox}) y Al (Al_{ox}) fueron extraídos con una disolución 0.2M de oxalato de amonio y una disolución 0.2M de ácido oxálico a pH 3 (Blakemore, 1978). La concentración total de arsénico (tAs) fue determinado mediante una digestión ácida de las muestras del suelo (9 ml de HNO_3 14.4 M: 3 ml de HCl 12 M, Merck, Darmstadt, Alemania) en un horno de microondas durante 25 minutos. Las concentraciones de tAs y AsMe se determinaron por ICP-OES (Perkin Elmer, Optima modelo 4300 DV, Sunnyvale, CA, EE. UU. A.A.). Para validar el método de extracción de tAs, se utilizaron estándares de suelo certificados (SRM 2709a, SMR2710a, SRM2711a de NIST, U.S.A.) y la tasa de recuperación de As fue > 90%.

El análisis mineralógico se realizó en la fracción de arcilla (<2 μm) por difracción de rayos X (DRX). El análisis de difracción de rayos X (DRX) se realizó en portaobjetos de vidrio para agregados orientados de la fracción de arcilla saturada con Mg^{2+} , y para monturas de polvo al azar de arcillas insaturadas, fracciones de limo y arena (finas y gruesas). Las muestras saturadas de Mg^{2+} se procesaron como agregados orientados (Mg) y también se solvataron en glicerol (Mg-Gli). Estas muestras también se analizaron después de calentar durante 3 horas a 550 °C y 700 °C (Mg-K550 y Mg-700) (Jackson, 1979).

Los patrones XRD se obtuvieron mediante un difractómetro Shimadzu XRD 6000 (Shimadzu Corporation, Tokio), utilizando radiación $Cu-K\alpha$, con un monocromador de grafito y aplicando 40 kV

y una corriente de 30 mA, con una velocidad de 1.0 °2θ min⁻¹ y un paso tamaño de 0.02 °2θ. Los análisis se realizaron en un rango de 2–40 °2θ para agregados orientados y un rango de 3–70 °2θ para polvo aleatorio.

3.2.2.2 Análisis de grano y planta de arroz

En las muestras de planta y arroz se determinó el contenido de tAs y de sus formas orgánicas: DMA, MMA y AsB e inorgánicas (As (III) y As (V)).

El tAs se determinó en 0.5-1.0 g de muestra vegetal que fueron digestadas con una mezcla de HNO₃ y H₂O₂ ultra-pura según Meharg y Rahman (2003): 5 mL de HNO₃ (65%), 1 mL de H₂O₂ 33% y 5 mL de agua Milli-Q (w/v), dejando en reposo durante una noche. Posteriormente, los tubos se colocaron en una placa de calentamiento (Perkin Elmer SPB 48-50) a una temperatura de 95°C durante 3 horas. El extracto fue filtrado por 0.45µm. El contenido de As total fue determinado con un ICP-MS (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, U.S.A).

La especiación de As en planta se realizó en 0.50 g de muestra, las cuales fueron atacadas con 10 mL de HNO₃ al 1% a 95°C por 90 minutos en un horno microondas (Milestone ETHOS-1) (Huang et al, 2010). Las muestras fueron centrifugadas a 10,000 rpm a 4°C por 15 minutos y el sobrenadante filtrado por 0.45µm y conservadas a -20°C hasta su análisis. La concentración de las formas inorgánicas de As en las diferentes fracciones de As inorgánico (As (III) y As (V)) y arsénico orgánico (AsB, DMA y MMA) fueron separadas y cuantificadas usando para ello un HPLC (Varian Prostar, Spectralab Scientific, Toronto, Canada) acoplado a un ICP-MS (Varian 820-MS).

En paralelo, se analizó el material de referencia certificado (MRC) harina de arroz 1568b del NIST USA. Los valores medios obtenidos para las diferentes especies de arsénico fue: iAs: 0.1089±0.038; DMA: 0.2187±0.0937 y 0.0178±0.0012 MMA (n=4) lo que representan un porcentaje de recuperación de 107%, 113% y 118% respectivamente. El límite de detección (LD) fue de 3.75 µg kg⁻¹ para las formas inorgánicas y 1.35-4.35 µg kg⁻¹ para las formas orgánicas (Otero et al., 2016). Para el tAs la media y el porcentaje de recuperación para MRC (n=4) fue de

0.349±0.102 y 123%, respectivamente.

3.2.2.3 Análisis de fitolitos en tallos y cáscara de arroz

Los tallos y las hojas del arroz de Ecuador se enjuagaron tres veces con agua ultrapura y se secaron al horno a 60°C hasta peso constante (~ 24 h). Las hojas y los tallos se separaron, descartando partes necrosadas o secas, y se molieron en un mortero de ágata.

Los fitolitos son cuerpos microscópicos de silicio presentes tanto dentro del espacio intercelular como dentro de la célula (Esteban et al., 2018, Piperno et al., 2006). El interés del estudio de los fitolitos reside en el hecho de que el ácido silícico y el arsenito tienen una estructura similar de manera que la vía de entrada de As (III) en las raíces puede ser la misma que la del silicio, actuando los fitolitos como un sumidero of As (Meharg y Zhao, 2012). Los fitolitos se extrajeron de acuerdo con Parr et al. (2001): se colocaron 10 g de muestra de plantas en cápsulas de porcelana y se calcinaron durante la noche a 600°C. Las cenizas restantes se trataron con 20 ml de H₂O₂ (30%, Merk) a 85°C durante 1 h para extraer As asociado con carbono orgánico; el residuo se trató luego con una disolución de oxalato de amonio 0.2 M y ácido oxálico 0.2 M durante 8 h en oscuridad para extraer el arsénico asociado con carbonatos, óxidos e hidróxidos. Finalmente, se extrajo el arsénico presente en los fitolitos con 10 ml de NaOH 0.2 M durante 168 horas a temperatura ambiente con agitación continua (Georgiadis et al., 2013). El sobrenadante de cada extracción se eliminó después de la centrifugación a 10,000 rpm a 4 ° C durante 15 min, y los residuos se lavaron tres veces con agua ultrapura, desechando el sobrenadante (Buján, 2013). La concentración de arsénico fue determinada por ICP-MS (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, EE. UU.). Además, la microscopía electrónica de barrido (SEM) y el análisis elemental (EDS, espectro de rayos X de dispersión de energía) de los fitolitos del tallo se llevaron a cabo utilizando un analizador LECO 435 VP. El microanálisis se realizó utilizando una micro sonda OXFORD (modelo ISIS 300) después de la calibración interna a 20 kV y con un tiempo de espera de 100 s.

3.2.3 Análisis estadístico

Se utilizó análisis de varianza con la prueba HSD post-hoc de Fisher para probar las diferencias entre medias, para un nivel de significación de $p < 0.05$. La prueba de Doornik-Hansen se usó para verificar la normalidad. Los parámetros que no mostraron una distribución normal se transformaron mediante una función logarítmicamente.

3.3 RESULTADOS

3.3.1 Características generales de los suelos de arroz

El pH de los suelos de los cultivos de arroz de Ecuador y Brasil se situó en valores neutros o ligeramente ácidos, (rango: 5.9-6.7, Tabla 3.2), como se observa usualmente en suelos saturados en los cuales los procesos de reducción consumen protones, con el pH siendo amortiguado por difusión de CO_2 (Vepraskas and Craft, 2016). Valores extremadamente ácidos ($\text{pH} = 3.6$) se observaron en algunas de las muestras de las provincias de la costa de Ecuador (provincias Guayas, Los Ríos y El Oro). Los valores de potencial redox indican condiciones predominantemente subóxicas (200-350 mV), exceptuando las muestras de Brasil que en su mayoría presentaron condiciones anóxicas ($\text{Eh} < 100\text{mV}$). El contenido de C orgánico (COT) fue bajo, $1.9 \pm 0.6\%$ para las provincias de la Costa y de $4.4 \pm 1.4\%$ para las muestras de la provincia de Orellana. La textura predominante para los suelos de las provincias de la zona costera de Ecuador y de Brasil fue la fracción arcilla (23-88% y 37-46%, respectivamente), mientras que para los suelos de Orellana la fracción dominante fue la fracción arena (46-89%).

La concentración de Fe total en los suelos de las provincias costeras de Ecuador fue superior (valor medio: $4.2 \pm 1.0\%$; Tabla 3.2) al de la provincia de Orellana ($2.7 \pm 0.7\%$). Sin embargo, la concentración de Fe/Al óxidos e hidróxidos amorfos o de baja cristalinidad (Fe_{Ox} , Al_{Ox}) de los suelos de la provincia de Orellana (Fe_{Ox} : $0.72 \pm 0.10\%$; Al_{Ox} : $1.30 \pm 0.34\%$) fue netamente superior a aquellas obtenidas para los suelos de las provincias costeras (Fe_{Ox} : $0.51 \pm 0.20\%$; Al_{Ox} : $0.19 \pm 0.12\%$, Tabla 3.2); de tal manera que en la provincia de Orellana la relación $\text{Al}_{\text{Ox}} + 1/2\text{Fe}_{\text{Ox}}$ fue superior a 2 para algunas de las muestras, valor

Tabla 3.2. Valores de propiedades de suelos (pH, Eh), composición (textura, Fe total, TFe, oxo-hidroxidos de Fe amorfos, Fe_{ox}), As total, y As biodisponible (As_{lib}).

Muestra	pH	Eh mV	TOC	Arcilla	Limo	Arena	TFe %	Fe _{ox}	AlOx	Total As	As _{lib}
Ecuador											
-Provincias de la Costa	6.4±0.6 (3.6-7.4)	226±93 (92-485)	1.9±0.6 (0.7-3.2)	49±16 (23-88)	24±13 (3-53)	28±20 (0.9-64)	4.2±1.0 (2.4-7.1)	0.51±0.20 (0.11-1.81)	0.19±0.12 (0.05-0.41)	4.86±3.2 (1.52-17.1)	0.130±0.092 (0.06-0.42)
n	53	55	61	23	23	23	83	36	7	94	80
-Provincia de Orellana	5.9±0.1 (5.8-6.0)	na	4.4±1.4 (2.1-6.1)	17±14 (6-37)	17±8 (6-25)	67±18 (46-89)	2.7±0.7 (1.8-3.6)	0.72±0.10 (0.57-0.91)	1.11±0.43 (0.75-1.72)	1.07±0.44 (0.61-1.64)	0.012±0.003 (0.009-0.014)
n	8		8	6	6	6	8	8	8	8	3
Ecuador(Costa-Orellana)	6.3±0.6 (3.6-7.4)	226±93 (92-485)	2.2±1.1 (0.7-6.1)	42±20 (6-88)	22±12 (3-53)	35±24 (0.9-89)	4.1±1.1 (1.8-7.1)			4.56±3.2 (0.61-17.1)	0.127±0.093 (0.009±0.42)
n	61	55	69	29	29	29	91			102	83
Brasil -Sao Paulo	6.7±0.45 (5.9-7.2)	86±60 (186--14)	n.a	42±6 (37-46)	23±3 (21-25)	35±9 (29-42)	1.4±0.4 (1.3-1.8)	n.a	n.a	2.11±1.00 (1.16-3.73)	0.023±0.008 (0.015-0.031)
n	12	12		2	2	2	2			6	5

propio de suelos (como son los Andosoles) que se caracterizan por una elevada capacidad de fijación de oxi-aniones como el arseniato o el fosfato (ver p.ej. IUSS Working Group WRB 2014).

La mineralogía de la fracción arcilla muestra tres ambientes geoquímicos diferentes. Los suelos de las provincias costeras de Ecuador (provincias Guayas, Los Ríos y El Oro) corresponden a un ambiente de alteración moderado, con dominio de filosilicatos 2:1, mientras que los suelos de Orellana (provincia oriental de clima ecuatorial) se caracterizan por presentar minerales de baja cristalinidad. Óxidos e hidróxidos de Fe y Al de baja cristalinidad que son propios de suelos afectados por cenizas volcánicas, lo cual está de acuerdo con los resultados obtenidos en la extracción con oxalato de amonio. Los suelos de Brasil (Sao Paulo) corresponden a suelos fuertemente intemperizados formados principalmente por caolinita y óxidos e hidróxidos de Fe y Al cristalinos (Fig. 3.3).

Más en detalle, la zona costera de Ecuador, se desarrolla sobre un substrato formado por sedimentos fluviales marinos muy arcillosos (>40% arcilla), en una zona de relieve plano y poco drenada. Vertisol es el grupo de suelos más frecuente descrito en la zona, mostrando frecuentemente características redoximorfias (Typic Hapluderts, Aeric Endoaquerts, Aquic Hapluderts, Moreno et al. 2018). La fracción arcilla está constituida fundamentalmente por minerales esmectíticos, caolinita, micas y cuarzo (Fig. 3.3 A). La presencia marcada de minerales 2:1 en una zona de condiciones subtropicales húmedas se considera resultado de las condiciones de hidromorfia propias de las zonas de cultivo de arroz que favorecen la resilicización de los minerales secundarios (bisialitización).

La provincia de Orellana está ubicada en la Amazonía ecuatoriana, en donde el clima es tropical muy húmedo con elevadas temperaturas (temperatura media anual >22°C) y precipitación (2500-4500 mm) durante todo el año (Sánchez et al., 2018). Estas condiciones favorecen la rápida alteración de los minerales primarios y la formación de suelos fuertemente intemperizados tipo Oxisol (ejemplo: Typic Hapludox) cuya mineralogía está dominada por filosilicatos 1:1 como la caolinita y óxidos e hidróxidos de Fe (goethita y hematita) y Al (gibbsite)

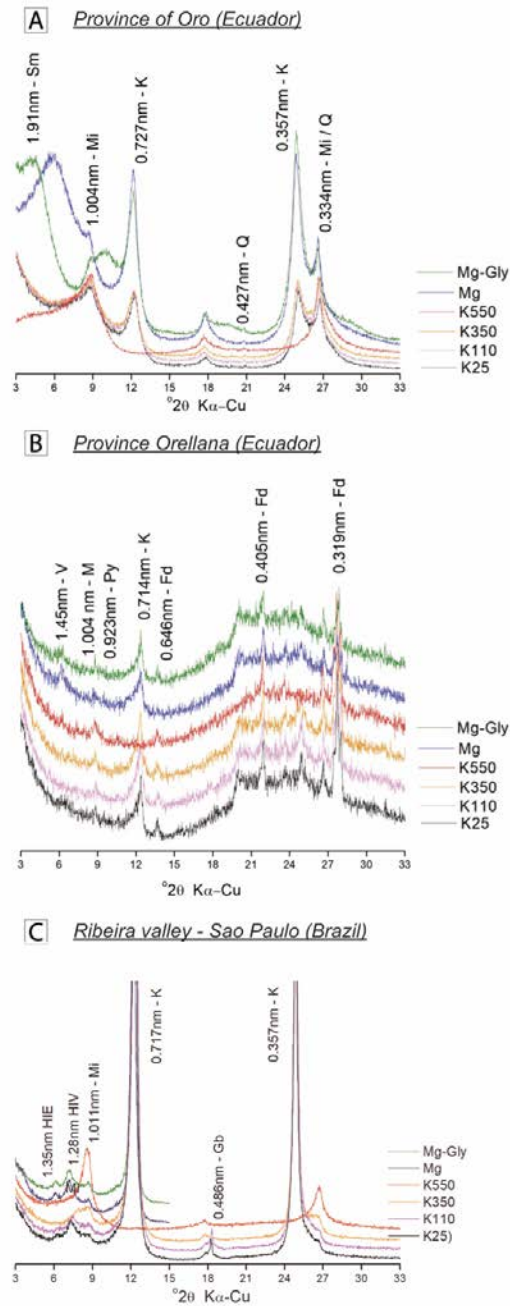


Figura 3.3. Patrones de difracción de rayos-X (XRD) en suelos de Ecuador y Brasil. A) XRD de suelos de las provincias de la costa B) XRD de suelos en la provincia de Orellana, C) XDR de suelos en Brasil (Sao Paulo). V: vermiculita; K: kaolinita; S: smectita; Mi: mica; Fd: K feldespato; Q: cuarzo; Py: pirofilita; HIV: vermiculita hidrox-intercapa (HIV); HIS: esmectita hidrox-intercapa.

(Sánchez et al., 2018). Sin embargo, la situación se vuelve más compleja debido a la influencia de las cenizas volcánicas emitidas por los volcanes próximos (Reventador y Sumaco) y los procesos relacionados con el relieve y la hidromorfía.

En los suelos estudiados la fracción arcilla está constituida especialmente por caolinita con presencia de vermiculita, micas y feldespato K y presencia de pirofilita (Fig. 3.3 B). Los DRX muestran que un componente importante de la fracción arcilla son los minerales no cristalinos, lo cual puede ser explicado por la influencia de cenizas volcánicas en la zona de cobertura (Sánchez et al., 2018). La presencia de pirofilita (mineral de origen metamórfico) es un rasgo mineralógico frecuente en los suelos de la zona Este de las planicies amazónicas (Dalarmelinda et al., 2017).

Los suelos del valle de Paraíba (Sao Paulo, Brazil) se desarrollan sobre sedimentos fluviales en un entorno geológico dominado por roca granítica y gneis y un clima subtropical húmedo. Los suelos presentan una mineralogía típica de suelos fuertemente intemperizados (meteorizables) de ambientes tropicales, constituida esencialmente por caolinita y óxidos e hidróxidos de Fe y Al (Fig 3.3 C).

3.3.2 Arsénico total en suelos (As total)

El rango de concentraciones de tAs en los suelos de Ecuador fue de 0.61 a 17.1 mg kg⁻¹ con una media de 4.36±3.40 mg kg⁻¹ (n=102). Los suelos de la provincia de los Ríos tuvo la concentración promedio más elevada de total As (7.49 mg kg⁻¹), seguido por Guayas (4.0 mg kg⁻¹), El Oro (3.30 mg kg⁻¹). La concentración más baja correspondió a los suelos de la provincia de Orellana (1.07 mg kg⁻¹), que resultó significativamente más baja que la de las provincias costeras (F(3,47)=8.9, p<0.005, Tablas S4 y S5 anexo 1). La fracción biodisponible de As (As_{Me}) representó entre 1-5% del As total, alcanzando valores medios de 0.130±0.09 mg kg⁻¹ en las provincias costeras y 0.012±0.003 mg kg⁻¹ de la zona tropical (Tabla 3.2). En los suelos de Brasil la concentración media de As total fue de 2.11±1.00 mg kg⁻¹ y la fracción biodisponible fue 0.023 ±0.007 mg kg⁻¹ (Tabla 3.2).

3.3.3 Contenido total de As (tAs) en grano de arroz

3.3.3.1 Latinoamérica

La concentración media de tAs en el arroz pulido comercial del Ecuador fue de 0.130 ± 0.034 mg kg⁻¹ (rango: 0.020-0.310 mg kg⁻¹), en el arroz integral 0.221 ± 0.014 mg kg⁻¹ (rango: 0.211-0.231 mg kg⁻¹) y en el parbolizado 0.156 ± 0.021 mg kg⁻¹ (rango: 0.137-0.178 mg kg⁻¹) (Tabla 3.3). El grano obtenido en campo muestra valores similares al arroz comercial (0.107 ± 0.055) mg kg⁻¹, con un rango que osciló entre 0.021-0.237 mg kg⁻¹. Los valores máximos de tAs en grano de planta se obtuvieron en la provincia del El Oro (0.186 ± 0.040 mg kg⁻¹) seguida de la provincia del Guayas (0.097 ± 0.037 mg kg⁻¹) y de la provincia de Los Ríos (0.055 ± 0.043 mg kg⁻¹).

La concentración de tAs en la planta de arroz fue superior al del grano (Tabla 3.4). La cáscara presentó valores medios de 0.195 ± 0.067 mg kg⁻¹ (rango: 0.105-0.262 mg kg⁻¹). El polvillo de arroz (material resultado del pulido del grano de arroz) la concentración de tAs fue netamente más elevadas 1.340 mg kg⁻¹. En la Provincia de Orellana se presentaron los valores más bajos de tAs (arroz con cascarilla: 0.019 mg kg⁻¹, arrocillo: 0.012 mg kg⁻¹ y el polvillo de arroz: 0.016 mg kg⁻¹).

En Brasil el arroz pulido comercial presentó un valor medio de 0.166 ± 0.047 mg kg⁻¹, el arroz pulido parbolizado 0.130 mg kg⁻¹ y el arroz integral 0.195 ± 0.045 mg kg⁻¹. El arroz pulido de Perú presentó una concentración media 0.138 ± 0.039 mg kg⁻¹.

3.3.3.2 Península Ibérica

En la península Ibérica la concentración media de tAs en el arroz pulido fue de 0.240 ± 0.227 mg kg⁻¹, el de arroz integral 0.335 ± 0.146 mg kg⁻¹, con un valor máximo de 0.438 mg kg⁻¹ y el del arroz parbolizado fue de 0.097 mg kg⁻¹ (Tabla 3.3).

3.3.4 Formas de As en el grano de arroz comercial

3.3.4.1 Latinoamérica: Ecuador, Perú, Brasil

En las muestras de arroz comercial (pulido, integral y parbolizado) de América Latina, el As (III) fue la especie predominante, mientras

Tabla 3.3 Concentración de As total y formas de As (mg kg^{-1}) en muestras de arroz comercial de diferentes países (media \pm DS). LD: límite de detección

País	Tipo	As(III)	As(V)	Σ inorg As	AsB	DMA	MMA	Σ org As	tAs	iAs/iA
Ecuador	Pulido (n=28)	0.037 \pm 0.018	0.016 \pm 0.012	0.053 \pm 0.027	0.003 \pm 0.001	0.031 \pm 0.008	0.004 \pm 0.008	0.038 \pm 0.011	0.130 \pm 0.034	0.41
	Integral (n=2)	0.057 \pm 0.003	0.049 \pm 0.056	0.105 \pm 0.052	0.010 \pm 0.001	0.046 \pm 0.009	<LD	0.055 \pm 0.010	0.221 \pm 0.014	0.47
	Parbolizado (n=3)	0.054 \pm 0.030	0.036 \pm 0.002	0.090 \pm 0.031	0.004 \pm 0.004	0.042 \pm 0.020	0.009 \pm 0.013	0.055 \pm 0.018	0.156 \pm 0.021	0.58
	Muestras de campo (n=27)	0.073 \pm 0.017	0.033 \pm 0.011	0.106 \pm 0.014	0.002 \pm 0.001	0.013 \pm 0.007	0.007 \pm 0.008	0.128 \pm 0.012	0.138 \pm 0.017	1.03
Brasil	Pulido (n=10)	0.067 \pm 0.012	0.029 \pm 0.008	0.096 \pm 0.007	0.001 \pm 0.001	0.071 \pm 0.021	0.002 \pm 0.004	0.075 \pm 0.020	0.166 \pm 0.016	0.59
	Integral (n=2)	0.113 \pm 0.040	0.037 \pm 0.001	0.150 \pm 0.039	<LD	0.055 \pm 0.053	0.012 \pm 0.001	0.064 \pm 0.054	0.220 \pm 0.020	0.68
	Parbolizado (n=1)	0.075	0.034	0.110	0.002	0.061	0.029	0.084	0.160	0.69
Perú	Pulido (n=3)	0.069 \pm 0.021	0.062 \pm 0.005	0.131 \pm 0.026	0.001 \pm 0.001	0.021 \pm 0.005	0.005 \pm 0.002	0.026 \pm 0.006	0.138 \pm 0.039	0.94
Península Ibérica	Pulido (n=10)	0.058 \pm 0.029	0.027 \pm 0.020	0.085 \pm 0.045	0.001 \pm 0.001	0.072 \pm 0.045	0.013 \pm 0.013	0.082 \pm 0.054	0.240 \pm 0.227	0.35
	Integral (n=2)	0.091 \pm 0.057	0.028 \pm 0.014	0.118 \pm 0.071	0.002 \pm 0.003	0.081 \pm 0.060	0.004 \pm 0.002	0.088 \pm 0.066	0.335 \pm 0.146	0.35
	Parbolizado (n=1)	0.029	0.009	0.038	0.001	0.047	<LD	0.048	0.097	0.28

Tabla 3.4. Concentración de As total y formas of As (media±DS) en tallo y hojas de muestras de campo de diferentes provincias de Ecuador. P indica la existencia de diferencias significativas para tallos y hojas entre localidades. ns: no existen diferencias significativas

	Provincias de la Costa		Provincia Oriental de Orellana		P
	Tallo	Hoja	Tallo	Hoja	
tAs	0.675±0.763	0.761±0.667	0.042±0.042	0.047±0.018	<0.001
AsIII	0.194±0.083	0.249±0.135	0.004±0.004	0.003±0.003	ns
AsV	0.409±0.538	0.529±0.531	0.029±0.025	0.026±0.006	<0.001
iAs	0.599±0.608	0.778±0.637	0.034±0.029	0.030±0.006	<0.001
DMA	0.044±0.049	0.039±0.036	0.005±0.012	0.003±0.004	ns
MMA	0.025±0.020	0.028±0.021	0.001±0.002	0.001±0.001	ns
AsB	0.015±0.025	0.004±0.003	0.003±0.002	0.014±0.011	ns
oAs	0.091±0.088	0.070±0.055	0.008±0.014	0.017±0.016	ns

que la forma orgánica DMA prevalece en las muestras ibéricas (Tabla 3.3).

Comparando el contenido de As en el arroz pulido de los países de Latinoamérica y de la península Ibérica, se han obtenido diferencias significativas para el tAs (Latinoamérica=0.120±0.061 mg kg⁻¹, n=46, península Ibérica: 0.203±0.096 mg kg⁻¹, n=10, F=7.17, p=0.003, Fig. 3.4, debido a la concentración significativamente superior del DMA (DMA península Ibérica= 0.075±0.030 mg kg⁻¹; Latinoamérica: 0.041±0.022 mg kg⁻¹; p< 0.05, F=7.45) de la península Ibérica, mientras que las demás formas de As no mostraron diferencias significativas entre ellas (Fig. 3.4).

En Ecuador, el As (III) fue la forma dominante en el grano de arroz pulido comercial (concentración media: 0.037±0.018 mg kg⁻¹; 40% del tAs), seguida del DMA (concentración media= 0.031±0.008 mg kg⁻¹; 34% del tAs), As (V) (0.016±0.012 mg kg⁻¹, 18% del tAs) y concentraciones muy reducidas de MMA (0.004±0.008 mg kg⁻¹, 4% del tAs) y AsB (0.003±0.001 mg kg⁻¹, 4% del tAs). En el arroz parbolizado se mantuvo la misma tendencia: As (III) (0.054±0.030 mg kg⁻¹, 37% del tAs) > DMA (0.042±0.020 mg kg⁻¹, 29% del tAs) > As (V) (0.036±0.002 mg kg⁻¹, 25% del tAs) > MMA (0.009±0.013 mg kg⁻¹, 6% del tAs) > AsB (0.004±0.004 mg kg⁻¹, 3% del tAs).

Las formas inorgánicas representaron más del 65% del tAs en el arroz integral, siendo el As (III) la forma dominante (0.057±0.003 mg kg⁻¹, 36% del tAs), seguida del As (V) (0.049±0.056 mg kg⁻¹, 30%), DMA (0.046±0.009 mg kg⁻¹, 28% del tAs), y AsB (0.0010±0.001 mg kg⁻¹, 6% del tAs). El MMA presentó concentraciones muy bajas, inferiores al límite de detección (Tabla 3.3).

La concentración de iAs en el grano de las muestras de grano del campo fueron significativamente superiores a las de arroz comercial (Tabla 3.3, F(1,22)=9.3, p<0.05, Tabla S6 anexo 1). Al igual que para los anteriores tipos de arroz, en el arroz de campo el As (III) fue la forma dominante As (III): 0.073±0.017 mg kg⁻¹, 57 % del tAs), seguido del As (V) (0.033±0.011 mg kg⁻¹, 26% el tAs), DMA (0.013±0.007 mg kg⁻¹, 10 % del tAs), MMA (0.007±0.008 mg kg⁻¹, 5 % del tAs) y AsB

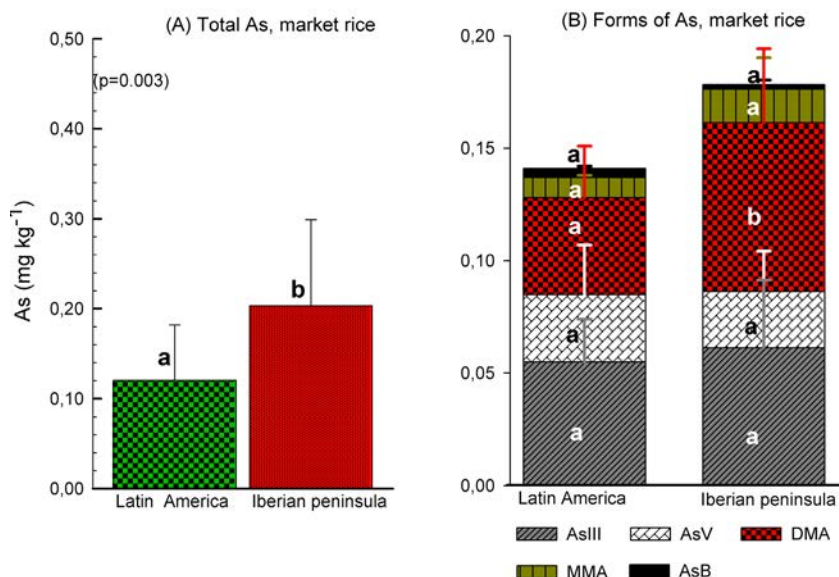


Figura 3.4. A) Media As total y B) fracciones de As orgánico e inorgánico en arroz comercial de Latinoamérica y de la península Ibérica. En la figura A, diferentes letras indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tAs de Latinoamérica y la península Ibérica. En la figura B, diferentes letras indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre formas de As de Latinoamérica y la península Ibérica.

($0.0015 \pm 0.005 \text{ mg kg}^{-1}$, 1% del tAs).

En Brasil el As (III) fue también la forma dominante ($0.113 \pm 0.040 \text{ mg kg}^{-1}$, 52% del tAs) para el arroz integral y para el parbolizado (0.075 mg kg^{-1} , 38% del tAs), seguida del DMA (arroz integral: $0.055 \pm 0.053 \text{ mg kg}^{-1}$, 25% del tAs; arroz parbolizado: 0.061 mg kg^{-1} , 30% del tAs) y As (V) (arroz integral: $0.037 \pm 0.001 \text{ mg kg}^{-1}$, 17% del tAs; arroz parbolizado 0.034 mg kg^{-1} , 17% del tAs) mg/kg). Para el arroz pulido de Brasil las concentraciones promedio de As (III) ($0.067 \pm 0.012 \text{ mg kg}^{-1}$, 39% del tAs) y DMA ($0.071 \pm 0.021 \text{ mg kg}^{-1}$, 42% del tAs) fueron similares, mientras que el As (V) presentó valores medio inferiores ($0.029 \pm 0.008 \text{ mg kg}^{-1}$, 17% del tAs) (Tabla 3.3).

El arroz pulido del Perú presentó concentraciones de As (III) ($0.069 \pm 0.021 \text{ mg kg}^{-1}$, 44% del tAs) y de As (V) ($0.062 \pm 0.005 \text{ mg kg}^{-1}$, 41% del tAs) similares. La concentración de DMA fue inferior ($0.021 \pm 0.005 \text{ mg kg}^{-1}$, 13% del tAs) y las concentraciones de AsB y MMA fueron mucho más bajas (Tabla 3.3).

3.3.4.2 Península Ibérica: España y Portugal

El DMA fue la forma dominante en la península Ibérica seguida del As (III) y As (V) y en menor medida MMA y AsB (Tabla 3.3). Por países, en el arroz pulido de España el DMA fue la forma de As que presentó las concentraciones más elevadas (DMA: $0.067 \pm 0.042 \text{ mg kg}^{-1}$, 42% del tAs), seguido del As (III) ($0.059 \pm 0.035 \text{ mg kg}^{-1}$, 37% del tAs), y As (V) ($0.024 \pm 0.019 \text{ mg kg}^{-1}$, 15% del tAs). El MMA y AsB, presentaron concentraciones inferiores al límite de detección.

En Portugal el DMA fue también la forma dominante (DMA: 0.122 mg kg^{-1} , 47% del tAs), seguido del As (III) (0.085 mg kg^{-1} , 33% del tAs), As (V) (0.037 mg kg^{-1} , 14% del tAs), mientras que las concentraciones del MMA y AsB fueron mucho más bajas (Tabla 3.3). Una tendencia similar se obtuvo para el arroz parbolizado (Tabla 3.3).

El arroz integral de España mostró valores similares de As (III) de $0.091 \pm 0.057 \text{ mg kg}^{-1}$ (45% del tAs) y de DMA de $0.081 \pm 0.060 \text{ mg kg}^{-1}$, (40% del tAs), y concentraciones más bajas de As (V) ($0.028 \pm 0.014 \text{ mg kg}^{-1}$, 14% del tAs).

3.3.5 Concentración de As en planta de arroz (tallos y hojas) en Ecuador

3.3.5.1 Arsénico total en tallos y hojas

El contenido medio de tAs en la hoja fue de $0.285 \pm 0.288 \text{ mg kg}^{-1}$ y en el tallo de $0.883 \pm 4.166 \text{ mg kg}^{-1}$; existiendo en ambos casos una amplia variabilidad entre muestras. Por provincias, El Oro presentó los valores promedios de tAs más elevados en hoja ($0.562 \pm 0.234 \text{ mg kg}^{-1}$) y tallo ($2.551 \pm 7.43 \text{ mg kg}^{-1}$), seguidos por la valores de la provincia del Guayas (hoja: $0.275 \pm 0.282 \text{ mg kg}^{-1}$; tallo: $0.201 \pm 0.180 \text{ mg kg}^{-1}$), Ríos: $0.087 \pm 0.036 \text{ mg kg}^{-1}$ en hoja y 0.059 mg kg^{-1} en tallo; correspondiendo los valores más bajos a la provincia ecuatorial de Orellana: $0.047 \pm 0.018 \text{ mg kg}^{-1}$ en hoja y $0.042 \pm 0.042 \text{ mg kg}^{-1}$ en tallo (Tabla 3.4). Considerando conjuntamente las provincias de la costa y la provincia de Orellana, la concentración de As en tallos y hojas fue significativamente más altos en las provincias de la Costa ($F(1, 175) = 60.6$, $p < 0.05$), pero no hubo diferencias significativas entre las partes de la planta ($F(1, 175) = 0.62$, $p > 0.05$) (Tabla 3.4, Tabla S1 anexo

1).

3.3.5.2 Formas de arsénico en tallos y hojas

Las formas de As dominantes en el tallo y la hoja fueron As (V) > As (III) > DMA, mientras el MMA y la AsB volvieron a mostrar valores mucho más bajos (Tabla 3.4). En el tallo las concentraciones medias fueron: As (V): $0.204 \pm 0.400 \text{ mg kg}^{-1}$, As (III): $0.092 \pm 0.112 \text{ mg kg}^{-1}$ y DMA: $0.023 \pm 0.039 \text{ mg kg}^{-1}$ y en la hoja: As (V): $0.236 \pm 0.412 \text{ mg kg}^{-1}$, As (III): $0.106 \pm 0.150 \text{ mg kg}^{-1}$ y DMA: $0.018 \pm 0.029 \text{ mg kg}^{-1}$ (Tabla 3.4).

El contenido de As acumulado en la hoja y el tallo fueron similares para todas las especies químicas ($F=0.62$, $p>0.05$). Sin embargo, la concentración de especies inorgánicas fue significativamente más elevada en las plantas de arroz de las provincias de la costa que las de la provincia de Orellana, tanto en hojas como en tallo el As (V) fue la especie responsable para las diferencias entre las provincias (Tabla 3.4 y Tablas S2 y S3 anexo 1). En consecuencia, las especies orgánicas muestran concentraciones similares en la planta de arroz de las dos provincias, a pesar de las altas diferencias en tAs.

