

Determinação de arsênio total e de sua especiação química em produtos à base de arroz e isentos de glúten

Determination of total arsenic and its chemical speciation in rice-based gluten-free products

RESUMO

Juliana Monteiro Bastos da Silva^{1,*} 

Alicia Sánchez Ortega^{II} 

Ramon Jose Barrio Diez-Caballero^{II} 

Josino Costa Moreira^I 

Introdução: O arsênio (As) é um elemento químico reconhecidamente carcinogênico capaz de contaminar o homem por meio das águas e dos alimentos. Dentre os alimentos, o arroz tem significativa importância devido ao seu elevado consumo e à sua capacidade de acumular As sob diversas espécies químicas, as quais determinam os seus efeitos biológicos. Por esta razão, a ingestão desse elemento é regulada nacional e internacionalmente. Como as diferentes espécies arsenicais possuem diferentes toxicidades, é importante a determinação de cada uma nos alimentos. **Objetivo:** Verificar a existência e dimensionar a significância de efeitos matriciais sobre os resultados da especiação química em amostras de produtos à base de arroz. **Método:** A concentração de As total nas 15 amostras de produtos derivados do arroz foi analisada por ICP/MS e a especiação química por HPLC-ICP/MS. **Resultados:** As concentrações de As total situaram-se entre 31,6 e 311,6 mg.kg⁻¹ e duas amostras encontravam-se acima dos limites recomendados. As espécies químicas As (II), MMA, DMA e As (V) foram determinadas e o somatório de suas concentrações produziu resultados compatíveis com os valores declarados nos materiais certificados e com a concentração de As total nos produtos de composição simples. No entanto, observou-se maior variabilidade (13% a 97%) para amostras complexas contendo fibras, carboidratos, proteínas e gorduras. **Conclusões:** A presença na formulação dos alimentos de fibras, proteínas, óleos e carboidratos, nesta ordem, impactou negativamente os resultados obtidos e confirma a necessidade de mais estudos para superar estas interferências.

PALAVRAS-CHAVE: Arsênio; Alimentos sem Glúten; Farinha de Arroz; Especiação Química do Arsênio; Concentração de Arsênio Total

ABSTRACT

Introduction: Arsenic (As) is a chemical element known to be carcinogenic and capable of contaminating humans through water and food. Among foods, rice has significant importance due to its high consumption and capacity to accumulate As under its various chemical species, which determine As biological effects. For this reason, the intake of this element is regulated nationally and internationally. As different arsenical species have different toxicities, it is important to determine each one in the food. **Objective:** This study aimed to verify the existence and measure the significance of matrix effects on the results of chemical speciation in samples of rice-based products. **Method:** The total As concentration in the 15 samples of products derived from rice were analyzed by ICP/MS and the chemical speciation by HPLC-ICP/MS. **Results:** The total As concentrations were between 31.6 and 311.6 mg kg⁻¹ and 2 samples were above the recommended limits. The chemical species As (II), MMA, DMA and As (V) were determined and the sum of their concentrations produced results compatible with the declared values in certified materials and with the total As in products with simple composition. However, greater variability (13 to 97%) was observed in samples containing proteins, fibers, carbohydrates and fats. **Conclusions:** The presence of fibers, proteins, fats and carbohydrates in the food formulation negatively impacted the results and confirms the need for further studies to overcome these interferences.

^I Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^{II} Facultad de Farmacia, Universidad del País Vasco, Álava, Espanha

* E-mail: julianabastosdasilva@ensp.fiocruz.br



INTRODUÇÃO

O arroz é um dos alimentos que possuem significativa importância na dieta básica do brasileiro. Ele contribui com 70% da energia e 50% da quantidade de proteínas que um indivíduo necessita diariamente e, por sua importância, é cultivado em mais de 100 países e em quase todos os continentes, à exceção da Antártica. Este cereal tem sido atualmente utilizado nas dietas isentas de glúten como um substituto ao trigo. No entanto, o arroz possui elevada capacidade de acumular arsênio (As) principalmente sob a forma inorgânica. Este acúmulo pode atingir concentrações de até 10 vezes maiores que outros vegetais e, eventualmente, representar um risco à saúde da população^{1,2,3}.

O As é um elemento químico bastante difundido na natureza e possui características toxicológicas variadas. Suas formas inorgânicas (As III e As V) são consideradas carcinogênicas, enquanto seus derivados orgânicos (ácido metilarsônico - MMA e dimetilarsínico - DMA) são relatados como possivelmente carcinogênicos³. É um importante contaminante ambiental e pode ser incorporado a alimentos principalmente oriundos de cultivos alagados, onde as condições ambientais maximizam sua absorção^{3,4}.

