



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Alexandra Alberto da Silva

DETEÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ARSÉNIO
INORGÂNICO EM ARROZ

Dissertação no âmbito do Mestrado em Segurança Alimentar
orientada pela Professora Doutora Angelina Lopes Simões Pena
e do Professor Doutor André Monteiro Pais Teixeira Pereira
apresentada à Faculdade de Farmácia da
Universidade de Coimbra.

Outubro de 2020

Alexandra Alberto da Silva

DETEÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ARSÉNIO INORGÂNICO EM ARROZ

Dissertação no âmbito do Mestrado em Segurança Alimentar orientada pela Professora Doutora Angelina Lopes Simões Pena e do Professor Doutor André Monteiro Pais Teixeira Pereira apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra.

Outubro de 2020

Agradecimentos

Primeiramente gostaria de agradecer a todas as pessoas em geral que de alguma forma me ajudarem nesta fase da vida acadêmica e que me deram força para continuar e nunca desistir.

Agradeço aos meus orientadores Professora Doutora Angelina Lopes Simões Pena e ao Professor Doutor André Monteiro Pais Teixeira Pereira por me transmitirem conhecimento e por me acompanharem nesta fase.

Um especial agradecimento à Ernesto Morgado, SA por me permitir realizar este trabalho com as suas amostras e instalações, agradecer à Eng. Fátima Machado por me acolher e me ajudar sempre que solicitado, também quero agradecer à D. Ermelinda que me acolheu no laboratório da empresa para que pudesse processar as amostras (descascar e branquear).

Quero agradecer à minha família, namorado e amigos por me ajudarem sempre que precisei, dando coragem e apoio para atingir o meu objetivo.

Abstract

Heavy metals are naturally present in the environment, the exposure to heavy metal like arsenic occurs through water and food. After exposure to arsenic, it is not eliminated from the body, where it can accumulate and lead to chronic exposure, causing toxic and harmful effects. Arsenic is classified by the International Agency for Research on Cancer (IARC) as a carcinogen to human (Group I). The maximum residue limits are established for water intended for human consumption at $10 \mu\text{g L}^{-1}$ and for some foods, like rice, present different limits of inorganic arsenic to different type of rice and rice product. For blanched rice the limit is 0.20 mg Kg^{-1} , for stewed rice and husked rice the limit is 0.25 mg Kg^{-1} , and for rice for the production of food for young children the limit is 0.10 mg Kg^{-1} .

Rice is one of the most consumed cereals in the world, it is also the cereal that is most exposed to this heavy metal due to its culture form, so it is important to define limits for the concentration of inorganic arsenic in rice and rice derivatives.

Seventy rice samples were analysed for quantification of inorganic arsenic by inductively coupled plasma mass spectrometry. Forty-eight samples from a portuguese rice hulling and packaging plant (Ernesto Morgado, SA) and twenty-two samples from supermarkets of different brands and types of rice. The limit of detection and limit of quantification was $3.3 \mu\text{g Kg}^{-1}$ and $10 \mu\text{g Kg}^{-1}$ respectively. In all samples, inorganic arsenic was detected, however, it was only possible to quantify in 81% of the samples (57 samples). The region of origin of rice with the highest concentration of inorganic arsenic is the Tejo and Sado region with an average value of $51.1 \mu\text{g Kg}^{-1}$, and Mondego has the lowest average value of concentration of inorganic arsenic with $26.84 \mu\text{g Kg}^{-1}$. Between blanched rice and brown rice, the latter has the highest average concentration of inorganic arsenic, $47.07 \mu\text{g Kg}^{-1}$. Among the different types of rice, the one with the highest concentration is the group called "others" where distinct types of rice are found, such as black rice, wild rice and steamed rice, with an average arsenic concentration of $71 \mu\text{g Kg}^{-1}$. This was followed by Carolino rice with $31.66 \mu\text{g Kg}^{-1}$, Agulha rice with $20.62 \mu\text{g Kg}^{-1}$ and the lowest concentration is Basmati rice with $10.36 \mu\text{g Kg}^{-1}$.

It is concluded that none of the samples exceeds what is stipulated by law, and that the risk assessment tells us that there is no danger in eating rice regarding arsenic exposure, however, rice cannot be considered as the only source of inorganic arsenic, there is other sources that are also part of our diet.

Keywords: Inorganic arsenic, rice, ICP-MS, toxicity, exposure.

Resumo

Os metais pesados estão naturalmente presentes no ambiente, a exposição a metais pesados como o arsénio ocorre através das águas e dos alimentos. Após exposições a arsénio, este não é eliminado do organismo, onde se pode vir a acumular e levar a uma exposição crónica, provocando efeitos tóxicos e nocivos. O arsénio está classificado pela Agência Internacional de Pesquisa sobre o Cancro (IARC) como um agente cancerígeno para o homem (Grupo I). Os limites máximos de resíduo estão estabelecidos para a água destinada ao consumo humano em $10 \mu\text{g L}^{-1}$. Também foram estabelecidos limites para alguns alimentos, dos quais o arroz, com diferentes limites de concentração de arsénio inorgânico para os diferentes tipos de arroz e produtos derivados. Para arroz branqueado o limite é de $0,20 \text{ mg Kg}^{-1}$, para arroz estufado e arroz descascado o limite é de $0,25 \text{ mg Kg}^{-1}$, e para arroz para a produção de alimentos destinados a lactentes e crianças jovens o limite é de $0,10 \text{ mg Kg}^{-1}$.

O arroz é um dos cereais mais consumidos a nível mundial, e dos cereais que está mais exposto a arsénio devido à sua forma de cultura, por isso é importante que estejam definidos limites de concentração de arsénio inorgânico no arroz e derivados de arroz.

Foram analisadas setenta amostras para quantificar arsénio inorgânico através de espectrometria de massa com plasma acoplado indutivamente. Quarenta e oito amostras previamente recolhidas numa fábrica portuguesa de descasque e embalamento de arroz (Ernesto Morgado, SA) e 22 amostras provenientes de supermercado de diferentes marcas e tipos de arroz. Em todas as amostras detetou-se arsénio inorgânico, sendo que só foi possível quantificar em 81% das amostras (57 amostras). A região de origem do arroz que contém maior concentração de arsénio inorgânico é a região do Tejo e Sado com um valor médio de $51,1 \mu\text{g Kg}^{-1}$, e o Mondego apresenta o valor médio mais baixo de concentração de arsénio inorgânico com $26,84 \mu\text{g Kg}^{-1}$. Entre arroz branqueado e arroz integral, é este último que apresenta maior concentração média de arsénio inorgânico, $47,07 \mu\text{g Kg}^{-1}$. E entre os diferentes tipos de arroz o que apresenta maior concentração é o grupo denominado “outros” onde se encontram tipos de arroz distintos como arroz preto, arroz selvagem e arroz vaporizado, e com uma concentração média de arsénio de $71 \mu\text{g Kg}^{-1}$, seguido de arroz Carolino com $31,66 \mu\text{g Kg}^{-1}$, arroz Agulha com $20,62 \mu\text{g Kg}^{-1}$ e a menor concentração é do arroz *Basmati* com $10,36 \mu\text{g Kg}^{-1}$.

Conclui-se que em nenhuma das amostras é ultrapassado o valor que está estipulado por lei, e que a avaliação de risco nos diz que não existe perigo na ingestão de arroz, mas não se pode considerar o arroz como a única fonte de arsénio inorgânico, existe outras fontes que também fazem parte da nossa alimentação.

Palavras-chave: Arsénio Inorgânico, arroz, ICP-MS, toxicidade, exposição.

Índice Geral

Agradecimentos	III
Abstract	IV
Resumo	V
Índice de Figuras.....	VIII
Índice de Tabelas.....	VIII
Índice de Gráfico.....	VIII
Abreviaturas.....	IX
1 Revisão Bibliográfica.....	10
1.1 Introdução	10
1.2 Arroz.....	12
1.2.1 Caracterização da planta	13
1.2.2 Processamento do arroz.....	14
1.2.3 Composição nutricional	15
1.2.4 Produção de arroz no mundo.....	16
1.2.5 Produção e consumo de arroz em Portugal.....	17
1.3 Metais pesados.....	18
1.3.1 Arsénio.....	19
1.3.1.1 Distribuição e origem do arsénio.....	20
1.3.1.2 Especiação do arsénio.....	21
1.3.1.3 Toxicidade.....	22
1.3.2 Presença de arsénio em alimentos.....	22
1.4 Legislação	23
1.5 Metodologias analíticas para determinação de metais.....	24
1.5.1 ICP-MS.....	27
1.6 Ocorrência de arsénio em arroz.....	28
1.6.1 Exposição ao arsénio.....	33
2 Parte Experimental	34
2.1 Materiais e metodologias analíticas.....	34
2.1.1 Reagentes e Soluções.....	34
2.1.1.1 Reagentes.....	34
2.1.1.2 Soluções.....	34
2.1.2 Material Utilizado.....	34
2.1.3 Equipamentos.....	34
2.2 Amostragem.....	34
2.2.1 Recolha de amostras	34
2.3 Metodologia analítica.....	37
2.3.1 Preparação das amostras de fábrica	37
2.3.2 Extração de arsénio inorgânico das amostras	38
2.3.3 Detecção e quantificação de Arsénio.....	39
2.4 Validação da metodologia analítica.....	39
2.4.1 Linearidade	40
2.4.2 Limite de deteção e limite de quantificação.....	40
2.4.3 Exatidão.....	40
2.5 Tratamento estatístico dos dados.....	41
2.6 Discussão de Resultados	41
2.6.1 Validação	41
2.6.2 Níveis de arsénio detetado nas amostras de arroz.....	41
2.7 Avaliação de risco	46
3 Conclusão.....	49
4 Bibliografia	51

Índice de Figuras

Figura 1 - Estrutura botânica da planta de <i>Oryza sativa</i>	13
Figura 2 - Estrutura do grão de arroz	14
Figura 3 - Representação dos principais países produtores de arroz a nível mundial adaptado .	17
Figura 4 - Esquema de representação da toxicidade do arsénio por ordem decrescente.	20
Figura 5 - Intervalos de limites de deteção nas diferentes técnicas de espectroscopia atómica....	25
Figura 6 - Representação do método de deteção ICP-MS.....	28
Figura 7 - Equipamento laboratorial para descasque e branqueamento de arroz.....	37

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Tabela de composição nutricional de arroz carolino branqueado cru e arroz integral cru por 100g de parte edível.	16
Tabela 2 - Produção e consumo de arroz per capita em Portugal	18
Tabela 3 - Produção de arroz nas diversas regiões de Portugal Continental no ano de 2018.....	18
Tabela 4 - Esquematização das várias formas de especiação de arsénio	21
Tabela 5 - Valores máximos de arsénio (inorgânico) estipulados nos Regulamentos 2015/1006 e 1881/2006.	23
Tabela 6 - Metodologias analíticas utilizadas para a deteção e quantificação de arsénio em arroz.	26
Tabela 7 - Tabela de ocorrência de arsénio em arroz.	30
Tabela 8 - Amostragem.	35
Tabela 9 - Configurações para deteção de arsénio, no equipamento de ICP-MS XSERIES-2, ThermoUnican.	39
Tabela 10 - Dose diária ingerida ($\mu\text{g Kg}^{-1}$ pc por dia) pela população portuguesa, e respetiva percentagem da dose diária tolerável (%).	46
Tabela 11 - Dose diária ingerida ($\mu\text{g Kg}^{-1}$ pc por dia) por pessoas celíacas, e respetiva percentagem da dose diária tolerável (%).	48

Índice de Gráfico

Gráfico 1 - Frequência de deteção, concentração média e máxima de As em arroz branqueado e arroz integral.	42
Gráfico 2 - Frequência de deteção, concentração média e máxima de As em arroz das regiões do Mondego, Tejo e Sado e Origem desconhecida.....	43
Gráfico 3 - Frequência de deteção, concentração média e máxima de As em arroz Carolino, Agulha, Basmati e outros tipos de arroz.	44

Abreviaturas

As – Arsénio

As-i – Arsénio Inorgânico

As^{III} – Ácido arsenioso

As^V – Ácido arsénico

ATP – Adenosina Trifosfato

BMDL – Limite de confiança inferior da dose de referência (Benchmark dose lower confidence limit)

CONTAM – Painel de Peritos em Contaminantes da Cadeia Alimentar da Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos

DMA – Ácido dimetilarsínico

EFSA – Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar

FAAS – Espectrometria de absorção atómica com chama

FAO – Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura

GFAAS – Espectrometria de absorção atómica com camara de grafite

HG-AAS – Espectrometria de absorção atómica com geração de hidretos

HNO³ – Ácido Nítrico

IARC – Agência Internacional para a pesquisa do cancro

ICP-AES – Espectrofotometria de emissão atómica com plasma acoplado indutivamente

ICP-MS – Espectrometria de massa com plasma acoplado indutivamente

LD – Limite de Detecção

LQ – Limite de quantificação

MMA – Ácido monometilarsónico

Pc – Peso Corporal

pH – potencial de hidrogénio

RF – radiofrequência

TDI – Dose Diária Tolerável

WHO – Organização Mundial da Saúde

I Revisão Bibliográfica

I.1 Introdução

A agricultura moderna registou ao longo do século XX um enorme aumento de produtividade, mas fê-lo com elevados custos em termos ambientais. O uso ineficiente de compostos químicos conduziu a graves problemas de poluição em todo o planeta. Este crescimento do uso de compostos químicos levou a uma redução da sua eficácia na produção agrícola, sendo cada vez mais necessário aumentar as doses para continuar a obter os níveis de produção necessários. Originando problemas ambientais diversos, como a contaminação das cadeias alimentares, o declínio dos aquíferos e a emissão de gases com efeito de estufa, comprometendo a qualidade dos produtos (Ferreiro e Antunes, 2017).

A par da evolução da produção agrícola também se desenvolveu o conceito de segurança alimentar, que pode ser visto sob duas perspetivas: *food safety* e *food security*. *Food safety* está relacionado com aspetos biológicos, químicos, de higiene, conservação e qualidade de forma a garantir a proteção da saúde e preocupações dos consumidores. *Food security* está relacionado com a adequada ingestão nutricional, em termos quantitativos e qualitativos, aspeto fundamental do desenvolvimento equilibrado do ser humano (Cardoso, 2010).

Na perspetiva de *food safety* os alimentos e água são as fontes mais comuns de exposição a metais pesados para humanos, geralmente resultantes de culturas provenientes de solos agrícolas contaminados por metais pesados. As fontes de metais pesados na agricultura incluem fertilizantes à base de fosfato, irrigação com águas residuais e uso de pesticidas (Gall, Boyd e Rajakaruna, 2015).

A exposição humana a níveis elevados de arsénio inorgânico ocorre principalmente pelo consumo de água subterrânea contendo níveis naturalmente altos de arsénio inorgânico, alimentos preparados com essa água e culturas alimentares irrigadas com fontes de água com alto teor de arsénio. São necessárias ações de saúde pública para reduzir a exposição humana ao arsénio, particularmente em áreas com níveis naturalmente altos na água subterrânea (WHO, 2010).

O arsénio é considerado um metal pesado, e tem uma ampla distribuição na crosta terrestre em diferentes formas químicas, incluindo espécies orgânicas e inorgânicas que exerce grande influência sobre os mecanismos de toxicidade. A exposição ao arsénio pode ser através da prática ocupacional (Ex: uso de pesticidas) ou pelo consumo de água e alimentos que contêm este elemento (Souza *et al.*, 2014).

Os principais efeitos adversos associados à exposição crónica de arsénio inorgânico são lesões cutâneas, cancro, alterações no desenvolvimento, neurotoxicidade, doenças

cardiovasculares, metabolismo anormal da glicose e diabetes. A neurotoxicidade está relacionada principalmente com exposição aguda, a intoxicação deliberada ou suicídio. Evidências de doença cardiovascular (doença de *Blackfoot*, doença vascular periférica, doença cardíaca coronária, enfarte do miocárdio e acidente vascular cerebral) e diabetes em áreas com níveis relativamente baixos de exposição ao arsénio inorgânico são inconclusivas. Existem evidências emergentes de impactos negativos no desenvolvimento fetal e infantil, particularmente no peso ao nascer reduzido, e há necessidade de mais evidências sobre as relações dose-resposta e os tempos críticos de exposição para esses resultados (EFSA, 2009).

Em áreas onde o arsénio não está presente naturalmente em níveis elevados, os alimentos que geralmente contribuem mais para a ingestão diária de arsénio são alimentos como peixes, mariscos, carnes, aves e laticínios. No entanto, o teor de arsénio presente em peixes e moluscos geralmente envolve compostos orgânicos (por exemplo, arsenobetaína) que são de baixa toxicidade. Em áreas onde o arsénio está naturalmente presente em níveis elevados, é através de alimentos (ex: arroz) preparados com água contaminadas e irrigação de culturas que também se contribui para ingestão diária. (WHO, 2010).