3.3.5.3 Arsénico total en fitolitos

Mediante la microscopía electrónica de barrido (SEM) se observó una alta producción de sílice biogénica (fitolitos) (Fig.3.5 A-D). La extracción secuencial de As en muestras de cenizas mostró que las concentraciones más elevadas de As están asociadas con materia orgánica recalcitrante ($A_{\text{SH}_2\text{O}_2} = 0.274\text{-}3.049 \text{ mg kg}^{-1}$), con los valores más elevados en el tallo (Fig. 3.5 E). Las concentraciones medias de As asociadas a carbonatos y óxidos (solubles en oxalato de amonio) oscilaron entre 0.062 y 0.358 mg kg^{-1} (Fig. 3.5 F). La concentración de As en fitolitos fue la fracción más baja, que oscilaba entre 0.012 y 0.081 mg kg^{-1} (Fig. 3.5 G).

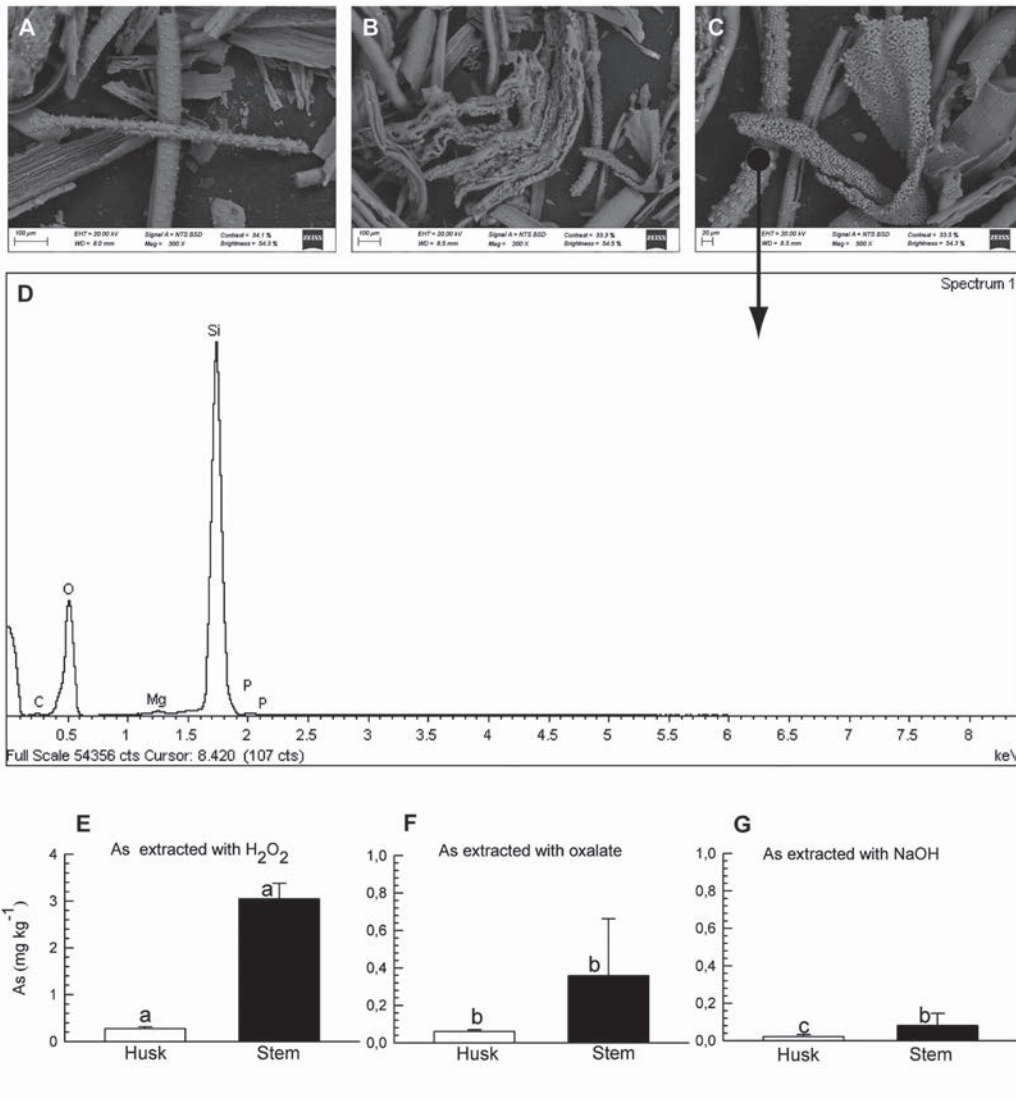


Figura 3.5 A, B, C), Micrografías electrónicas de barrido (SEM) y D), Imágenes de espectroscopía de rayos X con dispersión de energía (EDS) de fitolitos de arroz. E) Concentración de arsénico asociado con materia orgánica recalcitrante. F) Concentración de arsénico asociada con óxidos. G) Concentración de arsénico en fitolitos de arroz. Diferentes letras indican diferencias significativas ($p < 0.05$) en el contenido de As para cada extracto (H_2O_2 , oxalato de amonio e NaOH) para cada parte de la planta (cáscara, tallo).

3.4 DISCUSIÓN

3.4.1 Variación espacial de la concentración de arsénico en grano de arroz

El contenido de tAs en el arroz comercial para los países de Latinoamérica fue similar entre ellos (valores medios Ecuador: $0.109 \pm 0.066 \text{ mg kg}^{-1}$, Perú: $0.138 \pm 0.040 \text{ mg kg}^{-1}$, Brasil: $0.171 \pm 0.046 \text{ mg kg}^{-1}$), no presentando diferencias significativas ($F=2.89$, $p>0.050$). De igual manera tampoco hubo diferencias significativas entre el arroz comercial procedente de España ($0.215 \pm 0.112 \text{ mg kg}^{-1}$) y Portugal ($0.191 \pm 0.015 \text{ mg kg}^{-1}$) ($F=0.047$, $p=0.829$). Sin embargo, la concentración de tAs en el grano pulido de arroz comercial de la península Ibérica fue significativamente más elevado que el de Latinoamérica (Fig. 3.4 A). Estos resultados están de acuerdo con trabajos previos, en donde ya se ponía de manifiesto que el arroz producido en España y Portugal presentaba concentraciones relativamente elevadas de tAs (ver por ejemplo Torres-Escribano et al., 2008; Signes-Pastor et al., 2016). En este sentido, Signes-Pastor et al., (2016), encuentran que aproximadamente el 26% de las muestras de arroz comercial exceden la concentración permisible de As en la producción de comida infantil ($iAs= 0.1000 \text{ mg kg}^{-1} \text{ UE}$, 2015) . Sin embargo, se desconocía cual o cuales eran las especies químicas responsables de los elevados contenidos de As en los arroces de la península Ibérica. Nuestros resultados muestran que la diferencia entre las dos áreas agroecológicas (península Ibérica y Latinoamérica) reside en el elevado contenido de DMA en los arroces de la península Ibérica (Fig. 3.4 B), única fracción de As que fue estadísticamente superior a la obtenida para el conjunto de los países de Latinoamérica, mientras que la concentración del iAs fue similar entre las dos áreas geográficas (iAs península Ibérica: $0.086 \pm 0.048 \text{ mg kg}^{-1}$; Latinoamérica: $0.086 \pm 0.042 \text{ mg kg}^{-1}$, $p>0.05$, $F=0.12$).

Por otra parte, estos resultados indican que las relaciones entre las especies de As en el grano de arroz cambian sustancialmente en función de la concentración de tAs. La Fig. 3.6A muestra que la concentración de iAs incrementa proporcionalmente según incrementa la

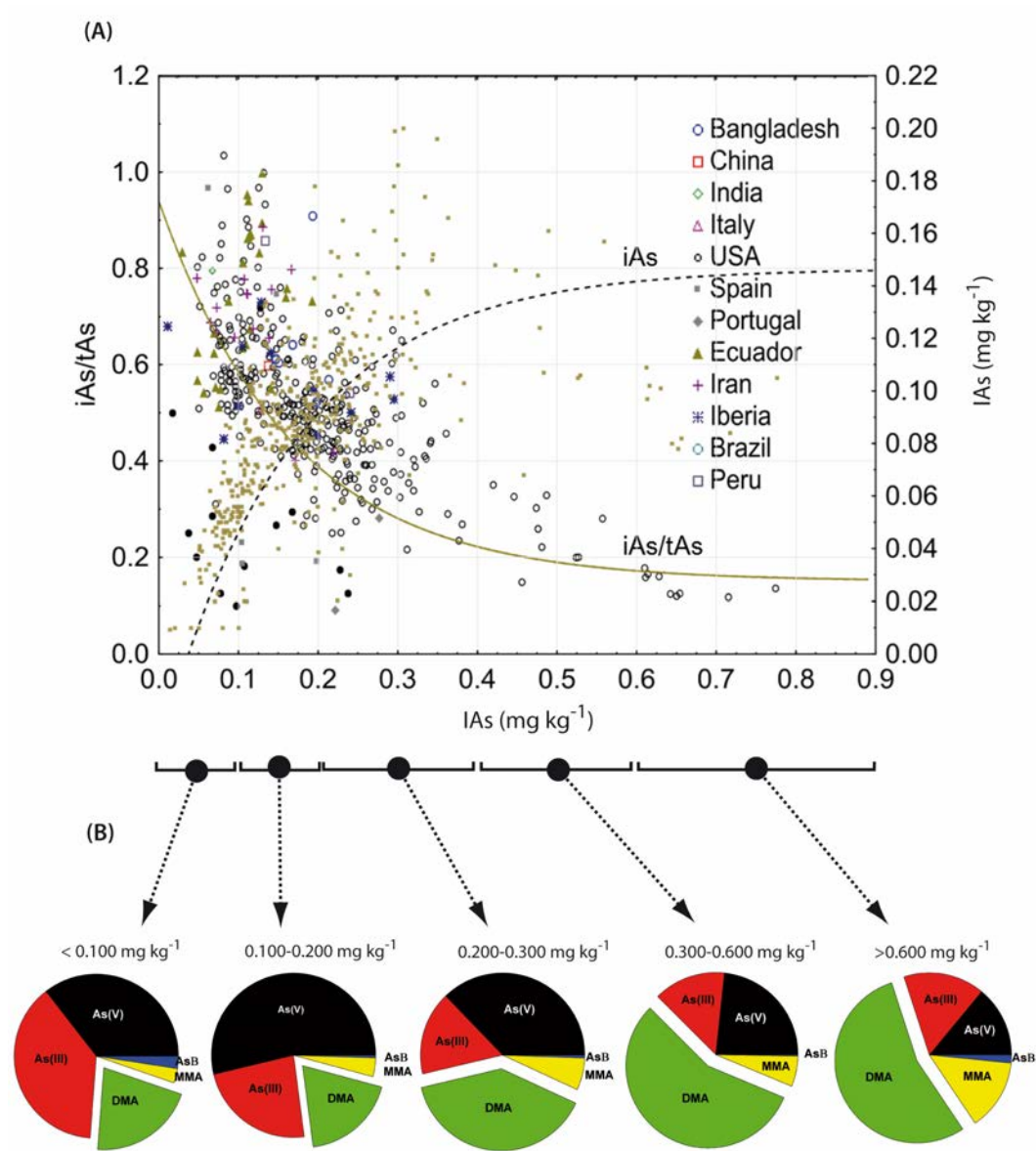


Figura 3.6 A) Variaciones en la concentración de iAs y iAs/tAs con el incremento de tAs en grano de arroz. B) Cambios en la concentración de las formas químicas de con el incremento del contenido de tAs. (Meharg et al. (2009), Otero et al. (2016), Signes-Pastor et al. (2016), Zavala et al. (2008), USFDA (2013), and Williams et al. (2005)).

concentración de tAs en el grano de arroz cuando el contenido de tAs es bajo, mientras que la relación iAs/tAs en el grano de arroz experimenta una rápida disminución para valores de tAs superiores a 0.200 mg kg^{-1} . Por el contrario, el porcentaje de oAs, especialmente DMA y en menor medida el MMA, incrementa según aumenta la concentración de tAs, de manera que para valores elevados de tAs (0.300 mg kg^{-1}) la forma dominante de As en el grano de arroz es el DMA (Fig. 3.6 B) lo que explica la baja relación iAs/tAs obtenida para los arroces de la península Ibérica en relación a otros países del mundo (Fig. 3.6 A).

Trabajos previos muestran que el As inorgánico, especialmente arsenito, se acumula preferentemente en la parte externa del grano (Fig. 3.7), mientras que el DMA permanece dentro del endosperma (Lombi et al., 2009; Zhao et al., 2013). Estos aspectos pueden tener una especial relevancia en los resultados obtenidos. Así, se ha puesto de manifiesto que la planta de arroz no es capaz de metilar las formas inorgánicas de As, por lo que se considera que el DMA es asimilado por la planta directamente del suelo (Lomax et al., 2012; Jia et al., 2013). Los microorganismos del suelo son los principales responsables de la transformación de As inorgánico (As(III)) en especies de As metiladas (Wang et al., 2014; Zhao et al., 2013). Muchos factores contribuyen a los procesos de metilación de As bajo condiciones de inundación tales como la actividad de los microorganismos anaeróbicos, condiciones de inundación prolongadas para reducción de As (V) y el incremento de la disponibilidad del substrato necesario para la metilación del As. Adicionalmente, la disolución reductiva de los oxihidróxidos de Fe permite la liberación de las diferentes especies de As a la solución del suelo (Suriyagoda et al., 2018).

El DMA es tomado por las raíces de la planta de arroz a una tasa inferior que el iAs (aproximadamente 1:20, Zhao et al. 2013), debido a la baja afinidad de los transportadores del oAs a nivel de membrana (Abedin et al., 2002; Raab et al., 2007a). Las causas por las cuales el DMA es preferentemente acumulado en grano de arroz no son bien conocidas. Los transportadores de membrana que participan en la carga y descarga del DMA en el interior del grano de arroz no están todavía identificados (Zhao et al., 2013).

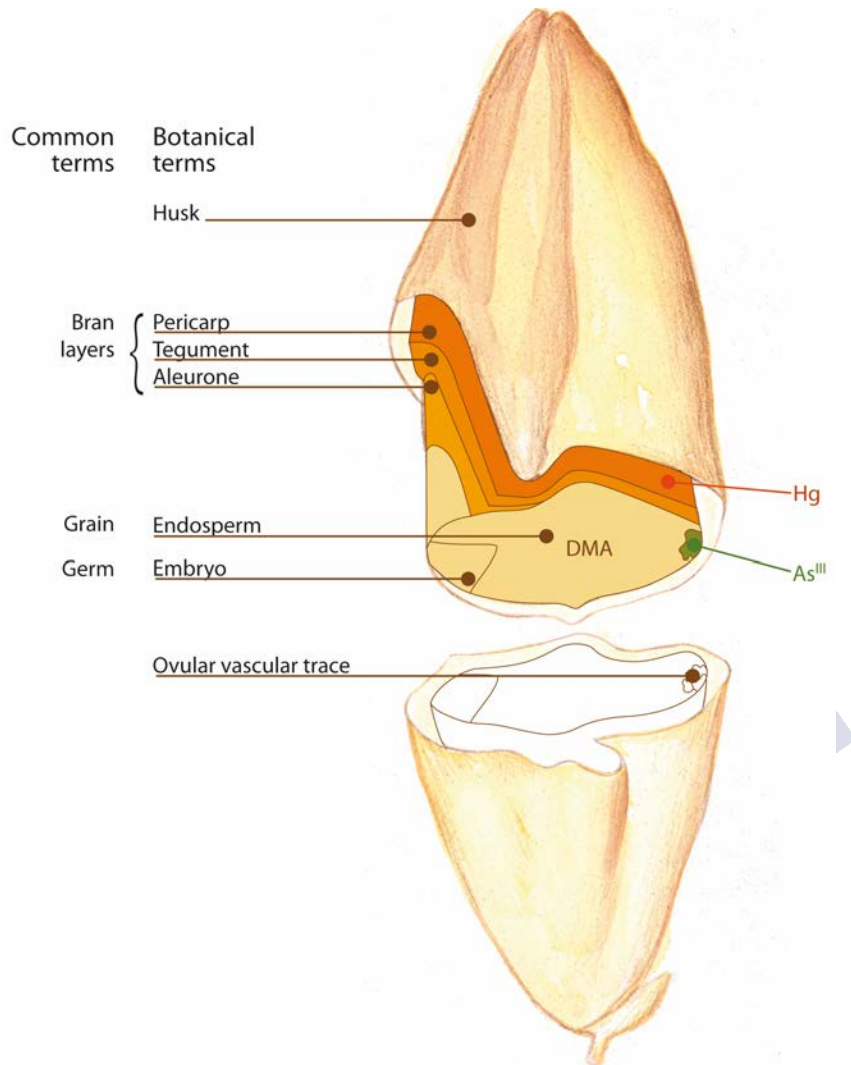


Figura 3.7 Localización espacial de especies de As en grano de arroz (Modificado de Jackson y Punshon, 2015)

Sin embargo, otros autores señalan que la dominancia del DMA en el grano de arroz puede atribuirse al hecho de que el DMA se trasloca hacia la parte superior de la planta más eficientemente que el iAs; alcanzando el endosperma del grano debido a su baja afinidad por el grupo sulfhidrido de las fitoquelatinas (Norton et al., 2010; Carey et al., 2011; Wu et al., 2016). Por el contrario, el As (III) tiene una alta afinidad con estos grupos y puede ser complejado, secuestrado y

almacenado en las vacuolas (Raab et al., 2007a,b), acumulándose preferentemente en el tallo, hojas o en los diferentes recubrimientos del grano.(Lombi et al., 2009). Adicionalmente, el arsenito, tiene un comportamiento análogo al ácido silícico, por lo que es absorbido por las raíces del arroz a través de transportadores específicos de silicio (Lsi1 y Lsi2, Ma et al., 2008), acumulándose especialmente en el tallo, hojas y cáscara del arroz al igual que el silicio (Lombi et al., 2009, Norton et al., 2010, Otero et al., 2016). Estos hallazgos explican la correlación positiva observada entre el Si y el As en los brotes (Norton et al., 2010).

El elevado contenido de iAs ($iAs/Ast= 0.84-0.94$, Tabla 3.5) obtenido para la cáscara y el polvillo de arroz, ponen de manifiesto que el pelado y pulido del arroz remueve fundamentalmente las formas de iAs, disminuyendo la ingesta y su potencial toxicidad y explica el hecho de que el arroz integral tenga un mayor contenido de iAs (Suriyagoda et al., 2018; Meharg y Zhao, 2012).

Finalmente, hay que destacar que las concentraciones de iAs en las muestras de arroz comercial de los países en estudio están dentro de los rangos de valores publicados y de los datos disponibles en World Health Organization's GEMS Food Database para arsénico (WHO, 2018), no superando la concentración de iAs el valor límite de los 0.200 mg kg^{-1} que marca la normativa vigente de la UE (Commission Regulation 2015/1006) (Fig. 3.8).

3.4.2 Arsénico en planta de arroz en relación a las condiciones ambientales del agrosistema

3.4.2.1 As en grano de arroz

Las condiciones ambientales del agrosistema (calidad de agua, composición y propiedades del suelo) constituyen uno de los factores que determinan la concentración de las formas de As en la planta (Norton, 2012; Kahn et al., 2010; Suriyadoga et al., 2018). La concentración de tAs recomendada para suelos agrícolas oscila sustancialmente entre países ($5-50 \text{ mg kg}^{-1}$); sin embargo, Ewers, 1991 considera inadecuados para suelos de cultivo valores sobre 20 mg kg^{-1} de

Tabla 3.5 Concentraciones de tAs y formas de As en diferentes tipos de productos del procesamiento del arroz; na: no analizado, LD Límite de detección

Localidad	As III	As V	∑ As inorg	AsB	DMA	MMA	∑ As organic	As total	tAs/tAs
Provincias de la Costa									
Residuos de arroz(arrocillo)* (n=1)	na	na	na	na	na	na	na	0.261	na
Cáscara de arroz (n=5)	0.033±0.026	0.164±0.055	0.197±0.060	0.002±0.001	0.017±0.006	0.010±0.003	0.031±0.012	0.228±0.071	0.86
** polvillo de arroz (n=1)	na	na	na	na	na	na	na	1.340	na
Provincia de Orellana									
* Residuos de arroz(arrocillo)* (n=1)	0.001	0.011	0.012	<LD	<LD	<LD	0.000	0.012	1.00
** polvillo de arroz (n=1)	0.004	0.011	0.015	<LD	0.001	<LD	0.001	0.016	0.94

*: Grano de arroz rechazado para consumo humano

**.: Residuos de polvo generados durante el proceso de pulido del arroz .

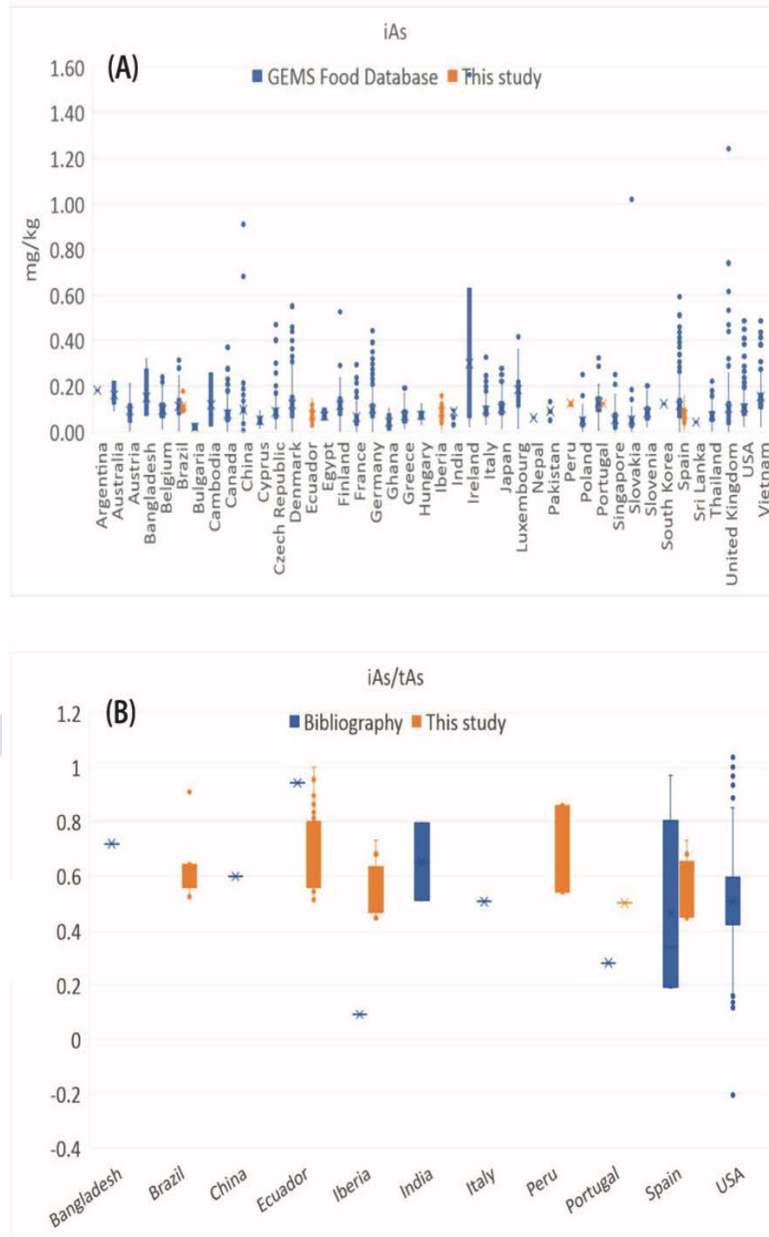


Figura 3.8 Concentración de A) iAs y B) razón iAs/tAs en grano de arroz en los países estudiados relacionada la de otros países. Datos de otros países tomados de World Health Organization's GEMS Food Database for arsenic (WHO, 2018).

tAs. La concentración de tAs de los suelos de cultivo de arroz de Ecuador y Brasil (ver también Segura et al., 2018), así como la concentración de As en los cultivos de arroz en la península Ibérica (rango: 2.3-17 mg kg⁻¹, valor medio 8.7 mg kg⁻¹; Signes-Pastor et al., 2016) se situaron siempre por debajo del umbral de 20 mg kg⁻¹. No obstante, hay que considerar que la concentración As biodisponible para la planta (AS_{Me}) en los suelos de arroz de Ecuador y Brasil (AS_{Melich}) representó <5% del tAs, por lo que la concentración de As en los suelos se encuentra dentro de los niveles aceptables para el cultivo de arroz, propios de suelos no contaminados (Pais and Jones, 1997; Matschullat, 2000; Mandal and Suzuki, 2002).

La baja biodisponibilidad de As puede estar relacionada con la elevada concentración de oxihidróxidos de Fe de baja cristalinidad presentes en el suelo (Fe_{Ox}), su elevada capacidad de adsorción puede ejercer un efecto protector, reduciendo la concentración de As biodisponible. En este sentido Otero et al., (2016) observaron que la concentración del AS_{Me} y de As presente en el agua de inundación en los campos de cultivo de arroz se encontraban negativamente correlacionados con la concentración de Fe_{Ox} en el suelo. Sin embargo, los oxihidróxidos amorfos de Fe (i.e. Fe_{Ox}) son compuestos que fácilmente se reducen bajo condiciones anóxicas (Canfield et al., 1992). La reducción de estas formas de Fe conducirían a la liberación de As en el agua intersticial (Williams et al., 2007a,b). Los valores del potencial redox y el pH de los suelos de Ecuador y Brasil fueron medidos casi al final de la estación de cultivo (3 meses), observándose que las condiciones Eh-pH se sitúan dentro del rango de estabilidad de los oxihidróxidos de Fe, presumiblemente debido a una baja concentración de materia orgánica lábil que favorezca la actividad de las bacterias reductoras de los oxihidróxidos de Fe (III) (ver Otero et al. 2016). Un incremento de materia orgánica lábil, especialmente el carbono orgánico disuelto (COD) podría incrementar la movilización y la biodisponibilidad de iAs (Mladenov et al., 2010). El COD podría estimular a las bacterias reductoras del Fe (III), promoviendo la reducción de las formas de Fe (III) amorfo, conduciendo a la liberación de As adsorbido en el agua intersticial (Chen et al., 2016, Mladenov et al., 2009; Kumarathilaka et al., 2018). Adicionalmente, el COD puede

competir con el iAs por los sitios de adsorción de los oxihidróxidos de Fe (Mladenov et al., 2015). Por el contrario, otros autores han puesto de manifiesto que la incorporación de materiales ricos en materia orgánica, que conducen a la formación de COD, en los campos de cultivo de arroz contaminados con As reducen la concentración de As en el grano de arroz debido a la elevada afinidad de la materia orgánica por el As (Paikaray et al., 2005). Williams et al. (2011) concluyen que la materia orgánica tiene un comportamiento dual, por una parte puede contribuir a la liberación del arsénico al agua intersticial, y por otro, reduce su biodisponibilidad al ser el As secuestrado por el carbono orgánico disuelto. Teniendo esto en consideración, el papel de la materia orgánica en los campos de cultivo de arroz debiera ser objeto de mayor atención y seguimiento.

Por otra parte, las diferencias obtenidas entre la península Ibérica y Latinoamérica podría indicar diferencias en cuanto a las condiciones ambientales que concurren en las zonas productoras de arroz. Sin embargo, carecemos de información detallada sobre la composición y propiedades de los suelos de arroz de la península Ibérica y existe muy poca información sobre la diversidad microbiana en suelos de cultivos de arroz. Estas evidencias encontradas parecen sugerir que el efecto del ambiente sobre el contenido de As en el grano arroz obedece a aspectos o procesos que merecen un mayor detalle de estudio. En este sentido, trabajos previos han establecido que las razones para la variación geográfica en la concentración de las formas químicas de As en grano de arroz no están claras, pero podrían estar relacionadas con diferencias en las condiciones del suelo y/o a la composición de las comunidades microbianas en cultivos de arroz (condiciones aeróbicas o anaeróbicas, microorganismos con capacidad metiladora, etc.) (Xu et al., 2008; Arao et al., 2009; Li et al., 2009; Norton et al., 2013; Zhao et al., 2013; Hu et al., 2015). Igualmente, la variedad de arroz cultivada que puede influir sobre la mayor o menor capacidad de retención de iAs en el tallo, protegiendo al grano de arroz de la acumulación de iAs (Suriyagoda et al., 2018).

3.4.2.2 As total y formas de As en la planta de arroz (tallos, hojas y fitolitos) en planta de arroz de Ecuador

Los análisis estadísticos muestran que las especies de As fueron significativamente diferentes para el tallo y la hoja procedentes de las dos zonas consideradas (provincias de la costa y oriental); $F(1,175)=11.2$, $p < 0.05$), que puede ser consecuencia de las condiciones geoquímicas que prevalecen en cada región de producción de arroz, según lo indica las diferencias significativas obtenidas para el análisis conjunto provincia vs parte de la planta; ($F(7, 175)= 9.2$, $p < 0.05$, Tabla S1 anexo 1). La biodisponibilidad del As depende fuertemente de factores ambientales (Zhao, et al., 2009), sugiriendo nuestros resultados que el As del suelo de la provincia de Orellana está menos disponible que en las provincias costeras, debido a la elevada concentración de óxidos e hidróxidos de Fe/Al de baja cristalinidad (As biodisponible Orellana, AS_{Me} : 0.012 ± 0.003 mg kg^{-1} ; provincias costeras Costa: AS_{Me} : 0.130 ± 0.092 mg kg^{-1} ; $F(1,81)=4.9$: $p < 0.05$, Tabla S7 anexo 1).

Las bajas concentraciones de As obtenidas en hoja y tallo en la provincia de Orellana en comparación a las provincias costeras (Tabla 3.4) están de acuerdo con la composición y propiedades del suelo de esta provincia. La provincia de Orellana se encuentra ubicada en la zona amazónica del país en donde dominan los suelos ferralíticos. Sin embargo, también hay presencia de suelos desarrollados sobre cenizas volcánicas (Andosoles, Espinosa et al., 2018), que explica la presencia de coloides de baja grado de cristalinidad Fig. 3.4 y Tabla 3.2 Fe/Al soluble en oxalato de amonio) que en condiciones de pH ácido pueden llegar a adsorber el As de forma irreversible (Livesey and Huang, 1981; Zhang and Selim, 2005).

Por otra parte, el orden de abundancia de las diferentes especies de As tanto en la hoja y en el tallo fue $As(V) > As(III) > DMA$, lo cual difiere de otros estudios, en donde las especies predominantes en tallo y hojas fueron $As(III)$ y DMA (Geng et al., 2017). Estos resultados también refuerzan la idea que las condiciones locales de cultivo, así como el tipo de variedad de arroz pueden afectar sustancialmente a las formas de As en la planta y por tanto a su potencial toxicidad. En este sentido, en un estudio previo realizado en la península Ibérica fue

observado que en suelos de Cataluña y Portugal una alta proporción de As fue transferido a las plantas de arroz en comparación a con otras provincias españolas (Signes-Pastor et al., 2016). En estas últimas regiones, se considera que el As en suelo esté presente en formas más insolubles y menos lábiles (Khan et al., 2010; Williams et al., 2011).

Finalmente, las especies de As inorgánico son sensibles a las condiciones redox, con predominio de arsenito bajo condiciones de reducción ($E_h < 300$ mV) y arseniato en condiciones de oxidación (Masscheleyn et al., 1991; Zhao et al., 2010). Las raíces de la planta de arroz pueden asimilar especies de arsénico a través de dos maneras: arsenito a través del transportador de ácido silícico y arseniato a través del transportador de fosfato (Meharg and Zhou, 2012). El comportamiento del arsenito es análogo al del ácido silícico, por lo tanto, es absorbido por los transportadores específicos (Lsi1 and Lsi2; Ma et al., 2008) y almacenados específicamente en tallos, hojas y cáscara de la planta de arroz, igual que con la sílice (Lombi et al., 2009, Norton et al., 2010). Condiciones de Eh-pH muestran que el arseniato es la principal forma estable de As inorgánico en suelos y agua en los arrozales (Fig. 3.9), lo cual explica las concentraciones significativamente bajas encontradas en los fitolitos (principalmente As (III)) y sugiere que el As de las plantas de arroz (tallos, hojas y cáscara) está principalmente asociada con formas orgánicas (soluble en H_2O_2).

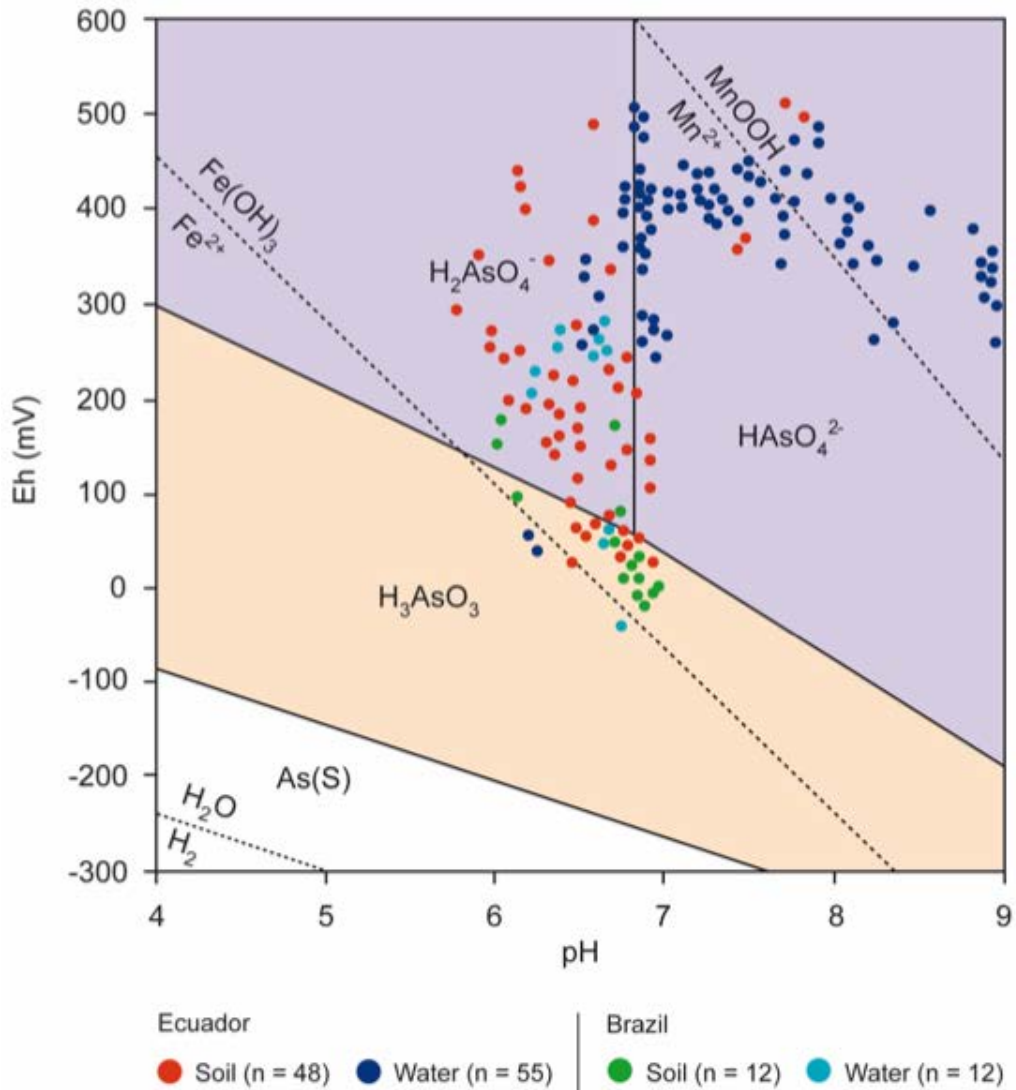


Figura 3.9. Condiciones de Eh-pH en suelos y aguas de arrozales de Ecuador y zonas de estabilidad de oxihidróxidos de Fe/Mn y arsenito y arseniato (Modificado de Masscheleyn et al. 1991)

3.5 CONCLUSIONES

En base a los resultados podemos extraer las siguientes conclusiones:

1. La concentración de las formas de As en el grano de arroz mostró variaciones espaciales a escala local e intercontinental. La concentración de tAs en el arroz comercial de la península Ibérica fue significativamente más elevada que en Latinoamérica:

A nivel local (Ecuador) se observó que el contenido de tAs en la planta y grano de arroz en las provincias de la Costa fue muy superior que la provincia de Orellana.