A preocupação com a ingestão de As pelo homem não é recente, e a maior parte advém do consumo de alimentos de origem marinha. Embora esses alimentos contenham elevadas concentrações de As orgânico (de 2,0 a 60,0 ng.g⁻¹ de peso seco), de baixa toxicidade, as concentrações das formas inorgânicas, mais tóxicas, variam de < 1,0 a 2,0 ng.g⁻¹ e são bastante inferiores às de alguns alimentos de origem terrestre, principalmente o arroz e seus produtos (0,1 a 0,4 mg.kg⁻¹ peso seco)^{3,4}. Acredita-se que entre 60% a 80% do As presente no arroz esteja sob a forma de As (III)⁵.

Estudos epidemiológicos sugerem que a ingestão de doses entre 0,3 e 8,0 µg/kg/dia pode aumentar em 1% o risco de câncer de pulmão, pele e bexiga^{3,6}. Sabe-se também que a exposição crônica a este elemento químico pode causar lesões na pele, neurotoxicidade, doenças cardiovasculares, diabetes, além de câncer^{6,8}.

Estima-se que as populações para as quais o arroz é um componente básico da alimentação estejam expostas a concentrações de As inorgânico em torno de 1,0 µg.kg⁻¹ de peso corpóreo/dia, para os adultos, e 0,5 e 2,7 µg.kg⁻¹ de peso corpóreo/dia^{3,7} para crianças entre 1 e 2 anos.

Em 2016, a Comunidade Econômica Europeia estabeleceu valores máximos para As inorgânico em arroz e produtos derivados de arroz. Em alimentos para crianças e infantes o valor proposto foi de 0,1 mg/kg; para biscoitos o limite foi estabelecido em 0,3 mg/kg; para o arroz não parboilizado em 0,2 mg/kg e 0,25 mg/kg⁹.

O Comitê de Contaminantes em Alimentos do *Codex Alimentarius* (Codex), em sua reunião no Rio de Janeiro em 2017, recomendou que o limite máximo de As em arroz polido deveria ser reduzido para 0,2 mg.kg⁻¹ para As inorgânico⁹.

Em estudo realizado no Brasil, os resultados obtidos na análise de 44 amostras de vários tipos de arroz provenientes de diversas regiões do país, mostraram concentrações médias de As total de 0,22 µg.g⁻¹, sendo 25% delas superiores aos limites recomendados pelo Codex. As formas inorgânicas e o DMA foram as espécies mais concentradas¹⁰.

Concentrações preocupantes de As também foram encontradas em carne de frangos. Neste caso, é importante lembrar que o Brasil é um dos principais produtores, consumidores e exportadores de frangos do mundo e que o consumo interno deste alimento é também elevado. Estudos de risco sugerem que o consumo de carne de frango contaminada por As seja responsável por um aumento de 3,7 casos de câncer na bexiga e ou pulmão por 100.000 casos de câncer nos Estados Unidos da América (EUA)¹⁰.

Os resultados destes estudos mostraram que parte da população brasileira pode estar exposta, por causa da ingestão de As, a concentrações que podem apresentar algum risco à saúde¹⁰.

No entanto, para se avaliar os riscos associados ao consumo de alimentos contaminados por um elemento químico sobre os organismos vivos, é necessário conhecer não apenas sua concentração total, mas, preferentemente, as das diversas formas químicas sob a qual este elemento se encontra. Ou seja, para se estimar com segurança eventuais riscos da exposição a um elemento tóxico sobre um organismo, é fundamental o conhecimento de suas formas químicas e respectivas concentrações: sua especiação química¹².

A importância deste tema pode ser comprovada por meio do número de artigos científicos publicados. Uma procura no *site* PubMed mostrou que, nos últimos 10 anos, 2.021 artigos foram publicados sobre o tema determinação de As em alimentos; 311 sobre determinação de As em arroz e 26 tendo como tema central a determinação do As em produtos de arroz. Substituindo-se o termo “determinação” por “especiação” estes números caem para 260 artigos em alimentos, 94 em arroz e apenas seis em produtos de arroz.

Dentre as técnicas mais utilizadas para determinação de As, aquelas que envolvem o uso de plasma têm sido as mais empregadas. Nos estudos de especiação, observa-se uma predominância da hifenação da cromatografia a líquido de alta resolução (HPLC) às técnicas de plasma, principalmente ao plasma indutivamente acoplado com um espectrômetro de massa (ICP-MS)^{13,14,15,16,17,18}.

De acordo com o Codex, até 2012 o Brasil realizava apenas a determinação de As total por ICP-MS, ou espectrometria de absorção atômica com forno de grafite, não fazendo a medida da fração de As inorgânico em seus alimentos¹⁹.

