



UNIVERSIDAD  
DE LA REPÚBLICA  
URUGUAY

**Estudio de la relación del contenido de arsénico en arroz,  
suelo y agua de riego: evidencia de campo, desarrollo y  
validación de métodos analíticos.**

Licenciada Delia Roxana Machado Texeira

**Tesis de Maestría**

Presentada como uno de los requisitos para el título de

**Maestría en Química**

Programa de Posgrado en Química de la Facultad de Química

Universidad de la República

Programa de Desarrollo de Ciencias Básicas Área Química

Junio 2025

**Estudio de la relación del contenido de arsénico en arroz,  
suelo y agua de riego: evidencia de campo, desarrollo y  
validación de métodos analíticos.**

**Tribunal:**

Dra. Livia Arizaga

Dra. Valery Bühl

Dr. Claudio García

Nombre de director, Director

Nombre de director, Director

Nombre de director, Director

**Estudio de la relación del contenido de arsénico en arroz,  
suelo y agua de riego: evidencia de campo, desarrollo y  
validación de métodos analíticos.**

Licenciada Delia Roxana Machado Texeira

Programa de Posgrado en Química de la Facultad de Química

Universidad de la República

Año 2025

**Directoras de Tesis**

Dra. Elena M. Alvareda. - Departamento del Agua del CENUR Litoral Norte, Udelar  
Salto.

Dra. Gianella Facchin. - Á. Química Inorgánica, DEC, Facultad de Química – Udelar.

**Directora académica**

Dra. Gianella Facchin.

# Tabla de contenido

<b>Dedicatoria</b>	vii
<b>Agradecimientos</b>	viii
<b>Resumen</b>	ix
<b>Abstract</b>	xi
<b>Índice de Figuras</b>	xiii
<b>Índice de Tablas</b>	xvii
<b>Lista de abreviaturas</b>	xix
<b>CAPITULO I - Introducción</b>	1
1.1 Fundamentación	2
1.2 Objetivos de este trabajo	3
1.2.1 Objetivo general	3
1.2.2 Objetivos específicos	3
1.3 Marco Teórico	4
BIBLIOGRAFÍA	31
<b>CAPITULO II - Marco teórico</b>	40
2.1 Sitios de estudio.	41
2.1.1 Junco.	46
2.1.2 Santa Margarita.	47
2.2 Diseño experimental y procedimientos de análisis.	47
2.3 Parámetros fisicoquímicos y químicos analizados.	50
2.3.1 Matriz agua.	50
2.3.2 Matriz suelo.	57
2.3.3 Matriz vegetal.	60
2.3.3.1 Raíz de la planta de arroz.	62
2.3.4 Grano de arroz.	62
BIBLIOGRAFÍA	64
<b>CAPITULO III – Desarrollo y validación de metodologías analíticas en</b>	
<b>Espectroscopia de Absorción Atómica de llama y Generación de Hidruros .</b>	66
3.1 Determinación de arsénico en grano de arroz y suelo por Espectrometría de absorción Atómica de llama con Generación de Hidruros. Desarrollo y validación del Método.	67
3.1.1 Reactivos e instrumentación.	67
3.1.1.2 Método.	71
3.1.1.3 Optimización de las condiciones de extracción del arsénico en arroz y suelo.	72
3.1.1.4 Resultados y discusión del desarrollo y optimización del método de extracción del arsénico en arroz.	77
3.1.2 Validación del método para la determinación del arsénico en arroz y suelo.	78
3.1.2.2 Resultados y discusión de la validación del método de extracción del Arsénico en arroz.	78
3.1.2.3 Conclusiones parciales y perspectivas.	79

3.2 Hierro en agua por Espectroscopía de absorción atómica de llama.	79
3.2.1 Reactivos e instrumentación.	79
3.2.1.1 Materiales y reactivos.	80
3.2.1.2 Método.	82
3.2.1.3 Optimización de las condiciones de digestión y preconcentración del hierro en agua.	82
3.2.1.4 Resultados y discusión del desarrollo y optimización del método de Concentración del hierro en agua.	84
3.2.2 Validación del método para la determinación de hierro en agua mediante AAS.	84
3.2.2.2 Resultados y discusión.	85
3.2.2.3 Conclusiones parciales y perspectivas.	85
3.3 Hierro en suelo y raíz de planta por Espectroscopía de absorción atómica de llama.	
Desarrollo y validación del método.	86
3.3.1 Reactivos e instrumentación.	86
3.3.1.2 Método.	87
3.3.1.3 Optimización de las condiciones de extracción del hierro en raíz y suelo.	87
3.3.1.4 Resultados y discusión del desarrollo y optimización del método de Extracción del hierro en suelo y raíz.	89
3.3.2 Validación del método para la determinación de hierro en raíz y en raíz con suelo mediante AAS.	89
3.3.2.2 Resultados y discusión.	90
3.3.2.3 Conclusiones y perspectivas.	90
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	91
<b>CAPITULO IV – Resultados y Discusión</b>	93
4.1 Resultados de parámetros monitoreados en agua de riego e inundación y agua del suelo.	94
4.1.1 Agua de riego.	94
4.1.2 Agua de inundación.	104
4.1.3 Agua de la solución de suelo.	109
4.1.4 Resultados de iones en agua de riego y agua del suelo.	115
4.2 Análisis de muestras de suelo y estudio de algunas propiedades edáficas.	120
4.3 Discusión de los resultados de As total y de Fe total en agua, suelo y arroz.	129
4.3.1 Análisis de resultados de los niveles de As y Fe totales en las muestras de agua de Riego y de la solución de suelo.	129
4.3.2 Análisis de resultados de los niveles de As total en las muestras de suelo.	130
4.3.3 Análisis de resultados de los niveles de As total en las muestras de arroz.	134
4.3.4 Análisis de resultados de los niveles de Fe total en las muestras de raíz y raíz con suelo.	135
4.4 Estudio de relaciones entre los parámetros estudiados, tendientes a encontrar las principales causas del contenido de As en grano de arroz.	140
4.4.1 Implicancias de las aguas para riego como fuente de As para los cultivos de arroz.	140
4.4.2 Correlación entre parámetros estudiados y el contenido de As total en la solución del suelo.	140

4.4.3 Variación de los parámetros estudiados y el contenido de As total durante el Desarrollo del cultivo de arroz.	141
4.5 Determinar las especies del As de mayor estabilidad en dichas condiciones y las Interacciones químicas relevantes.	145
4.6 Estrategias para disminuir la absorción de As por las plantaciones de arroz.	148
BIBLIOGRAFÍA	152
<b>CAPITULO V – Conclusiones y perspectivas</b>	165
5.1 Conclusiones	166
5.2 perspectivas	168
5.2.1 perspectivas para futuras investigaciones	168
BIBLIOGRAFÍA	171
<b>ANEXOS</b>	

## **Dedicatoria**

Esta tesis está dedicada a todas las personas que de alguna u otra forma colaboraron para su realización siendo fuente de inspiración para seguir avanzando en mi crecimiento profesional y en la búsqueda personal de perseguir mis objetivos y sueños.

## **Agradecimientos**

Quisiera agradecer a la Facultad de Química por brindarme la posibilidad de ingresar a su programa de posgrados contribuyendo a mi desarrollo profesional y académico.

A la Comisión Sectorial de Investigación Científica por financiar el proyecto del cual este trabajo forma parte y a PEDECIBA Química por la beca adjudicada.

Al laboratorio de Agua del CENUR Litoral Norte Salto por brindarme las instalaciones para realizar mi trabajo de tesis poniendo a disposición sus equipamientos.

A mis tutoras Dra. Elena Alvareda Migliaro y Dra. Gianella Facchin por guiarme a través de todo este proceso, brindándome apoyo y confianza continuamente.

Al establecimiento El Junco por permitirme realizar la parte experimental de campo en sus predios y muy especialmente al Ing. Agr. Bernardo Böcking por ser el nexo para ello.

Al Ing. Agr. Álvaro Otero ex funcionario de INIA Salto Grande por el soporte técnico y orientación agronómica.

A mis compañeros, Fernando Jorge y Wilson Cardozo por acompañarme en varias y largas jornadas de trabajo en el campo ayudándome en la recolección de muestras.

Al Ing. Agr. Rafael Grasso del laboratorio de suelos de INIA Salto Grande por prestarme equipamiento necesario para la recolección de muestras de solución de suelo.

Al Ing. Agr. Fernando Pérez de Vida y a la Estación Experimental de INIA Treinta y Tres, por contribuir con el descascarillado y pulido de las muestras de arroz.

Al Prof. Gabriel Antonio Campo Daza, Msc del Departamento de Ingeniería Ambiental Universidad de Córdoba Montería-Colombia por la guía en los análisis estadísticos.

Al Lic. Andrés Saracho por colaboración en diseño de figura de los sitios de estudio.

A la Lic. Sofía Da Rocha por la colaboración en la preparación de materiales en el laboratorio de Agua del CENUR Litoral Norte Salto.

Finalmente, agradecer a mi familia por su apoyo y amor incondicional, y por darme fuerzas para seguir superándome cada día.

## Resumen

El alto contenido de arsénico en la dieta es una problemática a nivel mundial, debido a su conocida toxicidad. El arroz, es un alimento que puede presentar altos contenidos de arsénico, ya que su planta lo puede absorber, haciendo necesario realizar estudios que nos permitan conocer si es un producto que cumpla con la inocuidad alimentaria.

A nivel país, algunos proyectos han estudiado diversos factores que influyen en la dinámica de absorción del arsénico por la planta de arroz, realizando experimentos de manejo a nivel de campo experimental, invernáculo e incluso simulaciones en laboratorio.

No obstante, ante la falta de información y estudios de referencia a nivel de campo productivo en el Norte del país, es que, la presente tesis buscó adquirir información que nos permitiera conocer mejor dichas influencias o interrelaciones.

El principal objetivo de este estudio fue determinar los niveles de arsénico (As) en arroz y su posible origen, con la intención de diseñar estrategias que reduzcan la bioacumulación de este elemento en los cultivos de arroz en el norte del país. Se contribuyó a la expansión de la plataforma analítica del Laboratorio de Aguas y Suelo del Centro Universitario Regional del Litoral Norte (CENUR LN), mediante la incorporación de técnicas como la espectrometría de absorción atómica con generación de hidruros (HG-AAS) para medir arsénico total en arroz y suelo, y espectrometría de absorción atómica (AAS) para determinar hierro (Fe) en material vegetal y suelo. Estas metodologías validadas permitirán brindar asesoramiento a productores sobre los niveles de arsénico en sus cultivos, promoviendo prácticas agrícolas más seguras.

El estudio abordó la exposición al arsénico a través del consumo de arroz cultivado en los sitios estudiados. Los resultados indicaron que los niveles de arsénico en los granos de arroz estaban por debajo de los límites establecidos por la Unión Europea,  $0,15 \text{ mgkg}^{-1}$  (FAO, OMS, CODEX ALIMENTARIUS., 2019), lo que confirma que el consumo de arroz de estas áreas no representa un riesgo para la salud humana. Sin embargo, se identificaron concentraciones elevadas de arsénico en los suelos, aunque sin superar el umbral crítico de  $20 \text{ mgkg}^{-1}$  (FAO., Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). Se observó que el arsénico en el suelo podría ser la fuente principal de este elemento en el arroz, sugiriendo la necesidad de su monitoreo y eventual desarrollo de estrategias de manejo que reduzcan su disponibilidad para las plantas.

Los análisis de agua superficial de riego revelaron que los niveles de arsénico estaban por debajo de los límites permitidos según el Decreto 253/79, clase 2A vigente en Uruguay y que Establece un conjunto de requisitos que debe cumplir el agua para riego que indica para el As un valor máximo permitido  $0,05 \text{ mgL}^{-1}$ , lo que indica que esta no es una fuente significativa de arsénico para los cultivos. En cuanto al análisis de la solución del suelo (agua contenida en los poros del suelo y en contacto con las raíces de las plantas), se encontró que las concentraciones de arsénico total varían, con un valor promedio de  $8 \text{ mgkg}^{-1}$ , lo que está por encima de los niveles típicos de la región, lo que sugiere que el arsénico proviene principalmente del suelo. Además, los parámetros fisicoquímicos del agua y el suelo, como pH, turbidez, oxígeno disuelto y conductividad eléctrica, mostraron variaciones relacionadas con las prácticas agrícolas y los procesos biogeoquímicos.

El análisis de los suelos mostró que, aunque su composición favorece la retención de arsénico debido a su alto contenido de óxidos de hierro, manganeso y aluminio, las concentraciones de arsénico no superaron niveles críticos. Además, se identificó una correlación negativa entre el arsénico en la solución del suelo y la conductividad eléctrica.

Este estudio resalta la importancia de monitorear de manera constante los niveles de arsénico en el suelo para evitar su acumulación excesiva en los granos de arroz. A pesar de que el arroz estudiado en el marco de esta tesis no presenta niveles peligrosos de arsénico para la salud humana, se recomienda monitorear su contenido, así como implementar prácticas de manejo adecuadas para garantizar la seguridad alimentaria y cumplir con las normativas ambientales. Los avances en las metodologías analíticas permitirán ofrecer asesoramientos más precisos, promoviendo prácticas agrícolas responsables.

## Abstract

The high arsenic content in the diet is a global problem due to its known toxicity. Rice is a food that can present high levels of arsenic, as the rice plant can absorb it, making it necessary to conduct studies to determine whether it is a safe food product.

At the national level, several projects have studied various factors that influence the dynamics of arsenic absorption by the rice plant, conducting management experiments at the experimental field, greenhouse, and even laboratory simulations.

However, given the lack of information and reference studies at the production field level in the north of the country, this thesis sought to acquire information that would allow us to better understand these influences or interrelationships.

The main objective of this study was to determine the levels of arsenic (As) in rice and its possible origin, with the intention of designing strategies to reduce the bioaccumulation of this element in rice crops in the north of the country. The study contributed to the expansion of the analytical platform of the Water and Soil Laboratory of the Regional University Center of the Northern Coast (CENUR LN) by incorporating techniques such as hydride generation atomic absorption spectrometry (HG-AAS) to measure total arsenic in rice and soil, and atomic absorption spectrometry (AAS) to determine iron (Fe) in plant material and soil. This validated methodology will allow advice producers on arsenic levels in their crops, with the aim to promoting safer agricultural practices.

The study addressed arsenic exposure through the consumption of rice grown at the studied sites. The results indicated that arsenic levels in rice grains were below the limits established by the European Union, 0.15 mgkg<sup>-1</sup> (FAO, WHO, CODEX ALIMENTARIUS, 2019), confirming that the consumption of rice from these areas does not pose a risk to human health. However, elevated concentrations of arsenic were identified in the soils, although without exceeding the critical threshold of 20 mgkg<sup>-1</sup> (FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations). It was concluded that arsenic in the soil could be the main source of this element in rice, suggesting the need of monitoring its levels and of management strategies that reduce its availability to plants.

Irrigation water analyses revealed that arsenic levels were below permissible limits, according to Decree 253/79, class 2A in force in Uruguay and which establishes a set of requirements that irrigation water must meet, indicating a maximum permitted value of

0.05 mgL<sup>-1</sup> for As, indicating that this is not a significant source of arsenic for crops.

Regarding the analysis of the soil solution, total arsenic concentrations were found to vary, with an average value of 8 mgkg<sup>-1</sup>, which is above typical levels for the region, suggesting that arsenic originates primarily from the soil. Furthermore, physicochemical parameters of water and soil, such as pH, turbidity, dissolved oxygen, and electrical conductivity, showed variations related to agricultural practices and biogeochemical processes. Soil analysis showed that, although their composition favors arsenic retention due to their high content of iron, manganese, and aluminum oxides, arsenic concentrations did not exceed critical levels. Furthermore, a negative correlation was identified between arsenic in the soil solution and electrical conductivity.

This study highlights the importance of constantly monitoring arsenic levels in soil to prevent excessive accumulation of this contaminant in rice grains. Although rice does not present dangerous levels of arsenic for human health, appropriate management practices are recommended to ensure food safety and comply with environmental regulations. Advances in analytical methodologies will allow for more accurate assessments, promoting responsible agricultural practices.

# Índice de Figuras

- Figura 1.1** Historia del arroz en Uruguay (esquema de elaboración propia a partir de datos obtenidos de GBPA 2018).
- Figura 1.2.** Mapa de Uruguay mostrando las áreas arroceras y variedades, zafra 2016-2017 (Extraído de GBPA 2018).
- Figura 1.3.** Fases y evolución del cultivo de arroz. Adaptada del manual de buenas prácticas agrícolas en el cultivo de arroz en Uruguay, ACA., 2018.
- Figura 1.4.** Foto de las 3 variedades estudiadas en los predios.
- Figura 1.5.** Triángulo de composición textural según USDA.
- Figura 1.6.** Esquema de la dinámica del fósforo en el suelo. Extraída de las Jornadas Cierre PROINSA 23 noviembre 2012. Facultad Ciencias Agropecuarias-UNER.
- Figura 1.7.** Entrada y distribución del arsénico en la planta de arroz. LMP según las matrices evaluadas Imagen adaptada de Poster INIA Quilamapu. 03-2022.
- Figura 1.8.** Esquema de los componentes dentro del espectrómetro de absorción atómica.
- Figura 2.1.** Mapa del departamento de Salto donde en color azul se referencian los 3 sitios de muestreo.
- Figura 2.2.** Ubicación de los sitios de muestreo, en color azul se referencian los 4 lisímetros instalados en Junco 1.
- Figura 2.3.** Ubicación de los sitios de muestreo, en color azul se referencian los 4 lisímetros instalados en Junco 2.
- Figura 2.4.** Ubicación de los sitios de muestreo, en color azul se referencian los 4 lisímetros instalados en Santa Margarita.
- Figura 2.5.** Imagen de uno de los lisímetros instalados en el campo durante todo el periodo 2021-2022.
- Figura 2.6.** Ubicación del establecimiento El Junco. Imagen de la planta industrial. Foto obtenida del portal INIA.
- Figura 2.7.** Vista aérea de parte del establecimiento donde se observa un cultivo de arroz con sus respectivos canales de riego. Imagen extraída de presentación

“Mejoras en el riego de arroz en pro del aumento en la disponibilidad de agua para otros cultivos” INIA 33, Agro en foco, 2014.

**Figura 2.8.** Foto de equipos de medición de pH, ORP y Conductividad del agua superficial en el campo.

**Figura 2.9.** Curva de calibración para la determinación de P total en agua.

**Figura 2.10.** Cromatógrafo THERMO DIONEX AQUION.

**Figura 2.11.** Curva de calibración método P. Bray I para determinar P lábil en suelo.

**Figura 2.12.** Cosecha, separación de los granos de arroz para su posterior descascarillado y pulido. La variedad de arroz que se observa es GURÍ.

**Figura 3.1** Espectrómetro de absorción atómica Perkin Elmer PinAAcle 900 AA (imagen derecha); módulo de flujo continuo para generación de hidruros FIAS 100(imagen izquierda).

**Figura 3.2** Esquema de la lampara de descarga sin electrodos (EDL). Imagen adaptada de Analytical Methods for Atomic Absorption Spectroscopy Perkin Elmer (1996).

**Figura 3.3** Diagrama del sistema en flujo del módulo FIAS 100 (Imagen extraída de: <https://ars.els-cdn.com/content/image/1-s2.0-S0026265X16304428-gr1.jpg>).

**Figura 3.4** Imagen del reactor y separador gas-liquido del FIAS 100 utilizado.

**Figura 3.5** Imágenes de la celda T de Quarzo.

**Figura 3.6** Esquema de una lámpara de cátodo hueco como la empleada para la determinación de Fe mediante AAS. Imagen adaptada de: Analytical Methods for Atomic Absorption Spectroscopy Perkin Elmer (1996).

**Figura 4.1.** Ubicación de los tajamares y los predios de estudio.

**Figura 4.2.** Diagramas de Stiff para el agua de riego para cada uno de los sitios estudiados.

**Figura 4.3.** Diagrama de Piper para el agua de riego (fuente) para cada uno de los sitios estudiados.

**Figura 4.4.** Hidrólisis de urea y la fijación de nitrógeno. Imagen adaptada de Kuypers et al.,2018.

**Figura 4.5.** Lámina de agua en el cultivo en el predio Santa Margarita.

**Figura 4.6.** Evolución en el tiempo del contenido de tAs ( $\mu\text{gL}^{-1}$ ) en agua obtenida de los succionadores para cada sitio de muestreo. J1: Junco 1, J2: Junco 2, SM: Santa Margarita.

**Figura 4.7.** Formas en las que se presenta el P en el suelo. Imagen modificada de Vargas et al.,1992.

**Figura 4.8.** Clasificación textural de los sitios. Referencias: J1 azul, J2 blanco y S.M verde. Imagen modificada de <http://www.edafologia.net/introeda/tema04/text.htm>.

**Figura 4.9.** Evolución en el tiempo del As total ( $\text{mg Kg}^{-1}$ ) en suelo para cada sitio de muestreo. J1: Junco 1, J2: Junco2 (ejemplo de línea de tendencia) y SM: Santa Margarita.

**Figura 4.10.** Esquema de la influencia de la pérdida radial de oxígeno y la formación de placa de hierro en la superficie de la raíz del arroz y la absorción de arsénico por las raíces. Imagen adaptada de Awasthi., 2017.

**Figura 4.11.** Evolución en el tiempo del tFe ( $\text{gkg}^{-1}$ ) en raíz para cada sitio de muestreo.

**Figura 4.12.** Evolución en el tiempo del tFe ( $\text{gkg}^{-1}$ ) en raíz + suelo para cada sitio de muestreo.

**Figura 4.13.** Correlación entre el contenido de tAs y la C.E para las muestras del agua del suelo.

**Figura 4.14.** Variación del pH en las distintas aguas en relación con la fecha y el desarrollo del cultivo.

**Figura 4.15.** Variación del ORP en las distintas aguas en relación con el desarrollo del cultivo.

**Figura 4.16.** Variación del tAs en el agua de riego y de la solución de suelo en relación con el desarrollo del cultivo.

**Figura 4.17.** Diagrama de Pourbaix de As adaptado de Marinho et al., 2019 para los 3

sitios estudiados.

**Figura 4.18.** Diagrama de Pourbaix para Fe de los 3 sitios estudiados. Adaptado de Wikipedia, 2019.

# Índice de Tablas

- Tabla 1.1.** Resumen de los parámetros indicadores de la calidad para el agua clase 2a.
- Tabla 1.2.** Límite Máximo Permitido (LMP) de As en arroz establecidos por el MERCOSUR RES.N°20/19.
- Tabla 2.1.** Principales fechas y datos del cultivo y manejo del riego para los 3 sitios en la zafra 2021-2022.
- Tabla 2.2.** Resumen de las aplicaciones realizadas para el control de malezas en los tres sitios durante el ciclo de cultivo 2021-2022.
- Tabla 2.3.** Resumen de las aplicaciones realizadas con avión para el control de plagas en los tres sitios durante el ciclo de cultivo 2021-2022.
- Tabla 2.4.** Número de muestras, matriz y cronología respecto a la evolución del cultivo.
- Tabla 2.5.** Resumen de los parámetros químicos y fisicoquímicos en agua determinados en Laboratorio Agua y Suelo del CENUR sede Salto y sus métodos de referencia.
- Tabla 2.6.** Resultados de las cifras de mérito de las características de desempeño analizadas para la validación de la determinación de As total en agua por *HG-AAS*.
- Tabla 2.7.** Columnas, estándares, solventes y condiciones operativas utilizadas para la determinación de los iones por cromatografía iónica.
- Tabla 2.8.** Soluciones de estándar en  $\text{mgL}^{-1}$  para la curva de calibración de cationes.
- Tabla 2.9.** Soluciones de estándar en  $\text{mgL}^{-1}$  para la curva de calibración de aniones.
- Tabla 2.10.** Parámetros químicos y fisicoquímicos en suelo determinados en Laboratorio de Agua y Suelo del CENUR sede Salto y sus métodos de referencia.
- Tabla 2.11.** Parámetros químicos y fisicoquímicos en raíz y raíz con suelo determinados en Laboratorio Agua y Suelo del CENUR sede Salto y sus métodos de referencia.
- Tabla 2.12.** Características del estándar interno.
- Tabla 3.1.** Diseño del experimento de 3 niveles y 3 variables utilizado.
- Tabla 3.2.** Resultados obtenidos de los experimentos de extracción para las muestras de arroz pulido.
- Tabla 3.3.** Resultados obtenidos de los experimentos de extracción para las muestras de

suelo.

**Tabla 3.4.** Características de desempeño para la determinación de As en arroz y en suelo por *HG-AAS*.

**Tabla 3.5.** Resultados obtenidos de los experimentos de extracción y preconcentración.

**Tabla 3.6.** Características de desempeño para la determinación de Fe total en agua por *FAAS*.

**Tabla 3.7.** Características de desempeño para la determinación de Fe total en raíz y en raíz con suelo por *FAAS*.

**Tabla 4.1.** Parámetros fisicoquímicos registrados en el agua de riego, *in situ* en cada sitio de muestreo.

**Tabla 4.2.** Parámetros fisicoquímicos registrados en el agua de inundación determinados *in situ* en cada sitio de muestreo.

**Tabla 4.3.** Parámetros fisicoquímicos registrados en agua del suelo obtenida a partir de succionadores, *in situ* en cada sitio de muestreo.

**Tabla 4.4.** Iones en el agua de riego y en el agua del suelo.

**Tabla 4.5.** Parámetros fisicoquímicos registrados en suelos de cada sitio de muestreo.

**Tabla 4.6.** Contenido de tAs y de tFe en agua.

**Tabla 4.7.** Contenido de tAs en suelo. Las muestras son compuestas a partir de muestras de los 4 cuadrantes (Norte, Sur, Este y Oeste) de suelo.

**Tabla 4.8.** Contenido de tAs en arroz pulido para los 3 sitios estudiados.

**Tabla 4.9.** Contenido de tFe en muestras compuestas de raíz de planta de arroz.

**Tabla 4.10.** Contenido de tFe en muestras de raíz + suelo de planta de arroz.

**Tabla 4.11.** Contenido de Fe total en muestras compuestas de raíz de planta de arroz.

**Tabla 4.12.** Contenido de Fe total en muestras de raíz + suelo de planta de arroz.

## Lista de abreviaturas

ACA: Asociación de cultivadores de arroz.

AOAC International: Asociación Oficial de Químicos Analíticos.

APHA: Asociación Estadounidense de Salud Pública. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater.

ASTM: American Society for Testing & Materials.

ATP: adenosín tri fosfato.

ATSDR: Agencia para Sustancias Tóxicas y Registro de Enfermedades.

AWD: Alternate Wetting and Drying.

CCME: Directrices Canadienses de Calidad Ambiental.

C.E: conductividad eléctrica.

CENUR LN: Centro Universitario Regional del Litoral Norte.

CODEX Alimentarius:

DER: Desviación estándar relativa.

DIEA-MGAP: Dirección de Estadísticas Agropecuarias del Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca de Uruguay.

DINAGUA: Dirección Nacional de Agua.

DINAMA: Dirección Nacional de Medio Ambiente.

DMA: ácido dimetilarsínico.

EDL: lampara de descarga sin electrodos.

EMBRAPA: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária.

EPA: Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos.

EUROCHEM: Guía de Cuantificación de la Incertidumbre en Medidas Analíticas.

FAAS: Flame Atomic Absorption Spectrometry, Espectrometría de Absorción Atómica con atomización por Llama.

FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.

FAOSTAT: Base de Datos Estadísticos de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura

FIAS: Análisis por inyección en flujo.

FI HG GFAAS: Flow Injection Hydride Generation Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry, Espectrometría de Absorción Atómica con generación de hidruros inyección en flujo y atomización por horno de grafito.

GBPA: Guía de buenas prácticas agrícolas.

GFAAS: Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry. Espectrometría de Absorción Atómica con Atomización por Horno de Grafito.

GLS: separador gas-líquido.

GMA: Gremial de Molinos Arroceros.

GSH: glutatión.

HG-AAS: Espectrometría de Absorción Atómica con generación de hidruros.

HG-AFS: Espectrometría de Fluorescencia Atómica con generación de hidruros.

HPLC ICP-MS: High Pressure Liquid Chromatography Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry.

ICP-OES: Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry, Espectrometría de Emisión Atómica con Plasma Acoplado Inductivamente.

ICP-MS: Espectrometría de Emisión Atómica con detección por Masas.

INASE: Instituto Nacional de Semillas.

INIA: Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria.

ISO: "International Organization for Standardization"

J1: Junco 1.

J2: Junco 2.

LMP: Límite máximo permitido.

LOD: Límite de detección.

LOQ: Límite de cuantificación.

MERCOSUR: Mercado Común del Sur.

MGAP: Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca.

MGAP DIEA: Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. DIEA son las siglas de Dirección de Investigación y Estadística Agropecuaria.

MGAP OPYP: Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. Oficina de Programación y Política Agropecuaria

MMA: ácido monometilarsónico.

MO %: porcentaje de materia orgánica.

MRC: material de referencia certificado.

MVOTMA: Ministerio de Vivienda, Ordenamiento Territorial y Medio Ambiente.

NIST: National Institute of Standards and Technology.

NTU: Nephelometric Turbidity Unit.

OD: oxígeno disuelto.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

ORP: Potencial de óxido-reducción.

PA: puro para análisis.

PCs: Fitoquelatinas.

PTFE: politetrafluoroetileno (teflón).

ROL: pérdida radial de oxígeno.

SM: Santa Margarita.

SWAT: Soil and Water Assessment Tool.

tAs: As total.

tFe: Fe total.

Udelar: Universidad de la República.

UE: Unión Europea.

USDA: Departamento de Agricultura de los Estados Unidos.

WHO: "World Health Organization".

# **CAPITULO I**

## **Introducción**

## 1.1 Fundamentación

El arsénico (As) es un elemento reconocido como un agente tóxico para la salud humana y ocupa el primer lugar en la lista de sustancias peligrosas elaborada por la Agencia para Sustancias Tóxicas y Registro de Enfermedades. Puede encontrarse en diversas concentraciones en el aire, suelos, vegetales y animales, presentándose en distintos estados de oxidación y en formas tanto inorgánicas como orgánicas (ATSDR., 2007).

Es importante destacar que no todos los compuestos de arsénico tienen el mismo grado de toxicidad, ya que esto depende de su forma química o especiación. La toxicidad es significativamente mayor en las especies inorgánicas en comparación con las orgánicas (International Agency for Research on Cancer., 2012).

La presencia de arsénico en el medio ambiente puede derivar tanto de fuentes naturales como de actividades antropogénicas. La exposición humana a largo plazo a bajos niveles de arsénico puede resultar en intoxicación crónica, manifestándose a través de lesiones cutáneas y cáncer de piel, que son los efectos más característicos. Además, se ha asociado con el desarrollo de cáncer en la vejiga, riñón y pulmón (ATSDR.,2007).

En la actualidad, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha establecido un límite máximo recomendado para la concentración de arsénico en el arroz, que es de  $0,15 \text{ mgkg}^{-1}$  (FAO y OMS, CODEX ALIMENTARIUS., 2019).

El arroz es un alimento básico y constituye la principal fuente de carbohidratos para aproximadamente la mitad de la población mundial. Su elevado nivel de consumo en determinadas poblaciones hace que la presencia de As en este producto alimentario sea motivo de preocupación.

Además, en nuestro país, el 95% de la producción anual de arroz se destina a la exportación, lo que hace necesario cumplir con las normativas vigentes sobre los niveles de arsénico en este producto para su comercialización y para mantener esta importante fuente de ingresos (ACA., 2022).

Uno de los principales objetivos de esta tesis fue optimizar y validar las metodologías para determinar arsénico en las diferentes matrices propuestas. Esto incluye desde los pasos de digestión hasta las determinaciones analíticas mediante la técnica analítica de espectrometría de absorción atómica de llama con generación de hidruros (*HG-FAAS*).

Los resultados obtenidos a partir de la medición de las concentraciones de As presentes en las muestras de arroz permitirán valorar el riesgo asociado a su consumo. Además, se espera que esta investigación tenga un valor añadido al conocerse mejor la naturaleza y la distribución del As en el arroz y, a partir de allí, desarrollar estrategias de reducción de su presencia en los mismos, contribuyendo así a la seguridad alimentaria.

Para ello, se plantearon los objetivos que se describen a continuación:

## **1.2 Objetivos de este trabajo**

### **1.2.1 Objetivo general**

Determinar niveles de arsénico en arroz y conocer su posible origen. Plantear posibles estrategias para disminuir la bioacumulación de As en el arroz producido en nuestro país.

### **1.2.2 Objetivos específicos**

**OE1.** Desarrollo de la metodología de determinación de As en agua, arroz y suelo mediante Absorción atómica de llama con generación de hidruros.

**OE2.** Determinación del contenido de As total en arroz, agua y suelo.

**OE3.** Determinar parámetros fisicoquímicos, contenido de fosfatos y hierro total del agua de riego o inundación y propiedades edáficas del suelo.

**OE4.** Identificar las especies del As de mayor estabilidad en dichas condiciones y las interacciones químicas relevantes.

**OE5.** Identificar relaciones entre los parámetros estudiados, tendientes a encontrar las principales causas del contenido de As en grano de arroz.

### 1.3 Marco teórico

El arroz es uno de los alimentos más importantes para la humanidad y constituye la principal fuente de carbohidratos y energía para más de la mitad de la población mundial (Islam et al., 2016, Seyffert et al., 2018). El cultivo de arroz, especie *Oryza Sativa*, es sembrado en casi todos los continentes, con una producción mundial de 756.7 millones de toneladas en una superficie de 164.2 millones de ha (FAOSTAT., 2021), siendo el segundo cereal más producido luego del trigo (Hu et al., 2013b).

En los primeros ocho meses de 2024 las ventas externas de alimentos totalizan US\$ 4.867 millones, en donde el arroz exportado generó US\$ 345 millones. A pesar de las caídas en la demanda de arroz en otros destinos, en la Unión Europea, el arroz uruguayo llegó a US\$ 14 millones, registro cuatro veces mayor en comparación con el mismo mes de 2023 (Uruguay XXI, 2024).

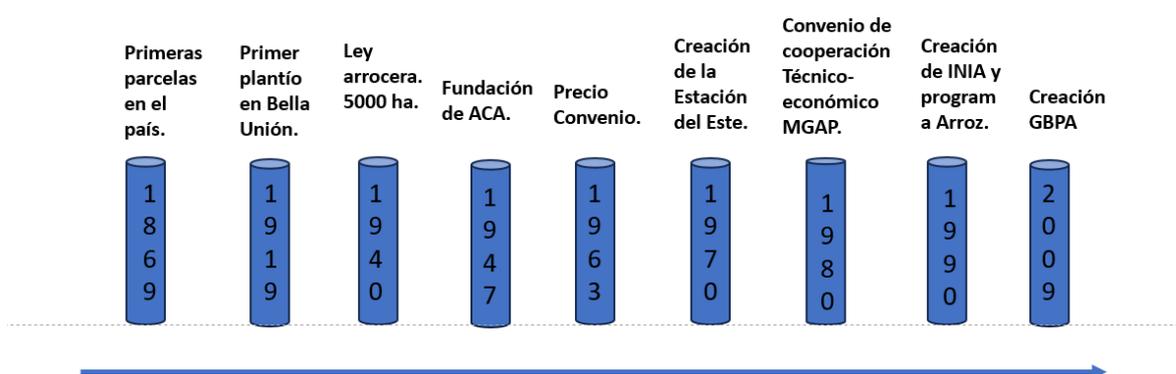
De acuerdo con la información de DIEA-MGAP (2009) en 12 años de encuesta, aproximadamente el 60% de la superficie total del cultivo se siembra en campos que no han tenido arroz en la zafra anterior (“arroz de primer año”), mientras tan solo el 11% del área corresponde a arroz sembrado sobre rastrojo en forma continua durante tres o más años. El arroz ocupa en la rotación un período entre 25 – 30% de la duración de esta. El resto del tiempo está ocupado por pasturas naturales regeneradas o siembra de praderas (mezcla de gramíneas y leguminosas) (GBPA., 2018).

La producción nacional se caracteriza por el bajo uso de insecticidas, herbicidas y fertilizantes. De todos modos, y cada vez más existe un gran interés de los productores, la industria y otros sectores de la sociedad uruguayo en realizar un seguimiento a la calidad del grano, el estado de los suelos y del agua con el objetivo de que el producto final cumpla con los requisitos fitosanitarios y no dañe al ambiente (Uruguay XXI., 2013).

Existe información que indica que el sistema de rotación cultivo-pastura con la integración de la producción ganadera es el más sustentable ya que, entre otros, mejora las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo, disminuye la presencia de malezas, insectos e inóculo de enfermedades, lo que reduce la frecuencia con que se aplican los agroquímicos

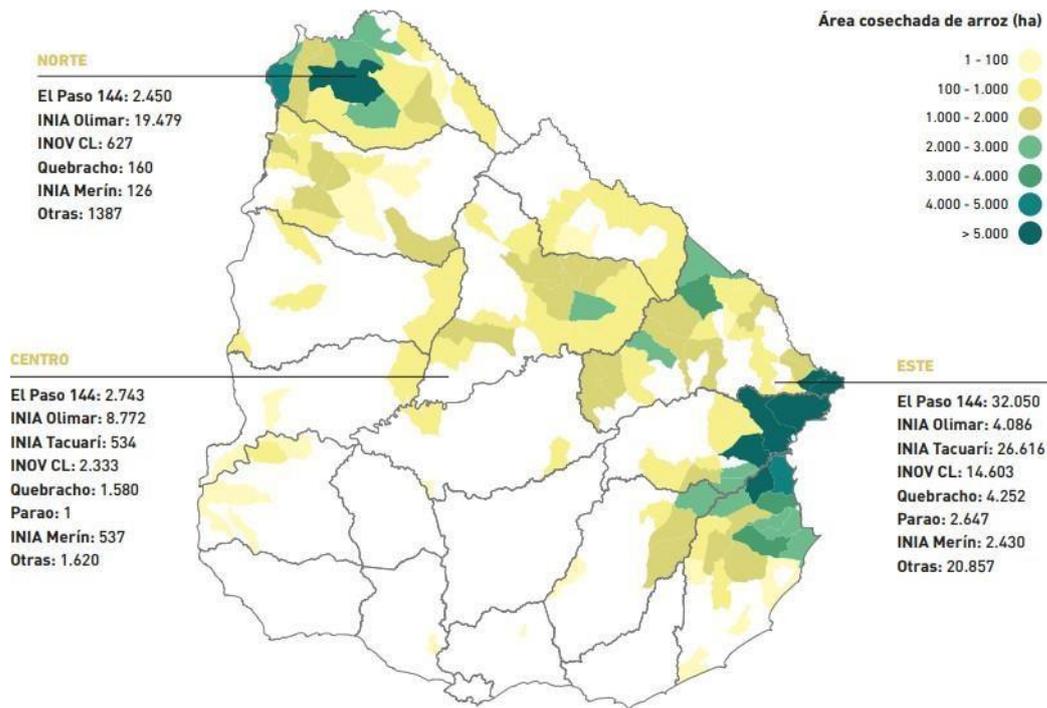
en un lugar sobre un determinado período. Esta rotación implica una mejora sustancial en la ganadería de las zonas arroceras y de la sustentabilidad económica de las empresas, al diversificar rubros. La excelente complementación agronómica y económica de la fase arroz con la fase pasturas define un sistema de producción estable, confiable, económico y ambientalmente sustentable. (GBPA., 2018).

Uruguay cultiva arroz desde fines de la década del 60. La Figura 1.1 resume algunos hitos en la historia del cultivo de arroz en Uruguay.



**Figura 1.1** Historia del arroz en Uruguay (esquema de elaboración propia a partir de datos obtenidos de la Guía de buenas prácticas agrícolas (GBPA)2018).

En Uruguay, como ya se expresó anteriormente, la producción de arroz se orienta fundamentalmente a la exportación. Más del 95% del volumen producido se exporta con diversos grados de elaboración. En el año 2020, Uruguay exportó arroz por valor de 434 millones de dólares generando unos 30.000 puestos de trabajo directos e indirectos (DIEA MGAP., 2021). El volumen restante está constituido por el consumo interno (para alimentación humana y animal) y por el uso para semillas. La Gremial de Molinos Arroceros estima que el consumo de arroz en Uruguay se sitúa en unos 20 kilos por persona a lo largo de un año (ACA., 2018).



**Figura 1.2.** Mapa de Uruguay mostrando las áreas arroceras y variedades, zafra 2016-2017 (Extraído de GBPA 2018).

Como se observa en la Figura 1.2, las principales zonas de cultivo son la zona norte, este y centro. La zona norte está formada por Artigas y Salto, esta zona aprovecha la cuenca del río Cuareim, la zona centro integra a los departamentos de: Rivera, Tacuarembó, Durazno y Río Negro. La zona este es la que posee mayor cantidad de hectáreas utilizadas para este cultivo, conformada por Rocha, Treinta y Tres, Lavalleja y Cerro Largo.

Aunque históricamente más del 80% de la superficie de arroz se cultivaba en la cuenca de la Laguna Merín, en las últimas décadas ha habido una fuerte expansión arrocera en otras dos zonas no tradicionales. Se registran importantes áreas cultivadas en los departamentos de Artigas, Salto y Tacuarembó. Esta expansión planteó desafíos, como el desarrollo de técnicas de cultivo para áreas con pendientes, que se lograron adaptando técnicas empleadas en el sur de Brasil (MGAP., 2020).

La producción arrocera se basa en riego por inundación, pero se siembra sobre suelo seco. Uruguay tiene un clima templado subtropical húmedo con precipitaciones durante todo el año junto con pasturas naturales y fértiles que favorecen el cultivo de arroz. El agua es un factor crítico en el desarrollo de la planta y en su productividad. Uruguay tiene una disponibilidad de agua de 1.200 milímetros promedio anuales, lo cual asegura una velocidad de crecimiento considerable. El territorio cuenta con numerosos cursos de agua distribuidos

en todo el territorio, así como embalses que recogen los excedentes provenientes de las lluvias, todo lo cual hace posible la producción de arroz. (Uruguay XXI.,2013; ACA., 2013)

La siembra se realiza en primavera, durante los meses de setiembre, octubre y noviembre, siendo necesaria para la floración del cultivo una temperatura mayor a los 15° C durante el mes de enero. La cosecha del grano se realiza entre los meses de marzo a mayo. (INIA; Uruguay XXI; MGAP OPYP; MGAP DIEA., 2020).

Las chacras de mayor tamaño son las que presentan los mayores rendimientos. Esta tendencia se mantiene desde hace ya varias safras. El rendimiento medio de las explotaciones de más de 1.000 hectáreas es un 8% superior al rendimiento de las chacras de un tamaño inferior a las 200 hectáreas y un 4,4 % superior al rendimiento promedio nacional. Uruguay presenta la mejor productividad medida en kilogramos/hectárea del mundo (Uruguay XXI., 2013; ACA., 2013).

En nuestro país existen alrededor de 500 productores arroceros. El cultivo de arroz es caracterizado por requerir un alto nivel de inversión, así como por la necesidad de tecnología que implica disponer de una cierta escala de producción y nivel empresarial para su adecuado desarrollo lo que descarta la posibilidad de existencia de productores de tipo familiar y establece la demanda de un alto nivel de especialización para llevar a cabo la actividad. Podemos distinguir dos tipos básicos de productores de arroz: el arrocero “puro” y el arrocero ganadero.