O arroz é um produto de extrema importância para a garantia alimentar mundial, pois alimenta aproximadamente 50% da população mundial (Oliveira, de *et al.*, 2016). O arroz (*Oryza sativa* L.), é dos cereais mais cultivado e consumido em todo o mundo. É considerado dos mais importantes tendo em conta a extensão de superfície cultivada e a quantidade de população que depende da sua colheita para a alimentação diária (Garcia, 2017).

Na Europa, ingere-se mais arroz do que aquele que se produz, o que faz deste continente o terceiro importador mundial. A Itália e a Espanha são os principais produtores europeus, seguidos da Grécia, Portugal e França. As taxas de consumo e os tipos de arroz utilizados são bastante diferentes adaptando-se à gastronomia e aos hábitos alimentares. O *risotto* em Itália, a *paella* espanhola, os inúmeros pratos de arroz e doçaria regional portuguesa, o arroz solto, branco ou o aromático em praticamente todos os países (Jesus, 2019).

Em Portugal, as primeiras referências à produção de arroz surgem no reinado do D. Dinis, época em que a lavoura se firma e desenvolve. Mais tarde no reinado de D. José, no século XVIII, a produção de arroz foi incentivada, mas a definitiva expansão da cultura ocorreu apenas em 1909, começando o cultivo de diferentes variedades. O arroz assumiu um papel importante na alimentação dos portugueses a partir de 1921 (Garcia, 2017).

Tendo em conta que o arroz é um alimento de alto consumo em todo o mundo e um dos principais alimentos que está exposto durante o seu desenvolvimento ao arsénio, e considerando a sua toxicidade, existiu a necessidade de se estabelecer limites legais para a

presença de arsénio, que no caso do arroz se estabelece através da concentração de arsénio inorgânico no arroz e derivados de arroz.

Foi estabelecido em 2015 um regulamento que diz respeito aos teores máximos de arsénio na forma inorgânica nos géneros alimentícios, acrescentando limites para a presença de arsénio inorgânico em arroz e produtos à base de arroz. O limite para o arroz branqueado não estufado (arroz polido ou branco) é de 0,20 mg Kg⁻¹ e para arroz estufado e arroz descascado (integral) é de 0,25 mg Kg⁻¹ (Comissão Europeia, 2015).

Torna-se cada vez mais evidente que a garantia alimentar e nutricional a longo prazo depende da sustentabilidade da agricultura. O arroz é um dos alimentos mais consumidos no mundo e muito presente nos pratos típicos portugueses, havendo produção de arroz em três regiões portuguesas: O Vale do Tejo e Sorraia, Vale do Mondego e Vale do Sado (Ferreiro e Antunes, 2017).

Deste modo o objetivo deste trabalho é detetar e quantificar o arsénio em arroz produzido em Portugal, nas diferentes regiões, e nas variedades comercializadas com outras origens. Também é objetivo deste trabalho avaliar o risco da ingestão de arsénio inorgânico pelos consumidores através do consumo de arroz.

1.2 Arroz

O arroz é cultivado, em regadio, nas principais zonas húmidas de Portugal, situadas nas bacias dos rios Mondego, Tejo e Sado, sendo a espécie mais comum a *Oryza sativa L.*, uma monocotiledónea da família das gramíneas. Representa uma importante contribuição energética na nutrição humana, sendo a principal fonte de tiamina, riboflavina e niacina (Ferreira *et al.*, 2017).

É um alimento consumido em todo o mundo por mais da metade da população mundial, frequentemente recomendado como a principal forma de hidrato de carbono na dieta de quem tem doença celíaca (Althobiti, Sadiq e Beauchemin, 2018). É considerada uma matriz complexa porque apresenta hidratos de carbono, principalmente amido, água, proteínas (18 aminoácidos essenciais), fibras, vitaminas (B1, B2, B3) e minerais (Oliveira, *et al.*, 2016).

O arroz é uma fonte amplamente usada de hidratos de carbono durante o desmame devido à sua disponibilidade, sabor agradável, valor nutricional e potencial alergénico relativamente baixo. Além disso, arroz e produtos derivados, como amido, farinha e xarope, são usados em diferentes alimentos infantis, incluindo bebidas, purés comerciais e lanches. Isso pode levar à elevada exposição de crianças ao arsénio inorgânico. Para grupos específicos de

crianças com certas alergias ou doença celíaca, a dependência de produtos de arroz é ainda maior (Hojsak *et al.*, 2015).

1.2.1 Caracterização da planta

A planta caracteriza-se por colmos ocos, flores reduzidas de cor verde e aquênios especializados (cariopses) como frutos. A morfologia da planta pode ser descrita da seguinte forma:

- raízes: adventícias (produzidas a partir de nós inferiores dos colmos jovens) e fibrosas (possui muitas ramificações e pelos radiculares);
- folhas: do colmo principal originam-se de 8 a 14 folhas, conforme o ciclo de cultivar onde a última folha em cada colmo, denomina-se folha-bandeira (comprimento, largura, ângulo de inserção, pubescência e cor das folhas variam com o genótipo);
- caule: é composto por um colmo principal e um número variável de colmos primários e secundários, ou afilhos;
- panícula: inflorescência particular desta planta onde se formam os grãos, sendo localizada sobre o último entrenó do caule e precedida pela folha-bandeira (Souza *et al.*, 2014).

Na Figura 1 encontram-se representadas as várias partes descritas que constituem a planta do arroz.

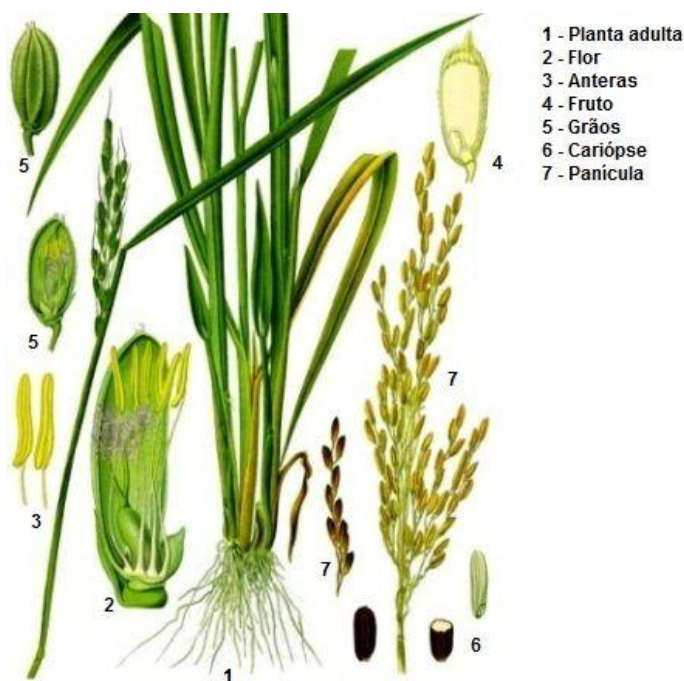


Figura 1 - Estrutura botânica da planta de *Oryza sativa*. (Adaptado de https://www.agrolink.com.br/culturas/arroz/informacoes/caracteristicas_361559.html).

O grão de arroz consiste na cariópse e numa camada protetora, a casca. Esta, composta por duas folhas modificadas, a pálea e a lema, corresponde a cerca de 20% do peso do grão. A cariópse é formada por diferentes camadas, sendo as mais externas o pericarpo, o

tegumento e a camada de aleurona, que representam 5-8% da massa do arroz integral. A camada de aleurona apresenta duas estruturas de armazenamento proeminentes, os grãos de aleurona (corpos proteicos) e os corpos lipídicos. O embrião ou gérmen está localizado no lado ventral na base do grão, é rico em proteínas e lípidos, e representa 2-3% do arroz integral. O endosperma forma a maior parte do grão (89-94% do arroz integral) que consiste em células ricas em amido e proteína (Walter, Marchezan e Avila, *et al.*, 2008). Na Figura 2 é ilustrada a estrutura do grão de arroz.

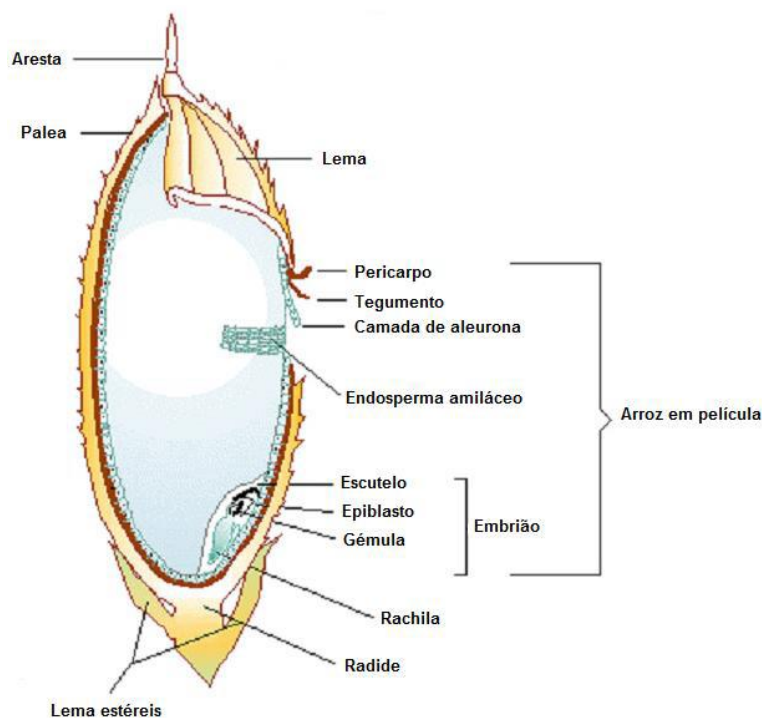


Figura 2 - Estrutura do grão de arroz (Antunes, 2010).

1.2.2 Processamento do arroz

A etapa de colheita do arroz em Portugal apresenta um requisito quanto ao teor de humidade das panículas, este deve encontrar-se entre os 18% e os 22%, abrangendo o fim de Setembro e início de Outubro (IGP, 2011).

Após receção do arroz com casca, denominado também de *paddy*, procede-se a uma secagem com o objetivo de reduzir o teor de humidade para valores iguais ou inferiores a 13%. Para a concretização desta etapa faz-se uma limpeza prévia de impurezas (i.e., palhas, grãos defeituosos e infestantes). Este processo de remoção de humidade pode realizar-se no campo aquando da colheita do arroz, chegando à indústria já seco, sendo armazenado e/ou processado neste estado físico. Por outro lado, a receção da matéria-prima pode ser na forma de arroz verde, este é armazenado temporariamente em silos ventilados ou logo secos na

fábrica. Ou pode ainda dar-se a receção de arroz já descascado e com o teor de humidade dentro dos limites pré-estabelecidos. Em qualquer destas três situações, a armazenagem do arroz seco, verde e descascado efetua-se em silos horizontais e verticais ventilados, sendo considerada um ponto crítico, uma vez que uma má armazenagem pode comprometer a qualidade da matéria-prima. Uma vez estabilizado o teor de humidade indicado, o arroz em casca sofre uma nova limpeza, tendo como objetivo remover impurezas como: palhas, milhãs, pedras e metais. Esta etapa é feita nas tararas por crivagem e por aspiração por fluxo de ar. O *paddy* limpo é descascado, a casca de arroz é separada e obtém-se o arroz em película ou integral.

O arroz descascado segue para o branqueamento, que pode ser realizado por três passagens, consoante o grau de brancura desejado. Tem como princípio a remoção do farelo ou película e do embrião por fricção, basicamente o arroz é pressionado contra uma pedra de esmeril em rotação. Esta etapa é complementada com um polimento por fricção do arroz contra o próprio arroz e/ou por pulverização com água, conferindo-lhe mais brilho (Fernandes, 2015).

Importa, ainda, salientar que no processamento do arroz pela indústria não são usados aditivos ou conservantes mantendo, assim, toda a qualidade nutricional original. Os processos por que passa são processos físicos: secagem, descasque e branqueamento. Assim, o arroz chega à indústria e é processado (descascado e branqueado); a fase seguinte consiste na embalagem e comercialização dos diferentes tipos de arroz (integral, branqueado, e extra branqueado) (Ferreiro e Antunes, 2017).

1.2.3 Composição nutricional

Os nutrientes não estão uniformemente distribuídos nas diferentes frações do grão. As camadas externas apresentam maiores concentrações de proteínas, lípidos, fibra, minerais e vitaminas, enquanto o centro é rico em amido. Dessa forma, o polimento resulta em redução no teor de nutrientes, exceto de amido, originando as diferenças na composição entre o arroz integral e o polido (Walter, Marchezan e Avila, *et al.*, 2008). Motivo pelo qual o arroz integral é de qualidade nutricional superior ao branqueado.

Na Tabela I é descrita a composição nutricional referente ao arroz carolino branqueado cru e arroz integral cru.

Tabela I - Tabela de composição nutricional de arroz carolino branqueado cru e arroz integral cru por 100g de parte edível (INSA, 2019).

	Arroz carolino branqueado cru	Arroz integral cru
Energia (kcal)	357	351
Lípidos (g)	0,5	2,5
Ácidos gordos saturados (g)	0,1	0,5
Ácidos gordos monoinsaturados (g)	0,1	0,6
Ácidos gordos polinsaturados (g)	0,2	0,9
Ácido linoleico (g)	0,2	0,8
Hidratos de carbono (g)	79,6	71,6
Amido (g)	79,6	71,6
Fibra Alimentar (g)	2,2	3,8
Proteína (g)	7,4	8,6
Água (g)	10,7	12,2

1.2.4 Produção de arroz no mundo

Segundo a Organização para a Alimentação e Agricultura (FAO) no ano de 2018 em todo o Mundo foram produzidas cerca de 517,5 milhões de toneladas de arroz. Para o ano de 2019 a previsão que a FAO efetuou aponta para 513,4 milhões de toneladas, registando uma diminuição de 0,8% no total de produção entre 2018 e 2019 (Marocco e Milo, 2019). Em termos de área cultivada no ano de 2018 no mundo foram 167,1 milhões de hectares, e na Europa foram no total de 625 916 hectares cultivados (FAO, [s.d.]).

Com base em dados disponíveis pela FAO, a China é o maior produtor de arroz, seguido da Índia, Indonésia, Bangladesh, Vietname e Tailândia (Figura 3).

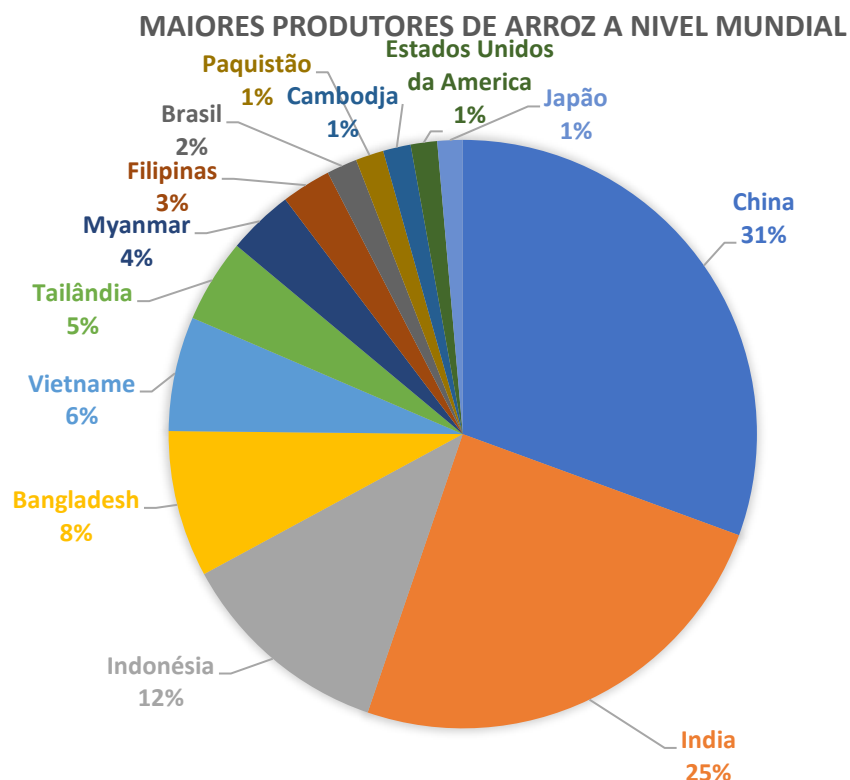


Figura 3 - Representação dos principais países produtores de arroz a nível mundial. Adaptado de (FAO, [s.d.]).