Assim, torna-se imperiosa a necessidade de se aprofundar o conhecimento sobre a especiação química do As nos alimentos disponíveis no mercado. Para isto, este trabalho objetivou avaliar a



aplicabilidade do método recomendado por Nookabkaew et al.²⁰ na análise de produtos adquiridos no mercado, avaliando potenciais interferências de outros componentes comumente presentes em alimentos à base de farinha de arroz, como fibras, gorduras e óleos. Todos os alimentos avaliados, isentos de glúten, estão disponíveis no mercado e são consumidos por grupos mais suscetíveis a esta proteína.

Espera-se, assim, conhecer as vantagens e limitações de tais procedimentos analíticos para os trabalhos de vigilância sanitária e o estabelecimento de limites seguros para a ingestão desse elemento.

MÉTODO

As amostras analisadas foram adquiridas nos mercados brasileiro e espanhol. A relação de todas as amostras e materiais de

referência certificados utilizados neste trabalho é mostrada no Quadro 1, no qual a listagem de ingredientes segue a ordem de quantidades informada pelos fabricantes.

Importante ressaltar que a amostra de bebida vegetal foi liofilizada antes das análises, utilizando-se um liofilizador Liotop (São Carlos, SP). A amostra foi acondicionada por 24 h numa temperatura inferior a -80°C e pressão inferior a 13 PA, equivalente a 0,1 mmHg, em seguida, foi acondicionada por 48 h no liofilizador.

Nas amostras sólidas, o teor de umidade foi determinado de acordo com o método descrito no Manual Análises de Materiais Biológicos da Faculdade de Engenharia Agrícola da Universidade Estadual de Campinas²¹. Para a digestão das amostras, empregou-se um forno de micro-ondas da marca *Berghof*, modelo *Speedwave 4* (Eningen, Alemanha).

Quadro 1. Relação das amostras analisadas neste estudo e seus respectivos ingredientes conforme informado pelos fabricantes.

| Amostra | Composição/ingredientes |
|---|--|
| CRM NIST 1568* | Farinha de arroz |
| CRM NIES 10 B* | Farinha de arroz integral |
| CRM NIES 10 C* | Farinha de arroz integral |
| Farinha de arroz A | Arroz |
| Cookie gotas de chocolate | Farinha de arroz integral, farinha de soja integral, proteína de soja, açúcar cristal, açúcar mascavo, óleo de soja, ovos, gotas de chocolate meio amargo, bicarbonato de sódio, bicarbonato de amônio, aroma natural de baunilha |
| Snack de soja - ervas finas | Farinha de arroz, farinha de soja integral, óleos vegetais, sal <i>light</i> , aroma natural de ervas |
| Barra de cereal | Flocos de arroz, castanha do Pará, amêndoas, uva passa, quinoa, semente de linhaça, gergelim, mel, estabilizante natural lecitina de soja, óleo de girassol, glicose de milho, antiemulcificante, bicarbonato de sódio |
| Bebida vegetal | Água, arroz italiano, óleo de girassol, óleo de cártamo, sal não iodado |
| Farinha de arroz B | Arroz |
| Farinha de arroz C | Arroz |
| Tostas crocantes | Farinha de arroz, farinha de milho, açúcar, sal |
| Tostitas de arroz | Arroz, sementes de sésamo e sal |
| Bolacha Maria | Farinha de milho, óleo vegetal (girassol alto oleico 18%), açúcar, fécula de milho, xarope de glicose e frutose de milho, farinha de arroz, farinha de soja, fibra de milho, fibra de ervilha, levedantes químicos: bicarbonatos de sódio e amônio, sal, emulsionante lecitina de soja |
| Biscoito infantil | Amido de milho (50%), gordura vegetal, açúcar mascavo de cana, farinha de arroz, farinha de soja, dextrina de milho, albumina de ovo, fécula de batata, açúcar líquido invertido, proteína de soja, ovo líquido pasteurizado, dextrose, fermentos (carbonato ácido de amônio e carbonato ácido de sódio), sal, estabilizador (sorbitol), espessante (goma guar), aroma, emulgente (lecitina de soja) |
| Cookie de chocolate | Farinha de milho, pedaços de chocolate sem açúcares 25% (pasta de cacau, edulcorantes: maltol, manteiga de cacau, emulsionante: lecitina de soja, aroma de baunilha), edulcorante maltol, fécula de milho, óleo de girassol 15%, farinha de arroz, farinha de soja, fibra vegetal, fécula de batata, levedantes químicos, bicarbonatos de sódio e amônio, sal, aromas emulsionantes: lecitina de soja |
| Bolacha parcialmente coberta de chocolate | Amido de milho (50%), cobertura de chocolate negro (30%), pasta de cacau, frutose, manteiga de cacau, cacau em pó, emulgente (lecitina de soja), óleo vegetal, açúcar mascavo de cana, farinha de arroz, farinha de soja, dextrina de milho, albumina de ovo, fécula de batata, açúcar líquido invertido, proteína de soja, ovo líquido, glicose, fermentos (carbonato ácido de amônio e carbonato ácido de sódio), sal, estabilizador (E420), espessante (E412), emulgente (lectina de soja), aroma |
| Macarrão de arroz | Farinha de arroz, emulsionante mono- e diglicerídeos de ácidos graxos |
| Spaghetti | Farinha de milho, farinha de arroz, proteína isolada de ervilha, emulsionante: mono- e diglicéridos de ácidos graxos |

Fonte: Elaborado pelos autores, 2020.