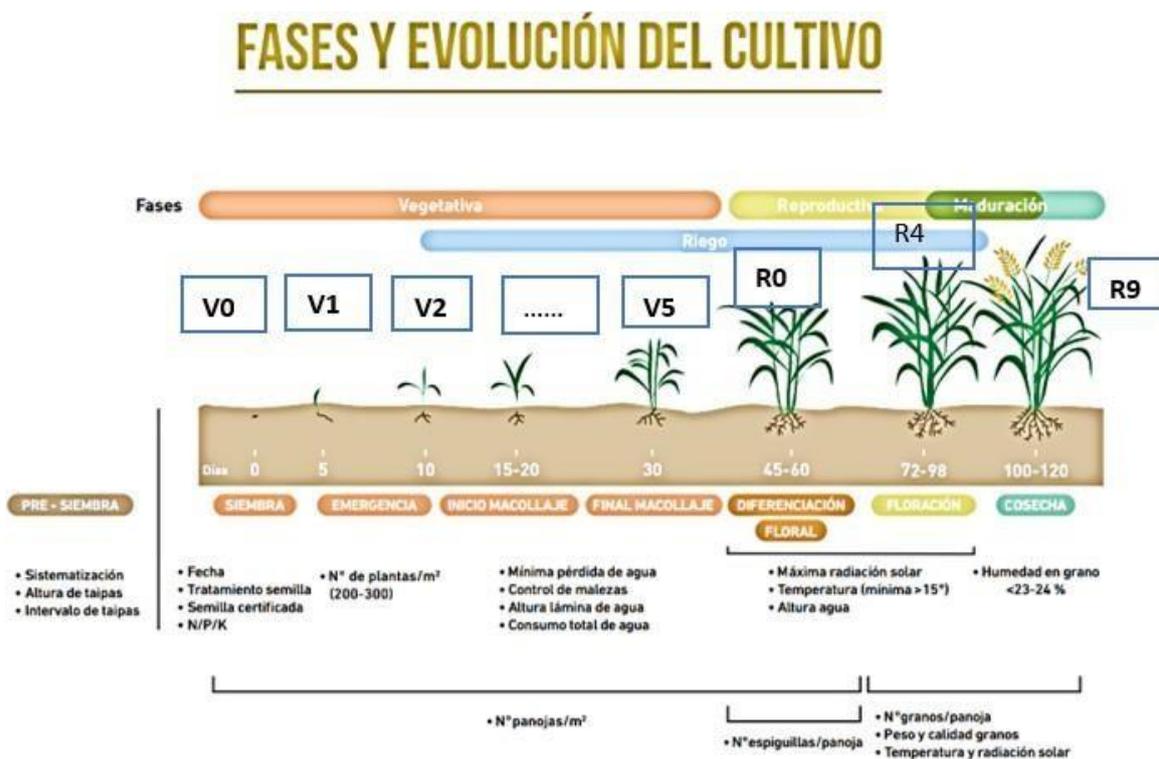
Para la campaña evaluada durante esta Tesis, 2021-2022 se sembraron 163.800 hectáreas, un 15% más que la anterior, obteniéndose un total de 1,5 millones de toneladas. La zona Norte del país fue muy afectada por el clima, con un diciembre que registró 7 mm en total de precipitaciones y temperaturas máximas promedio que rondaron los 33° C en diciembre y enero, pero con días extremos de 36, 40 y 42°C, que superaron al promedio histórico. (INIA.,2022)

En cuanto al origen del arroz, se sitúa en las zonas tropicales de Asia y, a partir de allí, consiguió adaptarse a otras zonas. Las variedades de arroz cultivadas han cambiado en los últimos años, mediante una gradual renovación de las más antiguas en función de las mejores características, lo que provocó la desaparición de determinadas variedades pues las nuevas ofrecen mejores rendimientos, una mayor resistencia a enfermedades, altura más baja, mejor calidad de grano o una mayor productividad.

A nivel mundial existen miles de variedades de la especie de arroz *Oryza Sativa*, en la que se distinguen dos ecotipos: Indica y Japónica.

Los cultivares de arroz que se siembran en Uruguay pertenecen al género *Oryza sativa* L, de origen asiático y se le distinguen dos subespecies indica y japónica y cinco tipos o grupos de arroz: japónica tropical, japónica templado, aromático, indica y aus (Garris et al., 2005; Zhao, 2010; Civán et al., 2015), aunque algunos investigadores señalan que se podría incluir al tipo rayada como un nuevo grupo dentro de esta clasificación (Wang et al., 2014b).

El crecimiento de la planta de arroz se divide en dos etapas según Counce et. al (2000), la fase vegetativa y reproductiva. La fase vegetativa incluye: germinación (V0), emergencia (V1), desarrollo de estructuras foliares (Vn, n es el número de hojas), macollaje (V5). La fase reproductiva contempla: primordio (R0), embuche (R2), emergencia de la inflorescencia (R3), anthesis (R4), grano lechoso (R6), grano pastoso (R7) y madurez completa de los granos o punto de cosecha (R9), tal como se observa en la Figura 1.3.



**Figura 1.3.** Fases y evolución del cultivo de arroz. Adaptada del manual de buenas prácticas agrícolas en el cultivo de arroz en Uruguay, ACA., 2018.

Toda el área sembrada en la zafra estudiada se concentró en 4 variedades, con un 40% INIA Merín, 22% Gurí INTA CL, 12 % INIA Olimar y un 6% INIA Tacuarí, el restante 20% se distribuye en las variedades INIA Tacuarí, INOV CL, XP 113, EEA 404, SLI 09197, Japónica, SLI 09193, INOV FP y Perla.

Nuestro país se basa en un sistema de certificación de semillas, el cual está controlado por el INASE (Instituto Nacional de Semillas). El INASE es uno de los pilares de la calidad de arroz uruguayo, ya que es indispensable usar la mejor semilla para producir el arroz de calidad que requieren los mercados (Uruguay XXI., 2013).

El principal fin del arroz es el consumo, los países productores de arroz utilizan también la paja del arroz para la creación de biodiesel, y así se evita desecharlo por completo, este otro fin del arroz es totalmente secundario.

### **Características de las variedades de arroz plantadas en los predios del ensayo.**

En el sitio denominado Junco 1 se trabajó con el cultivar INIA Olimar, desarrollado por el Programa de Mejoramiento Genético de Arroz de INIA y liberado en 2004, se caracteriza por su buen potencial de rendimiento, estabilidad, precocidad y muy baja incidencia de granos opacos y harinosos (yesoso), lo que explica su buena demanda en mercados exigentes.

En el sitio denominado Junco 2 se trabajó con la variedad INIA Merín, generada en el programa de investigación mencionado anteriormente y lanzada en 2015, ha venido aumentando su área zafra a zafra por su destacada productividad; gran porcentaje de granos enteros y blanco total, y alta resistencia a enfermedades como el hongo Pyricularia, lo que permite un manejo sanitario con un uso menor o eventualmente nulo de fungicidas.

En el sitio denominado Santa Margarita se trabajó con el cultivar GURI INTA CL es un arroz perteneciente a la subespecie “indica” lo cual le imprime características de alto rendimiento agrícola y una calidad de cocción suelta. Su capacidad de germinación es alta cuando se siembra a partir de primeros días de octubre y si se utiliza semilla certificada. La Figura 1.4 muestra fotos de las variedades anteriormente citadas.



**Figura 1.4.** Foto de las 3 variedades estudiadas en los predios.

#### **Acumulación de arsénico en arroz.**

Según las referencias bibliográficas, comparado con otros cereales como el trigo, cebada, o el maíz, el As se acumula más en el grano de arroz debido a la mayor biodisponibilidad del As en los suelos inundados en los cuales crece, una hipótesis para explicar esto podría tener que ver con mecanismos cinéticos de absorción y el tiempo de permanencia de esa agua con As en contacto con las plantas de arroz, favoreciendo la mayor acumulación (González et al., 2020; INIA., 2021).

La planta absorbe silicio y fósforo en grandes cantidades y es justamente a través de estas rutas que ingresa el As en la planta de arroz; a esto se suma que, bajo las condiciones de inundación del suelo, el arsénico es reducido aumentando así su solubilidad en la solución del suelo y, consecuentemente, su disponibilidad para las plantas (Das et al., 2004; Mondal y Polya., 2008; Su et al., 2010).

En un estudio recientemente realizado en Uruguay se observó que la acumulación de As en el grano de arroz estuvo influenciada principalmente por el material geológico que originó los diferentes tipos de suelo donde se plantó el arroz, por el tipo de cultivo y las variedades

de arroz. El arroz cultivado en suelos de material geológico ígneo resultó en niveles significativamente más bajos de As total y de As inorgánico en relación con el arroz sembrado en suelos originados en depósitos sedimentarios. Se determinaron niveles significativamente más bajos de As (total e inorgánico) en el grano de arroz de los cultivares *Japonicas* en relación con los cultivares *Indicas* (Roel et al., 2021).

La variación de As en el grano de arroz tiene un fuerte componente ambiental, seguido por el genotipo y la interacción genotipo-ambiente (Norton *et al.*, 2009). Estudios recientes en Uruguay confirman la importancia del efecto ambiental y de la interacción genotipo-ambiente. Esta variación de las regiones genéticas involucradas en la acumulación de As total en el grano en función de las condiciones ambientales hace necesario caracterizar los ambientes objetivo a los que enfocar los esfuerzos de mejoramiento (Lucas, A et al., 2020).

A continuación, se desarrollarán distintos componentes o procesos que pueden influenciar en mayor o menor medida sobre la acumulación de arsénico por la planta de arroz.

### **Agua: Consecuencias del incremento de perforaciones y los altos niveles de arsénico en aguas subterráneas, provocando efectos adversos en la salud humana.**

Como referencia sobre un caso histórico de contaminación por As, es el caso de Bangladesh en donde queda explícito la necesidad de monitoreo y evaluación de las actividades agrícolas y domésticas. En este país, se produjo la contaminación microbiológica de las aguas superficiales lo que determinó un alto riesgo de epidemia de cólera y fiebre tifoidea. Por ende, se fomentó la realización de pozos de agua caseros para consumo y riego. En los últimos 30 años, el crecimiento expansivo en el número de pozos favoreció, bajo condiciones reductoras, la liberación de As de las formaciones geológicas (Smith et al., 2000). El agua subterránea que poseía altos niveles de arsénico, al ser usada para riego, aumentó los niveles de As en suelos y, como resultado, también en los productos agrícolas, entre ellos el arroz. Este dato es de relevancia ya que este producto constituye un porcentaje importante del aporte calórico de la población (Meharg A. et al., 2003.)

En los últimos años ha crecido la preocupación creciente sobre los niveles de arsénico en las aguas subterráneas de Uruguay (Machado et al., 2020; Mañay et al., 2019; Falchi et al.,

2018). Se han reportado altos niveles de As en aguas subterráneas en algunos pozos ubicados en acuíferos en la región suroeste de Uruguay (Mañay et al., 2019; Falchi et al., 2018) y se informaron en la región principal de arroz (este) niveles más bajos de As en las aguas subterráneas, por debajo de los límites locales e internacionales. Según Roel et al., 2021 en nuestro país es improbable que los niveles de concentración de arsénico en el agua sean un problema, ya que el arroz no se cultiva en la región suroeste y no se bombea agua subterránea de los acuíferos para fines de riego en el sector del arroz. Las principales fuentes de agua para el riego de arroz son los ríos, lagunas y represas (DIEA MGAP., 2020).

En Uruguay la competencia sobre los recursos hídricos superficiales y subterráneos la tiene la Dirección Nacional de Agua (DINAGUA), cuya misión es asegurar el uso sostenible de los recursos hídricos mediante la formulación de políticas nacionales de aguas y saneamiento.

La DINAGUA se encuentra bajo la órbita del Ministerio de Vivienda, Ordenamiento Territorial y Medio Ambiente (MVOTMA). Siendo la Dirección Nacional de Medio Ambiente (DINAMA) la responsable sobre la calidad de los recursos hídricos.

La ley N° 14.859 del 15 de diciembre de 1978 que aprobó el Código de Aguas y el informe producido por la Comisión designada por el Decreto N° 324/978 de 8 de junio de 1978 en su Decreto establece en el artículo 3°- Los cursos o cuerpos de agua del País se clasificarán según sus usos preponderantes actuales o potenciales en cuatro clases de acuerdo con lo siguiente:

#### CLASE 1

Aguas destinadas o que puedan ser destinadas al abastecimiento de agua potable a poblaciones con tratamiento convencional.

#### CLASE 2

a) Aguas destinadas al riego de hortalizas o plantas frutícolas u otros cultivos destinados al consumo humano en su forma natural, cuando éstas son usadas a través de sistemas de riego que provocan el mojado del producto. (Tabla 1.1)

b) Aguas destinadas a recreación por contacto directo con el cuerpo humano.

#### CLASE 3

Aguas destinadas a la preservación de los peces en general y de otros integrantes de la flora y fauna hídrica, o también aguas destinadas al riego de cultivos cuyo producto no se consume en forma natural o en aquellos casos que siendo consumidos en forma natural se apliquen sistemas de riego que no provocan el mojado del producto.

#### CLASE 4

Aguas correspondientes a los cursos o tramos de cursos que atraviesan zonas urbanas o suburbanas que deban mantener una armonía con el medio, o también aguas destinadas al riego de cultivos cuyos productos no son destinados al consumo humano en ninguna forma. En nuestro caso, el agua de riego estaría clasificándose como clase 2 a.

**Tabla 1.1.** Resumen de los parámetros indicadores de la calidad para el agua clase 2a.

#### CLASE 2a

PARÁMETRO	ESTÁNDAR
Olor	No perceptible
Materiales flotantes y espumas no naturales	No perceptibles
Color no natural	Ausente
Turbiedad	Máx 50 UNT
pH	Entre 6,5 y 9,0
OD	Min 5 mg/L
DBO5	Máx 10 mg/L
Aceites y grasas	Virtualmente ausentes
Detergentes	Máx 1 mg/L en LAS
Sustancias fenólicas	Máx 0,2 mg/L en C6H5OH
Amoniaco libre	Máx 0,02 mg/L en N
Nitratos	Máx 10 mg/L en N
Fósforo total	Máx 0,025 mg/L en P
Sólidos suspendidos totales	Máx 700 mg/L
Relación de absorción de sodio (RAS)	Máx 10
Coliformes fecales	No se deberá exceder el límite de 2000 CF/100mL en al menos 5 muestras debiendo la media geométrica de las mismas estar por debajo de 1000CF/100mL
Cianuros	Máx 0,005 mg/L
Arsénico	Máx 0,05 mg/L
Boro	Máx 0,5 mg/L
Cadmio	Máx 0,001 mg/L
Cobre	Máx 0,3 mg/L
Cromo total	Máx 0,05 mg/L
Mercurio	Máx 0,002 mg/L
Níquel	Máx 0,02 mg/L
Plomo	Máx 0,03 mg/L
Zinc	Máx 0,03 mg/L

## **Suelo: características de los suelos arroceros en Uruguay y la presencia de Arsénico.**

El suelo es un recurso que ha quedado dañado por un manejo abusivo y erróneo y que nunca más podrá producir bienes en muchas partes del mundo (FAO., 1976). La agricultura de granos es la responsable de los mayores problemas ambientales que acompañaron el desarrollo productivo. El uso de laboreo para la preparación de la cama de siembra condujo a la degradación y erosión de los suelos más productivos en vastísimas regiones, ya que pocas actividades humanas se han desarrollado en tanta extensión territorial (Díaz, R., 2003).

El concepto de calidad de suelo se define como la capacidad de un tipo específico de suelo para funcionar dentro de un ecosistema, sustentar la productividad de plantas y animales, mantener o aumentar la calidad del agua y del aire y soportar la salud y hábitat humano. La evaluación de la calidad de los suelos es una herramienta enfocada al estudio de sus propiedades y procesos, que son usados para determinar la sustentabilidad de las prácticas de manejo utilizadas (Karlen., 1997).

Cuando el sistema agrícola contempla rotaciones de cultivos, de inmediato se asocia al concepto de sustentabilidad ambiental y productivo que permitió mitigar y superar innumerables problemas ocasionados por los monocultivos. En su expresión más común las rotaciones de cultivo se conciben como la alternancia de cultivos anuales. No obstante, las rotaciones con pasturas se diferencian claramente en su potencial contribución a la sustentabilidad, porque tienen la capacidad de revertir los procesos de degradación de los suelos, recuperando potencial productivo (Díaz, R., 2003).

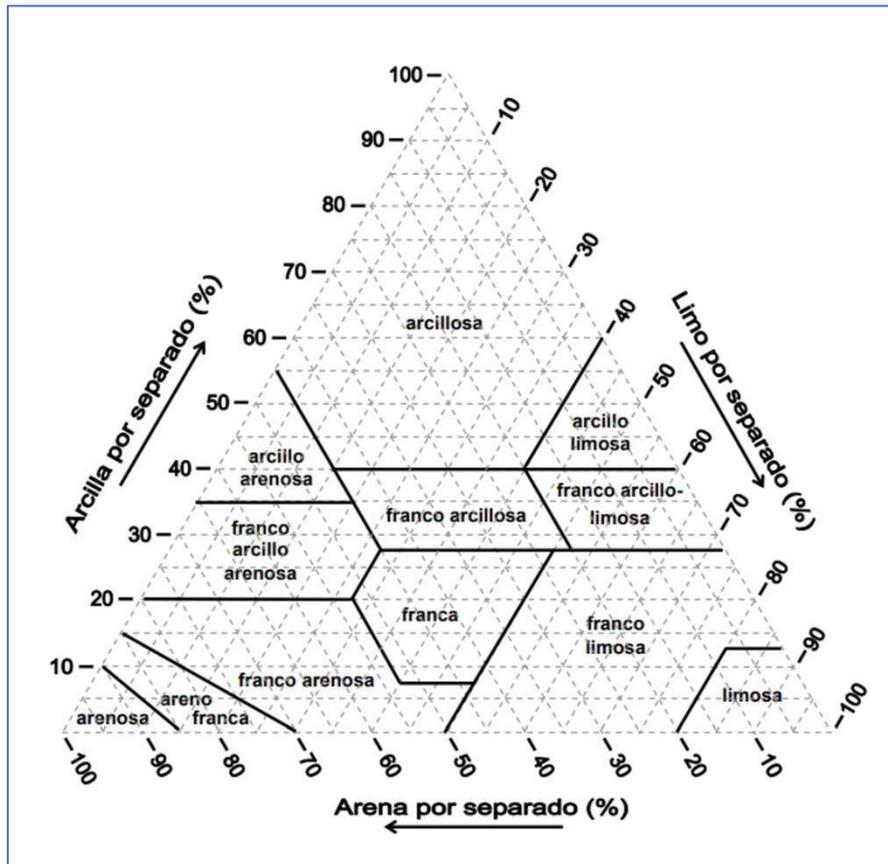
Los suelos en las regiones arroceras están constituidos por vertisoles un tipo de suelo arcilloso y brunosoles de colores oscuros, con altos niveles de materia orgánica, poseen una buena retención del agua y mal drenaje. Terrenos con pendiente moderada y abundante agua para el riego, todo lo que explica su aptitud para el cultivo de arroz.

En nuestro país, es frecuente la presencia Vertisoles, suelos de color negro y alto contenido de arcilla expansible en todo el perfil, pero con un contenido de materia orgánica elevado. En el litoral oeste y en el sur, sobre sedimentos de diverso origen y textura media a fina, predominan los Argiudoles Típicos y Vérticos, que se caracterizan por la presencia de un horizonte argílico, rico en arcilla frecuentemente asociados con Hapluderts Típicos, que un suelo forestal ácido y fuertemente lixiviado, con baja fertilidad nativa.

La existencia de estos tipos de suelo junto a factores sociales y económicos (densidad de población, existencia de asentamientos de diversas comunidades de origen europeo, alta densidad de la red vial, servicios para la adquisición de insumos y capacidad de almacenamiento y venta de productos), han determinado usos de la tierra que suponen inversiones de importancia significativa. En esa región se desarrollan cultivos cerealeros (tanto de invierno como de verano) en rotación con praderas de especies forrajeras para la terminación de novillos. También existen numerosas empresas pertenecientes al rubro lechero, dedicadas tanto a la producción de leche para el consumo directo como a su industrialización (Durán, et al., 1999).

Los suelos superficiales, litosoles se desarrollan sobre las rocas efusivas de la Formación Arapey y no presentan horizontes mayores a 40 cm. Se catalogan como de aptitud pastoril (ovina). Aparecen asociados, áreas menores ocupadas por suelos profundos de textura muy pesada y alta fertilidad. En la nomenclatura de la U.S. Soil Taxonomy, la gran mayoría de los suelos queda comprendida en las categorías de Argiudoles y Argiudoles álbicos.

La composición textural describe la proporción de las partículas elementales menores de 2 mm de diámetro que integran el suelo y define la relación porcentual entre dichas partículas. La textura es una propiedad física permanente del suelo, no obstante, puede sufrir cambios por laboreo (mezcla de horizontes), erosión eólica (suelos más gruesos por pérdida de material), erosión hídrica (deposición de materiales más finos). La combinación de sus 3 fracciones granulométricas arena, limo y arcilla, nos determina la clase textural. Estas clases, son agrupamientos donde las propiedades dependientes de la textura presentan un comportamiento homogéneo (propiedades agronómicas homogéneas). Normalmente nos indica al grupo de partículas preponderantes. Las clases texturales dentro del sistema del USDA son 12 y se disponen en un triángulo de textura, como se observa en la Figura 1.5.



**Figura 1.5.** Triángulo de composición textural según USDA.

El arsénico (As) es un componente de los sistemas naturales y por ello es posible encontrarlo en los minerales primarios de la corteza terrestre: suelos, sedimentos, agua, aire y aun en los organismos vivos, incluso antes de que ocurriera la intervención humana (Campos, F.,2022).

El valor promedio mundial de As en suelo es de  $5 \text{ mgkg}^{-1}$  (Patel et al., 2005; Hossain et al., 2008), no obstante, la normativa internacional más exigente, Canadian Environmental Quality Guidelines, establece un máximo permitido de As en suelo de  $12 \text{ mgkg}^{-1}$ (en base seca).

Su concentración es en general menor en suelos arenosos o derivados de rocas ígneas y mayor en suelos orgánicos o aluviales a donde puede ser arrastrado en sedimentos o diluido (Baker y Chesnin., 1975).

En la mayor parte de las rocas, su rango de concentración se encuentra entre  $0,5$  y  $2,5 \text{ mgkg}^{-1}$ , con una media de  $2 \text{ mgkg}^{-1}$  (Meharg y Zhao., 2012), siendo más abundantes en rocas de tipo sedimentario, particularmente aquellos sedimentos arcillosos y fosforitas, y en aquellos minerales que sean ricos en hidróxidos de hierro. Mediante la acción de procesos de

meteorización y posteriores procesos de edafización el As puede pasar a formar parte de los suelos, encontrándose en mayor concentración que en los minerales primarios. El enriquecimiento de As de origen geológico se encuentra asociado a algunos materiales como esquistos orgánicos negros, sedimentos aluviales del período holoceno, zonas ricas en minerales, zonas con intensa actividad volcánica o termal, piletas cerradas en regiones de clima árido o semiárido, o acuíferos con condiciones de extrema reducción y baja concentración de sulfatos (WHO., 2004).

La concentración de arsénico en el suelo varía ampliamente, en general entre aproximadamente 1 y 40 mgkg<sup>-1</sup>. Sin embargo, los suelos cerca de depósitos geológicos ricos en arsénico, cerca de algunas minas y fundiciones, o en áreas agrícolas donde se usaron plaguicidas con arsénico en el pasado, pueden tener niveles de arsénico mucho más altos. (ATSDR., 2016).

Por otro lado, el As presente en los suelos también puede tener origen en la actividad humana. Entre las principales fuentes de origen antropogénico se encuentran los efluentes de minería, efluentes industriales o urbanos ricos en As, el uso de fertilizantes o enmiendas contaminadas, la aplicación de pesticidas arsenicales y el uso de aguas de riego contaminadas (Meharg y Zhao., 2012; Campos, F.,2022).

El arsénico puede estar presente en algunos fertilizantes químicos, con lo cual, al ser aplicados repetidamente y a altas dosis pueden aumentar su concentración en los suelos. La concentración de As de los fertilizantes fosfatados se encuentra entre 3 y 30 mgkg<sup>-1</sup> (Charter et al.,1995; Campos, F.,2022).

### **Planta de arroz: Bioacumulación de arsénico.**

El arroz acumula más cantidad de As en el grano que otros cereales, fundamentalmente como consecuencia de su cultivo en condiciones de producción en riego por inundación. Durante la misma, se establecen condiciones anaeróbicas en el suelo. El Fe (III) se reduce a Fe (II), lo que resulta en la liberación del As (V) adsorbido a los hidróxidos de Fe (III) a la solución del suelo. Además, el As (V) se reduce a As (III) que es menos retenido por el suelo y, por lo tanto, puede ser absorbido por las raíces del arroz. El contenido de fósforo del medio también influencia la biodisponibilidad del As al competir con los sitios donde el As se

absorbe. (Tenni D. et al., 2017; Meharg A. et al., 2003; Marin et al., 1992). La movilidad y biodisponibilidad del As en el suelo está influenciada por múltiples factores. Entre los principales se encuentran las características fisicoquímicas del suelo: pH, textura y contenido total de materia orgánica. Los cambios químicos en el suelo, debidos al riego por inundación y a su vez la dinámica del drenaje, afectan en gran medida la química de As y, por lo tanto, su disponibilidad para la absorción de las plantas como lo demostró Marin et al. en 1992. Sin embargo, no es muy clara la relación entre As total del suelo y As total en los tejidos del arroz.

### **Especies de arsénico en agua, suelo y en arroz**

Según la “Agencia Internacional para la investigación del Cáncer” de la Organización Mundial de la Salud, todos los compuestos inorgánicos del As siguen la misma ruta metabólica en humanos: As elemental → arseniato, As (V) → arsenito, As (III) → metil arseniato → dimetilarsenito.

La forma orgánica más comúnmente encontrada en orina es el ácido dimetilarsénico (DMA) que junto con el ácido monometilarsénico (MMA) forman parte de los llamados indicadores de exposición (Sun et al., 2014).

El As se absorbe en suelos y sedimentos. Este proceso a su vez comprende la adsorción específica en óxidos/hidróxidos de Fe y Al, coprecipitación con hidróxidos de Fe (III). En ambos casos el As (III) se absorbe menos que el As (V). Múltiples factores pueden influenciar estos equilibrios de absorción (Bodek, I., 1988).

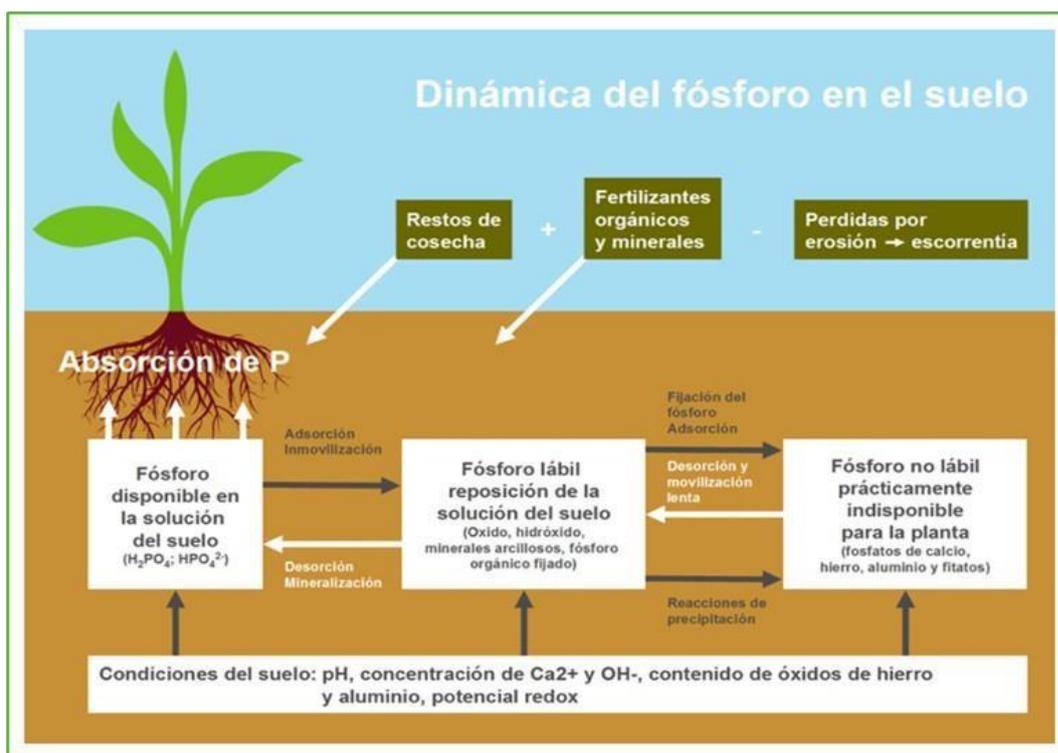
En el suelo existen diversas formas de As. Una especie es "una forma específica de un elemento químico definida en cuanto a composición isotópica, estado electrónico o de oxidación, y/o estructura compleja o molecular” (IUPAC., 2017).

Las principales especies de arsénico inorgánicas son arsenito As (III) y arsenato As (V) y las principales formas orgánicas metiladas son ácido monometilarsónico (MMA) y ácido dimetilarsónico (DMA). (Suriyagoda et al., 2018).

La química del As (V) es similar a la del P (V), encontrándose en sistemas acuosos como diferentes formas del  $\text{AsO}_4^{-3}$ . En condiciones levemente reductoras se encuentra presente como As (III) en forma de  $\text{AsO}_3^{-3}$ .

Estos compuestos aniónicos del As a su vez se pueden comportar como ligandos en

solución. En la figura 1.6 se observa la dinámica del P en el suelo.



**Figura 1.6.** Esquema de la dinámica del fósforo en el suelo. Extraída de las Jornadas Cierre PROINSA 23 noviembre 2012. Facultad Ciencias Agropecuarias-UNER.

Las formas inorgánicas As (III) y As (V) son sensibles a las condiciones de oxidorreducción. Estas reacciones pueden ser alteradas por las condiciones químicas del suelo (pH y Eh), así como también por la acción enzimática de las comunidades de microorganismos que se encuentran en el suelo. Ciertos microorganismos pueden oxidarlo utilizándolo como fuente de energía (Rhine et al., 2006). Además, el arsenito puede ser metilado para transformarlo en formas orgánicas, bajo condiciones aeróbicas o anaeróbicas, en procesos mediados por microorganismos o totalmente mineralizado (Cullen y Reimer., 1989; Gao y Burau., 1997; Huang et al., 2007). Cuando el suelo se encuentra en condiciones aeróbicas u oxidativas, la forma estable predominante es el As (V), mientras que, en suelos inundados, en condiciones anaeróbicas predomina el arsénico en forma de As (III) (Masscheleyn et al., 1991; Takahashi et al., 2004; Zhao et al., 2010).

También podría influir el contenido de As del agua, el cultivar del arroz, factores ambientales como la temperatura y las clases de agroquímicos utilizados durante el cultivo.

Tenni et. al 2017, determinaron el efecto de las propiedades del suelo sobre la disponibilidad

del suelo As para las plantas de arroz mediante un índice de bioacumulación (BI). El índice de bioacumulación representa la relación entre As en el grano de arroz ( $\mu\text{gkg}^{-1}$ ) y el As en el suelo ( $\text{mgkg}^{-1}$ ). Este índice se correlacionó negativamente con el pH del suelo ( $r = -0.356$ ;  $p = 0.005$ ;  $n = 61$ ), carbono orgánico del suelo ( $r = -0.285$ ;  $p = 0.026$ ;  $n = 61$ ) y nitrógeno ( $r = -0.327$ ;  $p = 0.010$ ;  $n = 61$ ). Esto demuestra que las propiedades edáficas del suelo son importantes para la bioacumulación. Su acumulación en suelos arroceros y su transferencia al grano depende de las propiedades fisicoquímicas del suelo (textura, tamaño de partícula, contenido de minerales), el patrón de cultivo, los niveles de As en el agua de riego y de la profundidad y duración del periodo de inundación. Por ejemplo, en un suelo arenoso el As es más móvil y biodisponible que en uno arcilloso. Por todo lo mencionado, es muy importante la realización de estudios en sitio específicos (Abedin et al., 2002; Azizur Rahman et al., 2008; Hossain et al., 2008).

Durante el periodo sin inundaciones, el suelo está bien aireado y el arsénico existe en sus formas pentavalentes como arseniato ( $\text{HAsO}_4^{2-}$  o  $\text{H}_2\text{AsO}_4$ ). En consecuencia, el As (V) es fuertemente absorbido o coprecipitado con hidróxidos de Fe (III) amorfos/ cristalinos presentes en el suelo óxico (Cances et al., 2005., Voegelin et al., 2015) lo que evita la absorción de arsénico durante las etapas no inundables del crecimiento de la planta de arroz. Durante la fase de inundación, el suelo del arrozal se vuelve temporalmente anóxico y el potencial redox del suelo se reduce drásticamente. Como resultado, se ha observado en el agua de los poros del suelo un aumento significativo de As disuelto con otros elementos sensibles al redox, como el hierro y el manganeso (Xu et al., 2017; Zhang et al., 2018). Varios procesos y condiciones geoquímicas del suelo pueden controlar la liberación de As en el agua de los poros.

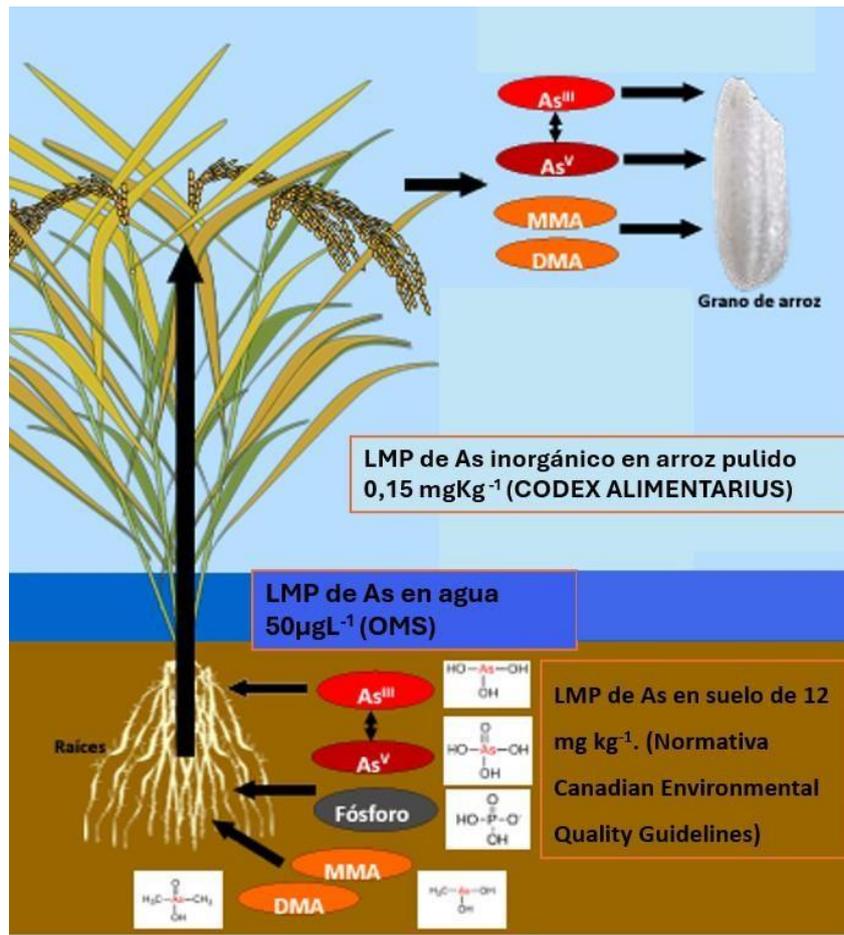
La movilización de arsénico en suelos inundados se atribuye a dos procesos principales. Primero, los oxihidróxidos de hierro se reducen y solubilizan, liberando el As absorbido en la fase de solución (Takahashi et al., 2004, Weber et al., 2010, Yamaguchi et al., 2011, LeMonte et al., 2017). En segundo lugar, el arseniato [As (V)] absorbido en la fase sólida se reduce a As (III), y este último se absorbe menos fuertemente que el As (V) y por lo tanto tiene una mayor tendencia a dividirse en la fase de solución (Masscheleyn et al., 1991, Takahashi et al., 2004). No es fácil separar estos dos procesos, y sus contribuciones relativas a la movilización de As pueden depender de las características químicas, físicas y microbiológicas del suelo. Aunque algunos microorganismos pueden reducir el As (V) absorbido en las superficies minerales, se encontró que la velocidad de reducción es mucho

más lenta que la de la reducción de As (V) en solución (Jones et al., 2000, Zobrist et al., 2000, Huang et al., 2011), sugiriendo que la disolución de las fases minerales es un proceso clave que controla la movilización de As. Es probable que la cristalinidad, el área de superficie y la reactividad de los oxihidróxidos de Fe sean factores importantes para explicar la variación entre suelos en las tasas de liberación de Fe y As, porque afectan tanto la capacidad de adsorción de As como la facilidad de disolución reductora de los óxidos (Bonneville et al., 2006).

En el arroz, las especies inorgánicas de As son las prevalentes, con una mayor proporción de  $\text{AsO}_3^{-3}$  en relación con el  $\text{AsO}_4^{-3}$ .

Además, se estima que el arroz contiene arsenozucos en una concentración menor al 1 %, que algunos autores han clasificado como potencialmente tóxicos (Feldmann et al., 2011).

Por otra parte, un estudio realizado sobre variedades de arroz de Europa, Bangladesh, India y Estados Unidos se observó que en los tres primeros grupos de muestras entre el 60-80% del As era inorgánico, en cambio, en el último, la forma predominante era DMA con solo un 42% de As inorgánico. Por consiguiente, las proporciones de As orgánico e inorgánico varían entre muestras (Figura 1.7); y mientras no haya información robusta en especiación de As como para predecir el riesgo asociado al consumo de arroz se debe asumir que el valor de As total representa el valor de As inorgánico (Williams et al., 2005).



**Figura 1.7.** Entrada y distribución del arsénico en la planta de arroz. LMP según las matrices evaluadas. Imagen adaptada de Poster INIA Quilamapu. 03-2022.

### Posibles estrategias para la reducción de Arsénico en arroz.

Como desarrollamos anteriormente, una de las estrategias para mitigar la absorción de Arsénico por las plantaciones de arroz es utilizar agua para el riego con niveles por debajo de los límites permitidos, con lo cual, conocer el contenido de arsénico en el agua antes de regar sería fundamental.

Para restringir la absorción de As en el arroz en estos suelos, se deben considerar reducir la entrada de As y la biodisponibilidad. Una de opciones para reducir la entrada de As en los suelos de arroz o la absorción por el arroz es cultivar arroz en condiciones aeróbicas, de inundación intermitente o de humedecimiento y secado alternativos (Alternate Wetting and Drying, AWD). Para reducir la biodisponibilidad de As en el suelo, son

prometedores el cultivo de arroz aeróbico o AWD y la aplicación de biocarbón, azufre (S) y/o abrillantador de arroz al suelo. Además, el uso de especies de plantas hiperacumuladoras de As, por ejemplo, *Pteris vittata* L, que puede tolerar de 100 a 1.000 veces más arsénico que otras plantas. Este helecho toma el arsénico del suelo y lo almacena en sus hojas, podría emplearse en rotación o en combinación con especies de plantas favorables como *Azolla*, *Chlorella* o *Nannochloropsis* especies. Un estudio reciente, plantea que el maíz puede limpiar el As del suelo, reduciendo la toxicidad del arsénico a través de compuestos conocidos como benzoxazinoides. Según el profesor Klaus Schleppei de la Facultad de Ciencias Ambientales de la Universidad de Basilea, estas sustancias son producidas por la mayoría de las plantas del grupo botánico de las gramíneas, el maíz produce cantidades especialmente grandes de benzoxazinoides, que también llegan al suelo a través del sistema radicular. Además, se podría promover el uso de cultivares de arroz que sean tolerantes a As. Por otro lado, las aplicaciones de fertilizantes de altas dosis de fósforo (P), hierro (Fe) y silicio (Si) se han mostrado prometedoras en muchos casos, aunque también se han reportado efectos negativos (Vahlensieck.,2024; Carracelas, et al.,2020)

Los principales factores que afectan la especiación y la biodisponibilidad del As en el suelo son las propiedades químicas, como el estado redox, el pH y las concentraciones de Fe, P, Si y S, las propiedades físicas, como la textura y la materia orgánica, y las propiedades biológicas, como la actividad de metilación de los microorganismos del suelo. Sin embargo, dado que muchos de estos factores interactúan, se necesita un estudio a largo plazo en condiciones de campo antes de recomendar e implementar medidas en los campos de los agricultores (García-Sánchez., et al. 2019; Rodríguez et al., 2018).

### **Determinación analítica de arsénico total y sus especies**

Desde el punto de vista analítico, la determinación de As total y sus especies en arroz es un desafío. Las técnicas más habituales para la determinación de As total en grano son Espectrometría de Emisión Atómica con detección por Masas, u Óptica (ICP-MS e ICP-OES respectivamente), Espectrometría de Absorción Atómica o de Fluorescencia Atómica con generación de hidruros (HG-AAS e HG-AFS respectivamente) y Espectrometría de Absorción Atómica con Atomización Electrotermica (GFAAS) (Codex, CX/CF 11/5/10, 2011; Meharg et al., 2012; WHO., 2011). Para la determinación de las especies de As

los métodos de referencia son HPLC-ICP-MS Y HPLC-HG-ICP-MS.

Estas técnicas son costosas debido al elevado precio de los equipamientos y reactivos que emplean. ICP-MS se presenta como la técnica con mejores límites de detección, pero, se trata una tecnología muy reciente en el país habiendo únicamente algunos equipos.

La mayoría de las metodologías para el análisis de especiación se basan en una separación previa de las especies, combinada con un sistema de detección que alcance bajos límites de detección y cada una de las etapas del proceso debe ser bien planificada y ejecutada para obtener resultados confiables. El arroz debe digerirse previamente y esa digestión es diferente según si se va a determinar arsénico total o si se va a determinar especies. Eso se debe a que la digestión para total es más "enérgica" y para la determinación de especies se trata es de que no se alteren las especies usando temperaturas más bajas y reactivos por ejemplo que no sean oxidantes fuertes.

### **Espectrometría de Absorción Atómica de llama (FAAS).**

La FAAS es una técnica analítica que se utiliza para determinar la cantidad de ciertos elementos presentes en una muestra. Se basa en el principio de que los átomos (e iones) pueden absorber luz a una longitud de onda específica y única. Cuando se proporciona esta longitud de onda específica, el átomo absorbe la energía (luz). Los electrones del átomo pasan del estado fundamental al estado excitado. Se mide la cantidad de luz absorbida y se puede calcular la concentración del elemento en la muestra. En donde un electrón se excita desde su estado fundamental a un nivel energético superior absorbiendo energía (luz) a una longitud de onda específica. En la espectroscopia de absorción atómica, la longitud de onda de la luz absorbida se determina por el tipo de átomo (de qué elemento se trata) y los niveles de energía a los que se desplazan los electrones. La cantidad de luz absorbida se determina por la concentración del elemento en la muestra (Agilent., 2025).

En la FAAS, se introduce una solución que contiene el analito en una llama. Esta convierte las muestras en átomos libres en estado fundamental, que pueden excitarse. Una lámpara que emite luz a una longitud de onda específica para los átomos se pasa a través de la llama y, al absorber la energía luminosa, los electrones de los átomos se elevan a un estado

excitado.

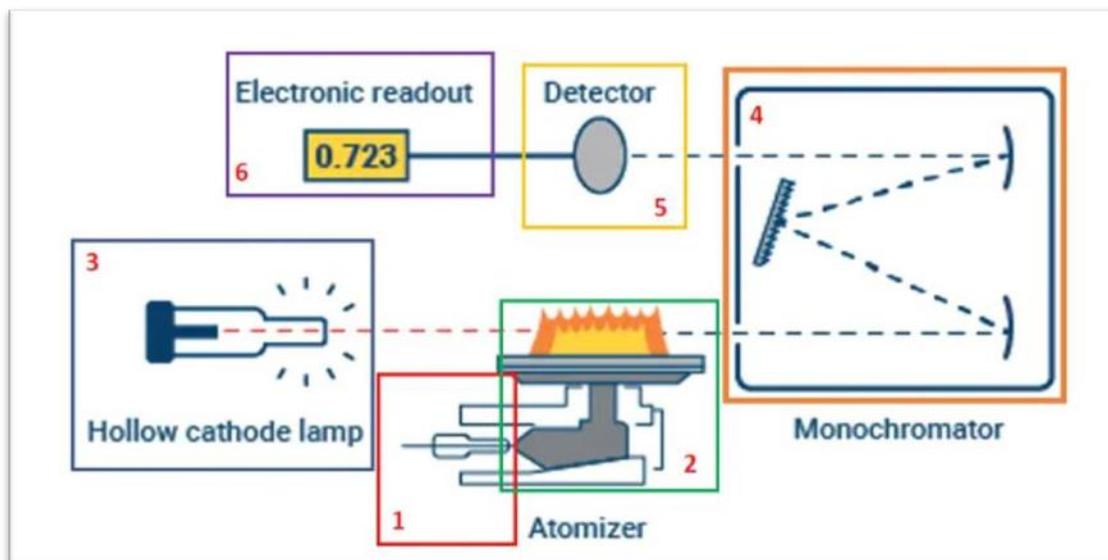
La Ley de Beer-Lambert describe la relación entre la absorción de luz y la concentración del elemento. Según esta ley, la cantidad de luz absorbida es proporcional al número de átomos excitados desde el estado fundamental en la llama.

El espectrómetro de absorción atómica funciona mediante:

1. Creación de un estado estable de átomos en estado fundamental libremente disociados utilizando una fuente de calor (llama)
2. El paso de luz de una longitud de onda específica a través de la llama. La longitud de onda corresponde a la cantidad de energía necesaria para excitar un electrón desde (típicamente) el estado fundamental hasta el primer estado excitado de un elemento específico.
3. Medir la cantidad de luz absorbida por los átomos a medida que pasan al estado excitado (absorción atómica).
4. Utilizando la absorbancia medida para calcular la concentración del elemento en una solución, basándose en un gráfico de calibración.

Un espectrómetro de absorción atómica de llama simple como se observa en la Figura 1.8 incluye:

1. Un sistema de introducción de muestra.
2. El quemador (llama) y sus suministros de gas asociados: aire-acetileno u óxido nitroso-acetileno.
3. Una fuente de luz, la lámpara de cátodo hueco (HCL).
4. Un monocromador (los componentes ópticos dentro de la caja en el diagrama).
5. Un detector óptico (tubo fotomultiplicador o PMT).
6. Control de instrumentos computarizados, recolección y análisis de datos.