-A nivel intercontinental, se observó que el contenido de tAs en grano de arroz fue muy superior en el arroz de la península Ibérica. Sin embargo, la especiación de las formas de As indica que la diferencia reside en un mayor contenido del oAs, especialmente del DMA, mientras que el contenido del iAs fue similar a los arroces de Latinoamérica.

2. El estudio de detalle de los suelos de los campos de cultivo de Ecuador, comparando las provincias costeras y de la zona ecuatorial, muestra que la reactividad de los coloides de baja grado de cristalinidad del suelo, juega un papel relevante en cuanto a la biodisponibilidad de As para la planta de arroz.

3. El metaanálisis realizado en base a los datos del World Health Organization's GEMS Food muestra que según incrementa el contenido de tAs de la planta disminuye la relación iAs/tAs, lo que está de acuerdo con nuestros resultados que muestran que a partir de una concentración de tAs ~ 0.300 mg kg⁻¹ el DMA es la forma dominante. Por consiguiente un elevado contenido en tAs no implica necesariamente una mayor toxicidad y es necesario conocer el contenido de iAs.

4. Estudios futuros debieran centrarse en entender aquellos parámetros o condiciones ambientales que favorecen la metilación del As en los suelos de cultivos de arroz. En este sentido, el estudio detallado de los suelos de cultivos de arroz de la península Ibérica podría contribuir a la identificación de las condiciones que favorecen la metilación de las formas inorgánicas. Este conocimiento podría ser una

nueva estrategia de manejo dirigida a reducir las formas tóxicas de As en el grano de arroz, aplicable en países de elevado consumo de arroz.

5. Finalmente, los resultados muestran también que el iAs, formas más tóxicas de As, se concentran fundamentalmente en el tallo, cáscara y en las membranas que recubren el grano de arroz (bran layers), de manera que el pulido del grano contribuye sustancialmente a una reducción sustancial de As.

3.6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abedin, M. J., Feldmann, J., Meharg, A. A., 2002. Uptake kinetics of arsenic species in rice plants. *Plant Physiol.* 128, 1120–1128.

Alloway, B.J. (Ed) 2013. *Heavy metals in soils*. Springer. Third Edition.

Appleton, J.D.T.M., Williams, T.M., Orbea, H., Carrasco, M., 2001. Fluvial contamination associated with artisanal gold mining in the Ponce Enríquez, Portovelo-Zaruma and Nambija areas, Ecuador. *Water Air Soil Pollut.* 13, 19–39.

Arao, T., Kawasaki, A., Baba, K., Mori, S., Matsumoto, S., 2009. Effects of water management on cadmium and arsenic accumulation and dimethylarsinic acid concentrations in Japanese rice. *Environ. Sci. Technol.* 43, 9361–9367.

Batista, B. L., Souza, J. M. O., De Souza, S. S., Barbosa, F., 2011. Speciation of arsenic in rice and estimation of daily intake of different arsenic species by brazilians through rice consumption. *Journal of Hazardous Materials.* 191, 342-348.

Blakemore, L.C., 1978. Exchange complex dominated by amorphous material (ECDAM). In: Smith, G.D. (Ed.), *The Andisol Proposal*. Soil Bureau, DSIR, New Zealand, pp. 21–22.

Buján, E. 2013. Elemental composition of phytoliths in modern plants (Ericaceae). *Quaternary International* 297, 114-120.

Bundschuh, J., Litter, M.I., Parvez, F., Román, G., Nicolli, H.B., Jean, J.S., et al. 2012a. 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.

Bundschuh, J., Nath, B., Bhattacharya, P., Liu, C.W., Armienta, M.A., Moreno, M.V., et al., 2012b. Arsenic in the human food chain:

the Latin American perspective. *Science of the Total Environment*, 429, 92–106.

Canfield D.E., Raiswell R., Bottrell S., 1992. The reactivity of sedimentary iron minerals toward sulfide. *Am J Sci*, 292, 659-83.

Carey, A.M., Norton, G.J., Deacon, C., Scheckel, K.G., Lombi, E., Punshon, T., Guerinot, M.L., Lanzirrotti, A., Newville, M., Choi, Y., Price, A.H., Meharg, A.A., 2011. Phloem transport of arsenic species from flag leaf to grain during grain filling. *New Phytol.* 192, 87–98.

Cheajesadagul, P., Shiowatana, J., Siripinyanond, A. Szpunar, J., 2013. *Rice Comprehensive Analytical Chemistry*, 60, 623-655.

Chen, H.-L., Lee, C.-C., Huang, W.-J., Huang, H.-T., Wu, Y.-C., Hsu, Y.-C., Kao, Y.-T., 2016. Arsenic speciation in rice and risk assessment of inorganic arsenic in Taiwan population. *Environ. Sci. Pollut Res. Int.* 23, 4481–4488.

Cumbal L., Vallejo P., Rodriguez B., Lopez D., 2010. Arsenic in geothermal sources at the north-central Andean region of Ecuador: Concentrations and mechanisms of mobility. *Environ Earth Sci.* 61, 299–310.

De la Torre E., Guevara A., Muñoz G., Criollo E., 2004. Estudio de aguas superficiales y sedimentos de la cuenca de los ríos Sucus, Tambo y Papallacta. Quito, Ecuador: Unpublished report for the Ecuadorian Congress.

Dos Santos, G. M., Pozebon, D., Cerveira, C., de Moraes, D. P., 2017. Inorganic arsenic speciation in rice products using selective hydride generation and atomic absorption spectrometry (AAS). *Microchemical Journal.* 133, 265-271.

EU 2015/1006 of 25 June 2015, amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels of inorganic arsenic in foodstuffs. *OJ L* 161, 26.6.2015, p. 14–16.

Espinosa, J., Moreno, J., Bernal, G. (Eds.). 2017. *The Soils of Ecuador*. Springer.

Esteban I, Marean CW, Fisher EC, Karkanas P, Cabanes D, Albert RM, 2018. Phytoliths as an indicator of early modern humans plant gathering strategies, fire fuel and site occupation intensity during the Middle Stone Age at Pinnacle Point 5-6 (South Coast, South Africa). *PLoS ONE* 13(6): e0198558.

Ewers, U., 1991. Standards, guidelines and legislative regulatory concerning metals and their compounds. In: Merian, E. (Ed.), *Metals and Their Compounds in the Environment*. VCH Publishers, Weinheim, Germany, pp. 707–711.

FAOSTAT, 2018. Food and Agriculture Organization. Food Balance Sheets.

Fransisca, Y., Small, D. M., Morrison, P. D., Spencer, M. J. S., Ball, A. S., Jones, O. A. H., 2015. Assessment of arsenic in Australian grown and imported rice varieties on sale in Australia and potential links with irrigation practices and soil geochemistry. *Chemosphere*. 138, 1008-1013. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.12.048>.

Georgiadis, A., Sauer, D., Herrmann, L., Breuer, J., Zarei, M. Stahr, K. 2013. Development of a method for sequential Si extraction from soils. *Geoderma* 209, 251-261.

Gee, G.W., Bauder, J.W., 1986. Particle-size analysis. In: Klute, A. (Ed.), *Methods of Soil Analysis. Part 1. Physical and Mineralogical Methods*. American Society of Agronomy, and Soils Science of America, Madison, Wisconsin, USA, pp. 383–411.

Geng, A., Wang, X., Wu, L., Wang, F., Chen, Y., Yang, H., Zhang, Z., & Zhao, X., 2017. Arsenic accumulation and speciation in rice grown in arsenic acid-elevated paddy soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 137, 172-178.

Hu, P., Ouyang, Y., Wu, L., Shen, L., Luo, Y., Christie, P., 2015. Effects of water management on arsenic and cadmium speciation and accumulation in an upland rice cultivar. *J. Environ. Sci.* 27, 225–231.

Huang, J.-H., Ilgen, G., Fecher, P., 2010. Quantitative chemical extraction for arsenic speciation in rice grains. *J. Anal. At. Spectrom.* 25, 800–802.

INEC, 2013. Anuario estadístico 2013 Ecuador (Quito, Ecuador).

INIAP. 2007. Manual del cultivo de arroz . Segunda Edición. Guayaquil.

Islam, S., Rahman, M. M., 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, 139-155.

IUSS Working Group WRB. 2014. World Reference Base for Soil Resources 2014. International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. World Soil Resources Reports No. 106. FAO, Rome. <http://www.fao.org/3/i3794en/I3794en.pdf>

Jackson, B.P., Punshon, T. 2015. Recent Advances in the Measurement of Arsenic, Cadmium, and Mercury in Rice and Other Foods. *Curr. Environ. Health. Rep.* 2, 15-24.

Jia, Y., Sun, G.-X., Huang, H., Zhu, Y.-G. 2013. Biogas slurry application elevated arsenic accumulation in rice plant through increased arsenic release and methylation in paddy soil. *Plant Soil* 365, 387–396.

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 & Technology.* 44, 8515-8521.

Kumarathilaka, P., Seneweera, S., Meharg, A., Bundschuh, J. 2018. Arsenic speciation dynamics in paddy rice soil-water environment: sources, physico-chemical, and biological factors - A review. *Water Research* 140:403-14.

Li, R.-Y., Ago, Y., Liu, W.-J., Mitani, N., Feldmann, J., McGrath, S.P., Ma, J.F., Zhao, F.-J. 2009. The rice aquaporin Lsi1 mediates uptake of methylated arsenic species. *Plant Physiol.* 150, 2071–2080.

Livesey, N. T., Huang, P. M. 1981. Adsorption of arsenate by soils and its relation to selected chemical properties and anions. *Soil Sci.* 131, 88-94.

Lomax, C., Liu W.J., Wu L.Y., Xue K, Xiong J.B., Zhou J.Z., et al. 2012. Methylated arsenic species in plants originate from soil microorganisms. *New Phytol*, 193, 665–672.

Lombi, E., Scheckel, K.G., Pallon, J., Carey, A.M., Zhu, Y.G., Meharg, A.A. 2009. Speciation and distribution of arsenic and localization of nutrients in rice grains. *New Phytol.* 184:193–201.

Ma J.F., Yamaji N., Mitani N., Xu X.Y., Su Y.H., McGrath S.P., Zhao F.J. 2008. Transporters of arsenite in rice and their role in arsenic accumulation in rice grain. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 105, 9931-9935.

Mandal, B., Suzuki, K. 2002. Arsenic round the world: a review. *Talanta.* 58, 201–2035.

Masscheleyn, P.H., Delaune, R.D., Patrick, W.H. 1991. Effect of redox potential and pH on arsenic speciation and solubility in a contaminated soil. *Environ. Sci. Technol.* 25, 1414–1419

Matschullat, J. 2000. Arsenic in the geosphere – a review. *Sci. Total Environ.* 249, 297–312.

Meharg A.A., Rahman M. 2003. Arsenic contamination of Bangladesh paddy field soils: implications for rice contribution to arsenic consumption, *Environ. Sci. Technol.* 37, 229–234.

Meharg, A. A., Williams, P. N., Adomako, E., Lawgali, Y. Y., Deacon, C., Villada, A., Yanai, J. 2009. Geographical Variation in Total and Inorganic Arsenic Content of Polished (White) Rice. *Environ. Sci. Technol.* 43(5), 1612–1617.

Meharg, A.A., Zhao, F.J. 2012. *Arsenic and Rice*. Springer Netherlands.

Mehlich, A. 1984. Mehlich 3 soil test extractant: a modification of the Mehlich 2 extractant. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 15, 1409–1416.

Mladenov, N., Zheng Y., Miller MP, Nemergut D.R., Legg T., Simone B. et al. 2010. Dissolved Organic Matter Sources and Consequences for Iron and Arsenic Mobilization in Bangladesh Aquifers. *Environ Sci Technol.* 44,123-8.

Mladenov, N., Zheng, Y., Simone, B., Bilinski, T.M., McKnight, D.M., Nemergut, D., Radloff, K.A., Rahman, M.M., Ahmed, K.M. 2015. Dissolved organic matter quality in a shallow aquifer of Bangladesh: implications for arsenic mobility. *Environ. Sci. Technol.* 49,, 10815e10824.

Moreno, J., Sevillano, G.,Valverde, O., Loayza,V., Haro, R., Zambrano, J. 2018. Soil from the Coastal Plane. In *The Soils of Ecuador* (Eds. Espinosa, G. Bernal, j. Moreno). Chapter 2. Springer.

Norton, G. J., Islam, M. R., Duan, G., Lei, M., Zhu, Y., Deacon, C. M., Meharg, A. A. 2010. Arsenic shoot-grain relationships in field grown rice cultivars. *Environmental Science & Technology*, 44(4), 1471-1477.

Norton G.J., Pinson SRM, Alexander J., McKay S, Hansen H., Duan G.-L., et al. 2012. Variation in grain arsenic assessed in a diverse

panel of rice (*Oryza sativa*) grown in multiple sites. *New Phytol.* 193: 650–64.

Norton, G.J., Adomako, E.E., Deacon, C.M., Carey, A.-M., Price, A.H., Meharg, A.A. 2013. Effect of organic matter amendment: arsenic amendment and water management regime on rice grain arsenic species. *Environ. Pollut.* 177, 38–47.

Nunes, L., Otero, X.L. 2017. Quantification of health risks in Ecuadorian population due to dietary ingestion of arsenic in rice. *Environ Sci Pollut Res.*, 24, 27457–27468.

Otero, X. L., Tierra, W., Atiaga, O., Guanoluisa, D., Nunes, L. M., Ferreira, T. O., Ruales, J. 2016. Arsenic in rice agrosystems (water, soil and rice plants) in Guayas and Los Ríos provinces, Ecuador. *Science of The Total Environment.* 573, 778-787.

Paikaray, S., Banerjee, S., Mukherji, S. 2005. Sorption of arsenic onto Vindhyan shales: role of pyrite and organic carbon. *Curr. Sci.* 1580e1585.

Pais, I., Jones Jr., J.B. 1997. *The Handbook of Trace Elements*. St. Lucie Press, Boca Raton, Florida.

Parr, J.F., Lentfer, C.J., Boyd, W.E. 2001. A comparative analysis of wet and dry ashing techniques for the extraction of phytoliths from plat material. *Journal of Archeological Science* 28, 875-886.

Pedron T., Segura F.R., da Silva F.F., de Souza A.L., Maltez H.F., Batista B.L. 2016. Essential and non-essential elements in Brazilian infant food and other rice-based products frequently consumed by children and celiac population. *Journal of Food Composition and Analysis.* 49,78-86.

Pinto E., Almeida A., Ferreira I. 2016. Essential and non-essential/toxic elements in rice available in the Portuguese and Spanish markets. *Journal of Food Composition and Analysis.* 48, 81-87.

Piperno, D. R. 2006. *Phytoliths: A comprehensive guide for archaeologists and Paleoecologists*. AltaMira Press ISBN 0759103852.

Pizarro, I., Gómez, M.; Cámara, C., Palacios, M.A. 2003. Arsenic speciation in environmental and biological samples: Extraction and stability studies. *Analytica Chimica Acta* 495:85-98.

Raab A., Williams P.N., Meharg, A., Feldmann J. 2007a. Uptake and translocation of inorganic and methylated arsenic species by plants. *Environ. Chem.* 4, 197–203.

Raab A., Ferreira K., Meharg A.A., Feldmann J. 2007b. Can arsenic- phytochelatin complex formation be used as an indicator for toxicity in *Helianthus annuus*. *J. Exp. Bot.*, 58, 1333–1338.

Rasheed, H.; Kay, P.; Slack, R.; Gong, Y.Y. 2018. Arsenic species in wheat, raw and cooked rice: Exposure and associated health implications. *Science of The Total Environment* 634:366-73.

Rego, A., Mota, C., Gueifão, S.; Ventura, M., Delgado, I.; Lopes, J., Matos, A., Castanheira, I. 2018. Amino acid contents and toxically relevant arsenic of rice varieties consumed in Portugal. *Measurement* 113:189-95; 2018.

Sánchez, D., Merlo, J., Haro, R., Acosta, M., Bernal, G. 2018. Soils from Amazonia. In *The Soils of Ecuador* (Eds. Espinosa, G. Bernal, j. Moreno). Chapter 4. Springer.

Segura, F. R., de Oliveira Souza, J. M., De Paula, E. S., da Cunha Martins, A., Paulelli, A. C. C., Barbosa, F., Batista, B. L. 2016. Arsenic speciation in brazilian rice grains organically and traditionally cultivated: Is there any difference in arsenic content?. *Food Research International* 89, 169-176.

Segura F.R, Paulelli A.C., Braga G., dos Reis Pedreira Filho W., Silva F., Batista B. 2018. Promising filamentous native fungi isolated from paddy soils for arsenic mitigation in rice grains cultivated under flooded conditions. *Journal of Environmental Chemical Engineering*.6, 3926-3932.

Signes-Pastor, A. J., Carey, M., Carbonell-Barrachina, A. A., Moreno-Jiménez, E., Green, A. J., Meharg, A. A. 2016. Geographical variation in inorganic arsenic in paddy field samples and commercial rice from the Iberian península. *Food Chemistry*. 202, 356-363.

Smedley, P.L., Kinniburgh, D.G. 2002. A review of the source, behaviour and distribution of arsenic in natural waters. *Applied Geochemistry* 17, 517–568.

Soil Taxonomy. 2010. Keys to Soil Taxonomy. 10th edn. USDA - NRCS, Washington.

Suriyagoda L, Ditter K., Lambers H. 2018. Mechanism of arsenic uptake, translocation and plant resistance to accumulate arsenic in rice grains. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 253, 23-37.

Torres-Escribano S., Leal M., Vélez D., & Montoro R. 2008. Total and Inorganic Arsenic Concentrations in Rice sold in Spain, effect of cooking, and risk assessments. *Environ. Sci. Technol.* 42, 3867-3872.

USFDA, 2013. Analytical results from inorganic arsenic in rice and rice products. Sampling September 2013. Summary table - inorganic arsenic in rice and rice products includes results from September 2012. U.S. Food and Drug Administration. Washington, D. C., U.S.A.

Vepraskas, M.J., Craft, B. 2016. *Wetland Soils: Genesis, Hydrology, Landscapes, and Classification*. Second edition. CRS press.

Wang, Z. and Forsyth, D., 2012. Methods for the Determination of Arsenic Speciation in Rice: A Review. *Encyclopedia of Analytical Chemistry*. 1-19.

WHO. 2018. GEMS/Food contaminants database. World Health Organization. Geneva, Switzerland. Retrieved from <https://extranet.who.int/gemsfood/>.

Williams, P. N., Price, A. H., Raab, A., Hossain, S. A., Feldmann, J., Meharg, A. A. 2005. Variation in arsenic speciation and concentration in paddy rice related to dietary exposure. *Environ. Sci. Technol.* 39(15), 5531–5540.

Williams P.N., Raab A., Feldmann J., Meharg A.A. 2007a. Market basket survey shows elevated levels of as in South Central US processed rice compared to California: consequences for human dietary exposure, *Environ. Sci. Technol.* 41, 2178–2183.

Williams P.N., Villada A., Deacon C., Raab A., Figuerola J., Green A.J., Feldmann J., Meharg A.A. 2007b. Greatly enhanced arsenic shoot assimilation in rice leads to elevated grain levels compared to wheat and barley, *Environ. Sci. Technol.* 41, 6854–6859.

Williams, P.N., Zhang, H., Davison, W., Meharg, A.A., Hossain, M., Norton, G.J., Brammer, H., Islam, M.R. 2011. Organic matter - solid phase interactions are critical for predicting arsenic release and plant uptake in Bangladesh paddy soils. *Environ. Sci. Technol.* 45, 6080e6087.

WHO. 2018. GEMS/Food contaminants database. World Health Organization. Geneva, Switzerland. Assessed: December 2018. (<https://extranet.who.int/gemsfood/>)

Wu C., Zou Q., Xue S.G., Pan WS, Yue X., Hartley W., Huang L, Mo J.Y. 2016. Effect of silicate on arsenic fractionation in soils and its accumulation in rice plants. *Chemosphere*. 165:478-486.

Xu, X.Y., McGrath, S.P., Meharg, A.A., Zhao, F.J. 2008. Growing rice aerobically markedly decreases arsenic accumulation. *Environ. Sci. Technol.* 42, 5574–5579.

Yamaguchi, N., Nakamura, T., Dong, D., Takahashi, Y., Amachi, S., & Makino, T. 2011. Arsenic release from flooded paddy soils is influenced by speciation, Eh, pH, and iron dissolution. *Chemosphere*. 83, 925-932.

Yu H., Wang X., Li F., Li B., Liu C., Wang Q., & Lei J. 2017. Arsenic mobility and bioavailability in paddy soil under iron compound amendments at different growth stages of rice. *Environmental Pollution*. 224, 136-147.

Zavala, Y. J., Gerads, R., Gürleyük, H., & Duxbury, J. M. 2008. Arsenic in Rice : II . Arsenic Speciation in USA Grain and Implications for Human Health. *Environ. Sci. Technol.* 42(10), 3861–3866.

Zhang, H., Selim, H.M. 2005. Kinetics of Arsenate Adsorption-Desorption in Soils. *Environ. Sci. Technol.* 39, 6101-6108.

Zhao, F. J., Ma, J. F., Meharg, A. A., McGrath, S. P. 2009. Arsenic uptake and metabolism in plants. *The New Phytologist*, 181(4), 777-794.

Zhao F.J., McGrath SP, Meharg A.A. 2010. Arsenic as a food-chain contaminant: mechanisms of plant uptake and metabolism and mitigation strategies. *Ann Rev Plant Biol* 61, 535–559

Zhao, F.J., Zhu, Y.G., Meharg, A.A. 2013. Methylated arsenic species in rice: geographical variation origin, and uptake mechanisms. *Environ. Sci. Technol.* 47, 3957–3966.

Zhu, Y.-G., Sun, G.-X., Lei, M., Teng, M., Liu, Y.-X., Chen, N.-C., et al. 2008. High percentage inorganic arsenic content of mining impacted and non impacted Chinese rice. *Environmental Science & Technology*. 42, 5008–5013.

4. EFECTO DE LA COCCIÓN SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE ARSÉNICO EN EL ARROZ





RESUMEN

El arroz puede alcanzar elevadas concentraciones de elementos tóxicos como el As, sin embargo la forma de cocción puede reducir sustancialmente su concentración. En este trabajo se evaluó el efecto del lavado y la cocción sobre el contenido de total As (tAs) y sus formas inorgánicas (As (III), As (V)) y orgánicas (arsenobetaina AsB; ácido dimetil arsínico, DMA; ácido monometil arsónico, MMA) en diferentes tipos de arroces (pulido e integral) procedentes de España y de Ecuador. Para ello el arroz fue sometido a cinco tratamientos diferentes.

Los resultados muestran que la cantidad de As eliminado osciló significativamente según el tratamiento. La menor reducción de As (8% del contenido total de As) se obtuvo cuando el arroz fue sometido a una cocción a sequedad, sin previo lavado y una baja relación arroz: agua (1:3), mientras que cuando se incrementa la relación arroz: agua (1:6) el porcentaje de reducción fue superior (30%). Una mayor reducción del contenido tAs se obtuvo para los tratamientos de solo lavado y el combinado de lavado y cocción, oscilando la reducción del contenido de tAs entre 36-59%. Sin embargo el tratamiento T5, tres lavados del grano y cocción con exceso de agua, fue el único que redujo significativamente el contenido de tAs respecto al arroz crudo.

Con respecto a las especies de As, cabe destacar que los diferentes tratamientos redujeron sustancialmente el contenido de las formas más tóxicas de As. Así para el As (III) la disminución de su concentración osciló entre 13-57% y el As (V) entre 20-50%, correspondiendo los valores más elevados al tratamiento 5 que fue el único que se diferenció significativamente respecto al contenido de estas formas de As en el grano crudo.

Se determinó el riesgo estimado de cáncer (CR) para arroz sometido a lavado, 1.5×10^{-5} , cocinado sin lavado previo, 1.4×10^{-5} , y prelavado y descartando el agua de cocción, 4.8×10^{-6} , estos valores indican que el lavado previo puede reducir el riesgo al 50%, pero si el exceso de agua también es descartado, el riesgo se reduce al 83%, siendo este último el método preferente.

4.4 INTRODUCCIÓN

El As es considerado por la IARC (International Agency for Research on Cancer, 2012) como cancerígeno clase I, siendo la principal vía de exposición el consumo de agua contaminada (Rahman et al., 2018; Davis et al., 2017; Rasheed et al., 2018). Sin embargo, en aquellos países en donde el arroz es la base de la alimentación (i.e. SE asiático, Latinoamérica), el arroz representa también una vía importante de ingesta de As debido a su capacidad para bioacumular As (Rahman et al., 2018, Williams et al., 2007a,b; Davis et al., 2017).

Las especies predominantes en el grano de arroz son las formas inorgánicas (As (III), As (V)) y el ácido dimetil arsínico (DMA) (Signes-Pastor et al., 2016; Zhu et al., 2008), siendo las formas inorgánicas mucho más tóxicas que las orgánicas (Meharg y Zhao, 2012). Además, se ha observado que la toxicidad del As depende de otros factores como son la cantidad de arroz consumida (Mandal et al., 2019), tipo de arroz (pulido, integral, orgánico, etc) (Segura et al., 2016, Yim et al, 2017, Meharg et al., 2008, Zhu et al, 2008), peso del consumidor (USEPA, 1989), y factores que influyen en la toxicidad del compuesto químico, incluyendo etapa de vida, género, estatus nutricional y exposiciones concurrentes a otros agentes o factores ambientales (NRC, 1999) Más recientemente, también se ha visto que la forma en como es cocinado influye sustancialmente en la concentración de As ingerido (Rahman et al., 2018).

La mayor parte de estudios sobre el contenido de arsénico total (tAs) y sus formas químicas se han llevado a cabo principalmente en el grano de arroz crudo (ver p. ej. Raber et al., 2012, Otero et al., 2016, Nunes y Otero, 2017; Chen et al., 2016, Dos Santos et al., 2017), sin embargo es importante considerar su presencia en arroz cocido, ya que de esa forma es consumido por la población (Jitaru et al., 2016).

El lavado previo del arroz y el modo de cocción puede lograr una reducción sustancial del contenido de As en el arroz (Jitaru et al., 2016; Meharg y Zhao, 2012; Naito et al., 2015; Sharafi, 2019). Trabajo previos han analizado principalmente la presencia de total As (tAs) y/o formas inorgánicas de As (iAs) utilizando diferentes procesos de lavado y cocción de arroz (Mandal et al., 2019), pero pocos estudios han

considerado las especies orgánicas de As (oAs), consideradas menos tóxicas que el iAs (Rasheed et al., 2018).

Teniendo en cuenta que la toxicidad del As depende esencialmente de las formas químicas, el principal objetivo de este estudio fue determinar el efecto del lavado del grano y la cocción tienen sobre la concentración del tAs y sus formas inorgánicas (iAs) y orgánicas (oAs) en muestras de arroces comerciales procedentes de Ecuador y de España. Para ello se han realizado 5 tratamientos, combinando lavados con diferentes volúmenes de agua y diferentes formas de cocción (con o sin exceso de agua) en muestras de arroz integral y pulido. Después de cada tratamiento se realizó la extracción de As y se determinó el contenido tAs y sus formas químicas inorgánicas (As (III), As (V)) y orgánicas (ácido dimetilarsínico DMA, ácido monometil arsónico, MMA; y arsenobetaina AsB).

4.5 MATERIAL Y MÉTODOS

4.5.1 Tratamiento del grano de arroz

Siete muestras de arroz comercial de Ecuador (2 muestras) y España (5 muestras), de las cuales 4 muestras corresponden a arroz pulido y 3 a arroz integral, fueron sometidos a diferentes tratamientos para determinar el efecto del lavado y tipo de cocción sobre la concentración de tAs y sus especies.

Los tratamientos diseñados teniendo en consideración trabajos previos (Jitaru et al., 2016, Mihucz et al., 2007; Naito et al., 2015; Raab et al., 2009; Fig. 4.1). Para ello cincuenta gramos de arroz fueron sometidos a los siguientes tratamientos:

- Tratamiento T0. Determinación de la concentración de tAs y sus formas inorgánicas (iAs) y orgánicas (oAs) en la muestra de arroz crudo.
- Tratamiento T1. La muestra se sometió a tres ciclos de lavados con 300mL de agua ultrapura (MilliQ) con agitación manual durante tres minutos
- Tratamiento T2. La muestra fue cocida directamente hasta completa absorción del agua de cocción, sin lavado previo, usando 150 ml de agua ultrapura (MilliQ) en una relación 1:3.

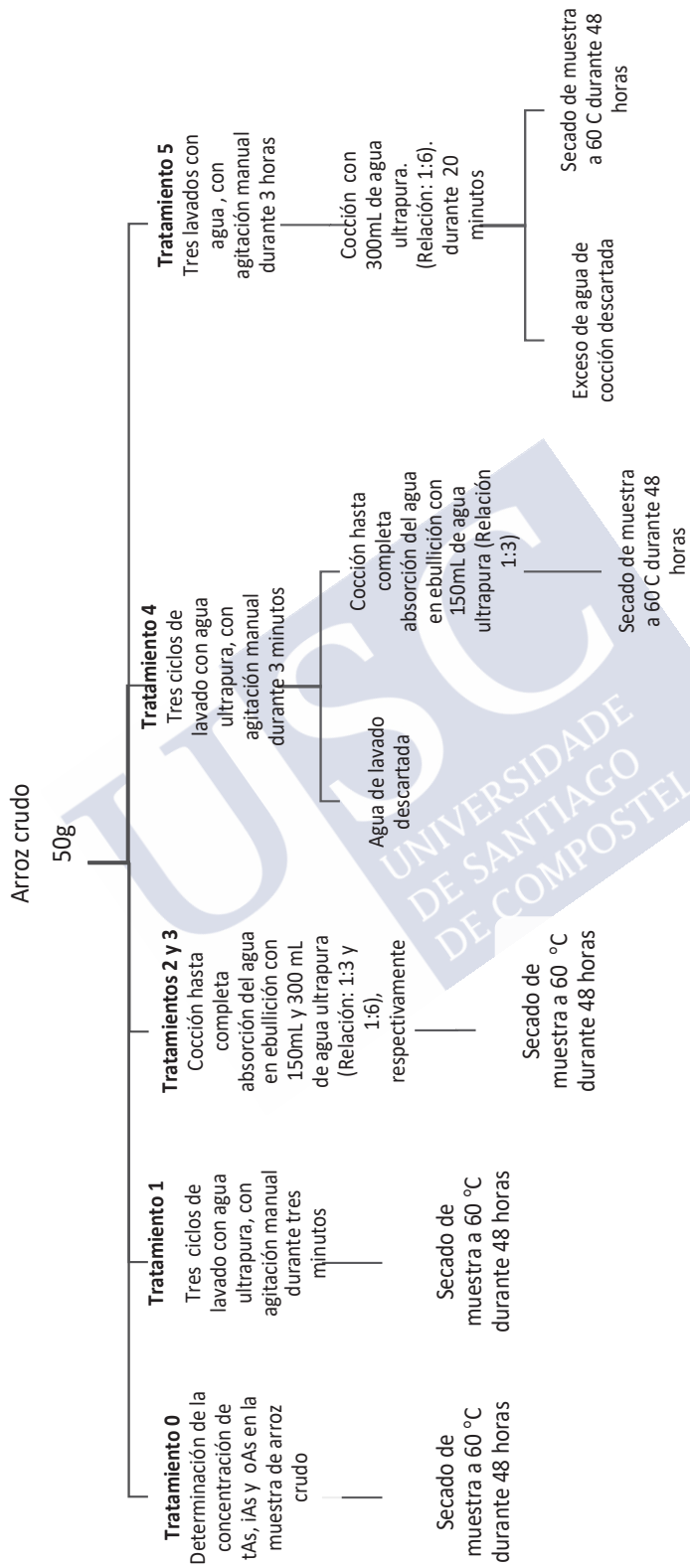


Figura 4.1. Tratamientos de lavado y cocción aplicados a muestras de arroz

- Tratamiento T3. Igual al tratamiento 2, pero en este caso se utilizaron 300 mL de agua MilliQ en una relación 1:6.

- Tratamiento T4. La muestra se sometió a tres ciclos de lavado con 300mL (1:6) de agua ultrapura con agitación manual durante tres minutos, el agua de lavado fue descartada y el arroz sometido a cocción a sequedad con 150 mL (1:3) de agua ultrapura (Mili Q).

- Tratamiento T5. La muestra se sometió a un proceso de lavado similar al descrito en el ítem anterior (Tratamiento T4), posteriormente la muestra de arroz se sometió a cocción con exceso de agua ultrapura MilliQ (300mL) por 20 minutos, descartando el exceso de agua de cocción.

Después de cada tratamiento las muestras fueron secadas a 65°C hasta peso constante (~48h), molidas en un molino de ágata y almacenadas en fundas de polietileno a temperatura ambiente hasta su posterior análisis.

4.5.2 Determinación de concentración de As en grano de arroz

El tAs se determinó en 0.5-1.0 g de muestra previamente molida. Las muestras fueron digeridas con una mezcla de HNO₃ y H₂O₂ (Meharg and Rahman, 2003): 5 mL de HNO₃ (65%), 1mL de H₂O₂ (33%) y 5mL de agua ultrapura (w/v), dejando en reposo durante una noche. Posteriormente, los tubos se colocaron en una placa de calentamiento (Perkin Elmer SPB 48-50) a una temperatura de 95°C por 45 minutos durante 3 horas. El extracto fue filtrado por 0.45µm. El contenido de As total fue determinado con un ICP-MS (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, U.S.A).

La especiación de As fue llevado a cabo con 0,5 g de muestra (peso seco) y la extracción se realizó con 15 ml de HNO₃ 0.28 M (65%, Merck) a 95 °C durante 90 min. Las muestras fueron centrifugadas a 10,000 rpm a 4 °C por 20 min, el sobrenadante fue filtrado a través de un filtro de 0.45 µm y conservadas a -20°C hasta su análisis. La concentración de las fracciones de As inorgánico (iAs: ΣAs (III), As (V)) y As orgánico (oAs: ΣDMA; MMA; AsB) fueron analizadas en un HPLC (Varian Prostar, Spectralab Scientific, Toronto, Canada) acoplado a un sistema ICP-MS (Varian 820-MS).