CRM: *Chemical reference material*; NIST 1568: CRM produzido pelo *National Institute of Standards and Technology* número 1568; NIES: *National Institute of Environmental Studies*.



Determinação de As total

A determinação da concentração de As total nas amostras foi feita, tanto no Brasil quanto na Espanha, conforme metodologia descrita pela *Food and Drug Administration* (FDA)²². Para isto se utilizou um ICP-MS - *Agilent Technologies*, modelo 7500ce, equipado com um nebulizador concêntrico *Micromist*, *Glass Expansion* (Melbourne Oeste, Victoria, Austrália). A tocha utilizada era do tipo Fassel, com injetor de diâmetro interno de 1,5 mm.

Especiação do As nos alimentos

Todas as amostras sólidas foram trituradas e submetidas à extração com uma solução de ácido nítrico, de acordo com Narukawa et al.¹⁴ e Huang et al.²³. O procedimento analítico aplicado encontra-se descrito em Nookabkaew et al.²⁰.

Nestas análises foi utilizado um cromatógrafo líquido de alta performance - HPLC *Agilent Technologies* (Palo Alto, CA, USA) hifenado a um espectrômetro de massa com plasma indutivamente acoplado - ICP-MS - *Agilent Technologies*. O software usado foi o ICP-MS *ChemStation System G1834B*, revisão B.03.02. Os sinais cromatográficos foram integrados empregando-se o software para cromatografia da *Agilent Technologies* (*Agilent Technologies ICP-MS Plasma Chromatographic Software*).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para se determinar o desempenho do método analítico utilizado na determinação de As total, as curvas analíticas (calibração) foram preparadas em ácido nítrico a 0,20% ou 0,02%, a partir das seguintes concentrações: 0,05; 0,10; 0,20; 0,50; 1,00; 5,00; 10,00; 50,00; 150,00; 500,00 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Foram feitas cinco replicatas de cada ponto e o tempo de medida foi de 0,3 seg. O Quadro 2 apresenta as equações das curvas obtidas.

Quadro 2. Exemplo de dados estatísticos obtidos em uma das curvas de calibração utilizadas na especificação do As nos alimentos.

| Espécie analisada | Equação da curva | R ² |
|-------------------|-------------------------|----------------|
| As (III) | $y = 91.378x + 11.812$ | 0,99866 |
| As (V) | $y = 72.258x - 9.696,5$ | 0,99604 |
| MMA | $y = 37.934x + 5.427,2$ | 0,99501 |
| DMA | $y = 50.016x + 8.923,8$ | 0,99798 |

Fonte: Elaborado pelos autores, 2020.
As: arsênio; MMA: metilarsônico; DMA: dimetilarsínico.

Quadro 3. Resultados obtidos na análise dos materiais de referência certificados.

| Materiais de referência | Concentração reportada ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) | Concentração média obtida ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) | Desvio- padrão relativo (%) | Recuperação (%) |
|-------------------------|--|---|-----------------------------|-----------------|
| NIST 1568b | 0,285 +/- 0,014 | 0,263 | 5,6 | 92,3 |
| NIES 10b | 0,110 | 0,112 | 8,0 | 101,2 |
| NIES 10c | 0,150 | 0,153 | 9,5 | 102,4 |

Fonte: Elaborado pelos autores, 2020.
NIST: *National Institute of Standards and Technology*; NIES: *National Institute of Environmental Studies*.

Nos estudos de especiação, foram preparadas curvas analíticas para cada uma das quatro formas estudadas nas concentrações: 0,1; 0,5; 1,0; 5,0; 10,0 e 20,0 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$.

O limite de quantificação (estimado em 0,100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) foi determinado experimentalmente por medidas de soluções contendo o analito em concentrações decrescentes até que sua determinação fosse obtida com exatidão aceitável. Esta concentração foi utilizada como primeiro ponto das curvas de calibração. Por se tratar de um trabalho comparativo, não houve preocupação com a determinação do limite de detecção.

A reprodutibilidade e a precisão intermediária foram avaliadas e, em todos os casos, o coeficiente de variação foi inferior a 11,0% para todas as espécies estudadas. A robustez do método foi estudada frente a diferentes condições de agitação na etapa de extração (vórtex, magnética ou manual). Para isto, alíquotas do material de referência SRM 1568b e, em todos os casos, a recuperação dos analitos situou-se entre 93,7% e 109,2%.