**Figura 1.8.** Esquema de los componentes dentro del espectrómetro de absorción atómica. Imagen modificada de Agilent Technologies., 2025.

La cantidad de radiación absorbida a la longitud de onda característica aumenta con el número de átomos del elemento a determinar presentes en el camino del haz de radiación; comparando con patrones adecuados (calibración) y la concentración del elemento en la muestra puede ser estimada a partir de la cantidad de radiación absorbida. Para ello, se deben eliminar todos los componentes de la matriz que puedan interferir con la determinación. Esto se puede realizar restando el fondo midiendo un “blanco” libre del analito, o se puede medir y luego sustraer la señal de fondo (background).

En la técnica de introducción de muestra más comúnmente empleada en la espectrometría de absorción atómica ésta es nebulizada neumáticamente dentro de una cámara de nebulización. El aerosol producido es impulsado por una mezcla de gases combustibles y oxidantes a un quemador. El aerosol resultante se separa en partículas sólidas, que luego se convierten en moléculas gaseosas. Esta técnica posee una sensibilidad limitada, pues solamente el 10% de la disolución llega a la llama. A esto se le agrega el corto tiempo de permanencia de los átomos libres en la llama y en el camino del haz de radiación (Skoog et al., 2018).

Existen diferentes tipos de llama que pueden ser usados en espectrometría de absorción atómica. Las llamas aire/acetileno son el tipo más usado ya que proveen de una temperatura lo suficientemente alta para la determinación de muchos elementos.

Para determinar As se empleó Espectrometría de Absorción Atómica con generación de Hidruros (HG-AAS), el As es un elemento que forman hidruros volátiles al ser tratado con una disolución ácida de  $\text{NaBH}_4$ . Los hidruros liberados fluyen del recipiente de reacción por medio de una corriente de un gas portador inerte, en este caso de Ar a un tubo de cuarzo abierto en los extremos, el cual es calentado por medio de una llama de aire/acetileno. El tubo de cuarzo se monta por encima del quemador y se alinea con el haz de radiación proveniente del espectrómetro. La temperatura del tubo calentado de esta manera es tal que los hidruros se descomponen para producir átomos libres de los elementos a ser determinados, e hidrógeno. La respuesta es dependiente de los estados de oxidación de los elementos a ser determinados. De esta manera, los compuestos de As deberán contenerlos en su estado (III) antes del agregado de  $\text{NaBH}_4$  (Ramesh y Riyazuddin, 2005). Las técnicas de introducción de muestra en fase gaseosa se basan usualmente en la generación de un compuesto volátil, se produce la conversión selectiva del analito de la muestra líquida a la fase gaseosa por medio de una reacción química que da como resultado un compuesto volátil del analito. Aquí ocurre también la preconcentración del analito y su separación de la matriz de la muestra., como resultado, se obtiene una sensibilidad superior y una importante supresión de interferencias durante la atomización. Este proceso consta de tres pasos independientes: la preparación de la muestra, la generación del compuesto volátil y la atomización/detección. En el primer paso, las matrices biológicas u orgánicas deberán ser completamente descompuestas, cuidando de no tener pérdidas por volatilización o descomposición incompleta. Además, se necesitan blancos de reactivos significativos y realizar la conversión completa del analito al estado de oxidación óptima. El segundo paso, se realiza la prerreducción y liberación del compuesto volátil de la disolución de la muestra, el cual es transferido a la fase gaseosa, y luego transportado por un flujo de gas portador a un atomizador/detector. La separación gas- líquido en este caso se realiza mediante métodos en flujo. El separador gas-líquido (GLS) empleado fue de membrana. Estos consiguen la separación en un canal con la mezcla de reacción fluyendo a través la bobina de reacción. La mezcla líquida de reacción permanece en la bobina de reacción y fluye hacia los desechos.

En cuanto a la preparación de la muestra, es conveniente que el analito finalice su transformación en el estado de oxidación óptimo para la formación de su hidruro. En el caso del As, se requiere una prerreducción para llegar al mayor estado de oxidación. La mayoría de los procedimientos de prerreducción emplean yoduros y/o ácido ascórbico.

La formación de hidruros por medio de la reducción con tetrahidroborato ( $\text{BH}_4^-$  / medio ácido) del analito es llevada a cabo usualmente en medio ácido, en este caso HCl al 10%.

En general se emplea NaOH de 0,05-2% (m/v) para la estabilización de la disolución de  $\text{NaBH}_4$ . El gas portador puede también ayudar a la liberación del hidruro por arrastre del hidruro fuera de la solución de la muestra (Dědina, 1999). El requisito esencial para usar un determinado gas como portador es, que sea inerte frente al hidruro formado.

Las interferencias en la generación de hidruros pueden aparecer, en la fase líquida, durante la formación del hidruro y/o durante su transferencia de la disolución a la fase gaseosa o en la fase gaseosa, afectando al analito durante el pasaje del hidruro hacia el atomizador (interferencias de transporte). Las interferencias de este tipo pueden actuar en forma directa afectando la eficiencia de liberación del hidruro o también generando un efecto memoria que afecta la siguiente determinación y altera la forma de los picos. La aparición de dicha interferencia puede ser atenuada incrementando el suministro de  $\text{BH}_4^-$  o la longitud de la bobina de reacción (Dědina, 1999).

Hay numerosas interferencias en la fase líquida que se clasifican en dos grupos básicos: interferencias por compuestos e interferencias de la matriz. La primera se observa cuando el analito en la muestra se encuentra en una forma diferente a la presente en la disolución estándar, la liberación del hidruro puede ser distinta en la muestra con respecto a la liberación en el estándar, aún si el estándar se agrega a la muestra. Este tipo de interferencias tienen lugar en la preparación de la muestra cuando se emplean tratamientos con  $\text{HNO}_3$  para la digestión de matrices con alto contenido de materia orgánica. En cambio, las interferencias de la matriz tienen lugar cuando los componentes de la matriz afectan la liberación del hidruro. Los interferentes inorgánicos más serios son iones de metales de transición, ejemplo: Ni, Cu, Co, Fe, Ag, Au, Pd, Pt, Rh, algunos de ellos muy comunes en matrices como aguas y alimentos entre otras (Pierce y Brown, 1976, Dědina y Tsalev, 1995, Zhang y Adeloju, 2008). El mecanismo más probable de esta interferencia es una captura del hidruro por las especies formadas por la reacción del interferente con  $\text{BH}_4^-$ . Para prevenir dichas interferencias, se debe remover el interferente. La preparación de la muestra es crítica y debe minimizar el contenido de partículas sólidas o suspensiones orgánicas en la muestra. En el caso de interferencias inorgánicas, su remoción requiere una separación. La separación de los interferentes se consigue típicamente cuando se realiza la preconcentración del analito que intenta mejorar su límite de detección. Algunas estrategias

muy usadas para preconcentración/separación son: (a) extracción con solvente, (b) separación por intercambio iónico, (c) coprecipitación con  $\text{Fe}(\text{OH})_3$ ,  $\text{La}(\text{OH})_3$ ,  $\text{Mg}(\text{OH})_2$ ,  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ,  $\text{MnO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ , etc., (d) destilación y (e) precipitación selectiva del interferente. Otra alternativa de controlar las interferencias inorgánicas es mediante la elección apropiada de las condiciones químicas e instrumentales del paso de generación de hidruro. La precipitación puede ser reducida empleando agentes enmascarantes o agentes liberadores. Los agentes enmascarantes se unen al interferente y forman compuestos (una manera de enmascarar algunos interferentes es por ejemplo aumentar la concentración de HCl), mientras que los agentes liberadores reaccionan con  $\text{BH}_4^-$  preferiblemente. En ambos casos, la formación de un precipitado interferente es demorada o prevenida. (Zhang y Adeloju, 2008). Otra manera es disminuir el tiempo de contacto del hidruro formado con el precipitado haciendo la separación gas-líquido más rápida.

En cuanto a la digestión de las muestras, en el capítulo 3 se desarrollarán los procedimientos, así como los experimentos realizados para la elección del procedimiento más adecuado para cada matriz según su composición.

Es imprescindible para toda medida analítica, que ésta sea consistente, fiable y exacta. El aseguramiento de la calidad es un sistema de actividades cuyo propósito es proveer a quien produce el proceso o al cliente o usuario de un producto o a un servicio, la certeza de que el mismo cuenta con estándares de calidad con un cierto nivel de confianza (Taylor, 1987). Para ello, una vez establecidas las condiciones adecuadas para las determinaciones se procedió a realizar la validación de la metodología siguiendo la Guía Eurachem, esto se desarrollará en detalle durante el capítulo 3.

### **Reglamentaciones vigentes: límite máximo permitido (LMP) de detección de arsénico en arroz.**

En su informe científico de 2021 (7), la Unión Europea evaluó la exposición dietética crónica al arsénico inorgánico, tomando en cuenta los datos más recientes de presencia de arsénico inorgánico en los alimentos. Concluyó que, a través de las diferentes edades, los principales contribuyentes a la exposición dietética al arsénico inorgánico fueron el arroz, los productos a base de arroz, los granos y productos a base de cereales que no contengan arroz y agua potable. Se concluyó además que en particular los alimentos indicados para la población

joven, por ejemplo, alimentos a base de cereales para lactantes y niños pequeños, bizcochos y galletas para niños, preparados para lactantes, alimentos para usos médicos especiales destinados a lactantes y niños pequeños, alimentos infantiles y zumos de frutas contribuyeron de forma relevante a la exposición dietética al arsénico inorgánico en este grupo de población.

El límite permitido se refiere solo a As inorgánico y se ha establecido en 0,15 mgkg<sup>-1</sup> para arroz blanco y sancochado, 0,25 mgkg<sup>-1</sup> para arroz descascarillado, 0,10 mgkg<sup>-1</sup> para arroz para lactantes y productos alimenticios para niños, 0,25 mgkg<sup>-1</sup> para harina de arroz y 0,30 mgkg<sup>-1</sup> para otros productos alimenticios a base de arroz (U.E., 2021; FAO y OMS, CODEX ALIMENTARIUS., 2019).

En la Res. N° 20/19 Rev. 1 El MERCOSUR resuelve actualizar los LMP de As en arroz para ajustarlo a lo establecido en el CODEX Alimentarius quedando expresada en la tabla:

**Tabla 1.2.** LMP de As en arroz establecidos por el MERCOSUR RES.N°20/19.

<b>ARSÉNICO</b>		
<b>Categorías</b>	<b>Límite máximo (LM) (mgKg<sup>-1</sup>)</b>	
Arroz descascarado	0.35	El LM es para arsénico inorgánico (As-in). Como primera elección se puede realizar el análisis de arsénico total (As-tot). Si la concentración de As-tot es inferior al LM de As-in, no es necesario ningún ensayo adicional y se determina que la muestra cumple el LM. Si la
Arroz pulido	0.2	
		concentración de As-tot es superior al LM de As-in, se realizarán ensayos adicionales para determinar si la concentración de As-in es superior al LM.

## BIBLIOGRAFÍA

Abedin J., Cresser M., Meharg A., Feldmann J., Cotter-Howells J. (2002). Arsenic Accumulation and Metabolism in Rice (*Oryza sativa* L.). *Environmental Science & Technology*. 36, p. 962-968.

Ale, Lucas., Verger, Melissa., Raab, Andrea., Feldmann, Jörg., Vida, Fernando., Rosas, Juan. (2020). MAPEO ASOCIATIVO DE ARSÉNICO EN GRANO DE ARROZ EN GERMOPLASMA AVANZADO DE INIA. 10.35676/INIA/ST.257.

Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. (ATSDR). 2007. Reseña Toxicológica del Arsénico (versión actualizada) (en inglés). Atlanta, GA: Departamento de Salud y Servicios Humanos de EE. UU., Servicio de Salud Pública. [www.atsdr.cdc.gov/es](http://www.atsdr.cdc.gov/es). Acceso 22 de febrero 2018. [https://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es\\_tfacts2.html](https://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts2.html)

Agilent Technologies. <https://www.agilent.com/en/support/atomic-spectroscopy/atomic-absorption/flame-atomic-absorption-instruments/how-does-aas-work-aas-faqs>

Acceso 20 de mayo de 2025.

Asociación de Cultivadores de Arroz. “Guía de Buenas Prácticas en el Cultivo de Arroz en Uruguay”. (GBPA 2018). [www.aca.com.uy](http://www.aca.com.uy)

Asociación de Cultivadores de Arroz. ACA. Revista n°105. Informe de la zafra de arroz 2021-2022. [www.aca.com.uy](http://www.aca.com.uy) INIA(2022)

Azizur Rahman M., Hasegawa H, Mahfuzur Rahman H., Mazid Miah MA., Tasmin A. (2008). Arsenic accumulation in rice (*Oryza sativa* L.): Human exposure through food chain. *Ecotoxicology and environmental safety*. 69, p.317-324.

Baker, DE y Chesnin, L. (1975). Monitoreo químico de suelos para calidad ambiental y salud animal y humana. *Avances en agronomía*, 27, 305-374.

Bodek, I. (1988). *Environmental inorganic chemistry: properties, processes, and estimation methods*. Pergamon.

S. Bonneville y col. Reducción de coloides de Fe (III) por *Shewanella putrefaciens*: un modelo cinético. *Geochimica Cosmochimica Acta* (2006).

CA Jones y cols. Tasas de reducción y solubilización de arseniato mediadas microbianamente. *Ciencia del suelo. Soc. Soy. J.* (2000).

Campos, F., 2022.  
<https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/33090/1/CamposFederico.pdf>

Canadian Council of Ministers of the Environment, Canadian Environmental Quality Guidelines [Internet]. Disponible desde <http://ceqg-rcqe.ccme.ca/en/index.html>

B. Cancès, F. Juillot, G. Morin, V. Laperche, L. Álvarez, O. Proux, JL. Hazemann, GE Brown y G. Calas. Evidencia XAS de asociación de As(V) con oxihidróxidos de hierro en un suelo contaminado en una antigua planta de procesamiento de pesticidas arsénico. *Ciencia y tecnología ambientales* 2005 39 (24), 9398-9405 [DOI: 10.1021/es050920n](https://doi.org/10.1021/es050920n)

Carracelas, G., Hornbuckle, J., Verger, M., Huertas, R., Ricetto, S., Campos, F., Roel, A., 2019. Manejo del riego y efectos de variedad en los niveles de arsénico en granos de arroz en Uruguay. *J. Agric. Alimentos Res.* 1, 100008. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2019.100008>.

Carracelas, G., et al. (2020). *Efectos del manejo del riego y variedades en los niveles de arsénico en el grano de arroz en suelos de Uruguay*. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA).

Civán, P., Graig, H., Cox, C., et al. 2015. Three geographical separate domestications of Asian rice. *Nat. Plants* 1:15164.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION (2011). Discussion paper on arsenic in rice March 2011CX/CF11/5/10, FAO, WHO. Disponible desde [ftp://ftp.fao.org/codex/meetings/cccf/cccf5/cf05\\_10e.pdf](ftp://ftp.fao.org/codex/meetings/cccf/cccf5/cf05_10e.pdf) [14/09/14].

Commission Regulation (EU) 2023/465 of 3 March 2023 amending Regulation (EC) N° 1881/2006 as regards maximum levels of arsenic in certain foods.

<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32023R0465>.

COUNCE, P., KEISLING, T., MITCHELL, A. 2000. A Uniform, Objective and Adaptive System for Expressing Rice Development. *Crop Science* 40:436-443.

Cullen, William R.; Reimer, Kenneth J. Especiación de arsénico en el medio ambiente. *Revisiones químicas*, 1989, vol. 89, n° 4, pág. 713-764.

Charter, R., Tabatabai, M., Schafer, W., (1995) Contenido de arsénico, molibdeno, selenio y tungsteno en fertilizantes y rocas de fosfato, *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 26:17-18, 3051-3062, DOI: [10.1080/00103629509369508](https://doi.org/10.1080/00103629509369508)

Das HK, Mitra AK, Sengupta PK, Hossain A, Islam F, Rabbani GH. 2004. Arsenic concentrations in rice, vegetables, and fish in Bangladesh: A preliminary study. *Environment International*, 30: 383–387. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2003.09.005>

Dedina J., Tsalev D.L., Winefordner J.D., Kolthoff I.M., (1995) **Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry**. Vol. 130. Inglaterra, John Wiley & Sons Ltd.

Dedina, J. (1999). Flow methods in gas-liquid separations. En: Sanz-Medel A. (Ed.). *Flow Analysis with Atomic Spectrometric Detectors*. Ámsterdam: Elsevier Science B.V

Díaz Rosello, R. 40 años de rotaciones. Introducción a la actividad experimental. En :40 años de rotaciones agrícolas- ganaderas. Serie Técnica 134, INIA La Estanzuela. Pp IX- XIII, 2003.

DIEA. MGAP, Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca, 2020. Anuario Estadístico. concentración en el agua proveniente de varias fuentes en una zona arroceras de Uruguay.

DIEA, MGAP, Ministry of livestock agriculture and fisheries. Encuesta de Arroz Zafra 2020/2021. 2021, Accessed on 16 September, 2021. Available at:

[https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/sites/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/files/2020-02/el cultivo de arroz en el uruguay - junio 2003.pdf](https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/sites/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/files/2020-02/el_cultivo_de_arroz_en_el_uruguay_-_junio_2003.pdf)

DURÁN, A.; CALIFRA, A.; MOLFINO, J.H. 1999. Suelos del Uruguay según Soil Taxonomy. Montevideo: Universidad de la República. Facultad de Agronomía; MGAP. División de Suelos y Aguas.

El País Digital. (2013). Exportaciones de arroz uruguayo siguen tonificadas pese a competencia [Internet]. Montevideo, Uruguay, El País S.A. Disponible desde <http://www.elpais.com.uy/economia/rurales/exportaciones-arroz-uruguayo-siguentonificadas.html>, [14/09/14].

FAO, 1976. Esquema para la Evaluación de Tierras. Boletín de suelos FAO número 32, Roma.

FAO, 2018. FAOSTAT Database Collections. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Food outlook biannual report on global food markets, Rome. Nov. 2018. URL: <http://www.fao.org/faostat>. Accessed on: 2021

FAO y OMS, CODEX ALIMENTARIUS: normas alimentarias internacionales, 2019. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Organización Mundial de la Salud (OMS), Norma general para contaminantes y toxinas en alimentos y piensos. CXS, págs. 193–1995. Consultado en: 2021. [http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?](http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FS tandards%252FCXS%2B193-1995%252FCXS_193e.pdf)

[lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FS tandards%252FCXS%2B193-1995%252FCXS\\_193e.pdf](http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FS tandards%252FCXS%2B193-1995%252FCXS_193e.pdf)

Feldmann J., Krupp E. (2011). Critical review or scientific opinion paper: Arsenosugars- a class of benign arsenic species or justification for developing partly speciated arsenic fractionation in foodstuffs? *Analytical and Bioanalytical Chemistry*.399, p. 1735-1741.

Falchi, L., Pizzorno, P., Iaquina, F., Cousillas, A., 2018. Relevamiento de la concentración de arsénico total en agua proveniente de varias fuentes en una zona arrocería del Uruguay. *Revista del Laboratorio Tecnológico del Uruguay* 17, 10–17. <https://doi.org/10.26461/17.07>.

Gao, S. y Bureau, RG (1997). *Factores ambientales que afectan las tasas de evolución de arsina y la mineralización de arsenicales en el suelo* (Vol. 26, No. 3, pp. 753-763). Sociedad Estadounidense de Agronomía, Sociedad de Ciencias de Cultivos de América y Sociedad de Ciencias del Suelo de América.

García-Sánchez, A., et al. (2019). *Factores que afectan a la movilidad del arsénico en los suelos*. Universidad de La Rioja.

Garris, A., Tai, T., Coburn, J., et al. 2005. Genetic structure and diversity in *Oryza sativa* L. *Genetics* 169:1631-1638.

González, M., & Rodríguez, J. (2020). Efecto y mitigación de la toxicidad por arsénico y cadmio en cultivo de arroz. *Revista de Ciencias Ambientales*, 54(2), 45-60.

Hossain M.B, Jahiruddin M., Panauallah G.M, Loeppert R.H, Islam M.R, Duxbury J.M. (2008). Spatial variability of arsenic concentration in soils and plants, and its relationship with iron, manganese and phosphorus. *Environmental Pollution*. 156, p. 739-744.

Hu et al., 2013b - Hu P., Li Z., Yuan C., Ouyang Y. (2013). Effect of water management on cadmium and arsenic accumulation by rice (*Oryza sativa* L.) with different metal accumulation capacities. *Journal of Soils and Sediments*.13, p. 916-924.

J H. Huang *et al.* Influencia de la adsorción de arseniato a ferrihidrita, goethita y boehmita en la cinética de reducción de arseniato por la cepa CN-32 de *Shewanella putrefaciens*. *Reinar. Ciencia. Tecnología.* (2011).

Huang, J., et al. (2011). Arsenic mobility and bioavailability in contaminated soils. *Environmental Pollution*, 159(6), 1600-1606.

Instituto Nacional de Innovación Agropecuaria y Forestal (INIA). (2021). Concentración de arsénico en arroz con diferentes prácticas de manejo. En *Efectos del manejo del riego bajo dos niveles de agua en la acumulación de arsénico en el grano de arroz* (pp. 6-10). INIA.

INASE. Descripción de variedades de arroz. <http://www.inase.org.uy>

International Agency for Research on Cancer. (2012). Arsenic, metals, Fibres, and dusts: a review of human carcinogens. vol, 100, 527.

Islam, S., Rahman, M.M., Islam, M.R., Naidu, R., 2016. Arsenic accumulation in rice: Consequences of rice genotypes and management practices to reduce human health risk. *Environ. Int.* <https://doi.org/10.1016/j.envint.2016.09.006>

IUPAC. Terminology of elemental speciation – An IUPAC perspective D.M. Templeton, H. Fujishiro / *Coordination Chemistry Reviews* 352 (2017) 424–431.

Karlen, D. L., Mausbach, M. J., Doran, J. W., Cline, R. G., Harris, R. F., & Schuman, G. E. (1997). Soil quality: a concept, definition, and framework for evaluation (a guest editorial). *Soil Science Society of America Journal*, 61(1), 4-10.

LeMonte, J., & Fendorf, S. (2017). Arsenic mobilization in flooded soils: The role of iron and sulfur cycling. *Environmental Science & Technology*, 51(9), 5163-5171.

Machado, I., Falchi, L., Bühl, V., Mañay, N., 2020. Niveles de arsénico en aguas subterráneas y su correlación con parámetros inorgánicos relevantes en Uruguay: una perspectiva de geología médica. *ciencia Entorno Total*. 721, 137787.

<https://doi.org/10.1016/j.ya.sabes.2020.137787>.

Mañay, N., Pistón, M., Cáceres, M., Pizzorno, P., Bühl, V., 2019. Una visión general de problemas de arsénico ambiental y riesgos de exposición en Uruguay. *ciencia Entorno Total*. 686, 590–598. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.443>.

Marin, A. R., Masscheleyn, P. H., & Patrick, W. H. (1992). The influence of chemical form and concentration of arsenic on rice growth and tissue arsenic concentration. *Plant and Soil*, 139(2), 175-183.

Masscheleyn, P. H., Delaune, R. D., & Patrick, W. H. (1991). Effect of redox potential and pH on arsenic speciation and solubility in a contaminated soil. *Environmental Science & Technology*, 25(8), 1414-1419 <https://doi.org/10.1021/es00020a008>

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

Meharg A., Zhao F-J. (2012). Arsenic & Rice, [Internet], Springer Science +Business Media B.V. Disponible desde < <http://timbo.org.uy/biblio/Arsenic+%26+Rice/71782>> [20/09/14].

Patel K.S., Shrivastava K., Brandt R., Jakubowski N., Corns W., Hoffman P. (2005). Arsenic contamination in water, soil, sediment and rice of central India. *Environmental Geochemistry and Health*. 27, p. 131-145

Ramesh, K., & Riyazuddin, P. (2005). Mechanism of Volatile Hydride Formation and Their Atomization in Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry. *Analytical Sciences*, 21(12), 1401-1410

Rhine, E., Phelps, C., Young, L., - Oxidación anaeróbica de arsenito por nuevos aislados desnitrificantes. *Microbiología ambiental*, 2006 - Wiley Online Library

Rodríguez, M., et al. (2018). *Distribución de especies inorgánicas y orgánicas de arsénico en suelos afectados por biosólidos*. Universidad de Chile.

Roel, A., Campos, F., Verger, M., Huertas, R., Carracelas, G., 2021. Variabilidad regional del contenido de arsénico en arroz pulido uruguayo.

Serie Técnica INIA N° 179 - 10 años de la Unidad de Producción Arroz Ganadería, Serie Técnica N° 38 – Rotación arroz-pasturas: análisis físico económico del cultivo, Serie FPTA

Nº 21 – Producción de carne eficiente en sistemas Arroz-Pasturas.

Seyfferth, A. L., Limmer, M. A., Dykes, G. E. 2018. On the Use of Silicon as an Agronomic Mitigation Strategy to Decrease Arsenic Uptake by Rice. 149, 49-91. [https://doi: 10.1016/bs.agron.2018.01.002](https://doi.org/10.1016/bs.agron.2018.01.002)

Skoog, D.A., Holler, F.J., y Crouch, S.R. (2018) Principios de análisis instrumental. 7ª edición. Cengage Learning Editores. México, México.

Smith A., Lingas E., Rahman M. (2000). Contamination of drinking-water by arsenic in Bangladesh: a public health emergency, [Internet], Bulletin of the World Health Organization. 78, (9). Disponible desde < <http://www.who.int/bulletin/archives/78%289%291093.pdf> [28/03/2015]

Su YH, McGrath SP, Zhao FJ. 2010. Rice is more efficient in arsenite uptake and translocation than wheat and barley. Plant and Soil, 328: 27–34. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-0074-2>.

Suriyagoda., L, Dittert., K., Lambers, H, Arsenic in Rice Soils and Potential Agronomic Mitigation Strategies to Reduce Arsenic Bioavailability: A Review, Pedosphere, Volume 28, Issue 3, 2018, Pages 363-382, ISSN 1002-0160, [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(18\)60026-8](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(18)60026-8). (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1002016018600268>)

Sun, H. J., Rathinasabapathi, B., Wu, B., Luo, J., Pu, L. P., & Ma, L. Q. (2014). Arsenic and selenium toxicity and their interactive effects in humans. Environment international, 69, 148-158.

Takahashi, Y., Kawai, S., & Sato, T. (2004). Mobilization of arsenic in soils under flooded conditions. *Environmental Science & Technology*, 38(1), 103-108.

Tenni, D., Martin, M., Barberis, E., Beone, G. M., Miniotti, E., Sodano, M., ... & Romani, M. (2017). Total As and As speciation in Italian rice as related to producing areas and paddy soils properties. *Journal of agricultural and food chemistry*, 65(17), 3443-3452.

UE, Unión Europea, 2021. REGLAMENTO (UE) 2015/1006 DE LA COMISIÓN, de 25 de junio de 2015, por el que se modifica el Reglamento (CE) n.º 1881/2006 en lo que respecta a los niveles máximos de arsénico inorgánico en los productos alimenticios. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32015R1006&from=EN>.

Uruguay XXI, (2013), Sector Arroceros, [Internet], Uruguay, Uruguay XXI Instituto de

Promoción de Inversiones y Exportaciones. Disponible desde <http://www.aca.com.uy/datos-estadísticos>

Uruguay XXI., (2013).

<https://www.gub.uy/presidencia/comunicacion/noticias/exportaciones-uruguay-2013-fueron-us-9155-millones-48-ano-2012>

Uruguay XXI., (2024). Informe mensual comercio exterior, agosto 2024.

133b80880e0e922690b07680a397fb0b8581b928 PDF ([www.uruguayxxi.gub.uy](http://www.uruguayxxi.gub.uy)) acceso 15/03/2025.

Vahlensieck, Y. (2024). *Los investigadores descubren que el maíz reduce la toxicidad del arsénico en el suelo*. Universidad de Basilea.

Wang, C., Zheng, X., Xu, Q., et al. 2014b. Genetic diversity and classification of *Oryza sativa* with emphasis on Chinese rice germplasm. *Heredity* 112:489-496.

Weber, F.-A., A.F. Hofacker, A. Voegelin, and R. Kretzschmar. 2010. Temperature dependence and coupling of iron and arsenic reduction and release during flooding of a contaminated soil. *Environ. Sci. Technol.* 44(1):116–122. <https://doi:10.1021/es902100h>

Weber, K., & Kirchner, G. (2010). Influence of redox conditions on arsenic mobility in contaminated soils. *Environmental Geology*, 59(1), 45-53

World Health Organization (WHO). (2004). Arsenic in drinking-water: Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality. Recuperado de [https://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/dwq/arsenic.pdf](https://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/arsenic.pdf)

WHO. (2011). Evaluation of certain contaminants in food: seventy-second report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, WHO Technical Report Series [Internet], N° 959. Disponible desde [ [http://whqlibdoc.who.int/trs/who\\_trs\\_959\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/trs/who_trs_959_eng.pdf)]

Williams P.N., Price A.H., Raab A., Hossain S.A., Feldmann J., Meharg A. (2005). Variation in Arsenic Speciation and Concentration in Paddy Rice Related to Dietary Exposure. *Environmental Science & Technology*. 39, p. 5531-5540.

Xu, H., et al. (2017). The journey of arsenic from soil to grain in rice. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1007.

Yamaguchi, N., Sakamoto, Y., & Sato, T. (2011). Reduction of arsenic species in flooded

soils and its effect on arsenic mobility. *Environmental Science & Technology*, 45(12), 5225-5231.

Zhang, Y., & Adeloju, S. B. O. (2008). Determinación de selenio, arsénico y bismuto mediante espectrometría de absorción atómica con generación de hidruros por inyección en flujo. *Talanta*, 76(3), 724-730.

Zhang, Y., et al. (2018). Heavy metal pollution, ecological risk, spatial distribution, and source identification of sediments in the Zijiang River, China. *Environmental Pollution*, 243, 1012-1022.

Zhao, FJ., McGrath, S., Meharg, A., El arsénico como contaminante de la cadena alimentaria: mecanismos de absorción y metabolismo de las plantas y estrategias de mitigación *Revisión anual de biología vegetal* 2010 61: 1, 535-559.

Zobrist, J., et al. (2000). Reduction of arsenic(V) to arsenic (III) by soil bacteria. *Environmental Science & Technology*, 34(22), 4608-4613.

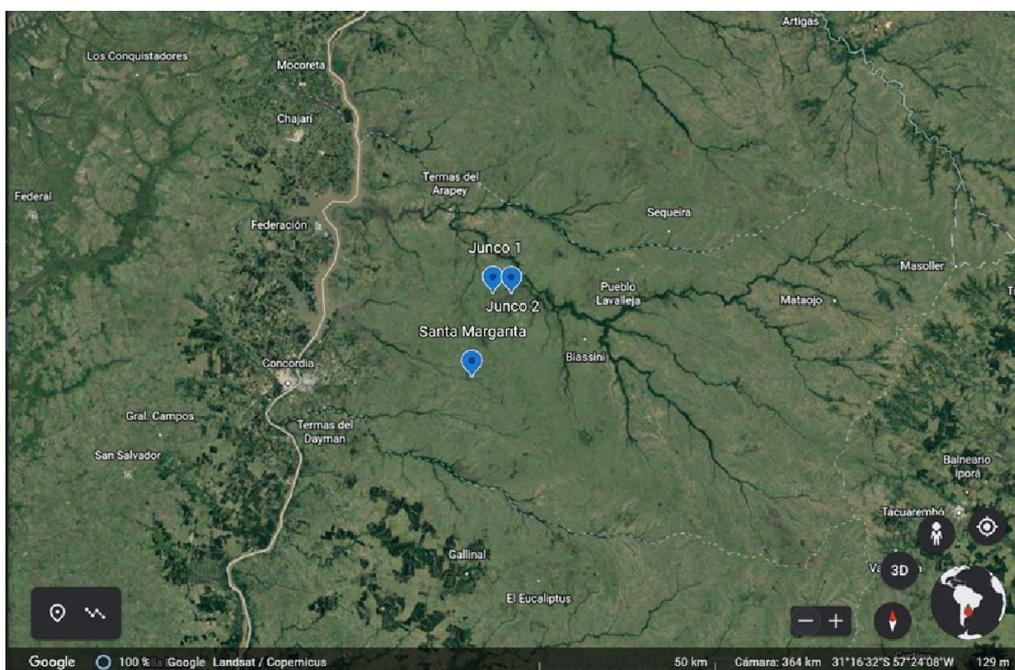
## **CAPITULO II**

### **METODOLOGÍA**

En este Capítulo se presenta una descripción de los sitios y las matrices estudiadas, la metodología empleada para la extracción de los analitos de interés y la metodología y procedimientos para el análisis de los mismos. Se describen los estudios en campo, medición de parámetros en campo, colecta de muestras de suelo, planta de arroz y agua en el Establecimiento el Junco, Salto, Uruguay.

## 2.1 Sitios de estudio

Los sitios de estudio se eligieron por conveniencia ya que se viene trabajando en ellos hace mucho tiempo y se cuenta con acceso a los mismos. Para la Tesis se seleccionaron 3 chacras en el departamento de Salto, con diferente suelo e historia del cultivo, denominados Junco 1, Junco 2 y Santa Margarita (Figura 2.1). El manejo de los predios se realizó a nivel comercial, sembrándose en el sitio Junco 1 ( $31^{\circ}09'12''$   $57^{\circ}19'11''$ ) la variedad Olimar C1, el día 26/9/2021 unas 101 hectáreas. En el sitio Junco 2 ( $31^{\circ}09'59''$  LS;  $57^{\circ}21'09''$  LW), el día 28/10/2021 se sembraron unas 265 hectáreas de la variedad Merín C1. Y, finalmente, en el sitio Santa Margarita ( $31^{\circ}22'17''$  LS;  $57^{\circ}28'35''$  LW), el día 7/10/2021 se sembraron unas 142 hectáreas de la variedad Gurí CLC1.



**Figura 2.1.** Mapa del departamento de Salto donde en color azul se referencian los 3 sitios de muestreo.

El trabajo se realizó durante la temporada de cultivo 2021 – 2022. La gestión de campo fue realizada por la empresa, Junco 1 y 2 se sembraron mediante siembra neumática, mientras que, en Santa Margarita, se utilizó una sembradora de siembra directa Semeato.

Se aplicó fosfato di amónico (Microstar 18/46) durante la siembra en todos los sitios. El nitrógeno se aplicó como urea (46 % N) tres veces durante el ciclo del cultivo: en las

etapas de macollaje (2 aplicaciones, una al inicio y otra a los 15 días) y la tercera aplicación en primordio. Las principales prácticas de gestión se resumen en Tabla 2.1.

**Tabla 2.1-** Principales fechas y datos del cultivo y manejo del riego para los 3 sitios en la zafra 2021-2022.

Sitio	Variedad	Área (ha)	fecha de siembra	fecha de emergencia	Cosecha
Junco 1	Olimar	101	25/9/2021	12/10/2021	14/3/2022
Junco 2	Merin	265	28/10/2021	9/11/2021	26/4/2022
Santa Margarita	Gurí	142	7/10/2021	24/10/2021	31/3/2022
Sitio	Inicio del Riego	Final del Riego	Días de Riego	Gasto m <sup>3</sup> / ha	
Junco 1	27/10/2021	22/2/2022	118	10.262	
Junco 2	16/11/2021	28/3/2022	132	14.821	
Santa Margarita	1/11/2021	23/2/2022	114	17.385	

Para los sitios Junco 1 y Junco 2 el riego se terminó tres semanas antes de la cosecha, en cambio, para Santa Margarita 5 semanas previo a la cosecha. Las aplicaciones para el control de malezas y plagas se encuentran resumidas en la Tabla 2.2 y Tabla 2.3.

**Tabla 2.2-** Resumen de las aplicaciones realizadas para el control de malezas en los tres sitios durante el ciclo de cultivo 2021-2022.

Sitio	Fecha	Problema	Producto
Junco 1	24-set-21	Raigrass, hojas anchas	Glifosato (Power Rango)
			Dombell
			Cibelcol
			Grun oil
	25-set-21	Raigrass, hojas anchas	Glifosato (Power Rango)
			Dombell
			Cibelcol
			Grun oil
Junco 2	24-Jul-21	Raigrass	Glifosato (Pampa gold)
			Proasper
	2-Ago-21	Raigrass	Glifosato (Pampa gold)
			Grun oil
	28-Oct-21	Capin, digitaria	Glifosato (Power Rango)
			Cibelcol
		Dombell	

			Grun oil
Santa Margarita	31-Ago-21	Raigrass	Glifosato (Pampa gold)
			Grun oil
	8-Oct-21	Hojas anchas Raigrass	Glifosato (Power Rango)
			Cibelcol
			Dombell
			Grun oil

**Tabla 2.3-** Resumen de las aplicaciones realizadas con avión para el control de plagas en los tres sitios durante el ciclo de cultivo 2021-2022.

Sitio	Fecha	Problema	Producto
Junco 1	24-Nov-21	Digitaria/ capin	Foxer
			Metamifox
			Extremo
Junco 2	30-Nov-21		Bispirine
			Extremo
	15-Dic-21	Capin digitaria	Foxer
			Metamifox
Santa Margarita	17-Nov-21	Capin, digitaria	Extremo
			Kifix

Para delimitar el área de estudio, dentro de cada sitio, se marcaron como referencia 4 puntos a unos 200 m de distancia uno de otro con dirección hacia los puntos cardinales (Norte, Sur, Este y Oeste). En dichos puntos se instalaron los lisímetros para succión de agua de suelo como se observa en la Figura 2.5. De esta forma, se delimitó un área romboide de unas 4 hectáreas en cada sitio y, en donde se obtuvieron 4 repeticiones para un muestreo más representativo, tal como se muestra en las Figuras 2.2, 2.3 y 2.4.



**Figura 2.2.** Ubicación de los sitios de muestreo, en color azul se referencian los 4 lisímetros instalados en Junco 1.



**Figura 2.3.** Ubicación de los sitios de muestreo, en color azul se referencian los 4 lisímetros instalados en Junco 2.



**Figura 2.4.** Ubicación de los sitios de muestreo, en color azul se referencian los 4 lisímetros instalados en Santa Margarita.



**Figura 2.5.** Imagen de uno de los lisímetros instalados en el campo durante todo el periodo 2021-2022.

### 2.1.1 Junco

La Planta de Silos “El Junco”, fundada en el año 1995, está ubicada a 70 km de la ciudad de Salto sobre un camino vecinal, a 15 km de la ruta 31 (Figura 2.6).

En un inicio fue creada para recibir, secar y almacenar arroz y producir semilla de dicho cultivo. En años posteriores, incorporó un molino de arroz blanco, clasificación y almacenamiento de todo tipo de semillas y/o granos, así como una planta de elaboración y almacenamiento de ración para alimentación animal.

Donistar S. en C. es una empresa cuyo giro principal es la producción de arroz, con la responsabilidad social de producir alimentos dentro de las normas y pautas de manejo de los recursos naturales sostenibles. Básicamente produce arroz en rotación con praderas. El establecimiento se encuentra integrado a la generación y transferencia de tecnología agropecuaria con la Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Estación Experimental (EE) Dr. M. Cassinoni e INIA, EE Tacuarembó, EE Treinta y Tres y EE Las Brujas y convenios nacionales e internacionales específicos (Böcking et al., 2005).



**Figura 2.6.** Ubicación del establecimiento El Junco. Imagen de la planta industrial. Foto obtenida del portal INIA.



**Figura 2.7.** Vista aérea de parte del establecimiento donde se observa un cultivo de arroz con sus respectivos canales de riego. Imagen extraída de presentación “Mejoras en el riego de arroz en pro del aumento en la disponibilidad de agua para otros cultivos” INIA 33, Agro en foco, 2014.

### **2.1.2 Santa Margarita**

El establecimiento “Santa Margarita” ubicado en Colonia Itapebí a unos 50 Km de la ciudad de Salto sobre la ruta 31, perteneciente también a la empresa Donistar S. en C. presenta una rotación agrícola- ganadera.

En cuanto a ganadería, se presenta todo el ciclo completo, cabaña y feedlot, en rotación con cultivos como arroz, soja, sorgo, maíz y pasturas. Esto permite maximizar la producción de alimentos (grano y carne) usando de manera eficiente los recursos y ser sustentable en el tiempo.

## **2.2 Diseño experimental y procedimientos de análisis**

En la siguiente Tabla 2.4. se presentan el número de muestras, matriz y cronología respecto a la evolución del cultivo.

**Tabla 2.4.** Número de muestras, matriz y cronología respecto a la evolución del cultivo.

<b>Cronología respecto a la evolución del cultivo</b>	<b>Número de muestras</b>	<b>Matriz</b>	<b>Método de muestreo</b>	<b>Parámetros para analizar</b>
Previo a la siembra de arroz	12	suelo	norma ISO 10381-4	Ar total pH ORP Fósforo asimilable % de materia orgánica Composición textural
Previo a la siembra de arroz	3	Agua tajamar	APHA Ed.23, 2017	pH Conductividad ORP Alcalinidad Turbidez Dureza Aniones Cationes Fósforo total Hierro total As total
Durante el ciclo del cultivo del arroz	64	suelo	norma ISO 10381-4	Ar total pH ORP Fósforo asimilable % de materia orgánica Composición textural
Durante el ciclo del cultivo del arroz	92	Agua inundación	APHA Ed.23, 2017	pH Conductividad ORP Oxígeno disuelto Turbidez Alcalinidad

Durante el ciclo del cultivo del arroz	84	Agua disponible en el suelo	Lisímetro. (succionador)	pH Conductividad ORP Oxígeno disuelto Alcalinidad Turbidez Aniones Cationes Hierro total As total
Durante el ciclo del cultivo del arroz	15	Agua riego	APHA Ed.23, 2017	pH Conductividad ORP Oxígeno disuelto Turbidez Alcalinidad Dureza Aniones Cationes Fósforo total Hierro total As total
Durante el ciclo del cultivo del arroz	104	Vegetativo (planta + raíz limpia)		Hierro total
Durante el ciclo del cultivo del arroz	60	Raíz con suelo		Hierro total
Posterior a la cosecha del arroz	12	suelo	norma ISO 10381-4	Ar total pH ORP Fósforo asimilable % de materia orgánica

## 2.3 Parámetros fisicoquímicos y químicos analizados.

Para comprender la posible relación entre el As total y sus especies en el grano de arroz con el contenido de As total presente en suelos y en las aguas de inundación se seleccionaron determinados parámetros fisicoquímicos (Figura 2.8) y químicos que, a continuación, se describen según la matriz de ensayo.

### 2.3.1 Matriz agua

En el momento de la toma de las muestras de agua en el sitio de muestreo se midieron y registraron los siguientes parámetros fisicoquímicos:

- **Conductividad eléctrica CE ( $\mu\text{Scm}^{-1}$ )**, mediante Medidor: LAQUAact-EC110- marca HORIBA KYOTO JAPAN. MFG Nro. DA7E0012 - Sensor HORIBA MODEL 9382 MFG Nro. 9C7E0089 1.060 x 100 m-1 ( $1 \text{ cm}^{-1}$ )
- **pH**, mediante Medidor: LAQUAact-PH110- marca HORIBA KYOTO JAPAN. MFG Nro. D87G0013 - Sensor HORIBA MODEL 9300 MFG Nro. 987FC0082.
- **Potencial Redox ORP (mV)**. Mediante Medidor: LAQUAact-PH110- marca HORIBA KYOTO JAPAN. MFG Nro. D87H0005 - Sensor HORIBA MODEL 9300 MFG Nro. 9A7C0006
- **Oxígeno disuelto ( $\text{mgL}^{-1}$ )**, mediante sonda HATCH LDO101.
- **Turbidez (NTU)**, mediante turbidímetro Thermo Scientific, modelo Orión AQUA fast AQ3010.



**Figura 2.8.** Foto de equipos de medición de pH, ORP y Conductividad del agua superficial en el campo.

Ampliando la información metodológica que se describe en la Tabla 2.4, se presenta la siguiente Tabla 2.5 en donde se describen los parámetros analizados y su método respectivo para todas las muestras de agua.

**Tabla 2.5.** Resumen de los parámetros químicos y fisicoquímicos en agua determinados en Laboratorio Agua y Suelo del CENUR sede Salto y sus métodos de referencia.

Parámetro	Pretratamiento	Método	Referencia del Método
Alcalinidad	---	Titulométrico	APHA_2320-B
Dureza total	---	Complejometría	APHA_2340-B
Fósforo total	---	Colorimetría	Murphy & Riley (1962)
Hierro total	Preconcentración y digestión*	Espectrometría de absorción atómica de llama	APHA_3111-A
Hierro total	---	Colorimetría	APHA_3500-D
Arsénico total	Prerreducción (Ac. Ascórbico/ KI) según fabricante Perkin Elmer. **	Espectrometría de absorción atómica con generación de hidruros.	EPA, 200.2 rev 2.8
Aniones: Fluoruro, Cloruro, Nitrito, Bromuro, Nitrato, Fosfato y Sulfato.	Filtración por membrana nylon 0.45µm.	Cromatografía iónica	APHA_4110-B.