1.2.5 Produção e consumo de arroz em Portugal

Os dados sobre produção de arroz em Portugal são referentes ao ano de 2018, deve-se ter em conta as condições ambientais/atmosféricas que se fizeram sentir ao longo desse ano nas diferentes regiões de cultivo (Tabela 2).

A área semeada, 29,4 mil hectares, foi ligeiramente superior à da campanha anterior (+1,4%) (Tabela 3).

No Ribatejo e Alentejo o desenvolvimento vegetativo foi bom, com as searas a apresentarem povoamentos muito homogéneos, boa coloração e ausência de problemas fitossanitários. Em contrapartida, na Beira Litoral observaram-se searas afetadas com periculária (originando uma elevada percentagem de grãos falidos por panícula) e muitas infestantes, nomeadamente milhã e arroz-bravo, que afetou a produtividade da região. Posteriormente, a passagem da tempestade Leslie também afetou os campos de arroz do Baixo Mondego, agravando as perdas de rendimento unitário. Globalmente a produção fixou-se nas 161 mil toneladas, 10,6% inferior à de 2017 (Instituto Nacional de Estatística, 2019).

Portugal é o país da Europa com maior consumo de arroz *per capita* (Castanheira, 2013).

O consumo de arroz *per capita* para o ano de 2019 é de 15,9 Kg/ano.

Tabela 2 - Produção e consumo de arroz *per capita* em Portugal (Instituto Nacional de Estatística, [s.d.]),

Ano Campanha^(a)	2016/2017	2017/2018	2018/2019
Consumo de arroz per capita (Kg)	15,1	15,3	15,9
Produção (ton)	169289	179777	160794

Legenda: (a) – Ano campanha (1 de setembro do ano n a 31 de agosto do ano n+1).

Tabela 3 - Produção de arroz nas diversas regiões de Portugal Continental no ano de 2018 (Instituto Nacional de Estatística, 2019) .

	Superfície (ha)	Produção (ton)
Portugal continental	29 350	160 794
Centro	6 372	30 000
Lisboa	5 575	29 092
Alentejo	17 199	100 482
Algarve	204	1 220

1.3 Metais pesados

Desde as primeiras civilizações desenvolvidas que o Homem utiliza os metais, verificando-se a sua dispersão no ambiente. No entanto, foi apenas a partir do século XX que a contaminação do ambiente com estes elementos ganhou proporções significativas, alertando as autoridades mundiais para os problemas causados (Costa, 2015).

Os metais pesados são quimicamente definidos como um grupo de elementos situados entre o Cobre (Cu) e o Chumbo (Pb) na tabela periódica. Tendo massa específica superior a 5 g cm^{-3} , e apresentar elevada massa atómica (Verónica Ferreira Lima e Fábio Merçon, 2011). Estes metais são quimicamente muito reativos e bioacumuláveis, ou seja, o organismo não é capaz de eliminá-los de uma forma rápida e eficaz (Rocha, 2009).

Os metais pesados são elementos que estão presentes no ambiente em concentrações bastante variáveis. A maioria das vezes estes elementos encontram-se em concentrações vestigiais ($<1000 \text{ mg kg}^{-1}$). A utilização do termo metal pesado é aplicado na maioria das vezes com uma conotação negativa, associada a elementos que contaminam o ambiente e, por sua vez, que prejudicam o meio ambiente (Costa, 2015).

Muitos metais pesados estão naturalmente presentes na crosta e na atmosfera da Terra, mas o homem pode promover a poluição por metais pesados através de atividades como mineração, fundição, transportes, operações militares e manufatura industrial, além da

aplicação de pesticidas e fertilizantes na agricultura comercial. Essas atividades libertam metais no meio ambiente por meio do descarte de resíduos, escoamento e aplicação de produtos químicos contendo e metais pesados, que podem entrar nos sistemas terrestres por deposição aérea, águas de superfície ou solo. Categorizados em grupos essenciais e não essenciais, os metais pesados podem interagir diretamente com as biomoléculas, interrompendo processos biológicos críticos e resultando em toxicidade.

Metais pesados essenciais, isto é, micronutrientes, incluem o cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn), níquel (Ni) e zinco (Zn), são necessários para os organismos em pequenas quantidades. Embora os organismos sejam geralmente capazes de regular pequenas quantidades de metais essenciais, em excesso, esses metais podem tornar-se tóxicos. Por outro lado, os metais não essenciais, como alumínio (Al), arsénio (As), cádmio (Cd), chumbo (Pb) e mercúrio (Hg) não são necessários para a função biológica normal promovendo apenas toxicidade (Gall, Boyd e Rajakaruna, 2015).

Entre os efeitos adversos de concentrações excessivas de metais pesados no Homem destacam-se os envenenamentos por exposição aguda e as doenças oncológicas devido a exposição crónica. Para a maioria dos indivíduos, a principal via de exposição é através da alimentação (Costa, 2015).

Depois de darem entrada no corpo humano, os metais são facilmente acumuláveis devido à sua natureza não-biodegradável e aos elevados tempos de semi-vida (Guo *et al.*, 2012).

1.3.1 Arsénio

O arsénio é amplamente distribuído na crosta terrestre e está presente em mais de 200 minerais, podendo ser encontrado, em minerais que contém sulfuretos de cobre, chumbo, níquel, cobalto, ferro, entre outros, de forma natural. O arsénio é um metal de carácter, sólido, cristalino, acinzentado, com as valências químicas e 3-, 0, 3+ e 5+, cuja forma química predominante na água depende essencialmente do pH e do potencial do meio. A toxicidade das diversas espécies de arsénio decresce na seguinte ordem (Figura 4): compostos de arsénio inorgânicos (3+), compostos arsénio inorgânico (5+), composto arsénio orgânico (5+), sendo o arsénio inorgânico (3+) cerca de 60 vezes mais tóxico que o arsénio inorgânico (5+) (Andrade e Rocha, 2016).

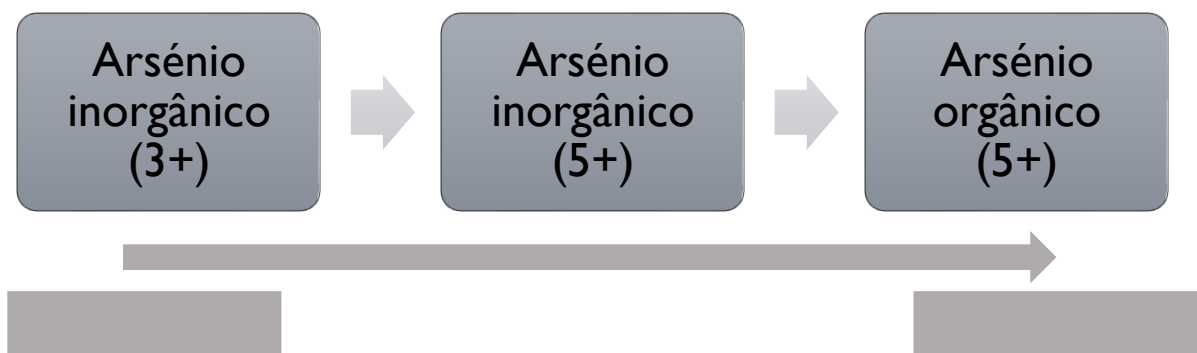


Figura 4 - Esquema de representação da toxicidade do arsênio por ordem decrescente.

A toxicidade do arsênio depende das espécies químicas presentes. Os estudos de especiação com arsênio podem ajudar a fazer avaliações mais precisas do impacto ambiental e dos riscos de saúde (Gong *et al.*, 2002).

É geralmente aceite que o arsênio inorgânico é muito mais tóxico que o arsênio orgânico. A biodisponibilidade das diferentes formas de arsênio também varia, a maioria dos compostos orgânicos é encontrada em peixes, marisco e moluscos e, quando ingerido, sofre pouca biotransformação e é excretado quase inalterado (Hojsak *et al.*, 2015).

Por outro lado, o arsênio inorgânico, responsável em grande parte pelos efeitos tóxicos, é encontrado principalmente na água em áreas geográficas específicas, em arroz e produtos de arroz. O arsênio inorgânico é considerado um agente cancerígeno, pertencente ao Grupo I da IARC, porque a exposição a longo prazo está associada a um risco aumentado de vários carcinomas, incluindo pele, bexiga, pulmão, rim, fígado e próstata (International Agency for Research on Cancer(IARC), 2012).

A maioria dos dados da literatura relata o arsênio total, sendo que a quantificação do arsênio inorgânico é complexa, e métodos eficientes foram apenas disponibilizados recentemente. A diferenciação entre arsênio total e inorgânico é importante, porque alguns alimentos, como peixes e frutos do mar com o maior teor total de arsênio, apresentam níveis muito baixos da forma inorgânica tóxica (Hojsak *et al.*, 2015).

1.3.1.1 Distribuição e origem do arsênio

O arsênio é o vigésimo elemento mais abundante na crosta terrestre. Muitos compostos de arsênio estão presentes no ambiente e nos sistemas biológicos (Gong *et al.*, 2002).

As fontes naturais de contaminação por arsênio abrangem minerais, rochas, solos e sedimentos formados a partir dessas rochas que contêm arsênio, assim como os fenômenos geotermiais e vulcânicos. No Homem a exposição ao arsênio, pode ocorrer por ingestão de

alimentos contaminados, como por exemplo, carnes vermelhas, peixe, crustáceos. Além de ser um elemento químico bastante usado nas indústrias de pesticidas, clarificador de vidros, fogos de artifícios, entre outros, o principal meio de contaminação é pela ingestão de água contaminada (Andrade e Rocha, 2016).

1.3.1.2 Especificação do arsênio

As formas inorgânicas de arsênio são mais tóxicas em comparação com o arsênio orgânico, mas até agora a maioria dos dados de ocorrência em alimentos recolhidos no âmbito do controle oficial de alimentos ainda são relatados como arsênio total, sem diferenciar as várias espécies de arsênio. A necessidade de dados de especificação é evidente, e conseqüentemente, uma avaliação de risco que não considere as diferentes espécies, mas que considere o arsênio total presente exclusivamente como arsênio inorgânico, levaria a uma superestimação considerável do risco de saúde relacionado à exposição ao arsênio na dieta (EFSA, 2009).

Na Tabela 4 descrevesse os compostos de arsênio mais referidos e estudados na literatura científica.

Tabela 4 - Esquematização das várias formas de especificação de arsênio (Gong et al., 2002).

Espécie	Nome	Abreviação	Fórmula Química	Número de Oxidação
Inorgânico	Arsenito (ácido arsenioso)	As ^{III}	As(OH) ₃	3+
	Arsenato (ácido arsênico)	As ^V	AsO(OH) ₃	5+
Orgânico	Ácido monometilarsônico	MMA	CH ₃ AsO(OH) ₂	5+
	Ácido dimetilarsinico	DMA	(CH ₃) ₂ AsO(OH)	5+

O conhecimento da especificação do arsênio na água natural é importante porque a biodisponibilidade e os efeitos fisiológicos e toxicológicos do arsênio dependem de sua forma química (Gong et al., 2002).

A concentração de arsênio inorgânico é alta no arroz e pode atingir 90% do conteúdo total de arsênio. A concentração varia de acordo com o solo onde o arroz foi cultivado e o tipo de arroz (Hojsak et al., 2015).

1.3.1.3 Toxicidade

A toxicidade é a capacidade de um agente químico de produzir efeitos nocivos num sistema biológico, causando danos funcionais importantes ou levar à morte. Podem existir dois tipos de exposição, aguda e crónica. Exposição aguda ocorre através de exposição única ou em múltiplas exposições, mas num espaço de 24 horas. Exposição crónica ocorre através de exposição a pequenas quantidades de metais que produzem efeitos cumulativos que podem resultar em intoxicação crónica com efeitos nos sistemas neurológicos, nutricionais e metabólicos (Colacioppo, 2001; Rocha, 2009).

Os sintomas de toxicidade aguda podem apresentar quadros diferentes da toxicidade crónica. Na intoxicação aguda, exerce ação, principalmente, sobre o tubo digestivo (ação direta no caso de ingestão), secundariamente, sobre o fígado, rins e músculos cardíacos. Na intoxicação crónica, atua principalmente sobre o tegumento e sobre os nervos periféricos pela sua afinidade com o sistema nervoso. Porém, pode provocar diversas patologias como: hiperpigmentação da pele, diarreias, hemorragias, anemia, dores de cabeça, entre outros. O contato direto com o arsénio pode provocar o aparecimento de feridas na pele que não cicatriza, gangrena, danos aos órgãos vitais, cancro e morte. O arsénio pode ser detetado na urina, sangue e cabelos (Andrade e Rocha, 2016).

O arsénio está associado a vários cancros com provas suficientes de carcinogenicidade nos seres humanos, cancro da pele, pulmão e bexiga, sendo classificado pela IARC como um agente cancerígeno para o homem (IARC, [s.d.]).

Presente no organismo humano, o arsénio acaba por impedir atividades bioquímicas indispensáveis. Na sua forma oxidada, o arsenato possui uma relação de competitividade com o fosfato, inibindo o processo de fosforilação oxidativa que ocorre nas mitocôndrias e, por conseguinte, bloqueando a produção de adenosina trifosfato (ATP), responsável pela produção de energia nos seres vivos. Por outro lado, quando se encontra na sua forma reduzida, coordena-se com grupos tióis (-SH) de enzimas e proteínas, ocasionando perturbações metabólicas (Santos, 2016).

1.3.2 Presença de arsénio em alimentos

Os alimentos são fonte de exposição para o homem, tendo em conta que durante a sua produção estão expostos através do solo, das águas e de fitofarmacêuticos aplicados que possam conter compostos de arsénio (Souza *et al.*, 2014).

Os alimentos com os níveis totais mais altos de arsénio são peixes e frutos do mar, produtos alimentares ou suplementos à base de algas, cereais e produtos à base de cereais,

com concentrações particularmente altas em grãos de arroz e produtos à base de arroz (farelo e gérmen). Dependendo do tipo de processamento dos alimentos, temperatura e tempo, podem ocorrer alterações na concentração total de arsénio e nas espécies de arsénio (EFSA, 2009).

1.4 Legislação

Para proteger a saúde pública, o artigo 2º do Regulamento n.º 315/93 do Conselho, de 8 de fevereiro de 1993, que estabelece procedimentos comunitários para contaminantes em alimentos, estipula que, quando necessário, serão estabelecidos limites máximos de resíduo para contaminantes específicos. Por conseguinte, estão atualmente estabelecidos vários limites máximos de resíduo no Regulamento n.º 1881/2006 da Comissão, de 19 de dezembro de 2006, que fixa os teores máximos para certos contaminantes presentes nos géneros alimentícios. Embora os teores máximos para os elementos chumbo, cádmio, mercúrio e estanho inorgânico tenham sido estabelecidos para várias matrizes alimentares, o arsénio não foi regulamentado neste regulamento.

O Regulamento n.º 2015/1006 de 25 de junho de 2015 altera o Regulamento n.º 1881/2006 no que diz respeito aos teores máximos de arsénio na forma inorgânica nos géneros alimentícios, acrescentando limites para a presença de arsénio inorgânico em arroz e produtos à base de arroz (Tabela 5).

Tabela 5 - Valores máximos de arsénio (inorgânico) estipulados nos Regulamentos 2015/1006 e 1881/2006.

Género Alimentício	Teores máximo (mg Kg⁻¹ de peso fresco)
Arroz branqueado não estufado (arroz polido ou branco)	0,20
Arroz estufado e arroz descascado	0,25
Waffles de arroz, wafers de arroz, biscoitos de arroz e bolos de arroz	0,30
Arroz para a produção de alimentos destinados a lactentes e crianças jovens	0,10

O Painel Científico dos Contaminantes da Cadeia Alimentar da Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA) adotou, a 12 de outubro de 2009, um parecer sobre o arsénio nos alimentos. No referido parecer, o painel concluiu que a dose semanal tolerável de 15 µg kg⁻¹ por peso corporal estabelecida pelo Comité Misto da FAO-OMS de Peritos em Aditivos Alimentares deixou de ser adequada, uma vez que os dados tinham demonstrado que

o arsénio na forma inorgânica provoca cancro nos pulmões e na bexiga, assim como na pele, e tinham sido comunicados vários efeitos adversos com exposições inferiores às revistas pelo comité.

O painel científico dos contaminantes da EFSA (Contam) identificou uma gama de valores para a dose de referência no limite de confiança inferior (BMDL) entre 0,3 e 8 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de peso corporal por dia relativamente ao cancro do pulmão, da pele e da bexiga, assim como a lesões cutâneas.

O parecer científico identificou os grandes consumidores de arroz na Europa, tais como determinados grupos étnicos e crianças com menos de três anos de idade, como os mais passíveis de exposição alimentar ao arsénio na forma inorgânica. A exposição alimentar ao arsénio na forma inorgânica nas crianças com menos de três anos de idade, incluindo através de alimentos à base de arroz, é geralmente estimada como sendo cerca de duas a três vezes superior à dos adultos. (Comissão Europeia, 2015).