Garantia da qualidade dos resultados

Para garantir a qualidade dos resultados obtidos, trabalhou-se com materiais de referência do *National Institute for Environmental Studies* (NIES) 10b e 10c *rice flour* e do NIST, SRM 1568b *rice flour*, que foram analisados conjuntamente com as amostras. Os resultados são mostrados no Quadro 3.

Em todos os casos os desvios-padrão foram sistematicamente inferiores a 10,0%.

Determinação de As total

O Quadro 4 mostra os resultados obtidos na determinação do As total dos produtos avaliados.

No Brasil, estudos recentes mostraram uma concentração média de 222,8 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ de As total em arroz, onde as formas inorgânicas e o DMA foram os mais abundantes⁹. Já nos produtos derivados do arroz analisados, apenas duas amostras apresentaram resultados ligeiramente superiores ao limite recomendado pela legislação internacional (< 200 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), como pode ser observado no Quadro 4. Um desses produtos foi adquirido no mercado brasileiro (*snack* de soja - ervas finas) e outro no mercado espanhol (*tostitas* de arroz).

Especiação química do As

Os resultados finais obtidos na especificação química do As nos alimentos estudados são apresentados no Quadro 5.



Todos os resultados obtidos nas análises dos materiais de referência foram satisfatórios tanto para As total quanto na comparação desses valores com o somatório das frações avaliadas. O erro relativo cometido nas análises dos materiais de

referência, expresso pela diferença entre as concentrações das frações encontradas e as certificadas ou ainda pela diferença entre a soma destas frações e a concentração total de As certificada foi de -9,8%, se manteve constante durante as análises

Quadro 4. Resultados obtidos na determinação de As total em produtos sem glúten analisados (n = 3).

| Amostra | Concentração média e desvio-padrão/peso úmido (ng.g ⁻¹)* | Concentração média/peso seco (ng.g ⁻¹) |
|---|--|--|
| Farinha de arroz produtor A | 98,20 (3,33) | 107,55 |
| Cookie gotas de chocolate | 110,76 (28,54) | 114,11 |
| Snack de soja ervas finas | 294,47 (23,26) | 307,25 |
| Barra de cereal | 81,73 (0,86) | 92,04 |
| Bebida vegetal** | - | 143,41 (11,44) |
| Farinha de arroz produtor B | 81,57 (6,07) | 90,05 |
| Farinha de arroz produtor C | 142,48 (7,26) | 161,25 |
| Tostas crocantes | 86,38 (1,97) | 92,52 |
| Tostitas de arroz | 300,26 (8,09) | 311,60 |
| Bolacha Maria | 30,62 (2,03) | 31,61 |
| Biscoito infantil | 39,18 (0,81) | 40,81 |
| Cookie de chocolate | 35,60 (1,53) | 36,68 |
| Bolacha parcialmente coberta de chocolate | 35,67 (0,11) | 78,87 |
| Macarrão de arroz | 120,09 (4,80) | 136,06 |
| Spaghetti | 66,13 (4,22) | 75,36 |

Fonte: Elaborado pelos autores, 2020.

* As concentrações em peso seco foram calculadas a partir dos valores de peso úmido corrigidos pelos teores de umidade.

** Esta amostra não apresenta o resultado da concentração em peso úmido pois foi liofilizada antes das análises.

Quadro 5. Resultados obtidos na especiação do As nos alimentos sem glúten selecionados (média de duas determinações).

| Descrição | As (III) ng.g ⁻¹ | DMA ng.g ⁻¹ | MMA ng.g ⁻¹ | As (V) ng.g ⁻¹ | Soma ng.g ⁻¹ | % em relação ao As total |
|-------------------------------|-----------------------------|------------------------|------------------------|---------------------------|-------------------------|--------------------------|
| NIST 1568 B | 46,0 | 164,0 | 13,0 | 34,0 | 257,0 | 97,7 |
| (valores médios certificados) | - | 180 | 11,6 | - | 285 | - |
| Farinha de arroz produtor A | 21,5 | 34,0 | 2,0 | 3,0 | 60,5 | 61,6 |
| Farinha de arroz produtor B | 28,0 | 22,0 | - | 8,0 | 58,0 | 71,1 |
| Farinha de arroz produtor C | 24,5 | 48,5 | - | 4,0 | 77,0 | 54,0 |
| Cookie gotas de chocolate | 5,0 | 44,0 | 8,0 | 27,5 | 84,5 | 76,3 |
| Snack de soja - ervas finas | 6,0 | 24,0 | - | 9,0 | 39,0 | 13,2 |
| Barra de cereal | 12,5 | 26,0 | - | 12,0 | 50,5 | 61,7 |
| Bebida vegetal | 65,5 | 45,0 | - | 24,5 | 135,0 | 94,1 |
| Tostas crocantes | 28,5 | 27,0 | - | 10,5 | 76,0 | 88,0 |
| Tostitas de arroz | 42,0 | 11,0 | - | 25,0 | 78,0 | 26,0 |
| Bolacha Maria | 4,0 | 5,0 | - | 5,5 | 14,5 | 47,4 |
| Biscoito infantil | 6,5 | 8,5 | - | 5,5 | 20,5 | 51,5 |
| Cookie de chocolate | 4,0 | 7,0 | - | 10,0 | 21,0 | 59,0 |
| Bolacha coberta de chocolate | 7,0 | 10,5 | - | 6,0 | 23,5 | 66,0 |
| Macarrão de arroz | 54,0 | 46,0 | - | 8,0 | 108,0 | 90,0 |
| Spaghetti | 22,0 | 38,0 | - | 22,0 | 82,0 | 124,0 |