Cationes: Litio, Sodio, Potasio, Calcio, Amonio, Magnesio.			
--	--	--	--

\*Preconcentración: se realizó llevando a sequedad 50 mL de la muestra y suspendiendo a 5 mL para su posterior digestión. La digestión se llevó a cabo de la siguiente manera: a los 5 mL de muestra se le añadieron 1 mL de ácido clorhídrico (HCl, Nro. CAS 7647-01-0), concentrado al 37 %, d = 1,2 gmL, Dorwil puro para análisis y se llevó a placa calefactora durante 5 minutos a 160 °C.

\*\* Prerreducción: se realizó de la siguiente manera: a 2 mL del estándar o muestra se le añadió 2 mL de HCl concentrado, 2 mL de la solución de KI/ Ac. Ascórbico al 5% y se esperó 45 minutos. Transcurrido el tiempo, se llevó a volumen 20 mL con agua ultrapura, quedando la muestra pronta para medir. La metodología utilizada para la determinación de As en agua fue desarrollada recientemente en el Laboratorio de agua y suelo del CENUR LN Salto por Texo. A., 2024, y sus parámetros de desempeño se muestran en la siguiente tabla 2.6.

**Tabla 2.6.** Resultados de las cifras de mérito de las características de desempeño analizadas para la validación de la determinación de As total en agua por *HG-AAS*.

Características de desempeño	As total en agua
LOD, N=10 ( $\mu\text{gL}^{-1}$ )	0,29
LOQ, N=10 ( $\mu\text{gL}^{-1}$ )	1,8
Rango lineal ( $\mu\text{gL}^{-1}$ )	1,8 – 24,0
Veracidad con material de referencia (%) (RSD%, N=10)	102

La **alcalinidad** del agua es su capacidad de neutralizar un ácido. Se debe principalmente a los aniones bicarbonatos, carbonatos e hidróxidos. Los iones hidróxido presentes en una muestra como resultado de la disociación o hidrólisis de solutos reaccionan con adiciones de ácido estándar. Para la determinación de Alcalinidad se llevó a cabo el procedimiento Titulométrico siguiendo la norma APHA\_2320-B (APHA., 2012). Se emplearon los siguientes reactivos: Agua desionizada ASTM Tipo I, Solución de carbonato de sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$  Nro. CAS 497-19-8) 0,05 N, Solución estándar de ácido

sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$  Nro. CAS 7664-93-9)  $0,092318 \pm 0,000490$  N, Indicador de fenolftaleína ( $\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{O}_4$  Nro. CAS 77-09-8)  $5 \text{ gL}^{-1}$ , Indicador verde de bromocresol ( $\text{C}_{21}\text{H}_{14}\text{Br}_4\text{O}_5\text{S}$  Nro. CAS 76-60-8). Las muestras se analizaron por triplicado.

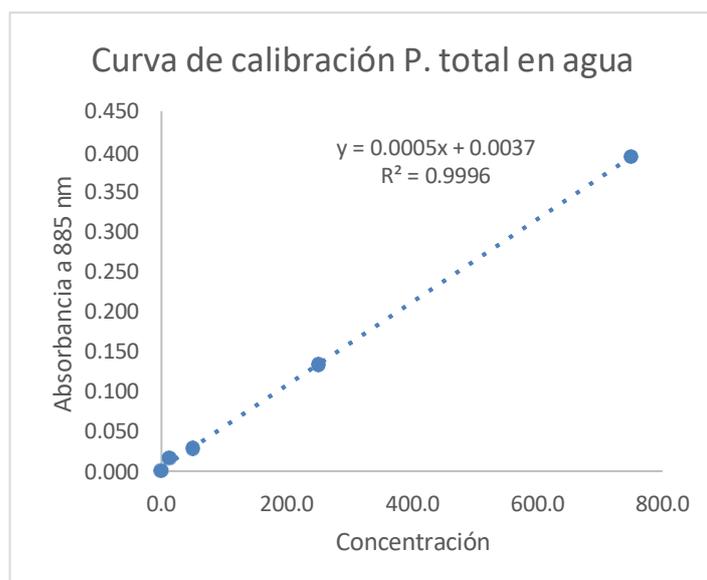
La **dureza total del agua** se define como la suma de concentración de Calcio y Magnesio, expresados ambos como carbonato de calcio en  $\text{mgL}^{-1}$ . Para la determinación de la Dureza total se utilizó el procedimiento descrito en APHA\_2340-B. Empleando NaOH 4N, los indicadores murexida o purpurato de amonio, Eriocromo Azul Negro R, y como valorante EDTA estándar  $0,009538$  N.

Este procedimiento se basa en el principio que el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) forma un complejo soluble con los cationes metálicos.

Para ello, a 25 mL de muestra se añadió 1 mL de solución amoniacal pH:10 (dicha solución se prepara disolviendo 32 g de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  en 285 mL de  $\text{NH}_4\text{OH}$  concentrado y se lleva a 500 mL con agua destilada) y una punta de espátula de negro de eriocromo T (NET) obteniendo una solución de color rojo vino. Posteriormente, se valoró con EDTA, en este paso, el calcio y el magnesio formarán complejos, y cuando todo el magnesio y el calcio se encuentren complejados, la solución virará a color azul, marcando el punto final de la titulación. Paralelamente se realiza la determinación de calcio. Para ello, a 25 mL de muestra se le añadió 1 mL de NaOH 4N y una punta espátula de M100 Murexida, titulándose de igual forma que la dureza total. Las muestras se analizaron por duplicado.

La determinación de **fósforo total** se realizó por colorimetría siguiendo la técnica desarrollada por Murphy & Rilley en 1962. Esta técnica está basada en la formación de un complejo de fosfomolibdato en un medio ácido. Nos permite medir concentraciones de fósforo que van desde  $14$  a  $150 \mu\text{gL}^{-1}$ .

Para ello tomamos 20 mL de muestra, le añadimos 4 mL de reactivo oxidante que contiene 50 g de persulfato de potasio FLUKA (libre de nitrógeno) y 30 g de ácido bórico en 350 mL de hidróxido de sodio 1 M ( $40\text{gL}^{-1}$ ) por litro de agua ultrapura (ASTM Tipo I). Luego llevamos a autoclave por 30 minutos. Dejamos enfriar a temperatura ambiente. A 10 mL de muestra filtrada, le agregamos 1 mL de reactivo mixto y agitamos. El reactivo mixto está formado por Molibdato de amonio, ácido sulfúrico, ácido ascórbico y tartrato de antimonio y potasio. Pasados los 30 minutos medimos la absorbancia a 885 nm. Con las muestras (analizadas por triplicado) también procesamos un blanco de agua ultrapura (ASTM Tipo I) y una curva de calibración como se muestra en la Figura 2.9.



**Figura 2.9.** Curva de calibración para la determinación de P total en agua.

Para la **determinación de aniones y cationes** las muestras fueron analizadas en un Cromatógrafo iónico marca Thermo Scientific™ Dionex™ Aquion™ IC system (Figura 2.10) y en la Tabla 2.7 se muestra información relacionada a columnas, estándares y solventes utilizados.

**Tabla 2.7.** Columnas, estándares, solventes y condiciones operativas utilizadas para la determinación de los iones por cromatografía iónica.

Iones	Columna	Estándar	Solvente	Condiciones operativas
Cationes	Thermo N° 079805, serie: 201202001, lote: 02021115.	Thermo Scientific: Dionex Six Cation (pH 3,0 +/- 0,3), producto n° 046070, lote n° 210610.	Thermo: Methanesulfonic acid concentrado 0,1 M [CH <sub>3</sub> SO <sub>3</sub> H (0,1 N)].	Flujo: 2.0 mLmin <sup>-1</sup>  Tiempo de corrida: 35 min  Presión: 2100 psi

Aniones	Thermo N° 064141, serie: 180730163, lote: 01812094	Thermo Scientific: Dionex Seven Anion, producto n° 057590	Thermo: Dionex AS 22 Eluent concentrado, composición: 4,5 mM de Carbonato de Sodio y 1,4 Mm en Bicarbonato.	Flujo: 1.5 mLmin <sup>-1</sup>  Tiempo de corrida: 12 min  Presión: 1900 psi
---------	---	--	--	---

#### Condiciones de trabajo para cationes

La curva de calibración de cationes se realizó a partir de diluciones seriadas del estándar que contenía: ácido clorhídrico 50 mgL<sup>-1</sup>, cloruro de litio 200 mgL<sup>-1</sup>, cloruro de amonio 250 mgL<sup>-1</sup>, cloruro de sodio 200 mgL<sup>-1</sup>, cloruro de potasio 500 mgL<sup>-1</sup>, cloruro de magnesio 250 mgL<sup>-1</sup>, cloruro de calcio 500 mgL<sup>-1</sup>, de manera de obtener las concentraciones que se indican en la Tabla 2.8.

**Tabla 2.8.** Soluciones de estándar en mgL<sup>-1</sup> para la curva de calibración de cationes.

<b>Catión</b>	<b>S1</b>	<b>S2</b>	<b>S3</b>	<b>S4</b>	<b>S5</b>
Litio	2	10	20	40	50
Sodio	8	40	80	160	200
Amonio	10	50	100	200	250
Potasio	20	100	200	400	500
Magnesio	10	50	100	200	250
Calcio	20	100	200	400	500

#### Condiciones de trabajo para aniones

La curva de calibración de aniones se realizó a partir de diluciones seriadas del estándar que contenía: agua 99,9 %, fluoruro 20 mgL<sup>-1</sup>, cloruro 100 mgL<sup>-1</sup>, nitrito 100 mgL<sup>-1</sup>, bromuro 100 mgL<sup>-1</sup>, nitrato 100 mgL<sup>-1</sup>, fosfato 200 mgL<sup>-1</sup>, sulfato 100 mgL<sup>-1</sup>, de manera de obtener las concentraciones que se indican en la Tabla 2.9.

**Tabla 2.9.** Soluciones de estándar en mgL<sup>-1</sup> para la curva de calibración de aniones.

Anión	S1	S2	S3	S4	S5
Fluoruro	0.8	2	4	7	10
Cloruro	5	10	20	35	50
Bromuro	5	10	20	35	50
Nitrito	5	10	20	35	50
Nitrato	10	20	50	70	100
Fosfato	5	10	20	35	50
Sulfato	5	10	20	35	50

Los cromatogramas se procesaron mediante el software Chromeleon 7, Chromatography Data System, versión 7.2.9.



**Figura 2.10.** Cromatógrafo THERMO DIONEX AQUION.

Para la **determinación de arsénico total** las muestras fueron analizadas en un Espectrómetro de absorción atómica Perkin Elmer PinAAcle 900 AA y la introducción de las muestras mediante un módulo de flujo continuo para generación de hidruros FIAS

100. A 2 mL de la muestra se le añadió 2 mL de HCl concentrado (37%), 2 mL de la solución de KI/ Ac. Ascórbico al 5% y se esperó 45 minutos. Transcurrido el tiempo, se llevó a volumen 20 mL con agua ultrapura, quedando la muestra pronta para medir. La curva de calibración se realizó a partir de diluciones seriadas de la disolución de As (V): 1000 mg L<sup>-1</sup>; trazable con NIST H<sub>3</sub>AsO<sub>4</sub> en HNO<sub>3</sub> 0,5 molL<sup>-1</sup>; Merck; Lote HC55536773.

Para la **determinación de hierro total** las muestras fueron analizadas en el Espectrómetro de absorción atómica Perkin Elmer PinAAcle 900 AA mencionado anteriormente. Para ello, se procedió a preconcentrar la muestra 5 veces, primero liofilizando 50 ml hasta sequedad y posteriormente a volumen de 10 mL con agua ultrapura. De ahí se realizó una digestión húmeda en donde se le añadió 1 mL de HCl concentrado (37%) llevándose a 160 °C durante 5 minutos. Para la determinación, al digesto se lo llevó a 20 mL con agua ultrapura se añadieron 50 µL de la solución de calcio y 40 µL de HNO<sub>3</sub> 5% v/v. Se homogeneizó bien y se procedió a leer.

Los detalles de la preparación de los reactivos, estándares, curvas de calibración y validaciones, tanto para las determinaciones hierro total como para As total se desarrollarán en el capítulo III.

### 2.3.2 Matriz Suelo

En el momento de la toma de las muestras de suelo y en el sitio de muestreo se midió mediante sonda LAQUA act PH110, HORIBA el Potencial Redox ORP (mV). Para ello se introdujo el sensor a una profundidad de 10 cm, se esperó a que la lectura se estabilizara y se registró.

Ampliando la información metodológica, se describen en la Tabla 2.10 los parámetros analizados y sus métodos respectivos para todas las muestras de suelo.

**Tabla 2.10.** Parámetros químicos y fisicoquímicos en suelo determinados en Laboratorio Agua y Suelo del CENUR sede Salto y sus métodos de referencia.

Parámetro	Pretratamiento	Método	Referencia del Método
-----------	----------------	--------	-----------------------

Arsénico total	Digestión acida*	Espectrometría de absorción atómica de llama	EPA_ 3050B
pH	1:2**	Electrométrico	EPA – 9045D
Fósforo asimilable	---	Colorimetría	Bray I
% de materia orgánica	---	Titulométrico	método de Walkley y Black ,1934
Clasificación textural	---	Granulométrico	método de la pipeta mencionado en USDA, 1972 y modificado por Maltoni y Aquino en 2003

\* La **determinación de arsénico total** se desarrollará en el Capítulo III.

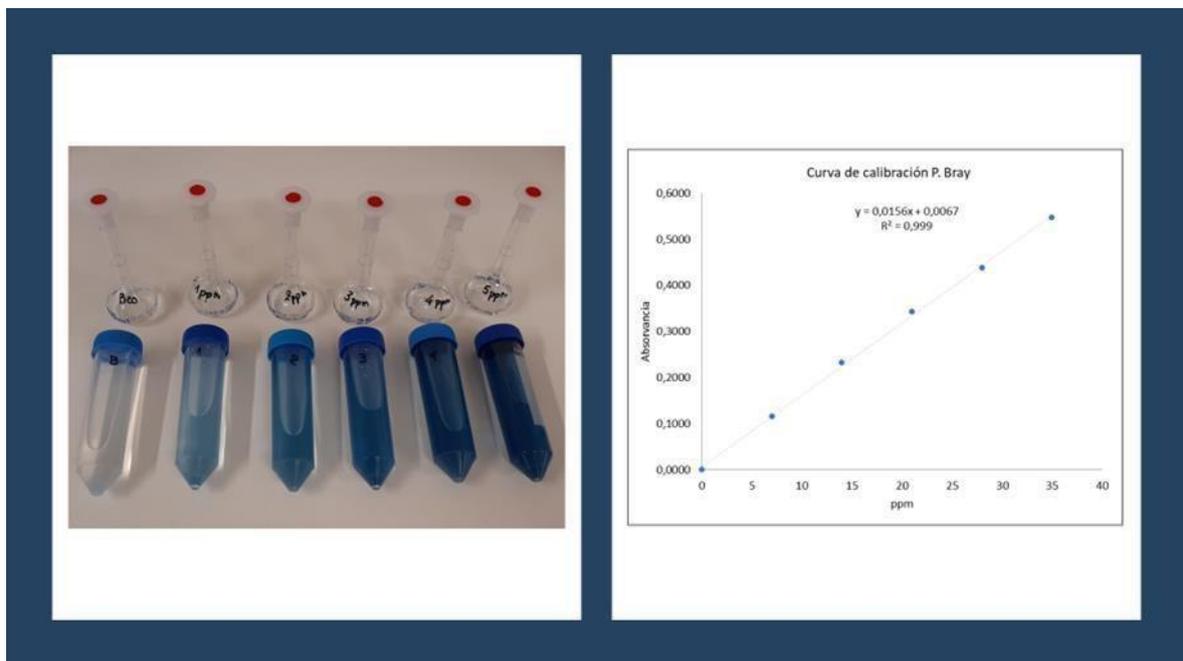
\*\* se realiza el método 1:2 que se describe a continuación.

Para la **determinación del pH del suelo** se procedió a realizar una suspensión de suelo (método 1:2) basado en EPA – Method 9045D – Soil and waste pH. Para ello, en un vaso de bohemía graduado se midieron 100 mL de agua desionizada y se llevó a 150 mL añadiendo la muestra de suelo previamente tamizada en malla de 2 mm. Proporción 2:1. Se agitó la solución durante 5 minutos a 150 rpm y se dejó reposar durante 1 hora. Pasado el tiempo, se realizó la lectura de pH en el sobrenadante mediante la sonda multiparamétrica HATCH, modelo Sens ION<sup>+</sup> MM150. Las muestras fueron analizadas por triplicado.

La **determinación de fósforo asimilable** se realizó por el método Bray I, el principio en que se basa es que el extractante usado debería extraer todo o partes proporcionales de las formas disponibles del nutriente de distintos tipos de suelos. La cantidad extraída se correlaciona con el crecimiento y respuesta de cada cultivo a ese nutriente y con las condiciones de manejo. El método se basa en la extracción del fósforo del suelo por medio de una solución de fluoruro de amonio en medio ácido, que agitada con el suelo durante un tiempo determinado solubiliza el fósforo. Luego se filtra y se cuantifica el P en el extracto.

Para ello, se pesaron 2,5 gramos de suelo y se le añadieron 17,5 mL de solución extractiva (mezcla de  $\text{NH}_4\text{F}$  0,03 N y  $\text{HCl}$  0,025 N) se agitó vigorosamente por un minuto. Luego se filtró la muestra y se tomó una alícuota de 10 mL a la cual se le añadió 2 mL de molibdato de amonio y se llevó a 50 mL con agua desionizada. Se agitó y se añadió 3 gotas de Cloruro Estannoso. A los 7 minutos se determinó la absorvancia en espectrofotómetro S220 BOECO a 660 nm.

Se realizó una curva de calibración a partir de una solución patrón de 50 ppm (Figura 2.11).



**Figura 2.11.** Curva de calibración P. Bray I.

La **determinación del porcentaje de materia orgánica** se realizó según el método de Walkley y Black ,1934. Este se basa en que, el carbono orgánico es oxidado con una mezcla de dicromato de potasio ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ) y ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ). El exceso de dicromato se titula con un reductor ferroso. Este método no oxida toda la materia orgánica, solo a la fracción más lábil, por eso se propuso un factor de corrección de 1,3 (Walkley y Black.,1934).

La materia orgánica de un suelo está directamente relacionada con las propiedades químicas, físicas y biológicas del suelo, por ende, con su fertilidad. Las propiedades químicas más afectadas son la capacidad de intercambio y de adsorción de iones nutritivos, la producción de nitrógeno (nitratos), fosfatos y sulfatos. Algunas de las

propiedades físicas relacionadas con la materia orgánica son el color, la estructura, la adsorción, retención y permeabilidad del agua. Los componentes de la materia orgánica de los suelos agrícolas pueden asignarse a los siguientes comportamientos: residuos orgánicos, biomasa edáfica y el humus o las sustancias húmicas (ácidos fúlvicos, ácidos húmicos y húmica).

Para la determinación de la materia orgánica, se pesaron 0,5 g de muestra previamente tamizada en malla de 2 mm. Se añadió 2,5 mL de  $K_2Cr_2O_7$  y 5 mL de  $H_2SO_4$  concentrado y se llevó al digestor por 15 minutos a  $150^\circ C$ . Se dejó enfriar por 15 minutos y se trasladó a un Erlenmeyer de 250 mL. Se llevó a un volumen de 100 mL con agua destilada. Posteriormente, se agregó 1 mL de  $H_3PO_4$  y 5 gotas de indicador sulfonato de difenilamina. Finalmente, se tituló con una solución de sal de Mohr 0,1 N. El color inicial es amarillo, al agregar las gotas de sulfonato se torna marrón oscuro. En la titulación va quedando cada vez más oscuro hasta virar a verde claro (punto final). Con el gasto de sal de Mohr se hace los cálculos para la determinación del porcentaje de materia orgánica según la siguiente fórmula:

$$\% MO = \%CO * 1,724$$

en donde:

$$\%CO = \frac{(B-M) * N * 0,39}{P}$$

### 2.3.3 Matriz vegetal

En el momento de la toma de las muestras de suelo y de agua, en cada sitio de muestreo se extrajeron 10 plantas enteras para su posterior análisis. Dichas muestras, al llegar al laboratorio fueron cuidadosamente enjuagadas con agua destilada y secadas en estufa a  $60^\circ C$  separándose la raíz de la panoja en 2 muestras independientes. Al mismo tiempo, se muestrearon plantas para análisis de raíz con suelo. A estas muestras se les corto la panoja dejando secar en estufa a  $60^\circ C$  la masa de suelo conteniendo las raíces.

**Tabla 2.11.** Parámetros químicos y fisicoquímicos en raíz y raíz con suelo determinados en Laboratorio Agua y Suelo del CENUR sede Salto y sus métodos de referencia.

Parámetro	Pretratamiento	Método	Referencia del Método
Hierro total	Digestión acida	Espectrometría de absorción atómica de llama	APHA_3111-A

Para la determinación de hierro total en raíz se realizó una digestión húmeda de la muestra según el método 3050B. Se pesaron 0,3 g de muestra de raíz limpia y molida, luego se añadió 5 mL de HNO<sub>3</sub> 0.14 M y se llevó en tubo cerrado a una placa calefactora a 70°C durante 20 minutos. Pasado el tiempo, se añadió 1 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30% y 3 mL de agua tipo ASTM 1. Se dejó reposar durante 2 h, luego se centrifugó a 3000 rpm durante 10 minutos y se filtró el sobrenadante con filtro de nylon 0,45 µm de poro.

Para las muestras de raíz con suelo, Se pesaron 0,5 g de muestra molida, luego se añadió 5 mL de HNO<sub>3</sub> 0,56 M y se llevó en tubo cerrado a una placa calefactora a 120°C durante 20 minutos. Pasado el tiempo, se añadió 1 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30% y 3 mL de agua tipo ASTM 1. Se dejó reposar durante 2 h, luego se centrifugó a 3000 rpm durante 10 minutos y se filtró el sobrenadante con filtro de nylon 0,45 µm de poro.

Para la medición mediante AAS, al digesto obtenido se añadieron 125 µL de la solución de calcio, 40 µL de HNO<sub>3</sub> al 5% y se llevó a volumen final de 50 mL con agua ASTM 1.

Los detalles de la preparación de los reactivos, estándares, curvas de calibración y validaciones, tanto para las determinaciones hierro total en raíz y raíz con suelo se desarrollarán en el capítulo III.

Para comprender la relación entre el As total y los compuestos de Hierro que forman la placa que recubre las raíces de la planta de arroz se envió a analizar una muestra de cada sitio mediante la técnica de **difracción de Rayos X** de polvo al laboratorio de Análisis termogravimétrico y de Difracción de Rayos X del Instituto de Física de San Carlos de la Universidad de San Pablo (responsable el Dr. Javier Ellena).

El fundamento de las técnicas de difracción se basa en la interacción de la estructura

cristalina de un sólido con una fuente de rayos X, esta estructura cristalina está presente en muchos sólidos tanto naturales como artificiales y consiste en la repetición periódica de los átomos o moléculas que forman este sólido en las tres direcciones del espacio. Si por esta estructura tridimensional se hace incidir un haz de rayos X, podremos caracterizar las fases que componen la muestra en base a los diferentes “picos” de detección que son en realidad las reflexiones de los planos de cada fase, para una rápida identificación se comparan con los resultados obtenidos con la base de datos del software.

Para la preparación de las muestras enviadas, se procedió a extraer mediante bisturí el recubrimiento externo de las raíces principales de la planta. El polvo analizado en Difractómetro Bruker AXS- D5005 equipado con un tubo de cobre sellado de 2.2 Kw, monocromador secundario de grafito y detector de centelleo nos permitió adquirir información, generando una base de datos con la señal de cada mineral para posteriormente utilizar como patrón de referencia ante eventuales cambios de la placa de hierro en el tiempo durante el transcurso de la evolución del cultivo.

### **2.3.3.1 Raíz de la planta de arroz**

Toma de muestras vegetativas del cultivo: a partir de la inundación del cultivo y con el mismo régimen de frecuencia, se realizaron muestreos de plantas completas de arroz, una muestra por cuadrante, obteniendo 4 muestras por parcela o sitio.

Procedimiento de muestreo: Se tomaron unas 10 plantas por muestra. Dichas muestras se guardaron en bolsas plásticas nuevas y fueron refrigeradas hasta llegar al laboratorio. Una vez allí, se procedió a lavarlas con agua destilada y separar la raíz de las hojas. Fueron secadas en estufa a 60 °C, molidas y almacenadas para su posterior análisis.

Paralelamente, las muestras de raíces se dividieron en dos mitades, una de ellas se lavó con agua destilada secándose la raíz limpia y la otra mitad se dejó secar con el lodo adyacente ambas a 60°C.

### **2.3.4 Grano de arroz**

Toma de muestras del grano de arroz: previo a la cosecha de los sitios se procedió a cortar

manualmente una muestra por cada cuadrante. Procedimiento de muestreo: se cosechó un área aproximada de 2,5 m<sup>2</sup> de arroz guardándose en bolsas para su posterior procesamiento. Una vez llegadas las muestras al laboratorio se procedió a separar los granos del resto de material vegetativo (Figura 2.12). Estas muestras fueron secadas en estufa a 60°C y enviadas a la estación experimental de INIA Treinta y Tres para su descascarillado y pulido.



**Figura 2.12.** Cosecha, separación de los granos de arroz para su posterior descascarillado y pulido. La variedad de arroz que se observa es GURÍ.

#### Procesamiento de las muestras de arroz

Este proceso fue realizado en la Estación Experimental (en adelante, E.E.) INIA Treinta y Tres que cuenta con un molino experimental integrado. Las muestras de grano fueron descascarilladas en el Probador PAZ-2/DTA. Posteriormente, se trasladaron al medidor de molienda Satake MM1D que mide simultáneamente el grado de molienda, la blancura comparativa y el grado de transparencia de muestras de arroz molido.

En 1 minuto  $\pm$  15 segundos se obtiene un grado de blanco de 38-40 (estándar industrial). Este grado de molienda es un indicador del porcentaje de eliminación de salvado y se calcula mediante un microprocesador a partir de los valores medidos de blancura y transparencia, que son, a su vez, indicadores de apariencia.

Posteriormente, se procedió a moler el grano en molino THOMAS SCIENTIFIC USA

modelo WILEY de 4 aspas y con tamiz de malla N° 40 (0,42 mm) perteneciente a la E.E. INIA Salto Grande, obteniéndose una harina de arroz. Después se digirió la muestra por vía húmeda en placa calefactora y empleando tubos cerrados según el Método EPA 3050 B. El desarrollo de dicha metodología se encuentra detallada en el Capítulo III.

Para la determinación del contenido de As total en grano se utilizó HG-AAS con la realización de curva de calibración con adición estándar sobre una muestra de estándar interno para contrarrestar las interferencias químicas y espectrales introducidas por la matriz de la muestra. Este estándar interno se obtuvo de la muestra Junco 1 procesada de la forma anteriormente descrita, la cual se envió al Laboratorio Laai de Paysandú a analizar el contenido de As total obteniéndose los siguientes datos:

**Tabla 2.12.** Características del estándar interno.

Muestra referencia interna	As mgkg <sup>-1</sup>	Laboratorio	Método de Referencia
Junco 1	0,07	Laai Paysandú	AOAC986.15, 2019

## BIBLIOGRAFÍA

AOAC International, 2016. *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 20va ed. Maryland: AOAC. Official Method 986.15, first action 1986-final action 1988.

APHA, American Public Health Association. (2012). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. (22 ed.).

APHA, 22th Ed., 2012, *Standard Methods for the Examination of Water and tewater, Continuous Hydride Generation/Atomic Absorption Spectrometric Method (Proposed)* Washington, DC 3 :32-33.

American Public Health Association (APHA) (2012). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 22nd edition, APHA, AWWA, WEF, Washington, DC. Método 2320 A Alcalinidad Introducción y 2320 B Titration Method pp 2-34 a 2-36.

APHA, (2017), Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, WEF, Washington, DC 23th Ed. <https://ojs.latu.org.uy/index.php/INNOTECH/article/view/480>.

AOAC International, 2016. *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 20va ed. Maryland: AOAC. Official Method 986.15, first action 1986-final action 1988.

Böcking, B., Finozzi, G., Silveira, P., Bandeira, S., & Carnelli, J. P. (2005). INIA Tacuarembó - Estación Experimental del Norte Arroz - Resultados Experimentales 2004-05. INIA.

Bray, Roger H.; Kurtz, L. T.2. Determination of total, organic, and available forms of phosphorus in soils. *Soil Science* 59(1): p 39-46, January 1945.

Maltoni, K. L., & de Aquino, D. T. (2003). Análise granulométrica: uma comparação entre equipamentos de dispersão mecânica. In *Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, 29, 2003, Ribeirão Preto*.

Murphy J, Riley JP (1962) A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chim. Acta* 27:31–36

Walkley, A.; Black, I. Armstrong. An examination of the degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science* 37(1): p 29-38, January 1934.

## **CAPÍTULO III**

### **Desarrollo y validación de metodologías analíticas en Espectroscopia de Absorción Atómica de llama y Generación de Hidruros.**

En este Capítulo se describen las metodologías analíticas desarrolladas para As en arroz blanco pulido y en muestras de suelo, Fe total en agua, suelo y raíz y las validaciones efectuadas con el fin de obtener resultados analíticos confiables.

### **3.1 Determinación de arsénico en grano de arroz y suelo por Espectroscopia de Absorción Atómica de llama con Generación de Hidruros - Desarrollo y validación del método.**

El desarrollo metodológico para la extracción y determinación de As total en grano y en suelo por Espectroscopia de Absorción Atómica de llama con Generación de Hidruros, (HGAAAS por su sigla en inglés), se realizó en el Laboratorio de agua y suelos del CENUR Litoral Norte sede Salto. Para la determinación de As total en agua se empleó la metodología previamente desarrollada en la tesis de la Lic. Andrea Texo como ya se explicó en la página 55.

A continuación, se describe la metodología, materiales, procedimientos y validaciones. Se consideró como referencia los métodos estándares de análisis APHA., 2017 y las condiciones recomendadas por el proveedor del instrumento Perkin Elmer.

#### **3.1.1 Reactivos e instrumentación.**

##### **3.1.1.1 Materiales y reactivos.**

Previo a su uso todo el material de vidrio fue tratado con ácido nítrico 10% v/v durante toda la noche y luego se enjuagó 3 veces con agua ultrapura. El agua ASTM Tipo I fue obtenida mediante un purificador Ultrapure Water System arium mini, Sartorius.

Todos los reactivos empleados fueron de calidad analítica o superior.

Patrón de arsénico: disolución de As (V): 1000 mgL<sup>-1</sup>; trazable con NIST H<sub>3</sub>AsO<sub>4</sub> en HNO<sub>3</sub> 0,5 molL<sup>-1</sup>; Merck; Lote HC55536773. Una alícuota de la disolución patrón se diluyó con agua ultrapura para obtener las concentraciones apropiadas de las disoluciones patrón de trabajo.

HNO<sub>3</sub> al 65% DORWIL, CAS 7697-37-2, Lote: T 291851373.

HCl al 37% Ácido clorhídrico fumante 37% p.a. EMSURE® ACS, ISO, Reag. Ph Eur Ord. No. 1003171000 marca Merck.

Disolución de KI/ Ac. Ascórbico al 5% (p/v): se prepara disolviendo 2,5 g de ácido ascórbico y 2,5 g de ioduro de potasio llevando a 50 mL con agua ultrapura.

Disolución de borohidruro sódico (NaBH<sub>4</sub>, al 0,2% (p/v) agente reductor: se prepara diariamente añadiendo 2,0 g de NaBH<sub>4</sub>, para Ord. No. 1063710100 marca Merck en una disolución básica de 0,5 g de NaOH en 1000 mL de agua ultrapura.

La solución de Carrier HCl 10% (v/v), se preparó diluyendo volúmenes apropiados del ácido concentrado en agua ultrapura.

Acetileno puro para análisis marca Air Liquide.

Argón puro para análisis marca Air Liquide.

### **Instrumentación:**

Balanza analítica Sartorius ENTRIS224I-1S, capacidad máxima 220 g, apreciación 0,0001g.

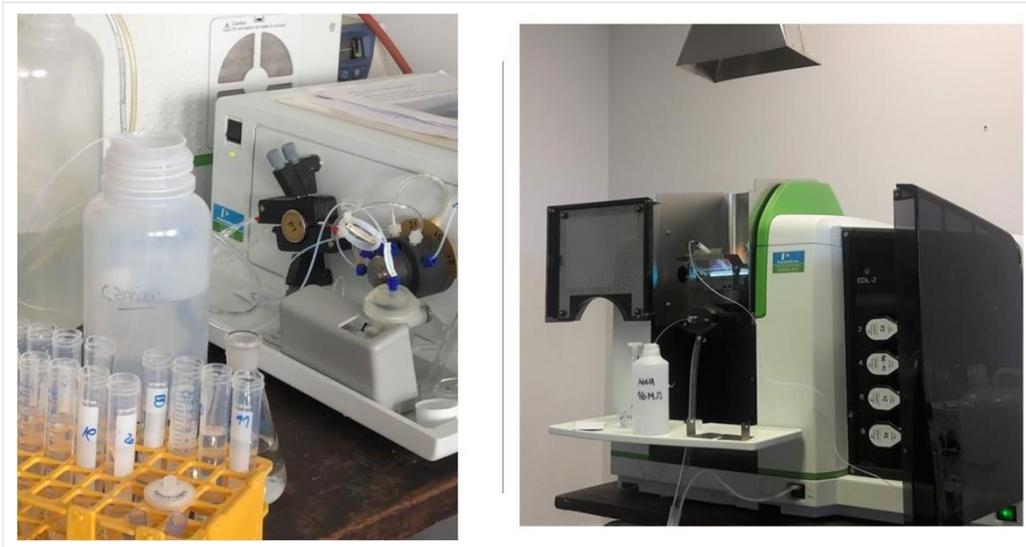
Placa calefactora MACHEREY-NAGEL Thermoblock NANOCOLOR VARIO C2.

Tubos de vidrio con tapa rosca PIREX de 15 mL.

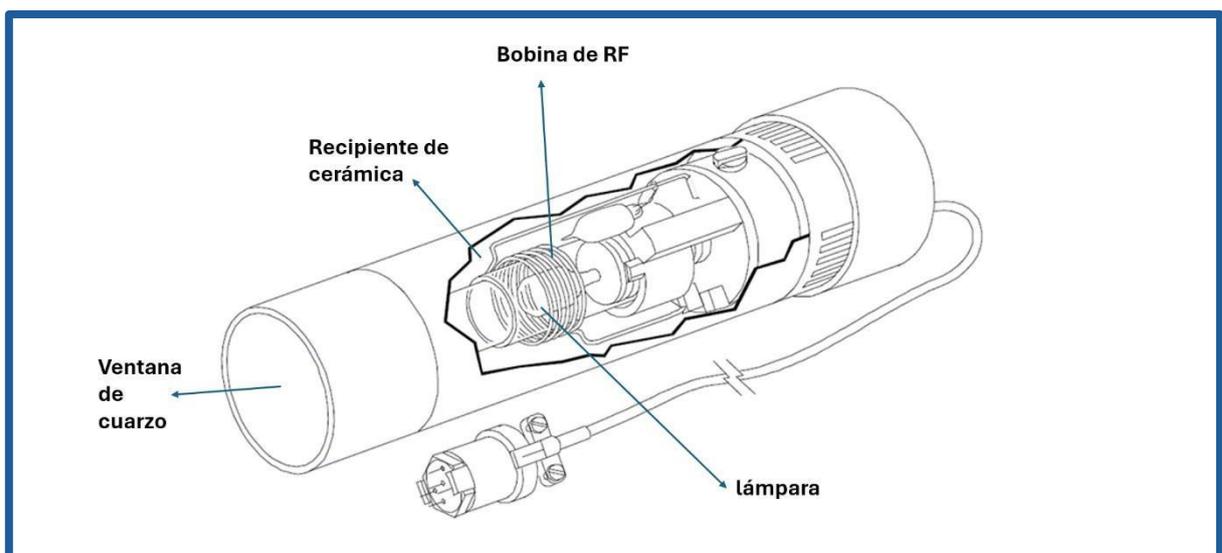
Agitador/ vibrador de tubos: Vortex V1 Plus – Boeco (Germany).

Espectrómetro de absorción atómica Perkin Elmer PinAAcle 900 AA, todas las determinaciones analíticas se llevaron a cabo utilizando este instrumento (Figura 3.1), operado a 193,7 nm, equipado con un quemador de 10 cm (llama de aire-acetileno) y una celda de absorción de cuarzo en forma de T (FIAS CELL, código B0507486 (Perkin Elmer). La anchura de la rendija fue de 0,7 nm. Se utilizó una lámpara de arsénico EDL System 2, código N3050605 (Perkin Elmer) como fuente de luz según las recomendaciones del fabricante (Figura 3.2).

FIAS-100, módulo de flujo continuo para generación de hidruros, PERKIN ELMER (Figura 3.1).



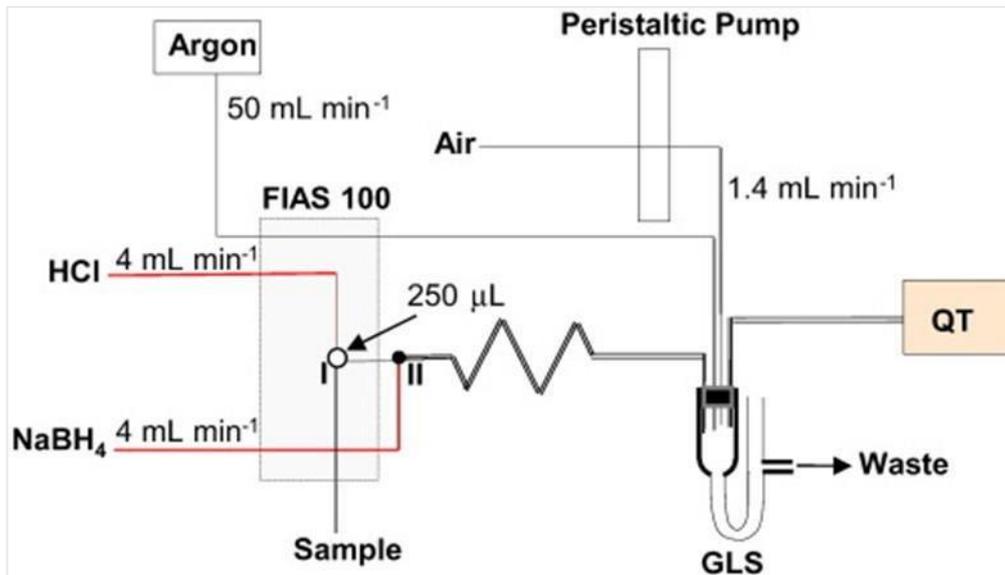
**Figura 3.1** Espectrómetro de absorción atómica Perkin Elmer PinAAcle 900 AA (imagen derecha); módulo de flujo continuo para generación de hidruros FIAS 100(imagen izquierda).



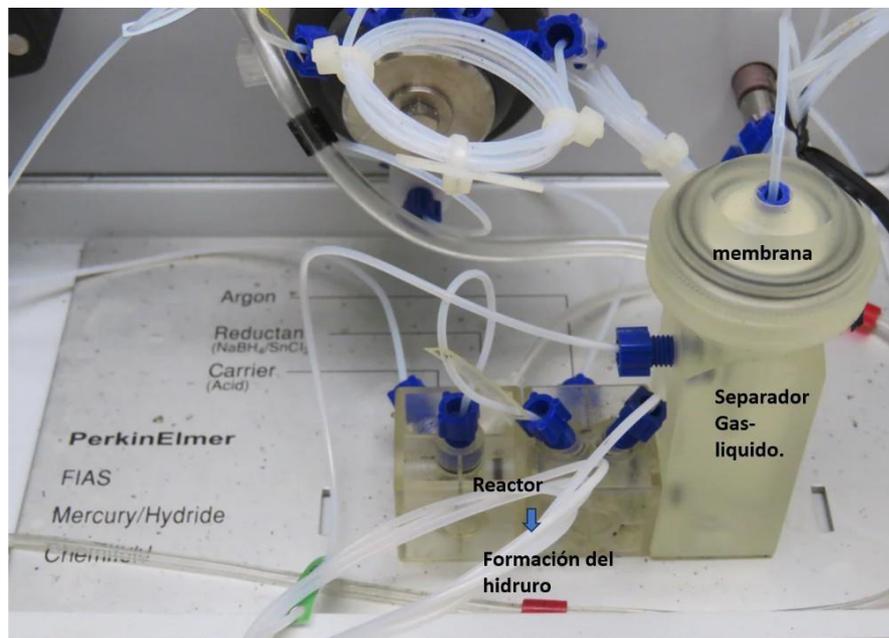
**Figura 3.2** Esquema de la lámpara de descarga sin electrodos (EDL). Imagen adaptada de Perkin Elmer.,1996.

El equipo está provisto de un sistema de inyección de muestra en línea (Perkin Elmer FIAS 100) acoplado al espectrómetro. El separador gas-líquido es de tipo modular fabricado en un plástico con alta resistencia química y una membrana de PTFE intercambiable (Figura 3.4). Para la generación de hidruros se emplearon como agente reductor  $\text{NaBH}_4$ , reactivo Carrier HCl al 10% y gas portador argón (pureza 99,999%).

En la Figura 3.3 se muestra un esquema del funcionamiento del sistema en flujo, en el cual la muestra, el ácido y el reductor son impulsados por una bomba peristáltica hacia un reactor. Posteriormente se produce una separación gas-líquido en un separador. (Figura 3.4).



**Figura 3.3** Diagrama del sistema en flujo del módulo FIAS 100 (Imagen extraída de: <https://ars.els-cdn.com/content/image/1-s2.0-S0026265X16304428-gr1.jpg>).



**Figura 3.4** Imagen del reactor y separador gas-líquido del FIAS 100 utilizado.

Luego, el hidruro generado es dirigido a una celda de cuarzo en forma de T como se observa en la Figura 3.5, la cual está alineada con el camino óptico del espectrómetro y es calentada por una llama.



**Figura 3.5** Imágenes de la celda T de cuarzo.

### 3.1.1.2 Método

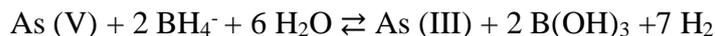
Este método es particularmente útil para la determinación de As, Sb, Bi y Se. (Bühl.,2017). Los hidruros volátiles se forman en medio ácido cuando se hacen reaccionar con un agente reductor como el tetrahidrobórato de sodio ( $\text{NaBH}_4$ ).

La técnica espectroscópica empleada en este trabajo para la determinación de arsénico HG-AAS presenta una buena sensibilidad, bajo límite de detección (ppb), pocas interferencias, es selectiva, simple, pero, presenta las limitaciones que sólo detecta compuestos generadores de hidruros, (As (III), As (V), MMA, DMA), no puede detectar compuestos orgánicos de arsénico como la Arsenobetaína y que la generación de hidruros depende del pH (Brima et al., 2006, Bühl.,2017).

La formación de hidruros es llevada a cabo con HCl al 10% siguiendo las recomendaciones del proveedor del equipo. A continuación, se presenta la reacción del  $\text{NaBH}_4$  en medio ácido:



La respuesta es dependiente del estado de oxidación, con lo cual, el As a determinar deberá estar en su estado (III) antes del agregado de NaBH<sub>4</sub> (Ramesh & Riyazuddin, 2005, Bühl.,2017). Para ello, se necesita preparar la muestra, la cual se digiere y luego sufre una pre-reducción. De esta manera, todo el As (V) se reduce a As (III), y se determina el contenido de As total como As (III) esto se realiza para mejorar el rendimiento de la posterior reacción de conversión dado que, el As (V) da una menor señal que el As (III). La ecuación de reducción del As (V) a As (III) se muestra a continuación:



Las condiciones de pre-reducción más habituales en literatura son ioduro de potasio/ ácido ascórbico en concentraciones variables según distintos autores 50%-10% (Cava-Montesinos et al., 2004), 1%-0,5% (Meharg et al., 2003). La concentración empleada para esta tesis fue del 5%.

Luego, se produce la generación del hidruro como resultado de la reacción entre el As (III) y el hidrógeno naciente producido por la acción del medio ácido sobre el borohidruro de sodio, tal como se observa en la siguiente ecuación:



Los hidruros formados son arrastrados desde el reactor por medio de una corriente de un gas portador inerte (argón) a un tubo de cuarzo abierto en los extremos, el cual es calentado por medio de una llama de aire/acetileno. El tubo de cuarzo ubicado arriba del quemador es alineado con el haz de radiación proveniente del espectrómetro. La temperatura alcanzada por el tubo permite que los hidruros se descomponen para producir átomos libres de los elementos a determinar e hidrógeno (Figura 3.5).

### **3.1.1.3 Optimización de las condiciones de extracción del arsénico en arroz y suelo.**

Para la preparación de la muestra, se realizó una digestión húmeda. Partiendo del método 3050B (EPA., 1996). se diseñaron 9 experimentos a fin de determinar cuál es la mejor condición para extraer la mayor cantidad de arsénico en las muestras de arroz pulido. Para ello, se variaron 3 condiciones:

Condiciones
a: HNO <sub>3</sub> concentración
b: Temperatura
c: Tiempo

Condiciones Experimentales			
	a	b	c
1	0,14 M	70 °C	10 minutos
2	0,28 M	95 °C	15 minutos
3	0,75 M	120 °C	20 minutos

Las condiciones señaladas en amarillo corresponden a las tomadas como referencia (Roel et al., 2022) y el volumen de HNO<sub>3</sub> para todos los casos fue de 5 mL.