En paralelo se analizó el material de referencia certificado (CRM)

harina de arroz 1568b del NIST USA. Los valores medios obtenidos para las diferentes especies de arsénico fue: iAs: 0.109 ± 0.038 ; DMA: 0.218 ± 0.093 y 0.018 ± 0.001 MMA lo que representan un porcentaje de recuperación de 107%, 113% y 118% respectivamente. El límite de detección (LD) fue de $3.75 \mu\text{g kg}^{-1}$ para las formas inorgánicas y $1.35\text{--}4.35 \mu\text{g kg}^{-1}$ para las formas orgánicas.

La media y el porcentaje de recuperación de tAs del CRM (n=4) fue de $0,349 \pm 0,102$ y 123%, respectivamente.

4.5.3 Metodología para el cálculo del riesgo estimado de Cáncer (CR)

La ingesta diaria estimada (*EDI*) fue calculada por evaluación de la cantidad de iAs que un individuo está expuesto por día y por kilogramo de peso de cuerpo promedio (ecuación 1).

$$EDI = \frac{iAs \cdot IR}{BW} \quad (1)$$

Donde *iAs* es la concentración de arsénico inorgánico en el arroz ($\mu\text{g/kg}$), *IR* es la razón de ingestión (kg/d), y *BW* es el peso de cuerpo promedio (kg).

Actualmente, no es aceptada la ingesta diaria tolerable provisional para el arsénico inorgánico. La Organización Mundial de la Salud (OMS) concluyó que el valor de $2.1 \mu\text{g/kg.d}$ ya no se considera como protección para la salud (FAO/WHO, 2011). Se calculó en su lugar el riesgo estimado de cáncer (CR), el cual es proporcional a la EDI, siendo el coeficiente de proporcionalidad conocido como factor de pendiente del cáncer (CSF), y es igual a $1.5 \times 10^{-3} (\mu\text{g/kg.d})^{-1}$ (USEPA, 1995):

$$CR = EDI \times CSF$$

4.5.4 Análisis estadístico

Se usó un análisis de varianza de una o dos vías con la prueba post-hoc HSD para determinar las diferencias entre medias, para un nivel de significación de 0.10. La prueba de Doornik-Hansen fue usada para chequear la normalidad. Los valores de concentración se transformaron logarítmicamente y se distribuyeron normalmente (prueba de Doornik-Hansen, $p > 0.10$).

4.6 RESULTADOS

4.6.1 Efecto del lavado y/o cocción sobre el contenido de As total

Se determinaron diferencias significativas en las concentraciones de tAs entre los diferentes tratamientos ($F(5,36)=2.4$, $p<0.10$) para el arroz pulido. La cocción sin lavado y sin remoción del exceso de agua (tratamiento T2 y T3) no reduce significativamente el contenido de tAs en el arroz cocido cuando comparamos con el arroz crudo (Fisher's HSD ($n=36$), $p>0.10$). Al contrario, el lavado antes de la cocción puede reducir eficientemente la concentración de tAs en el arroz cocido (Fisher's HSD ($n=36$), $p<0.10$), cuando se incrementa la eficiencia el orden es el siguiente: T2, T4, T5 (Fig.4.2).

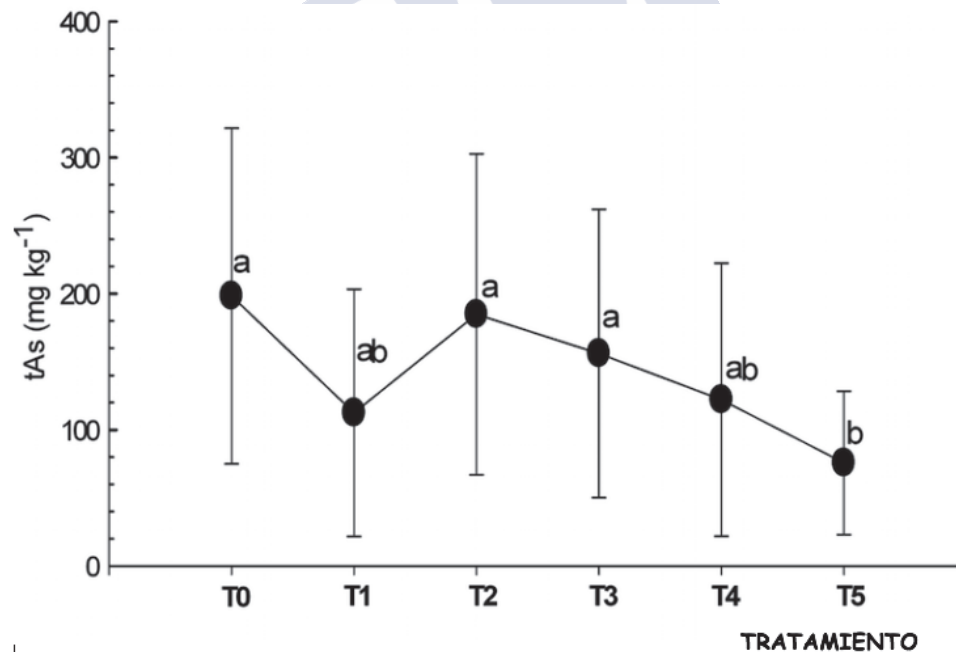


Figura 4.2 Reducción de la concentración tAs por tipo de tratamiento. Letras diferentes significan diferencias significativas ($p<0.10$)

Tratamiento T0. Las concentraciones de tAs de los arroces procedentes de España (arroz pulido: 0.163-0.234 mg kg⁻¹ (n=4); arroz integral: 0.231-0.438 mg kg⁻¹, n=2) fueron superiores que las de Ecuador (arroz pulido: 0.090 mg kg⁻¹, arroz integral: 0.165 mg kg⁻¹, n=1). Estos resultados están de acuerdo con los obtenidos en trabajos previos que indican que los arroces de España presentan habitualmente un contenido elevado de tAs (ver por ejemplo Meharg y Zhao, 2012, Signes-Pastor et al., 2016, Torres-Escribano, et al., 2008). No obstante cabe destacar las bajas concentraciones de tAs obtenidas para el arroz ecológico de España (0.067 mg kg⁻¹) (Tabla 4.1). Por tipología de arroz, la concentración de tAs para arroz pulido crudo (T0) (0.138±0.076 mg kg⁻¹) fue inferior que la del arroz integral (0.278±0.142 mg kg⁻¹) (Tabla 4.1).

El tratamiento T1 (sólo lavado), junto con el tratamiento T5, fueron los procesos que mayor cantidad de tAs eliminaron. La concentración de tAs en el arroz pulido una vez lavado (T1) osciló entre 0.024-0.097 mg kg⁻¹ y para el T5 entre 0.02-0.075 mg kg⁻¹. Estos valores representan un 39% y 59% de reducción, respetivamente (Tabla 4.1). La concentración tAs osciló entre 0.025 -0.097 mg kg⁻¹ para el arroz pulido y entre 0.095- 0.310 mg kg⁻¹ para el arroz integral.

En el tratamiento de cocción a sequedad con 150 mL y sin lavado (T2) representó una reducción del tAs de 8.4% (rango 4-18%). El mayor porcentaje de reducción fue para una de las muestras de arroz pulido de España (17%). La concentración de tAs en el T2 osciló entre 0.081- 0.193 mg kg⁻¹ para el arroz pulido y entre 0.151-0.423 mg kg⁻¹ para el arroz integral.

El tratamiento de cocción a sequedad con 300 ml y sin lavado (T3) significó una reducción de la concentración de tAs del 30% (rango 7-49%). La concentración de tAs osciló entre 0,084-0,122 mg kg⁻¹ para el arroz pulido y entre 0,113 - 0,362 mg kg⁻¹ para el arroz integral.

El lavado y cocción a sequedad (T4) redujo el contenido de tAs en arroz pulido en 53%, correspondiendo el mayor porcentaje de reducción al arroz pulido de España (74%). La concentración tAs osciló entre 0.060 -0.074 mg kg⁻¹ para el arroz pulido y entre 0.128- 0.338 mg kg⁻¹ para el arroz integral.

Tabla 4.1. Concentración total de As (mg/kg) por tipo de tratamiento recibido

Sitio	Tipo de arroz	Tratamiento					
		T0- Arroz crudo	T1 Solo lavado	T2-Cocción a sequedad (1:3)	T3-Cocción a sequedad (1:6)	T4-Lavado y Cocción a sequedad (1:3)	T5- Lavado y cocción con exceso de agua (1:6)
Ecuador	Integral	0.165	0.101	0.151	0.113	0.128	0.081
	Pulido	0.090	0.097	0.810	0.084	0.065	0.075
España	Pulido	0.233	0.080	0.192	0.122	0.060	0.049
	Integral	0.231	0.095	0.219	0.171	0.128	0.076
	Integral	0.437	0.310	0.422	0.362	0.338	0.184
	Pulido	0.163	0.080	0.153	0.084	0.074	0.042
	Pulido (ecológico)	0.067	0.025	0.073	0.072	0.061	0.020

El lavado y cocción con exceso de agua (T5) fue el tratamiento que redujo la mayor cantidad de tAs en el arroz pulido con un valor medio de 63%, resultando esta reducción para el conjunto de las muestras significativamente inferior al contenido de tAs en el grano crudo (Fig. 4.2). El mayor porcentaje de reducción al arroz pulido de España (79%). La concentración del tAs se redujo a valores que oscilaron entre 0.020-0.075 mg kg⁻¹ para el arroz pulido y entre 0.076-0.184 mg kg⁻¹ para el arroz integral.

4.6.2 Efecto del lavado y/o cocción sobre el contenido de formas de As.

Diferencias estadísticas significativas encontradas en las concentraciones de As en el arroz se debieron a cambios en los valores tanto de iAs y oAs entre el arroz crudo (T0) y el tratamiento T5 (Fisher's HSD, $p < 0.10$) (Fig. 4.3, Tabla S1 anexo 2).

Tratamiento T0. El contenido de las formas de iAs osciló sustancialmente tanto entre países como tipos de arroces (Tablas 4.2, 4.3 y 4.4). La concentración de iA fue superior en los arroces de Ecuador que en los de España; mientras que la concentración de iAs fue más elevada en el arroz integral de Ecuador (0.166 mg kg⁻¹, n=1), seguido de las muestras de arroz pulido de Ecuador (0.135 mg kg⁻¹, n=1), arroz integral de España (valor mediana: 0.118 mg kg⁻¹, n=2) y arroz pulido de España (valor mediana: 0.059 mg kg⁻¹, n=4).

La forma dominante del iAs fue el As(III), con valores que oscilaron entre 0.027-0.131 mg kg⁻¹, excepto en el arroz integral de Ecuador en donde fue ligeramente superior el As(V). La concentración de As (V) osciló para el conjunto de las muestras entre 0.023-0.088 mg kg⁻¹. El oAs presentó la concentración más elevada en el arroz integral de España (0.127 mg kg⁻¹) y las más bajas en el arroz pulido de Ecuador (0.024 mg kg⁻¹), mientras que la concentración de oAs del arroz pulido de España presentó valores similares a las del integral del Ecuador (0.062 mg kg⁻¹ y 0.068 mg kg⁻¹, respectivamente). La forma dominante del oAs fue el DMA, cuyas concentraciones representan 85-100% del oAs. El MMA y el AsB presentaron concentraciones muy bajas, en la mayor parte de los casos por debajo del límite de detección (Tablas 4.2, 4.3 y 4.4, Fig. 4.3).

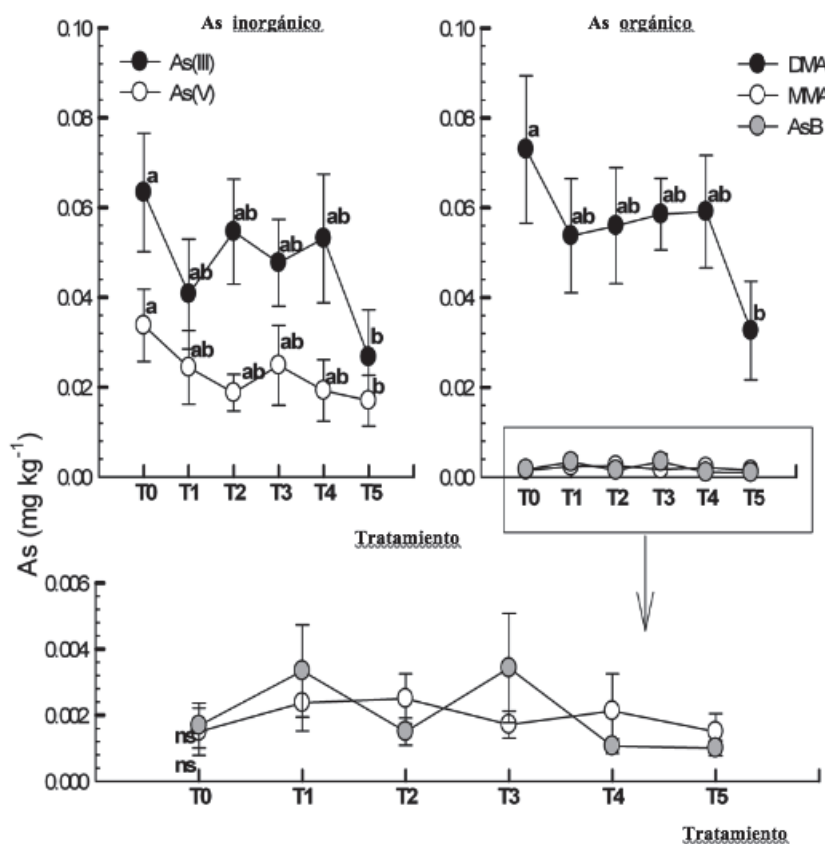


Figura 4.3 Reducción de la concentración de formas de As por tipo de tratamiento. Letras diferentes significan diferencias significativas ($p < 0.05$)

Tratamiento 1. La concentración media de iAs para el arroz pulido de España fue de 0.031 mg kg^{-1} ($n=4$) y para el arroz integral 0.159 mg kg^{-1} ($n=2$), que corresponden a un porcentaje promedio de reducción de 50% y 8%, respectivamente (Tabla 4.2 y 4.3, Fig. 4.3). El arroz pulido de Ecuador la concentración de iAs fue 0.040 mg kg^{-1} ($n=1$) y del arroz integral de 0.142 mg kg^{-1} ($n=1$), representando una reducción del 70% y 14.5% respectivamente. La reducción promedio en el contenido de iAs con el tratamiento T1 fue del 40% tanto para el As (III) y As (V). La concentración de oAs (DMA) se redujo en entre 15-37%.

Tabla 4.2 Concentración de formas químicas de As (mg kg⁻¹) por cada tipo de tratamiento recibido, en arroces de Ecuador. n.a: no analizado

Tratamiento	As(III)	As(V)	∑ inorg As	AsB	DMA	MMA	∑ org As
Arroz integral							
T0-Arroz crudo	0.078	0.088	0.166	0.010	0.058	< L.D.	0.068
T1-Solo lavado (tres ciclos)	0.070	0.072	0.142	0.006	0.052	< L.D.	0.058
T2-Cocción a sequedad (150mL)	0.055	0.042	0.097	< L.D.	0.052	< L.D.	0.052
T3-Cocción a sequedad (300mL)	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a
T4- Tres ciclos de lavado y cocción a sequedad	0.067	0.064	0.131	< L.D.	0.051	0.005	0.056
T5- Tres ciclos de lavado y cocción con exceso de agua	0.039	0.047	0.086	0.002	0.032	< L.D.	0.034
Arroz pulido							
T0-Arroz crudo	0.104	0.031	0.135	< L.D.	0.024	< L.D.	0.024
T1-Solo lavado (tres ciclos)	0.017	0.023	0.040	0.006	0.022	< L.D.	0.028
T2-Cocción a sequedad (150mL)	0.094	0.012	0.105	0.001	0.015	0.002	0.018
T3-Cocción a sequedad (300mL)	0.086	0.021	0.108	0.002	0.023	< L.D.	0.025
T4- Tres ciclos de lavado y cocción a sequedad	0.081	0.022	0.103	0.002	0.011	< L.D.	0.013
T5- Tres ciclos de lavado y cocción con exceso de agua	0.080	0.016	0.096	< L.D.	0.006	< L.D.	0.006

El contenido de oAs fue más elevados en los arroces de España (arroz pulido: 0.045 mg kg⁻¹; integral: 0.104 mg kg⁻¹) que en los de Ecuador (arroz pulido: 0.028 mg kg⁻¹; integral: 0.058 mg kg⁻¹) (Tabla 4.4).

Tratamiento T2. La reducción del iAs osciló entre 14.5 y 49%, siendo el contenido de iAs en los arroces de Ecuador (arroz pulido: 0.105 mg kg⁻¹; arroz integral: 0.097 mg kg⁻¹, n=1, Tablas 4.2 y 4.3) más elevado que en los de España (arroz pulido: 0.042 mg kg⁻¹, n=4; arroz integral: 0.109 mg kg⁻¹, n=2). El porcentaje de reducción promedio con

Tabla 4.3 Concentración de formas químicas de As (mg kg^{-1}) por cada tipo de tratamiento recibido, en arroces de España. n.a: no analizado

Tratamiento	As(III)	As(V)	\sum inorg As	AsB	DMA	MMA	\sum org As
Arroz pulido							
T0-Arroz crudo	0.036	0.023	0.059	0.001	0.082	< L.D.	0.083
T1-Solo lavado (tres ciclos)	0.022	0.008	0.031	0.002	0.046	0.004	0.052
T2-Cocción a sequedad (150mL)	0.029	0.014	0.042	0.003	0.047	0.001	0.052
T3-Cocción a sequedad (300mL)	0.029	0.009	0.038	0.003	0.0735	0.003	0.080
T4- Tres ciclos de lavado y cocción a sequedad	0.022	0.007	0.029	< L.D.	0.067	< L.D.	0.067
T5- Tres ciclos de lavado y cocción con exceso de agua	< L.D.	0.006	0.006	< L.D.	0.027	0.001	0.028
Arroz integral							
T0-Arroz crudo	0.051	0.018	0.068	< L.D.	0.065	0.003	0.068
T1-Solo lavado (tres ciclos)	0.051	0.011	0.062	< L.D.	0.048	0.002	0.051
T2-Cocción a sequedad (150mL)	0.075	0.030	0.105	0.002	0.060	0.007	0.069
T3-Cocción a sequedad (300mL)	0.060	0.070	0.130	0.003	0.0670	< L.D.	0.070
T4- Tres ciclos de lavado y cocción a sequedad	0.066	0.014	0.080	0.001	0.062	< L.D.	0.063
T5- Tres ciclos de lavado y cocción con exceso de agua	0.024	0.009	0.033	< L.D.	0.043	0.004	0.047
Arroz pulido							
T0-Arroz crudo	0.044	0.024	0.068	0.001	0.069	< L.D.	0.070
T1-Solo lavado (tres ciclos)	0.032	0.010	0.042	< L.D.	0.047	< L.D.	0.047
T2-Cocción a sequedad (150mL)	0.039	0.019	0.058	0.001	0.050	< L.D.	0.051
T3-Cocción a sequedad (300mL)	0.036	0.009	0.045	0.001	0.0548	< L.D.	0.056
T4- Tres ciclos de lavado y cocción a sequedad	0.026	0.009	0.035	0.002	0.050	< L.D.	0.052
T5- Tres ciclos de lavado y cocción con exceso de agua	0.000	0.009	0.009	0.000	0.060	< L.D.	0.060

Continuación Tabla 4.3 Concentración de formas químicas de As (mg kg⁻¹) por cada tipo de tratamiento recibido, en arroces de España. n.a: no analizado

Tratamiento	As(III)	As(V)	\sum inorg As	AsB	DMA	MMA	\sum org As
Arroz pulido							
T0-Arroz crudo	0.036	0.023	0.059	0.001	0.082	< L.D.	0.083
T1-Solo lavado (tres ciclos)	0.022	0.008	0.031	0.002	0.046	0.004	0.052
T2-Cocción a sequedad (150mL)	0.029	0.014	0.042	0.003	0.047	0.001	0.052
T3-Cocción a sequedad (300mL)	0.029	0.009	0.038	0.003	0.0735	0.003	0.080
T4- Tres ciclos de lavado y cocción a sequedad	0.022	0.007	0.029	< L.D.	0.067	< L.D.	0.067
T5- Tres ciclos de lavado y cocción con exceso de agua	0.000	0.006	0.006	< L.D.	0.027	0.001	0.028
Arroz integral							
T0-Arroz crudo	0.131	0.038	0.168	0.005	0.176	0.006	0.187
T1-Solo lavado (tres ciclos)	0.209	0.047	0.256	0.011	0.1388	0.007	0.157
T2-Cocción a sequedad (150mL)	0.104	0.009	0.113	0.002	0.140	0.003	0.144
T3-Cocción a sequedad (300mL)	0.074	0.044	0.118	< L.D.	0.080	0.013	0.093
T4- Tres ciclos de lavado y cocción a sequedad	0.130	0.024	0.154	< L.D.	0.133	0.009	0.142
T5- Tres ciclos de lavado y cocción con exceso de agua	0.057	0.037	0.094	0.002	0.1240	0.004	0.130
Arroz pulido							
T0-Arroz crudo	0.027	0.025	0.052	0.000	0.033	< L.D.	0.033
T1-Solo lavado (tres ciclos)	0.003	0.016	0.019	0.002	0.0299	0.003	0.035
T2-Cocción a sequedad (150mL)	0.017	0.010	0.026	0.004	0.037	< L.D.	0.041
T3-Cocción a sequedad (300mL)	0.020	0.012	0.032	0.002	0.0378	< L.D.	0.040
T4- Tres ciclos de lavado y cocción a sequedad	0.011	0.007	0.018	< L.D.	0.032	< L.D.	0.032
T5- Tres ciclos de lavado y cocción con exceso de agua	0.012	0.006	0.018	0.001	0.0040	< L.D.	0.005

Tabla 4.4. Concentración de formas de As por tipo de arroz (integral y pulido) y por tipo de tratamiento. LD < Límite de detección, DS: desviación estándar, n.a.: no analizado

	-----As(V)-----		-----DMA-----		-----MMA-----		-----AsB-----		
	Integral	Pulido	Integral	Pulido	Integral	Pulido	Integral	Pulido	
mg/kg									
T0	Media±DS	0.087±0.04	0.053±0.035	0.048±0.036	0.100±0.066	0.052±0.028	0.003±0.002	0.005±0.004	< L.D.
	Mediana	0.078	0.040	0.038	0.065	0.051	0.003	0.005	< L.D.
T1	Media±DS	0.110±0.086	0.019±0.012	0.043±0.030	0.014±0.007	0.080±0.051	0.003±0.002	0.002±0.002	0.006±0.005
	Mediana	0.070	0.020	0.047	0.013	0.052	0.002	0.006	0.002
T2	Media±DS	0.078±0.025	0.045±0.034	0.027±0.017	0.014±0.004	0.084±0.049	0.003±0.002	0.001±0.001	0.003±0.001
	Mediana	0.075	0.034	0.030	0.013	0.060	0.003	0.002	0.002
T3	Media±DS	0.067±0.039	0.043±0.030	0.057±0.035	0.013±0.006	0.074±0.043	0.007±0.007	0.001±0.001	0.002±0.001
	Mediana	0.067	0.033	0.057	0.011	0.074	0.007	0.002	0.002
T4	Media±DS	0.088±0.037	0.050±0.037	0.034±0.026	0.015±0.008	0.082±0.044	0.005±0.004	< L.D.	0.001±0.001
	Mediana	0.067	0.054	0.024	0.015	0.062	0.005	< L.D.	0.002
T5	Media±DS	0.040±0.016	0.023±0.038	0.031±0.019	0.009±0.005	0.066±0.050	0.003±0.002	0.001±0.001	< L.D.
	Mediana	0.039	0.006	0.037	0.008	0.043	0.004	0.002	< L.D.

este tratamiento fue de 21.5% para As (III) y 47% para el As (V), por lo que las concentraciones de As (III) tienen valores más altos que el As (V) en todos los tipos de arroz analizados. El oAs (fundamentalmente el DMA) se experimentó una reducción del 24-38%, con valores de la mediana de 0.052 mg kg⁻¹ para el arroz pulido de España, 0.106 mg kg⁻¹ para el arroz integral de España, 0.052 mg kg⁻¹ para el arroz integral de Ecuador y 0.018 mg kg⁻¹ para el pulido de Ecuador (Fig. 4.3, Tablas 4.2, 4.3 y 4.4).

Tratamiento T3. Los resultados para la concentración del iAs fueron similares a los del tratamiento 2. El iAs se redujo entre 20-39%, mientras que oAs fue de 4-31%. La concentración de iAs se mantuvo más elevada en los arroces del Ecuador (arroz pulido: 0.108 mg kg⁻¹, Tablas 4.2 y 4.3) que los de España (valores de las medianas: arroz pulido: 0.038 mg kg⁻¹, n=4; arroz integral: 0.124 mg kg⁻¹, n=2). El porcentaje de reducción fue de 25% para el As (III) y de 52% para el As (V). La concentración de oAs osciló entre 0.058 mg kg⁻¹ para el arroz pulido de España y de 0.082 mg kg⁻¹ para el arroz integral de España. Para el arroz pulido de Ecuador la concentración de oAs fue de 0.025 mg kg⁻¹.

Tratamiento 4. El iAs se redujo en un rango entre 8-65%. La concentración de la mediana de iAs para el arroz pulido fue de 0.029 mg kg⁻¹ (n=4) y la del arroz integral de 0.117 mg kg⁻¹ (n=2), que corresponden a una reducción de 55% y 8%, respectivamente. Para el arroz de Ecuador la reducción del iAs alcanza un porcentaje alrededor del 20%, con concentraciones de 0.131 mg kg⁻¹ para el arroz integral y 0.103 mg kg⁻¹ para el arroz pulido. La reducción del As (III) alcanzó un porcentaje medio de 29% y un 46% para el As (V). El oAs presentó porcentajes de reducción similares al iAs (3-48%), siendo la concentración de la mediana de 0.059 mg kg⁻¹ para el arroz pulido de España, 0.102 mg kg⁻¹ arroz integral de España, 0.013 mg kg⁻¹ para el arroz pulido de Ecuador y 0.056 mg kg⁻¹ para el arroz integral de Ecuador.

Tratamiento 5. Fue el que mostró los mayores porcentajes de reducción (iAs: 29-90%, oAs: 4-85%), siendo la concentración de las formas de iAs y del DMA significativamente inferiores a la concentración del grano de arroz crudo (Fig.4.3). La concentración de

la mediana de iAs para arroz pulido de España fue de 0.006 mg kg^{-1} y 0.064 mg kg^{-1} para el arroz integral, mientras que para los de Ecuador fueron de 0.096 mg kg^{-1} para el arroz pulido de Ecuador y 0.086 mg kg^{-1} para el arroz integral de Ecuador. Siendo en el único tratamiento en el cual el porcentaje de reducción para el As (III) (62.5%) superior al As (V) (51%).

Para el oAs se determinaron concentraciones promedio de 0.044 mg kg^{-1} para el arroz pulido de España y 0.089 mg kg^{-1} para el arroz integral de España. Para los arroces de Ecuador las concentraciones de oAs obtenidas fueron de 0.006 mg kg^{-1} para el arroz pulido y 0.034 mg kg^{-1} para el arroz integral.

4.6.3 Ingesta diaria estimada (EDI) y Riesgo estimado de cáncer (CR).

Las bajas concentraciones de iAs en el arroz de España y la relativa baja importancia del arroz en la dieta de los españoles (22.8 g de arroz crudo/día; FAO, 2018) dio como resultado en una EDI para el arroz pulido de 19.4 ng/kg.d para el arroz crudo (T0); 10.0 ng/kg.d para T1; 9.6 ng/kg.d para T2-T4 y 3.2 ng/kg para T5. Los correspondientes valores para CR son: 2.9×10^{-5} , 1.5×10^{-5} , 1.4×10^{-5} , y 4.8×10^{-6} .

El lavado previo del arroz o su cocción utilizando el método tradicional de cocinado en España (T2-T4) parece ser suficiente para reducir el CR en un 50%. El método de cocción T5 reduce el CR en un 83% en comparación con T0 y, por lo tanto, constituye el método más eficiente.

4.7 DISCUSIÓN

4.7.1 Arsénico en el arroz cocido

Los resultados de la concentración de tAs en los arroces de Ecuador y España están de acuerdo con los datos previamente publicados que indican que el contenido de tAs en los arroces de España suele ser elevado (Torres Escribano et al., 2008, Meharg y Zhao, 2012, Signes-Pastor et al., 2016) y fue superior al de Ecuador. Sin embargo, la especie de As mayoritaria en el arroz español es el DMA, cuya toxicidad es inferior a las formas inorgánicas de As (Suriyagoda et al., 2018).

El contenido de tAs y iAs fue también superior en el arroz integral que en el arroz pulido, resultados que están también de acuerdo con el hecho de que el As se concentra fundamentalmente en la parte más externa del grano, que es eliminada en el arroz pulido (Meharg et al., 2008, Zhu et al, 2008, Carey et al., 2010).

La forma más habitual de cocción del arroz en España y en Ecuador es la cocción a sequedad; esto es toda el agua utilizada es absorbida o evaporada (Torres-Escribano et al., 2008). El arroz cocinado a sequedad (tratamiento 2 y 3) correspondió a los tratamientos menos eficientes en cuanto a la eliminación de As (Fig. 4.3), lo cual está de acuerdo con los resultados de otros autores (Sengupta et al., 2006; Torres-Escribano et al., 2008). Además, este sistema de cocción puede suponer un incremento adicional de As en el arroz respecto al arroz crudo si el agua de cocción presenta un contenido anormalmente elevado de As, tal y como ocurre en muchos países del Suroeste asiático (i.e. Bangladesh) (Meharg y Zhao, 2012).

Una reducción significativa del contenido de tAs en el grano de arroz se obtuvo únicamente cuando el arroz fue lavado y cocinado con exceso de agua (1:6, tratamiento 6). El porcentaje medio de tAs eliminado para el conjunto de las muestras (62%) coincide con resultados obtenidos en condiciones similares de lavado y cocción en trabajo previos: 57% de remoción (Sengupta et al., 2006), 54% (Mihucz et al., 2007) y 65 % (Raab et al., 2009). Sin embargo también cabe destacar que el simple lavado del grano de arroz antes de su cocinado conduce a una eliminación sustancial del tAs, especialmente del iAs, que pasa de una relación $iAs/tAs_{arroz\ crudo} = 0.49$ a $iAs/tAs_{T1} = 0.44$ para el conjunto de las muestras, fundamentalmente debido a que el iAs se acumula en la parte externa del grano, mientras que el DMA se encuentra en la parte interna del endosperma (Carey et al., 2010). Raab et al., 2009 encontró también que el lavado y el alto volumen de agua de cocción reduce específicamente iAs pero sin efecto sobre el DMA.

4.7.2 Riesgo estimado de Cáncer (CR)

Estudios previos han estimado la ingesta diaria (EDI) para la población ecuatoriana es el doble de la Europea, pero la mitad a un tercio del EDI de Brasil, Bangladesh o la India. El Riesgo estimado de

Cáncer (CR) en Ecuador para adultos fue de 3.0×10^{-4} , mientras que para infantes varió entre 10×10^{-4} en áreas rurales y 20×10^{-4} en áreas urbanas (Nunes y Otero, 2017). No obstante estos cálculos fueron realizados a partir del contenido de iAs en el grano crudo.

Sin embargo, teniendo en consideración el porcentaje de iAs que se pierde según cada tratamiento el EDI y el CR se redujeron sustancialmente utilizando los datos para el arroz cocinado. Así, el simple lavado de grano de arroz antes de su cocinado redujo el CR en un 50%, mientras que el lavado y cocinado con exceso de agua supone una disminución del 83%, mostrando un escenario más real y menos dramático que el que ofrecen los cálculos a partir de los valores de contenido de As en el grano crudo.

4.8 CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos el lavado y cocción del arroz con exceso de agua, así como también el simple lavado con agua sin contenido de As, serían formas eficientes para reducir significativamente la ingesta de As en la población. El simple lavado del arroz previamente a su cocinado reduce el CR en un 50%.

4.9 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Carey, A. M., Scheckel, K. G., Lombi, E., Newville, M., Choi, Y., Norton, G. J., Charnock, J. M., Feldmann, J., Price, A. H., Meharg, A. A. 2010. Grain unloading of arsenic species in rice. *Plant Physiology*, 152, 309-319.

Chen, H., Lee, C., Huang, W., Huang, H., Wu, Y., Hsu, Y., Kao, Y. 2016. Arsenic speciation in rice and risk assessment of inorganic arsenic in Taiwan population. *Environmental Science and Pollution Research International*, 23, 4481-4488.

Davis, M., Signes-Pastor, A., Argos, M., Slaughter, F., Pendergrast, C., Punshon, T., Gossai, A., Ahsan, H., Karagas, M. R. 2017. Assessment of human dietary exposure to arsenic through rice. *Science of The Total Environment*, 586, 1237-1244.

Dos Santos, G. M., Pozebon, D., Cerveira, C., de Moraes, D. P. 2017. Inorganic arsenic speciation in rice products using selective

hydride generation and atomic absorption spectrometry (AAS). *Microchemical Journal*, 133 (Supplement C), 265-271.

FAO. 2018. *Faostat: Food Balance Sheets*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.

International Agency for Research on Cancer. 2012. Arsenic and arsenic compounds. Cadmium and cadmium compounds. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, Arsenic, metals, fibres, and dusts, 100, 41-145.

Jitaru, P., Millour, S., Roman, M., El Koulali, K., Noël, L., Guérin, T. 2016. Exposure assessment of arsenic speciation in different rice types depending on the cooking mode. *Journal of Food Composition and Analysis*, 54, 37-47.

Mandal, U., Singh, P., Kundu, A. K., Chatterjee, D., Nriagu, J., Bhowmick, S. 2019. Arsenic retention in cooked rice: Effects of rice type, cooking water, and indigenous cooking methods in West Bengal, India. *Science of The Total Environment*, 648, 720-727.

Meharg, A., Rahman, M. M. 2003. Arsenic Contamination of Bangladesh Paddy Field Soils: Implications for Rice Contribution to Arsenic Consumption. *Environmental Science & Technology*, 37(2), 229-234.

Meharg, A., Lombi, E., Williams, P. N., Scheckel, K. G., Feldmann, J., Raab, A., Zhu, Y., Islam, R. 2008. Speciation and Localization of Arsenic in White and Brown Rice Grains. *Environmental Science & Technology*, 42(4), 1051-1057.

Meharg, A., Zhao F.-J. 2012. *Arsenic and Rice*. Springer Netherlands.

Mihucz, V., Tatár, E., Virág, I., Zang, C., Jao, Y., Záray, G. 2007. Arsenic removal from rice by washing and cooking with water. *Food Chemistry*, 105(4), 1718-1725.

Naito, S., Matsumoto, E., Shindoh, K., Nishimura, T. 2015. Effects of polishing, cooking, and storing on total arsenic and arsenic species concentrations in rice cultivated in Japan. *Food Chemistry*, 168, 294-301.

NRC .1999. *Arsenic in drinking water*. National Research Council. National Academy Press, Washington DC, USA.

Nunes, L., Otero, X. 2017. Quantification of health risks in Ecuadorian population due to dietary ingestion of arsenic in rice. *Environmental Science and Pollution Research International*, 24, 27457-27468.

Otero, X., Tierra, W., Atiaga, O., Guanoluisa, D., Nunes, L., Ferreira, T., Ruales, J. 2016. Arsenic in rice agrosystems (water, soil and rice plants) in Guayas and Los Ríos provinces, Ecuador. *Science of The Total Environment*, 573, 778-787.

Raab, A., Baskaran, C., Feldmann, J., Meharg, A. 2009. Cooking rice in a high water to rice ratio reduces inorganic arsenic content. *Journal of Environmental Monitoring*, 11, 41-44.