1.5 Metodologias analíticas para determinação de metais

Existem diversos métodos para determinação de metais tais como a gravimetria, a volumetria e outros que exigem tempos e recursos humanos intensivos, e os seus limites de deteção não respondem às exigências impostas na atualidade. Assim, estes métodos foram sendo substituídos por métodos instrumentais como a espectrometria de absorção atómica com chama (FAAS), com câmara de grafite (GFAAS) e com geração de hidretos (HG-AAS), bem como pela espectrofotometria de emissão atómica com plasma acoplado indutivamente (ICP-AES) e a espectrometria de massa com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS), entre outros. Os métodos instrumentais, apesar de exigirem um forte investimento em equipamento de custo elevado, o qual é amortizado pela poupança em recursos humanos (devido à automatização) e reagentes, permitem alargar a escala de concentração dos elementos até níveis da ordem de grandeza dos ppm, ppb ou mesmo ppt, e realizar análise multi-elementar (Ribeiro, 2006).

Na Figura 5 estão representados os intervalos dos limites de deteção de diferentes técnicas de espectroscopia atómica.

Intervalos típicos de limites de detecção para as principais técnicas de espectroscopia atômica

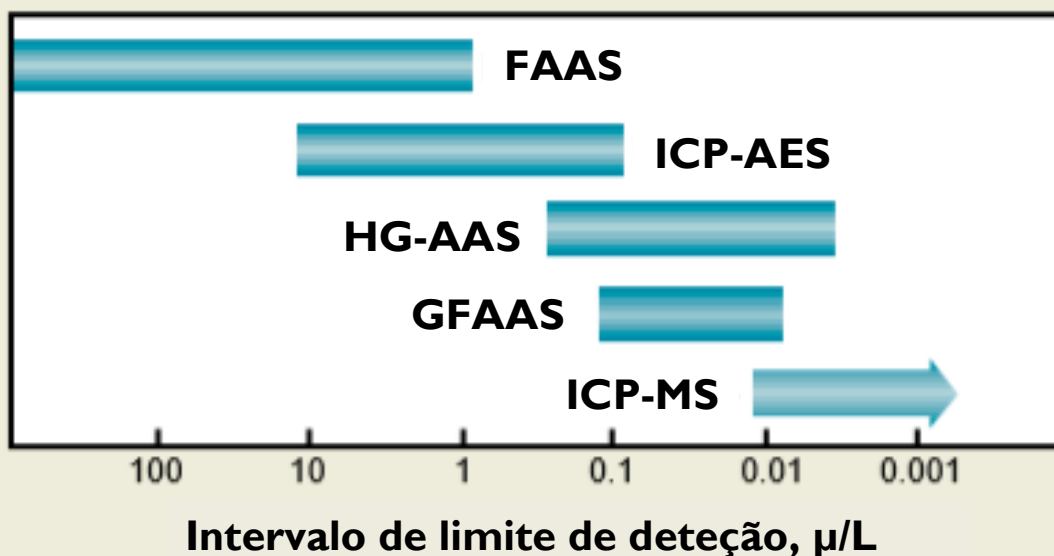


Figura 5 - Intervalos de limites de detecção nas diferentes técnicas de espectroscopia atômica. Adaptado de: (Thermo Elemental, 2002).

Legenda: FAAS: espectrometria de absorção atômica com chama;
ICP-AES: espectrofotometria de emissão atômica com plasma acoplado indutivamente;
HG-AAS: espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos;
GFAAS: espectrometria de absorção atômica com câmara de grafite;
ICP-MS: espectrometria de massa com plasma acoplado indutivamente.

Na espectrometria de absorção atômica da chama, uma chama de ar/acetileno ou óxido nitroso/acetileno é usada para evaporar o solvente e dissociar a amostra nos seus átomos. Quando a luz de uma lâmpada catódica oca (selecionada com base no elemento a ser determinado) passa através da nuvem de átomos, os átomos de interesse absorvem a luz da lâmpada. Isso é medido por um detector e usado para calcular a concentração desse elemento na amostra original.

A técnica de GFAAS é essencialmente parecida com a técnica de FAAS, exceto que a chama é substituída por uma pequena câmara de grafite aquecida eletricamente, ou cubeta, que pode ser aquecida até uma temperatura 3000° C para gerar a nuvem de átomos. A densidade de átomos mais alta e o tempo de permanência mais longo no tubo melhoram os limites de detecção de GFAAS até 1000x em comparação com o FAAS, até a faixa sub-ppb. No entanto, devido à limitação de temperatura e ao uso da câmara de grafite, o desempenho do elemento refratário ainda é um pouco limitado.

A HGAAS é especialmente valiosa para a determinação de arsênio e selênio, porque as linhas de ressonância úteis desses dois elementos estão abaixo de 200 nm, uma região em

que há interferências espectrais muito consideráveis dos radicais nos FAAS. Outras vantagens incluem a alta eficiência da introdução do analito no atomizador, a facilidade de concentração do analito e a possibilidade de especiação (Union e Chemistry, 1992).

O ICP-AES é uma espectroscopia de emissão que quantifica a percentagem de massa dos metais nos nanocompósitos metal/polímero. O ICP-AES baseia-se na excitação de átomos/iões metálicos dos nanocompósitos de metal/polímero usando um plasma e analisando o comprimento de onda de emissão da radiação eletromagnética, típica desse metal em particular (Pramanik e Das, 2019).

O ICP-MS é uma técnica de múltiplos elementos que também usa uma fonte de plasma para dissociar a amostra em seus átomos ou iões constituintes. No entanto, neste caso, os próprios iões são detetados, e não a luz que eles emitem. Os iões são extraídos do plasma e passados para o espectrómetro de massa, onde são separados com base na razão massa/carga atômica por um analisador de setor quadrupolo ou magnético (Thermo Elemental, 2002).

Tabela 6 - Metodologias analíticas utilizadas para a detecção e quantificação de arsénio em arroz.

Metodologia analítica	Limite de detecção (LD) ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Limite de quantificação (LQ) ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Exatidão (%)	Referência
GFAAS	30,1	90,3	92 - 105	(Pasias, Thomaidis e Piperaki, 2013)
FAAS ^(b)	300	Nd	Nd	(Thermo Elemental, 2002)
HG-AAS	20	40	101 - 106	(Rasmussen, Qian e Sloth, 2013)
ICP-AES	125,4	417,8	98,40	(Runge <i>et al.</i> , 2019)
ICP-MS	11	38	108,7	(Mataveli <i>et al.</i> , 2016)

Legenda: (b) - Este valor é representativo da técnica, e não de um equipamento em específico; Nd - Não definido.

Para a detecção e quantificação de arsénio em arroz são usadas diversas técnicas, descritas anteriormente e sintetizadas na Tabela 6. Dos artigos analisados todos determinaram arsénio total e arsénio inorgânico em arroz e derivados de arroz através de diversas técnicas. Em cada técnica é descrito o limite de detecção, limite de quantificação e a exatidão resultante do método utilizado.

Na técnica de GFAAS, determinou-se o valor de $30,1 \mu\text{g kg}^{-1}$ como limite de detecção, $90,3 \mu\text{g kg}^{-1}$ como limite de quantificação e uma exatidão entre 92% e 105% (Pasias, Thomaidis e Piperaki, 2013). Quanto à técnica de FAAS não foi encontrada literatura em que fosse usada esta técnica para detecção de arsénio total e arsénio inorgânico em arroz, mas o limite de detecção para arsénio é de $300 \mu\text{g kg}^{-1}$ (Thermo Elemental, 2002).

Na técnica de HG-AAS determinou-se o valor de $20 \mu\text{g kg}^{-1}$ como limite de detecção,

40 $\mu\text{g kg}^{-1}$ como limite de quantificação e obteve uma exatidão entre 101% e 106% (Rasmussen, Qian e Sloth, 2013).

Na técnica de ICP-AES os resultados foram os seguintes valores 125,4 $\mu\text{g kg}^{-1}$, 417,8 $\mu\text{g kg}^{-1}$ e 98,40%, respectivamente de limite de detecção, quantificação e exatidão (Runge *et al.*, 2019).

A técnica de ICP-MS, mostrou ser a técnica mais adequada visto ter o limite de detecção e de quantificação mais baixo de todas as técnicas descritas e a exatidão mais alta. Para esta técnica foi determinado o limite de detecção de 11 $\mu\text{g kg}^{-1}$ e o limite de quantificação de 38 $\mu\text{g kg}^{-1}$, a exatidão foi de 108,7% (Mataveli *et al.*, 2016).

Devido ao baixo limite de detecção e de quantificação, considera-se a técnica de ICP-MS mais adequada para a detecção de arsênio inorgânico em arroz, a sua exatidão e precisão demonstra a sua eficácia quando aplicada.

1.5.1 ICP-MS

O espectrómetro de massa acoplado a plasma indutivo, ICP-MS, foi desenvolvido no final dos anos oitenta com a finalidade de aliar a simplicidade de um sistema de introdução de amostra e rapidez de análise de um ICP, à exatidão e baixos limites de detecção de um espectrómetro de massa. Desta combinação resultou um equipamento capaz de efetuar uma análise de vestígios multi-elementar (Perkin Elmer, 2004).

A ICP-MS é uma tecnologia de análise elementar capaz de detetar a maior parte dos elementos que constituem a tabela periódica de elementos a concentrações de nanograma por litro. Técnica utilizada para monitorização ambiental, análise geoquímica, metalurgia, análise farmacêutica e pesquisa clínica (ThermoFisher, [s.d.]).

O método consiste na introdução da amostra a analisar, por ação de uma bomba peristáltica, num plasma de uma determinada radiofrequência. Os processos de transferência de energia causam dissolução, atomização e ionização dos elementos. A extração dos iões do plasma é feita através de uma interface em vácuo com um sistema de iões integrado e a sua separação é feita com base na razão massa/ carga por um espectrómetro de massa (quadropolo) (ISO 17294, 2004).

Um sistema ICP-MS compreende cinco partes básicas: sistema de introdução de amostras, plasma, interface de vácuo, ótica de iões com analisador de massa e sistema de detecção de iões (Figura 6). O sistema de introdução de amostras e o plasma são operados à pressão atmosférica, enquanto as áreas de ótica iónica, discriminação de massa e detecção de iões são operadas sob vácuo.

A instrumentação do ICP-MS é variada e o design específico é amplamente baseado no tipo de aplicação que o instrumento irá executar. O próprio plasma é sustentado por um gerador de radiofrequência (RF), que fornece energia usando uma bobina de indução ou bobina de carga. As amostras são ionizadas pelo plasma e são transferidas para o analisador de massa através de uma interface de vácuo. Uma vez separados, os iões são detetados pelo sistema de detecção ICP-MS para análise dos dados pelo operador (ThermoFisher, [s.d.]).

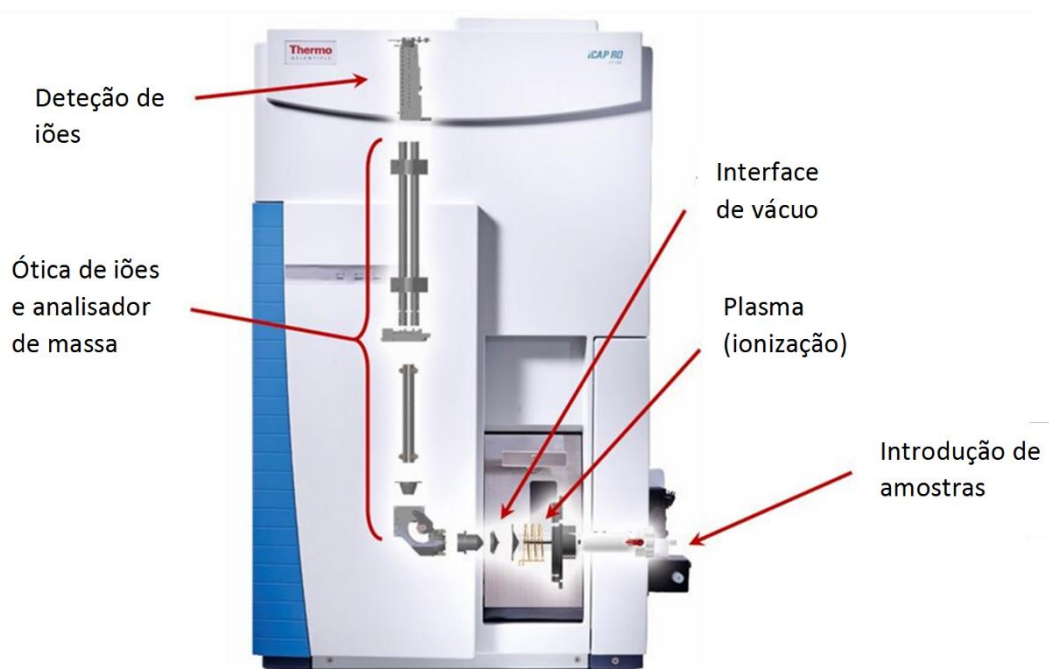


Figura 6 - Representação do método de detecção ICP-MS. (Adaptado de: <https://www.thermofisher.com/pt/en/home/industrial/spectroscopy-elemental-isotope-analysis/spectroscopy-elemental-isotope-analysis-learning-center/trace-elemental-analysis-tea-information/inductively-coupled-plasma-mass-spectrometry-icp-ms-information/icp-ms-systems-technologies.html>).

1.6 Ocorrência de arsénio em arroz

As condições de cultivo e a morfologia da planta favorecem a absorção do arsénio e a acumulação no grão com consequências graves na saúde humana. A inundação dos canteiros e a saturação do solo facilitam a mobilização do arsénio por via hídrica e a adsorção pelas raízes da planta, processos controlados pelo pH (potencial de hidrogénio) e o potencial do meio. O conhecimento das fontes de arsénio, naturais ou antropogénicas, e o desenvolvimento de estudos para compreender os processos físicos e químicos de mobilização e adsorção são relevantes para a adoção de medidas de minimização e remediação, incorporadas em boas práticas agrícolas, essenciais para produção segura de arroz e seus derivados (Ferreira *et al.*, 2017).

O arroz, diferente de outros cereais, é cultivado, geralmente, em solos inundados (cultivo irrigado), onde o excesso de água leva a uma maior mobilização de arsênio (especialmente arsênio inorgânico) e, conseqüentemente, a um aumento da acumulação pela planta, principalmente nos grãos. O As^{3+} , espécie mais tóxica encontrada em alimentos, tem alta solubilidade em água, o que aumenta sua mobilidade no solo, sendo eficientemente absorvido pelas raízes, chegando aos grãos e, portanto, introduzido na alimentação (Souza et al., 2014).

A concentração varia de acordo com o solo em que o arroz é cultivado e o tipo de arroz. A alta concentração de arsênio no arroz, comparada com a de outros grãos, reflete as condições anaeróbicas de cultivo dos arrozais inundados e a fisiologia única da planta que permite absorver e sequestrar o arsênio do ambiente, acumulando-o em maior extensão do que o solo (Hojsak et al., 2015).

Devido à contaminação do solo e da água de irrigação, a ingestão de arroz também pode ser perigosa para os seres humanos, uma vez que contaminantes inorgânicos como cádmio, chumbo e arsênio podem ser absorvidos na composição do cereal, sendo expostos ao corpo humano por ingestão (Oliveira, de et al., 2016).

A maior parte do arsênio inorgânico do arroz está concentrado nas camadas de farelo que contêm concentrações de 10 a 20 vezes mais altas que o grão inteiro. Portanto, o risco do consumo de produtos feitos de farelo de arroz, como bebidas de arroz, é muito maior do que o de arroz cru, mas polido (branco) (Hojsak et al., 2015).

Numerosas investigações demonstraram que os grãos de arroz nas áreas endêmicas de arsênio contêm mais de 90% de arsênio inorgânico (como arsenito e arsenato), e o restante são as espécies orgânicas de arsênio (ácido dimetilarsínico e ácido monometilarsínico) que são menos tóxicos que as espécies inorgânicas (Kumarathilaka et al., 2019).

Idealmente, a biodisponibilidade, definida como a fração que atinge a corrente sanguínea, deve ser medida. No entanto, apenas a fração dissolvida no trato gastrointestinal, chamada de acessibilidade biológica, está disponível para absorção no sistema circulatório. Para uma avaliação realista dos riscos, a análise de especiação da fração bio-disponível de elementos cuja toxicidade depende de sua forma química, como arsênio, deve ser feita para determinar a porção que é realmente tóxica e para levar em consideração qualquer transformação de espécie durante o processo de digestão gastrointestinal (Althobiti, Sadiq e Beauchemin, 2018).

Tabela 7 - Tabela de ocorrência de arsénio em arroz.