El procedimiento fue el siguiente: se pesaron 0,5 g de muestra de arroz pulido y molido, se añadió 5 mL de HNO<sub>3</sub> y se llevó en tubo cerrado a una placa calefactora MACHEREY-NAGEL Thermoblock NANOCOLOR VARIO C2 siguiendo el siguiente diseño experimental:

**Tabla 3.1.** Diseño del experimento de 3 niveles y 3 variables utilizados.

3 niveles			
3 variables			
	a	b	c
1	1	1	1
2	1	1	3
3	1	3	1
4	1	3	3
5	2	2	2
6	3	1	1
7	3	1	3
8	3	3	1
9	3	3	3

Pasado el tiempo, se añadió 1 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30% y 3 mL de agua tipo ASTM 1. Se dejó reposar durante 2 h, luego se centrifugó a 3000 rpm durante 10 minutos y se filtró el sobrenadante con filtro de nylon 0,45 µm de poro. Las muestras fueron conservadas en heladera hasta su determinación.

Cabe aclarar que, se procesó a igual temperatura que los tratamientos un blanco de reactivos para cada concentración de HNO<sub>3</sub>, y que, todas las muestras fueron fortificadas con 7 µgL<sup>-1</sup> de Estándar de As, a excepción del blanco de reactivo.

De esta manera, se obtuvieron 9 muestras con sus respectivos duplicados. De los resultados obtenidos el máximo % de recuperación (% R) alcanzado no llegó a ser

aceptable (AOAC: 60-115%R) siendo el tratamiento de referencia el que otorgaba mejores extracciones.

Se planteó entonces un segundo experimento, en el cual se mantuvo la temperatura a 95 °C, se aumentó el tiempo a 30 min para todas las muestras y se probaron nuevas concentraciones de HNO<sub>3</sub> (Tissot et al., 2019, Tomohiro et al., 2017):

Nuevas Condiciones			
	a	b	c
1	0,75 M	95 °C	30 minutos
2	1,4 M	95 °C	30 minutos
3	Dilución 1/3	95 °C	30 minutos

De esta manera, se obtuvieron 3 muestras por triplicado, con su respectivo blanco de reactivos y blanco de muestra, con los siguientes resultados:

**Tabla 3.2.** Resultados obtenidos de los experimentos de extracción para las muestras de arroz pulido.

muestras	As µgL <sup>-1</sup>	As µgL <sup>-1</sup> estándar añadido	%R
1A	6,535	7,293	83,7
1B	4,627	7,293	57,5
1C	5,613	7,293	71,1
2A	7,197	7,474	90,5
2B	7,202	7,474	90,6
2C	6,845	7,474	85,8
3A	0,000	7,451	-
3B	0,000	7,451	-
3C	0,000	7,451	-

-No se detectó.

El % de recuperación se calculó siguiendo la expresión:

$$\%R = ((M_{\text{fortif}} - M) / st \text{ añadido}) * 100$$

Donde M<sub>fortif</sub> es la muestra fortificada, M es la muestra y st se refiere a estándar.

Se elige el tratamiento de digestión empleado para la muestra 2 con el cual se obtuvo un rendimiento promedio de 89% para la realización de la curva de calibración y el procesamiento de las muestras.

Condiciones de tratamiento seleccionadas para la extracción de As en las muestras:

0,5 g muestra + 5 mL de HNO<sub>3</sub> 1,4 M → 95°C durante 30 minutos.

Pasado el tiempo se añadió 1 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30% y 3 mL de agua tipo ASTM 1. Se dejó reposar durante 2 h, luego se centrifugó a 3000 rpm durante 10 minutos y se filtró el sobrenadante con filtro de nylon 0,45 µm de poro. Las muestras fueron conservadas en heladera hasta su determinación.

Para la preparación de las muestras de suelo se diseñaron 9 experimentos en los cuales se variaron las mismas condiciones para determinar cuál es la condición que extrae la mayor cantidad de arsénico.

De esta manera, se obtuvieron 9 muestras con sus respectivos duplicados. De los resultados obtenidos, el máximo % R alcanzado al igual que para las muestras de arroz, no llegó a ser aceptable (AOAC: 60-115%R) siendo el tratamiento de 120°C y 20 minutos el que otorgaba mejores extracciones.

Se planteó entonces un segundo experimento durante el cual se mantuvo la temperatura a 120 °C, el tiempo en 20 minutos para todas las muestras y se probaron nuevas concentraciones de HNO<sub>3</sub>:

Nuevas Condiciones			
	a	b	c
1	0,75 M	120 °C	20 minutos
2	1,4 M	120 °C	20 minutos
3	Dilución 1/3	120 °C	20 minutos

Todas las muestras fueron fortificadas con 7 µgL<sup>-1</sup> de Estándar de As, a excepción del blanco de reactivo.

De esta manera, se obtuvieron 3 muestras por triplicado, con su respectivo blanco de reactivo y blanco de muestra, con los siguientes resultados:

**Tabla 3.3.** Resultados obtenidos de los experimentos de extracción para las muestras de suelo.

muestras	As $\mu\text{gL}^{-1}$	As $\mu\text{gL}^{-1}$ estándar añadido	%R
1A	4,025	6,271	45,0
1B	4,494	6,271	52,5
1C	4,613	6,271	54,4
2A	6,502	6,627	80,0
2B	7,974	6,627	102,2
2C	8,164	6,627	105,1
3A	0,000	6,543	-
3B	0,000	6,543	-
3C	0,000	6,543	-

-No se detectó.

Se elige el tratamiento de digestión empleado para la muestra 2 con el cual se obtuvo un rendimiento promedio de 96% para la realización de la curva de calibración y el procesamiento de las muestras.

Condiciones de tratamiento seleccionadas para la extracción de As en las muestras de suelo:

0,5 g muestra + 5 mL de  $\text{HNO}_3$  1,4 M  $\rightarrow$  120 °C durante 20 minutos.

Pasado el tiempo se añadió 1 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  al 30% y 3 mL de agua tipo ASTM 1. Se dejó reposar durante 2 h, luego se centrifugó a 3000 rpm durante 10 minutos y se filtró el sobrenadante con filtro de nylon 0,45  $\mu\text{m}$  de poro. Las muestras fueron conservadas en heladera hasta su determinación. Se procesó, además, a igual temperatura que los tratamientos, un blanco de reactivos para cada concentración de  $\text{HNO}_3$ .

Las condiciones instrumentales para la medición fueron:

Longitud de onda: 193,7 nm

Ancho de rendija: 0,7 nm

Tiempo de estabilización de la lámpara: 30-45 minutos.

Tipo de medida con corrección de fondo (background con lámpara de deuterio).

Tipo de Llama: 10 L/min Aire /2,5 L/min Acetileno

Largo del quemador: 10 cm.

Medida: 3 determinaciones de 30 segundos por muestra.

Delay time: 20 segundos.

Flujo de argón: 50 mL/min

Velocidad de la bomba FIAS: 120 rpm.

Volumen de muestra inyectado: 500 µL.

#### **3.1.1.4 Resultados y Discusión del desarrollo y optimización del método de extracción del arsénico en arroz.**

De los experimentos de extracción realizados se lograron obtener porcentajes de recuperación aceptables para ambas matrices evaluadas, arroz pulido y suelo.

La determinación de As total tanto para las muestras de arroz como de suelo se realizó por triplicado y en base a peso seco. Se realizó para cada muestra pesada y en paralelo la determinación del porcentaje de humedad (%H). Al momento de pesar las muestras para la extracción se pesó una segunda muestra a la cual se le registró el peso y se llevó a estufa a 105°C hasta peso constante, luego se determinó su % H siguiendo la expresión:

$$\%H: \frac{\text{Peso húmedo muestra}}{\text{seco muestra}} \times 100 \text{ Peso}$$

La mejor mezcla de extracción fue la que obtuvo un %R de 89 para arroz y 96 para suelo, y se refiere a la mezcla con las proporciones 5:1:3 (HNO<sub>3</sub> 1,4 M, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30% y H<sub>2</sub>O tipo ASTM 1 respectivamente).

Una vez seleccionada la mejor mezcla, y condiciones de extracción se avanzó hacia la validación del método para la determinación de arsénico en arroz y suelo.

### 3.1.2 Validación del método para la determinación de arsénico en arroz y suelo.

Luego de realizada la optimización del método de extracción se procedió a la validación de este, a fin de demostrar la calidad de los resultados analíticos y su adecuación al uso. Para la validación se establecen los parámetros de desempeño del método (evaluados mediante cifras de mérito), definiendo y estableciendo valores límites o especificaciones para cada una de ellas seleccionadas y de acuerdo con el propósito del método.

En esta etapa se propuso validar el método de Espectrometría de Absorción Atómica con Generación de Hidruros para la determinación de As total en grano de arroz y suelo. Para ello, se seleccionaron las siguientes características de desempeño siguiendo la guía EURACHEM (Magnusson et al., 2014): linealidad, límite de detección, robustez, exactitud y precisión.

En primera instancia, se trabajó sobre el paso de pre-reducción de la muestra donde se lleva el As a su forma reducida As (III). A 2 mL del estándar o muestra se le añadió 2 mL de HCl concentrado, 2 mL de la solución de KI/ Ac. Ascórbico al 5% y se esperó 45 minutos. Transcurrido el tiempo, se llevó a volumen 20 mL con agua ultrapura, quedando la muestra pronta para medir.

#### 3.1.2.2. Resultados y discusión de la validación del método de extracción del arsénico en arroz.

**Tabla 3.4.** Características de desempeño para la determinación de As en arroz y en suelo por *HG-AAS*.

Características de desempeño	As en arroz	As en suelo
LOD, N=10 (mgkg <sup>-1</sup> )	0,004	0,04
LOQ, N=10 (mgkg <sup>-1</sup> )	0,01	0,14
Rango lineal (µgL <sup>-1</sup> ) intervalo del instrumento*	1,793 - 30	1,793 - 25
Rango lineal (mgkg <sup>-1</sup> ) intervalo del método**	0,01– 1,2	0,14 - 25

Coeficiente de correlación de la curva de calibración	0,999	0,9993
Veracidad (Recuperación (%)), N=10***	89	96

\* definido en la validación en agua realizada en la tesis de Andrea Texo.

\*\* definido como: LOQ - linealidad  $\pm$  20 %

\*\*\* se realizó mediante blancos adicionados con estándar.

Los métodos desarrollados cumplen con los requisitos obteniéndose las cifras de mérito que se observan en la Tabla 3.4. siendo adecuados para su uso.

### **3.1.2.3 Conclusiones parciales y perspectivas.**

Se optimizaron las metodologías analíticas estableciendo las condiciones óptimas de digestión para la determinación de As total en arroz blanco pulido y en muestras de suelo.

Se validaron las metodologías optimizadas evaluándose las características de desempeño de los métodos, siguiendo la guía Eurachem, siendo ambos adecuados para la determinación de As en las matrices mencionadas.

## **3.2 Hierro en agua por Espectroscopia de Absorción Atómica de llama - Desarrollo y validación del método.**

El desarrollo metodológico para la extracción y determinación de Hierro total en agua por Espectroscopia de Absorción Atómica de llama (*FAAS*, sigla en inglés) se realizó en el Laboratorio de agua y suelos del CENUR Litoral Norte sede Salto. A continuación, se describe la metodología, materiales, procedimientos y validaciones.

### **3.2.1. Reactivos e instrumentación.**

### 3.2.1.1 Materiales y reactivos.

Previo a su uso todo el material de vidrio fue tratado con ácido nítrico 10% v/v durante toda la noche y luego se enjuagó 3 veces con agua ultrapura. El agua ultrapura de (ASTM Tipo I) fue obtenida mediante un purificador Ultrapure Water System arium mini, Sartorius.

Todos los reactivos empleados fueron de calidad analítica o superior, se mantuvo especial cuidado para evitar la contaminación de muestras, reactivos, o material dentro del laboratorio.

#### **Reactivos:**

Patrón de hierro: disolución de Fe:  $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ ; en  $\text{HNO}_3$  al 2%; Perkin Elmer; Lote 25-59FEX1. Una alícuota de la disolución patrón se diluyó con agua ultrapura para obtener las concentraciones apropiadas de las disoluciones patrón de trabajo.

MRC: Efluente Industrial MRC. INO.102. Lote 002. Latu. Contenido de Fe  $0,582 \pm 0,032 \text{ mg L}^{-1}$ . Emisión 05/06/2020. Vencimiento: 05/06/2024.

$\text{HNO}_3$  al 65% DORWIL, CAS 7697-37-2, Lote: T 291851373.

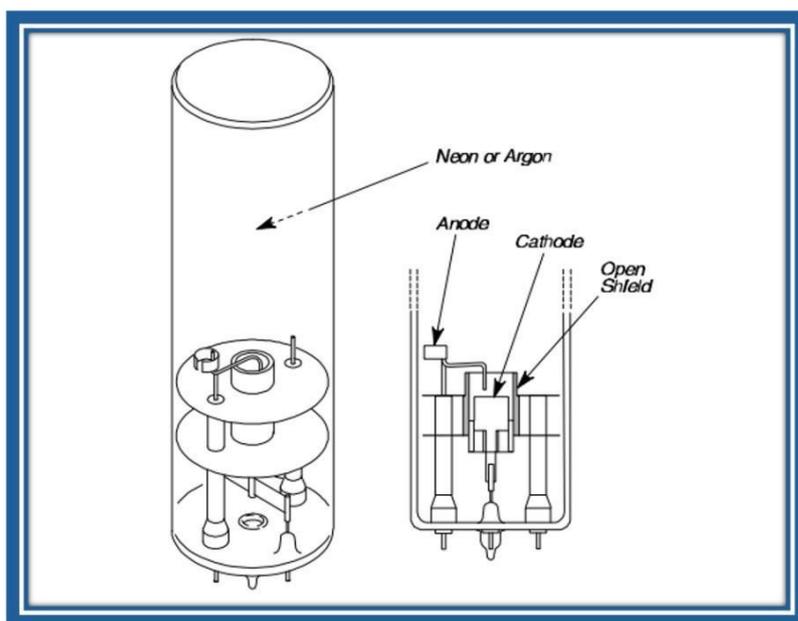
HCl al 37% Ácido clorhídrico fumante 37% p.a. EMSURE® ACS, ISO, Reag. Ph Eur Ord. No. 1003171000 marca Merck.

Solución de calcio: disolver 630 mg de carbonato de calcio ( $\text{CaCO}_3$  Nro. CAS 471-34-1) calidad PA, en 50 mL de ácido clorhídrico diluido 1 + 5 (una parte de HCl al 37% + 5 partes de  $\text{H}_2\text{O}$  destilada), si es necesario, calentar para disolver. Enfriar y diluir a 1000 mL con agua.

#### **Instrumentación:**

Balanza analítica Sartorius ENTRIS224I-1S, capacidad máxima 220 g, apreciación 0,0001 g.

Espectrómetro de absorción atómica Perkin Elmer PinAAcle 900 AA, todas las determinaciones analíticas se llevaron a cabo utilizando este instrumento (Figura 3.1), operado a 248,3 nm, equipado con un quemador de 10 cm (llama de aire-acetileno). La anchura de la rendija fue de 0,2 nm. Se utilizó una lámpara de cátodo hueco multielemento, código N3050217 (Perkin Elmer) como fuente de luz según las recomendaciones del fabricante.



**Figura 3.6** Esquema de una lámpara de cátodo hueco como la empleada para la determinación de Fe mediante AAS. Imagen adaptada de: Analytical Methods for Atomic Absorption Spectroscopy Perkin Elmer (1996).

Liofilizador: VD- 400F, freeze dryer. TAITEC MF G. N° 6050016.

Bomba de vacío: MODEL GLD-136C. Marca: ULVAC KIKO.Inc. Serial N° 0614224.

Placa calefactora: MACHEREY-NAGEL Thermoblock NANOCOLOR VARIO C2.

Tubos de vidrio con tapa rosca PIREX de 15 mL.

Agitador/ vibrador de tubos: Vortex V1 Plus – Boeco (Germany).

### 3.2.1.2 Método.

La técnica espectroscópica empleada en este trabajo para la determinación de hierro total AAS es aplicable para la determinación de hierro (Fe) en aguas naturales digeridas o no y otras matrices ambientales digeridas (aguas residuales, residuos sólidos, suelos, sedimentos, soluciones resultantes del test de toxicidad en lixiviados, etc.), DINAMA., 2017.

### 3.2.1.3 Optimización de las condiciones de digestión y pre- concentración del hierro en agua.

Para la preparación de la muestra, se realizó una digestión húmeda. Partiendo del método 3138 UY Determinación de Hierro en aguas naturales y otras matrices ambientales digeridas Método de Espectrofotometría de Absorción Atómica por Llama publicada en el manual de procedimientos analíticos para muestras ambientales de la DINAMA (DINAMA., 2017).

Se diseñó un experimento para el cual se consiguió una alícuota de material de referencia certificado (Efluente Industrial MRC. INO.102. Lote 002. Latu. Contenido de Fe  $0,582 \pm 0,032 \text{ mgL}^{-1}$ ). Sobre este MRC se probaron los ácidos para realizar la digestión: HCl y HNO<sub>3</sub> concentrados (el HClO<sub>4</sub> se descartó por su peligrosidad). Al mismo tiempo se trabajó sobre la preconcentración de las muestras. Se tomaron 50 mL de la muestra de riego Junco 2 con fecha 5/2/2022 y se llevaron a sequedad empleando el proceso de liofilización. Una vez seca, la muestra se llevó a volumen final de 10 mL y de 5 mL, concentrando 5 y 10 veces respectivamente el hierro presente. Además, para cada tratamiento de muestra se procesó un blanco empleando agua ASTM Tipo 1 más el ácido correspondiente a cada tratamiento. Posteriormente se procedió a calcular el %R a partir de los blancos fortificados con el agregado de  $0,25 \text{ mgL}^{-1}$  del Estándar de Fe.

<b>Condiciones Prueba</b>
<b>a:</b> HNO <sub>3</sub> / HCl concentrados
<b>b:</b> Temperatura :160 °C
<b>c:</b> Tiempo: 5 minutos
<b>d:</b> Preconcentración de la muestra: 5 y 10 veces.
<b>e:</b> Volumen muestra: 5 y 10 mL

Para la medición, a cada muestra se le añadió 50 µL de la solución de calcio y 40 µL de HNO<sub>3</sub> al 5%, posteriormente fueron llevadas a volumen final de 20 mL.

De esta manera, se obtuvieron 6 muestras, con sus respectivos blancos y los siguientes resultados:

**Tabla 3.5.** Resultados obtenidos de los experimentos de extracción y preconcentración.

Muestra	Fe (mgL <sup>-1</sup> )	% R
Blanco A: agua ASTM 1 + St Fe 0,25 mgL <sup>-1</sup> +HNO <sub>3</sub>	0,062	24,8
Blanco B: agua ASTM 1 + St Fe 0,25 mgL <sup>-1</sup> + HCl	0,102	40,8
Blanco C: agua ASTM 1 + HCl	-	-
Blanco D: agua ASTM 1 + HNO <sub>3</sub>	-	-
MRC A + HNO <sub>3</sub>	0,343	59,0
MRC B + HCl	0,955	73,5
Muestra A1: 10 MI + HCl	2,253	-
Muestra A2: 10 mL + HNO <sub>3</sub>	2,023	-
Muestra B1: 5 mL + HCl	3,130	-
Muestra B2: 5 mL + HNO <sub>3</sub>	3,195	-

- no se detectó

Para el tratamiento de digestión se eligen las siguientes condiciones:

- 1- Liofilizar 50 mL muestra previamente homogeneizada.
- 2- Llevar a volumen final de 5 mL con agua ASTM 1, para concentrar la muestra 10 veces.
- 3- Añadir 0,5 mL de HCl concentrado.
- 4- Llevar a la plancha calefactora en tubo cerrado a 160 °C durante 5 minutos.
- 5- Dejar enfriar para medir.

Preparación de las muestras para la medición mediante AAS:

- 1- Al digesto obtenido añadir 50 µL de la solución de calcio (ver lista de reactivos)
- 2- Añadir 40 µL de HNO<sub>3</sub> al 5%.
- 3- Llevar a volumen final de 20 mL con agua ASTM 1.

Las condiciones instrumentales para la medición fueron:

Longitud de onda: 248,3 nm.

Ancho de rendija: 0,2 nm.

Lámpara de cátodo hueco de hierro.

Tiempo de estabilización de la Lámpara: 15 minutos.

Tipo de medida con corrección de fondo (background con lámpara de deuterio).

Tipo de Llama: 10 L/min Aire /2,5 L/min Acetileno

Largo del quemador: 10 cm.

Medida: 3 determinaciones de 5 segundos por muestra.

Delay time: 15 segundos.

#### **3.2.1.4 Resultados y discusión del desarrollo y optimización del método de preconcentración del hierro en agua.**

De los experimentos de extracción y preconcentración de la muestra realizados se logró obtener un porcentaje de recuperación aceptable para la determinación de Fe total en agua mediante el método de AAS.

El mejor tratamiento de muestra obtuvo un %R de 73,5 en una preconcentración de la muestra en 10 veces, utilizando como extractante al HCl concentrado con las proporciones 10:1 (muestra: HCl, respectivamente).

Una vez seleccionadas las mejores condiciones de extracción se avanzó hacia la validación del método de determinación de hierro total en agua.

#### **3.2.2. Validación del método para la determinación de hierro en agua mediante AAS.**

Luego de realizada la optimización del método de extracción y preconcentración, se procedió a la validación de este.

En esta etapa se propuso validar el método de Espectrometría de Absorción Atómica para la determinación de Fe total en agua; para ello, se seleccionaron las siguientes características de desempeño siguiendo la guía EURACHEM (Magnusson et al., 2014): linealidad, límite de detección, robustez, exactitud y precisión.

### 3.2.2.2 Resultados y Discusión.

**Tabla 3.6.** Características de desempeño para la determinación de Fe total en agua por FAAS.

Características de desempeño	Fe total en agua
LOD, N=10 (mgL <sup>-1</sup> )	0,017
LOQ, N=10 (mgL <sup>-1</sup> )	0,066
Rango lineal (mgL <sup>-1</sup> ) intervalo del instrumento	0,066 – 10,0
Rango lineal (mgL <sup>-1</sup> ) intervalo de trabajo*	0,066 – 12,0
Coefficiente de correlación de la curva de calibración	0,9992
Veracidad (Recuperación (%)), N=10**	102

\* definido como: LOQ - linealidad  $\pm$  20 %

\*\* se realizó midiendo 10 blancos fortificados con estándar de Fe en las concentraciones: 2, 5 y 8 mgL<sup>-1</sup>.

### 3.2.2.3 Conclusiones parciales y perspectivas

Se optimizaron las metodologías analíticas estableciendo las condiciones óptimas de digestión y preconcentración para la determinación de Fe total por FAAS en muestras de agua.

Se validaron las metodologías optimizadas evaluándose las características de desempeño del método, siguiendo la guía Eurachem, siendo adecuado para la determinación de Fe total en la matriz mencionada.

### **3.3 Hierro en suelo y raíz de planta por Espectroscopia de Absorción Atómica de llama. Desarrollo y validación del método.**

El desarrollo metodológico para la extracción y determinación de Hierro total en raíz y raíz con suelo por *FAAS*, se realizó en el Laboratorio de agua y suelos del CENUR Litoral Norte sede Salto. A continuación, se describe la metodología, materiales, procedimientos y validaciones.

#### **3.3.1. Reactivos e instrumentación.**

##### **3.3.1.1 Materiales y reactivos.**

Todos los reactivos empleados fueron de calidad analítica o superior.

Patrón de hierro: disolución de Fe: 1000 mgL<sup>-1</sup>; en HNO<sub>3</sub> al 2%; Perkin Elmer; Lote HC55536773. Una alícuota de la disolución patrón se diluyó con agua ultrapura para obtener las concentraciones apropiadas de las disoluciones patrón de trabajo.

HNO<sub>3</sub> al 65% DORWIL, CAS 7697-37-2, Lote: T 291851373.

HCl al 37% Ácido clorhídrico fumante 37% p.a. EMSURE® ACS, ISO, Reag. Ph Eur Ord. No. 1003171000 marca Merck.

Acetileno puro para análisis marca Air Liquide.

##### **Instrumentación:**

Balanza analítica Sartorius ENTRIS224I-1S, capacidad máxima 220 g, apreciación 0,0001g.

Espectrómetro de absorción atómica Perkin Elmer PinAAcle 900 AA, todas las determinaciones analíticas se llevaron a cabo utilizando este instrumento (Figura 3.1), operado a 248,3 nm, equipado con un quemador de 10 cm (llama de aire-acetileno). La anchura de la rendija fue de 0,2 nm. Se utilizó una lámpara de cátodo hueco

multielemento, código N3050605 (Perkin Elmer) como fuente de luz según las recomendaciones del fabricante.

Placa calefactora MACHEREY-NAGEL Thermoblock NANOCOLOR VARIO C2.

Tubos de vidrio con tapa rosca PIREX de 15 mL.

Agitador/ vibrador de tubos: Vortex V1 Plus – Boeco (Germany).

### 3.3.1.2 Método.

La técnica espectroscópica empleada en este trabajo para la determinación de hierro total fue el AAS ya que se dispone de un equipo en el laboratorio.

### 3.3.1.3 Optimización de las condiciones de extracción del hierro en raíz y suelo.

Para la preparación de la muestra, se realizó una digestión húmeda según el método 3050B (EPA., 1996). Se diseñaron 9 experimentos a fin de determinar cuál es la mejor condición para extraer la mayor cantidad de arsénico en las muestras de raíz y raíz con suelo, en los cuales se variaron 3 condiciones:

Condiciones
a: HNO <sub>3</sub> concentración
b: Temperatura
c: Tiempo

Condiciones Experimentales			
	a	b	c
1	0,14 M	70 °C	10 minutos
2	0,28 M	95 °C	15 minutos
3	0,56 M	120 °C	20 minutos

Las condiciones señaladas en amarillo corresponden a las tomadas como referencia (Roel et al., 2022 para la extracción de As en arroz) utilizadas como base para el planteamiento de los experimentos.

El procedimiento fue el siguiente: se pesaron 0,3 g de muestra de raíz limpia y molida, y 0,5 g de raíz con suelo, luego se añadió 5 mL de HNO<sub>3</sub> y se llevó en tubo cerrado a una

placa calefactora MACHEREY-NAGEL Thermoblock NANOCOLOR VARIO C2 siguiendo el diseño experimental de la tabla 3.1.

Pasado el tiempo, se añadió 1 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30% y 3 mL de agua tipo ASTM 1. Se dejó reposar durante 2 h, luego se centrifugó a 3000 rpm durante 10 minutos y se filtró el sobrenadante con filtro de nylon 0,45 µm de poro. Las muestras fueron conservadas en heladera hasta su determinación.

Se procesó a igual temperatura que los tratamientos un blanco de reactivos para cada concentración de HNO<sub>3</sub>.

De esta manera, se obtuvieron 9 muestras con sus respectivos duplicados. De los resultados obtenidos, el tratamiento 2 otorgaba mejores extracciones para las muestras de raíz y el tratamiento 9 para las muestras de raíz con suelo.

Las condiciones de tratamiento seleccionadas para la extracción de Fe en las muestras de raíz fueron las siguientes:

0,3 g muestra + 5 mL de HNO <sub>3</sub> 0,14 M → 70°C durante 20 minutos.
--

Y para las muestras de raíz con suelo:

0,5 g muestra + 5 mL de HNO <sub>3</sub> 0,56 M → 120°C durante 20 minutos.
---

Pasado el tiempo se añadió 1 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30% y 3 mL de agua tipo ASTM 1. Se dejó reposar durante 2 h, luego se centrifugó a 3000 rpm durante 10 minutos y se filtró el sobrenadante con filtro de nylon 0,45 µm de poro. Las muestras fueron conservadas en heladera hasta su determinación. Se procesó a igual temperatura que los tratamientos un blanco de reactivos para cada concentración de HNO<sub>3</sub>.

#### Preparación de las muestras para la medición mediante AAS:

- 1- Al digesto obtenido añadir 125 µL de la solución de calcio (ver lista de reactivos)
- 2- Añadir 40 µL de HNO<sub>3</sub> al 5%.
- 3- Llevar a volumen final de 50 mL con agua ASTM 1.

Las condiciones instrumentales para la medición fueron:

Longitud de onda: 248,3 nm.

Ancho de rendija: 0,2 nm.

Lámpara de cátodo hueco de hierro.

Tiempo de estabilización de la lámpara: 15 minutos.

Tipo de medida con corrección de fondo (background con lámpara de deuterio).

Tipo de Llama: 10 L/min Aire /2,5 L/min Acetileno

Largo del quemador: 10 cm.

Medida: 3 determinaciones de 5 segundos por muestra.

Delay time: 15 segundos.

#### **3.3.1.4 Resultados y Discusión del desarrollo y optimización del método de extracción del hierro en suelo y raíz.**

De los experimentos de extracción realizados se lograron obtener porcentajes de recuperación aceptables para ambas matrices evaluadas, raíz y raíz con suelo.

La mejor mezcla de extracción fue la que obtuvo un %R de 104 para raíz y 83 para raíz con suelo, y se refiere a la mezcla con las proporciones 5:1:3 (HNO<sub>3</sub> 0,14 M para raíz y 0,56 M para raíz con suelo, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30% y H<sub>2</sub>O ultrapura respectivamente).

Una vez seleccionada la mejor mezcla, y condiciones de extracción se avanzó hacia la validación del método y determinación de Fe total en las muestras.

#### **3.3.2. Validación del método para la determinación de hierro en raíz y raíz con suelo mediante FAAS.**

Para la validación de los métodos se utilizaron materiales de referencia internos. Se tomó una muestra perteneciente al predio Junco 1 de raíz lavada y molida y de raíz con suelo

molida y se enviaron a analizar al Laboratorio Laai. Se tomaron los valores informados como de referencia para el cálculo de los % de R.

### 3.3.2.2 Resultados y Discusión.

**Tabla 3.7.** Características de desempeño para la determinación de Fe total en raíz y en raíz con suelo por AAS.

Características de desempeño	Fe total en raíz	Fe total en raíz con suelo
LOD, N=10 (mgkg <sup>-1</sup> )	46	28
LOQ, N=10 (mgkg <sup>-1</sup> )	159	95
Rango lineal (mgL <sup>-1</sup> ) intervalo del instrumento	0,095 – 6,0	0,095 – 6,0
Rango lineal (mgkg <sup>-1</sup> ) intervalo del método	159 – 8333	95– 5000
Coefficiente de correlación de la curva de calibración	0,9998	0,9997
Veracidad (Recuperación (%)), N=10 *	104	83

\* se realizó midiendo 10 blancos fortificados con estándar de Fe en las concentraciones: 2, 5 y 8 mgL<sup>-1</sup>.

### 3.3.2.3 Conclusiones y perspectivas.

Se optimizaron las metodologías analíticas estableciendo las condiciones óptimas de digestión para la determinación de Fe total por FAAS en muestras de raíz y raíz con suelo.

Se validaron las metodologías optimizadas evaluándose las características de desempeño de los métodos, siguiendo la guía Eurachem, siendo adecuados para la determinación de Fe total en las matrices mencionadas anteriormente.

## BIBLIOGRAFÍA

AOAC International, 2016. *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 20va ed. Maryland: AOAC. Official Method 986.15, first action 1986-final action 1988.

APHA, American Public Health Association. (2012). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. (22 ed.).

Brima, E., Jenkins, R., & Haris, P. (2006). Understanding arsenic metabolism through spectroscopic determination of arsenic in human urine. *Spectroscopy*, 20, 125-151.

Bühl Padial, V. (2017.). *Desarrollo de metodologías analíticas para especiación de arsénico en matrices ambientales y biológicas con técnicas alternativas al HPLC-ICP-MS y su aplicación a estudios poblacionales*. Tesis de doctorado. Universidad de la República (Uruguay). Facultad de Química.

Cava- Montesinos P., Cervera M.L., Pastor A., de la Guardia M. (2004). Determination of As, Sb, Se, Te and Bi in milk by slurry sampling hydride generation atomic fluorescent spectrometry. **Talanta**. 62, p.175-184.

Dirección Nacional de Medio Ambiente (DINAMA). (2017). *Método 3138UY hierro\_v4* [PDF]. <https://www.gub.uy>

EPA. 1996. "Method 3050B: Acid Digestion of Sediments, Sludg EPA. 1996. "Method 3050B: Acid Digestion of Sediments, Sludges, and Soils," Revision 2.es, and Soils," Revision 2.

Magnusson B and U. Örnemark (eds.) *Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics*, (2nd ed. 2014). ISBN 978-91-87461-59-0. Available from [www.eurachem.org](http://www.eurachem.org).

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

Organización Panamericana de la Salud. (1995). *Análisis de metales en agua potable y residual por espectrofotometría de Absorción Atómica*. Lima: Centro Panamericano de

Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente. Recuperado de:  
<http://www.bvsde.paho.org/bvsacg/fulltext/analisis.pdf>

Ramesh, K., & Riyazuddin, P. (2005). Mechanism of Volatile Hydride Formation and Their Atomization in Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry. *Analytical Sciences*, 21(12), 1401-1410

Roel A, Campos F, Verger M, Huertas R, Carracelas G. Regional variability of arsenic content in Uruguayan polished rice. *Chemosphere*. 2022 Feb;288(Pt 1):132426. doi: 10.1016/j.chemosphere.2021.132426. E pub 2021 Oct 1. PMID: 34606901.

Selectivity in analytical chemistry (IUPAC recommendations 2001), *Pure Appl. Chem.*, 2001, 73(8), 1381.

Tissot Ramos, F., Pereira Berrutti, M. C., Pistón Pedreira, M. M., Ibañez, F., & Dini, S. (2019). Desarrollo de una metodología analítica para la determinación de Cd, Pb y As en frutas y hortalizas como una alternativa a los métodos estándar de análisis. *INNOTEC*, (19 ene-jun), 52–63. <https://doi.org/10.26461/19.01>

Tomohiro Narukawa \_, Koichi Chibab \_, Savarin Sinaviwat c, Jörg Feldmann c. (2017). Method for Rapid Monitoring of Inorganic Arsenic in Rice Flour Using Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography and Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. <https://www.sciencedirect.com/journal/journal-of-chromatography-a>, Volumen 1479, 6 de enero de 2017, páginas 129-136 <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2016.12.001>

## **CAPÍTULO IV**

### **Resultados y Discusión**

En este Capítulo se muestran y discuten todos los resultados analíticos de las muestras colectadas y analizadas durante el periodo septiembre 2021 a mayo 2022, previo, durante y posterior a la cosecha del año 2022, para los tres establecimientos estudiados. En esta etapa se han completado los objetivos específicos 2 al 5.

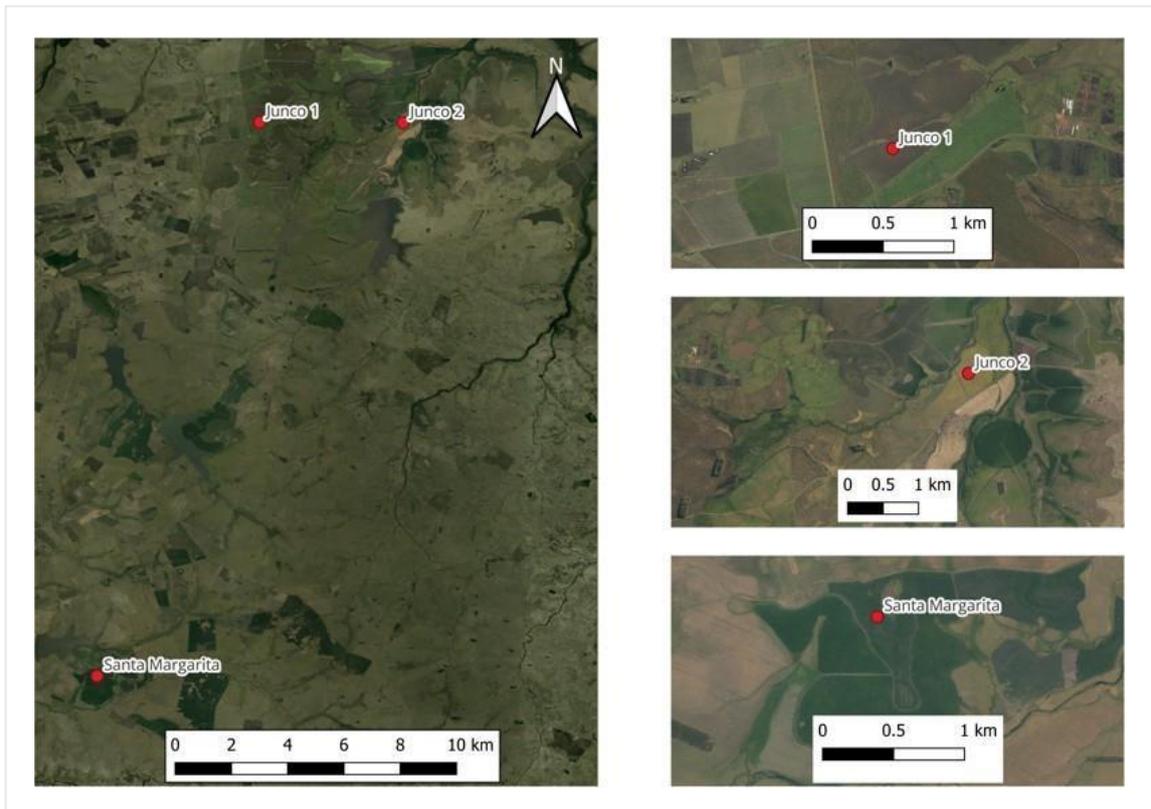
## **4.1 Resultados de parámetros monitoreados en agua de riego e inundación y agua del suelo.**

A continuación, se muestran los resultados de los parámetros fisicoquímicos y químicos registrados *in situ* y/o analizados posteriormente en el Laboratorio de aguas y suelo del CENUR Litoral Norte Sede Salto y el laboratorio de fisiología de la Estación Experimental INIA Salto Grande. Para las matrices agua de riego, agua de inundación y “agua del suelo” obtenida a partir de los succionadores se determinaron los parámetros; pH, conductividad eléctrica (C.E  $\mu\text{Scm}^{-1}$ ), potencial redox (ORP, en mV), turbidez (NTU), oxígeno disuelto (OD  $\text{mgL}^{-1}$ ), alcalinidad ( $\text{mgCaCO}_3 \text{L}^{-1}$ ), dureza (expresado como  $\text{mgCaCO}_3 \text{L}^{-1}$ ), fósforo total (P total expresado como  $\mu\text{gPO}_4\text{L}^{-1}$ ), hierro total (Fe total  $\text{mgL}^{-1}$ ), As total ( $\mu\text{gL}^{-1}$ ) y fosfatos ( $\text{PO}_4^{3-} \text{mgL}^{-1}$ ) como se presentó en el Capítulo 2. Los resultados de fosfatos serán presentados en conjunto con los demás iones determinados por cromatografía iónica en el apartado 4.1.4.

Los resultados se presentan y discuten ordenados según la matriz.

### **4.1.1 Agua de riego.**

El agua para riego es aquella proveniente de las represas que almacenan el agua de esorrentía (agua superficial), tajamares, ver Figura 4.1, y que ingresa de los predios Santa Margarita, Junco 1 y Junco 2 a través de un sistema de canales. Se muestreó el agua del tajamar como se explicó en el capítulo 2 previo a la siembra con el fin de caracterizarla. Posteriormente, se realizó el seguimiento del agua de riego obtenida desde las tuberías de ingreso a cada predio.



**Figura 4.1.** Ubicación de los tajamares y los predios de estudio.

En la Tabla 4.1 se muestran los datos fisicoquímicos y químicos para cada sitio en el momento de la colecta de muestra.

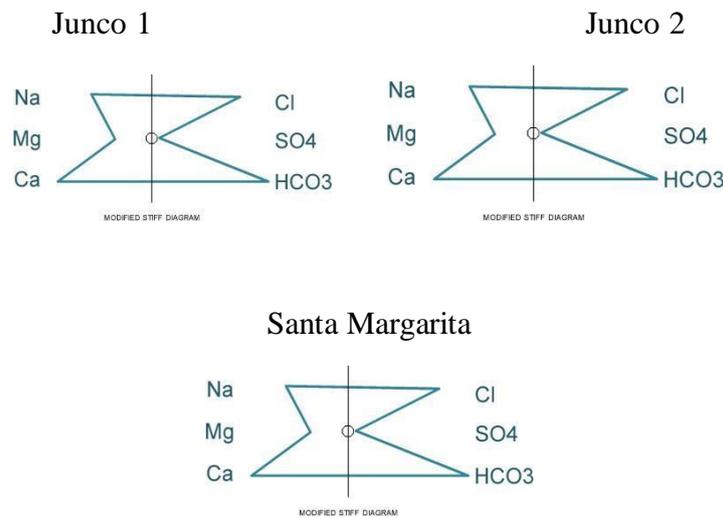
**Tabla 4.1.** Parámetros fisicoquímicos registrados en el agua de riego y en el agua de tajarar, *in situ* en cada sitio de muestreo.

fecha	parcela-lugar	tipo de muestra	pH	C.E(mS cm <sup>-1</sup> )	ORP (mV)	OD (mgL <sup>-1</sup> )	turbidez (NTU)	P total (µg PO <sub>4</sub> L <sup>-1</sup> )	alcalinidad (mg CaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup> )	dureza (mg CaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup> )
14/10/2021	J1	AT	10.3	0.12	165	8.9	45.0	186.7	62.7	115
14/10/2021	J2	AT	9.7	0.09	171	8.8	78.6	234.0	50.1	75
14/10/2021	SM	AT	9.3	0.14	176	9.1	73.7	152.7	75.2	110
11/12/2021	SM	AR	7.6	0.17	190	7.8	143.0	174.7	112.8	170
11/12/2021	J1	AR	7.6	0.14	187	7.8	35.6	270.0	75.2	135
21/12/2021	J2	AR	7.7	0.16	180	7.9	77.0	170.7	87.8	150
5/1/2022	J1	AR	7.6	0.16	196	9.5	12.7	610.0	75.2	145
5/1/2022	J2	AR	7.6	0.14	203	9.6	36.5	182.7	75.2	130
5/1/2022	SM	AR	7.6	0.18	193	9.6	50.1	317.3	100.3	155
5/2/2022	J1	AR	7.3	0.16	201	9.5	6.9	649.3	125.4	145
5/2/2022	J2	AR	7.4	0.28	189	9.7	12.2	224.0	87.8	130
5/2/2022	SM	AR	7.6	0.18	211	9.5	4.4	317.3	100.3	155
22/2/2022	J1	AR	7.7	0.18	230	9.9	3.7	610.0	100.3	155
22/2/2022	J2	AR	7.8	0.12	250	9.8	1.0	192.7	175.5	120
22/2/2022	SM	AR	7.8	0.21	235	9.7	1.2	256.0	112.8	150

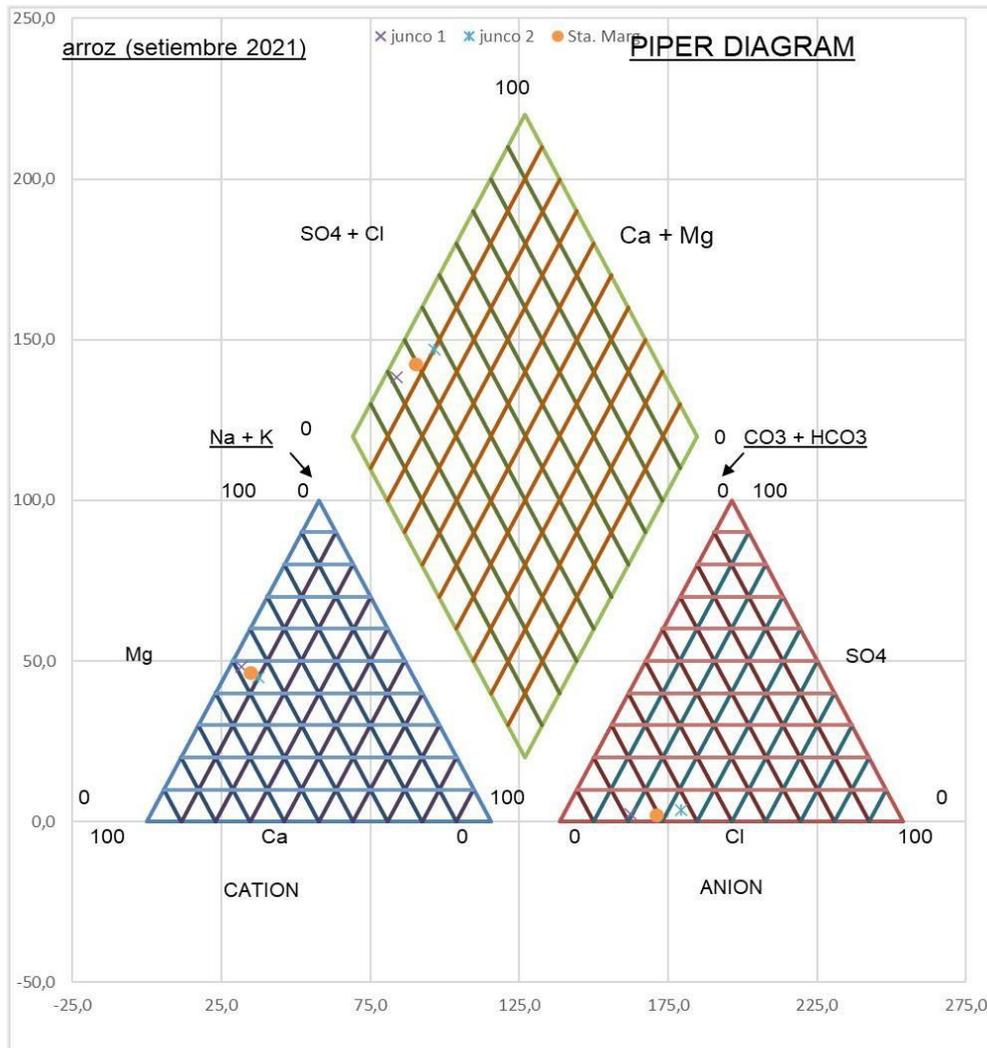
J1: Junco 1, J2: Junco 2, SM: Santa Margarita, AR: agua de riego AT: agua del tajarar.