Raber, G., Stock, N., Hanel, P., Murko, M., Navratilova, J., Francesconi, K. A. 2012. An improved HPLC–ICPMS method for determining inorganic arsenic in food: Application to rice, wheat and tuna fish. *Food Chemistry*, 134(1), 524-532.

Rahman, M., Rahman, A., Khan, M. Z. K., Renzaho, A. M. N. 2018. Human health risks and socio-economic perspectives of arsenic exposure in Bangladesh: A scoping review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 150, 335-343.

Rasheed, H., Kay, P., Slack, R., Gong, Y. Y. 2018. Arsenic species in wheat, raw and cooked rice: Exposure and associated health implications. *Science of The Total Environment*, 634, 366-373.

Rothenberg, S.E., Jackson, B.P., Carly, G., Donohu, A., Emmons, M.A. 2017. Co-exposure to methylmercury and inorganic arsenic in baby rice cereals and rice-containing teething biscuits. *Environmental Research*, 159, 639-647.

Segura, F., de Oliveira Souza, Juliana Maria, De Paula, E., da Cunha Martins, A., Paulelli, A., Barbosa, F., Batista, B. L. 2016. Arsenic speciation in Brazilian rice grains organically and traditionally cultivated: Is there any difference in arsenic content? *Food Research International*, 89(Part 1), 169-176,

Sengupta, M. K., Hossain, M. A., Mukherjee, A., Ahamed, S., Das, B., Nayak, B., Pal, A., Chakraborti, D. 2006. Arsenic burden of cooked rice: Traditional and modern methods. *Food and Chemical Toxicology*, 44, 1823-1829.

Sharafi, K., Yunesian, M., Nodehi, R., Hossein Mahvi, A., Pirsaeheb, M., Nazmara, S. 2019. The reduction of toxic metals of various rice types by different preparation and cooking processes – Human health risk assessment in Tehran households, Iran. *Food Chemistry*, 280, 294-302.

Signes-Pastor, A., Carey, M., Carbonell-Barrachina, A., Moreno-Jiménez, E., Green, A., Meharg, A. 2016. Geographical variation in inorganic arsenic in paddy field samples and commercial rice from the Iberian Peninsula. *Food Chemistry*, 202, 356-363.

Signes-Pastora, J., Vioque, J., Navarrete-Muñoz, E., Carey, M., García de la Hera, M., Sunyer, J., Casas, M., Riaño-Galán, I., Tardón, A., Llop, S., Amorós, R., Amiano, P., Bilbao, J.R., Karagas, M.R., Meharg, A.A. 2017. Concentrations of urinary arsenic species in relation to rice and seafood consumption among children living in Spain. *Environmental Research*, 159, 69-75.

Suriyagoda, L. D. B., Dittert, K., Lambers, H. 2018. Mechanism of arsenic uptake, translocation and plant resistance to accumulate arsenic in rice grains. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 253, 23-37.

Torres-Escribano, S., Leal, M., Vélez, D., Montoro, R. 2008. Total and Inorganic Arsenic Concentrations in Rice Sold in Spain, Effect of Cooking, and Risk Assessments. *Environmental Science & Technology*, 42(10), 3867-3872.

USEPA. 1989. Risk assessment guidance for Superfund. Volume I - Human health evaluation manual (Part A). United States Environmental Protection Agency, Washington, D.C.

USEPA. 1995. Chemical assessment summary: Arsenic, inorganic. United States Environmental Protection Agency, Washington, D. C.

Wang, Z., Qin, H., Liu, X. 2019. Health risk assessment of heavy metals in the soil-water-rice system around the Xiazhuang uranium mine, China. *Environmental Science and Pollution Research*, 26, 5904–5912.

Williams, P., Raab, A., Feldmann, J., Meharg, A. 2007a. Market Basket Survey Shows Elevated Levels of As in South Central U.S. Processed Rice Compared to California: Consequences for Human Dietary Exposure. *Environmental Science & Technology*, 41, 2178-2183.

Williams, P. N., Villada, A., Deacon, C., Raab, A., Figuerola, J., Green, A., Feldmann, J., Meharg, A. 2007b. Greatly Enhanced Arsenic Shoot Assimilation in Rice Leads to Elevated Grain Levels Compared to Wheat and Barley. *Environmental Science & Technology*, 41(19), 6854-6859.

Yim, S., Park, G., Lee, K., Chung, M. S., & Shim, S. M. 2017. Determination of total arsenic content and arsenic speciation in different types of rice. *Food Science and Biotechnology*, 26(1), 293-298.

Zhao, F., Ma, J., Meharg, A., McGrath, S. 2009. Arsenic uptake and metabolism in plants. *New Phytol.* 181, 777–794.

Zhao, F.-J., McGrath, S.P., Meharg, A.A. 2010. Arsenic as a food chain contaminant: mechanisms of plant uptake and metabolism and mitigation strategies. *Annu. Rev. Plant Biol.* 61, 535–559.

Zhu, Y., Sun, G., Lei, M., Teng, M., Liu, Y., Chen, N., Wang, L., Carey, A., Deacon, C., Raab, A., Meharg, A. A., Williams, P. 2008. High Percentage Inorganic Arsenic Content of Mining Impacted and Nonimpacted Chinese Rice. *Environmental Science & Technology*, 42 (13), 5008-5013.



**5. DISTRIBUCIÓN DE ARSÉNICO Y
METALES PESADOS EN SUELOS Y
PLANTAS DE CULTIVOS DE ARROZ DE
ECUADOR**





RESUMEN

Se determinó la presencia de As y metales pesados totales (Cr, Zn, Pb, Cd, Cu y Ni) en suelos y planta de arroz, incluyendo tallo, hojas y grano procedentes de las provincias de la costa (Guayas, Los Ríos y El Oro) y de la provincia oriental de Orellana. También se analizaron muestras de arroz comercial de Ecuador, Brasil y de la península Ibérica (España y Portugal). En las muestras de suelo se determinó sus propiedades, el contenido total, la fracción biodisponible y fraccionamiento geoquímico del arsénico y metales pesados.

La concentración de metales pesados en el grano de arroz comercial no presentó diferencias significativas con respecto a la concentración de metales pesados en el grano de las muestras de campo, excepto para el Pb, Zn y Ni. Además, el contenido de As y Cd en arroz de campo de la provincia de El Oro fue significativamente más elevado que de las otras provincias (Guayas y Los Ríos).

Entre países, el contenido de As, Cd, Hg y Cu mostró en muestras diferencias significativas para las muestras de arroz comercial. Específicamente, las concentraciones de Cd y Cu en Ecuador fueron más elevadas que en los países de la península Ibérica.

El contenido de As y metales pesados en hoja y tallo presentaron diferencias significativas, exceptuando en el contenido de Zn y Hg en hoja y el contenido de Zn en el tallo, cuyas concentraciones fueron similares.

Finalmente, la concentración media de As y metales pesados en grano de arroz comercial y de grano de campo de Ecuador y de los otros países, no sobrepasan los valores umbral establecidos por las regulaciones actuales de la Unión Europea y otras normativas internacionales. Únicamente unas pocas muestras de Brasil (Cr y Pb) y tAs en muestras de España superaron los umbrales de referencia, no obstante, los valores del cociente de peligrosidad (TQH_i) para iAs y metales pesados, así como el valor del riesgo cancerígeno determinado para el iAs no representan riesgo para la salud humana.

5.1 INTRODUCCIÓN

El arroz (*Oryza sativa l.*) es el principal alimento para más del 50% de la población mundial (Kögel-Knabner et al., 2010), al tiempo que es una fuente importante de calorías y proteínas para el ser humano (Cheajesadagul et al., 2013). Latinoamérica es la segunda región en importancia después de Asia, con un consumo medio de 80 g/persona/día. Ecuador es uno de los países con mayor consumo de arroz en Sudamérica con un consumo per cápita de 123 g/día (FAOSTAT, 2018).

Por otro lado, la calidad de los suelos agrícolas esta experimentando un claro deterioro en las últimas décadas que conduce a una reducción en la productividad de los cultivos y calidad de los alimentos (FAO, 2015). La aplicación indiscriminada de fitosanitarios y de fertilizantes que contienen elementos traza como Cd, Pb, Cu y Hg, o el uso de aguas de regadío de baja calidad está derivando en un deterioro generalizado de la calidad de los agrosistemas (Tian et al., 2017, Chen et al., 2014, Kwon, 2017, FAO, 2018).

Uno de los principales problemas de este deterioro es el enriquecimiento en elementos tóxicos que conduce generalmente a un incremento de su biodisponibilidad e incorporación en los alimentos. Los metales tóxicos son tomados por las plantas a través de los tejidos corticales de las raíces debido a su similaridad con algunos micronutrientes esenciales (como el zinc) (Sarwar et al., 2017). Específicamente para el As, hay dos principales mecanismos relacionados con la toma de arsénico en las raíces de la planta de arroz. La primera ruta es a través del transportador de fosfato, ya que los arseniatos son análogos a los fosfatos y la segunda a través de los canales de las acuoporinas son tomados los arsenitos (análogos al ácido silísico) y las especies metiladas no disociadas del arsénico (ácido dimetilarsínico (DMA) y ácido monometilarsónico (MMA)) (Syu et al., 2015). Estos metales pueden acumularse en las partes comestibles de las plantas (Sarwar et al., 2017) y entrar en la cadena alimenticia, acumulándose en diferentes tejidos como el hígado, los músculos y los huesos, poniendo en peligro a medio y largo plazo la salud humana (Naseri et al, 2015).

Generalmente, el riesgo a la salud por la presencia de metales pesados en suelos se ha determinado en base a las concentraciones de metales totales y en áreas muy contaminadas, sobreestimando el riesgo a la salud. Por otra parte, la información sobre la concentración total de metales pesados es muy limitada en terrenos agrícolas y que consumen cultivos locales, lo que puede ocasionar un riesgo de exposición mayor para las personas que no tienen conocimiento sobre el riesgo potencial de la presencia de metales pesados en los suelos de cultivo (Zhang J., et al., 2018). Por ello, es fundamental determinar las formas químicas de los elementos tóxicos con el fin de establecer un mejor diagnóstico de su movilidad y biodisponibilidad para las plantas (Zhao, 2011).

Además, estos elementos se encuentran entre la mayoría de los contaminantes que han recibido especial atención en muchos países y son ubicados en la categoría de contaminantes de mayor peligrosidad presentes en los alimentos (Naseri et al, 2015). Algunos estudios indican cantidades excesivas de metales pesados como Cd, Pb o Cr (Batista, 2012) y As en suelos agrícolas de USA, China, España (Raber et al., 2012, Signes-Pastor et al., 2016, Zhang et al., 2018), que en algunos casos ha derivado en un dramático impacto negativo sobre la salud y calidad de vida de la población. Por ejemplo, en Japón la contaminación de los campos de arroz con Cd generó decenas de muertos debido a una enfermedad degenerativa del sistema óseo denominada itai-itai (Inaba et al, 2005). Asimismo, en Bangladesh, país afectado por la ingesta de altas concentraciones de As en el agua potable y arroz, se estima que del orden de 35 y 77 millones de personas están en riesgo de intoxicación por arsénico (Rahman et al., 2018).

En Ecuador se han identificado varias localidades con concentraciones anormalmente elevadas de As (Bundschuh et. al., 2012a, 2012b), asociadas a zonas con intensa actividad hidrotermal en regiones volcánicas (Bundschuh et al., 2012a; Cumbal et. al., 2010, De La Torre et al., 2004) y puntualmente en áreas con actividad minera (Appleton et al., 2001). Sin embargo, en Ecuador hay poca información sobre el contenido de As y metales tóxicos en las zonas de cultivo de arroz. Pozo et al., (2011) estudiaron el contenido total de metales tóxicos en suelos (Cu, Zn, Pb y Hg) y de Pb en planta de arroz en arrozales de la cuenca del Río Guayas, obteniendo concentraciones

promedio de 48.8 mg kg⁻¹ de Cu; 33.9 mg kg⁻¹ de Zn; 0.15 mg kg⁻¹ de Cd; 4.35 mg kg⁻¹ de Pb y Hg bajo el límite de detección. La concentración de plomo en las raíces de la planta de arroz estuvo entre 3.30-4.40 mg kg⁻¹, en los tallos entre 2.01-2.60 mg kg⁻¹, y en las hojas entre 1.80 and 2.00 mg kg⁻¹.

En el presente capítulo se estudia el contenido de As y metales tóxicos en las tres principales provincias productoras de arroz (Guayas, Los Ríos, El Oro) ubicadas en la zona costera y de la provincia de Orellana situada en la zona oriental del País. Los objetivos del presente estudio fueron: 1) Determinar las concentraciones totales de los principales elementos tóxicos, sus formas geoquímicas y su fracción biodisponible (Cr, Zn, Cd, Cu, Pb, As y Zn) en el suelo de los principales zonas arroceras del Ecuador y 2) Determinar el contenido de estos elementos en la planta de arroz, incluyendo grano, hojas y tallo. 3) Comparar las concentraciones de As y metales pesados de arroz comercial de Ecuador con arroces comerciales de otros países como España, Brasil y Portugal. 4) Estimar el riesgo potencial a la salud a través del consumo de arroz por la presencia de metales pesados.

5.2 MATERIAL Y MÉTODOS

5.2.1 Toma de muestras y preparación

El muestreo se realizó en las principales provincias de Guayas, Los Ríos, El Oro y Orellana (Figs. 5.1 y 5.2).

Se colectaron un total de 101 muestras de suelos (0-20 cm) y planta de arroz (36 muestras de grano, 35 muestras hoja y 37 muestras de tallo).

Se tomaron muestras compuestas de suelos y planta, mezclando 5 submuestras de cada zona de cultivo. Para el suelo se mezclaron 500 gr aproximadamente de cada submuestra en un recipiente de plástico, se homogenizaron y se tomó aproximadamente 200 g de la mezcla. Para la planta se tomaron unos 100 g de cada submuestra y se mezclaron en una bolsa de plástico.

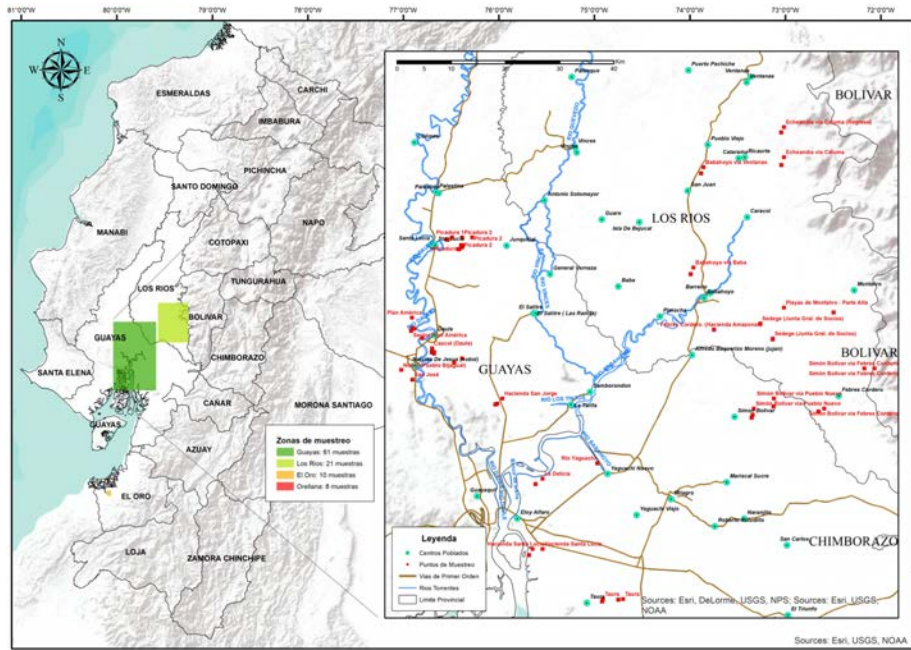


Figura 5.1 Localización de los puntos de muestreo en las provincias de Guayas y los Ríos. Ecuador

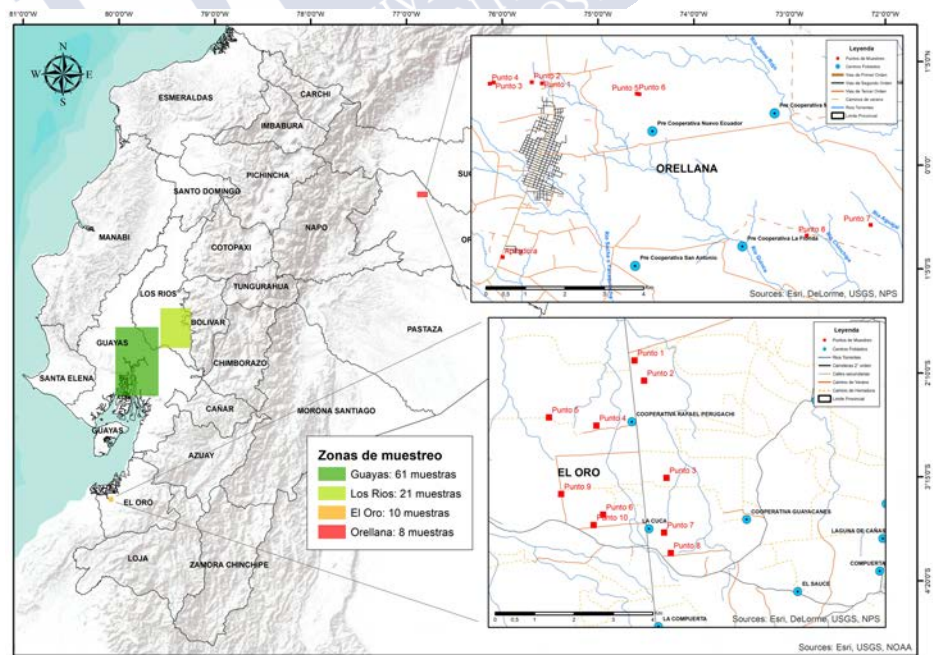


Figura 5.2 Localización de los puntos de muestreo en las provincias de Orellana y el Oro. Ecuador

En el laboratorio, las muestras de suelos fueron secadas y tamizadas a través de una malla de 2mm para posterior análisis. Las muestras de plantas fueron lavadas 3 a 5 veces con agua destilada. El grano de arroz descascarado (grano de campo) y demás partes de la planta se almacenaron en bolsas de plástico hasta su análisis.

Además, 33 muestras de arroz comercial de Ecuador, 10 muestras de Brasil y 8 muestras de la península Ibérica (Portugal: 2 y España: 6 fueron colectados de mercados locales para la determinación de metales totales.

5.2.2 Características físico químicas y textura de suelo

El pH y potencial redox (Eh) fueron determinados “in situ” con electrodos portátiles (HANNA instruments INC, Woonsocket, RI, U.S.A.). Los valores de Eh fueron corregidos adicionando el potencial de electrodo de referencia (+244 mV). La textura de suelo fue estimada usando el método de la pipeta (Gee y Bauder ,1986). El carbono orgánico total (COT) fue determinado en muestras de suelo en un analizador Leco100 S-C 144DR (LECO Corporation, St. Joseph MI, U.S.A.).

5.2.3 Contenido total de As y de metales pesados en el suelo

La concentración total de As y metales pesados se determinó empleando 0.5g de muestra y extraídos con digestión ácida (9 ml de HNO₃ 14.4 M: 3 ml 12 M HCl, Merck, Darmstadt, Germany) en horno microonda durante 25 minutos. La concentración de As y metales pesados fue determinada por ICP-MS (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, U.S.A). Para la validación del método de extracción de metales pesados en suelos se usaron estándares (SRM 2709a, SMR2710a, SRM2711a de NIST, U.S.A.), con un porcentaje medio de recuperación > 90%.

5.2.4 Biodisponibilidad de metales en suelos

La concentración de la fracción biodisponible se determinó según el método de Mehlich3 (1984): a 2g de muestra de suelo previamente tamizado a < 2mm se le adicionó 20 mL de solución extractante

(0.015N NH_4F , 0.001N EDTA, 0.25N NH_4NO_3 , 0.2N HOAc y 0.013N HNO_3), la mezcla se agitó durante 5 minutos a 200 rpm, posteriormente se filtró mediante filtro Whatman No. 42. La concentración de As y metales tóxicos se determinó con un ICP-MS (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, U.S.A).

5.2.5 Extracción secuencial de As y metales pesados

El fraccionamiento se realizó según el método de Ferreira et.al., 2007, con dos gramos de muestra de suelo, según el cual se separan las siguientes fracciones:

F1: fracción intercambiable y soluble, extraída con 30mL de una solución de MgCl_2 1M, ajuste de pH a 7 y agitación por 30 minutos. Posteriormente se centrifugó a 10.000 rpm y 4°C, el sobrenadante se pasó a través de un filtro de 0.45 μm y el residuo se lavó con agua ultrapura (MillQ) dos veces antes de proceder con la siguiente extracción. El proceso de centrifugación y filtrado fue común en todas las extracciones que siguen.

F2: fracción asociada con los carbonatos, usando 30 mL de una solución de NaOAc 1M/HOAc., a un pH 5 ajustado con ácido acético y agitación por un período de cinco horas.

F3: fracción asociada con oxihidróxidos de Fe amorfo o muy baja cristalinidad, tipo ferrihidrita, fue extraída con 30 mL de una solución de hidroxilamina 0.04M + ácido acético 25% (v / v) a 30 ° C y con agitación por 6 horas.

F4: fracción asociada con oxihidróxidos de Fe de baja cristalinidad, tipo lepidocrocita, fue extraída con 30 mL de 0.04 M hidroxilamina+ 25% (v / v) de ácido acético y calentada a 96 °C por 6 horas.

F5: fracción asociada con las formas cristalinas de oxihidróxidos de hierro, tipo goethita, fue extraída con 20 mL de bicarbonato de sodio 0.25 M + solución de bicarbonato de sodio 0.11 M y 3 gramos de diotionito de sodio en cada muestra, a 75 °C por 30 minutos.

F6: fracción asociada con la fracción pirítica: La extracción fue realizada usando 10 mL de ácido nítrico concentrado y agitación durante 2 horas. Previamente, se realizó un tratamiento para la eliminación de metales y de Fe asociados a los silicatos. El pretratamiento consistió en un ataque con 30mL de HF 10M, durante

16 horas en agitación continua (200 rpm), posteriormente se le añadió 5g de ácido bórico para neutralizar el HF sobrante, se agitó durante 8 horas y se centrifugó a 10.000 rpm a 4° C. El sobrenadante fue descartado. Posteriormente, el residuo se somete a un ataque con 15mL de H₂SO₄ concentrado durante dos horas en agitación continua. El sobrenadante se descarta y el residuo se lava dos veces con agua ultrapura (MilliQ) desoxigenada (Huerta-Díaz y Morse, 1990).

5.2.6 Contenido total de As y metales pesados en planta y grano de arroz

Previamente a la extracción las muestras fueron lavadas primeramente con agua a presión y después tres a cinco veces con agua destilada, se secaron a 65 °C por 48h, fueron molidas y almacenadas en funda de polietileno a temperatura ambiente hasta su posterior análisis.

El contenido total de As y metales pesados se determinó en 0.5-1.0 gr de muestra vegetal que fueron digeridos con una mezcla de HNO₃ y H₂O₂ suprapur (Merk) según Meharg and Rahman (2003): 5 mL de HNO₃ (65%), 1mL de H₂O₂ 33% y 5mL de agua Milli-Q (w/v), dejando en reposo durante una noche. Posteriormente, los tubos se colocaron en una placa de calentamiento (Perkin Elmer SPB 48-50) a una temperatura de 95°C durante 3 horas. El extracto fue filtrado por 0,45µm. El contenido de metales totales fue determinado con un ICP-MS (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, U.S.A).

En paralelo se analizó el material de referencia certificado (harina de arroz 1568b del NIST USA). Los valores medios obtenidos para las diferentes especies de arsénico fue: iAs: 0.109±0.038 mg kg⁻¹; DMA: 0.218±0.094 mg kg⁻¹ y 0.018±0,001 mg kg⁻¹ MMA lo que representan un porcentaje de recuperación de 107%, 113% y 118%, respectivamente. El límite de detección fue de 3.75 µg kg⁻¹ para las formas inorgánicas y 1.35–4.35 µg kg⁻¹ para las formas orgánicas (Otero et. al., 2016). En paralelo, la concentración fue determinada en el material de referencia certificado con un porcentaje de recuperación de 91 ± 6% (n = 3) para As, Cu, Hg, Mo, Zn, Hg and Se.

5.2.7 Evaluación del riesgo por exposición al As y metales pesados en arroz comercial de Ecuador

La ingestión estimada diaria del As y metales pesados en el arroz comercial de Ecuador (EDI) fue calculada por evaluación de la cantidad de metal que un individuo está expuesto por día y por kilogramo de peso de cuerpo promedio.

$$EDI_i = \frac{C_i DI}{BW}$$

Donde C_i es la concentración del metal i en el arroz ($\mu\text{g}/\text{kg}$), DI es la ingesta diaria de arroz (kg/d), y BW es el peso de cuerpo promedio (kg). DI para Ecuador $0.123 \text{ kg}/\text{día}$ (FAOSTAT, 2018) y 67.9 kg peso promedio de los habitantes en países de Latinoamérica y 70.8 en países de Europa (Walpole, et al., 2012).

El cociente de peligrosidad (THQ_i) (Ma et al., 2017) se calculó a través del cociente entre el EDI_i y la dosis de referencia oral (RfD_i), específica para cada metal (USEPA, 2019) :

$$THQ_i = \frac{EDI_i}{RfD_i}$$

Para el iAs se calculó el riesgo cancerígeno (RC), a través de la siguiente ecuación:

$$RC = EDI_i \times SF$$

Donde SF es el factor de cáncer para el arsénico dado por la USEPA (United States Environmental Protection Agency, 2019) para el arsénico inorgánico ($3 \times 10^{-4} \text{ mg}/\text{kg día}$).

5.2.8 Análisis estadístico

Los análisis estadísticos y gráficos fueron realizados con el programa estadístico R. Para contrastar si los datos se ajustan o no a una distribución normal se utilizó la prueba de Shapiro Wilk (menos de 50 observaciones) y la prueba de Kolmogorov-Smirnov con la corrección de Lilliefors (más de 50 observaciones). Para datos provenientes de una distribución normal se realizó el análisis de la varianza (ANOVA) y la prueba de Tukey para determinar diferencias significativas, en caso de que los datos no se ajustaron a una distribución normal se utilizaron las

pruebas de Kruskal-Wallis y las pruebas Post-Hoc de U Mann-Whitney y Kruskal Nemenyi. Para contrastar la homocedasticidad se utilizó la prueba de Levene.

5.3 RESULTADOS

5.3.1 Caracterización general de los suelos

El promedio del pH fue de 6.3 ± 0.6 (Tabla 5.1), mostrando una oscilación entre 3.6 y 7.4. No obstante, los valores extremadamente ácidos fueron muy puntuales en muestras de las provincias de la Costa ($\text{pH}=3.6$). El Eh oscila entre 92-485 mV, presentando la mayoría de muestras condiciones subóxicas (200-350 mV) y pocas muestras presentaron condiciones anóxicas ($\text{Eh} < 100$ mV). En los suelos de los arrozales de las provincias de la costa la textura fue arcillosa con un valor medio de $49 \pm 16\%$ de arcilla, seguida de la fracción limo ($24 \pm 13\%$) y arena ($28 \pm 20\%$). El contenido total de Fe fue de $4.2 \pm 1\%$ en las provincias de la Costa, mientras que en la provincia de Orellana se obtuvo un valor más bajo de $2.7 \pm 0.7\%$. En la provincia oriental de Orellana la textura dominante fue la franco-arenosa, con predominio de la fracción arena ($67 \pm 18\%$), seguida del limo ($17 \pm 8\%$) y arcilla ($17 \pm 14\%$). El contenido de COT de las provincias de la Costa fue más bajo ($1.9 \pm 0.6\%$) que el de la provincia de Orellana ($4.4 \pm 1.4\%$) (Tabla 5.1).

5.3.2 Arsénico y metales pesados en suelos de arroz: Contenido total, biodisponibilidad y fraccionamiento geoquímico.

La concentración total de metales fue: $\text{Zn} (88.3 \pm 26.0 \text{ mg kg}^{-1}) > \text{Cr} (53.0 \pm 23.5 \text{ mg kg}^{-1}) > \text{Cu} (57.2 \pm 30.1 \text{ mg kg}^{-1}) > \text{Ni} (29.5 \pm 14.30 \text{ mg kg}^{-1}) > \text{Pb} (12.4 \pm 8.2 \text{ mg kg}^{-1}) > \text{As} (4.56 \pm 3.25 \text{ mg kg}^{-1}) > \text{Cd} (0.27 \pm 0.14 \text{ mg kg}^{-1}) > \text{Hg} (0.06 \pm 0.04)$ (Fig. 5.3, Tabla S.1 anexo 3). Por zonas, las concentraciones de los metales en suelos de las provincias de la Costa, fueron significativamente superiores a las de la provincia de Orellana ($p < 0.05$), excepto para Cd que no mostró diferencias significativas.

El Fe se encuentra fundamentalmente como Fe-goethita (fracción F5 = 46%) y Fe-lepidocrocita F4 (41%) (Tabla 5.2).

El Cd y el As se encuentran mayoritariamente asociados con la fracción

intercambiable y soluble (F1: 75% y 60%; Fig. 5.4), mientras que metales como Pb (78%), Cr (49%), Ni (48%) y Cu (74%) se encuentran asociados a las formas cristalinas de oxihidróxidos de hierro (F5) (Tabla 5.2).

De acuerdo a la extracción realizada por el método de Melich3 (Tabla 5.3) el Cd es el elemento que presenta un mayor porcentaje de la fracción biodisponible, alcanzando un 48% de la concentración de Cd total, a diferencia del resto de metales que presentan porcentajes bajos de biodisponibilidad entre 0.2 y 17 % .

A continuación se comentan con mayor detalle la concentración total, biodisponible así como el comportamiento geoquímico de cada elemento.

– Cromo:

La concentración total media de cromo (CrT) fue de $(53.0 \pm 23.5 \text{ mg kg}^{-1})$ con un rango de concentraciones entre 10.4-120.8 mg kg^{-1} (Fig. 5.3, Tabla S.1 anexo 3). Las concentraciones de Cr de las provincias de Ecuador fueron significativamente diferentes ($p < 0.05$), correspondiendo la concentración más elevada a la provincia del Guayas ($59.7 \pm 14.3 \text{ mg kg}^{-1}$) y la más baja a la provincia de Orellana ($14.5 \pm 4.4 \text{ mg kg}^{-1}$) (Tabla 5.2).

La fracción de Cr biodisponible fue de $0.24 \pm 0.14 \text{ mg kg}^{-1}$ que corresponde al (0.5%) del contenido total (Tabla 5.3). La baja concentración de Cr biodisponible está de acuerdo con las bajas concentraciones obtenidas para las fracciones geoquímicamente más móviles (F1 y F2) (Tabla 5.2).

La mayor parte del Cr (Costa: $1.003 \pm 1.209 \text{ mg kg}^{-1}$, 50%; Orellana: $2.100 \pm 0.300 \text{ mg kg}^{-1}$, 48%) se encontró asociado a los oxihidróxidos de Fe cristalinos (Fracción F5) y a los oxihidróxidos de Fe de baja cristalinidad (Costa: $0.516 \pm 0.794 \text{ mg kg}^{-1}$, 26%; Orellana: $0.600 \pm 0.450 \text{ mg kg}^{-1}$, 14%) (Fracción F4) (Tabla 5.2).

– Zinc:

La concentración total de zinc (ZnT) en suelos de Ecuador fue de $88.3 \pm 26.0 \text{ mg kg}^{-1}$ con un rango de concentraciones entre 39.2-159.6 mg kg^{-1} (Fig. 5.3). Comparando las concentraciones de zinc en suelos de las diferentes provincias ecuatorianas encontramos que hay

Tabla 5.1. Propiedades del suelo (pH, Eh), composición (carbono orgánico total, COT, textura, Fe total, TFe). (Valores mínimos y máximos se muestran en paréntesis)

Muestra	pH	Eh mV	COT %	Arcilla %	Limo %	Arena %	TFe
Ecuador							
Provincias de la Costa	6.4±0.6 (3.6-7.4)	226±93 (92-485)	1.9±0.6 (0.7-3.2)	49±16 (23-88)	24±13 (3-53)	28±20 (0.9-64)	4.2±1.0 (2.4-7.1)
rango							
n	53	55	61	23	23	23	83
Provincia de Orellana	5.9±0.1 (5.8-6.0)	na	4.4±1.4 (2.1-6.1)	17±14 (6-37)	17±8 (6-25)	67±18 (46-89)	2.7±0.7 (1.8-3.6)
rango							
n	8		8	6	6	6	8
Ecuador							
rango	6.3±0.6 (3.6-7.4)	226±93 (92-485)	2.2±1.1 (0.7-6.1)	42±20 (6-88)	22±12 (3-53)	35±24 (0.9-89)	4.1±1.1 (1.8-7.1)
n	61	55	69	29	29	29	91

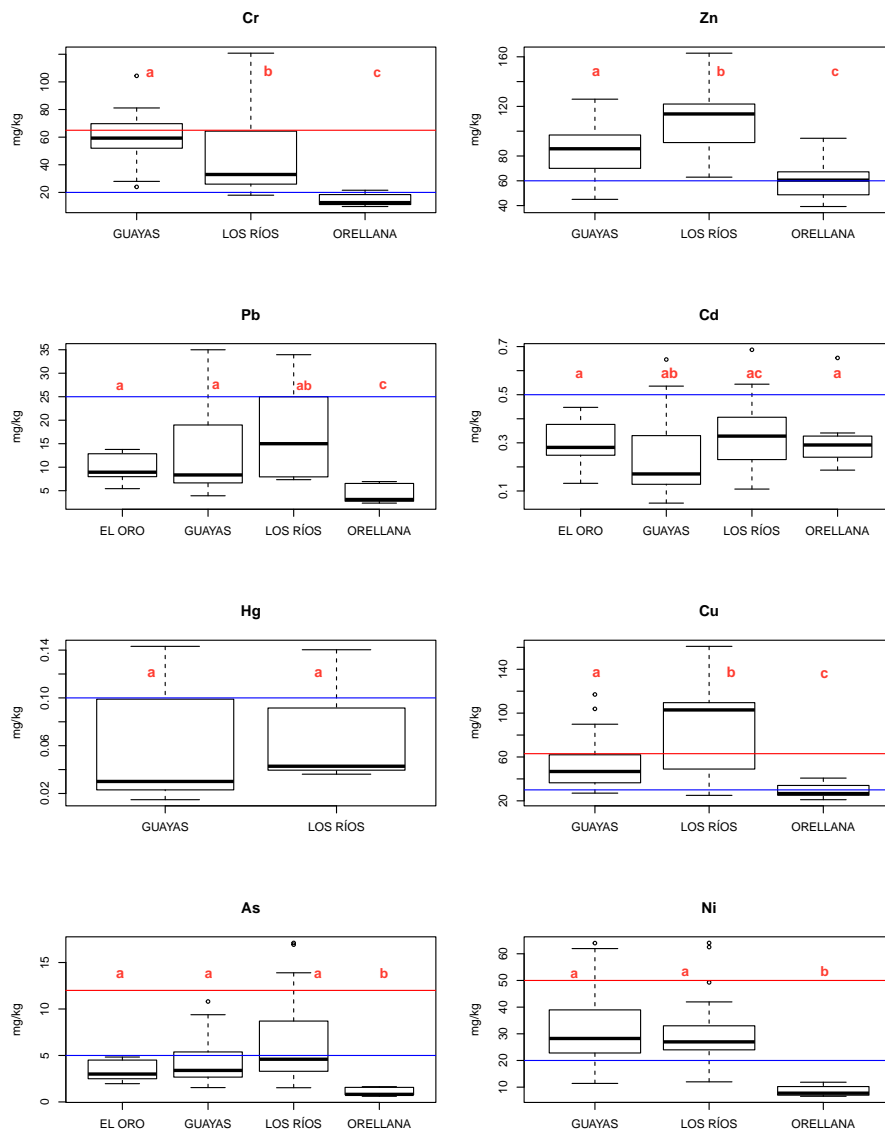


Figura 5.3. Concentración total de elementos traza en suelos de cultivos de arroz en las diferentes provincias de Ecuador. Diferentes letras indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre provincias. Línea en azul corresponde al fondo edafogeoquímico y Línea en rojo valor umbral para suelos agrícolas (TULSMA, Legislación Ecuatoriana). En la caja, las líneas horizontales en la parte inferior, media y superior de la caja representan los valores del percentil 25 (Q1), la mediana (Q2) y el percentil 75 (Q3), respectivamente. Las líneas que salen de la caja, indican el valor mínimo y el valor máximo. As, Pb y Cd se analizaron en las 4 provincias: El Oro, Guayas, Los Ríos y Orellana. Cr, Zn, Cu y Ni en Guayas, Los Ríos y Orellana y Hg en Guayas y Los Ríos.