Tipo de Arroz	País do estudo	Ano do estudo	Nº de amostras	Frequência de deteção (%)	Intervalo de concentrações detetadas e desvio padrão $\mu\text{g kg}^{-1}$	Concentração média e desvio padrão $\mu\text{g kg}^{-1}$	Referência
Arroz para lactentes	Reino Unido	2014	29	100	56 - 268	Nd	(Signes-Pastor, Carey e Meharg, 2016)
Arroz para lactentes	China	2011	14	100	52 - 247	114±15	(Carbonell-barrachina <i>et al.</i> , 2012)
Arroz para lactentes	EUA	2011	5	100	93 - 159	125±14	(Carbonell-barrachina <i>et al.</i> , 2012)
Arroz para lactentes	Reino Unido	2011	5	100	107 - 267	162±29	(Carbonell-barrachina <i>et al.</i> , 2012)
Arroz para lactentes	Espanha	2011	7	100	10 - 111	85±10	(Carbonell-barrachina <i>et al.</i> , 2012)
Basmati	Escócia ^(c)	2014	44 ^(d)	100	Nd	53±7	(Pétursdóttir <i>et al.</i> , 2014)
Thai jasmine	Escócia ^(c)	2014	44 ^(d)	100	Nd	64±3	(Pétursdóttir <i>et al.</i> , 2014)
Basmati	Escócia ^(c)	2014	44 ^(d)	100	Nd	69±9	(Pétursdóttir <i>et al.</i> , 2014)
Thai jasmine	Escócia ^(c)	2014	44 ^(d)	100	Nd	62±3	(Pétursdóttir <i>et al.</i> , 2014)
Basmati	Punjab, Índia	2014	10 ^(d)	100	Nd	12,0±5,48	(Simões, 2014)
Thai jasmine	Nd	2014	10 ^(d)	100	Nd	85,5±10,39	(Simões, 2014)
Thai Jasmine	Tailândia	2014	10 ^(d)	100	Nd	62,6±6,21	(Simões, 2014)
Thai	Tailândia	2007	39 ^(d)	97	Nd	175±8	(Torres-Escribano <i>et al.</i> , 2008)
Basmati	Índia	2007	39 ^(d)	97	Nd	67±1	(Torres-Escribano <i>et al.</i> , 2008)
Thai	Belgica ^(c)	2018	7	100	63±16 - 147±37	77±32	(Ruttens <i>et al.</i> , 2018)
Basmati	Belgica ^(c)	2018	5	100	19±8 - 48±21	30±10	(Ruttens <i>et al.</i> , 2018)
Polido	Península Ibérica	2016	113	100	27-75	71 (mediana)	(Signes-pastor <i>et al.</i> , 2016)
Branqueado	Suiça ^(c)	2018	27	Nd	5,6 - 188	94	(Guillod-Magnin <i>et al.</i> , 2018)
Branqueado	Nova Zelândia e Austrália ^(c)	2019	36	100	40 - 100	70	(Ashmore <i>et al.</i> , 2019)
Branqueado	Belgica ^(c)	2018	7	100	67±18 - 245±64	172±81	(Ruttens <i>et al.</i> , 2018)
Integral	Escócia ^(c)	2014	44 ^(d)	100	Nd	137±5	(Pétursdóttir <i>et al.</i> , 2014)
Grão médio integral	Espanha	2007	39 ^(d)	97	Nd	145±5	(Torres-Escribano <i>et al.</i> , 2008)
Agulha Integral	Espanha	2007	39 ^(d)	97	Nd	230±20	(Torres-Escribano <i>et al.</i> , 2008)

Basmati Integral	Espanha	2007	39 ^(d)	97	Nd	148±4	(Torres-Escribano <i>et al.</i> , 2008)
Integral	Península Ibérica	2016	20	100	53 - 47	157 (mediana)	(Signes-pastor <i>et al.</i> , 2016)
Integral	Suiça ^(c)	2018	4	Nd	117 - 172	152	(Guillod-Magnin <i>et al.</i> , 2018)
Integral	Nova Zelândia e Austrália ^(c)	2019	21	85	<20 - 120	90	(Ashmore <i>et al.</i> , 2019)
Integral	Belgica ^(c)	2018	5	100	119±32 - 243±67	167±47	(Ruttens <i>et al.</i> , 2018)
Carolino	Ribatejo, Portugal	2014	10 ^(d)	100	Nd	300,8±31,79	(Simões, 2014)
Carolino	Mondego, Portugal	2014	10 ^(d)	100	Nd	242,6±32,97	(Simões, 2014)
Carolino	Portugal	2014	10 ^(d)	100	Nd	217,5±15,94	(Simões, 2014)
Carolino	Ribatejo, Portugal	2014	10 ^(d)	100	Nd	224,3±32,97	(Simões, 2014)
Grão médio	Espanha	2007	39 ^(d)	97	Nd	367±4	(Torres-Escribano <i>et al.</i> , 2008)
Grão médio	Estados unidos da América	2003	40 ^(d)	Nd	46 - 114	Nd	(Lamont, 2003)
Longo	Escócia ^(c)	2014	44 ^(d)	100	Nd	94±1	(Pétursdóttir <i>et al.</i> , 2014)
Longo	Escócia ^(c)	2014	44 ^(d)	100	Nd	52±10	(Pétursdóttir <i>et al.</i> , 2014)
Longo	Escócia ^(c)	2014	44 ^(d)	100	Nd	61±4	(Pétursdóttir <i>et al.</i> , 2014)
Agulha	Espanha	2007	39 ^(d)	97	nd	350±16	(Torres-Escribano <i>et al.</i> , 2008)
Agulha	Estados unidos da América	2003	40 ^(d)	Nd	33 - 271		(Lamont, 2003)
Risotto	Escócia ^(c)	2014	44 ^(d)	100	Nd	120±18	(Pétursdóttir <i>et al.</i> , 2014)
Risotto	Escócia ^(c)	2014	44 ^(d)	100	Nd	114±10	(Pétursdóttir <i>et al.</i> , 2014)
Risotto	Itália	2014	10 ^(d)	100	Nd	53,2±8,21	(Simões, 2014)
Paella	Escócia ^(c)	2014	44 ^(d)	100	Nd	70±3	(Pétursdóttir <i>et al.</i> , 2014)
Japonês	Escócia ^(c)	2014	44 ^(d)	100	Nd	99±5	(Pétursdóttir <i>et al.</i> , 2014)
Paella	Escócia ^(c)	2014	44 ^(d)	100	nd	67±3	(Pétursdóttir <i>et al.</i> , 2014)
Vaporizado	Península Ibérica	2016	11	100	22 - 70	83 (mediana)	(Signes-pastor <i>et al.</i> , 2016)

Legenda: Nd - Não definido;

(c) - Amostras adquiridas em supermercados dos respetivos países de realização do estudo, sem informação do país de origem da amostra;

(d) - Totalidade das amostras do estudo, não específico para o tipo de arroz.

De toda a bibliografia consultada foram selecionados artigos que fizessem a determinação de arsénio inorgânico pelo método de ICP-MS, método que foi usado neste trabalho. Os estudos foram realizados em diversos países, tanto produtores de arroz como não produtores, entre os anos de 2003 a 2019.

Dos artigos analisados (Tabela 7) verifica-se que o país onde se detetaram as concentrações médias mais elevadas de arsénio inorgânico foi em Espanha, onde o arroz de grão médio (equivalente ao carolino) apresentou uma concentração de $367 \mu\text{g kg}^{-1}$ e no arroz agulha a concentração foi de $350 \mu\text{g kg}^{-1}$ (Torres-Escribano *et al.*, 2008). A concentração média mais baixa foi detetada em amostras com origem em Punjab na Índia, com concentração de $12,0 \pm 5,48 \mu\text{g kg}^{-1}$ de arsénio inorgânico (Simões, 2014).

Diversos autores analisaram e compararam os resultados obtidos em arroz branqueado e arroz integral. Os resultados estudados para o arroz branqueados variam entre $70 \mu\text{g kg}^{-1}$ e $172 \pm 81 \mu\text{g kg}^{-1}$ (Ashmore *et al.*, 2019; Guillod-Magnin *et al.*, 2018; Ruttens *et al.*, 2018; Signes-pastor *et al.*, 2016). Os resultados referidos para arroz integral são entre $90 \mu\text{g kg}^{-1}$ e $167 \pm 47 \mu\text{g kg}^{-1}$ (Signes-pastor *et al.*, 2016).

O tipo de arroz que apresenta maior quantidade de arsénio inorgânico é o arroz Carolino, e os que apresentam menor quantidade de arsénio inorgânico são o arroz dos tipos *Basmati*, *Thai* e *Thai Jasmine*. No grupo onde estão incluídos os tipos de arroz de *Basmati*, *Thai* e *Thai Jasmine*, a deteção mais elevada foi de $175 \pm 8 \mu\text{g kg}^{-1}$ de arsénio inorgânico, detetado em arroz proveniente da Tailândia (Torres-Escribano *et al.*, 2008).

No arroz para Lactentes, foi no Reino Unido que detetou a maior quantidade, $162 \pm 29 \mu\text{g kg}^{-1}$ de arsénio inorgânico (Carbonell-barrachina *et al.*, 2012). Em arroz branqueado a maior deteção foi feita na Bélgica, em amostras adquiridas em supermercados locais, o resultado foi de $172 \pm 81 \mu\text{g kg}^{-1}$ de arsénio inorgânico (Ruttens *et al.*, 2018).

Para o arroz integral, foi obtido o resultado de $230 \pm 20 \mu\text{g kg}^{-1}$ de arsénio inorgânico em amostras provenientes de Espanha (Torres-Escribano *et al.*, 2008).

Os países que apresentam maior concentração média são Espanha com uma concentração de $367 \pm 4 \mu\text{g kg}^{-1}$ seguido de Portugal com $300,8 \pm 31,79 \mu\text{g kg}^{-1}$ e, em sentido contrário, com menor concentração média temos Índia (com a amostra oriunda de Punjab) com concentração de $12,0 \pm 5,48 \mu\text{g kg}^{-1}$ e a Escócia com $53 \pm 7 \mu\text{g kg}^{-1}$.

Sendo o arroz um produto de extrema importância para a garantia alimentar mundial, pois alimenta aproximadamente 50% da população mundial (Oliveira, de *et al.*, 2016), é necessária a realização de estudos frequentes como os descritos na Tabela 7, para que se perceba qual a real exposição da população ao contaminante arsénio inorgânico. E assim tomar medidas para reduzir a sua exposição.

Para além do arroz e produtos à base de arroz, peixes, moluscos, bivalves e vegetais também foram identificados como contribuindo amplamente para a exposição diária ao arsénio inorgânico na população europeia em geral (EFSA, 2009).

1.6.1 Exposição ao arsénio

A principal via de exposição para a população em geral é através de alimentos e das águas. A dose diária que se ingere através de alimentos e água é entre 20 – 300 μg por dia (International Agency for Research on Cancer(IARC), 2012).

A EFSA em 2009 estimou que as exposições nacionais ao arsénio inorgânico através de alimentos e água em 19 países europeus variavam entre 0,13 a 0,56 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de peso corporal (pc) por dia para os consumidores médios, e de 0,37 a 1,22 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de pc por dia para o percentil 95% (EFSA, 2009).

Em 2014 foi publicado um parecer por parte da EFSA onde foi determinada a exposição ao arsénio inorgânico através da alimentação por parte da população europeia, sendo esta estimada para várias faixas etárias. A exposição alimentar média entre bebés, crianças até aos 3 anos e crianças com mais de 3 anos variou de 0,20 a 1,37 $\mu\text{g kg}^{-1}$ pc por dia. A exposição alimentar média entre a população adulta (incluindo adultos, idosos) variou de 0,09 a 0,38 $\mu\text{g kg}^{-1}$ pc por dia (EFSA, 2014).

Segundo a EFSA, e por ordem decrescente, as subclasses alimentares de grãos de cereais e produtos à base de cereais, seguidas de alimentos para usos alimentares especiais, água engarrafada, café e cerveja, grãos de arroz e produtos à base de arroz, peixes e vegetais foram identificados como contribuindo amplamente para a exposição diária ao arsénio inorgânico na população europeia em geral. Estima-se que altos consumidores de arroz na Europa, como certos grupos étnicos, tenham uma exposição diária de arsénio inorgânico na dieta de cerca de 1 $\mu\text{g kg}^{-1}$ pc por dia, e altos consumidores de produtos à base de algas podem ter exposição dietética de arsénio inorgânico de cerca de 4 $\mu\text{g kg}^{-1}$ pc por dia. A evidência disponível limitada não indica uma exposição alimentar diferente para os vegetarianos da população em geral, a menos que eles consumam uma grande quantidade de produtos à base de algas (EFSA, 2009).

2 Parte Experimental

2.1 Materiais e metodologias analíticas

2.1.1 Reagentes e Soluções

2.1.1.1 Reagentes

- Ácido Nítrico (HNO₃) 68% - superpure (Carlo ERBA, Milão, Itália);
- Água desionizada, purificada em sistema Milli-Q (Milli-Q Integral 10, Billerica, E.U.A).

2.1.1.2 Soluções

- Solução de ácido nítrico a 1%, preparada através da dissolução de 21,75 ml de ácido nítrico 68% num balão volumétrico de 2000 ml, perfazendo com água Milli-Q.

2.1.2 Material Utilizado

- Balão volumétrico (2000mL);
- Espátula;
- Proveta (50mL);
- Tubo Falcon (50mL);
- Copos de recolha de amostra;
- Parafilm;
- Filtros.

2.1.3 Equipamentos

- Balança analítica Mettler Toledo modelo AG 285 (Columbus, Ohio, EUA);
- Moinho de café;
- Aparelho de Vortex;
- Aparelho de ultrassonificação modelo Sonorex RK 100 (Berlim, Alemanha);
- Centrífuga;
- Bomba de vácuo;
- ICP-MS XSERIES-2, ThermoUnican.

2.2 Amostragem

2.2.1 Recolha de amostras

A amostragem foi realizada durante os meses de setembro e outubro de 2019 numa fábrica de arroz e também se recolheu amostras em superfícies comerciais em Janeiro de 2020. No total foram analisadas 70 amostras, sendo 48 amostras recolhidas na fábrica e 22 adquiridas em supermercado (Tabela 8). Das 70 amostras analisadas: 41 são branqueadas

Carolino	Mondego	Integral	Nf
Carolino	Mondego	Branqueado	Nf
Carolino	Mondego	Integral	Nf
Carolino	Mondego	Branqueado	Produtor
Carolino	Tejo	Branqueado	Nf
Carolino	Tejo	Integral	Nf
Carolino	Tejo	Branqueado	Nf
Carolino	Tejo	Integral	Nf
Carolino	Tejo	Branqueado	Nf
Carolino	Tejo	Integral	Nf
Carolino	Tejo	Branqueado	Nf
Carolino	Tejo	Integral	Nf
Carolino	Sado	Branqueado	Nf
Carolino	Sado	Integral	Nf
Carolino	Nf	Branqueado	Ceifeira
Carolino	Nf	Branqueado	Golden Sun
Agulha	Mondego	Branqueado	Nf
Agulha	Mondego	Integral	Nf
Agulha	Mondego	Branqueado	Nf
Agulha	Mondego	Integral	Nf
Agulha	Nf	Branqueado	Caçarola
Agulha	Nf	Branqueado	Amanhecer
Agulha	Nf	Branqueado	Por si
Agulha	Nf	Branqueado	Pingo Doce
Basmati	Nf	Branqueado	Por si
Basmati	Nf	Branqueado	Caçarola
Basmati	Nf		Pingo Doce
Basmati	Nf		Oriente
Basmati integral	Nf	Integral	Continente Seleção
Jasmine	Nf	Branqueado	Auchan
Jasmine	Nf		Pingo Doce
Thai	Nf	Branqueado	Caçarola
Thai Jasmine	Nf		Continente
Aromático de Punjab	Punjab	Branqueado	Continente Seleção
Vaporizado	Nf		Por si
Negro	Nf	-	Caçarola
Selvagem	Nf	Integral	Caçarola
Integral	Nf	Integral	Saludães
Sushi	Nf		Caçarola

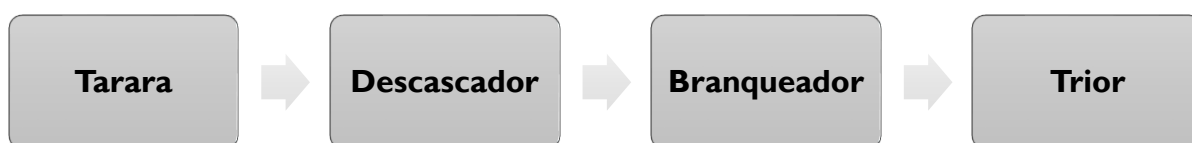
Legenda: Nf – não fornecido

2.3 Metodologia analítica

2.3.1 Preparação das amostras de fábrica

As amostras oriundas de fábrica (48 amostras) foram recolhidas à entrada da fábrica, ainda em casca. Para obter as amostras na forma adequada à análise foi necessário proceder ao descasque do arroz (48 amostras) e posteriormente ao branqueamento em 24 amostras, o equipamento em que se dá o processo mencionado está representado na Figura 7.