Como se observa en la Tabla 4.1, el pH para el agua del tajamar es alcalino, observándose el máximo valor (10,26) para el sitio J1. El pH puede verse alterado de acuerdo con el grado de eutroficación y a las modificaciones del sistema de carbonatos del agua dadas por la producción de CO<sub>2</sub> (durante la respiración por parte de los organismos heterótrofos) o por el consumo de este gas (debido a la fotosíntesis de los organismos autótrofos). Probablemente estos valores alcalinos de pH estén influenciados por las condiciones de óxido reducción que predominan en el sistema debido a la degradación del material orgánico particulado y la presencia de aguas carbonatadas (García ,2016).

Realizando la caracterización de estas aguas se pudo observar que las 3 aguas son de tipo bicarbonatada-cálcica, es decir, son aguas ricas en bicarbonato, y calcio. Esto es típico de las aguas dulces, en contacto con rocas cristalinas, carbonatadas y calizas (Chebotarev 1955). A continuación, se presentan los diagramas de Stiff y Piper para estas aguas:



**Figura 4.2.** Diagramas de Stiff para el agua de riego para cada uno de los sitios estudiados.



**Figura 4.3.** Diagrama de Piper para el agua de riego (fuente) para cada uno de los sitios estudiados.

Para el agua de riego, el pH varió entre 7.3 y 7.8. Esta disminución del pH al llegar a los sitios podría estar vinculada a las fertilizaciones con urea para el aporte nitrógeno a los cultivos que se iniciaron posteriormente al primer muestreo. Se fertilizó de forma aérea en 3 oportunidades: al inicio del macollaje, a los 15 días posteriores a la primera aplicación y en fase primordio. La urea es uno de los fertilizantes nitrogenados más utilizados en la agricultura, ya que es una fuente económica y eficaz de nitrógeno para las plantas. Uno de los impactos ambientales más importantes es la acidificación de los cursos de agua cercanos, lo que puede afectar la calidad del agua y los ecosistemas acuáticos (Brady & Weil, 2010). La descomposición de la urea también produce dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), que se disuelve en el agua formando ácido carbónico ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ). Este

proceso contribuye a la disminución del pH, especialmente en sistemas acuáticos con baja capacidad de tamponamiento (Cai et al., 2010).

En cuanto a la conductividad eléctrica (C.E) ( $\text{mScm}^{-1}$ ), se observa un ligero aumento a lo largo del desarrollo del cultivo. Esto podría deberse a las fertilizaciones realizadas. Como ya se discutió, la urea agregada (una sustancia neutra) se va transformando en nitratos y carbonatos, sustancias iónicas que aumentan la conductividad. También se observa una disminución de la CE al final de la cosecha en el J2 que podría estar relacionado al ingreso de agua a la fuente o a las lluvias, pues se observó un acumulado de mm de lluvia mayor en Junco 2 (460 mm) que en los otros sitios (261 mm) durante el tiempo del cultivo según los datos proporcionados por el establecimiento.

En cuanto al ORP medido en el agua de riego, varió en el rango de 150-250 mV. Se observa para los tres predios un ligero aumento al final del ciclo.

El O.D varió ligeramente a lo largo del ciclo, encontrándose entre 8- 10  $\text{mgL}^{-1}$ .

La tendencia de los valores de turbidez disminuye al final del ciclo de cultivo, lo que podría estar relacionada a un ingreso de agua desde el arroyo Tala al tajamar. A su inicio el canal que riega el arroz recibe sus principales aportes de agua por medio de los tajamares. A lo largo del sistema de canales existen entradas y salidas de agua. Las pérdidas se atribuyen a evaporación directa e infiltración a través del lecho. Mientras que las ganancias se deben a aportes superficiales y subsuperficiales de su cuenca inmediata (Olivera et al., 2018).

Los valores de P total en agua, para J1 y SM tienden a subir en el tiempo alcanzando los niveles máximos al final del ciclo (el día 5/2/22, máx 649  $\mu\text{gL}^{-1}$ ). Este P puede provenir de materia orgánica en descomposición o de la aplicación de fertilizantes u otros agroquímicos. Se les consultó a los trabajadores del predio sobre qué tipo de fertilizante aplican y cuando los aplican para saber si el fósforo podría llegar a provenir de esa fuente. Se pudo constatar que para arroz se aplica una fertilización fosfatada en la línea de siembra y a lo largo del cultivo se utilizan formulaciones a base de nitrógeno que no presentan fósforo. Sin embargo, el predio cuenta con cultivos de soja cercanos, y en esos sitios se aplicó una fertilización fosfatada en los meses de octubre-noviembre. Esto podría llevar, como se comentó anteriormente, a que por escorrentía el P se fuera acumulando en los terrenos más bajos aumentando su concentración.

En Uruguay se han medido altos valores de concentración de P en agua en diversos trabajos de investigación (Carrasco-Letelier, 2015; Goyenola et al. 2021) y en planes de monitoreo (Ministerio de Ambiente, 2020). Los mismos se han atribuido al manejo de la fertilización con P (Goyenola et al. 2021; Aubriot et al., 2017) y a la erosión (Carrasco-Letelier, 2015; Beretta, 2019; Goyenola et al. 2021; Ministerio de Ambiente, 2020). Las pérdidas difusas de P desde suelos bajo producción agropecuaria convencional se asocian al transporte por escorrentía superficial. Sin embargo, resultados más recientes a nivel internacional indican que bajo siembra directa donde prima la aplicación de P en superficie, las pérdidas solubles son muy altas (Jarvie, et al.,2017).

En cuanto a la alcalinidad y la dureza determinadas en este trabajo, se observa una fluctuación de los valores para ambos parámetros durante el ciclo estudiado. Esto es de esperarse porque la alcalinidad refleja la capacidad del agua para neutralizar ácidos, está principalmente influenciada por la presencia de bicarbonatos, carbonatos y, en menor medida, compuestos como hidróxidos. En los tajamares utilizados para el cultivo de arroz, la alcalinidad tiende a mantenerse estable debido a la acción de los suelos en el proceso de equilibrio ácido-base. Estos suelos son ricos en compuestos calcáreos, que actúan como tampones naturales, evitando grandes variaciones en la alcalinidad (De Datta, 1981). En cuanto a la dureza del agua está relacionada principalmente con la concentración de iones de calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) y magnesio ( $\text{Mg}^{2+}$ ) en el agua. En los tajamares, la dureza se ve afectada principalmente por el origen geológico del agua y la interacción entre el agua y el suelo. En muchos sistemas de arroz, los suelos tienen una alta capacidad tamponadora debido a la presencia de minerales como el carbonato de calcio ( $\text{CaCO}_3$ ), lo que limita las fluctuaciones significativas en la dureza del agua durante el ciclo del cultivo (Singh & Tiwari, 2009). Además, la carga mineral del agua en tajamares puede ser relativamente constante debido a la estabilidad de los procesos de disolución y precipitación que ocurren en el medio acuático.

En conclusión, se caracterizó el agua de tajamar utilizada para el riego encontrando que su pH es alcalino, aunque tiende a neutralizarse en su recorrido hacia el cultivo a lo largo de los canales, su OD y ORP solo varían ligeramente siendo los esperados para un cuerpo de agua superficial, mientras que los valores de P. total son relativamente elevados observándose un marcado aumento en uno de los predios posiblemente a causa de la fertilización fosfatada en predios cercanos.

#### 4.1.2 Aguas de inundación.

Los resultados del monitoreo de parámetros en agua de inundación (lámina de agua de unos 10 cm sobre superficie del suelo), durante todo el ciclo se muestran en la tabla 4.2.

**Tabla 4.2.** Parámetros fisicoquímicos registrados en el agua de inundación determinados *in situ* en cada sitio de muestreo.

fecha	parcela-lugar	pH	C.E (mS cm <sup>-1</sup> )	ORP (mV)	OD (mgL <sup>-1</sup> )	turbidez (NTU)	alcalinidad (mg CaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup> )
6/11/2021	J1N	7.9	0.10	249	sd	sd	sd
6/11/2021	J1S	8.0	0.07	264	sd	sd	sd
6/11/2021	J1E	8.0	0.06	266	sd	sd	sd
6/11/2021	J1O	7.4	0.12	260	sd	sd	sd
13/11/2021	J1N	7.7	0.14	154	sd	sd	sd
13/11/2021	J1S	7.6	0.17	148	sd	sd	sd
13/11/2021	J1E	9.6	0.11	109	sd	sd	sd
13/11/2021	J1O	8.0	0.13	220	sd	sd	sd
20/11/2021	J1N	7.6	0.08	206	sd	sd	sd
20/11/2021	J1S	8.0	0.18	185	sd	sd	sd
20/11/2021	J1E	7.5	0.18	227	sd	sd	sd
20/11/2021	J1O	7.3	0.17	212	sd	sd	sd
11/12/2021	J1N	9.2	0.12	146	7.5	166.0	87.8
11/12/2021	J1S	8.3	0.24	176	7.9	9.5	125.4
11/12/2021	J1E	8.8	0.10	172	8.3	19.0	112.8
11/12/2021	J1O	9.3	0.16	116	7.1	35.4	112.8
11/12/2021	SMN	3.6	0.22	-46	8.0	61.1	75.2
11/12/2021	SMS	3.8	0.20	-49	7.9	8.3	87.8
11/12/2021	SME	4.6	0.28	-40	7.8	25.9	75.2
11/12/2021	SMO	4.2	0.18	-66	7.9	12.9	87.8
11/12/2021	J2N	7.6	0.11	236	7.7	20.6	137.9
11/12/2021	J2S	7.5	0.15	231	7.9	24.5	137.9
11/12/2021	J2E	7.3	0.14	205	8.0	57.4	137.9
11/12/2021	J2O	8.1	0.13	163	8.2	17.6	112.8
21/12/2021	J1N	8.5	0.16	-62	9.0	56.5	100.3
21/12/2021	J1S	8.4	0.18	-90	8.9	86.9	112.8
21/12/2021	J1E	8.5	0.16	-97	8.8	44.1	100.3
21/12/2021	J1O	8.7	0.15	-98	9.0	21.5	87.8
21/12/2021	SMN	7.7	0.32	-66	9.2	43.6	200.6
21/12/2021	SMS	7.7	0.36	-68	9.6	2.2	213.1
21/12/2021	SME	7.7	0.28	-64	9.1	13.8	162.9
21/12/2021	SMO	7.8	0.24	-65	9.1	4.6	137.9

21/12/2021	J2N	7.3	0.20	-42	9.0	2.9	150.4
21/12/2021	J2S	7.4	0.18	-47	8.9	1.7	100.3
21/12/2021	J2E	7.3	0.23	-39	8.8	22.6	150.4
21/12/2021	J2O	7.4	0.20	-41	9.1	9.5	125.4
5/1/2022	J1N	7.3	0.15	168	6.9	73.8	87.8
5/1/2022	J1S	7.7	0.16	174	8.5	18.3	100.3
5/1/2022	J1E	7.4	0.15	202	9.3	57.2	100.3
5/1/2022	J1O	7.5	0.16	185	9.9	73.7	112.8
5/1/2022	J2N	7.4	0.27	197	9.5	6.1	150.4
5/1/2022	J2S	7.6	0.16	208	9.5	4.9	100.3
5/1/2022	J2E	7.5	0.34	192	9.2	7.0	213.1
5/1/2022	J2O	7.7	0.20	189	9.4	4.1	112.8
5/1/2022	SMN	7.6	0.21	179	9.0	4.6	137.9
5/1/2022	SMS	8.2	0.22	184	9.3	20.7	137.9
5/1/2022	SME	7.7	0.27	188	9.9	7.8	162.9
5/1/2022	SMO	7.7	0.19	185	9.3	29.6	112.8

J1E: Junco 1 Este, J1N: Junco 1 Norte, J1S: Junco 1 Sur, J1O: Junco 1 Oeste, J2E: Junco 2 Este, J1N: Junco 1 Norte, J1S: Junco 1 Sur, J1O: Junco 1 Oeste. SMN: Santa Margarita Norte, SMS: Santa Margarita Sur, SME: Santa Margarita Este y SMO: Santa Margarita Oeste y sd: sin datos.

Según la evolución temporal de las variables analizadas al inicio y durante el período de inundación se observa lo siguiente:

El pH varía a lo largo del tiempo evaluado para los sitios J1 y J2, entre 7,3 y 9,6. En S.M el pH inicial es ácido alrededor de 4 y a medida que pasan los días tiende a la neutralidad. Este cambio en S.M coincide con las observaciones de algunos autores, como Bremner & Blackmer, 1978, quienes concluyen que, en suelos inundados, el pH tiende a ser bajo en las fases reductoras debido a la producción de ácidos orgánicos y gases como el CO<sub>2</sub>, mientras que la oxigenación del agua puede ayudar a estabilizar o incluso elevar ligeramente el pH hacia el final del ciclo.

Este cambio también pudo haberse favorecido por las lluvias, que entre el 1/1/2021 y el 4/1/2021 se registraron 34 mm. Durante el desarrollo del cultivo, el aumento de la actividad microbiana, debido a la mayor cantidad de materia orgánica proveniente de los residuos vegetales y raíces de arroz, también contribuye a la disminución del pH. La descomposición de la materia orgánica produce ácidos orgánicos como el ácido acético y el ácido butírico, que acidifican el medio (Soto et al., 2017).



La reducción de compuestos como el hierro ocurre en condiciones anaeróbicas, donde los microorganismos encargados de estos procesos están más activos. La acumulación de productos reductores, como el sulfuro de hidrógeno, también es común en estos suelos inundados y contribuye a un ORP bajo, ya que el sulfuro de hidrógeno es una sustancia que se genera en ambientes reductores (Moss, 1996). Este entorno de alta actividad reductora caracteriza la fase inicial del ciclo del cultivo de arroz. Hacia el final del ciclo del cultivo, cuando las plantas de arroz están más desarrolladas, se incrementa la tasa fotosintética. Esto está favorecido por la liberación de oxígeno a través de las raíces al agua de inundación, lo que aumenta la concentración de oxígeno disuelto en el agua. Este oxígeno disuelto favorece las reacciones de oxidación en la capa superficial del agua, como la oxidación del hierro, que aumenta el ORP. Las raíces de arroz tienen un mecanismo conocido como "oxigenación radicular", en el cual liberan oxígeno al entorno, ayudando a restablecer un equilibrio redox más oxidante en el agua (Kirk, 1994; Munns et al., 2013). Esta mayor oxigenación del agua hacia el final del ciclo también reduce la acumulación de productos reductores, como el sulfuro de hidrógeno (H<sub>2</sub>S), y limita la actividad de los microorganismos anaeróbicos. Este cambio en las condiciones redox contribuye al aumento del ORP (Sasamoto et al., 2019).

Estas observaciones coinciden con Ethan 2015, quien concluye que al sumergir un suelo aeróbico su ORP disminuye durante los primeros días y alcanza un mínimo; luego aumenta alcanza un máximo y vuelve a disminuir asintóticamente hasta un valor característico del suelo, después de 8-12 semanas de inmersión.

El OD aumenta ligeramente con el transcurso del tiempo. Esto se relaciona con un aumento de la actividad fotosintética por parte de plantas acuáticas, algas y bacterias fotosintéticas que multiplicaron su población en dichas condiciones tal como se observa en la Figura 4.5, donde el color del agua se debe a la presencia de algas y bacterias fotosintéticas.



**Figura 4.5.** Lámina de agua en el cultivo en el predio Santa Margarita.

La turbidez determinada para esta agua tiende a disminuir al final del ciclo, esto puede deberse al ingreso de nueva agua desde la fuente para reponer la lámina al aumentar la evapotranspiración de la superficie debido a las altas temperaturas o las pérdidas del propio sistema de riego.

La alcalinidad se mantiene constante como se observa en los sitios J1 y J2. En S.M aumenta, obteniendo su máximo valor el día 21/12/2021 y luego baja. Esto coincide con una disminución abrupta del pH registrado en dicha fecha que llegó a un valor de 4,06, con un ambiente muy reductor ORP -66mV. Esta disminución del pH también podría ser explicada por la aplicación de urea del día 27/11/2021 haya acidificado el agua de inundación, tal como se explicó anteriormente.

En conclusión, para los parámetros determinados en el agua de inundación se observó que, los parámetros pH, C.E y alcalinidad se mantuvieron constantes debido a procesos propios de la interacción de los sistemas agua-suelo. La turbidez y el ORP tendieron a disminuir debido a los procesos desencadenados en la instalación de un ambiente reductor. El OD aumentó debido a un equilibrio entre las actividades microbiológicas que activaron el proceso de oxigenación a través del aerénquima de las raíces de las plantas de arroz.

#### **4.1.3 Agua de la solución de suelo.**

El agua contenida en los poros del suelo es esencial para la vida de las plantas y para los procesos biogeoquímicos que ocurren en el suelo. La distribución y la disponibilidad de esta agua dependen en gran medida de la estructura y de las propiedades físicas del suelo,

como la textura, la densidad y la porosidad. Existen dos tipos principales de poros en el suelo: los poros grandes (o macroporos) y los poros pequeños (o microporos). Los macroporos son aquellos que permiten el paso de agua rápidamente, como los poros entre las partículas de arena. Los microporos, en cambio, son más pequeños y están relacionados con la retención de agua que las plantas pueden absorber. La cantidad de macroporos y microporos en el suelo depende de la textura del suelo. Los suelos arenosos, por ejemplo, tienen más macroporos y permiten un drenaje más rápido, mientras que los suelos arcillosos tienen más microporos y retienen agua por más tiempo (Hudson, 1994). El agua contenida en los poros del suelo puede estar en dos formas principales: agua gravitacional y agua capilar. El agua gravitacional es aquella que se mueve por gravedad, generalmente en los poros grandes y que no es retenida por las partículas del suelo. Es el agua que se drena rápidamente tras una lluvia o riego. Por otro lado, el agua capilar es aquella que se mantiene en los microporos debido a la fuerza de la capilaridad, y es la forma de agua que las plantas pueden utilizar para su nutrición. Esta agua es más lentamente accesible, pero es fundamental para la supervivencia a largo plazo de las plantas (Sposito, 2008). Los suelos de los sitios estudiados en esta tesis presentan, como veremos más adelante, texturas con alto porcentaje de microporos, con la ayuda de los succionadores se obtienen las muestras de agua contenida en ellos y de interés para los análisis realizados.

A continuación, en la Tabla 4.3 se presentan los resultados del monitoreo de parámetros en estas aguas obtenidas a partir de succionadores durante todo el ciclo.

**Tabla 4.3.** Parámetros fisicoquímicos registrados en agua del suelo obtenida a partir de succionadores, *in situ* en cada sitio de muestreo.

fecha	parcela-lugar	Hierro total (mg L <sup>-1</sup> )	As total (μL <sup>-1</sup> )	pH	C.E(mS cm <sup>-1</sup> )	ORP (mV)	OD (mg L <sup>-1</sup> )	turbidez (NTU)	alcalinidad (mg CaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup> )
4/12/2021	J1N	sd	< 1.8	8.4	0.89	-23	sd	sd	sd
4/12/2021	J1S	sd	< 1.8	sd	sd	-75	sd	sd	sd
4/12/2021	J1E	sd	< 1.8	8.8	0.73	-34	sd	sd	sd
4/12/2021	J1O	sd	< 1.8	8.4	0.97	-13	sd	sd	sd
4/12/2021	SMN	sd	< 1.8	8.0	0.48	127	sd	sd	sd
4/12/2021	SMS	sd	< 1.8	8.5	0.47	50	sd	sd	sd
4/12/2021	SME	sd	< 1.8	8.5	0.61	53	sd	sd	sd

4/12/2021	SMO	sd	< 1.8	8.8	0.53	33	sd	sd	sd
11/12/2021	J1N	<0.07	< 1.8	7.8	0.97	225	sd	sd	sd
11/12/2021	J1S	<0.07	< 1.8	8.2	0.48	180	sd	sd	sd
11/12/2021	J1E	<0.07	< 1.8	8.6	0.83	181	sd	sd	sd
11/12/2021	J1O	<0.07	< 1.8	8.0	1.07	173	sd	sd	sd
11/12/2021	SMN	<0.07	2.87	7.9	0.24	196	sd	sd	sd
11/12/2021	SMS	<0.07	2.87	8.9	0.66	152	sd	sd	sd
11/12/2021	SME	<0.07	2.87	8.3	0.78	184	sd	sd	sd
11/12/2021	SMO	<0.07	2.87	8.6	0.45	156	sd	sd	sd
11/12/2021	J2N	<0.07	< 1.8	4.7	0.54	-116	sd	sd	sd
11/12/2021	J2S	<0.07	< 1.8	8.7	0.56	-116	sd	sd	sd
11/12/2021	J2E	<0.07	< 1.8	sd	sd	sd	sd	sd	sd
11/12/2021	J2O	<0.07	< 1.8	sd	sd	sd	sd	sd	sd
21/12/2021	J1N	0.124	< 1.8	5.6	0.86	-114	9.0	3.6	551.6
21/12/2021	J1S	0.124	< 1.8	6.6	1.05	-40	9.2	1.7	sd
21/12/2021	J1E	0.124	< 1.8	5.9	1.25	-131	9.1	0.7	827.4
21/12/2021	J1O	0.124	< 1.8	6.6	1.13	-167	9.0	1.8	sd
21/12/2021	SMN	<0.07	< 1.8	5.2	0.47	-68	9.7	1.1	288.4
21/12/2021	SMS	<0.07	< 1.8	5.9	1.04	-66	9.1	0.8	689.5
21/12/2021	SME	<0.07	< 1.8	5.7	0.90	-56	8.7	0.6	551.6
21/12/2021	SMO	<0.07	< 1.8	5.9	0.96	-92	9.3	0.8	664.5
21/12/2021	J2N	<0.07	< 1.8	6.1	0.68	-42	8.5	0.7	363.6
21/12/2021	J2S	<0.07	< 1.8	5.4	0.75	-85	9.7	1.0	476.4
21/12/2021	J2E	<0.07	< 1.8	5.1	0.97	-131	9.2	sd	Sd
21/12/2021	J2O	0.027	< 1.8	6.0	sd	-73	sd	sd	sd
5/1/2022	SMN	<0.07	< 1.8	7.8	0.45	230	8.5	1.0	250.7
5/1/2022	SMS	<0.07	< 1.8	7.4	0.88	225	8.5	1.1	476.4
5/1/2022	SME	<0.07	< 1.8	7.5	0.70	228	8.3	1.0	451.3
5/1/2022	SMO	<0.07	< 1.8	8.0	0.56	179	8.6	1.0	764.8
5/1/2022	J2N	0.07	< 1.8	8.1	1.04	170	8.7	1.0	702.1
5/1/2022	J2S	0.07	< 1.8	7.8	0.95	195	8.5	0.7	626.8
5/1/2022	J2E	0.07	< 1.8	7.6	1.06	208	8.2	1.3	639.4
5/1/2022	J2O	0.07	< 1.8	7.6	sd	190	sd	sd	sd
5/1/2022	J1N	<0.07	< 1.8	7.2	0.85	169	8.6	2.8	488.9
5/1/2022	J1S	<0.07	< 1.8	7.5	1.22	179	8.7	1.5	sd
5/1/2022	J1E	<0.07	< 1.8	7.6	1.42	161	8.2	1.1	915.2
5/1/2022	J1O	<0.07	< 1.8	7.5	1.20	191	8.4	3.6	752.2
15/1/2022	J1N	<0.07	< 1.8	7.1	0.75	212	8.4	14.1	451.3
15/1/2022	J1S	<0.07	< 1.8	sd	sd	sd	sd	sd	sd
15/1/2022	J1E	<0.07	< 1.8	7.4	1.37	180	sd	sd	814.9
15/1/2022	J1O	<0.07	< 1.8	7.3	1.06	154	sd	sd	sd
15/1/2022	J2N	<0.07	< 1.8	7.7	1.04	125	8.5	0.7	802.4
15/1/2022	J2S	<0.07	< 1.8	7.3	0.86	159	8.3	1.0	639.4
15/1/2022	J2E	<0.07	< 1.8	7.7	1.03	129	8.4	1.0	702.1
15/1/2022	J2O	<0.07	< 1.8	7.8	sd	136	sd	sd	sd
15/1/2022	SMN	<0.07	< 1.8	sd	sd	sd	sd	sd	sd
15/1/2022	SMS	<0.07	< 1.8	7.3	0.62	177	8.4	0.8	388.6

15/1/2022	SME	<0.07	< 1.8	7.3	0.59	174	8.3	0.4	351.0
15/1/2022	SMO	<0.07	< 1.8	sd	sd	sd	sd	sd	sd
29/1/2022	J1E	<0.07	sd	7.5	1.17	214	8.2	1.2	702.1
29/1/2022	J2N	<0.07	sd	7.8	1.00	197	8.4	1.4	576.7
29/1/2022	J2S	<0.07	sd	7.3	0.73	211	8.6	1.0	413.7
29/1/2022	SMS	<0.07	sd	7.3	0.61	196	8.6	0.5	363.6
29/1/2022	SME	<0.07	sd	7.0	0.55	212	8.4	0.7	300.9

sd: sin dato, J1E: Junco 1 Este, J1N: Junco 1 Norte, J1S: Junco 1 Sur, J1O: Junco 1 Oeste, J2E: Junco 2 Este, J1N: Junco 1 Norte, J1S: Junco 1 Sur, J1O: Junco 1 Oeste, SMN: Santa Margarita Norte, SMS: Santa Margarita Sur, SME: Santa Margarita Este y SMO: Santa Margarita Oeste.

El pH del agua del suelo registra valores entre 5 y 9, alcalinos al principio del ciclo, y conforme avanza el cultivo varían a valores cercanos a la neutralidad y ligeramente ácido, para más al final del ciclo volver nuevamente a la neutralidad, esta tendencia es similar a lo explicado anteriormente para el agua de inundación. Este comportamiento es similar para los 3 sitios estudiados. A medida que se desarrollan las primeras fases del cultivo de arroz, el pH del agua del suelo tiende a disminuir. Esto puede deberse a varias razones, principalmente asociadas con los procesos metabólicos del arroz y la interacción de las raíces con el agua. Las raíces de arroz liberan ácidos orgánicos (como ácido acético y ácido láctico) durante su crecimiento. Estos exudados disminuyen el pH del agua contigua al aumentar la concentración de protones en el medio acuático (Haque et al., 2015). Este fenómeno es conocido como acidificación rizosférica y ayuda a las plantas a obtener nutrientes esenciales como el hierro y el fósforo, los cuales se vuelven más solubles en condiciones ácidas.

La C.E observada en estas aguas, varió ligeramente en el rango de 0,5 – 1,4 mScm<sup>-1</sup> durante el período estudiado. A medida que las plantas de arroz crecen, liberan diferentes compuestos en el agua, como iones de potasio (K<sup>+</sup>), calcio (Ca<sup>2+</sup>) y magnesio (Mg<sup>2+</sup>), especialmente a través de la exudación radicular. Estos iones aumentan la conductividad eléctrica en el agua. Además, el arroz absorbe nutrientes como el nitrógeno, fósforo y potasio y puede liberar en el agua compuestos que alteran la concentración de iones disueltos (Soto et al., 2017). Estos cambios se ven favorecidos con el aporte de estos nutrientes al cultivo a través de las fertilizaciones realizadas.

El ORP que al inicio presenta valores positivos tiende a bajar llegando a con sus valores más negativos, -68 y -116mV para S.M y J1 en la fecha 21/12/2021, y el día 11/12/2021 para J2 con un valor medido de - 116 mV. Posteriormente, tiende a subir alcanzando valores positivos similares a los del inicio del ciclo, esto es observado en los 3 sitios. Esta tendencia fue explicada en el apartado 4.1.2 para el agua de inundación, además, a pesar de que la planta queda viviendo en condiciones de suelo con bajo oxígeno (hipoxia) después de pocos días de inundación, la raíz necesita oxígeno para crecer y desarrollarse. Su estrategia, es conducir el oxígeno a través de un tejido llamado aerénquima formado por tejidos muertos dentro de la planta, destinados a producir grandes espacios intercelulares (Drew et al., 2000). Después del período de inundación se induce una mayor formación de aerénquima que conduce el oxígeno a las raíces de la planta de arroz, por una corriente continua de difusión del oxígeno desde las hojas al tallo a través de nudos y entrenudos (Counce et al., 2003). De esta manera también se oxigenaba esta agua que está en contacto con dichas raíces llevando a un aumento del ORP.

El OD de la solución se mantiene constante durante el ciclo con valores en el rango de 8 – 9 mgL<sup>-1</sup>. Esto puede explicarse debido a lo anteriormente mencionado en la oxigenación por parte de las raíces de las plantas.

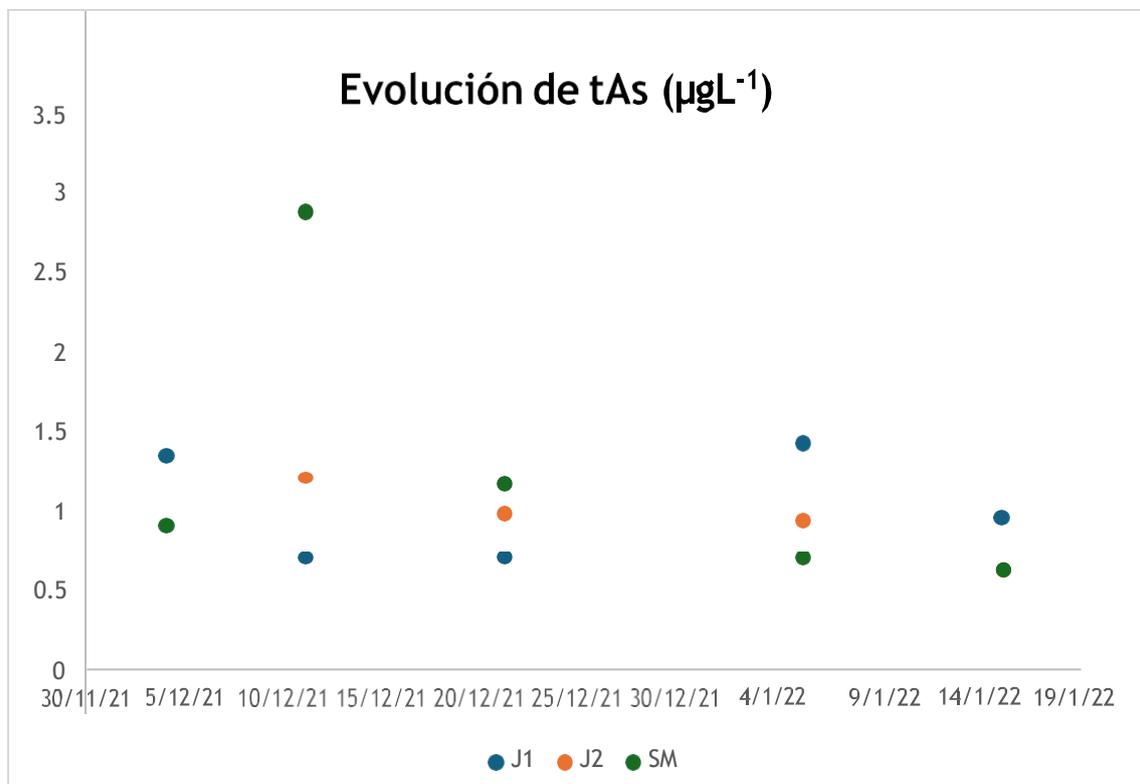
La turbidez determinada para los sitios J2 y S.M se mantiene constante con valores cercanos a 1 NTU, en cambio para el sitio J1, se observa un pico el día 15/1/2021 que alcanza los 14 NTU, pero inferior al de 50 NTU establecido como máximo permitido en el decreto 253/79 establecido para las aguas de riego.

La alcalinidad en el agua del suelo es la más elevada de las aguas estudiadas, se encuentra en un rango de 250- 915 mg CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>. Esto se relaciona con la presencia de carbonatos en el suelo, como el carbonato de calcio (CaCO<sub>3</sub>) que pueden liberar iones bicarbonato (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) en el agua que circula por los poros del suelo, aumentando la alcalinidad (Bouman & Hengsdijk, 2001). Este fenómeno se ve favorecido por la inundación de los predios, lo que genera un entorno donde la disolución de compuestos carbonatados es más eficiente, lo que incrementa la concentración de iones bicarbonato (Reddy & DeLaune, 2008). El aumento de CO<sub>2</sub> debido a la actividad biológica también contribuye al aumento de la alcalinidad en el agua del suelo, las raíces de las plantas de arroz y la actividad microbiana del suelo liberan dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) debido a la respiración celular (Satti & Schlesinger, 2007).

Con el fin de poder ampliar la información respecto a la distribución de Fe total (tFe) y As total (tAs) entre diversas matrices (agua, suelo y arroz), la biodisponibilidad en suelo y planta y comprender el ingreso del As hacia su destino final el grano de arroz es que se monitorean los mismos durante todo el ciclo.

Los resultados de tFe se encuentran por debajo de  $0,08 \text{ mgL}^{-1}$ . Los valores de referencia de tFe en el agua hacen referencia al agua para riego. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), los valores recomendados para el hierro en el agua de riego son generalmente menores a  $0,3 \text{ mgL}^{-1}$ , ya que concentraciones superiores pueden interferir con la absorción de otros nutrientes esenciales y afectar el crecimiento de las plantas (WHO, 2011). Los niveles de tFe medidos se encuentran dentro del rango adecuado para las plantas.

En relación con el tAs (Figura 4.6) presenta sus valores entre  $< 1.8 \text{ }\mu\text{gL}^{-1}$  y un valor máximo de  $2,9 \text{ }\mu\text{gL}^{-1}$  para el sitio S.M el día 11/12/2021, manteniéndose por debajo del valor máximo permitido por la OMS para el agua potable  $10 \text{ }\mu\text{gL}^{-1}$  tal como se observó en el trabajo de Falchi et al., 2018 en el cual también se determinó arsénico en aguas de suelo.



**Figura 4.6.** Evolución en el tiempo del contenido de tAs ( $\mu\text{gL}^{-1}$ ) en agua obtenida de los succionadores para cada sitio de muestreo. J1: Junco 1, J2: Junco 2, SM: Santa Margarita.

En conclusión, para los parámetros determinados en el agua de la solución de suelo C.E, turbidez y OD se mantienen constantes, esto debido a procesos que llevan a cabo en la interacción de esta agua con las raíces de las plantas de arroz. El pH al inicio alcalino disminuye hacia la neutralidad. El ORP disminuye dadas las condiciones reductoras y aumenta al final del ciclo por el proceso de oxigenación de las raíces para la supervivencia de las plantas ante el anegamiento prolongado, esto es importante, pues de ahí se desprende la necesidad de prácticas de manejo del cultivo controladas y de gestión del riego que proporcionen períodos de aireación al suelo del cultivo para mitigar la falta de O<sub>2</sub>. La alcalinidad aumenta. El tFe presentó valores < 0,3 mgL<sup>-1</sup> y el tAs presentó valores < 10 µgL<sup>-1</sup> cumpliendo con los valores según la clasificación de las clases de agua presentados en la página 13.

#### **4.1.4 Resultados de iones en agua de riego y agua del suelo.**

En la Tabla 4.4. Se muestran los resultados de aniones y cationes de un total de 52 muestras diversas colectadas según su fecha, lugar y tipo.

**Tabla 4.4.** Iones en el agua de riego y en el agua del suelo.

fecha	parcela-lugar	tipo de muestra	Aniones (mgL <sup>-1</sup> )							Cationes (mgL <sup>-1</sup> )						
			fluoruro	cloruro	bromuro	nitrito	nitrato	fosfato	sulfato	litio	sodio	amonio	potasio	magnesio	manganeso	calcio
14/10/21	J1	AR	0.36	2.76	0.78	0.96	0.59	1.46	2.37	0.73	7.11	0.13	8.56	7.68	sd	26.33
14/10/21	J2	AR	0.35	3.19	0.76	1.25	2.74	1.52	2.80	0.70	7.38	0.17	8.76	8.18	sd	24.17
14/10/21	SM	AR	0.39	2.83	0.89	1.07	1.85	1.60	3.07	0.74	6.48	0.12	8.38	7.34	sd	24.96
11/12/21	SM	AR	0.53	4.18	0.86	1.14	4.33	1.51	4.82	0.72	7.93	0.27	8.41	9.48	sd	31.15
11/12/21	J1	AR	0.50	2.96	0.76	0.98	1.29	1.44	2.77	0.70	8.52	0.16	9.83	7.41	sd	26.06
21/12/21	J2	AR	0.25	2.13	0.78	0.97	0.29	1.40	1.24	0.70	7.04	0.07	8.66	8.08	sd	24.57
5/01/22	J1	AR	0.23	1.88	0.76	0.94	26.51	1.39	0.80	0.72	8.91	0.23	9.96	7.95	sd	29.19
5/01/22	J2	AR	0.53	3.21	0.79	0.96	1.19	1.46	2.55	0.72	7.58	0.17	9.39	8.91	sd	25.89
5/01/22	SM	AR	0.44	2.98	0.78	0.94	2.56	1.48	3.14	0.72	8.29	0.15	8.64	9.56	sd	32.79
5/02/22	J1	AR	0.78	4.73	0.84	1.09	5.54	1.53	6.54	0.78	10.85	0.63	13.56	9.27	sd	34.51
5/02/22	J2	AR	0.91	5.36	1.08	1.44	2.03	1.58	3.1	0.70	7.66	0.12	11.21	8.38	sd	25.62
5/02/22	SM	AR	0.77	3.24	1.15	1.39	3.81	1.73	4.08	0.80	9.97	0.35	11.32	10.54	sd	36.15
22/02/22	J1	AR	0.46	6.77	0.96	0.85	7.48	1.41	15.67	0.79	11.38	0.44	14.45	11.02	sd	44.13
22/02/22	J2	AR	0.49	6.12	2.00	0.84	0.88	1.41	4.21	0.80	8.87	0.50	14.73	14.23	sd	44.39
22/02/22	SM	AR	0.52	3.27	1.00	0.84	1.96	1.41	4.85	0.74	11.58	0.41	7.86	11.97	sd	40.44
11/12/21	J1N	AS	0.23	1.87	0.77	ND	8.14	1.40	0.77	0.11	8.60	0.62	1.00	59.95	76.00	9.89
11/12/21	J1E	AS	0.23	1.86	0.76	ND	7.91	1.40	0.75	0.04	11.53	ND	0.98	57.18	68.71	8.76
11/12/21	SME	AS	0.23	1.86	0.76	0.94	ND	ND	ND	ND	15.33	ND	0.54	46.20	51.16	7.36
11/12/21	J2N	AS	0.23	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.10	3.90	0.80	1.75	29.53	34.35	5.22
11/12/21	J2S	AS	0.23	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.17	3.98	0.33	0.64	32.15	30.00	5.36

21/12/21	JIN	AS	0.25	1.86	0.94	0.76	8.59	1.40	0.76	0.07	7.69	0.43	0.88	43.61	75.12	9.13
21/12/21	JIS	AS	0.23	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.07	12.66	0.69	1.05	58.03	105.94	10.91
21/12/21	JIE	AS	0.23	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.06	10.93	0.30	0.32	86.42	95.55	11.99
21/12/21	JIO	AS	0.26	1.47	1.07	1.11	1.27	1.41	1.09	0.08	13.03	0.38	0.77	62.32	94.62	11.32
21/12/21	SMN	AS	0.25	1.87	0.78	0.94	8.65	1.40	0.81	0.03	11.73	0.59	0.83	28.89	41.05	5.71
21/12/21	SMS	AS	0.24	1.86	0.75	0.94	8.44	ND	0.80	0.08	15.51	ND	0.44	62.90	80.98	9.49
21/12/21	SME	AS	0.24	1.86	0.76	0.94	8.50	ND	0.77	0.10	15.23	0.37	0.87	43.76	56.71	8.85
21/12/21	SMO	AS	0.24	1.86	0.78	0.95	8.32	1.40	0.78	0.06	13.88	0.44	0.63	64.22	74.41	9.68
21/12/21	J2N	AS	0.25	1.87	0.77	0.94	8.57	1.40	0.82	0.08	5.10	0.37	1.04	42.15	56.95	7.78
21/12/21	J2S	AS	0.21	2.03	0.79	0.97	7.39	1.40	1.61	0.12	5.30	0.23	0.39	49.71	55.58	7.58
21/12/21	J2O	AS	0.24	1.86	0.77	ND	8.27	1.41	0.79	0.03	3.32	0.33	2.83	7.24	18.63	2.68
5/1/22	SMN	AS	0.24	1.86	0.76	0.94	8.34	ND	0.78	0.02	11.16	0.54	ND	23.06	47.51	5.50
5/1/22	SMS	AS	0.24	1.86	0.76	0.94	8.33	1.40	0.77	0.06	13.39	0.38	0.41	40.90	77.18	9.88
5/1/22	SME	AS	0.25	1.87	0.78	0.95	8.71	1.40	0.79	0.09	14.86	0.35	1.05	32.45	55.20	7.60
5/1/22	SMO	AS	0.24	1.86	0.77	0.94	8.28	1.39	0.77	0.06	15.50	ND	0.59	63.50	92.75	12.15
5/1/22	J2N	AS	0.24	1.86	0.78	0.94	8.21	1.40	0.76	0.04	5.89	0.36	0.46	65.55	95.35	11.50
5/1/22	J2S	AS	0.23	1.85	0.76	0.94	8.16	ND	0.76	0.10	5.91	0.35	ND	56.41	83.06	11.14
5/1/22	J2O	AS	0.24	1.86	0.76	0.94	8.30	1.40	0.77	0.02	3.66	0.27	1.39	10.60	27.72	3.20
5/1/22	JIN	AS	0.24	1.87	0.77	0.94	8.52	1.40	0.82	0.08	8.84	0.48	0.85	37.43	81.59	10.43
5/1/22	JIE	AS	0.24	1.86	0.77	0.94	8.34	1.40	0.78	0.05	11.92	ND	0.80	81.98	110.02	14.07
15/1/22	JIN	AS	0.24	1.85	0.77	0.94	8.22	1.40	0.76	0.07	11.10	ND	39.74	31.55	80.92	9.54
15/1/22	JIE	AS	0.23	1.85	0.77	0.94	8.15	1.40	0.75	0.06	11.54	0.31	1.56	74.84	110.32	14.00
15/1/22	JIO	AS	0.23	1.85	0.76	0.94	8.18	1.39	0.75	0.07	15.94	ND	ND	49.59	100.81	13.50
15/1/22	J2S	AS	0.27	1.86	0.78	0.96	9.41	1.43	0.78	0.09	5.88	0.67	0.77	46.32	77.777	9.96
15/1/22	J2O	AS	0.24	1.86	0.76	0.94	8.40	1.39	0.75	0.01	4.15	ND	5.20	10.52	29.71	9.94
15/1/22	SMS	AS	0.23	1.85	0.76	0.94	8.13	ND	0.75	0.69	13.98	ND	0.68	26.12	60.88	8.48
15/1/22	SME	AS	0.24	1.86	0.77	0.96	8.44	1.40	ND	0.06	16.59	ND	0.46	22.91	53.11	6.75
29/1/22	JIE	AS	0.24	1.86	0.76	0.94	8.32	1.39	0.76	0.07	13.03	ND	12.09	60.11	99.17	12.95

29/1/22	J2N	AS	0.23	1.85	ND	0.94	8.05	1.41	0.75	0.04	6.28	ND	0.35	56.65	92.11	11.45
29/1/22	J2S	AS	0.23	1.85	0.77	0.94	8.14	1.40	0.75	0.07	5.91	0.28	0.30	36.19	71.59	9.17
29/1/22	SMS	AS	0.24	1.89	0.80	0.98	8.26	1.44	0.79	0.05	14.09	ND	0.74	22.49	61.13	7.77
29/1/22	SME	AS	0.24	1.86	0.77	0.94	8.35	1.40	0.76	0.06	17.24	ND	0.55	21.24	54.27	7.27

J1: Junco 1. J2: Junco 2, SM: Santa Margarita, AR: agua de riego, AS: agua del suelo, J1E: Junco 1 Este, J1N: Junco 1 Norte, J1S: Junco 1 Sur, J1O: Junco 1 Oeste, J2E: Junco 2 Este, J1N: Junco 1 Norte, J1S: Junco 1 Sur, J1O: Junco 1 Oeste, SMN: Santa Margarita Norte, SMS: Santa Margarita Sur, SME: Santa Margarita Este y SMO: Santa Margarita Oeste. Sd: sin datos, ND: no detectado.