Tabla 5.2 Concentración de metales en las fracciones de la Extracción Secuencial de Metales (SEM) (mg kg⁻¹) y relación con la concentración total extraída(%)

Localidad	F1	F2	F3	F4	F5	F6
Provincias de la Costa						
Cr	0.013 1%	0.038 2%	0.243 12%	0.516 26%	1.003 50%	0.183 9%
Zn	0.023 1%	0.223 11%	0.189 9%	0.948 46%	0.610 29%	0.077 4%
Pb	0.013 1%	0.013 1%	<LD 0%	0.140 13%	0.847 80%	0.048 5%
Cd	0.018 82%	<LD 1%	0.001 6%	0.002 9%	<LD 0%	<LD 0%
Cu	0.000 0%	0.233 11%	0.296 14%	0.424 20%	1.125 53%	0.038 2%
As	<LD 0%	<LD 0%	<LD 0%	0.463 100%	<LD 0%	<LD 0%
Ni	<LD 0%	0.315 14%	0.134 6%	0.368 17%	1.218 56%	0.147 7%
Fe	0.07 0%	38.33 3%	181.71 13%	604.25 44%	562.33 41%	0.856 0%
Provincia de Orellana						
Cr	0.050 1%	0.150 3%	0.600 14%	0.600 14%	2.100 48%	0.875 20%
Zn	1.050 4%	1.800 7%	4.950 20%	7.750 32%	4.000 16%	5.000 20%
Pb	0.168 29%	<LD 0%	<LD 0%	<LD 0%	0.369 64%	0.040 7%
Cd	0.191 73%	<LD 0%	0.053 20%	0.018 7%	<LD 0%	<LD 0%
Cu	<LD 0%	<LD 0%	<LD 0%	0.650 6%	9.500 91%	0.333 3%
As	0.314 85%	<LD 0%	<LD 0.0%	0.023 6%	<LD 0%	0.033 9%
Ni	<LD 0%	<LD 0%	0.250 9%	1.000 35%	0.700 24%	0.917 32%
Fe	0.8 0%	5.3 0%	945.0 10%	3705.0 40%	4598.0 49%	88.6 1%

Continuación Tabla 5.2 Concentración de metales en las fracciones de la Extracción Secuencial de Metales (SEM) (mg kg^{-1}) y relación con la concentración total extraída(%)

Localidad	F1	F2	F3	F4	F5	F6
Ecuador						
Cr	0.020 1%	0.060 2%	0.315 13%	0.533 22%	1.222 49%	0.322 13%
Zn	0.220 4%	0.538 8%	1.141 17%	2.309 35%	1.288 20%	1.061 16%
Pb	0.044 5%	0.010 1%	<LD 0%	0.112 12%	0.752 78%	0.047 5%
Cd	0.053 75%	<LD 0.0%	0.012 17%	0.005 7%	<LD 0%	<LD 0%
Cu	<LD 0%	0.186 5%	0.237 6%	0.469 12%	2.800 74%	0.097 2.551
As	0.235 60%	<LD 0.0%	<LD 0%	0.133 34%	<LD 0%	0.025 6%
Ni	<LD 0%	0.252 11%	0.157 7%	0.495 21%	1.114 48%	0.301 13%
Fe	0.217 0%	31.715 1%	334.4 11%	1224.4 41%	1369.5 46%	18.4 1%

diferencias significativas ($p < 0.05$), siendo las concentraciones de los suelos de la Provincia de Los Ríos las más elevadas ($110.6 \pm 26.3 \text{ mg kg}^{-1}$) y las concentraciones más bajas están en la provincia de Orellana ($60.8 \pm 17.1 \text{ mg kg}^{-1}$) (Fig. 5.3).

La concentración biodisponible promedio de Zn fue de $2.08 \pm 1.45 \text{ mg kg}^{-1}$, que representa menos del 5% del contenido total (Tabla 5.3). Los resultados de la extracción secuencial muestran que la mayor parte del Zn se encuentra asociado a los oxihidróxidos de Fe, especialmente a la fracción F4, que para las provincias de la Costa fue de $0.948 \pm 0.181 \text{ mg kg}^{-1}$ (46%) y para la provincia de Orellana de $7.750 \pm 0.527 \text{ mg kg}^{-1}$ (32%) y el menor porcentaje asociado a las fracciones más lábiles, F1(Costa: $0.023 \pm 0.047 \text{ mg kg}^{-1}$, 1%; Orellana: $1.050 \pm 0.687 \text{ mg kg}^{-1}$, 4%) y F2(Costa: $0.223 \pm 0.236 \text{ mg kg}^{-1}$, 11%; Orellana: $1.800 \pm 0.450 \text{ mg kg}^{-1}$, 7%) (Tabla 5.2).

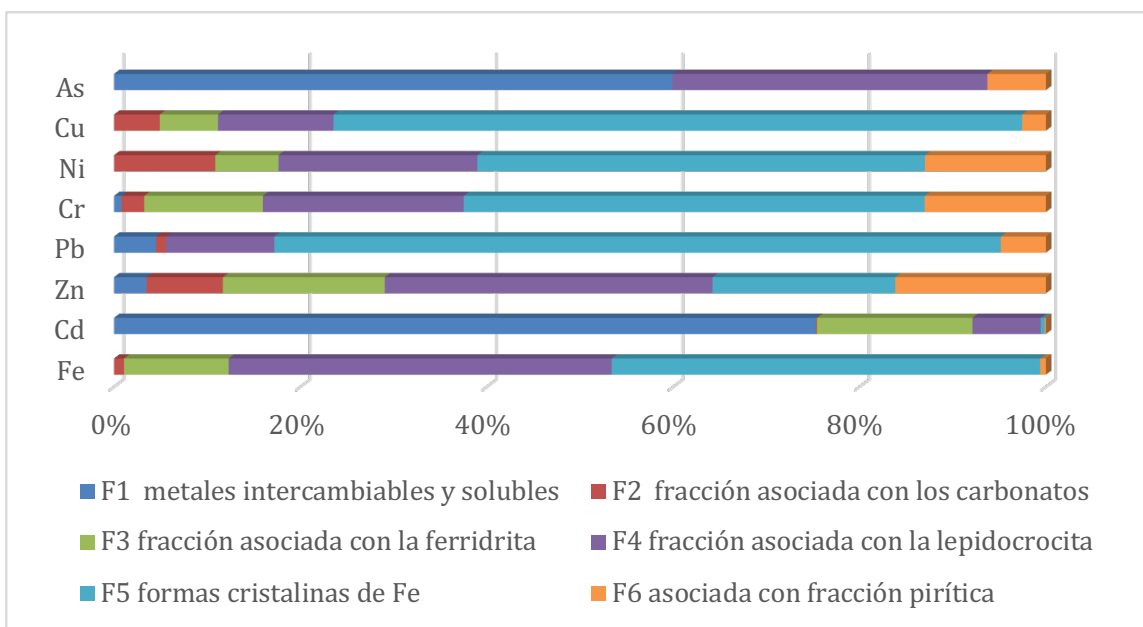


Figura 5.4 Relación de la concentración de metales en cada una de las fracciones de la Extracción Secuencial (SEM) y la concentración total extraída, en suelos de cultivos de arroz de Ecuador.

– Plomo:

La concentración promedio total de plomo (PbT) en suelos de Ecuador fue de $12.4 \pm 8.2 \text{ mg kg}^{-1}$ (rango: $2.4\text{-}34.0 \text{ mg kg}^{-1}$) (Fig. 5.3). Las concentraciones de plomo presentaron diferencias significativas entre las provincias de la Costa y la provincia de Orellana ($p < 0.05$). Por provincias la concentración más elevada de plomo correspondió a la provincia de Los Ríos ($17.8 \pm 9.3 \text{ mg kg}^{-1}$) y la más baja a la provincia de Orellana ($4.3 \pm 2.0 \text{ mg kg}^{-1}$) (Fig. 5.3, Tabla S1 anexo 3), encontrándose también diferencias significativas entre las concentraciones de plomo de las diferentes provincias ($p < 0.05$).

La fracción biodisponible alcanzó un 13% de la concentración total ($1.66 \pm 1.23 \text{ mg kg}^{-1}$) (Tabla 5.3) y en la extracción secuencial en las fracciones más lábiles (F1 y F2) se alcanzó un 2% para las provincias de la Costa (F1: 0.013 ± 0.043 , 1%; F2: 0.013 ± 0.043 , 1%) y un 29% para la provincia de Orellana (F1: 0.0168 ± 0.031 , 29%; F2: $< \text{L.D.}$) y el

Tabla 5.3 Concentraciones de metales (mg kg⁻¹) en la fracción de extracción Melich y relación entre la concentración del metal en la fracción y la concentración total de las muestras de suelo (%) de cultivos de arroz de las diferentes provincias del Ecuador (promedio±SD). na: no analizado

Provincia	Cr	Zn	Pb	Cd	Cu	As	Ni
Guayas (n = 62)	0.25±0.08 0.4%	2.21±1.55 3%	2.06±1.19 17%	0.14±0.09 61%	7.10±4.44 14%	0.15±0.10 3%	1.93±1.08 6%
Los Ríos (n = 21)	0.17±0.08 0.4%	1.60±1.00 2%	0.69±0.73 4%	0.08±0.07 24%	5.27±6.21 6%	0.06±0.05 1%	0.65±0.75 2%
El Oro (n = 3)	0.77±0.12 n.a (CrT)	2.01±0.40 n.a (ZnT)	1.55±0.86 16%	0.24±0.06 80%	3.04±0.56 n.a (CuT)	0.20±0.03 6%	2.33±0.55 n.a (NiT)
Provincias de la Costa (n=86)	0.25±0.13 0.4 %	2.05±1.42 2%	1.70±1.23 13%	0.13±0.09 50%	6.50±4.95 11%	0.131±0.095 3%	1.62.48±1.14 5%
Orellana (n = 3)	0.03±0.01 0.2%	3.02±2.23 5%	0.61±0.30 14%	0.25±0.18 78%	3.15.±1.30 11%	0.012±0.003 1%	0.21±0.04 3%
Ecuador (n = 89)	0.24±0.14 0.5%	2.08±1.45 2%	1.66±1.23 13%	0.13±0.10 48%	6.38±4.90 11%	0.127±0.100 3%	1.58±1.15 5%

mayor porcentaje se determinó en la fracción asociada con las formas cristalinas de oxihidróxidos de hierro (F5) con un valor de 0.847 ± 0.069 mg kg^{-1} (80%) para las provincias de la Costa y 0.369 ± 0.068 mg kg^{-1} (64%) para la Provincia de Orellana (Tabla 5.2).

– Cadmio:

La concentración total promedio de cadmio (CdT) fue de 0.27 ± 0.14 mg kg^{-1} (rango: 0.05-0.69 mg kg^{-1}) (Fig. 5.3). Las concentraciones de las diferentes provincias presentan diferencias significativas ($p < 0.05$). El contenido de cadmio de la provincia de los Ríos es el más alto (0.34 ± 0.14 mg kg^{-1}) y el más bajo para la provincia del Guayas (0.23 ± 0.14 mg kg^{-1}) (Fig. 5.3, Tabla S1 anexo 3).

La fracción biodisponible de Cd alcanzó porcentajes muy elevados respecto al contenido total, representando el 50% en las provincias de la Costa (0.13 ± 0.09 mg kg^{-1}) y un 78% (0.25 ± 0.18 mg kg^{-1}) en la provincia de Orellana. Valores que concuerdan con la extracción secuencial, en donde el Cd, en las provincias de la Costa como en la de Orellana, se presenta mayoritariamente en la fracción intercambiable y soluble F1, 82% y 73%, respectivamente (Tabla 5.2), mientras que la concentración de Cd adsorbida a los oxihidróxidos de Fe fue muy baja (24%).

– Mercurio:

La concentración total promedio de mercurio (HgT) para las provincias de Guayas y Los Ríos fue de 0.06 ± 0.04 mg kg^{-1} (rango: 0.01-0.14 mg kg^{-1}) (Fig. 5.3), Además, las concentraciones de HgT de las dos provincias analizadas no presentan diferencias significativas ($p < 0.05$). Para Hg no se determinó la fracción biodisponible y la extracción secuencial.

– Cobre:

La concentración total promedio de cobre (CuT) fue de 57.2 ± 30.1 mg kg^{-1} (rango: 25.0-16.0 mg kg^{-1}) (Tabla 5.2). Las concentraciones de cobre de los suelos de las diferentes provincias presentan diferencias significativas ($p < 0.05$). El contenido de cobre más elevado correspondió a la provincia de Los Ríos (86.1 ± 40.6 mg kg^{-1}) y el más bajo a la de Orellana (29.2 ± 7.8 mg kg^{-1}) (Fig. 5.3, Tabla S1 anexo 3).

La concentración biodisponible más elevada correspondió a la provincia del Guayas (7.10 ± 4.44 mg kg^{-1}) que representó el 14% y la

más baja en la provincia de El Oro ($3.04 \pm 0.56 \text{ mg kg}^{-1}$) (Tabla 5.3).

Las fracciones F1 y F2 de la SEM mostraron concentraciones bajas (F1 < L.D. y F2: $0.186 \pm 0.139 \text{ mg kg}^{-1}$) que representa menos del 5% del contenido total de cobre. La mayor parte del Cu se encuentra asociado a la fracción F5, formas cristalinas de oxihidróxidos de hierro (F5), que presenta un porcentaje de 91% ($9.500 \pm 2.587 \text{ mg kg}^{-1}$) en la provincia de Orellana y 53% ($1.125 \pm 0.347 \text{ mg kg}^{-1}$) en las provincias de la Costa (Tabla 5.2).

– Níquel:

El contenido total de níquel (NiT) fue de $29.5 \pm 14.3 \text{ mg kg}^{-1}$ (rango: $7.4\text{-}64.0 \text{ mg kg}^{-1}$) (Fig. 5.3). Las concentraciones de Ni en suelo de las diferentes provincias analizadas presentan diferencias significativas ($p < 0.05$), siendo los valores de la provincia del Guayas los más elevados ($31.6 \pm 13.3 \text{ mg kg}^{-1}$) y los valores más bajos los de la provincia de Orellana ($8.5 \pm 1.9 \text{ mg kg}^{-1}$) (Fig. 5.3, Tabla S1 anexo 3).

La fracción biodisponible fue baja representando menos del 5% del contenido total de níquel ($1.58 \pm 1.15 \text{ mg kg}^{-1}$), lo cual está de acuerdo con las bajas concentraciones obtenidas para las fracciones lábiles de la SEM (F1 < L.D.; F2: $0.252 \pm 0.215 \text{ mg kg}^{-1}$). La mayor parte del níquel en las provincias de la Costa se encuentra asociado a los oxihidróxidos de Fe cristalino (1.218 ± 0.199 ; 56%), mientras que en la provincia de Orellana estuvo asociado a la lepicrocita ($1.000 \pm 0.087 \text{ mg kg}^{-1}$; 35%) (Tabla 5.2).

– Arsénico:

El contenido total promedio de arsénico (AsT) en suelos fue de $4.6 \pm 3.2 \text{ mg kg}^{-1}$ (rango: $0.61\text{-}17.1 \text{ mg kg}^{-1}$). La concentración total de arsénico en los suelos de la provincia de los Ríos fue la más elevada ($6.8 \pm 4.8 \text{ mg kg}^{-1}$), seguido por Guayas ($4.5 \pm 2.4 \text{ mg kg}^{-1}$) y El Oro ($3.3 \pm 1.1 \text{ mg kg}^{-1}$). La concentración más baja correspondió a los suelos de la provincia de Orellana ($1.07 \pm 0.44 \text{ mg kg}^{-1}$) (Fig. 5.3, Tabla S1 anexo 3). Las concentraciones de As en suelos de las diferentes provincias en estudio fueron significativamente diferentes ($p < 0.05$).

La concentración biodisponible alcanzó un valor de $0.131 \pm 0.095 \text{ mg kg}^{-1}$ (3% del AsT) en las provincias de la Costa y en la provincia de Orellana fue del 1% del AsT ($0.012 \pm 0.003 \text{ mg kg}^{-1}$) (Tabla 5.3). En la SEM la fracción 1 fue la que presentó los valores más elevados en la

provincia de Orellana ($0.314 \pm 0.088 \text{ mg kg}^{-1}$; 85%) y el 100% (0.463 mg kg^{-1}) en la fracción F4 en las provincias costa (Tabla 5.2). Este elevado valor de As en la fracción F1, que correspondería con la fracción más lábil y móvil, contrasta con la baja concentración obtenida para la fracción biodisponible. Esta aparente contradicción no tiene una explicación clara, más allá del hecho de que el método de extracción secuencial fue diseñada para la extracción de cationes metálicos no oxianiones.

Por otro lado, se obtuvo una correlación altamente significativa entre el contenido total de Fe y la mayoría de los elementos tóxicos (Fig. 5.5); sin embargo, los oxihidróxidos de Fe no se correlacionaron significativamente o la correlación fue negativa (Tabla 5.4); mientras que los elementos tóxicos mantuvieron para la mayoría de los casos correlaciones positivas y altamente significativas (Tabla 5.4).

5.3.3 Contenido total de arsénico y metales pesados en grano de arroz

5.3.3.1 Elementos tóxicos en grano de arroz de Ecuador

Las concentraciones de metales pesados en el arroz comercial de Ecuador (Tabla 5.5) fueron: Zn: $17.84 \pm 4.52 \text{ mg kg}^{-1}$ > Cu: $3.63 \pm 1.70 \text{ mg kg}^{-1}$ > Cr: $1.75 \pm 3.33 \text{ mg kg}^{-1}$ > Ni: $0.654 \pm 0.583 \text{ mg kg}^{-1}$ > As: $0.109 \pm 0.066 \text{ mg kg}^{-1}$ > Pb: $0.069 \pm 0.056 \text{ mg kg}^{-1}$ > Cd: $0.041 \pm 0.034 \text{ mg kg}^{-1}$ > Hg: $0.004 \pm 0.001 \text{ mg kg}^{-1}$.

Para las muestras de campo las concentraciones fueron (Tabla 5.5): Zn: $23.71 \pm 7.73 \text{ mg kg}^{-1}$ > Cu: $3.44 \pm 1.39 \text{ mg kg}^{-1}$ > Ni: $1.401 \pm 1.046 \text{ mg kg}^{-1}$ > Cr: $1.31 \pm 1.59 \text{ mg kg}^{-1}$ > Cd: $0.093 \pm 0.215 \text{ mg kg}^{-1}$ > Pb: $0.085 \pm 0.153 \text{ mg kg}^{-1}$ > As: $0.080 \pm 0.067 \text{ mg kg}^{-1}$ > Hg: $0.006 \pm 0.004 \text{ mg kg}^{-1}$, no observándose diferencias significativas entre las muestras de arroz comercial y las muestras obtenidas directamente en el campo, excepto para el Pb, Zn y Ni que si presentan diferencias significativas entre los dos tipos de arroz indicados ($p < 0.05$).

A continuación se describen cada uno de los elementos tóxicos analizados:

- Cromo:

La concentración de CrT en arroz comercial ($1.75 \pm 3.33 \text{ mg kg}^{-1}$) y en grano de muestras de campo ($1.31 \pm 1.59 \text{ mg kg}^{-1}$) (Tabla 5.5) fueron

similares, entre provincias tampoco presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) (Tabla 5.6). Se obtuvieron valores anormalmente altos de Cr para arroz comercial (rango: 0.10-10.12 mg kg⁻¹) y grano de campo (rango: 0.10-7.89 mg kg⁻¹) por lo cual los valores promedios de Cr, superaron el valor umbral establecido de 1 mg kg⁻¹ (MHPRC, 2017, U.E, 2017).

- Zinc:

El contenido de ZnT en grano de campo (23.71 ± 7.73 mg kg⁻¹) fue significativamente ($p < 0.05$) más elevado que en arroz comercial (17.84 ± 4.52 mg kg⁻¹) (Tabla 5.5), sin embargo, las concentraciones de Zn en las diferentes provincias fueron similares (Tabla 5.6).

- Plomo:

La concentración de PbT en arroz comercial (0.069 ± 0.056 mg kg⁻¹) fue significativamente ($p < 0.05$) más bajo que en grano de campo (0.085 ± 0.153 mg kg⁻¹) (Tabla 5.5), mientras que las concentraciones de Pb en las diferentes provincias no presentaron diferencias significativas (Tabla 5.6).

- Cadmio:

Los contenidos de CdT en arroz comercial (0.041 ± 0.034 mg kg⁻¹) y en arroz de campo (0.093 ± 0.215 mg kg⁻¹) fueron similares (Tabla 5.5). Los contenidos totales de Cd también presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las provincias de El Oro (0.379 ± 0.418 mg kg⁻¹) y Guayas (0.047 ± 0.138 mg kg⁻¹); y la provincia de El Oro y los Ríos (0.045 ± 0.071 mg kg⁻¹). Para la provincia de Orellana no se analizaron muestras de grano de campo (Tabla 5.6).

- Mercurio:

La concentración de HgT en arroz comercial (0.004 ± 0.001 mg kg⁻¹) fue similar a la de grano de campo (0.006 ± 0.004 mg kg⁻¹) (Tabla 5.5). Las concentraciones de Hg de las diferentes provincias tampoco presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) (Tabla 5.6).

- Cobre:

Los contenidos de CuT no presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre arroz comercial (3.63 ± 1.70 mg kg⁻¹) y grano de campo

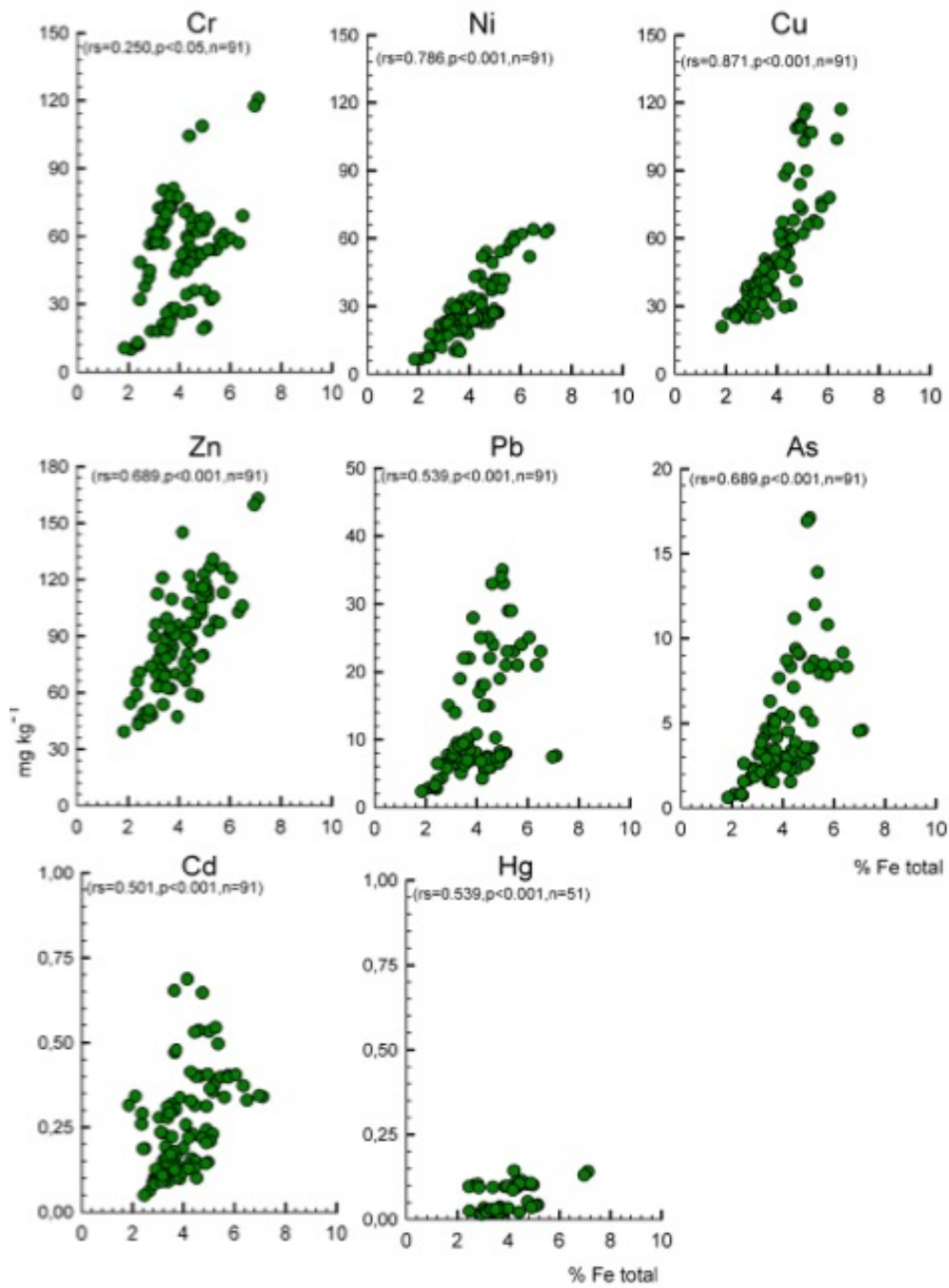


Figura 5.5 Relación entre el contenido total de Fe y elementos tóxicos en suelos de arroz

Tabla 5.4. Matriz de correlación entre Fe, As y metales tóxicos ns: no significativo

	Cr	Ni	Cu	Zn	As	Cd	Hg	Pb
Fe oxihidróxidos	-0.899 p<0.001 n=14	-0.807 p<0.001 n=14	-0.512 p<0.05 n=14	-0.487 ns n=14	-0.226 ns n=14	-0.147 ns n=14	-0.109 ns n=14	-0.227 ns n=14
Cr		0.519 p<0.01 n=91	0.284 p<0.01 n=91	0.173 ns n=91	0.158 ns n=91	-0.315 p<0.01 n=91	0.215 ns n=51	0.151 ns n=91
Ni			0.794 p<0.001 n=91	0.649 p<0.001 n=91	0.743 p<0.001 n=91	0.372 p<0.001 n=91	0.062 ns n=51	0.488 p<0.01 n=91
Cu				0.780 p<0.001 n=91	0.703 p<0.001 n=91	0.501 p<0.001 n=91	0.301 p<0.05 n=51	0.519 p<0.001 n=91
Zn					0.744 p<0.001 n=91	0.694 p<0.001 n=91	-0.097 ns n=51	0.679 p<0.001 n=91
As						0.550 p<0.001 n=91	0.080 ns1 n=51	0.756 p<0.001 n=91
Cd							-0.057 ns n=51	0.643 p<0.001 n=101
Hg								-0.380 p<0.01 n=101

($3.44 \pm 1.39 \text{ mg kg}^{-1}$) (Tabla 5.5). Entre provincias las concentraciones de Cu también fueron similares (Tabla 5.6).

- Níquel:

Las concentraciones de NiT de grano de campo ($1.401 \pm 1.046 \text{ mg kg}^{-1}$) fueron significativamente más elevadas que las de arroz comercial ($0.654 \pm 0.583 \text{ mg kg}^{-1}$) (Tabla 5.5). Mientras que las concentraciones de Ni fueron similares entre provincias (Tabla 5.6).

- Arsénico

Las concentraciones de As en arroz comercial ($0.109 \pm 0.066 \text{ mg kg}^{-1}$) fueron similares a las de grano de campo ($0.080 \pm 0.067 \text{ mg kg}^{-1}$) (Tabla 5.5). Los contenidos totales de As en muestras de grano obtenido en campo muestran diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las tres provincias, siendo las concentraciones más elevadas las de la provincia de El Oro ($0.186 \pm 0.040 \text{ mg kg}^{-1}$), seguidas por las concentraciones de la provincia del Guayas ($0.079 \pm 0.051 \text{ mg kg}^{-1}$) y las más bajas las de la provincia de Los Ríos ($0.025 \pm 0.039 \text{ mg kg}^{-1}$) (Tabla 5.6).

Tabla 5.5. Concentraciones de metales totales (mg kg⁻¹) en muestras de grano de arroz comercial y muestras de campo de Ecuador y otros países (promedio±SD).

País	Tipo	Cr	Zn	Pb	Cd	Hg	Cu	As	Ni
Ecuador (n = 33)	Comercial	1.753±3.326 (0.096- 10.123)	17.84±4.52 (10.63-31.61)	0.069±0.056 (0.003-0.240)	0.041±0.034 (0.007-0.146)	0.004±0.001 (0.003-0.008)	3.63±1.70 (1.53-9.62)	0.109±0.066 (0.020-0.310)	0.654±0.583 (0.151-2.236)
Ecuador (n = 36)	Campo	1.313±1.592 (0.104-7.893)	23.71±7.73 (13.84-48.29)	0.085±0.153 (0.022-0.796)	0.093±0.215 (0.009 -1.023)	0.006±0.004 (0.002-0.019)	3.44±1.39 (1.00-6.90)	0.080±0.067 (0.021-0.237)	1.401±1.046 (0.227-5.437)
Brasil (n = 10)	Comercial	2.291±4.340 (0.105- 11.144)	16.50±5.11 (7.98-22.32)	0.140±0.149 (0.035-0.436)	0.017±0.006 (0.007-0.026)	0.006±0.001 (0.004-0.007)	3.17±1.20 (1.93-5.87)	0.171±0.046 (0.114-0.249)	0.505±0.235 (0.261-0.888)
Península Ibérica (n = 8)	Comercial	0.897±1.707 (0.054-5.072)	13.72±7.25 (5.34-30.39)	0.048±0.043 (0.008-0.123)	0.003±0.003 (0.001-0.009)	0.005±0.003 (0.003-0.013)	1.38±0.33 (0.83-1.72)	0.201±0.059 (0.105-0.307)	0.334±0.166 (0.117-0.594)

Tabla 5.6 Concentraciones de metales totales (mg kg⁻¹) en muestras de grano de arroz de campo de las diferentes provincias del Ecuador (promedio±SD). na: no analizado

Provincia	Cr	Zn	Pb	Cd	Hg	Cu	As	Ni
Guayas (n = 22)	1.146±1.157	24.05±8.87	0.118±0.183	0.047±0.138	0.007±0.004	3.327±1.382	0.079±0.051	1.420±1.196
Los Ríos (n = 9)	1.721±2.393	22.88±4.10	0.032±0.082	0.045±0.071	0.004±0.001	3.706±1.451	0.025±0.039	1.356±0.587
El Oro (n = 5)	n.a.	n.a.	0.037±0.015	0.379±0.418	n.a.	n.a.	0.186±0.040	n.a.
Provincias de la Costa (n=36)	1.313±1.592	23.71±7.73	0.085±0.153	0.093±0.215	0.006±0.004	3.437±1.389	0.080±0.067	1.401±1.046
Orellana	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a
Ecuador (n = 36)	1.313±1.592	23.71±7.73	0.085±0.153	0.093±0.215	0.006±0.004	3.437±1.389	0.080±0.067	1.401±1.046

Por otro lado, en arroz comercial de Ecuador (capítulo 3) las formas inorgánicas de As representan un 60 %, siendo el As (III) la forma dominante ($0.042 \pm 0.021 \text{ mg kg}^{-1}$, 39% del tAs), seguida del DMA ($0.035 \pm 0.012 \text{ mg kg}^{-1}$, 32% del tAs) y As (V) ($0.024 \pm 0.021 \text{ mg kg}^{-1}$, 22% del tAs). El MMA presentó concentraciones muy bajas. En Brasil el As (III) fue la forma dominante ($0.084 \pm 0.030 \text{ mg kg}^{-1}$, 44% del tAs) seguida del DMA ($0.064 \pm 0.028 \text{ mg kg}^{-1}$, 34% del tAs) y del As (V) ($0.033 \pm 0.006 \text{ mg kg}^{-1}$, 17% del tAs). El DMA fue la forma dominante en la península Ibérica ($0.072 \pm 0.043 \text{ mg kg}^{-1}$, 43% del tAs), seguida del As (III) ($0.061 \pm 0.034 \text{ mg kg}^{-1}$, 37% del tAs) y As (V) ($0.025 \pm 0.019 \text{ mg kg}^{-1}$, 15% del tAs) y en menor medida el MMA y AsB.

5.3.3.2 Metales totales en grano de arroz comercial de Brasil y la península Ibérica.

Las concentraciones promedio de elementos tóxicos en arroces comerciales de Brasil y de la península Ibérica (Tabla 5.5, Fig. 5.6) mantuvieron un orden similar al de los arroces de Ecuador, siendo para Brasil: Zn: $16.50 \pm 5.11 \text{ mg kg}^{-1}$ > Cu: $3.17 \pm 1.20 \text{ mg kg}^{-1}$ > Cr: $2.29 \pm 4.34 \text{ mg kg}^{-1}$ > Ni: $0.505 \pm 0.235 \text{ mg kg}^{-1}$ > As: $0.171 \pm 0.006 \text{ mg kg}^{-1}$ > Pb: $0.140 \pm 0.149 \text{ mg kg}^{-1}$ > Cd: $0.017 \pm 0.006 \text{ mg kg}^{-1}$ > Hg: $0.006 \pm 0.001 \text{ mg kg}^{-1}$, mientras que en la península Ibérica los contenidos fueron: Zn: $13.72 \pm 7.25 \text{ mg kg}^{-1}$ > Cu: $1.38 \pm 0.33 \text{ mg kg}^{-1}$ > Cr: $0.897 \pm 1.707 \text{ mg kg}^{-1}$ > Ni: $0.334 \pm 0.166 \text{ mg kg}^{-1}$ > As: $0.201 \pm 0.059 \text{ mg kg}^{-1}$ > Pb: $0.048 \pm 0.043 \text{ mg kg}^{-1}$ > Hg: $0.005 \pm 0.003 \text{ mg kg}^{-1}$ > Cd: $0.003 \pm 0.003 \text{ mg kg}^{-1}$.

Se observan diferencias significativas entre las concentraciones de elementos tóxicos en los arroces comerciales de los diferentes países ($p < 0.05$) para As, Cd, Hg y Cu, mientras que las concentraciones de Cd y Cu de Ecuador son significativamente más elevadas que las de la península Ibérica ($p < 0.05$) y las concentraciones de As de la península Ibérica y Brasil son significativamente más altas que las de Ecuador ($p < 0.05$).