Para obter o arroz branqueado procedeu-se da seguinte forma:



Para se obter o arroz integral procedeu-se da seguinte forma:



Figura 7 - Equipamento laboratorial para descasque e branqueamento de arroz. (1-Tarara; 2-Descascador; 3-Branqueador; 4-Trior) (Garcia, 2017).

A tarara separa o arroz de resíduos que possa trazer como por exemplo palha, o descascador retira a casca ao arroz, no branqueador o arroz sofre um processo físico de fricção em que resulta na remoção da camada de aleurona, tornando o arroz branco tal como o conhecemos e no trior é separada a trinca do arroz inteiro.

2.3.2 Extração de arsênio inorgânico das amostras

Pesou-se 30 g de cada amostra para proceder à trituração no moinho de café. Num tubo Falcon de 50 mL tarado e devidamente identificado pesou-se 5 g da amostra anteriormente triturada. Adicionou-se a cada tubo falcon 50 mL de ácido nítrico (1%), levando posteriormente ao vortex durante 10 minutos, de seguida colocou-se no ultrassons durante 15 minutos e por fim levou-se a centrifugar durante 15 minutos a 4000 rpm. Reservou-se o sobrenadante em copos de recolha de amostras, para posterior filtração da amostra com bomba de vácuo (Figura 8). Após a filtração foi feita a análise às amostras através do equipamento de ICP-MS.

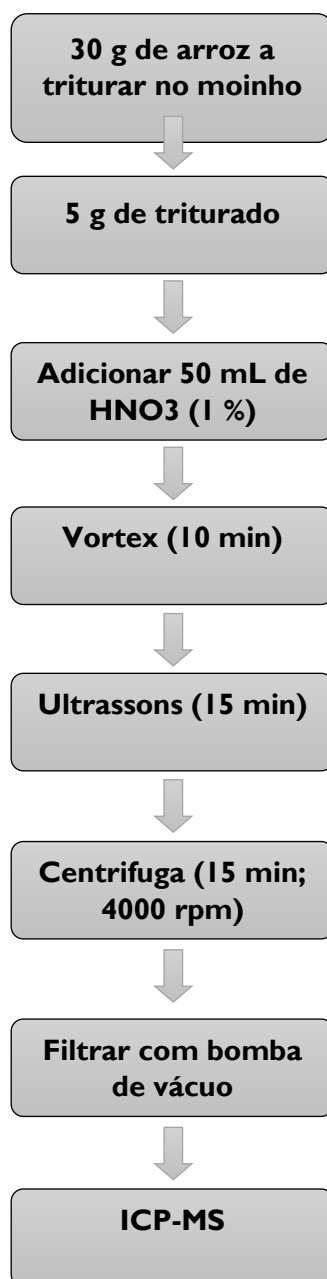


Figura 8 - Processo de extração de arsênio

2.3.3 Detecção e quantificação de Arsénio

A deteção de arsénio foi realizada no equipamento de ICP-MS XSERIES-2, ThermoUnican, a 1370 W (m/z 75) (Tabela 9). Utilizou-se uma equação de correção de forma a eliminar possíveis interferências de cloretos presentes nas amostras.

Todas as amostras foram diluídas 5 vezes e preparadas com HNO₃ a 0,5%.

Tabela 9 - Configurações para deteção de arsénio, no equipamento de ICP-MS XSERIES-2, ThermoUnican.

Configurações de Pesquisa	Leituras	5
	Tempo de Permanência	600
	Canais por massa	10
	Duração	6623
Configurações de execução	Principal leitura	Peak Jumping
	Leituras	200
	Tempo de Permanência	10000
	Canais por massa	1
	Duração	22287
	Espaço entre canais	0,02
Conjunto de configurações	Extração	-106,00
	Lente 1	-1170,00
	Lente 2	-79,20
	Lente 3	-185,90
	Polarização	-3,00
	Profundidade da amostragem	108,00
	Nebulizador	0,87
	Energia fornecida	1370,00

2.4 Validação da metodologia analítica

A validação de uma metodologia consiste no estudo detalhado do processo subjacente à sua implementação. Validação é definida como o processo de reconhecimento de que um método analítico é aceitável para os objetivos projetados (Ribeiro, 2006).

Os requisitos mínimos para a validação de metodologias analíticas dependem do tipo de método em causa e compreendem o estudo e conhecimento da gama de trabalho, linearidade, limiares analíticos (deteção e quantificação), sensibilidade, precisão e exatidão (Rocha, 2009).

2.4.1 Linearidade

A linearidade refere-se à capacidade do método de gerar resultados linearmente proporcionais à concentração do analito, enquadrados em faixa analítica especificada. Esse parâmetro pode ser demonstrado pelo coeficiente de correlação do gráfico analítico (Brito e Junior, 2009).

Este parâmetro é avaliado através da leitura de padrões com concentração de analito equidistantes na gama de trabalho. Em calibrações lineares devem ser estudados, no mínimo de 4 níveis de concentração incluindo um ensaio em branco. Com os sinais traça-se um gráfico sinal versus concentração e, caso a função seja representada por uma função polinomial de primeiro grau, traça-se a reta de regressão (Silva Cordeiro, da, 2015).

A reta de calibração foi realizada com os padrões seguintes: 0,2, 0,4, 0,8, 1,0, 2,0 e 5,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ de arsênio preparado em 0,5% HNO_3 . Usou-se um padrão interno de escândio (Sc) (m/z 45) e com a concentração de 25 $\mu\text{g L}^{-1}$.

2.4.2 Limite de detecção e limite de quantificação

O limite de detecção (LD) é o teor mínimo medido, a partir do qual é possível detetar a presença do analito com uma certeza estatística razoável. Este limiar analítico corresponde à mais pequena quantidade de substância a analisar que pode ser detetada numa amostra, mas não necessariamente quantificada (Rocha, 2009).

O limite de quantificação (LQ) é definido como a menor concentração do analito, que pode ser quantificada na amostra, com exatidão e precisão aceitáveis, sob as condições experimentais adotadas (Brito e Junior, 2009).

A determinação de LD instrumental foi realizada através da determinação da média e desvio padrão da leitura de 10 brancos usando a fórmula: $LQ = \text{média} + 3,3 \times \text{Desvio padrão}$.

A determinação do LQ instrumental foi realizada através da determinação da média e desvio padrão da leitura de 10 brancos usando a fórmula: $LQ = \text{média} + 10 \times \text{Desvio padrão}$.

2.4.3 Exatidão

Exatidão representa o grau de concordância entre os resultados individuais encontrados em um determinado ensaio e um valor de referência aceite como verdadeiro. Este parâmetro pode ser avaliado através dos ensaios de recuperação (Ribani *et al.*, 2004).

Este parâmetro foi calculado através do desvio padrão dos ensaios de recuperação. Para verificar estes parâmetros foram analisados 5 ensaios de recuperação.

2.5 Tratamento estatístico dos dados

O tratamento estatístico de um conjunto de dados já estabelecido começa por uma verificação da qualidade e integridade do conjunto de dados. Serve também para possível deteção de erros e inconsistências ocorridos nos procedimentos e métodos analíticos ou de amostragem (Carvalho, 2003). O tratamento estatístico dos resultados neste trabalho foi realizado através do programa GraphPad Prism 6.

2.6 Discussão de Resultados

2.6.1 Validação

A linearidade foi estudada através de soluções padrão tendo sido obtido um coeficiente de correlação de 0,999973. De forma a validar a reta de calibração analisou-se uma amostra denominada de “branco”, a amostra usada para o padrão do LQ (resultado: 0,21 $\mu\text{g L}^{-1}$) e uma amostra padrão de controlo com uma concentração de 1,0 $\mu\text{g/L}$ (resultado: 1,04 $\mu\text{g L}^{-1}$) preparados através de uma solução diferente da utilizada na reta de calibração. Para esta metodologia o LD foi de 3,3 $\mu\text{g Kg}^{-1}$ e o LQ foi de 10 $\mu\text{g Kg}^{-1}$.

Foram realizados 5 ensaios de recuperação de forma a avaliar a exatidão do método, com recuperações de 99%, 114%, 106%, 111% e 89%. A precisão do método foi de 10,8%.

Para controlo de qualidade foram seleccionadas duas concentrações da reta de calibração, 0,2 e 0,8 $\mu\text{g L}^{-1}$ foram lidos de 10 em 10 amostras e no final da sessão:

- Padrão de 0,2 $\mu\text{g/L}$: 0,18, 0,21, 0,20, 0,18, 0,18, 0,20, 0,20, 0,20 $\mu\text{g L}^{-1}$;
- Padrão de 0,8 $\mu\text{g/L}$: 0,78, 0,81, 0,81, 0,81, 0,82, 0,80, 0,77, 0,78 $\mu\text{g L}^{-1}$;

2.6.2 Níveis de arsénio detetado nas amostras de arroz

Analisou-se 70 amostras de arroz e a frequência de deteção de arsénio foi de 81% (57 amostras).

Analisando a presença de arsénio em amostras branqueadas e amostras integrais percebe-se que as amostras integrais são as que apresentam maior quantidade de arsénio. A frequência de deteção é 100% nas amostras Integrais e 68,29% para amostras Branqueadas (Gráfico 1). A concentração média de arsénio em amostras integrais é de 47,07 $\mu\text{g Kg}^{-1}$ e para as amostras branqueadas é de 16,73 $\mu\text{g Kg}^{-1}$. A concentração mais elevada de arsénio nas amostras integrais foi de 100 $\mu\text{g Kg}^{-1}$ e nas amostras branqueadas foi de 90 $\mu\text{g Kg}^{-1}$. A análise estatística realizada a este conjunto de dados mostra que existe diferença estatisticamente significativa, apresentando um valor de p inferior a 0,0001.

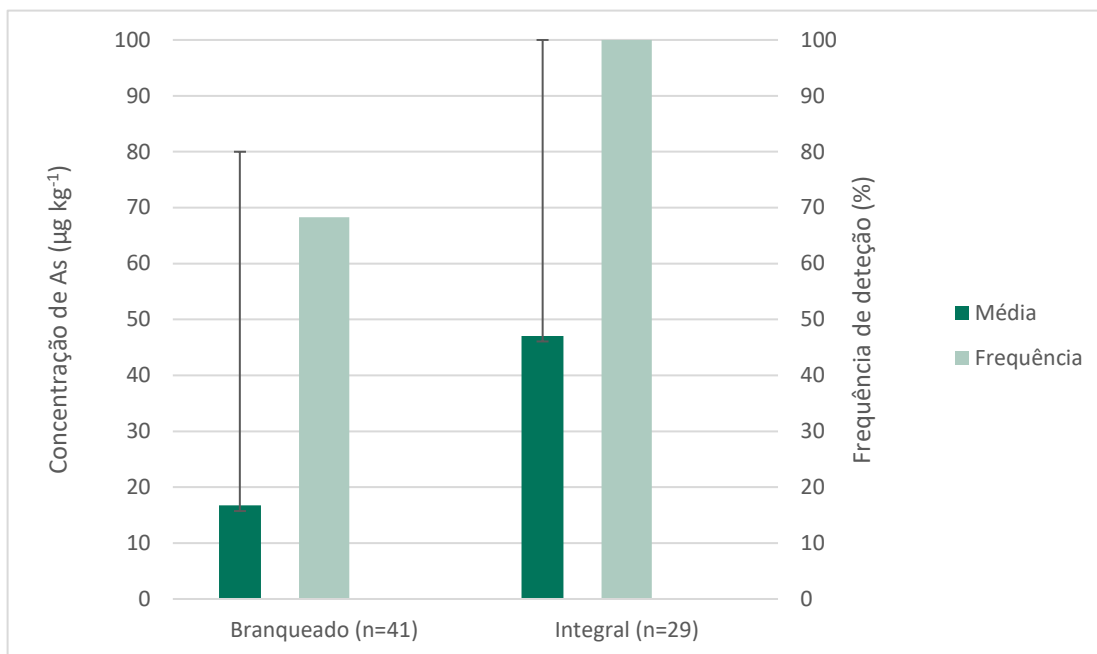


Gráfico I - Frequência de detecção, concentração média e máxima de As em arroz branqueado e arroz integral.

As concentrações obtidas para as amostras branqueadas foram mais baixas comparando com outros autores em que as concentrações médias detetadas para arroz branqueado variam entre $70 \mu\text{g kg}^{-1}$ e $172 \pm 81 \mu\text{g kg}^{-1}$ (Ashmore *et al.*, 2019; Guillod-Magnin *et al.*, 2018; Ruttens *et al.*, 2018; Signes-pastor *et al.*, 2016). Neste estudo a concentração média de arsênio em amostras integrais é superior à concentração das amostras branqueadas, tal como foi demonstrado em estudos realizados, com concentrações médias entre $90 \mu\text{g kg}^{-1}$ e $167 \pm 47 \mu\text{g kg}^{-1}$ (Signes-pastor *et al.*, 2016).

Nos grãos de arroz, o arsênio apresenta-se em maior concentração na casca, de seguida no polimento de farelo, no arroz integral, em arroz cru e por último em arroz branqueado. Além disso, como não é distribuído uniformemente dentro desses tecidos, observou-se que existem maiores concentrações de arsênio no embrião e em alguns pontos no revestimento (até 13 mg kg^{-1}). Portanto, o arroz polido disponível no mercado contém concentrações mais baixas de arsênio do que os grãos integrais e é mais seguro para o consumo humano em termos de contaminação por arsênio (Suriyagoda, Dittert e Lambers, 2018).

Relativamente à origem do arroz, categorizou-se as amostras nos seguintes grupos, origem no Mondego, origem no Tejo e Sado e origem desconhecida. A frequência de detecção foi de 100% para o Tejo e Sado, 89,74% para o Mondego, e de 57,14% para a origem desconhecida (Gráfico 2). O grupo que obteve maior concentração média tinha origem no

Tejo e Sado com $51,1 \mu\text{g Kg}^{-1}$ e valor máximo de $100 \mu\text{g Kg}^{-1}$. De seguida nas amostras com origem no Mondego obteve-se uma concentração média de $26,84 \mu\text{g Kg}^{-1}$ e valor máximo de $90 \mu\text{g Kg}^{-1}$, por fim quanto às amostras com origem desconhecida a concentração média de arsénio foi de $23,48 \mu\text{g Kg}^{-1}$ e o valor máximo de $90 \mu\text{g Kg}^{-1}$.

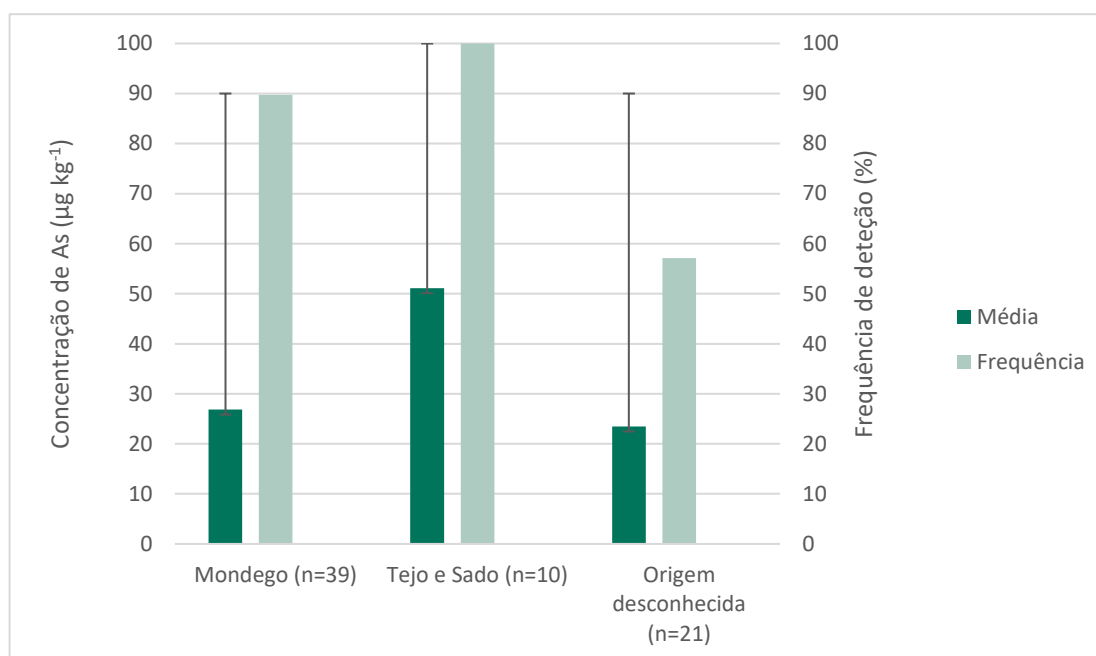


Gráfico 2 - Frequência de deteção, concentração média e máxima de As em arroz das regiões do Mondego, Tejo e Sado e Origem desconhecida.