Fonte: Elaborado pelos autores 2020.

NIST: National Institute of Standards and Technology; MMA: ácido metilarsônico; DMA: dimetilarsínico; As: arsênio.



das amostras de farinhas adquiridas no mercado brasileiro, e os resultados dos somatórios das formas arsenicais analisadas ficaram entre 54% e 71% do valor da concentração do As total.

Comparando-se as concentrações das diferentes frações em todas as amostras de farinha de arroz analisadas, observou-se que aquelas adquiridas no mercado brasileiro mostraram um perfil com certa semelhança, mas este perfil é totalmente diferente daquele observado na farinha utilizada como referência (NIST 1568 B). Estas diferenças podem ser resultantes da variabilidade da matriz, do ambiente de cultivo, dos tipos de arroz utilizados na produção das farinhas, da existência de outras formas arsenicais não avaliadas nesse estudo e não computadas no cálculo do somatório das frações ou ainda de eventuais adulterações das amostras adquiridas. Outra possibilidade, menos provável, seria o preparo da amostra de referência por adição de concentrações conhecidas das diferentes formas arsenicais que a compõem sem que estas tenham se incorporado devidamente à matriz, ficando, portanto, mais facilmente extraíveis.

Os resultados obtidos para o somatório das frações na análise dos alimentos nos quais a farinha de arroz era o componente majoritário, considerando-se a ordem de aparecimento nos rótulos (tostas crocantes, tostitas de arroz, bebida vegetal e macarrão de arroz), com exceção da tostitas, foram comparáveis ao As total, mostrando pouca interferência dos demais constituintes.

Na análise do *spaghetti*, obteve-se um valor da soma das concentrações das frações analisadas superior ao da média do As total. No entanto, na análise desta amostra, não se conseguiu recuperar todo o volume da fase extratora adicionado, ficando uma grande parte retida na matriz. Assim, este resultado foi estimado recompondo-se o volume com a fase extratora, o que certamente interferiu no valor encontrado.

Nas análises da especiação química em produtos de formulação mais complexa, as correlações entre o somatório de todas as formas e a concentração do As total não foram boas. Uma possibilidade da ocorrência desta baixa correlação pode ter ocorrido devido à grande variabilidade de composição dos produtos que favorece a extração conjunta de outros constituintes das amostras (carboidratos, macromoléculas etc.) que podem interagir com a fase estacionária utilizada (troca iônica), prejudicando o processo cromatográfico.

De fato, alterações significativas na qualidade do extrato obtido foram observadas. Em algumas amostras, por exemplo, observou-se uma separação ineficiente entre as fases, a existência de emulsões e de turbidez etc. no final do processo de extração. Outro fator importante foi a quantidade de fase aquosa retida em algumas amostras. Em certos casos, o volume recuperado foi equivalente a 20% do volume inicialmente adicionado, ficando o restante retido na matriz.

É importante ressaltar que, como exigido nos estudos de especiação química, os extratos foram submetidos apenas a tratamentos físicos suaves, como filtração e centrifugação, para minimizar

qualquer alteração das espécies presentes, o que poderia alterar a especiação natural.

A influência de outros componentes das amostras foi avaliada através do estudo de correlação entre as quantidades de algumas classes de substâncias especificadas pelos fabricantes na composição de cada produto e os valores dos somatórios das frações de As encontrados. Este estudo foi feito para as seguintes classes de constituintes: carboidratos, proteínas, gorduras e fibras. O estudo das correlações obtidas entre estas classes de constituintes e o somatório das frações encontradas para todos os produtos avaliados não mostrou boas correlações ($R^2 = 0,009$; $0,292$; $0,181$ e $0,157$, respectivamente), mas os valores negativos das inclinações das retas obtidas ($0,97$ para carboidratos; $-41,90$ para proteínas; $-60,10$ para fibras e $-10,05$ para gorduras) indicam que estes componentes influenciam o valor da concentração do As com intensidades diferentes, mas sempre numa relação inversa: o aumento da concentração dos componentes diminui a concentração de As observada. A conjugação dessas interferências pode ser uma explicação para os resultados obtidos no estudo da especiação para as tostitas de arroz, um dos alimentos de composição mais simples avaliados e cujos resultados foram considerados insatisfatórios. Este alimento continha sementes de sésamo, que têm em sua composição cerca de 50%-52% de óleo, 17%-19% de proteínas e 16%-18% de carboidratos²³.