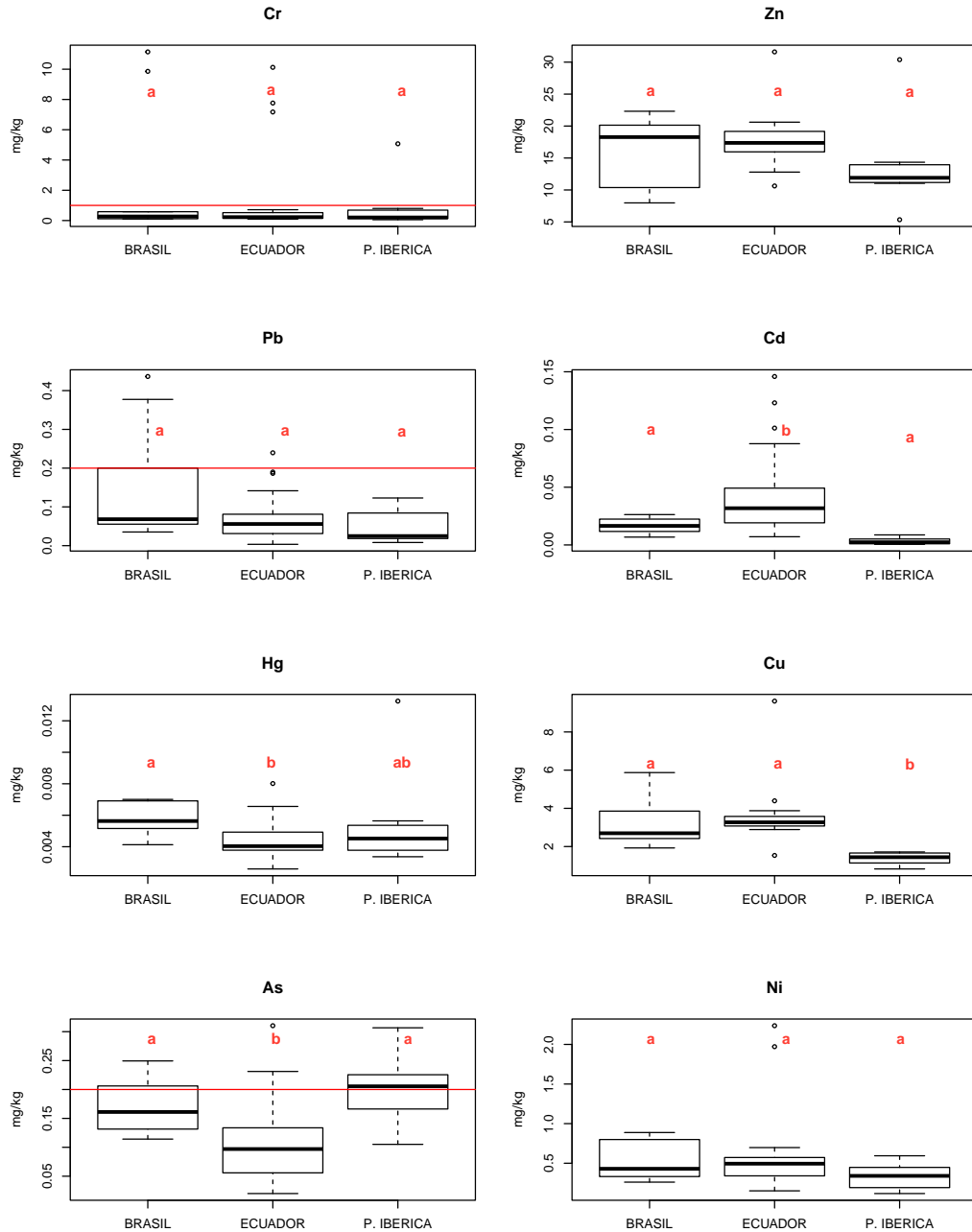


Figura 5.6 Concentración total de elementos traza en grano de arroz comercial de Brasil, Ecuador y países de la península Ibérica (Línea en rojo valor umbral para arroz de consumo humano). Diferentes letras indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre países.

5.3.4 Elementos tóxicos en hoja y tallo de la planta de arroz en Ecuador

El contenido de elementos tóxicos en hoja y tallo (Tabla 5.7) se describe a continuación:

– Zinc:

Las concentraciones promedio de Zn en la hoja y tallo fueron de $17.98 \pm 7.19 \text{ mg kg}^{-1}$ y $27.00 \pm 15.15 \text{ mg kg}^{-1}$, respectivamente, con rangos que varían ampliamente entre $1.85\text{-}38.44 \text{ mg kg}^{-1}$ para las hojas y un rango de $12.91\text{-}78.16 \text{ mg kg}^{-1}$ para el tallo, no presentando diferencias significativas ($p < 0.05$) en las concentraciones entre provincias para las hojas y el tallos. En la provincia de El Oro no se realizó el análisis.

– Cobre:

Las concentraciones fueron de $5.85 \pm 3.41 \text{ mg kg}^{-1}$ para la hoja y $4.01 \pm 3.08 \text{ mg kg}^{-1}$ para el tallo, con un rango de $0.41\text{-}13.34 \text{ mg kg}^{-1}$ y $0.50\text{-}15.52 \text{ mg kg}^{-1}$, respectivamente. Las concentraciones de hojas y tallos de la provincia de Orellana fueron significativamente ($p < 0.05$) más elevadas que en la provincia del Guayas.

– Níquel

Las concentraciones promedio en la hoja y tallos fue de $2.134 \pm 2.682 \text{ mg kg}^{-1}$ (rango: $0.131\text{-}8.966 \text{ mg kg}^{-1}$) y $1.421 \pm 1.322 \text{ mg kg}^{-1}$ (rango: $0.203\text{-}3.980 \text{ mg kg}^{-1}$). Las concentraciones de hojas y tallos de la provincia de Guayas fueron significativamente ($p < 0.05$) más elevadas que en la provincia de Orellana, siendo la concentración en los tallos de la provincia de los Ríos también significativamente ($p < 0.05$) más alta que en la Provincia de Orellana.

– Cromo

Las concentraciones de Cr promedio fueron de $3.434 \pm 4.118 \text{ mg kg}^{-1}$ (rango: $0.222\text{-}13.449 \text{ mg kg}^{-1}$) para la hoja y $1.610 \pm 1.651 \text{ mg kg}^{-1}$ (rango: $0.052\text{-}6.775 \text{ mg kg}^{-1}$) para el tallo. Las concentraciones de hojas y tallos de la provincia de Guayas son significativamente ($p < 0.05$) más elevadas que en la provincia de Orellana, siendo la concentración en los tallos de la provincia de los Ríos también significativamente ($p < 0.05$) más altos que en la Provincia de Orellana.

– Arsénico

Las concentraciones de As en hoja y tallo fueron $0.285 \pm 0.288 \text{ mg kg}^{-1}$ (rango: $0.022\text{-}1.126 \text{ mg kg}^{-1}$) y $0.134 \pm 0.145 \text{ mg kg}^{-1}$ (rango: 0.021-

Tabla 5.7. Concentraciones de metales totales (mg kg⁻¹) en muestras de planta de arroz (hoja y tallo) de las diferentes provincias del Ecuador (promedio±SD). LD: límite de detección. na: no analizado

Provincia	Parte de la planta	Cr	Zn	Pb	Cd	Hg	Cu	As	Ni
Guayas	Hoja (n=13)	4.697±4.601	19.35±7.11	0.075±0.071	0.026±0.030	0.006±0.002	4.17±2.31	0.275±0.282	2.882±3.158
	Tallo (n=14)	1.856±1.372	30.58±16.20	0.045±0.048	0.043±0.065	0.004±0.002	3.41±3.71	0.184±0.181	1.656±1.356
Los Rios	Hoja (n=5)	3.935±4.431	19.24±6.71	0.085±0.081	0.071±0.052	0.007±0.003	5.72±1.03	0.087±0.036	2.497±2.533
	Tallo (n=6)	2.309±2.442	23.38±19.09	0.047±0.038	0.078±0.070	0.003±0.0004	3.78±1.57	0.039±0.040	2.018±1.496
El Oro	Hoja (n=10)	n.a	n.a	0.638±1.491	0.095±0.060	n.a	n.a	0.562±0.234	n.a
	Tallo (n=10)	n.a	n.a	0.078±0.021	0.372±0.517	n.a	n.a	2.551±7.431	n.a
Provincias de la Costa	Hoja (n=28)	4.485±4.437	19.32±6.80	0.278±0.905	0.059±0.056	0.006±0.002	4.60±2.12	0.344±0.293	2.775±2.929
	Tallo (n=30)	1.992±1.704	29.92±16.63	0.056±0.041	0.160±0.330	0.004±0.002	3.52±3.17	0.998±4.451	1.764±1.370
Orellana	Hoja (n=7)	0.732±0.475	14.54±7.53	0.023±0.031	0.087±0.086	0.003±0.007	9.06±4.11	0.047±0.018	0.487±0.239
	Tallo (n=7)	0.521±0.861	18.66±3.01	0.021±0.029	0.219±0.120	< L.D.	5.43±2.46	0.042±0.042	0.438±0.330
Ecuador	Hoja (n=35)	3.434±4.118	17.98±7.19	0.227±0.813	0.064±0.062	0.005±0.005	5.85±3.41	0.285±0.288	2.134±2.682
	Tallo (n=37)	1.610±1.651	27.00±15.15	0.050±0.041	0.171±0.301	0.002±0.002	4.01±3.08	0.134±0.145	1.421±1.322

23.6975, respectivamente, presentando diferencias significativas ($p < 0.05$) entre provincias para hoja y tallo.

– Plomo

Las concentraciones promedio para la hoja fue de $0.227 \pm 0.813 \text{ mg kg}^{-1}$ (rango: 0.009- 4.876 mg kg^{-1}) y para el tallo de $0.050 \pm 0.041 \text{ mg kg}^{-1}$ (rango: 0.007-0.175 mg kg^{-1}). Las concentraciones de hojas y tallos de la provincia de El Oro son significativamente ($p < 0.05$) más elevadas que en la provincia de Orellana, siendo la concentración en los tallos de la provincia del Guayas también significativamente ($p < 0.05$) más alta que en la Provincia de Orellana.

– Cadmio

Las concentraciones promedio de hoja y tallo fueron $0.064 \pm 0.062 \text{ mg kg}^{-1}$ (rango: 0.007-0.252 mg kg^{-1}) y $0.171 \pm 0.301 \text{ mg kg}^{-1}$ (rango: 0.005-1.436 mg kg^{-1}). Las concentraciones de hojas y tallos de la provincia de El Oro son significativamente ($p < 0.05$) más elevadas que en la provincia del Guayas, siendo la concentración en los tallos de la provincia de Orellana también significativamente ($p < 0.05$) más alta que en la Provincia de Guayas.

– Mercurio

Las concentraciones promedio para la hoja fue de $0.005 \pm 0.005 \text{ mg kg}^{-1}$ (rango: 0.005-0.017 mg kg^{-1}) y para el tallo de $0.002 \pm 0.002 \text{ mg kg}^{-1}$ (rango: 0.006-0.008 mg kg^{-1}). Las concentraciones de Hg de las provincias de Orellana y Guayas presentan diferencias significativas ($p < 0.05$).

Las concentraciones de elementos tóxicos en grano fueron más bajas que en hojas y tallos, excepto para el Zn y el Hg. En el caso del Zn la concentración decreció en el siguiente orden: tallo > grano > hoja y para el Hg : hoja > grano > tallo (Fig. 5.7).

Comparando los contenidos de elementos traza en tallo de las provincias de la Costa con la provincia oriental de Orellana, se observaron diferencias significativas ($p < 0.05$) en la concentración de Cr, Pb, Hg y Ni. En cuanto al contenido de elementos traza en hoja, presentaron diferencias significativas las concentraciones totales de Cr, Cu y As (Tabla S2 anexo 3).

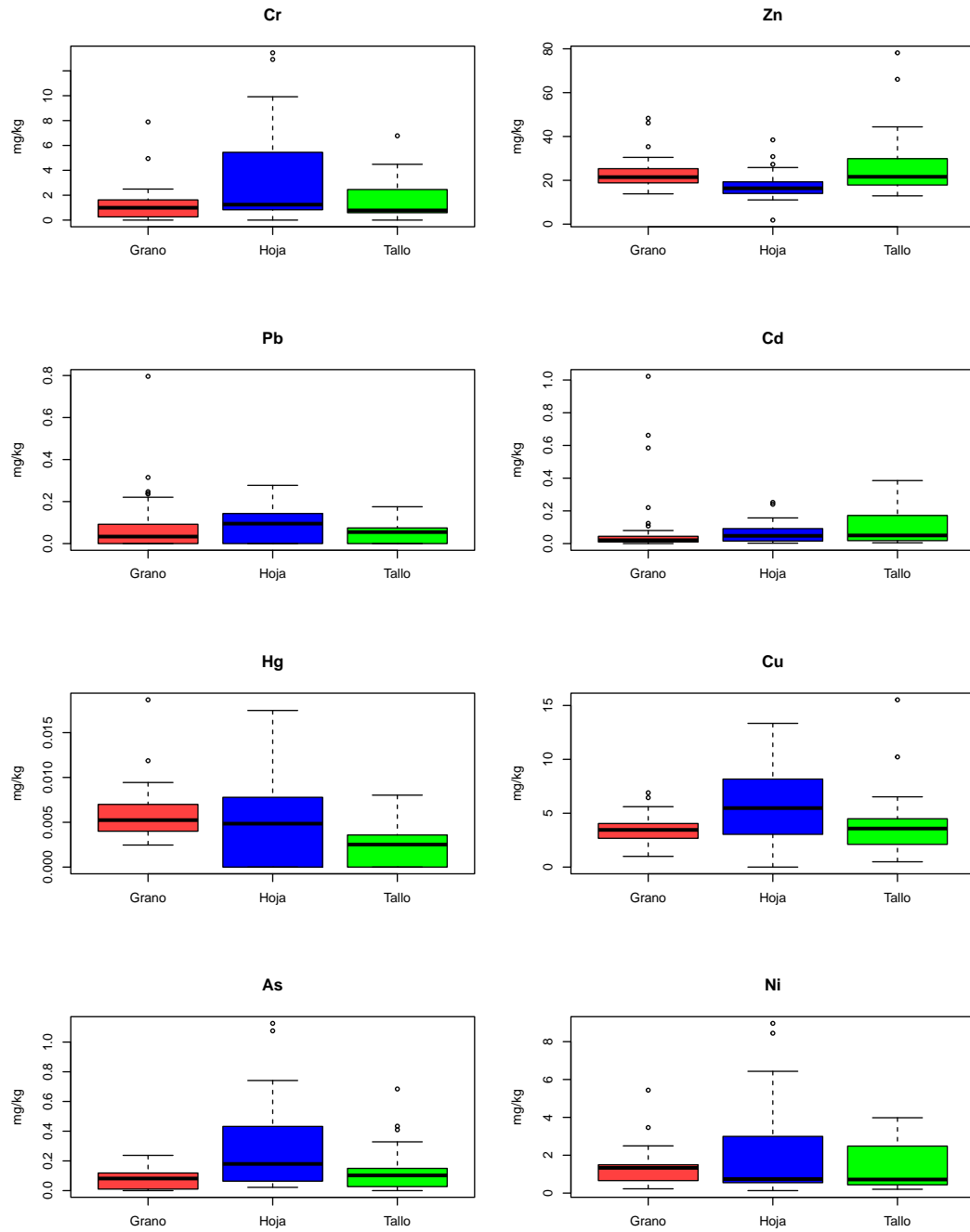


Figura 5.7 Concentraciones totales de elementos traza en las diferentes partes de la planta (grano, hoja y tallo)

5.3.5 Riesgo a exposición por metales pesados

Los valores obtenidos para el cociente de peligrosidad (THQ_i) para arroces comerciales de Ecuador fueron: Cr: 1.1×10^{-3} , Zn: 5.8×10^{-2} , Pb: 3.3×10^{-2} , Cd: 7.8×10^{-2} , Cu: 8.9×10^{-2} , Ni: 5.8×10^{-2} y iAs: 4.3×10^{-2} (Fig. 5.8); los valores de THQ_i para grano de arroz de campo de Ecuador fueron más elevados: Cr: 1.8×10^{-3} , Zn: 1.6×10^{-1} , Pb: 7.4×10^{-2} , Cd: 2.1×10^{-1} , Cu: 1.7×10^{-1} , Ni: 2.6×10^{-1} y iAs: 1.3×10^{-1} . Brasil (Cr: 2.2×10^{-3} , Zn: 8.0×10^{-2} , Pb: 5.1×10^{-2} , Cd: 2.4×10^{-2} , Cu: 1.2×10^{-1} , Ni: 6.7×10^{-2} y iAs: 1.0×10^{-1}) presentó valores similares a los de arroz de Ecuador, mientras que los de la península Ibérica también (Cr: 2.1×10^{-4} , Zn: 1.9×10^{-2} , Pb: 4.8×10^{-3} , Cd: 1.5×10^{-3} , Cu: 1.4×10^{-2} , Ni: 1.2×10^{-2} y iAs: 1.5×10^{-2}) fueron inferiores.

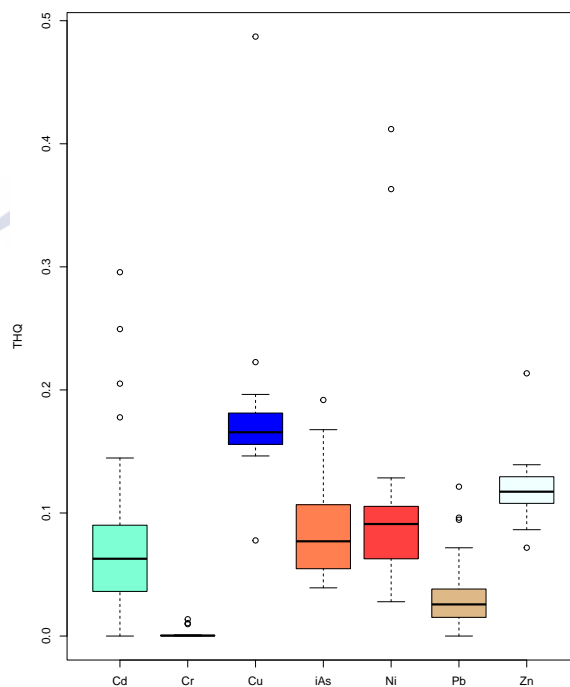


Figura 5.8. Gráfico de caja para los valores de THQ para cada uno de los metales en arroces de Ecuador.

5.4 DISCUSIÓN

5.4.1 Calidad de los suelos agrícolas

En general, la concentración en suelos de la mayor parte de los elementos estudiados estuvo por debajo de los valores umbral de la legislación ecuatoriana (Texto Unificado de Legislación Secundaria, TULSMA), excepto en pocas muestras de las zonas de cultivo de las provincias de Los Ríos y Guayas que presentaron valores anormalmente elevados de Cr, Cu y Ni, mientras que en la provincia de El Oro fue el As (Fig. 5.3).

Sin embargo, los valores umbral varían ampliamente entre países, por lo que las concentraciones de suelos obtenidas se mantienen bajo estos valores con pocas excepciones. En el caso del Cr y Cu aproximadamente el 30% y para el Ni el 10% de las muestras sobrepasan el valor de 65 mg kg^{-1} , 63 mg kg^{-1} y 50 mg kg^{-1} (valor umbral de la normativa ecuatoriana, respectivamente), además, para el Cr y Cu cerca del 4% y 13% respectivamente de las muestras, sobrepasan el valor umbral de 100 mg kg^{-1} propuesto en varias normativas para estos dos elementos (Ewers, 1991, Kabata Pendias, 1995, FAO/WHO, 2001). Para el As casi la totalidad de las muestras están bajo el valor umbral de la normativa ecuatoriana (12 mg kg^{-1}). Las concentraciones de Pb, Hg y Cd en suelos están bajo los valores umbral establecidos en la normativa ecuatoriana y de otros países.

Las correlaciones altamente significativas entre el contenido total de Fe y elementos tóxicos y entre estos últimos, pero no con los óxidos de Fe, parece indicar un origen asociado al sustrato geológico, descartándose una fuente antrópica. Esta idea también se ve apoyada por las bajas concentraciones obtenidas para la mayoría de ellos.

Estos resultados indican además el papel fundamental que tiene el contenido de Fe en la movilidad y biodisponibilidad de los elementos tóxicos en el suelo (Yamaguchi et al., 2014, Otero et al., 2016, Yu et al., 2016) y por lo tanto impedir su toma y traslocación a la planta, como se ha visto en estudios anteriores para metales como el cadmio (Du et al., 2013).

La biodisponibilidad y toxicidad no solo depende tanto de las concentraciones totales de los metales como, de las fracciones químicas entre las que se distribuye cada elemento (Zhao et al., 2011, Kabata

Pendias 1993). En el presente estudio, las concentraciones totales de elementos como el Cr, Cu, Ni sobrepasaron los valores umbral establecidos para los suelos de cultivo; sin embargo, las concentraciones de los elementos considerados en las fracciones más lábiles, especialmente la F1 y F2 (Zhao et al., 2011; Zhang et al., 2018) fue extremadamente baja, representando menos del 5% del contenido total, excepto para el Cd y el As que son habitualmente los dos elementos que se acumulan en el grano de arroz y han generado ya serios problemas para la salud humana (Li et al., 2017, Suriyagoda et al., 2018, Gu et al., 2019). Los porcentajes de Cd y As para la fracción F1 fueron del 75% para el Cd y 60% para el As; sin embargo, las concentraciones de estos dos elementos en los suelos fueron muy bajas por lo que no parecen representar un riesgo para la salud. Esta hipótesis se apoya en las bajas concentraciones de Cd y As presentes en el grano de arroz comercial y de grano de planta, que presentan valores bajo los límites permisibles.

Por otra parte elementos tóxicos como el Cr, Zn, Pb, Cu, Ni se encuentran principalmente asociados con las fracciones F4 y F5 consideradas conjuntamente con la fracción F3, fracciones potencialmente disponibles (Zhang et al., 2018). Sin embargo, las condiciones Eh-pH para la mayoría de los suelos de arroz del Ecuador garantizan la estabilidad de las formas cristalinas de los oxihidróxidos de Fe (goethita) (Otero et al., 2016; Fig. 3.9). Además, esta idea es consistente con la presencia de Fe-goethita en medios fuertemente reducidos, incluso metanogénicos como son los sedimentos metanogénicos de fondos de ría (Van der Zee et al., 2003; Otero et al., 2009). Por consiguiente, se puede considerar que la fracción metálica adsorbida a los oxihidróxidos de Fe cristalino no son asimilables por la planta de arroz.

Respecto a la fracción F6 (fracción pirítica), las condiciones ambientales de los campos de cultivo de arroz hacen poco viable la formación de sulfuros metálicos debidos fundamentalmente a la baja concentración del ion sulfato en el agua de inundación (Otero et al., 2016). Por consiguiente, la concentración metálica asociada a esta fracción debe considerarse bien como parte del metal asociado a la materia orgánica refractaria, no eliminada en el tratamiento previo con

H₂SO₄, o a otra fracción mineral recalcitrante presente en el suelo.

5.4.2 Metales en granos de arroz

Las concentraciones medias de metales en grano de arroz comercial y grano de muestras de campo de planta de arroz de Ecuador, no sobrepasan los valores umbral establecidos (MHPRC, 2017, U.E, 2017) , exceptuando para el Cr cuyos valores promedio para el arroz comercial y grano de las muestras de campo, sobrepasan el valor umbral establecido de 1 mg kg⁻¹, debido probablemente a concentraciones elevadas determinadas en suelos en suelos (Tabla. 5.5), sin embargo, el Cr(III) es la especie dominante en condiciones reductoras (condiciones de inundación), siendo el Cr(III) poco móvil y menos tóxico que el Cr(VI) (Xu et.al., 2018).

Además, se obtuvieron pocas muestras cuyas concentraciones de Pb, Cd y As presentaron valores sobre el valor umbral establecido para estos elementos de 0.2 mg kg⁻¹ (Fig 5.5).

Comparando las concentraciones de metales en los arroces comerciales de los diferentes países, se puede observar que la concentración de Cd en los arroces comerciales de Ecuador son las más altas, pero con valores bajo el valor umbral (0.2 mg kg⁻¹). Los valores promedio de Cr y Pb de Brasil y Ecuador y de As en España superaron los valores umbral, en el caso del As, estos valores altos coinciden con otros estudios (Torres-Escribano et al., 2008, Signes Pástor et al., 2016), sin embargo, la principal especie en los arroces de España es el ácido dimetil arsínico, especie considerada menos tóxica (Stybło et al., 2000).

5.4.3 Riesgo para la salud

La exposición a metales pesados por consumo de arroz se evaluó por medio del cociente de peligrosidad (*THQ_i*), los valores obtenidos para arroz comercial y grano de campo de Ecuador, Brasil y la península Ibérica se situaron muy por debajo del valor de 1 (USEPA, 1989) que indica riesgo a la salud. Adicionalmente, el valor del riesgo cancerígeno calculado para el iAs (arroz comercial de Ecuador: 4.03x10⁻⁸, grano de campo de Ecuador: 5.81x10⁻⁸, arroz comercial de Brasil: 4.53x10⁻⁸ y arroz comercial de la península Ibérica: 7.80x10⁻⁹) están también bajo

el rango que representa riesgo para la salud ($1 \times 10^{-6} - 1 \times 10^{-4}$) (Ma et al., 2017).

5.5 CONCLUSIONES

1. Las concentraciones de As y de metales pesados en suelos están bajo los valores umbral establecidos por la Legislación Ecuatoriana y de otros países, exceptuando pocas muestras que presentaron valores anormalmente elevados de Cr, Cu y Ni.

2. Metales, como Cd mostraron alta biodisponibilidad en suelos y otros como el As y Cd asociados a fracciones lábiles intercambiables y solubles, sin embargo, debido a las concentraciones de estos metales en el suelo no constituyen riesgo para los cultivos. Metales como el Pb, Cr, Ni y Cu se encontraron asociados a las formas cristalinas residuales de oxihidróxidos de hierro.

3. Las concentraciones promedio de As y metales pesados en grano de campo de Ecuador y grano de arroz comercial de Ecuador, Brasil y de los países de la península Ibérica no sobrepasan los valores umbral establecidos por las regulaciones nacionales e internacionales, excepto para el valor promedio de Cr en los arroces de Ecuador y Brasil. Es importante indicar que en medios reducidos, la especie predominante es Cr (III), que es la especie de Cr menos móvil y menos tóxica. Además, los valores del cociente de peligrosidad (TQH_i) para iAs y todos los metales pesados estudiados en el presente trabajo, así como el valor del riesgo cancerígeno determinado para el iAs no representan riesgo para la salud humana.

4. El presente estudio investigó la distribución del contenido de metales pesados en el grano de arroz de campo por provincias, encontrando que las concentraciones de As y Cd determinadas en la provincia de El Oro son significativamente más altas que las de las otras provincias. Entre países, las concentraciones de As y metales pesados en arroces comerciales, presentan diferencias significativas, siendo las concentraciones de Cd más elevadas en Ecuador que de los países de la península Ibérica y las concentraciones de As en la península Ibérica y Brasil, más altas que en Ecuador.

5.6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Appleton, J.D.T.M., Williams, T.M., Orbea, H., Carrasco, M. 2001. Fluvial contamination associated with artisanal gold mining in the Ponce Enríquez, Portovelo-Zaruma and Nambija áreas, Ecuador. *Water Air Soil Pollut*, 13, 19–39.

Bundschuh, J., Litter, M.I., Parvez, F., Román, G., Nicolli, H.B., Jean, J.S., et al. 2012a. 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.

Bundschuh, J., Nath, B., Bhattacharya, P., Liu, C.W., Armienta, M.A., Moreno, M.V., et al. 2012b. Arsenic in the human food chain: the Latin American perspective. *Science of the Total Environment*, 429, 92–106.

Cumbal L., Vallejo P., Rodriguez B., Lopez D., 2010. Arsenic in geothermal sources at the north-central Andean region of Ecuador: Concentrations and mechanisms of mobility. *Environ Earth Sci.* 61, 299–310.

De la Torre E., Guevara A., Muñoz G., Criollo E., 2004. Estudio de aguas superficiales y sedimentos de la cuenca de los ríos Sucus, Tambo y Papallacta. Quito, Ecuador: Unpublished report for the Ecuadorian Congress.

Cheajesadagul, P., Shiowatana, J., Siripinyanond, A., Szpunar, J. 2013. Chapter 24 - Rice. *Comprehensive Analytical Chemistry* 60, 623-655.

FAO. 2018. Soil pollution: A hidden reality – Main report. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Global Soil Partnership Food and Agriculture Organization, Rome, Italy, 156pp.

FAO. 2015. Status of the World’s Soil Resources (SWSR) – Main Report. Food and Agriculture Organization of the United Nations and Intergovernmental Technical Panel on Soils, Rome, Italy, 650 pp.

FAOSTAT, 2018. Food and Agriculture Organization. Food Balance Sheets

Chen, Y., Huang, B., Hu, W., Weindorf, D.C., Liu, X., Niedermann, S. 2014. Assessing the risks of trace elements in environmental materials under selected greenhouse vegetable

production systems of China. *Science of the Total Environment*, 470-471, 1140-1150.

Du, J., Yan, C., Li, Z. 2013. Formation of iron plaque on mangrove Kandalar. *Obovata (SL) root surfaces and its role in cadmium uptake and translocation. Mar. Pollut. Bull*, 74, 105–109.

Espinosa J., Moreno J. y Bernal G. 2018. *The soils of Ecuador*. Springer Link.

Ewers, U. 1991. Standards, guidelines and legislative regulatory concerning metals and their compounds. In: Merian, E. (Ed.), *Metals and Their Compounds in the Environment*. VCH Publishers, Weinheim, Germany, pp. 707–711.

Ferreira, T.O., Otero, X.L., Vidal-Torrado, P., Macías, F. 2007. Effects of bioturbation by root and crab activity on iron and sulfur biogeochemistry in mangrove substrate. *Geoderma*, 142, 36-46.

Gu, J., Zhou, H., Tang, H., Yang, W., Zeng, M., Liu, Z., Peng, P., Liao, B. 2019. Cadmium and arsenic accumulation during the rice growth period under in situ remediation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 171, 451-459

Huerta-Díaz, M.A., Morse J.W. 1990. A quantitative method for determination of trace metal concentrations in sedimentary pyrite. *Marine Chemistry*, 29,119-144.

Inaba, T., Kobayashi, E., Suwazono, Y., Uetani, M., Oishi, M., Nakagawa, H., Nogawa, K. 2005. Estimation of cumulative cadmium intake causing Itai–itai disease. *Toxicology Letters*, 159, 192-201.

Kabata-Pendias, A. 1995. Agricultural Problems Related to Excessive Trace Metal Contents of Soils. In: Förstner, U., Salomons, W., Mader, P. (Eds.) *Heavy Metals: Problems and Solutions*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 3-18.

Kögel-Knabner, I., Amelung, W., Cao, Z., Fiedler, S., Frenzel, P., Jahn, R., Kalbitz, K., Kölbl, A., Schloter, M. 2010. Biogeochemistry of paddy soils. *Geoderma*, 157, 1-14.

Kwon, J.C., Nejad, Z.D., Jung, M.C. 2017. Arsenic and heavy metals in paddy soil and polished rice contaminated by mining activities in Korea. *Catena*, 148, 92-100.

Li, H., Luo, N., Li, Y.W., Cai, Q.Y., Li, H.Y., Mo, C.H., Wong, M.H. 2017. Cadmium in rice: Transport mechanisms, influencing

factors, and minimizing measures. *Environmental Pollution*, 224, 622-630.

Liu, Y., Zhou, T., Crowley, D., Li, L., Liu, D., Zheng, J., Yu, X., Pan, G., Hussain, Q., Zhang, X., Zheng, J. 2012. Decline in topsoil microbial quotient, fungal abundance and C utilization efficiency of rice paddies under heavy metal pollution across South China. *PLoS One* 7, e38858.

Ma, L., Wang, L., Tang, J., Yang, Z. 2017. Arsenic speciation and heavy metal distribution in polished rice grown in Guangdong Province, Southern China. *Food Chemistry*, 233, 110-116.

Mao, C., Song, Y., Chen, L., Ji, J., Li, J., Yuan, X., Yang, Z., Ayoko, G.A., Frost, R.L., Theiss, F. 2019. Human health risks of heavy metals in paddy rice based on transfer characteristics of heavy metals from soil to rice. *Catena*, 175, 339-348.

Meharg A.A., Rahman M. 2003. Arsenic contamination of Bangladesh paddy field soils: implications for rice contribution to arsenic consumption, *Environ. Sci. Technol*, 37, 229–234.

Meharg, A. A., Zhao F.J. 2012. *Arsenic & Rice*. Springer Netherlands.

Mehlich, A. 1984. Mehlich 3 soil test extractant: a modification of the Mehlich 2 extract-ant. *Commun. Soil Sci. Plant Anal*, 15, 1409–1416

Ministry of Health of the People's Republic of China (MHPRC). 2017. National Hygienic Standard for Food in China GB2762-2017. China Standard Press, Beijing http://www.jlfsstd.net/db/files/Std1_6735986214439267.pdf

Naseri, M., Vazirzadeh, A., Kazemi, R., Zaheri, F. 2015. Concentration of some heavy metals in rice types available in Shiraz market and human health risk assessment. *Food Chemistry*, 175, 243-248.

Otero, X.L., Tierra, W., Atiaga, O., Guanoluisa, D., Nunes, L.M., Ferreira, T.O., Ruales, J., 2016. Arsenic in rice agrosystems (water, soil and rice plants) in Guayas and Los Ríos provinces, Ecuador. *Science of the Total Environment*, 573, 778-787.

Pozo W., Sanfeliu T., Carrera G. 2011. Metales pesados en humedales de arroz en la cuenca baja del río Guayas. *MASKANA*, 2, 18-30.

Raber, G., Stock, N., Hanel, P., Murko, M., Navratilova, J., Francesconi, K.A. 2012. An improved HPLC–ICPMS method for determining inorganic arsenic in food: Application to rice, wheat and tuna fish. *Food Chemistry*, 134, 524-532.

Rahman, M.A., Rahman, I.M.M., Hasegawa, H. 2018. Effects of Cooking on Dietary Exposure to Arsenic From Rice and Vegetables: Human Health Risks☆. Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences.

Sarwar, N., Imran, M., Shaheen, M.R., Ishaque, W., Kamran, M.A., Matloob, A., Rehman, A., Hussain, S. 2017. Phytoremediation strategies for soils contaminated with heavy metals: Modifications and future perspectives. *Chemosphere*, 171, 710-721.

Signes-Pastor, A.J., Carey, M., Carbonell-Barrachina, A.A., Moreno-Jiménez, E., Green, A.J., Meharg, A.A. 2016. Geographical variation in inorganic arsenic in paddy field samples and commercial rice from the Iberian Peninsula. *Food Chemistry*, 202, 356-363

Styblo, M., Del Razo, L.M., Vega, L., Germolec, D.R., LeCluyse, E.L., Hamilton, G.A., Reed, W., Wang, C., Cullen, W.R., Thomas, D.J. 2000. Comparative toxicity of trivalent and pentavalent inorganic and methylated arsenicals in rat and human cells. *Arch. Toxicol*, 74, 289-299.

Suriyagoda L, Ditter K., Lambers H. 2018. Mechanism of arsenic uptake, translocation and plant resistance to accumulate arsenic in rice grains. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 253,23-37

Syu, C., Huang, C., Jiang, P., Lee, C., Lee, D. 2015. Arsenic accumulation and speciation in rice grains influenced by arsenic phytotoxicity and rice genotypes grown in arsenic-elevated paddy soils. *Journal of Hazardous Materials*, 286, 179-186.