A análise estatística realizada a este conjunto de dados mostra que existe diferença entre o grupo Tejo e Sado e o grupo “Outros”, apresentando um valor de p inferior a 0,0044.

Num estudo realizado em Portugal foi determinado arsénio inorgânico em arroz, com origem no Ribatejo e no Mondego, à semelhança do estudo aqui apresentado. A concentrações média de arsénio inorgânico é de $224,3 \pm 32,97 \mu\text{g Kg}^{-1}$ para amostras com origem no Rio Tejo e $242,6 \pm 32,97 \mu\text{g Kg}^{-1}$ e para arroz com origem no Rio Mondego (Simões, 2014), valores um pouco dispare comparando com os obtidos, sendo $51,1 \mu\text{g Kg}^{-1}$ para o Rio Tejo e $26,84 \mu\text{g Kg}^{-1}$ para o rio Mondego.

Num estudo realizado na Península Ibérica onde relaciona as zonas de cultivo com a concentração de arsénio ficou demonstrado que os solos dos arrozais que tinham concentrações baixas a moderadas de arsénio total, apresentavam uma correlação positiva com arsénio inorgânico em broto de arroz e também descreve uma tendência hiperbólica em grãos de arroz recolhidos do campo. O solo da zona da Estremadura sugere uma maior biodisponibilidade para a absorção por parte da planta pois contém formas mais lábeis de arsénio. A biodisponibilidade de arsénio está dependente de fatores ambientais (Signes-pastor *et al.*, 2016).

Pode-se relacionar os leitos dos rios com a quantidade de arsênio existente, os rios Mondego, Tejo e Sado têm constituições diferentes em termos de rochas e minerais, as condições climáticas são um fator que influencia a existência em maior ou menor concentração de arsênio nas águas. A existência de maior quantidade nas amostras oriundas do rio Tejo pode estar relacionada com a constituição do leito do rio e com as indústrias que existem ao longo do leito do rio.

Também se compararam os resultados obtidos para os diferentes tipos de arroz, categorizou-se em Carolino (em fábrica é denominado longo), agulha, *basmati* (incluiu-se também *jasmine*, *thai*, *thai jasmine* nesta categoria) e outros (tipos de arroz mais distintos como por exemplo arroz preto, arroz selvagem e arroz vaporizado).

A frequência de detecção foi de 100% para o grupo de outros, 89,36% para o grupo de arroz carolino, 87,5% para o arroz agulha e 36,36% para o grupo *basmati* (Gráfico 3).

O grupo em que apresenta uma maior concentração de arsênio é o grupo “outros” com $71 \mu\text{g Kg}^{-1}$ de concentração média de arsênio e com um valor máximo de $90 \mu\text{g Kg}^{-1}$. O arroz do tipo carolino apresenta uma concentração média de $31,66 \mu\text{g Kg}^{-1}$ e com um valor máximo de concentração de $100 \mu\text{g Kg}^{-1}$. O grupo agulha apresenta um valor médio de $20,63 \mu\text{g Kg}^{-1}$ e valor máximo de $46 \mu\text{g Kg}^{-1}$. Por último e com a média mais baixa de concentração apresentasse o grupo *basmati* com uma concentração média de $10,36 \mu\text{g Kg}^{-1}$ e com o valor máximo de $24 \mu\text{g Kg}^{-1}$.

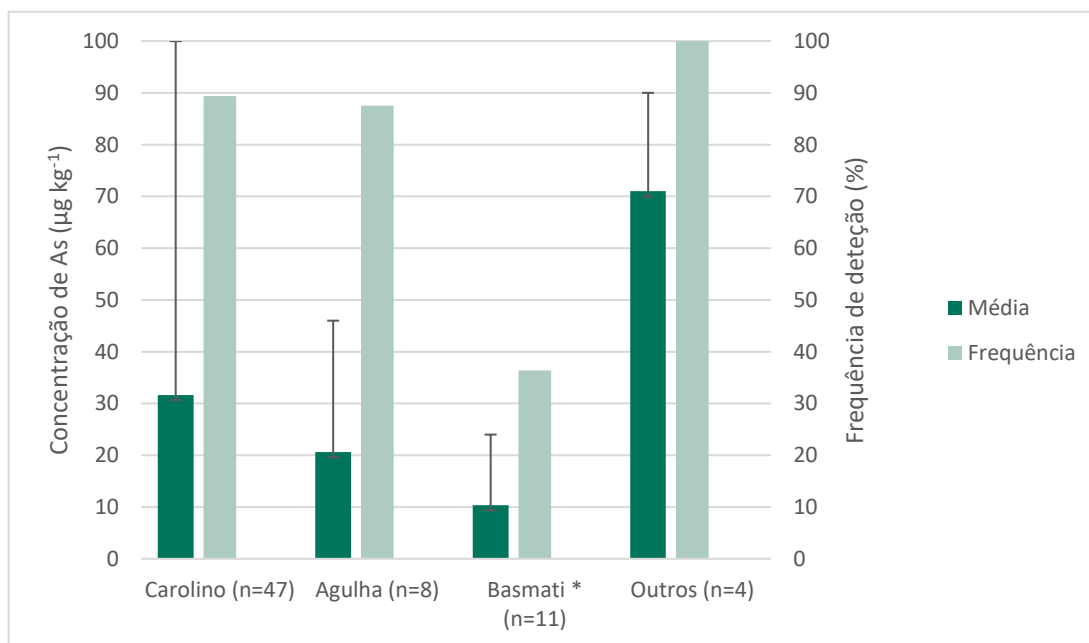


Gráfico 3 - Frequência de detecção, concentração média e máxima de As em arroz carolino, Agulha, Basmati e outros tipos de arroz.

Legenda: * - Inclui também arroz: Jasmine, thai, thai jasmine

A análise estatística realizada a este conjunto de dados mostra que existe diferença estatisticamente significativa entre o grupo Carolino e o grupo *Basmati*, apresentando um *p value* de $p=0,0051$, e entre o grupo Outros e o grupo *Basmati* o valor de *p value* é de $p=0,0011$. Noutro estudo obtiveram-se concentrações médias entre $217,5 \pm 15,94 \mu\text{g kg}^{-1}$ e $300,8 \pm 31,79 \mu\text{g kg}^{-1}$ para arroz Carolino (Simões, 2014), resultados mais elevados do que os obtidos neste estudo para o mesmo tipo de arroz, apresentando uma média de $31,66 \mu\text{g Kg}^{-1}$ de arsénio no tipo de arroz Carolino.

A ocorrência de arsénio em arroz do tipo agulha foi determinada por dois autores. Um deles com valores entre $52 \pm 10 \mu\text{g kg}^{-1}$ e $94 \pm 1 \mu\text{g kg}^{-1}$ (Torres-Escribano *et al.*, 2008), outro obteve o intervalo de concentrações de $33 - 271 \mu\text{g kg}^{-1}$ (Lamont, 2003). Os resultados obtidos neste estudo mostram-se mais baixos do que os conseguidos pelos autores referidos, sendo que o que se assemelha aos resultados obtidos será o estudo de Torres-Escribano *et al.*

Arroz do tipo *Basmati*, *Jasmine*, *Thai* e *Thai jasmine* foram igualmente estudados por autores já referidos, onde os resultados obtidos variam no intervalo de $12,0 \pm 5,48 \mu\text{g kg}^{-1}$ a $175 \pm 8 \mu\text{g kg}^{-1}$ de arsénio (Pétursdóttir *et al.*, 2014; Ruttens *et al.*, 2018; Simões, 2014; Torres-Escribano *et al.*, 2008). O estudo aqui realizado demonstra valores baixos de concentração de arsénio inorgânico comparando com os autores referidos. Num estudo onde foi obtido os valores de concentração entre $12,0 \pm 5,48 \mu\text{g kg}^{-1}$ e $85,5 \pm 10,39 \mu\text{g kg}^{-1}$, (Simões, 2014), é o estudo em que os valores se assemelham aos obtidos neste estudo realizado.

No grupo denominado de “Outros” estão incluídos os seguintes tipos, arroz preto, arroz selvagem e arroz vaporizado. O arroz vaporizado foi alvo de estudo com um intervalo de concentrações de $22-70 \mu\text{g kg}^{-1}$ de arsénio (Pétursdóttir *et al.*, 2014), no estudo realizado o resultado para este tipo de arroz foi de $90 \mu\text{g kg}^{-1}$. No grupo denominado de “Outros” estão incluídos os seguintes tipos, arroz preto, arroz selvagem e arroz vaporizado. O arroz vaporizado foi alvo de estudo onde se detetaram concentrações de arsénio entre $22-70 \mu\text{g kg}^{-1}$ (Pétursdóttir *et al.*, 2014), enquanto que, a amostra analisada deste tipo de arroz continha $90 \mu\text{g kg}^{-1}$.

Neste estudo foi demonstrado que existe maior concentração de arsénio em arroz do tipo Carolino, pode dever-se como anteriormente às condições climáticas e à região de cultivo do arroz, pode também pelos diferentes tipos de arroz terem diferentes constituições nutricionais.

A legislação estipula através do regulamento 2015/1006 a concentração máxima de arsénio inorgânico presente em arroz e derivados de arroz. Entre as amostras analisadas não foi detetada nenhuma amostra que se encontrasse fora do limite máximo estipulado por lei, sendo de $200 \mu\text{g Kg}^{-1}$ para arroz branqueado, $250 \mu\text{g Kg}^{-1}$ para arroz integral e de $100 \mu\text{g Kg}^{-1}$

em arroz destinado a lactentes. No entanto das amostras analisadas podemos considerar que existem amostras que não poderiam ser usadas para arroz destinado a lactentes, tendo em conta que a sua concentração de arsénio inorgânico foi de $100 \mu\text{g Kg}^{-1}$, valor coincidente com o estipulado por lei. A amostra em causa é de arroz integral, com origem no rio Tejo e do tipo Carolino. Num estudo realizado com amostras com origem na China, EUA, Reino Unido, obtiveram-se concentrações médias de arsénio superiores a $100 \mu\text{g Kg}^{-1}$. Nesse mesmo estudo já com as amostras oriundas de Espanha não se verificou o mesmo caso, obtendo-se uma concentração média de $85 \pm 10 \mu\text{g Kg}^{-1}$ de arsénio inorgânico (Carbonell-barrachina *et al.*, 2012).

2.7 Avaliação de risco

Estabelecido como dose tolerável diária para o arsénio inorgânico pelo CONTAM (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain) um intervalo de valores entre 0,3 e $8 \mu\text{g Kg}^{-1}$ de peso corporal (pc) por dia, que deveria ser usado em vez de um único ponto de referência para caracterizar o risco para os consumidores (EFSA, 2009).

Assumindo o valor de $0,3 \mu\text{g Kg}^{-1}$ pc por dia como o valor mais baixo de dose tolerável diária e um consumo anual de arroz de 15,9 Kg por pessoa para determinar a avaliação de riscos. Podemos concluir que em nenhum dos cenários, esse valor é ultrapassado, estando bastante abaixo de $0,30 \mu\text{g Kg}^{-1}$ pc por dia (Tabela 10).

Tabela 10 - Dose diária ingerida ($\mu\text{g Kg}^{-1}$ pc por dia) pela população portuguesa, e respetiva percentagem da dose diária tolerável (%).

		Dose Diária Ingerida ($\mu\text{g Kg}^{-1}$ pc dia)		Percentagem de As de TDI (%)	
		Média	Pior Cenário	Média	Pior Cenário
Modo de Apresentação	Branqueado	0,011	0,051	3,57	17,08
	Integral	0,030	0,064	10,05	21,35
Origem do arroz	Mondego	0,017	0,058	5,73	19,22
	Tejo e Sado	0,033	0,064	10,91	21,35
	Outros	0,002	0,058	0,53	19,22
Tipo de arroz	Carolino	0,020	0,064	6,76	21,35
	Agulha	0,013	0,029	4,40	9,82
	Basmati*	0,007	0,015	2,21	5,12
	Outros	0,045	0,058	15,16	19,22

A exposição média ao arsénio inorgânico através de arroz integral é de $0,03 \mu\text{g Kg}^{-1} \text{ pc}$ por dia e no pior cenário a ingestão é de $0,064 \mu\text{g Kg}^{-1} \text{ pc}$ por dia. Quanto ao arroz branqueado a ingestão média é de $0,011 \mu\text{g Kg}^{-1} \text{ pc}$ por dia e no pior cenário a ingestão é de $0,051 \mu\text{g Kg}^{-1} \text{ pc}$ por dia.

A ingestão diária de arsénio inorgânico é superior em arroz integral em relação ao arroz branqueado, justificando-se devido à maior quantidade de arsénio inorgânico que se encontra acumulado no grão de arroz, porque a este não é removida a parte exterior do grão como no arroz branqueado.

Assume-se que existe risco para o consumidor quando a quantidade ingerida é superior à dose diária tolerável. A quantidade ingerida de arsénio inorgânico diariamente comparado com a dose diária tolerável é de 10% para a média e de 21% para o pior cenário em arroz integral. Em arroz branqueado a quantidade ingerida é de 3% para a média e de 17% para o pior cenário.

Verifica-se uma maior exposição ao arsénio inorgânico através de arroz proveniente de arrozais localizados nas bacias dos rios Tejo e Sado, resultando numa ingestão média de $0,033 \mu\text{g Kg}^{-1} \text{ pc}$ por dia, e no pior cenário a ingestão é de $0,064 \mu\text{g Kg}^{-1} \text{ pc}$ por dia, a exposição através de arroz oriundo da bacia do Rio Mondego é menor, a ingestão média é de $0,017 \mu\text{g Kg}^{-1} \text{ pc}$ por dia e a ingestão no pior cenário é de $0,058 \mu\text{g Kg}^{-1} \text{ pc}$ por dia. Em arroz em que a origem não é conhecida, o grupo “outros” é o que apresenta menor exposição ao contaminante, sendo a ingestão média de $0,001 \mu\text{g Kg}^{-1} \text{ pc}$ por dia e no pior cenário a ingestão é de $0,058 \mu\text{g Kg}^{-1} \text{ pc}$ por dia.

Quanto à proveniência do arroz e a quantidade ingerida de arsénio inorgânico diariamente comparado com a dose diária tolerável é de 5,7% para a média e de 19% para o pior cenário em arroz com origem no Rio Mondego. Em arroz com origem no Rio Tejo a quantidade média ingerida é de 10,9% e a quantidade máxima ingerida é de 21%. Em arroz sem origem conhecida a ingestão média é de 0,5% e a ingestão máxima é de 19%.

Neste caso não existe risco para o consumidor através do consumo exclusivo de arroz, tendo em conta que em nenhuma das amostras se ultrapassou o valor de dose diária tolerável.

Existem grupos em que a sua exposição é mais elevada, aumentando assim o risco associado, é o caso das pessoas intolerantes ao glúten, celíacos, na impossibilidade de consumir alimentos à base de cereais, o arroz mostra-se como uma alternativa. Sendo o arroz a alternativa às massas à base de cereais, o consumo é superior ao de uma pessoa não celiaca. Se assumir que o consumo de arroz por parte de pessoas celiacas é de aproximadamente o dobro de uma pessoa não celiaca, cerca de 30 Kg por ano. Portanto a quantidade de arsénio ingerida será superior, como se mostra na Tabela II.

Tabela II - Dose diária ingerida ($\mu\text{g Kg}^{-1}$ pc por dia) por pessoas celíacas, e respetiva percentagem da dose diária tolerável (%).

		Dose Diária Ingerida ($\mu\text{g Kg}^{-1}$ pc dia)		Percentagem de As de TDI (%)	
		Média	Pior Cenário	Média	Pior Cenário
Modo de Apresentação	Branqueado	0,020	0,097	6,74	32,23
	Integral	0,057	0,121	18,96	40,29
Origem do arroz	Mondego	0,032	0,109	10,81	36,26
	Tejo e Sado	0,062	0,121	20,59	40,29
	Outros	0,003	0,109	1,00	36,26
Tipo de arroz	Carolino	0,038	0,121	12,76	40,29
	Agulha	0,025	0,056	8,31	18,53
	Basmati*	0,013	0,029	4,17	9,67
	Outros	0,086	0,109	28,61	36,26

Como definido anteriormente o valor de dose tolerável diária é de $0,3 \mu\text{g Kg}^{-1}$ pc por dia.