CONCLUSÕES

O método utilizado (HPLC/ICP-MS) mostrou-se adequado para a determinação de As total em farinha de arroz e seus derivados e apresentou desempenho satisfatório em todos os critérios de qualidade avaliados.

A concentração de As total na grande maioria das amostras analisadas (exceto em duas) esteve abaixo do valor máximo recomendado tanto pelo Codex quanto pela legislação brasileira pertinente ($\leq 300 \text{ ng.g}^{-1}$). Isto sugere que não há maiores riscos à saúde associados ao seu consumo, mas demonstra também que há a necessidade de um acompanhamento da Vigilância Sanitária²⁵.

Os resultados obtidos mostraram que a especiação química do As em farinhas de arroz comercializadas variou de 54% a 71%, sugerindo interferência, o que não foi detectado na análise dos materiais de referência quando se comparou a concentração do As total e o somatório das frações encontradas. Alguns produtos de composição simples, cujo o arroz era o principal constituinte, produziram resultados consistentes. No entanto, a grande variabilidade da composição dos produtos analisados não permitiu inferências quanto a possíveis constituintes interferentes. No entanto, proteínas e gorduras foram os constituintes que mais impactaram negativamente os resultados obtidos na especiação.

Outras amostras produziram resultados discrepantes principalmente quando se observou alterações no extrato final, mostrando que o tratamento realizado não foi suficiente para eliminar interferências matriciais, indicando, assim, a necessidade de mais estudos para esta finalidade.