Tóth, G., Hermann, T., Da Silva, M.R., Montanarella, L. 2016. Heavy metals in agricultural soils of the European Union with implications for food safety. *Environment International*, 88, 299-309.

Tian, K., Huang, B., Xing, Z., Hu, W. 2017. Geochemical baseline establishment and ecological risk evaluation of heavy metals in

greenhouse soils from Dongtai, China. *Ecological Indicators*, 72, 510-520.

Torres-Escribano S., Leal M., Vélez D., & Montoro R. 2008. Total and Inorganic Arsenic Concentrations in Rice sold in Spain, effect of cooking, and risk assessments. *Environ. Sci. Technol*, 42, 3867-3872.

Unión Europea. 2017. Contenidos máximos en metales pesados en productos alimenticios. Revisión Marzo.

USEPA. 1989. Risk assessment guidance for superfund: Volume I-Human health evaluation manual (Part A).

USEPA. 2019. Integrated Risk Information System, Chemical Assessment Summary.

Vepraskas, M.J., Craft, B. 2016. Wetland Soils: Genesis, Hydrology, Landscapes, and Classification. Second edition. CRS press.

Walpole, S.C., Prieto-Merino, D., Edwards, P., Cleland, J., Stevens, G., Roberts, I., 2012. The weight of nations: an estimation of adult human biomass. *Bmc Public Health*, 12, 1-6.

WHO/FAO. 2001. Codex alimentarius commission. Food additives and contaminants. Joint FAO/WHO Food Standards Programme, ALINORM 10/12A.

Xu, B., Wang, F., Zhang, Q., Lan, Q., Liu, C., Guo, X., Cai, Q., Chen, Y., Wang, G., Ding, J. 2018. Influence of iron plaque on the uptake and accumulation of chromium by rice (*Oryza sativa L.*) seedlings: Insights from hydroponic and soil cultivation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 162, 51-58.

Yamaguchi, N., Takahashi, Y., Ohkura, T., Maejima, Y., Arao, T., 2014. Arsenic distribution and speciation near rice roots influenced by iron plaques and redox conditions of the soil matrix. *Environ. Sci. Technol*, 48, 1549–1556.

Yu, H.-., Li, F.-., Liu, C.-., Huang, W., Liu, T.-., Yu, W.-. 2016. Chapter Five - Iron Redox Cycling Coupled to Transformation and Immobilization of Heavy Metals: Implications for Paddy Rice Safety in the Red Soil of South China. *Advances in Agronomy*, 137, 279-317.

Zhao, K., Liu, X., Zhang, W., Xu, J., Wang, F. 2011. Spatial dependence and bioavailability of metal fractions in paddy fields on metal concentrations in rice grain at a regional scale. *Journal of Soils and Sediments*, 11, 1165.

Zhang, J., Li, H., Zhou, Y., Dou, L., Cai, L., Mo, L., You, J. 2018. Bioavailability and soil-to-crop transfer of heavy metals in farmland soils: A case study in the Pearl River Delta, South China. *Environmental Pollution*, 235, 710-719.

Zhang, Ji, Li, H., Zhou, Y., Dou, L., Mo, L., You, J. 2018. Bioavailability and soil-to-crop transfer of heavy metals in farmland soils: A case study in the Pearl River Delta, South China. *Environmental Pollution*, 235, 710-719





ANEXOS



ANEXO 1 (CAPÍTULO 3)

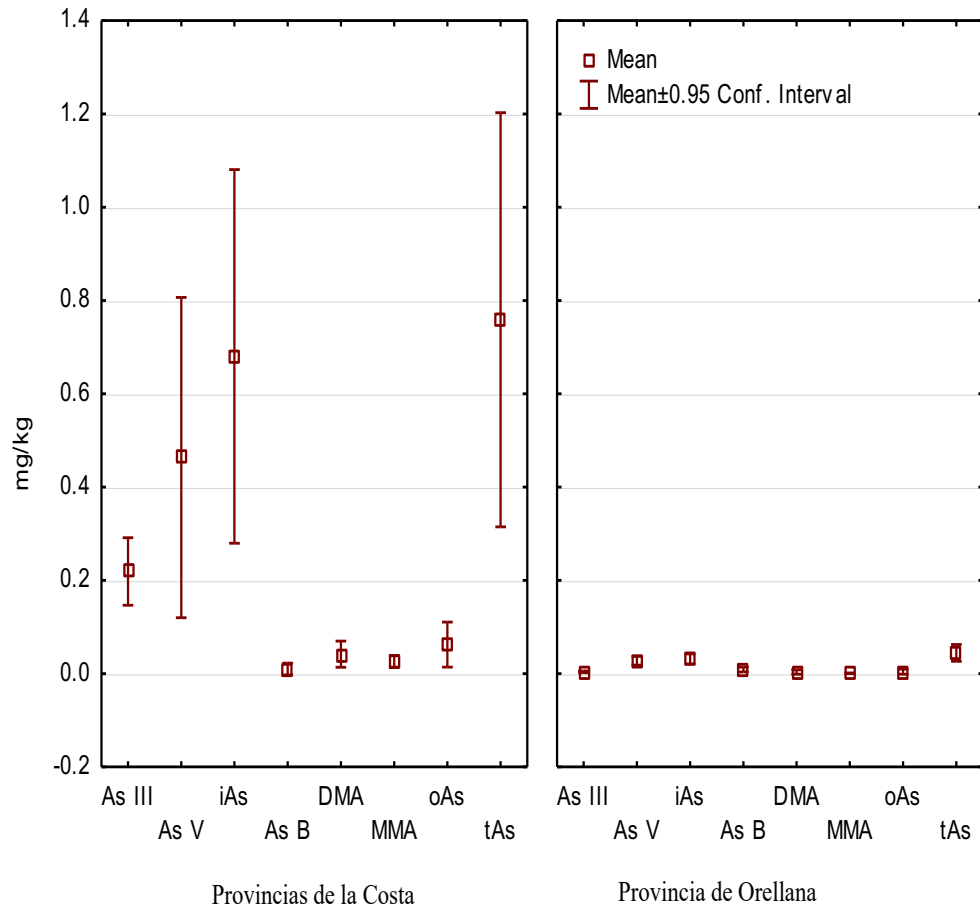


Figura S1. Especies de As por provincia

Provincias de la Costa

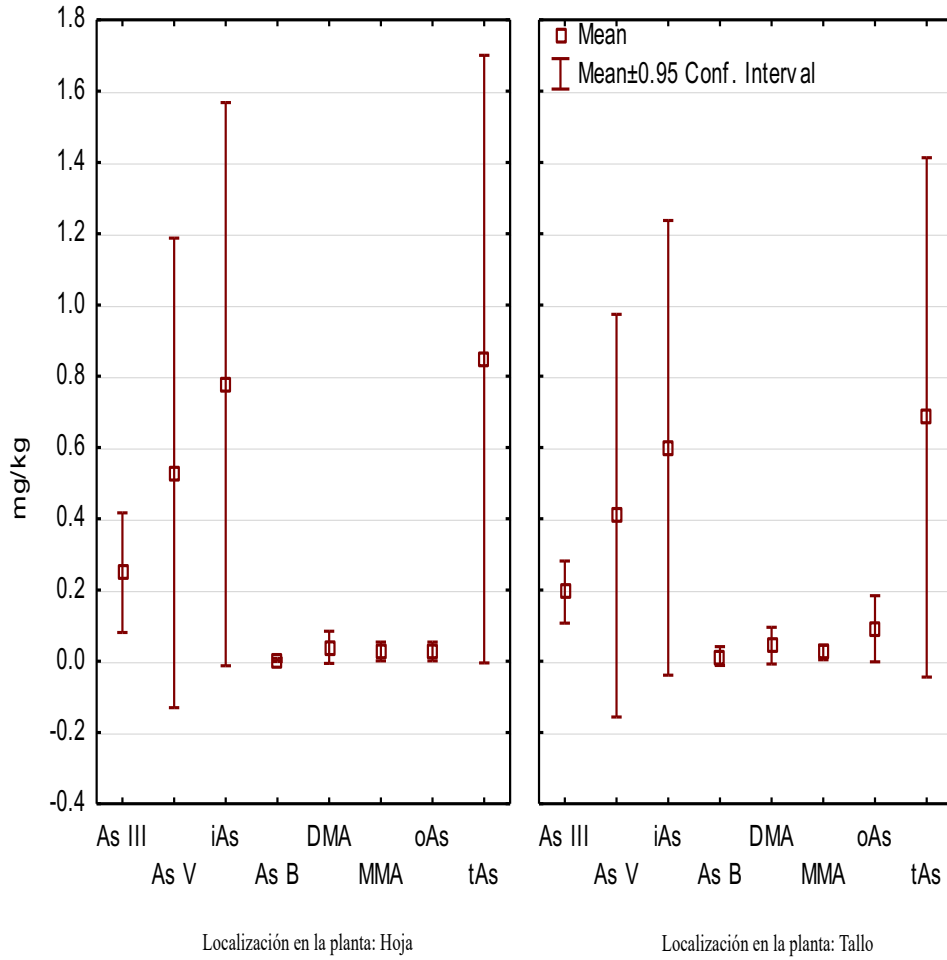


Figura S2. Especies de As por localización en la planta en las provincias de la Costa

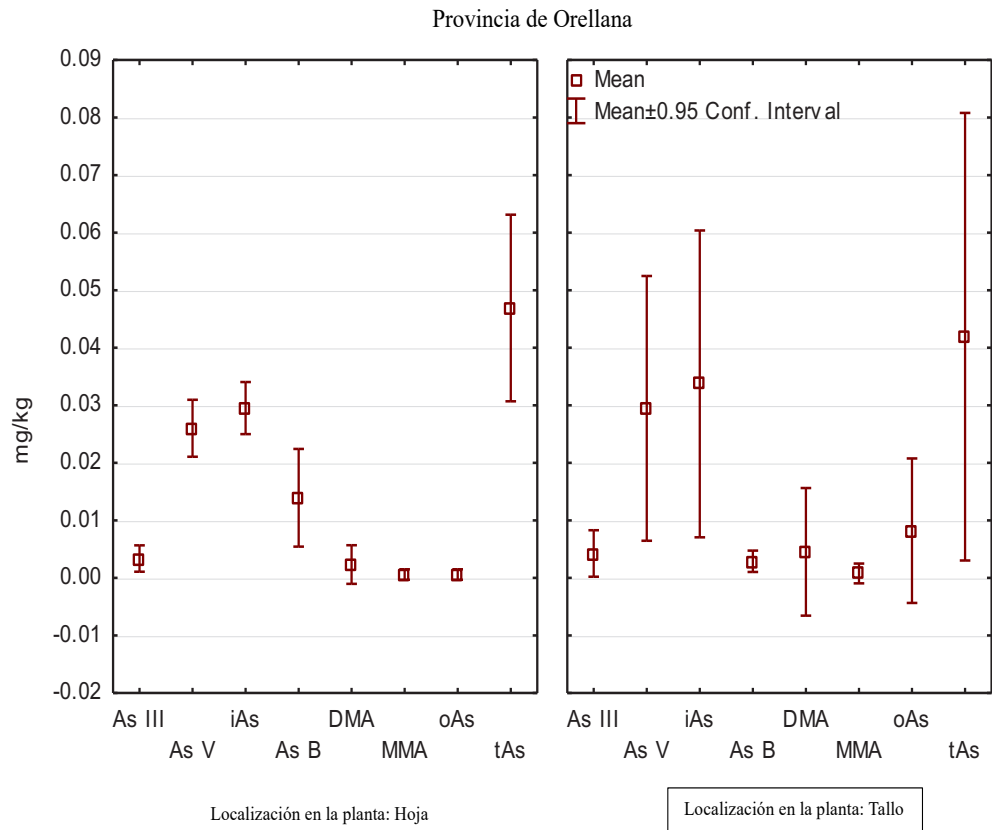


Figura S3. Especies de As por localización en la planta en la provincia de Orellana

Tabla S1. Resultados univariados para el ANOVA factorial de especies de arsénico por localización en planta (hoja, tallo), y por provincia (provincias de la Costa, provincia de Orellana).

	Degr. of - Freedom	F	p
Intercept	1	75.44349	0.000000
Plant location	1	0.62431	0.430520
Province	1	60.63417	0.000000
As Form	7	11.20568	0.000000
Plant location x Province	1	0.63907	0.425133
Plant location x As Form	7	0.20985	0.982872
Province x As Form	7	9.15627	0.000000
Plant location x Province x As Form	7	0.20841	0.983213
Error	175		
Total	206		

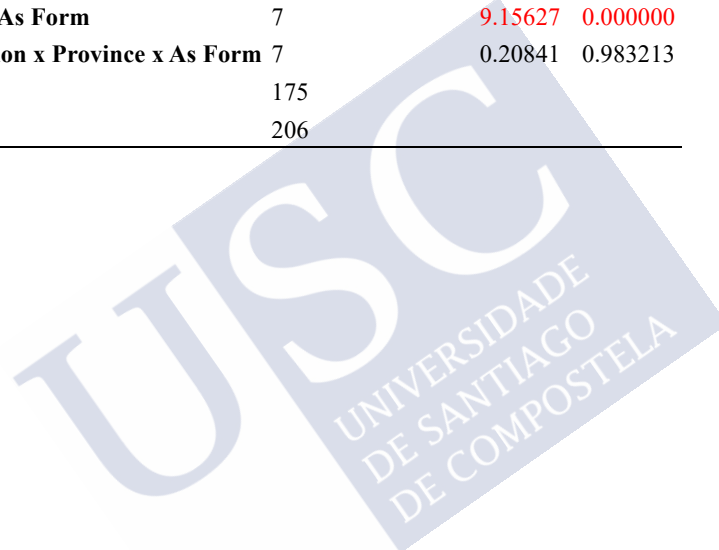


Tabla S2. Prueba de Fisher's post-hoc LSD; variable mg/kg (Hoja). Probabilidades para pruebas para Post Hoc
 Error: entre MS = .06022, df = 175.00

HOJA

Province	As Form	Coastal										Orellana									
		As III	As V	iAs	As B	DMA	MMA	oAs	tAs	As III	As V	iAs	As B	DMA	MMA						
Coastal	As III	0.072986	0.072986	0.000815	0.116024	0.177926	0.155850	0.155850	0.000160	0.081069	0.113009	0.118750	0.094894	0.079796	0.077						
Coastal	As V	0.000815	0.110668	0.000884	0.000884	0.001881	0.001483	0.001483	0.041283	0.000235	0.000423	0.000463	0.000310	0.000229	0.000						
Coastal	iAs	0.110668	0.000884	0.000001	0.000001	0.000004	0.000003	0.000003	0.651453	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000						
Coastal	As B	0.116024	0.000884	0.000001	0.820759	0.820759	0.877621	0.877621	0.000000	0.998138	0.873448	0.853772	0.941814	0.992195	0.982						
Coastal	DMA	0.177926	0.001881	0.000004	0.820759	0.820759	0.877621	0.877621	0.000001	0.799740	0.926629	0.946537	0.858429	0.793992	0.784						
Coastal	MMA	0.155850	0.001483	0.000003	0.877621	0.942129	1.000000	0.000000	0.000000	0.862523	0.990783	0.989245	0.922055	0.856673	0.846						
Coastal	oAs	0.155850	0.001483	0.000003	0.877621	0.942129	1.000000	0.000000	0.000000	0.862523	0.990783	0.989245	0.922055	0.856673	0.846						
Coastal	tAs	0.000160	0.041283	0.651453	0.000000	0.000001	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000						
Orellana	As III	0.081069	0.000235	0.000000	0.998138	0.799740	0.862523	0.862523	0.000000	0.853806	0.831483	0.831483	0.931561	0.993223	0.981						
Orellana	As V	0.113009	0.000423	0.000000	0.873448	0.926629	0.990783	0.990783	0.000000	0.853806	0.977231	0.977231	0.921622	0.847149	0.836						
Orellana	iAs	0.118750	0.000463	0.000000	0.853772	0.946537	0.989245	0.989245	0.000000	0.831483	0.977231	0.977231	0.898996	0.824865	0.813						
Orellana	As B	0.094894	0.000310	0.000000	0.941814	0.858429	0.922055	0.922055	0.000000	0.931561	0.921622	0.898996	0.824865	0.924812	0.913						
Orellana	DMA	0.079796	0.000229	0.000000	0.992195	0.793992	0.856673	0.856673	0.000000	0.993223	0.847149	0.824865	0.924812	0.988							
Orellana	MMA	0.077710	0.000218	0.000000	0.982284	0.784431	0.846934	0.846934	0.000000	0.981923	0.836073	0.813857	0.913569	0.988699							
Orellana	oAs	0.077710	0.000218	0.000000	0.982284	0.784431	0.846934	0.846934	0.000000	0.981923	0.836073	0.813857	0.913569	0.988699	1.000						
Orellana	tAs	0.161672	0.000977	0.000001	0.764030	0.955747	0.893482	0.893482	0.000000	0.732211	0.869564	0.891314	0.795444	0.726048	0.715						

Tabla S3. Prueba de Fisher's post-hoc LSD; variable mg/kg (Talio). Probabilidades para pruebas para Post Hoc Talio
 Error: entre MS = .06022, df = 175.00

Province		Coastal												
As Form	As III	As V	iAs	As B	DMA	MMA	oAs	tAs	As III	As V	iAs			
Coastal As III	0.131853	0.131853	0.004788	0.207123	0.290107	0.233013	0.468808	0.000678	0.165983	0.229315	0.2			
Coastal As V	0.131853	0.131853	0.006029	0.000629	0.010851	0.007383	0.026356	0.053193	0.003480	0.006077	0.0			
Coastal iAs	0.004788	0.180831	0.000058	0.000058	0.000128	0.000076	0.000439	0.547313	0.000022	0.000048	0.0			
Coastal As B	0.207123	0.006029	0.000058	0.000058	0.837728	0.944726	0.589743	0.000005	0.938690	0.914387	0.8			
Coastal DMA	0.290107	0.010851	0.000128	0.837728	0.837728	0.892234	0.737952	0.000011	0.772255	0.916349	0.9			
Coastal MMA	0.233013	0.007383	0.000076	0.944726	0.892234	0.892234	0.638389	0.000006	0.881664	0.971633	0.9			
Coastal oAs	0.468808	0.026356	0.000439	0.589743	0.737952	0.638389	0.000045	0.000045	0.524553	0.651158	0.6			
Coastal tAs	0.000678	0.053193	0.547313	0.000005	0.000011	0.000006	0.000045	0.000045	0.000002	0.000003	0.0			
Orellana As III	0.165983	0.003480	0.000022	0.938690	0.772255	0.881664	0.524553	0.000002		0.847784	0.8			
Orellana As V	0.229315	0.006077	0.000048	0.914387	0.916349	0.971633	0.651158	0.000003	0.847784		0.9			
Orellana iAs	0.241519	0.006659	0.000054	0.889751	0.941074	0.946841	0.673707	0.000004	0.822504	0.974165				
Orellana As B	0.162983	0.003375	0.000022	0.930767	0.764645	0.873808	0.518092	0.000001	0.991725	0.839670	0.8			
Orellana DMA	0.166599	0.003502	0.000023	0.940307	0.773810	0.883267	0.525875	0.000002	0.998313	0.849441	0.8			
Orellana MMA	0.158407	0.003216	0.000020	0.918480	0.752875	0.861636	0.508143	0.000001	0.978880	0.827107	0.8			
Orellana oAs	0.174909	0.003804	0.000025	0.961673	0.794422	0.904483	0.543500	0.000002	0.976034	0.871378	0.8			
Orellana tAs	0.266329	0.007924	0.000068	0.842584	0.988875	0.899218	0.718004	0.000005	0.774316	0.924466	0.9			

Suelo

Tabla S4. Pruebas Univariadas de significancia para suelo (mg/kg).

	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercepto	741.5430	1	741.5430	94.35772	0.000000
Provincia	209.5247	3	69.8416	8.88700	0.000090
Error	369.3659	47	7.8588		

Tabla S5. Prueba Fisher's LSD ; variable suelo (mg/kg). Probabilidades para pruebas Post Hoc
Error: entre MS = 7.8588, df = 47.000

Provincia	{1}	{2}	{3}	{4}
1 Guayas		0.004485	0.287048	0.005304
2 Los Rios	0.004485		0.001149	0.000009
3 El Oro	0.287048	0.001149		0.099772
4 Orellana	0.005304	0.000009	0.099772	

Grano Commercial x grano de campo

Tabla S6. Pruebas Univariadas de significancia para iAs.

	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercepto	0.147944	1	0.147944	166.4598	0.000000
Commercial x campo	0.008267	1	0.008267	9.3017	0.005873
Error	0.019553	22	0.000889		

AsMe (P Mehlich)

Tabla S7. Pruebas Univariadas de significancia para As

	SS	Degr. of - Freedom	MS	F	p
Intercepto	0.059135	1	0.059135	7.113514	0.009236
Orellena xProvincias Costa	0.040723	1	0.040723	4.898664	0.029690
Error	0.673357	81	0.008313		

ANEXO 2 (CAPÍTULO 4)

Tabla S1. Concentración de formas de As (mg kg⁻¹) en cada muestra y por tipo de tratamiento recibido

País	Tipo de arroz	Tratamiento	As III	As V	As Inorgánico	AsB	DMA	MMA	As orgánico	
Ecuador	Arroz integral	T0-Arroz crudo	0,078	0,088	0,166	0,010	0,058	0,000	0,068	
		T1-Solo lavado (tres ciclos)	0,070	0,072	0,142	0,006	0,052	0,000	0,058	
		T2-Cocción a sequedad (150 ml)	0,055	0,042	0,097	0,000	0,052	0,000	0,052	
		T3- Cocción a sequedad (300 ml)	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a
		T4- Tres ciclos de lavado y cocción a sequedad (150 ml)	0,067	0,064	0,131	0,000	0,051	0,005	0,056	
	T5-Tres ciclos de lavado y cocción con exceso de agua	0,039	0,047	0,086	0,002	0,032	0,000	0,034		
	Arroz pulido	T0-Arroz crudo	0,104	0,031	0,135	0,000	0,024	0,000	0,024	
		T1-Solo lavado (tres ciclos)	0,017	0,023	0,040	0,006	0,022	0,000	0,028	
		T2-Cocción a sequedad (150 ml)	0,094	0,012	0,105	0,001	0,015	0,002	0,018	
		T3- Cocción a sequedad (300 ml)	0,086	0,021	0,108	0,002	0,023	0,000	0,025	
		T4- Tres ciclos de lavado y cocción a sequedad (150 ml)	0,081	0,022	0,103	0,002	0,011	0,000	0,013	
	T5-Tres ciclos de lavado y cocción con exceso de agua	0,080	0,016	0,096	0,000	0,006	0,000	0,006		
	Spain	Arroz pulido	T0-Arroz crudo	0,036	0,023	0,059	0,001	0,082	0,000	0,083
			T1-Solo lavado (tres ciclos)	0,022	0,008	0,031	0,002	0,046	0,004	0,052
			T2-Cocción a sequedad (150 ml)	0,029	0,014	0,042	0,003	0,047	0,001	0,052
T3- Cocción a sequedad (300 ml)			0,029	0,009	0,038	0,003	0,0735	0,003	0,080	
T4- Tres ciclos de lavado y cocción a sequedad (150 ml)			0,022	0,007	0,029	0,000	0,067	0,000	0,067	
T5-Tres ciclos de lavado y cocción con exceso de agua		0,000	0,006	0,006	0,000	0,027	0,001	0,028		
Arroz integral		T0-Arroz crudo	0,051	0,018	0,068	0,000	0,065	0,003	0,068	
		T1-Solo lavado (tres ciclos)	0,051	0,011	0,062	0,000	0,048	0,002	0,051	
		T2-Cocción a sequedad (150 ml)	0,075	0,030	0,105	0,002	0,060	0,007	0,069	
		T3- Cocción a sequedad (300 ml)	0,060	0,070	0,130	0,003	0,0670	0,000	0,070	
		T4- Tres ciclos de lavado y cocción a sequedad (150 ml)	0,066	0,014	0,080	0,001	0,062	0,000	0,063	
T5-Tres ciclos de lavado y cocción con exceso de agua		0,024	0,009	0,033	0,000	0,043	0,004	0,047		
Arroz pulido		T0-Arroz crudo	0,044	0,024	0,068	0,001	0,069	0,000	0,070	
		T1-Solo lavado (tres ciclos)	0,032	0,010	0,042	0,000	0,047	0,000	0,047	
		T2-Cocción a sequedad (150 ml)	0,039	0,019	0,058	0,001	0,050	0,000	0,051	
		T3- Cocción a sequedad (300 ml)	0,036	0,009	0,045	0,001	0,0548	0,000	0,056	
		T4- Tres ciclos de lavado y cocción a sequedad (150 ml)	0,026	0,009	0,035	0,002	0,050	0,000	0,052	
T5-Tres ciclos de lavado y cocción con exceso de agua		0,000	0,009	0,009	0,000	0,060	0,000	0,060		
Arroz pulido		T0-Arroz crudo	0,036	0,023	0,059	0,001	0,082	0,000	0,083	
		T1-Solo lavado (tres ciclos)	0,022	0,008	0,031	0,002	0,046	0,004	0,052	
		T2-Cocción a sequedad (150 ml)	0,029	0,014	0,042	0,003	0,047	0,001	0,052	
		T3- Cocción a sequedad (300 ml)	0,029	0,009	0,038	0,003	0,0735	0,003	0,080	
		T4- Tres ciclos de lavado y cocción a sequedad (150 ml)	0,022	0,007	0,029	0,000	0,067	0,000	0,067	
T5-Tres ciclos de lavado y cocción con exceso de agua		0,000	0,006	0,006	0,000	0,027	0,001	0,028		
Arroz pulido		T0-Arroz crudo	0,131	0,038	0,168	0,005	0,176	0,006	0,187	
		T1-Solo lavado (tres ciclos)	0,209	0,047	0,256	0,011	0,1388	0,007	0,157	
		T2-Cocción a sequedad (150 ml)	0,104	0,009	0,113	0,002	0,140	0,003	0,144	
		T3- Cocción a sequedad (300 ml)	0,074	0,044	0,118	0,000	0,0800	0,013	0,093	
		T4- Tres ciclos de lavado y cocción a sequedad (150 ml)	0,130	0,024	0,154	0,000	0,133	0,009	0,142	
T5-Tres ciclos de lavado y cocción con exceso de agua		0,057	0,037	0,094	0,002	0,1240	0,004	0,130		
Arroz pulido	T0-Arroz crudo	0,027	0,025	0,052	0,000	0,033	0,000	0,033		
	T1-Solo lavado (tres ciclos)	0,003	0,016	0,019	0,002	0,0299	0,003	0,035		
	T2-Cocción a sequedad (150 ml)	0,017	0,010	0,026	0,004	0,037	0,000	0,041		
	T3- Cocción a sequedad (300 ml)	0,020	0,012	0,032	0,002	0,0378	0,000	0,040		
	T4- Tres ciclos de lavado y cocción a sequedad (150 ml)	0,011	0,007	0,018	0,000	0,032	0,000	0,032		
T5-Tres ciclos de lavado y cocción con exceso de agua	0,012	0,006	0,018	0,001	0,0040	0,000	0,005			

ANEXO 3 (CAPÍTULO 5)

Tabla S1. Concentraciones de metales totales (mg kg^{-1}) en muestras de suelo de cultivos de arroz de las diferentes provincias del Ecuador (promedio \pm SD), na: no analizado

Provincia	Cr	Zn	Pb	Cd	Hg	Cu	As	Ni
Guayas (n = 62)	59.7 \pm 14.3	84.3 \pm 21.2	12.0 \pm 7.7	0.23 \pm 0.14	0.06 \pm 0.04	51.1 \pm 19.1	4.45 \pm 2.42	31.6 \pm 13.3
Los Ríos (n = 21)	47.7 \pm 32.9	110.6 \pm 26.3	17.8 \pm 9.3	0.34 \pm 0.14	0.07 \pm 0.05	86.1 \pm 40.6	6.78 \pm 4.85	31.1 \pm 13.6
El Oro (n = 10)	n.a.	n.a.	9.7 \pm 2.8	0.30 \pm 0.10	n.a.	n.a.	3.30 \pm 1.07	n.a.
Provincias de la Costa (n=93)	56.7 \pm 21.1	90.9 \pm 25.2	13.1 \pm 8.1	0.26 \pm 0.14	0.06 \pm 0.04	60.0 \pm 30.1	4.86 \pm 3.21	31.5 \pm 13.3
Orellana (n = 8)	14.5 \pm 4.4	60.8 \pm 17.1	4.3 \pm 2.0	0.32 \pm 0.14	n.a	29.2 \pm 6.8	1.07 \pm 0.44	8.5 \pm 1.9
Ecuador (n = 102)	53.0 \pm 23.5	88.3 \pm 26.0	12.4 \pm 8.2	0.27 \pm 0.14	0.06 \pm 0.04	57.2 \pm 30.1	4.56 \pm 3.25	29.5 \pm 14.30

Tabla S2. Concentraciones de metales totales (mg kg⁻¹) en hojas y tallos de diferentes zonas del Ecuador (promedio±SD). P indica la existencia de diferencias significativas entre localidades.

	Provincias de la Costa			Provincia Oriental (Orellana)			P
	Tallo	Hoja	Tallo	Hoja	Tallo	Hoja	
Cr	1.992±1.704	4.485±4.437	0.521±0.861	0.732±0.475	<0.05	<0.05	<0.05
Zn	29.92±16.63	19.32±6.80	18.66±3.016	14.54±7.52	ns	ns	ns
Pb	0.056±0.041	0.278±0.905	0.021±0.029	0.023±0.031	<0.05	ns	ns
Cd	0.160±0.330	0.06±0.056	0.219±0.120	0.087±0.086	ns	ns	ns
Hg	0.004±0.001	0.006±0.002	< L.D.	0.003±0.007	<0.05	ns	ns
Cu	3.520±3.174	4.599±2.124	5.428±2.459	9.060±4.109	ns	ns	<0.05
As	0.998±4.451	0.344±0.293	0.042±0.042	0.047±0.018	ns	ns	<0.05
Ni	1.764±1.370	2.775±2.929	0.438±0.330	0.487±0.239	<0.05	ns	ns

Tabla S3. Prueba de significancia ANOVA para Cd en suelos por provincia

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
datos\$PROVINCIA	2	17460	8730	17.69	3.49e-07 ***
Residuals	88	43433	494		

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Tabla S4. Prueba de Tuckey para comparaciones múltiples

Nivel de confianza 95%

	diff	lwr	upr	p adj
LOS RÍOS-GUAYAS	26.27910	12.90662	39.651585	0.0000300
ORELLANA-GUAYAS	-23.48668	-43.38364	-3.589722	0.0164592
ORELLANA-LOS RÍOS	-49.76578	-71.77086	-27.760707	0.0000017

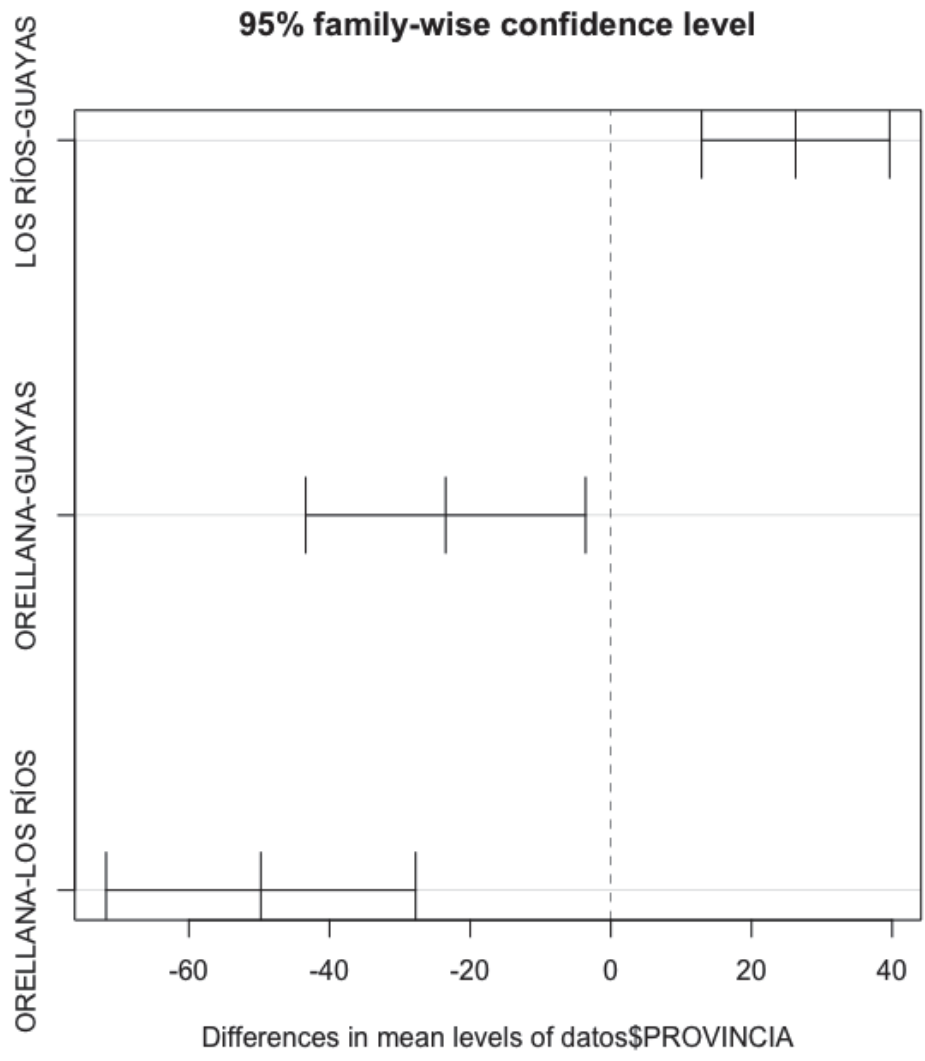


Figura S1. Resultados prueba de Tuckey en suelos para Zn por provincias

Tabla S5. Prueba de normalidad Shapiro-Wilk en arroz comercial para Cu por países

Shapiro-Wilk normality test

data: X[[i]]
 W = 0.87207, p-value = 0.1057

\$ECUADOR

Shapiro-Wilk normality test

data: X[[i]]
 W = 0.58444, p-value = 1.159e-05

\$P. IBERICA`

Shapiro-Wilk normality test

data: X[[i]]
 W = 0.89212, p-value = 0.2449

> lillie.test(datos\$Cu)

Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test

data: datos\$Cu
 D = 0.16704, p-value = 0.01712

Tabla S6. Prueba de Levene para Homogenidad de la Varianza en arroz comercial para Cu por países

Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)
Df F value Pr(>F)
group 2 0.6236 0.5426
31

Tabla S7. Prueba de significancia de Kruskal-Wallis en arroz comercial para Cu por países

Kruskal-Wallis rank sum test

data: datos\$Cu by datos\$PAIS
Kruskal-Wallis chi-squared = 16.983, df = 2, p-value = 0.0002052

Tabla S8. Prueba Post-Hoc de U Mann-Whitney en arroz comercial para Cu por países

Pairwise comparisons using Wilcoxon rank sum test

data: datos\$Cu and datos\$PAIS

BRASIL ECUADOR
ECUADOR 1.00000 -
P. IBERICA 0.00014 9.8e-05

P value adjustment method: bonferroni

Tabla S9. Prueba Post-Hoc de kruskal Nemenyi en arroz comercial para Cu por países

Pairwise comparisons using Tukey and Kramer (Nemenyi) test with Tukey-Dist approximation for independent samples

data: datos\$Cu by datos\$PAIS

BRASIL ECUADOR
ECUADOR 0.75944 -
P. IBERICA 0.00566 0.00016

P value adjustment method: none