Las plantas de arroz, como otras plantas, requieren nutrientes esenciales como el fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) para su desarrollo y crecimiento. El  $\text{PO}_4^{3-}$  juega un papel crucial en una serie de procesos biológicos, incluyendo la síntesis de ATP, la formación de ácidos nucleicos, y la transferencia de energía. Para asegurar que el  $\text{PO}_4^{3-}$  esté disponible para la planta, existen transportadores especializados en la membrana plasmática de las células vegetales que facilitan su absorción desde el suelo hacia el interior de la planta (Bucher, 2007). Sin embargo, el arseniato ( $\text{AsO}_4^{3-}$ ), presenta una estructura análoga al  $\text{PO}_4^{3-}$ , la existencia de estos transportadores de fosfatos permite la entrada de  $\text{AsO}_4^{3-}$  por similitud química. Ambos aniones presentan geometría tetraédrica alrededor del P o As, y presentan para cada especie la misma carga. Esta similitud estructural permite que el  $\text{AsO}_4^{3-}$  sea reconocido por los transportadores de  $\text{PO}_4^{3-}$  en las raíces de las plantas, facilitando su entrada en la célula (Chao et al., 2005). Sin embargo, aunque el  $\text{AsO}_4^{3-}$  puede ocupar los mismos sitios de unión que el  $\text{PO}_4^{3-}$  en los transportadores, el  $\text{AsO}_4^{3-}$  puede interferir en estas reacciones bioquímicas en la planta, y su acumulación puede ser tóxica (Meharg & Hartley-Whitaker, 2002). Dado que los transportadores de  $\text{PO}_4^{3-}$  en las raíces de las plantas de arroz no son selectivos, ambos compiten por el mismo mecanismo de transporte (Thurman et al., 2008). La competencia entre estos dos aniones depende de la concentración relativa de estos en el ambiente. En condiciones donde la concentración de  $\text{PO}_4^{3-}$  es alta, la planta lo absorbe mayoritariamente lo que dificulta la entrada de  $\text{AsO}_4^{3-}$  en la célula (Raghothama, 1999). Sin embargo, las plantas de arroz pueden absorber  $\text{AsO}_4^{3-}$  más fácilmente, en suelos contaminados con As, que luego puede acumularse en las plantas y afectar su desarrollo (Chao et al., 2005). El  $\text{AsO}_4^{3-}$  puede interferir en la producción de ATP, inhibiendo la actividad de las enzimas que dependen del  $\text{PO}_4^{3-}$ , lo que puede llevar a una disminución

en el rendimiento del cultivo (Rosen, 2002). Además, el  $\text{AsO}_4^{3-}$  puede sustituir al  $\text{PO}_4^{3-}$  en diversas reacciones enzimáticas, alterando la función normal de los compuestos celulares, lo que puede inducir estrés en las plantas (Meharg & Hartley-Whitaker, 2002).

Por lo anteriormente explicado, surge la necesidad de conocer los valores de  $\text{PO}_4^{3-}$  para esta matriz, estos se encontraron entre 1,4 y 1,7  $\text{mgL}^{-1}$  a lo largo de todo el periodo estudiado. En suelos inundados como este caso, se estima que las concentraciones de fosfato en el agua del suelo deben estar en un rango de 0,1 a 1,0  $\text{mgL}^{-1}$  para optimizar el crecimiento del arroz, aunque estos valores pueden variar dependiendo de las características del suelo y la variedad del cultivo (Fageria & Baligar, 2001).

Siguiendo con las observaciones de la tabla 4.4, los cationes que presentaron concentraciones más altas fueron  $\text{Mg}^{2+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$ . El  $\text{Mg}^{2+}$  se encontró en un rango de 7- 82  $\text{mgL}^{-1}$  y el  $\text{Mn}^{2+}$  de 18- 110  $\text{mgL}^{-1}$ . En suelos ácidos y reductores, el  $\text{Mn}^{2+}$  tiende a ser más soluble y, por lo tanto, puede estar presente en mayores concentraciones. Generalmente, se esperan concentraciones de  $\text{Mg}^{2+}$  en el rango de 0,5 a 2,5  $\text{mgL}^{-1}$  en el agua del suelo para una nutrición adecuada (Tisdale et al., 1993). Valores por debajo de 0,5  $\text{mgL}^{-1}$  pueden llevar a deficiencias de magnesio, lo que afectaría negativamente la fotosíntesis y el crecimiento de la planta, mientras que concentraciones mayores de 2,5  $\text{mgL}^{-1}$  no son usualmente necesarias y pueden estar relacionadas con una fertilización excesiva que podría alterar el balance de otros nutrientes (Fageria et al., 2009). El  $\text{Mn}^{2+}$  también está involucrado en la protección contra el estrés oxidativo dentro de la planta. Los valores de referencia para  $\text{Mn}^{2+}$  en el agua del suelo de arroz suelen estar en el rango de 0,1 a 2,0  $\text{mgL}^{-1}$ , aunque concentraciones superiores a 2,0  $\text{mgL}^{-1}$  pueden ser tóxicas para las plantas debido a la acumulación de  $\text{Mn}^{2+}$  en las raíces (Marschner, 2011). Al igual que el  $\text{Mg}^{2+}$ , la solubilización del  $\text{Mn}^{2+}$  bajo condiciones ácidas, aumentaría los niveles en la solución del suelo pudiendo generar toxicidad, causando daños en las raíces y reduciendo el rendimiento del cultivo (Solis et al., 2009). Pero, los niveles encontrados en estas aguas son relativamente altos.

Los óxidos de Mn presentan una variedad de estados de oxidación Indra et al. (2015) concluyeron que los óxidos de manganeso existen en varios estados de valencia, formando minerales con diferentes composiciones químicas y estructuras cristalinas. Estos incluyen MnO (manganosita),  $\text{MnO}_2$  (con polimorfos como  $\alpha$ -hollandita,  $\beta$ -pyrolusita,  $\gamma$ -ramsdellita,  $\rho$ -, y  $\delta$ -birnessita),  $\text{Mn}_2\text{O}_3$  (bixbyita) y  $\text{Mn}_3\text{O}_4$  (hausmannita).

En conclusión, para los iones determinados en el agua de riego y agua de la solución del suelo se observó que, el  $\text{PO}_4^{3-}$  se mantuvo constante en valores de 40 a 70% mayores al límite considerado óptimo el crecimiento del arroz. De todos los cationes determinados  $\text{Mg}^{2+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$  fueron los que se encontraban en mayores concentraciones, de acuerdo con lo esperado en estas condiciones de pH del suelo ácido y las condiciones reductoras. Si bien Uruguay no cuenta en la actualidad con una normativa que establezca un LMP para estos iones, si tomamos como referencia la norma técnica 3140UY, Determinación de manganeso en aguas naturales y otras matrices ambientales digeridas que emplea el Método de Espectrofotometría de Absorción Atómica por Llama y se usa para la determinación de manganeso (Mn) en aguas naturales, digeridas o no y otras matrices ambientales digeridas (aguas residuales, residuos sólidos, suelos, sedimentos, soluciones resultantes del test de toxicidad en lixiviados, etc.), establece un rango de 0,08 a 7,5  $\text{mgL}^{-1}$ . Si nos basamos en la bibliografía descrita anteriormente, autores como Marschner (2011) y Solis et al (2009) nos mencionan que concentraciones superiores a 2,0  $\text{mgL}^{-1}$  pueden ser tóxicas para las plantas debido a la acumulación de  $\text{Mn}^{2+}$  en las raíces, en esta tesis se observaron valores superiores en 10 a 50 veces dicho valor. En cuanto al  $\text{Mg}^+$ , autores como Tisdale et al (1993) nos hablan de un rango de 0,5 a 2,5  $\text{mgL}^{-1}$  en el agua del suelo para una nutrición adecuada y que, según Fageria et al (2009) concentraciones mayores de 2,5  $\text{mgL}^{-1}$  podrían alterar el balance de otros nutrientes, en esta tesis se observaron valores superiores de 3 a 30 veces dicho valor.

## **4.2 Análisis de muestras de suelo y estudio de algunas propiedades edáficas.**

Para la matriz suelo se determinaron los parámetros; pH, ORP, composición textural, porcentaje de materia orgánica (%MO) y fósforo (P) Bray 1.

A continuación, en la Tabla 4.5 se muestran los resultados de los parámetros fisicoquímicos y químicos analizados en las muestras de suelo y las medidas de ORP registradas *in situ* a 10 cm de profundidad.

**Tabla 4.5.** Parámetros fisicoquímicos registrados en suelos de cada sitio de muestreo.

fecha	parcela-lugar	pH	ORP (mV)	textura	As total (mgkg <sup>-1</sup> )	% M. O	P. Bray 1 (mgkg <sup>-1</sup> )
3/9/2021	J1N	6.1	sd	Limoso	7.8	2.3	10.0
3/9/2021	J1S	6.4	sd	limoso	7.8	2.4	11.3
3/9/2021	J1E	6.6	sd	franco- limoso	7.8	2.6	13.4
3/9/2021	J1O	6.3	sd	limoso	7.8	1.8	14.3
3/9/2021	J2N	6.6	sd	franco- limoso	0.9	2.5	13.4
3/9/2021	J2S	6.7	sd	franco- limoso	0.9	2.4	16.2
3/9/2021	J2E	7.0	sd	franco- limoso	0.9	1.4	16.6
3/9/2021	J2O	6.4	sd	limoso	0.9	2.1	13.4
3/9/2021	SMN	6.6	sd	franco- limoso	6.9	2.2	11.8
3/9/2021	SMS	6.5	sd	limoso	6.9	2.1	5.4
3/9/2021	SME	6.5	sd	limoso	6.9	2.1	12.1
3/9/2021	SMO	6.4	sd	limoso	6.9	2.3	7.2
27/11/2021	J1N	6.4	sd	limoso	10.7	2.4	6,5
27/11/2021	J1S	6.4	sd	limoso	10.7	1.7	18,5
27/11/2021	J1E	6.4	sd	franco- limoso	10.7	2.1	19,5
27/11/2021	J1O	6.3	sd	limoso	10.7	2.7	11,7
27/11/2021	SMN	6.3	sd	franco- limoso	6.7	2.3	2,1
27/11/2021	SMS	6.6	sd	limoso	6.7	2.0	1,0
27/11/2021	SME	6.1	sd	franco- limoso	6.7	2.6	3,7
27/11/2021	SMO	6.4	sd	limoso	6.7	1.8	3,8
11/12/2021	J1N	6.6	-114	limoso	4.6	2.7	12.7
11/12/2021	J1S	6.7	-148	limoso	4.6	2.3	7.9
11/12/2021	J1E	6.0	-125	franco- limoso	4.6	2.7	10.6
11/12/2021	J1O	6.7	-51	limoso	4.6	2.4	3.4
11/12/2021	SMN	6.3	-47	franco- limoso	8.6	3.6	10.5
11/12/2021	SMS	6.4	-24	limoso	8.6	3.1	16.3
11/12/2021	SME	7.0	-12	franco- limoso	8.6	2.5	6.0
11/12/2021	SMO	6.7	-127	limoso	8.6	2.6	2.5
11/12/2021	J2N	sd	129	franco- limoso	sd	sd	sd
11/12/2021	J2S	sd	111	franco- limoso	sd	sd	sd
11/12/2021	J2E	sd	87	franco- limoso	sd	sd	sd
11/12/2021	J2O	sd	180	limoso	sd	sd	sd
21/12/2021	J1N	5.9	-114	limoso	11.9	3.0	12.6
21/12/2021	J1S	6.1	-40	limoso	11.9	2.8	15.6
21/12/2021	J1E	5.9	-131	franco- limoso	11.9	2.8	19.0
21/12/2021	J1O	6.2	-167	limoso	11.9	2.6	3.1
21/12/2021	SMN	5.7	-68	franco- limoso	2.0	2.6	12.0
21/12/2021	SMS	6.2	-66	limoso	2.0	2.2	17.0
21/12/2021	SME	6.0	-56	franco- limoso	2.0	2.2	8.7
21/12/2021	SMO	6.0	-92	limoso	2.0	1.9	5.3

21/12/2021	J2N	6.1	-42	franco- limoso	6.9	2.1	10.7
21/12/2021	J2S	6.2	-85	franco- limoso	6.9	1.6	9.6
21/12/2021	J2E	6.3	-131	franco- limoso	6.9	1.3	15.3
21/12/2021	J2O	6.2	-73	limoso	6.9	1.7	14.0
5/1/2022	SMN	6.4	-19	franco- limoso	4.6	2.0	5.7
5/1/2022	SMS	6.6	-69	limoso	4.6	1.6	4.2
5/1/2022	SME	6.3	-143	franco- limoso	4.6	2.1	4.3
5/1/2022	SMO	6.2	-132	limoso	4.6	2.1	3.6
5/1/2022	J2N	6.2	-105	franco- limoso	6.2	2.6	9.6
5/1/2022	J2S	6.4	-110	franco- limoso	6.2	2.2	11.4
5/1/2022	J2E	6.4	-136	franco- limoso	6.2	2.1	10.5
5/1/2022	J2O	6.2	-123	limoso	6.2	2.8	13.7
5/1/2022	J1N	6.2	-154	limoso	9.9	2.7	13.0
5/1/2022	J1S	6.3	-62	limoso	9.9	2.2	11.7
5/1/2022	J1E	6.2	-156	franco- limoso	9.9	2.4	22.2
5/1/2022	J1O	6.1	-145	limoso	9.9	2.5	13.3
15/1/2022	J1N	sd	-146	limoso	sd	sd	sd
15/1/2022	J1S	sd	-64	limoso	sd	sd	sd
15/1/2022	J1E	sd	-154	franco- limoso	sd	sd	sd
15/1/2022	J1O	sd	-47	limoso	sd	sd	sd
15/1/2022	J2N	sd	-89	franco- limoso	sd	sd	sd
15/1/2022	J2S	sd	-54	franco- limoso	sd	sd	sd
15/1/2022	J2E	sd	-40	franco- limoso	sd	sd	sd
15/1/2022	J2O	sd	-165	limoso	sd	sd	sd
15/1/2022	SMN	sd	-186	franco- limoso	sd	sd	sd
15/1/2022	SMS	sd	-30	limoso	sd	sd	sd
15/1/2022	SME	sd	-163	franco- limoso	sd	sd	sd
15/1/2022	SMO	sd	-142	limoso	sd	sd	sd
29/1/2022	J1E	sd	-80	franco- limoso	sd	sd	sd
29/1/2022	J1O	sd	-62	limoso	sd	sd	sd
29/1/2022	J2N	sd	-100	franco- limoso	sd	sd	sd
29/1/2022	J2S	sd	-114	franco- limoso	sd	sd	sd
29/1/2022	J2O	sd	-136	limoso	sd	sd	sd
29/1/2022	SMS	sd	-170	limoso	sd	sd	sd
29/1/2022	SME	sd	-61	franco- limoso	sd	sd	sd
5/2/2022	J1N	6.4	sd	limoso	12.4	1.9	5.2
5/2/2022	J1S	6.3	sd	limoso	12.4	2.1	9.4
5/2/2022	J1E	6.7	sd	franco- limoso	12.4	1.9	9.4
5/2/2022	J1O	6.9	sd	limoso	12.4	2.7	5.9
5/2/2022	J2N	6.3	sd	franco- limoso	12.6	2.5	9.0
5/2/2022	J2S	6.6	sd	franco- limoso	12.6	3.7	14.3
5/2/2022	J2E	6.6	sd	franco- limoso	12.6	3.0	9.1
5/2/2022	J2O	6.6	sd	limoso	12.6	2.7	6.3
5/2/2022	SMN	7.0	sd	franco- limoso	14.2	2.5	6.0
5/2/2022	SMS	6.6	sd	limoso	14.2	2.6	6.7
5/2/2022	SME	6.6	sd	franco- limoso	14.2	2.8	14.6
5/2/2022	SMO	6.6	sd	limoso	14.2	2.4	6.5

22/2/2022	J1N	6.4	sd	limoso	4.3	3.2	19.5
22/2/2022	J1S	6.6	sd	limoso	4.3	2.4	5.9
22/2/2022	J1E	6.3	sd	franco- limoso	4.3	2.2	8.4
22/2/2022	J1O	6.3	sd	limoso	4.3	2.6	1.5
22/2/2022	J2N	7.0	sd	franco- limoso	2.6	3.3	1.6
22/2/2022	J2S	7.1	sd	franco- limoso	2.6	2.9	7.0
22/2/2022	J2E	6.8	sd	franco- limoso	2.6	3.0	12.4
22/2/2022	J2O	6.6	sd	limoso	2.6	2.9	3.8
22/2/2022	SMN	7.0	sd	franco- limoso	9.9	3.1	8.4
22/2/2022	SMS	6.7	sd	limoso	9.9	2.6	8.6
22/2/2022	SME	6.8	sd	franco- limoso	9.	2.3	2.8
22/2/2022	SMO	6.6	sd	limoso	9.9	2.3	7.1
26/3/2022	J2N	6.2	sd	franco- limoso	9.6	2.8	2.0
26/3/2022	J2S	6.5	sd	franco- limoso	9.6	2.4	3.9
26/3/2022	J2E	6.4	sd	franco- limoso	9.6	2.6	7.7
26/3/2022	J2O	6.3	sd	limoso	9.6	2.9	3.8
18/5/2022	J1N	6.5	sd	limoso	10.6	2.1	11.6
18/5/2022	J1S	6.6	sd	limoso	10.6	3.3	4.3
18/5/2022	J1E	6.0	sd	franco- limoso	10.6	2.0	3.7
18/5/2022	J1O	6.1	sd	limoso	10.6	1.6	2.5
18/5/2022	J2N	5.9	sd	franco- limoso	6.3	1.8	4.2
18/5/2022	J2S	5.9	sd	franco- limoso	6.3	1.6	7.4
18/5/2022	J2E	5.9	sd	franco- limoso	6.3	3.2	4.6
18/5/2022	J2O	5.9	sd	limoso	6.3	1.5	3.3
18/5/2022	SMN	6.2	sd	franco- limoso	8.4	1.6	8.0
18/5/2022	SMS	6.0	sd	limoso	8.4	1.6	1.8
18/5/2022	SME	6.1	sd	franco- limoso	8.4	1.7	8,0
18/5/2022	SMO	6.2	sd	limoso	8.4	2.6	7,5

J1E: Junco 1 Este, J1N: Junco 1 Norte, J1S: Junco 1 Sur, J1O: Junco 1 Oeste, J2E: Junco 2 Este, J1N: Junco 1 Norte, J1S: Junco 1 Sur, J1O: Junco 1 Oeste, SMN: Santa Margarita Norte, SMS: Santa Margarita Sur, SME: Santa Margarita Este y SMO: Santa Margarita Oeste. sd: sin datos.

Los resultados de pH obtenidos tienden a permanecer en un rango entre 5 y 7, estos valores que al inicio son ligeramente ácidos tienden a bajar a los 45 días posteriores a la inundación para subir hasta alcanzar la neutralidad un mes antes de la cosecha. Esto coincide con lo observado por Campos., 2022. Posterior a la cosecha el pH vuelve a estabilizarse en valores cercanos a 6.

En caso de condiciones muy reductoras, puede ocurrir la liberación de gas H<sub>2</sub>, debido a reacciones de respiración anaeróbica de las bacterias del suelo (Kirk, 2004). Durante la respiración anaeróbica la materia orgánica es oxidada y los componentes del suelo son

reducidos (Ponnamperuma, 1972) y simultáneamente, los iones  $H^+$  son consumidos en las reacciones de reducción y esto explica porque el pH en suelos ácidos tiende a incrementarse hasta cerca de la neutralidad después de la inundación (Kirk, 2004). Por otro lado, el  $CO_2$  producido por la respiración de los microorganismos se libera muy lentamente, por lo que el  $CO_2$  se acumula contribuyendo a bajar (o neutralizar) el pH de los suelos alcalinos (Kirk, 2004). Por lo tanto, luego de la inundación el pH tiende a estar entre 6,5 y 7 (Meharg y Zhao, 2012).

Una vez que el suelo se inunda, el oxígeno presente en los poros del suelo se agota rápidamente (en aproximadamente un día) debido a la alta demanda biológica y química de oxígeno (Kögel-Knabner et al., 2010; Kirk, 2004; Ponnamperuma, 1972). Este fenómeno ocurre porque el oxígeno es consumido rápidamente por microorganismos aeróbicos y procesos oxidativos, como la descomposición de la materia orgánica y la oxidación de compuestos reducidos presentes en el suelo (Atiaga, 2019; Otero et al., 2016).

Cuando el oxígeno se agota, la oxidación de la materia orgánica continúa utilizando otros aceptores de electrones/oxidantes presentes en el suelo, siguiendo un orden basado en sus potenciales redox: nitratos > óxidos de manganeso > óxidos/hidróxidos de hierro > sulfatos > metanogénesis (Meharg y Zhao, 2012; Ponnamperuma, 1972; Sahrawat, 2015). Esto sucede porque si bien el oxígeno es el aceptor de electrones más eficiente en condiciones aeróbicas, su disponibilidad en suelos inundados es limitada (Kirk, 2004), la alta actividad microbiana en el suelo, que consume rápidamente el oxígeno disponible para descomponer materia orgánica y oxidar compuestos reducidos (Ponnamperuma, 1972) y a la rápida saturación de agua en el suelo, que impide la renovación de oxígeno atmosférico (Otero et al., 2016).

Los nitratos ( $NO_3^-$ ) son los primeros en ser utilizados debido a su alto potencial redox (+0,43 V), lo que los hace eficientes para oxidar materia orgánica. Sin embargo, los nitratos son rápidamente agotados en suelos inundados (Sahrawat, 2015). Seguidamente, los óxidos de manganeso ( $MnO_2$ ) son utilizados que tienen un potencial redox intermedio (+0,2 a +0,8 V). Estos minerales son reducidos a  $Mn^{2+}$ , liberando manganeso soluble en el suelo (Ponnamperuma, 1972). A continuación, los óxidos/hidróxidos de hierro ( $Fe_2O_3$ ,  $FeOOH$ ), son reducidos a  $Fe^{2+}$ , lo que afecta la estructura y química del suelo (Kögel-Knabner et al., 2010). Seguido por los sulfatos ( $SO_4^{2-}$ ) que son reducidos a sulfuro ( $S^{2-}$ ),

formando compuestos como el sulfuro de hierro (FeS) o pirita (FeS<sub>2</sub>) (Sahrawat, 2015). Cuando no quedan otros aceptores de electrones disponibles, los microorganismos producen metano (CH<sub>4</sub>) mediante la fermentación de materia orgánica (Meharg y Zhao, 2012). La producción de metano contribuye al impacto ambiental del cultivo de arroz, ya que el CH<sub>4</sub> es un gas de efecto invernadero potente (Meharg y Zhao, 2012).

El ORP medido *in situ* presenta valores que se negativizan al inicio del anegamiento manteniéndose negativos hasta el final del ciclo del cultivo de arroz. Esto coincide con otras investigaciones donde el ORP alcanzó valores negativos 15-20 días después de la inundación inicial Campos., 2022; Tarlera et al., 2016; Carracelas et al., 2019b en Uruguay. Este parámetro refleja el equilibrio entre los procesos de oxidación y reducción que ocurren en el ambiente edáfico. Durante el ciclo del cultivo de arroz, el ORP del suelo experimenta fluctuaciones significativas, con una disminución al principio del ciclo y un aumento hacia el final. Este comportamiento está relacionado con que, durante las primeras fases del ciclo del cultivo de arroz, los campos son inundados, creando un ambiente anaeróbico en el suelo. Este entorno de baja disponibilidad de oxígeno lleva a una disminución del ORP debido a la prevalencia de reacciones de reducción. Además, la descomposición de la materia orgánica en el suelo también consume oxígeno, lo que favorece la generación de productos reductores como el sulfuro de hidrógeno (H<sub>2</sub>S), un gas tóxico para las plantas y que es un indicador de las condiciones reductoras en el suelo. Estos procesos anaeróbicos contribuyen a una disminución del ORP durante la fase inicial del ciclo del cultivo (Ponnamperuma, 1972).

La oxigenación de las raíces también limita la acumulación de productos reductores como el sulfuro de hidrógeno (H<sub>2</sub>S), favoreciendo un ambiente más aeróbico en las zonas cercanas a las raíces (Sasamoto et al., 2019). Como resultado, el aumento de la oxigenación en el suelo impulsa procesos de oxidación, que generan un incremento en el ORP hacia el final del ciclo.

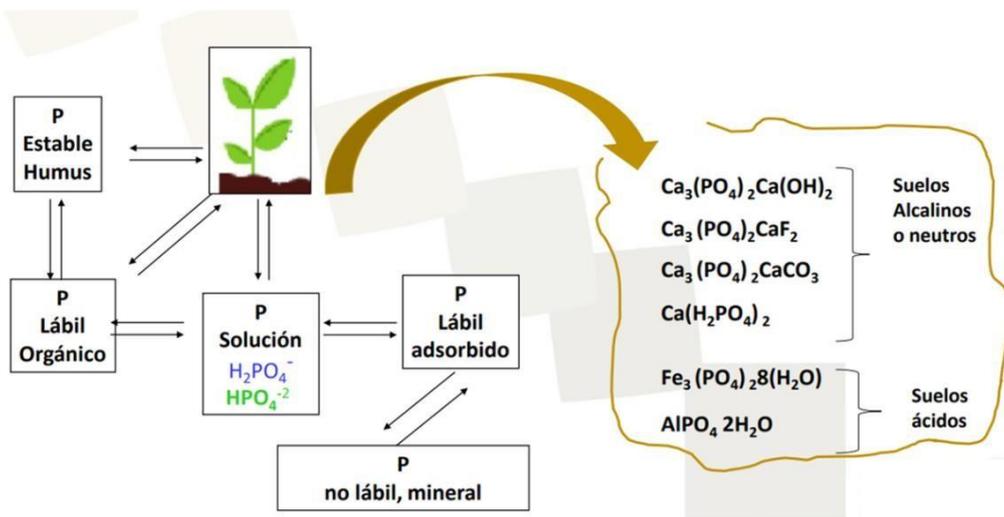
El mayor nivel de oxígeno en el suelo también está relacionado con una reducción de la actividad microbiana reductora, ya que los microorganismos aeróbicos, que requieren oxígeno para sus procesos metabólicos, comienzan a predominar en el sistema. Esto ayuda a restaurar el equilibrio redox y contribuye a la elevación del ORP hacia el final del ciclo de cultivo (Kang et al., 2004).

Por otro lado, en este trabajo se observó que la M.O (%) determinado en las muestras de

suelo obtenidas con una profundidad de 0-30 cm, presenta valores similares para los 3 sitios que en el rango oscilan entre 1 y 4%.

El P es un elemento esencial para el arroz pues estimula el desarrollo radicular, favorece la precocidad de la maduración en bajas temperaturas, aumenta la producción de tallos, el desarrollo del grano y el nivel nutricional del mismo, sin embargo, las necesidades del cultivo sobre este nutriente no son elevadas. El P, como fosfato, se absorbe desde las fases iniciales del cultivo, especialmente durante la fase de ahijado, y es fácilmente redistribuido a los diferentes órganos de crecimiento y grano. En la Figura 4.7 se observan las distintas formas en las que se presenta el P, cuando los suelos se inundan, la capacidad de suministrar P del suelo a la planta es mayor que en suelos no inundados, ya que aumenta la disponibilidad del nutriente al desencadenarse una serie de fenómenos físicos, microbiológicos y químicos, como se explicó anteriormente (Catala, M. 2011).

De acuerdo con los resultados obtenidos en la presente tesis, los niveles de fósforo lábil, determinados según el Método Bray 1, presentan una tendencia a bajar con el desarrollo del cultivo hasta posterior a la cosecha, iniciando en el rango de 10-17 mgkg<sup>-1</sup> y finalizando en el rango de 2-12 mgkg<sup>-1</sup>. El valor máximo obtenido para los sitios J1 y S.M se midió de 1 a 2 meses posterior al anegamiento (ambiente reductor).



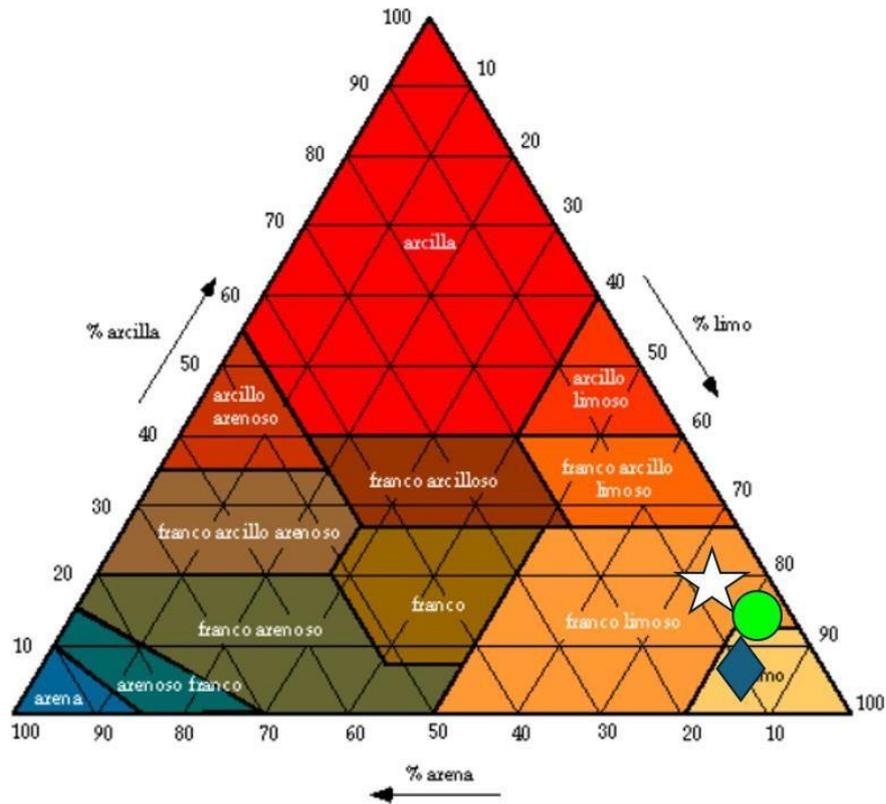
**Figura 4.7.** Formas en las que se presenta el P en el suelo. Imagen modificada de Vargas et al.,1992.

[https://www.fao.org/fileadmin/user\\_upload/GSP/GLOSOLAN/Capacity\\_development/FINAL\\_FINAL\\_training\\_POlsen-Etchevers\\_e\\_Hidalgo\\_final\\_2\\_\\_\\_\\_2\\_.pdf](https://www.fao.org/fileadmin/user_upload/GSP/GLOSOLAN/Capacity_development/FINAL_FINAL_training_POlsen-Etchevers_e_Hidalgo_final_2____2_.pdf)

Conocer la estructura del suelo es importante debido a que la organización y disposición de sus partículas sólidas en forma de agregados puede o no favorecer la disponibilidad de As para las plantas de arroz. Estos agregados son bloques de suelo que pueden estar compuestos por partículas de arcilla, limo, arena, y materia orgánica. La forma y el tamaño de los agregados determinan el volumen y la distribución de los poros, que a su vez afectan la capacidad del suelo para retener y mover agua.

La capacidad de un suelo para retener agua depende de su textura, estructura y la cantidad de materia orgánica presente. Los suelos con mayor contenido de arcilla tienen una mayor capacidad para retener agua debido a los microporos más pequeños, mientras que los suelos arenosos, que contienen partículas más grandes, permiten que el agua drene rápidamente y tienen una menor capacidad de retención (Kirkham, 2005).

En cuanto a la composición textural de las muestras de suelo, tal cual se observa en la Figura 4.8, para los 3 sitios predomina el limo y una textura más fina, lo cual, según algunos investigadores otorgaría una menor disponibilidad de As (Heikens et al., 2007; Sahoo y Kim, 2013; Álvarez-Benedi et al., 2005). El tamaño más fino de las partículas aumenta las fracciones inmóviles de As en el suelo debido a un aumento de óxidos de minerales (Fe/Mn/Al) y una mayor superficie específica que las partículas más gruesas (Hou et al., 2017).



**Figura 4.8.** Clasificación textural de los sitios. Referencias: J1 azul, J2 blanco y S.M verde. Imagen modificada de <http://www.edafologia.net/introeda/tema04/text.htm>.

En conclusión, para los parámetros determinados en esta tesis en las muestras de suelo a una profundidad de 0-30 cm se observó que, los parámetros de pH antes de la siembra eran ácidos y durante el desarrollo del cultivo tendieron a la neutralidad, lo que concuerda con los estudios anteriores. El P lábil determinado disminuyó, el ORP disminuyó a valores negativos desde el comienzo de la inundación, esto acompañado de un consumo del O<sub>2</sub> por actividad microbológica que hacia el final del cultivo experimenta un aumento mediante el proceso de oxigenación radicular por parte de las plantas de arroz. El análisis de textura indica que los 3 sitios presentan una composición con un gran porcentaje de limo, este tipo de suelos retendría en su estructura al As por poseer un alto contenido de óxidos de Fe, Mn y Al capaces de atraparlo.

### 4.3 Discusión de los resultados de As total y de Fe total en agua, suelo y arroz.

#### 4.3.1. Análisis de resultados de los niveles de As y Fe totales en las muestras de agua de riego y de la solución de suelo.

Los valores de contenido de As en ríos y cuerpos de aguas superficiales son relativamente bajos, en general, inferiores a  $0,8 \mu\text{gL}^{-1}$  aunque pueden variar dependiendo de factores como recarga (superficial y subterránea), litología de la cuenca, drenaje de zonas mineralizadas, clima, actividad minera y vertidos urbanos o industriales. Por ejemplo, en áreas de clima árido, el aumento de la concentración de arsénico en las aguas superficiales se ve favorecido por procesos de evaporación, que además provocan un aumento en la salinidad y pH de las aguas. En lagos los valores de contenido de arsénico no difieren mucho de los observados en ríos, al estar básicamente controlados por los mismos factores (Smedley y Kinniburgh, 2002), excepto en lo que se refiere a la dinámica del agua.

En la Tabla 4.6 se muestran los resultados de los niveles de tAs y de tFe determinados en las muestras de agua colectadas.

**Tabla 4.6.** Contenido de tAs y de tFe en agua.

fecha	parcela-lugar	tipo de muestra	tAs ( $\mu\text{gL}^{-1}$ )	tFe ( $\text{mgL}^{-1}$ )
14/10/2021	Junco 1	Agua Riego	2.2	Sd
14/10/2021	Junco 2	Agua Riego	2.1	Sd
14/10/2021	Santa Margarita	Agua Riego	2.9	Sd
11/12/2021	Junco 1	Solución de suelo	<1.8	<0.07
11/12/2021	Junco 2	Solución de suelo	<1.8	<0.07
11/12/2021	Santa Margarita	Solución de suelo	2.87	<0.07
21/12/2021	Junco 1	Solución de suelo	<1.8	<0.07
21/12/2021	Junco 2	Solución de suelo	<1.8	<0.07

21/12/2021	Santa Margarita	Solución de suelo	<1.8	<0.07
5/01/2022	Junco 1	Solución de suelo	<1.8	<0.07
5/01/2022	Junco 2	Solución de suelo	<1.8	0.07
5/01/2022	Santa Margarita	Solución de suelo	<1.8	<0.07
15/01/2022	Junco 1	Solución de suelo	<1.8	<0.07
15/01/2022	Junco 2	Solución de suelo	<1.8	<0.07
15/01/2022	Santa Margarita	Solución de suelo	<1.8	<0.07
29/01/2022	Junco 1	Solución de suelo	sd	<0.07
29/01/2022	Junco 2	Solución de suelo	sd	0.08
29/01/2022	Santa Margarita	Solución de suelo	sd	<0.07

En cuanto el tAs, se determinó primeramente los niveles en el agua usada para riego, observándose que éstos se encuentran por debajo del valor máximo permitido por normativa uruguaya vigente ( $50 \mu\text{gL}^{-1}$ ), para aguas para riego Clase 2a (Decreto 253/79). El rango obtenido para el agua del tajarar (agua de riego) fue de ( $2.1-2.9 \mu\text{gL}^{-1}$ ).

En cuanto al tAs analizado en la solución de suelo (obtenida a partir de los succionadores o lisímetros), que es el agua que se encuentran en contacto con las raíces de las plantas, se obtuvieron valores entre  $<1,8$  a  $3,0 \mu\text{gL}^{-1}$ . Se observa un leve aumento de los niveles de tAs en todos los predios en la fecha 11/12/2021 que luego desciende hacia el final del ciclo coincidiendo con las condiciones más reductoras.

En cuanto al tFe analizado en las muestras de la solución de suelo, se encontraron concentraciones en un rango de  $<0,07$  a  $0,08 \text{mgL}^{-1}$ , como ya explicó en el apartado 4.1.3.

En conclusión, el uso de estas aguas para riego, a priori, no constituiría una fuente relevante de entrada de As al cultivo.

#### **4.3.2. Análisis de resultados de los niveles de As total en las muestras de suelo.**

Los resultados del contenido de tAs en suelo determinados a lo largo del ciclo se presentan en la Tabla 4.7. El rango obtenido fue de 2 a  $14 \text{mgkg}^{-1}$  con un promedio de  $8 \text{mgkg}^{-1}$ . Estos valores son más altos que los registrados por Campos (2022) con un valor promedio

de 3,5 mgkg<sup>-1</sup>, y el 74% superan al promedio de 5 mgkg<sup>-1</sup> obtenido por Verger (2015) en un muestreo de 20 suelos de las regiones productoras de arroz de Uruguay. Sin embargo, los experimentos de Verger (2015) fueron realizados mediante incubaciones de muestras de suelo simulando el anegamiento en laboratorio y los experimentos en esta Tesis son a campo en condiciones reales.

**Tabla 4.7.** Contenido de tAs en suelo. Las muestras son compuestas a partir de muestras de los 4 cuadrantes (Norte, Sur, Este y Oeste) de suelo.

<b>parcela-lugar</b>	<b>fecha</b>	<b>tAs (mgkg<sup>-1</sup>)</b>
Junco 1	3/09/2021	7.78
Junco 2	3/09/2021	0.92
Santa Margarita	3/09/2021	6.87
Junco 1	27/11/2021	10.74
Santa Margarita	27/11/2021	6.68
Junco 1	11/12/2021	4.59
Santa Margarita	11/12/2021	8.62
Junco 1	21/12/2021	11.94
Junco 2	21/12/2021	6.94
Santa Margarita	21/12/2021	1.99
Junco 1	5/01/2022	9.95
Junco 2	5/01/2022	6.18
Santa Margarita	5/01/2022	4.56
Junco 1	5/02/2022	12.44
Junco 2	5/02/2022	12.63
Santa Margarita	5/02/2022	14.21
Junco 1	22/02/2022	4.26
Junco 2	22/02/2022	2.56
Santa Margarita	22/02/2022	9.94
Junco 2	26/03/2022	9.64
Junco 1	18/05/2022	10.60
Junco 2	18/05/2022	6.27

Santa Margarita	18/05/2022	8.41
-----------------	------------	------

En su trabajo Verger (2015) observó un aumento en la concentración de As en la solución del suelo hasta que luego de un máximo se estabilizó o presentó un leve descenso. Este comportamiento es concordante con el sitio J1 y J2; en cambio SM mantuvo los valores elevados después de la cosecha.

Los experimentos de Carracelas et al. (2019b) en parcelas experimentales de campo, reportaron niveles de tAs de 2,14 mgkg<sup>-1</sup> para la región norte de Uruguay, menores a los encontrados en esta tesis.

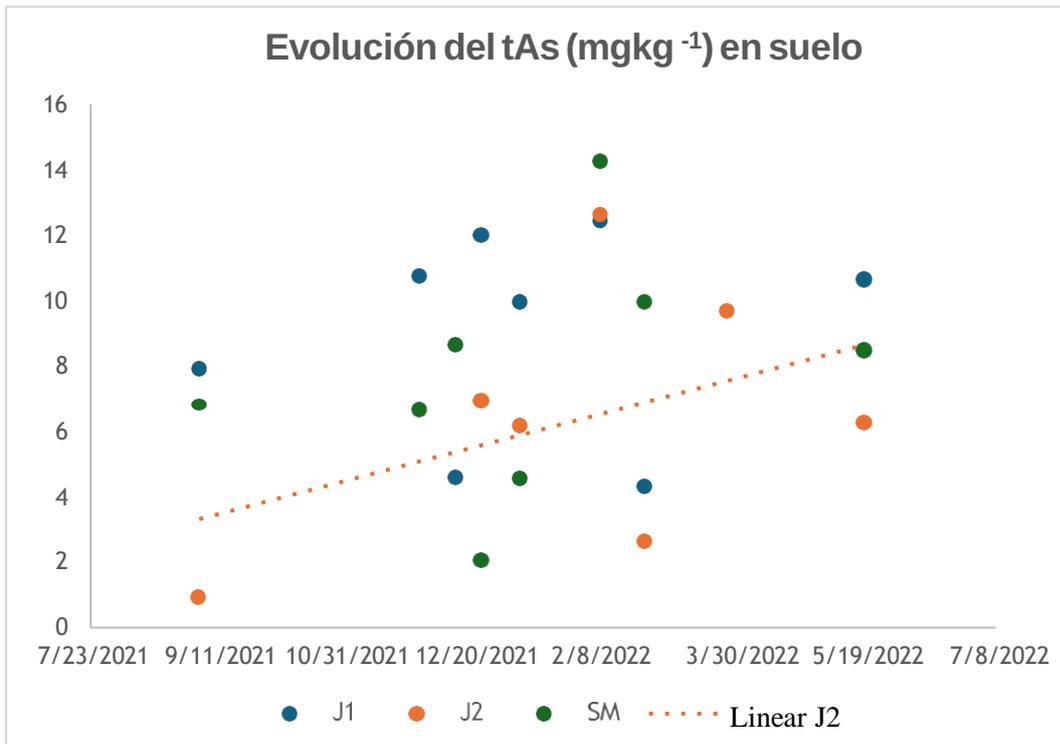
Los resultados obtenidos en esta tesis son superiores al promedio mundial de 5 mgkg<sup>-1</sup> (Koljonen et al., 1989) y algunos se encuentran por encima del límite de las Directrices Canadienses de Calidad Ambiental (CCME, 2019) de arsénico en suelo de 12 mgkg<sup>-1</sup>.

La Figura 4.9 muestra la evolución temporal del tAs en suelo, los valores alcanzan sus máximos después de 60 días de inundación constante. El predio Santa Margarita presentó el máximo valor obtenido 14,21 mgkg<sup>-1</sup> el día 5/2/2022. La concentración de As total de los suelos de cultivo de arroz se situó siempre por debajo del de 20 mgkg<sup>-1</sup> recomendado por la Unión Europea (UE) en los suelos para fines agrícolas sea (Kumarathilaka et al., 2020b). Estas observaciones son relevantes ya que los suelos que contienen más de 5,5 mgkg<sup>-1</sup> de As, tienen riesgo de acumularlo en grano por encima del límite permitido por la OMS según lo reportado por Suriyagoda *et al.* (2018).

Por otra parte, el uso de fertilizantes y agroquímicos cuyas formulaciones presentan sales arsenicales (Defarge et al., 2018; Datta et al., 2006) que contienen arsénico pueden contribuir a la acumulación de As al suelo durante el ciclo del cultivo. Según lo reportado por Defarge et al., (2018), el As está presente en las formulaciones comerciales de fertilizantes y pesticidas, lo cual es de sospechar que tras sucesivas aplicaciones de éstos se vaya enriqueciendo los suelos agrícolas, sobre todo cuando son aplicados en dosis elevadas. Aunque no se cuenta con datos específicos del contenido de As en los fertilizantes utilizados en estos predios estudiados, se debe considerar que el As podría provenir de estos químicos y podría estar acumulándose en dichos suelos, (Charter et al., 1995). Esto se fundamenta en que algunos autores han encontrado niveles de As en fertilizantes fosfatados entre 3 y 30 mgkg<sup>-1</sup>, (Charter et al., 1995), y de 23 formulaciones

analizadas, el 87% tenían entre 5 y 53 veces el nivel permitido de As en el agua en la Unión Europea o los EE. UU ( $10 \mu\text{gL}^{-1}$ ) (Defarge et al., 2018).

Se observa que, los niveles tAs muestran una disminución al inicio del mes de enero 2022 para luego aumentar al final del ciclo para todos los predios (Figura 4.9).



**Figura 4.9.** Evolución en el tiempo del tAs ( $\text{mgkg}^{-1}$ ) en suelo para cada sitio de muestreo. J1: Junco 1, J2: Junco2 (ejemplo de línea de tendencia) y SM: Santa Margarita.