REFERÊNCIAS

1. Food and Agriculture Organization of the United Nations - FAO. Water policies and agriculture. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations; 1993.
2. Potera C. Food safety: US rice serves up arsenic. *Environ Health Perspect.* 2007;115(6):1-4. <https://doi.org/10.1289/ehp.115-a296>
3. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain - CONTAM. Scientific opinion on arsenic in food. *EFSA J.* 2009;7(10):1-199. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2009.1351>
4. Schoof RA, Yost LJ, Eickhoff J, Crecelius EA, Cragin DW, Meacher DM et al. A market basket survey of inorganic arsenic in food. *Food Chem Toxicol.* 1999;37(8):839-46. [https://doi.org/10.1016/S0278-6915\(99\)00073-3](https://doi.org/10.1016/S0278-6915(99)00073-3)
5. Guillod-Magnin R, Brüscheweiler BJ, Aubert R, Haldimann M. Arsenic species in rice and rice-based products consumed by toddlers in Switzerland. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess.* 2018;35(6):1164-78. <https://doi.org/10.1080/19440049.2018.1440641>
6. Gundert-Remy U, Damm G, Foth H, Freyberger A, Gebel T, Golka K et al. High exposure to inorganic arsenic by food: the need for risk reduction. *Arch Toxicol.* 2015;89(12):2219-27. <https://doi.org/10.1007/s00204-015-1627-1>
7. Mantha M, Yearly E, Trent J, Creed PA, Kubachka K, Hanley T et al. Estimating inorganic arsenic exposure from U.S. rice and total water intakes. *Environ Health Perspect.* 2017;125(5):1-10. <https://doi.org/10.1289/EHP418>
8. Davis MA, Signes-Pastor AJ, Argos M, Slaughter F, Pendergrast C, Punshon T et al. Assessment of human dietary exposure to arsenic through rice. *Sci Total Environ.* 2017;586:1237-44. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.02.119>
9. European Commission. Amending regulation N° 1.881, June 25, 2005. As regards maximum levels of inorganic arsenic in foodstuffs. *Official Journal Europe Commission.* 26 jun 2015.
10. Batista BL, Souza JMO, Souza SS, Barbosa Jr F. Speciation of arsenic in rice and estimation of daily intake of different arsenic species by Brazilians through rice consumption. *J Hazard Mater.* 2011;191(1-3):342-8. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.04.087>
11. Jackson BP, Taylor VF, Karagas MR, Punshon T, Cottingham KL. Arsenic, organic foods, and brown rice syrup. *Environ Health Perspect.* 2012;120(5):623-6. <https://doi.org/10.1289/ehp.1104619>
12. Templeton DM, Ariese F, Cornelis R, Danielsson LG, Muntau H, Leeuwen HPV et al. Guidelines for terms related to chemical speciation and fractionation of elements: definitions, structural aspects, and methodological approaches. *Pure Appl Chem.* 2000;72(8):1453-70. <https://doi.org/10.1351/pac200072081453>
13. Barra CM, Santelli RE, Abrão JJ, Guardia M. Especificação de arsênio: uma revisão. *Quim Nova.* 2000;23(1):58-70. <https://doi.org/10.1590/S0100-4042200000100012>
14. Narukawa T, Inagaki K, Kuroiwa T, Chiba K. The extraction and speciation of arsenic in rice flour by HPLC-ICP-MS. *Talanta.* 2008;77(1):427-32. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2008.07.005>
15. Sanz E, Muñoz-Olivas R, Cámara C. Evaluation of a focused sonication probe for arsenic speciation in environmental and biological samples. *J Chromatogr A.* 2005;1097(1-2):1-8. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2005.08.012>
16. Tyson J. The determination of arsenic compounds: a critical review. *Int Schol Res Not.* 2013;2013:1-24. <https://doi.org/10.1155/2013/835371>
17. Llorente-Mirandes T, Calderón J, Centrich F, Rubio R, López-Sánchez JF. A need for determination of arsenic species at low levels in cereal-based food and infant cereals: validation of a method by IC-ICPMS. *Food Chem.* 2014;147:377-85. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.09.138>
18. Calle MB, Emteborg H, Linsinger TPJ, Montoro R, Sloth JJ, Rubio R et al. Does the determination of inorganic arsenic in rice depend on the method? *Trends Anal Chem.* 2011;30(4):641-51. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2010.11.015>
19. Wu Y. Proposed draft maximum levels for arsenic in rice. In: 6th session Codex Committee on Contaminants in Foods; Maastricht, The Netherlands. Geneva: Joint FAO/WHO Food Standards; 2012 [acesso 23 mar 2020]. Disponível em: <http://rgdoi.net/10.13140/RG.2.1.3879.0884>
20. Nookabkaew S, Rangkadilok N, Mahidol C, Promsuk G, Satayavivad J. Determination of arsenic species in rice from Thailand and other Asian countries using simple extraction and HPLC-ICP-MS analysis. *J Agric Food Chem.* 2013;61(28):6991-8. <https://doi.org/10.1021/jf4014873>
21. Universidade Estadual de Campinas - Unicamp. Manual de análise de material biológico. Campinas: Universidade Estadual de Campinas; 2006 [acesso 28 jan 2014]. Disponível em: http://www.feagri.unicamp.br/ctea/manuais/analise_matbiologico.pdf
22. Gray PJ, Mindak WR, Cheng J. Inductively coupled plasma-mass spectrometric determination of arsenic, cadmium, chromium, lead, mercury, and other elements in food using microwave assisted digestion. In: US Food and Drugs Administration - FDA. Elemental analysis manual for food and related products. Silver Spring: US Food and Drugs Administration; 2020.



23. Huang JH, Fecher P, Ilgen G, Hu KN, Yang J. Speciation of arsenite and arsenate in rice grain: verification of nitric acid based extraction method and mass sample survey. *Food Chem.* 2012;130(2):453-9. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.07.059>
24. Tunde-Akintunde TY, Akintunde BO, Oke MO. Sesame seed. In: Akpan UG, editor. *Oilseeds.* London: IntechOpen; 2012[acesso 23 mar 2020]. Disponível em: <http://www.intechopen.com/books/oilseeds/sesameseed>
25. Silva JMB, Barrio RJ, Moreira JC. Arsênico: saúde: uma relação que exige vigilância. *Vigil Sanit Debate.* 2014;2(1):57-63. <https://doi.org/10.3395/vd.v2i1.130>

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Laboratório de Absorção Atômica (LaAtom) da Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC-RJ) pelo apoio nas análises de As total e ao Laboratório de Desenvolvimento Analítico da Universidade Federal do Rio de Janeiro (LaDA-UFRJ), aqui representado pelo Prof. Dr. Ricardo Erthal Santelli, pelo apoio na determinação do teor de umidade das amostras.

Contribuição dos Autores

Silva JMB, Ortega AS, Diez-Caballero RJB, Moreira JC - Concepção, planejamento (desenho do estudo), aquisição, análise, interpretação dos dados e redação do trabalho. Todos os autores aprovaram a versão final do trabalho.

Conflito de Interesse

Os autores informam não haver qualquer potencial conflito de interesse com pares e instituições, políticos ou financeiros deste estudo.



Licença CC BY-NC atribuição não comercial. Com essa licença é permitido acessar, baixar (download), copiar, imprimir, compartilhar, reutilizar e distribuir os artigos, desde que para uso não comercial e com a citação da fonte, conferindo os devidos créditos de autoria e menção à *Visa em Debate*. Nesses casos, nenhuma permissão é necessária por parte dos autores ou dos editores.