A avaliação de risco feita para o grupo de pessoas celíacas demonstra que o risco associado ao consumo de arroz não é preocupante, tendo em conta que em nenhum dos cenários a percentagem de arsénio ingerida é superior a 100%, mas comparando com o restante da população, estes têm maior risco associado.

A população não se alimenta exclusivamente de arroz, por isso, não se pode ter unicamente em conta o consumo de arroz para perceber a exposição ao arsénio, e não sendo esta a única fonte de arsénio na nossa alimentação, tem de se ter em conta outras fontes de arsénio (peixes, moluscos, água) para uma avaliação mais precisa do risco para o consumidor.

3 Conclusão

Os metais pesados são elementos naturalmente presentes em solos, rochas e águas. Apesar de serem elementos naturais, constituem um risco para a saúde humana, podendo promover toxicidade aguda ou crónica.

O arsénio orgânico e inorgânico está presente principalmente em águas, sendo os alimentos daqui provenientes os que apresentam maior quantidade de arsénio. Por esse motivo, alimentos que sejam irrigados com grandes quantidades de água, como o arroz, em que a sua cultura é feita em submersão, promove uma exposição maior comparando com outros cereais.

A identificação e quantificação de arsénio inorgânico no arroz foi realizada por ICP-MS. A metodologia utilizada mostrou-se adequada obtendo um limite de deteção de $3,3 \mu\text{g Kg}^{-1}$ e o limite de quantificação de $10 \mu\text{g Kg}^{-1}$. A exatidão do método foi determinada através de ensaios de recuperação, obtendo resultados entre 89% e 114%.

Foi detetada a presença de arsénio inorgânico em todas as amostras, os resultados obtidos mostram que de todas as amostras analisadas nenhuma se encontra acima do que está estipulado por lei para a quantidade de arsénio inorgânico presente no arroz.

Conclui-se também que as amostras de arroz integral são as que apresenta maior quantidade de arsénio inorgânico. Entre as diferentes regiões de origem do arroz em Portugal, a região do Tejo é a que apresenta maior quantidade de arsénio inorgânico. Analisando por tipo de arroz, conclui-se que o grupo que apresenta maior concentração de arsénio inorgânico

é o grupo “outros”, seguido do arroz do tipo Carolino, o arroz do tipo agulha apresenta menor quantidade que o anterior, e o tipo Basmati, onde se incluem também arroz thai e thai jasmim é o que apresenta a menor quantidade de arsênio inorgânico.

Tendo em conta a avaliação de risco realizada pode concluir-se que as quantidades presentes no arroz não constituem risco para a saúde humana. De salientar que existe um grupo populacional que está mais exposto ao arsênio inorgânico através da ingestão de arroz, o grupo de pessoas celíacas, devido à sua dieta alimentar levar a uma maior ingestão de arroz. Da avaliação de risco realizada para este grupo populacional percebe-se que a exposição é maior apesar das quantidades ingeridas por este grupo da população não constituírem risco para a saúde.

Existem certos grupos étnicos que têm uma exposição diária de arsênio inorgânico na dieta de cerca de $1 \mu\text{g kg}^{-1} \text{pc}$ por dia, e altos consumidores de produtos à base de algas podem ter uma exposição dietética de arsênio inorgânico de cerca de $4 \mu\text{g kg}^{-1} \text{pc}$ por dia, não estando só expostos através do arroz, mas também através de diferentes matrizes também suscetíveis de acumular arsênio.

Deve ter-se em conta que a alimentação não se faz exclusivamente de arroz e por isso não se pode avaliar o risco à exposição por arsênio analisando apenas a quantidade existente no arroz. Existem outras fontes de arsênio na nossa alimentação e que também contribuem para a ingestão diária de arsênio sendo necessário, para uma avaliação correta do risco, obter dados de ocorrência para essas matrizes.

De forma a perceber e compreender melhor as diferenças demonstradas neste estudo sugiro que em trabalhos futuros se faça por exemplo uma análise multi-anual à concentração de arsênio tanto do arroz produzido como das águas que são utilizadas para a irrigação e ter-se em conta as condições edafoclimáticas. Seria também interessante perceber se existe algum tipo de relação entre os constituintes nutricionais dos vários tipos de arroz e a concentração de arsênio inorgânico.

4 Bibliografia

ALTHOBITI, Randa A.; SADIQ, Nausheen W.; BEAUCHEMIN, Diane - Realistic risk assessment of arsenic in rice. **Food Chemistry**. . ISSN 18737072. 257:February (2018) 230–236. doi: 10.1016/j.foodchem.2018.03.015.

ANDRADE, Daiene; ROCHA, Marcia - A toxicidade do arsênio e a sua natureza. **Revista acadêmica Oswaldo Cruz**. 3:10 (2016).

ASHMORE, Ellen *et al.* - Inorganic arsenic in rice and rice products in New Zealand and Australia. **Food Additives and Contaminants: Part B Surveillance**. . ISSN 19393229. 12:4 (2019) 275–279. doi: 10.1080/19393210.2019.1651403.

BRITO, Natilene; JUNIOR, Ozelito - Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. **European Heart Journal**. . ISSN 0195-668X. 30:Supplement 1 (2009) 301–585. doi: 10.1093/eurheartj/ehp414.

CARBONELL-BARRACHINA, Ángel A. *et al.* - Inorganic arsenic contents in rice-based infant foods from Spain ., **Environmental Pollution**. . ISSN 0269-7491. 163: (2012) 77–83. doi: 10.1016/j.envpol.2011.12.036.

CARDOSO, Manuela - Segurança alimentar, ajuda pública ao desenvolvimento e pobreza. **CIEA7 #22: Migration - Food - Security. Flows Dynamics and Turbulences in African Agrarian Societies**. (2010).

CARVALHO, Maria Angélica Garcia De - Métodos Estatísticos Para Análise De Dados De Monitoração Ambiental. (2003) 135.

CASTANHEIRA, Isabel Et Al - Estudos de especiação de arsênio em arroz. **Observações_Boletim Epidemiológico**. (2013) 6–7.

COLACIOPPO, Sérgio - **Higiene e Toxicologia Ocupacional – Metais Pesados**

COMISSÃO EUROPEIA - Regulamento (UE) 2015/1006 da Comissão de 25 de junho de 2015 que altera o Regulamento (CE) n° 1881/2006 no que diz respeito aos teores máximos de arsênio na forma inorgânica nos géneros alimentícios. **Journal Oficial da União Europeia**. 2015:6 (2015) 1993–1995.

COSTA, Hugo Tiago Duarte - Concentração de metais pesados nos solos utilizados para agricultura urbana na cidade de Lisboa. (2015) 148.

EFSA - Scientific Opinion on Arsenic in Food. **EFSA Journal**. . ISSN 1831-4732. 7:10 (2009)

1351. doi: 10.2903/j.efsa.(2009).1351.

EFSA - Dietary exposure to inorganic arsenic in the European population. **EFSA Journal**. . ISSN 18314732. 12:3 (2014). doi: 10.2903/j.efsa.2014.3597.

FAO - **FAOSTAT** [Em linha] Disponível em WWW:<URL:http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>.

FERNANDES, Raquel Martins - Efeito da temperatura e humidade no rendimento industrial de arroz das variedades Ariete, Euro, Gládio e Sírio. (2015) 1–77.

FERREIRA, D. *et al.* - Orizicultura e a presença de Arsénio no solo e na água de irrigação. **Res. Net Health**. (2017) 1–2.

FERREIRO, Maria; ANTUNES, Helena - Segurança alimentar e sustentabilidade: o caso do setor do arroz no Vale do Tejo e Sorraia: Perceção e práticas. (2017) 0–29. doi: 10.15847/dinamiacet-iul.wp.2017.03.

GALL, Jillian E.; BOYD, Robert S.; RAJAKARUNA, Nishanta - Transfer of heavy metals through terrestrial food webs: a review. **Environmental Monitoring and Assessment**. . ISSN 15732959. 187:4 (2015). doi: 10.1007/s10661-015-4436-3.

GARCIA, Isabel - **Influência de diferentes variedades de arroz carolino no seu comportamento em cozedura** (2017)

GONG, Zhilong *et al.* - Arsenic speciation analysis. **Talanta**. . ISSN 1005281X. 58:2002) 77–96. doi: 10.1016/S0039-9140(02)00258-8.

GUILLOD-MAGNIN, Roxane *et al.* - Arsenic species in rice and rice-based products consumed by toddlers in Switzerland. **Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment**. . ISSN 19440057. 35:6 (2018) 1164–1178. doi: 10.1080/19440049.2018.1440641.

GUO, Guanghui *et al.* - Spatial distribution and pollution assessment of heavy metals in urban soils from southwest China. **Journal of Environmental Sciences**. . ISSN 10010742. 24:3 (2012) 410–418. doi: 10.1016/S1001-0742(11)60762-6.

HOJSAK, Iva *et al.* - Arsenic in rice: A cause for concern. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**. . ISSN 15364801. 60:1 (2015) 142–145. doi: 10.1097/MPG.0000000000000502.

IARC - **ARSÉNIO E COMPOSTOS INORGÂNICOS DE ARSÉNIO** [Em linha]

Disponível em WWW:<URL:https://cancer-code-europe.iarc.fr/index.php/pt/12-formas/poluentes/378-poluentes-caixa/1615-caixa-5-arsenio-e-compostos-inorganicos-de-arsenio>.

IGP - **Caderno de Especificações do Arroz Carolino do Baixo Mondego.**

INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA, INE - **No Title** [Em linha] Disponível em WWW:<URL:https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_indicadores&indOcorrCod=0000186&contexto=bd&selTab=tab2&xlang=p>.

INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA, INE - **Estatísticas Agrícolas 2018.** ISBN 9789892504957.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER(IARC) - Arsenic and Arsenic Compounds Monograph. **IARC MONOGRAPHS ON THE EVALUATION OF CARCINOGENIC Risks Humans.** 100C:(2012) 41–93.

ISO 17294 - Water quality - application of inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) - Part 2: determination of 62 elements. (2004).

JESUS, Mónica Geraldo De - Caracterização das diferentes designações comerciais de arroz. (2019).

KUMARATHILAKA, Prasanna *et al.* - Arsenic in cooked rice foods: Assessing health risks and mitigation options. **Environment International.** . ISSN 18736750. 127:December 2018 (2019) 584–591. doi: 10.1016/j.envint.(2019).04.004.

LAMONT, William H. - Concentration of inorganic arsenic in samples of white rice from the United States. **Journal of Food Composition and Analysis.** 16:(2003) 687–695. doi: 10.1016/S0889-1575(03)00097-8.

MAROCCO, Emanuele; MILO, Marco - **Food Outlook.** ISBN 9789251319321.

MATAVELI, Lidiane Raquel Verola *et al.* - Total Arsenic, Cadmium, and Lead Determination in Brazilian Rice Samples Using ICP-MS. **Journal of Analytical Methods in Chemistry.** . ISSN 20908873. (2016) doi: 10.1155/2016/3968786.

OLIVEIRA, Richard Macedo DE *et al.* - Evaluation of sample preparation methods for the determination of As, Cd, Pb, and Se in rice samples by GF AAS. **Microchemical Journal.** . ISSN 0026265X. 124:2016) 402–409. doi: 10.1016/j.microc.(2015).09.018.

PASIAS, Ioannis N.; THOMAIDIS, Nikolaos S.; PIPERAKI, Efrosini A. - Determination of total

arsenic, total inorganic arsenic and inorganic arsenic species in rice and rice flour by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Microchemical Journal**. . ISSN 0026265X. 108:2013) 1–6. doi: 10.1016/j.microc.(2012).11.008.

PERKIN ELMER, SCIEX - The 30-minutes guide ICP-MS

PÉTURSDÓTTIR, Ásta H. *et al.* - Hydride generation ICP-MS as a simple method for determination of inorganic arsenic in rice for routine biomonitoring. **Analytical Methods**. . ISSN 17599679. 6:14 (2014) 5392–5396. doi: 10.1039/c4ay00423j.

PRAMANIK, Sujata; DAS, Pankaj - Metal based nanomaterials and their polymer nanocomposites. Em **Nanomaterials and polymer nanocomposites** (2019)

RASMUSSEN, Rie R.; QIAN, Yiting; SLOTH, Jens J. - SPE HG-AAS method for the determination of inorganic arsenic in rice - Results from method validation studies and a survey on rice products. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**. . ISSN 16182642. 405:24 (2013) 7851–7857. doi: 10.1007/s00216-013-6936-8.

RIBANI, Marcelo *et al.* - Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**. . ISSN 01004042. 27:5 (2004) 771–780. doi: 10.1590/S0100-40422004000500017.

RIBEIRO, Cristina - Estabelecimento de uma rotina laboratorial para análise química de sedimentos e sua aplicação a sedimentos continentais do Minho (NW Portugal): contribuição para a reconstituição paleoambiental da região. **Dissertação de Mestrado**. Universida:Portugal (2006) 182.

ROCHA, Adriano Ferreira Da - Cádmio, chumbo, mercúrio: a problemática destes metais pesados na Saúde Pública: monografia : Cadmium, lead, mercury:the issue of these metals in Public Health? (2009) 63.

ROCHA, Ana Sílvia Espinho - **Espectrometria de massa acoplada a plasma indutivo-ICP-MS : implementação e validação de um método para determinação de metais em águas para consumo humano** (2009)

RUNGE, Jhoucely *et al.* - Multi-element rice grains analysis by ICP OES and classification by processing types. **Food Chemistry**. . ISSN 18737072. 271:May 2018 (2019) 419–424. doi: 10.1016/j.foodchem.2018.07.162.

RUTTENS, A. *et al.* - Arsenic speciation in food in Belgium. Part 2: Cereals and cereal products. **Food and Chemical Toxicology**. . ISSN 18736351. 118:April (2018) 32–41. doi: 10.1016/j.fct.2018.04.040.

SANTOS, Greice - Quantificação de As inorgânico em alimentos derivados de arroz mediante geração de hidretos e espectrometria de absorção atômica. (2016).

SIGNES-PASTOR, Antonio J. *et al.* - Geographical variation in inorganic arsenic in paddy field samples and commercial rice from the Iberian Peninsula. **FOOD CHEMISTRY**. . ISSN 0308-8146. 202:2016) 356–363. doi: 10.1016/j.foodchem.(2016) 01.117.

SILVA CORDEIRO, Rui Miguel DA - Implementação , validação e controlo da qualidade da determinação de metais em águas naturais por ICP-OES. (2015) 83.

SIMÕES, Ana Catarina Pereira - Dissertação de Mestrado em Engenharia Alimentar: Avaliação da presença de arsénio em arroz e produtos derivados de arroz. (2014) 67.

SOUZA, Juliana M. O. *et al.* - Arsénio e arroz: toxicidade, metabolismo e segurança alimentar. **Química Nova**. 38:1 (2014) 118–127.

SURIYAGODA, Lalith D. B.; DITTERT, Klaus; LAMBERS, Hans - Mechanism of arsenic uptake, translocation and plant resistance to accumulate arsenic in rice grains. **Agriculture, Ecosystems and Environment**. . ISSN 01678809. 253:October 2017 (2018) 23–37. doi: 10.1016/j.agee.2017.10.017.

THERMO ELEMENTAL - ICP or ICP-MS? Which technique should I use? http://www.thermo.com/eThermo/CMA/PDFs/Articles/articlesFile_18407.pdf. (2002) 1–20.

THERMOFISHER - **Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS) Information** [Em linha] Disponível em WWW:<URL:<https://www.thermofisher.com/pt/en/home/industrial/spectroscopy-elemental-isotope-analysis/spectroscopy-elemental-isotope-analysis-learning-center/trace-elemental-analysis-tea-information/inductively-coupled-plasma-mass-spectrometry-icp-ms-information.htm>>.

TORRES-ESCRIBANO, Silvia *et al.* - Total and inorganic arsenic concentrations in rice sold in Spain, effect of cooking, and risk assessments. **Environmental Science and Technology**. . ISSN 0013936X. 42:10 (2008) 3867–3872. doi: 10.1021/es071516m.

UNION, International; CHEMISTRY, Applied - A CRITICAL SURVEY OF HYDRIDE GENERATION TECHNIQUES IN A critical survey of hydride generation techniques in atomic spectroscopy (Technical Report). 64:2 (1992) 227–244.

VERÔNICA FERREIRA LIMA; FÁBIO MERÇON - Metais Pesados no Ensino de Química.

Química Nova na Escola. 33:4 (2011) 199–205.

WALTER, Melissa; MARCHEZAN, Enio; AVILA, Luis Antonio DE - Arroz: Composição e características nutricionais. **Ciencia Rural.** . ISSN 01038478. 38:4 (2008) 1184–1192. doi: 10.1590/s0103-84782008000400049.

WHO - Exposure to Arsenic: A Major Public Health Concern. **Agriculture.** . ISSN 1090-2414. (2010) 5. doi: 10.1016/j.ecoenv.2011.12.007.