Se observa una ligera tendencia a la acumulación desde el inicio del ciclo, con un máximo de acumulado de tAs en suelo en la fecha 05/02/2022 correspondiente con el periodo de floración del ciclo del arroz.

En conclusión, el contenido de tAs determinado para estas muestras presenta un rango de  $2 - 14 \text{ mgkg}^{-1}$ , con un promedio de  $8 \text{ mgkg}^{-1}$ , superior a lo encontrado en trabajos previos en la región norte de nuestro país. Esto es de suma importancia, pues algunos valores se encontraron por encima de  $12 \text{ mgkg}^{-1}$  el valor máximo recomendado por la CCME., 2019. Este As según las condiciones puede volverse biodisponible y ser la fuente para el ingreso a la planta de arroz.

Niveles de tAs en suelo relativamente altos, niveles de ORP negativo y pH superiores a 6,3 serían algunos factores que promoverían la biodisponibilidad de As favoreciendo la absorción de As por la raíz de la planta de arroz (Masscheleyn et al., 1991; Honma et al., 2016; Zhao y Wang, 2020).

Por lo tanto, es importante poder monitorear este parámetro y así como implementar estrategias de manejo que no aumenten la disponibilidad de este hacia la planta.

#### **4.3.3. Análisis de resultados de los niveles de As total en las muestras de arroz.**

Una vez que el As entra en las plantas, existe principalmente en su forma reducida, es decir, que puede ser transportado a las vacuolas ya sea como As (III) o después de la complejación con fitoquelatinas (Song et al., 2010). Todavía queda mucho por revelar sobre los transportadores implicados en la carga de As del xilema al floema y a las semillas. Las especies inorgánicas y orgánicas As difieren en su movilidad, Zhao et al., 2012 realizaron un experimento con As radiactivo ( $^{73}\text{As}$ ) durante 2-4 días y descubrieron que del total de As (III) absorbido por las plantas de arroz, solo el 10% llegaba a los brotes y solo el 3,3% al grano. Por el contrario, la movilidad de las especies orgánicas de As es mayor que la de las inorgánicas (Carey et al., 2010, 2011; Ye et al., 2010).

Si bien en esta tesis no se realizaron análisis para determinar las especies predominantes en las muestras de grano de arroz pulido, la especiación del As es un determinante importante de su absorción y transporte en las plantas. La arseniato reductasa es una enzima crucial en las plantas que regula la conversión de As (V) a As (III), (Zhao et al., 2009; Chao et al., 2014).

En la siguiente Tabla 4.8. se muestran los resultados de los niveles de tAs en las muestras de arroz pulido. De acuerdo con los datos, en las tres muestras analizadas el contenido de As es bajo ( $0,06-0,07 \text{ mgkg}^{-1}$ ) en comparación con los límites establecidos para arroz pulido:  $0,15 \text{ mgkg}^{-1}$  e incluso del LMP del arroz para lactantes:  $0,10 \text{ mgkg}^{-1}$  según U.E., 2021.

**Tabla 4.8.** Contenido de tAs en arroz pulido para los 3 sitios estudiados.

parcela-lugar	variedad sembrada	tAs (mgkg <sup>-1</sup> )
Junco 1	Olimar	0.06
Junco 2	Merin	0.07
Santa Margarita	Gurí	0.07

Los valores obtenidos también son menores a los reportados recientemente por Roel et al, 2021 de As total en la zona Norte del país con un promedio de 0,121 mgkg<sup>-1</sup>.

Además, Roel et al. (2021) reporta una asociación entre la duración del ciclo de cultivo y el nivel de tAs de manera similar a lo reportado por Meharg et al. (2012). En donde INIA Merin con la mayor duración del ciclo de cultivo (155 días) presentó niveles significativamente más altos de tAs que todas las demás variedades (Roel et al., 2021).

En esta tesis, como se observa en la tabla 4.8 no hubo diferencias significativas relacionadas entre los niveles de tAs obtenidos para arroz pulido y las variedades.

Estudios de arsénico en arroz pulido publicados en Uruguay muestran que una correlación en promedio de 35% entre el tAs y el As inorgánico (Roel et al., 2021).

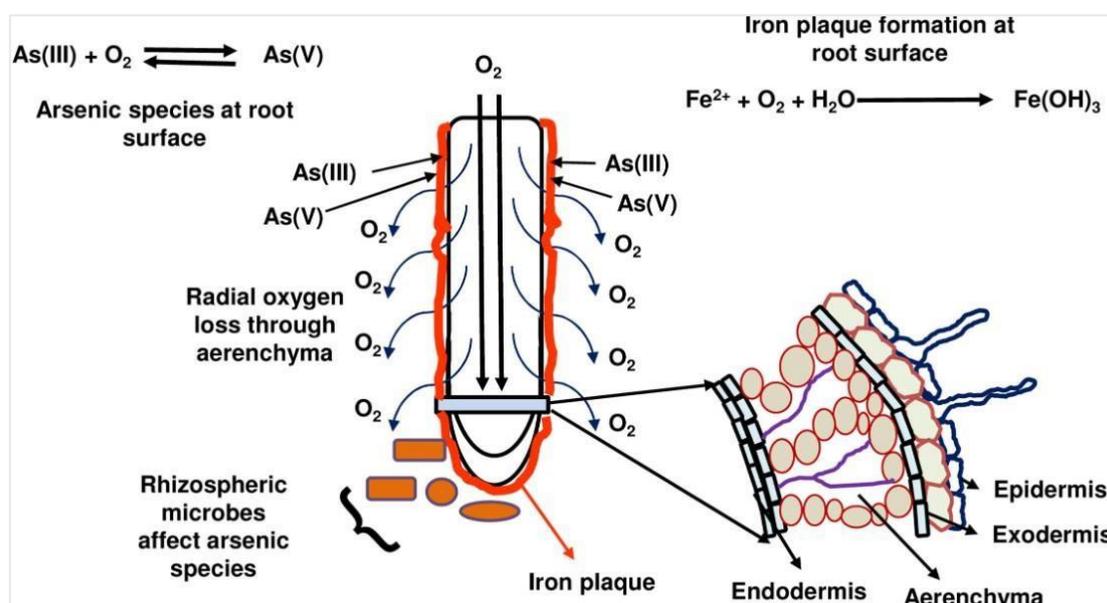
En otros estudios realizados en Uruguay por Carracelas et al. (2019), concluyeron que el As inorgánico acumulado en el grano de arroz pulido cultivado en dos sitios específicos en las regiones arroceras del Norte y Este de Uruguay se encontraba por debajo de los límites regionales (Mercosur, 2011) e internacionales (FAO y OMS, 2019), con niveles reportados de As inorgánico promedio de 0,067 mgkg<sup>-1</sup> según lo reportado por Roel et al., 2021 (este valor constituiría un tercio del tAs).

En conclusión, los valores de tAs para los 3 sitios se encuentran por debajo del LMP para arroz pulido: 0,15 mgkg<sup>-1</sup> e incluso del LMP del arroz para lactantes: 0,10 mgkg<sup>-1</sup> según U.E., 2021. Con lo cual, de acuerdo con estos resultados, su consumo no constituye un riesgo para la salud humana.

#### **4.3.4. Análisis de resultados de los niveles de Fe total en las muestras de raíz y raíz con suelo.**

El arroz es una planta semiacuática y, al igual que las plantas de los humedales, como ya se dijo anteriormente, tiene un extenso aerénquima en sus raíces. Debido a la liberación

de  $O_2$  el hierro ferroso ( $Fe^{2+}$ ) se oxida a hierro férrico ( $Fe^{3+}$ ) y da lugar a la formación de precipitado de óxidos/hidróxidos de hierro en la superficie de la raíz (Awasthi., 2017). A esto se le llama placa de hierro, tal como se observa en la Figura 4.10. Los óxidos e hidróxidos de Fe son sorbentes fuertes para el As y, por lo tanto, la placa de hierro se convierte en un sumidero importante de As que contiene cantidades aún mayores de As que la de las raíces (Liu et al., 2006). Además, la especiación química de As en la placa de hierro también se ha estudiado mediante absorción de rayos X de borde cercano (XANES) encontrando principalmente As(V) (Liu et al., 2006; Seyfferth et al., 2010; Frommer et al., 2011).



**Figura 4.10.** Esquema de la influencia de la pérdida radial de oxígeno y la formación de placa de hierro en la superficie de la raíz del arroz y la absorción de arsénico por las raíces. Imagen adaptada de Awasthi., 2017.

Debido a la alta capacidad de adsorción de los grupos funcionales en los hidróxidos de Fe, la placa de Fe secuestra una serie de metales y metaloides por adsorción o coprecipitación (Liu et al., 2007). Durante el ensayo de campo Dwendi et al., 2010, observaron que la translocación de As ( $mgkg^{-1}$ ) desde la raíz al brote, la cáscara y los granos disminuyó secuencialmente, y la mayor parte del As se acumuló en la cáscara (1–6 %), y solo alrededor de 0,5–1,7 % se acumuló en los granos.

Recientemente se ha descubierto que un determinante importante de las especies de As presentes en la placa de hierro es la composición microbiana. Se encontraron diferencias contrastantes en la composición microbiana y diversidad entre la placa de hierro y los

suelos a granel y rizosfera. Además, había bacterias oxidantes de As (III) presentes en la placa de hierro de la raíz (a saber, Acidovorax e Hydrogenophaga) que estaban involucradas en la transformación del As y, por lo tanto, influyen en la concentración de As en los tejidos del arroz (Hu et al., 2015).

De aquí la importancia de poder conocer los valores de tFe en raíz y en la raíz sin lavar, con su suelo circundante como una aproximación a la placa de hierro mencionada anteriormente y a las especies de Fe circundantes a la raíz de la planta.

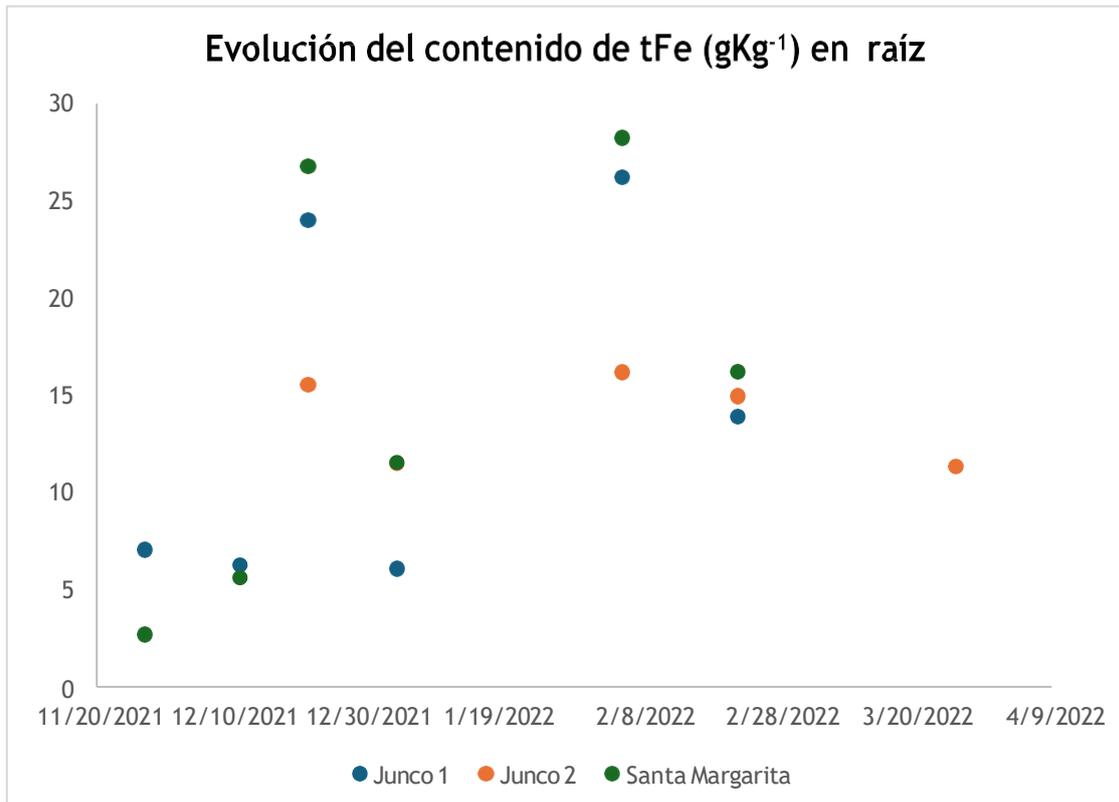
En la siguiente Tabla 4.9 se muestran los resultados de los niveles de tFe en las muestras compuestas de raíz de planta de arroz para cada uno de los sitios estudiados.

**Tabla 4.9.** Contenido de tFe en muestras compuestas de raíz de planta de arroz.

parcela-lugar	fecha	tipo de muestra	tFe (gkg <sup>-1</sup> )
Junco 1	27/11/2021	raíz	7.055
Santa Margarita	27/11/2021	raíz	2.683
Junco 1	11/12/2021	raíz	6.267
Santa Margarita	11/12/2021	raíz	5.614
Junco 1	21/12/2021	raíz	24.020
Junco 2	21/12/2021	raíz	15.530
Santa Margarita	21/12/2021	raíz	26.778
Junco 1	5/01/2022	raíz	6.071
Junco 2	5/01/2022	raíz	11.489
Santa Margarita	5/01/2022	raíz	11.539
Junco 1	5/02/2022	raíz	26.213
Junco 2	5/02/2022	raíz	16.188
Santa Margarita	5/02/2022	raíz	28.244
Junco 1	22/02/2022	raíz	13.905
Junco 2	22/02/2022	raíz	14.946
Santa Margarita	22/02/2022	raíz	16.202
Junco 2	26/03/2022	raíz	11.319

En esta tesis los valores de tFe en raíz variaron entre 2 y 28 gkg<sup>-1</sup>. El valor más bajo obtenido (3 gkg<sup>-1</sup>), se obtiene al inicio de anegamiento cuando aún no se manifiestan cambios significativos en el suelo. Luego, este valor tiende a subir hacia el día 21/12/2021, coincidiendo con un medio ambiente reductor. Esto coincide con que las plantas de arroz acumulan cantidades altas de Fe reducido inmediatamente después de la inundación. Esto puede deberse a que bajo condiciones de anaerobiosis en suelos inundados el Fe<sup>+3</sup> es reducido a Fe<sup>+2</sup> soluble, fácilmente absorbido por las plantas, que se oxidaría al alcanzar la raíz por el O<sub>2</sub> liberado por esta como se explicó anteriormente. En

un estudio realizado por INIA en donde se utilizó el cultivar INIA Olimar, el mismo que para J1 en esta tesis, y se evaluaron tres tratamientos de inundación, se encontró que el tratamiento de inundación temprana: (10-25 días después de la emergencia), como es nuestro caso, la concentración de Fe en raíces alcanzó un promedio de 17 gkg<sup>-1</sup>, cercano al promedio obtenido para J1 de 14 gkg<sup>-1</sup> en este ciclo (Lavecchia, A., 2010).



**Figura 4.11.** Evolución en el tiempo del tFe (gkg<sup>-1</sup>) en raíz para cada sitio de muestreo.

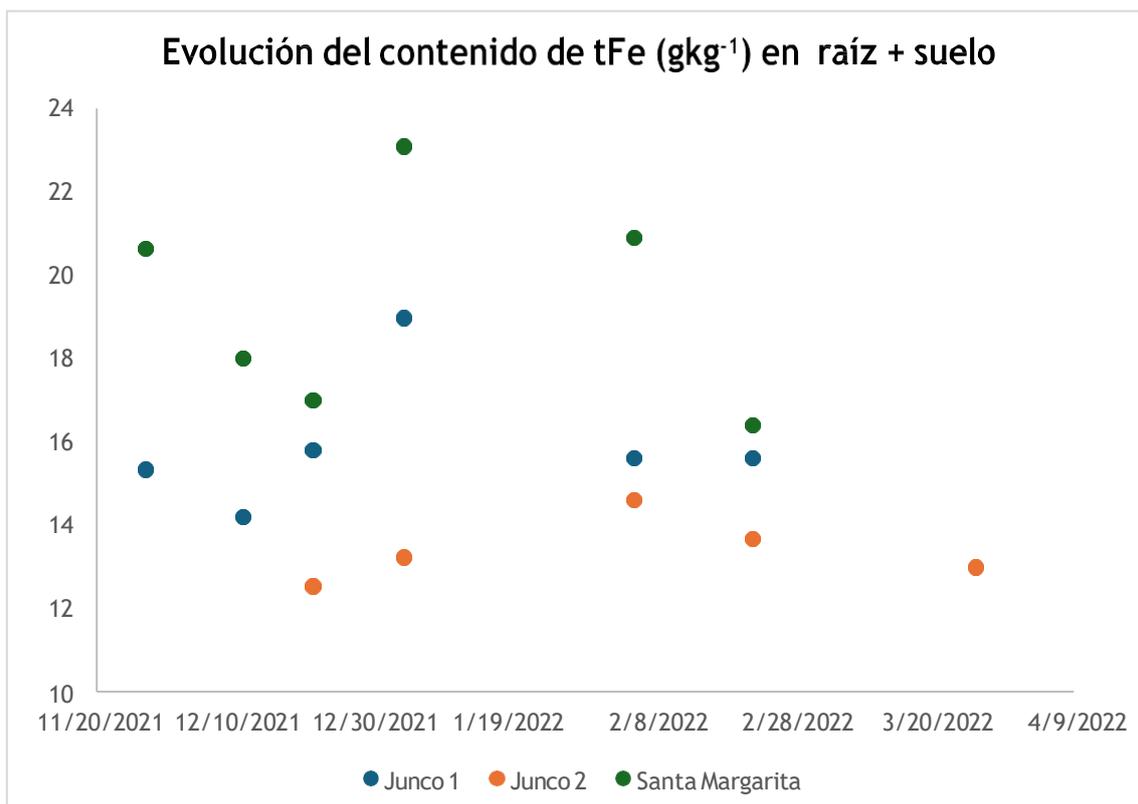
En la siguiente Tabla 4.10 se muestran los resultados de los niveles de tFe en las muestras compuestas de raíz con suelo de planta de arroz.

**Tabla 4.10.** Contenido de tFe en muestras de raíz + suelo de planta de arroz.

parcela-lugar	fecha	tipo de muestra	tFe (gkg <sup>-1</sup> )
Junco 1	27/11/2021	Raíz + suelo	15.33
Santa Margarita	27/11/2021	Raíz + suelo	20.60
Junco 1	11/12/2021	Raíz + suelo	14.19
Santa Margarita	11/12/2021	Raíz + suelo	18.00
Junco 1	21/12/2021	Raíz + suelo	15.80
Santa Margarita	21/12/2021	Raíz + suelo	16.99
Junco 2	21/12/2021	Raíz + suelo	12.53
Santa Margarita	5/1/2022	Raíz + suelo	23.08
Junco 2	5/1/2022	Raíz + suelo	13.22
Junco 1	5/1/2022	Raíz + suelo	18.96

Junco 1	5/2/2022	Raíz + suelo	15.60
Junco 2	5/2/2022	Raíz + suelo	14.59
Santa Margarita	5/2/2022	Raíz + suelo	20.89
Junco 1	22/2/2022	Raíz + suelo	15.60
Junco 2	22/2/2022	Raíz + suelo	13.66
Santa Margarita	22/2/2022	Raíz + suelo	16.39
Junco 2	26/3/2022	Raíz + suelo	12.98

Para la matriz suelo + raíz los valores de Fe total variaron entre 12- 23 gkg<sup>-1</sup>.



**Figura 4.12.** Evolución en el tiempo del tFe (gkg<sup>-1</sup>) en raíz + suelo para cada sitio de muestreo.

En conclusión, para el tFe determinado en esta tesis en las muestras de raíz varió entre 2 y 28 gkg<sup>-1</sup> y para las muestras de raíz con suelo el tFe varió entre 12- 23 gkg<sup>-1</sup>.

#### **4.4 Estudio de relaciones entre los parámetros estudiados, tendientes a encontrar las principales causas del contenido de As en grano de arroz.**

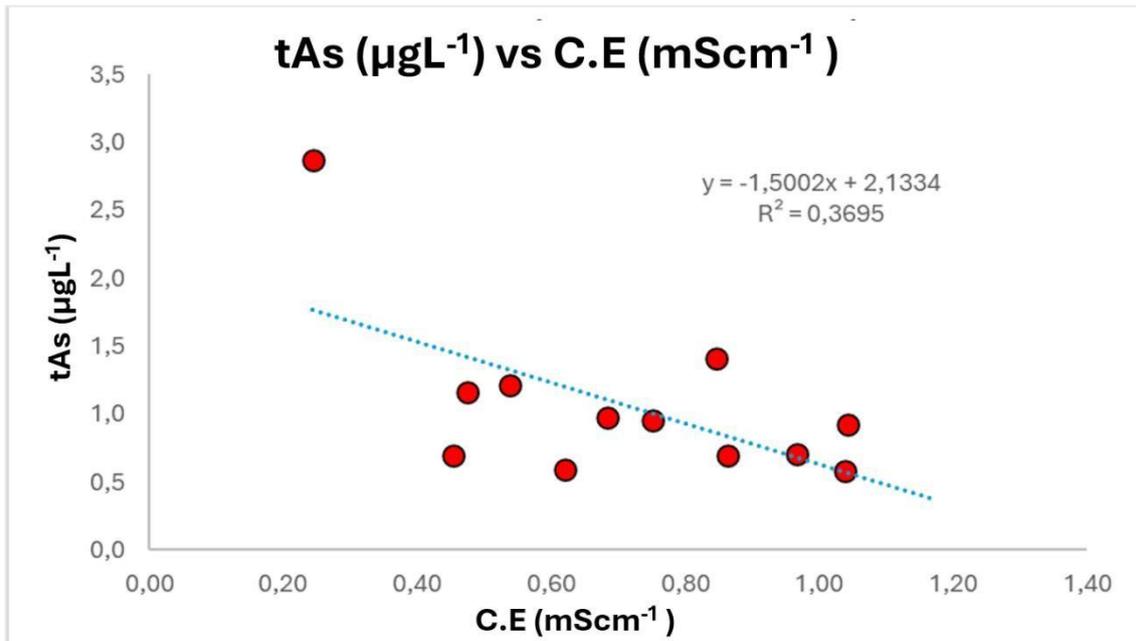
##### **4.4.1. Implicancias de las aguas para riego como fuente de As para los cultivos de arroz.**

De acuerdo con lo encontrado en esta tesis, como se discutió en el apartado 4.3 la concentración de As en el agua de riego es baja y no implicaría un riesgo en cuanto a su aporte a la planta. Esta observación coincide por Roel et al. 2021.

De todas formas, es importante hacer foco en la conservación y cuidado de este recurso realizando prácticas de manejo de cultivos eficientes en el uso de fertilizantes y fitosanitarios que por escorrentía lleguen a contaminar estas reservas de agua.

##### **4.4.2. Correlación entre parámetros estudiados y el contenido de As total en la solución de suelo.**

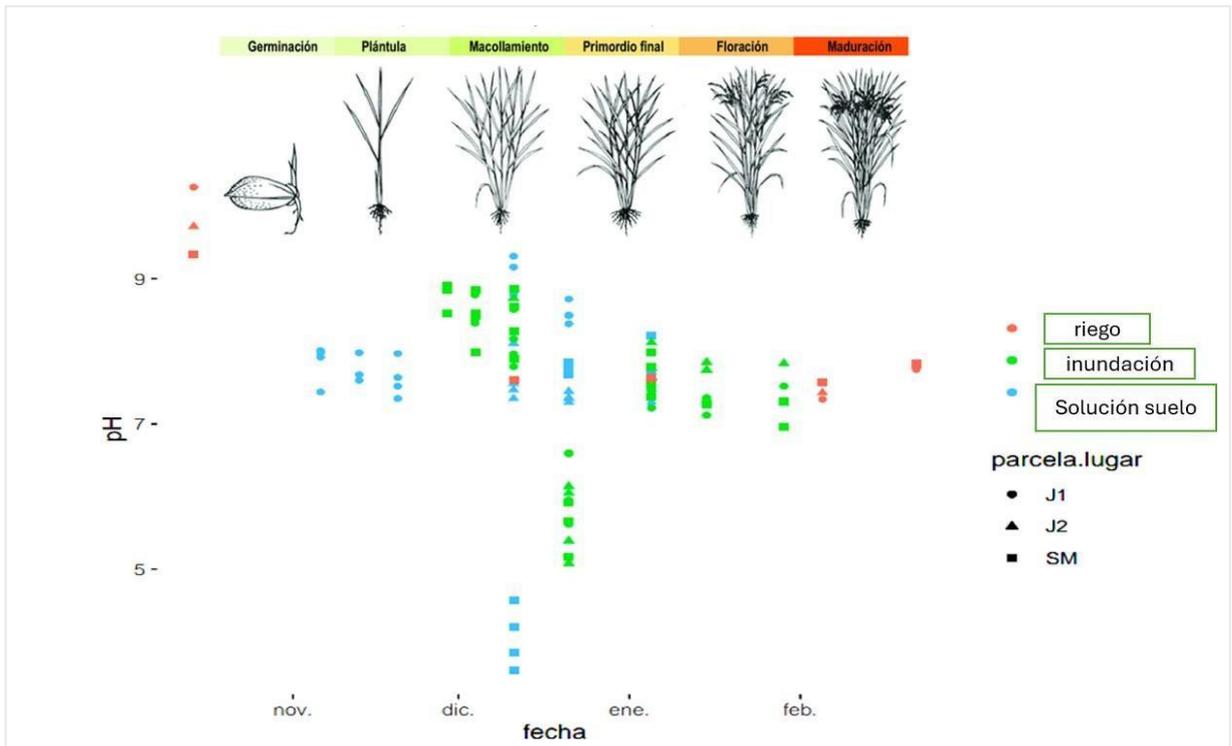
Se realizaron correlaciones entre los diferentes parámetros evaluados y el contenido de tAs tendientes a identificar posibles causas del tAs medido en el grano de arroz pulido. La única correlación que se encontró fue con la medida de la C.E, siendo esta negativa. Esto podría deberse a que cuando el arsénico está presente en concentraciones elevadas en la solución del suelo es probable que se libere de minerales a través de procesos como la disolución reductora y, por lo tanto, se observaría una menor concentración de iones disueltos que contribuyen a la conductividad o viceversa.



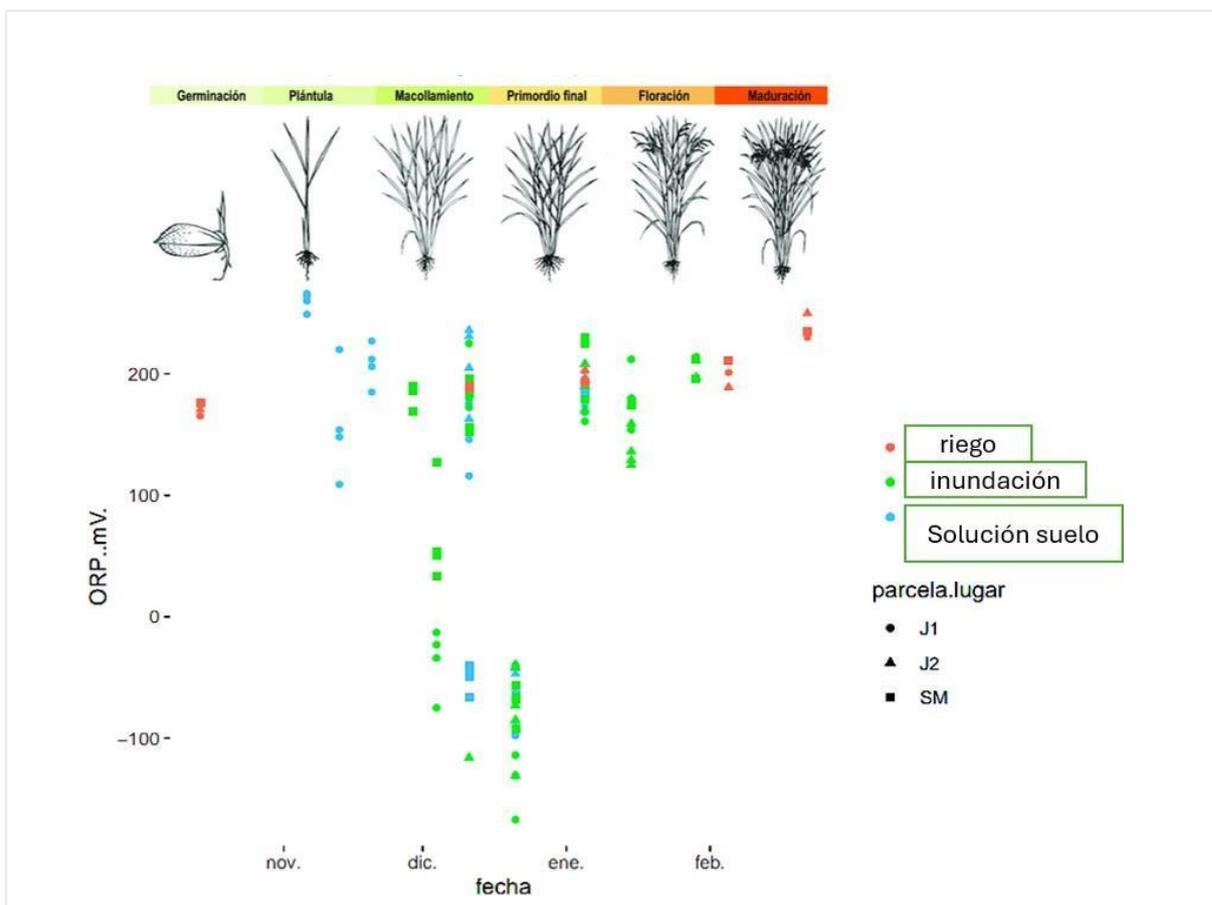
**Figura 4.13.** Correlación entre el contenido de tAs y la C.E para las muestras del agua del suelo.

#### 4.4.3. Variación de los parámetros estudiados y el contenido de As total durante el desarrollo del cultivo de arroz.

Las Figuras 4.14, 4.15 y 4.16. resumen la variación de los parámetros pH, ORP y el contenido de tAs de las distintas aguas en relación con las etapas del cultivo de arroz. En ellas se observa para el agua de inundación y de la solución del suelo un descenso de los valores de pH y ORP que coincide con la finalización de la fase de macollamiento y el inicio de la fase de primordio. Esto es importante porque la reducción del pH y del ORP en la solución del suelo favorece la disolución de As en sus formas más solubles As (V) y As (III) que son más fácilmente absorbidos por las raíces del arroz, como se explicó anteriormente y durante el macollamiento y primordio, el arroz se encuentra en un estado de activo crecimiento.



**Figura 4.14.** Variación del pH en las distintas aguas en relación con la fecha y el desarrollo del cultivo.

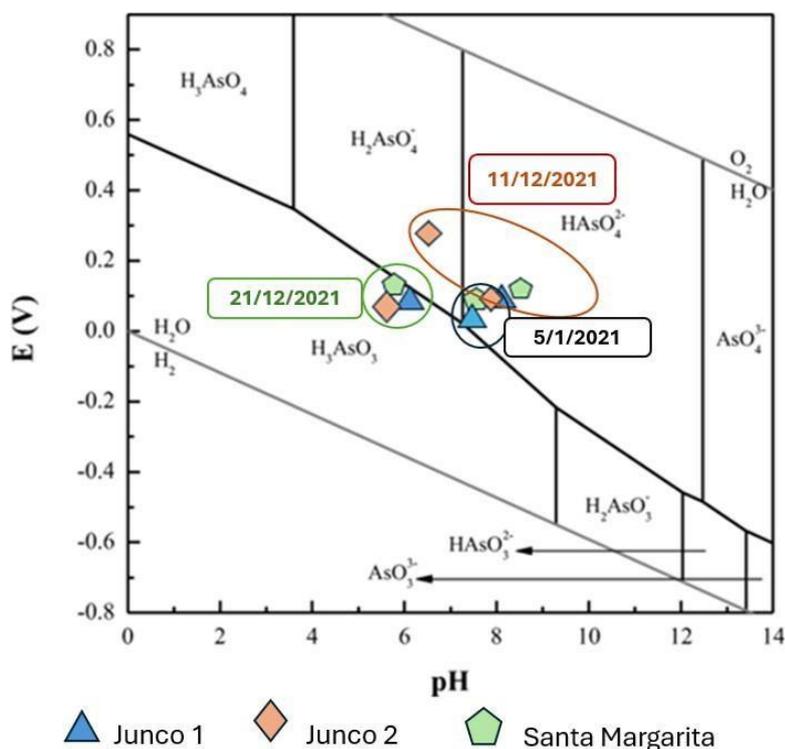




## 4.5 Determinar las especies del As de mayor estabilidad en dichas condiciones y las interacciones químicas relevantes.

De acuerdo con la bibliografía y a los datos obtenidos en esta tesis, la inundación de los arrozales provoca cambios drásticos en el potencial redox y el pH, lo que afecta los procesos biogeoquímicos de muchos elementos del suelo, incluidos el As.

Para prever las especies del As dominantes en cada situación estudiada, se procedió a calcular el Eh (V) a partir del valor de ORP ( $Eh = ORP + 207$ , a 25°C, 3.33 M KCl) medido para cada sitio e identificar según el pH del medio y empleando los diagramas de Pourbaix las especies mayoritarias presentes en el suelo a lo largo del ciclo del arroz para As y para Fe.



**Figura 4.17.** Diagrama de Pourbaix de As adaptado de Marinho et al., 2019 para los 3 sitios estudiados.

En el suelo las formas inorgánicas de As son las dominantes y existen como As (III) y As (V) (Fitz y Wenzel, 2002). La forma As (V) es un ion con carga negativa y puede existir como  $H_2AsO_4^-/HAsO_4^{2-}$  en el rango de pH observado habitualmente en los suelos (6-8). Debido a la carga negativa, muestra una fuerte afinidad por los minerales del suelo como los óxidos, hidróxidos y oxihidróxidos de hierro y manganeso (Babaeiveli et al., 2014).

La forma As (III) está presente mayoritariamente como la molécula neutra  $\text{H}_3\text{AsO}_3$  con un pKa de 9,2 y tiene una afinidad de adsorción limitada por los minerales del suelo y es más móvil que el As (V) (Saifullah et al., 2018).

En general, en aguas superficiales, más oxigenadas que otros cuerpos de agua, la forma pentavalente del As, As (V) tiende a predominar frente a la forma trivalente As (III). Las concentraciones y proporciones relativas de As (III) y As (V) dependen de la entrada de As en el sistema, las condiciones redox y la actividad biológica. Por ejemplo, la presencia de arsenito puede ser mantenida en condiciones óxicas por reducción biológica de arsenato (Smedley y Kinniburgh, 2002). Por otra parte, la cinética de las reacciones redox es muy lenta por lo que las relaciones As (V)/As (III) observadas en muchas ocasiones no corresponden con las condiciones redox del medio, reflejando desequilibrio termodinámico (Smedley y Kinniburgh, 2002). Las formas orgánicas de As suelen aparecer en concentraciones menores que las especies inorgánicas como resultado de reacciones de metilación catalizadas por actividad microbiana (bacteria, algas).

De acuerdo con el diagrama de Pourbaix de la Figura 4.17, al inicio del anegamiento del cultivo, las especies que predominaron fueron las de As (V):  $\text{H}_2\text{AsO}_4^-$  y  $\text{HAsO}_4^{2-}$ , cuando el ambiente se volvió más reductor predominaron las especies de As (III):  $\text{H}_3\text{AsO}_3$  y hacia el final del ciclo, cuando los pH se acercaron a la neutralidad nuevamente predominaron las especies de As (V):  $\text{HAsO}_4^{2-}$ . Durante las condiciones más reductoras, se estarían dando condiciones favorables para la absorción del As por la planta. En este estudio, esto ocurre en unos 50 días de inundación coincidiendo con la fecha diciembre 2021, en la etapa de macollamiento del cultivo.

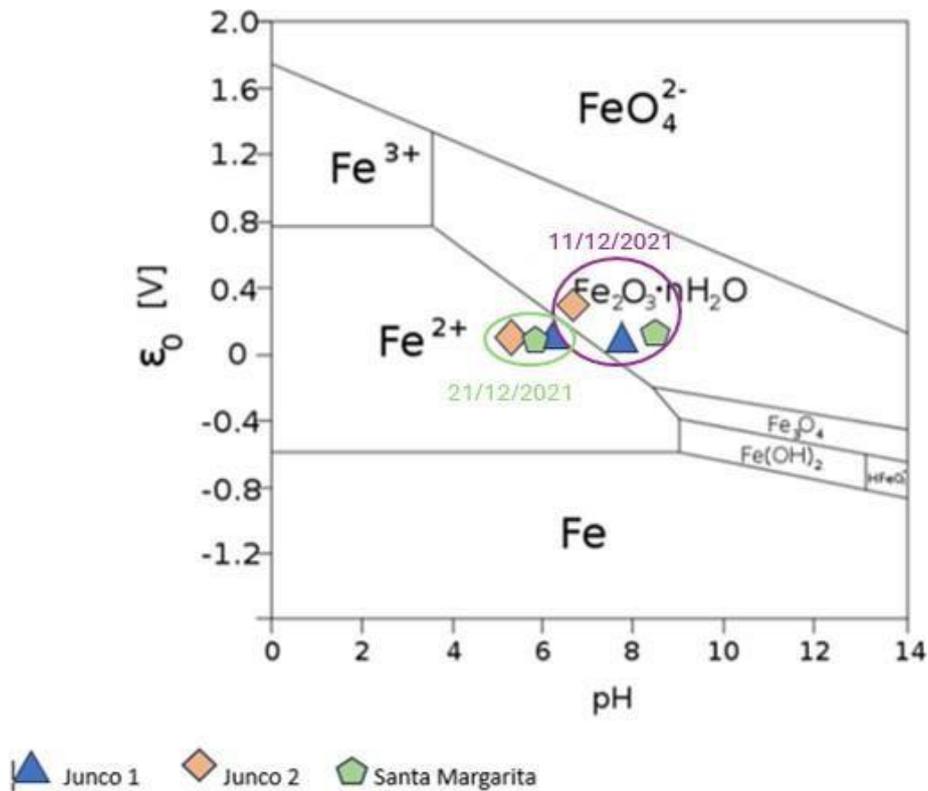
Hakim 2011, observó que el elevado nivel de arsénico en el suelo influyó en la acumulación de As y P en el arroz. Esto sería relevante para esta tesis, en donde se encontraron niveles de tAs en suelo superiores a  $5,5 \text{ mgkg}^{-1}$  y según Suriyagoda *et al.*, 2018 tienen riesgo de acumular As en grano por encima del límite permitido por la OMS, fenómeno que no observamos en el presente trabajo de tesis.

Una vez que el As ingresa en la planta, el As inorgánico, especialmente arsenito, se acumula preferentemente en la parte externa del grano, mientras que el DMA permanece dentro del endosperma (Lombi et al., 2009; Zhao et al., 2013). La planta de arroz no es capaz de metilar las formas inorgánicas de As, por lo que se considera que el DMA es asimilado por la planta directamente del suelo (Lomax et al., 2012; Jia et al., 2013). Los

microorganismos del suelo son los principales responsables de la transformación de As inorgánico (As (III)) en especies de As metiladas (Wang et al., 2014; Zhao et al., 2013). Muchos factores contribuyen a los procesos de metilación de As bajo condiciones de inundación tales como la actividad de los microorganismos anaeróbicos, condiciones de inundación prolongadas para reducción de As (V) y el incremento de la disponibilidad del sustrato necesario para la metilación del As (Atiaga., 2019).

En esta tesis se encontraron niveles relativamente altos de tAs en suelo, no obstante, este no se refleja en el contenido de tAs del grano de arroz. De acuerdo con la bibliografía, esto podría deberse a que múltiples factores influyen en la disponibilidad de As alrededor de las raíces del arroz y los transportadores involucrados en la absorción y el transporte de arsénico a través del xilema y el floema hasta los granos. Por un lado, el As en el suelo puede estar principalmente en formas poco solubles o asociadas a minerales que no son fácilmente absorbidas por las raíces del arroz (Meharg et al., 2009). Esto limita la cantidad de As que puede ser absorbida por las plantas.

Por otra parte, la reducción de los oxihidróxidos de Fe (III) conduciría a la liberación de As en el agua intersticial obtenida mediante los succionadores (Williams et al., 2007a, b). En la Figura 4.18. se observa que las condiciones Eh-pH encontrados en esta tesis se sitúan dentro del rango de estabilidad de los oxihidróxidos de Fe (III) al inicio del cultivo presumiblemente debido a una baja concentración de materia orgánica lábil que favorezca la actividad de las bacterias reductoras de los oxihidróxidos de Fe (III) (Otero et al. 2016). En la fecha 21/12/2024, se observa que la especie de  $Fe^{+2}$  debe ser la predominante por las condiciones ambientales y que coincide con que el As se encuentra como As (III) de acuerdo con la Figura 4.17. Sin embargo, las mediciones de tAs en la solución del suelo no superaron los  $3,0 \text{ mgL}^{-1}$ .



**Figura 4.18.** Diagrama de Pourbaix para Fe de los 3 sitios estudiados. Adaptado de Wikipedia, 2019.

En conclusión, según el diagrama de Pourbaix para Fe, las condiciones Eh-pH encontrados en esta tesis se sitúan dentro del rango de estabilidad de los oxihidróxidos de Fe (III). En la fecha 21/12/2024, se observa que la especie de  $Fe^{+2}$  debe ser la predominante por las condiciones ambientales y que coincide con que el As se encuentra como As (III), dándose las condiciones para su absorción.

## **4.6 Estrategias para disminuir la absorción de As por las plantaciones de arroz.**

Los niveles encontrados de As en la tesis no conllevan peligros para el consumo humano de arroz, pero si se detectaron concentraciones relativamente altas de As en suelo.

Para cumplir con el objetivo de plantear estrategias para disminuir la absorción de As de esta tesis, luego de la obtención de los datos anteriormente analizados se realizó una revisión bibliográfica en busca de posibles estrategias que minimicen o eviten una eventual llegada del As al grano de arroz y de esta forma garantizar la inocuidad de este producto alimenticio. A continuación, se enumeran algunas:

1- Practicas agronómicas: Se ha intentado reducir la concentración de As en los granos de arroz a través de diferentes enfoques, entre ellos el empleo de prácticas agronómicas para regular la disponibilidad de plantas de arroz, como ser la gestión del agua (Spanu et al., 2012; Moreno-Jiménez et al., 2014), las enmiendas a los fertilizantes (Seyfferth et al., 2016), micorrícicas ( Poonam et al., 2017) y microbianas ( Lakshmanan et al., 2016).

En este sentido, Carracelas et al., 2020, presentó el trabajo “Efectos del manejo de riego y variedades en los niveles de arsénico acumulado en arroz” y en su trabajo Campos., 2022 concluyó que los eventos estratégicos de secado de baja severidad fueron efectivos para convertir el suelo en condiciones aeróbicas, alcanzando valores positivos de Eh en la mayoría de los períodos de sequía, lo que reduce la movilidad y disponibilidad de As del suelo. En su estudio muestra que existe una estrategia alternativa de manejo del agua que consistió en la aplicación de dos drenajes estratégicos de baja severidad en las etapas de iniciación de panícula y plena floración que permiten una reducción significativa del nivel de contenido de arsénico inorgánico sin penalizar el rendimiento.

De todas formas, se debe realizar una validación adicional a escala de agricultor para evaluar la factibilidad de la aplicación de esta alternativa de manejo del riego. Además, el efecto de un solo evento de secado de floración completa sobre la acumulación de As inorgánico en el grano de arroz, no evaluado en este estudio, debe abordarse en investigaciones futuras (Campos, 2022).

Los diversos trabajos realizados con este enfoque produjeron resultados contrastantes o aumentaron la concentración de otros elementos tóxicos como el Cd mientras que disminuyeron la de As (Moreno-Jiménez et al., 2014; Poonam et al., 2017). En su trabajo

Campos., 2022 concluyó que los niveles de fertilización con P no tuvieron impacto en el contenido de grano de As inorgánico. No se confirmó la hipótesis de que al aplicar P se reducirá potencialmente la disponibilidad de As en el suelo.

En ensayos de riego realizados durante dos zafras en la localidad de Paso de la Laguna, Treinta y Tres, Uruguay, se pudo comprobar que los secados de suelo de baja severidad aplicados fueron efectivos para modificar las condiciones anaeróbicas del suelo inundado, lo cual quedó evidenciado en el incremento en los valores de potencial redox de la solución del suelo que lograron alcanzar valores positivos y en las lecturas de pH de la solución del suelo, que, luego de evolucionar hacia valores cercanos a la neutralidad al iniciarse el riego, tendieron a volverse más ácidos en las determinaciones realizadas posteriores los secados (Carracelas et al., 2019), lo que reducirá la disponibilidad de As en el suelo.

Existen otras alternativas que permiten obtener grano con menor contenido de As inorgánico y tAs, ya sea a través de la selección de chacras que se hayan cultivadas sobre formaciones geológicas de tipo ígneo predominantes en la zona norte del país o seleccionando chacras de variedades de la subespecie Japónica (Campos,2022). En este sentido algunos trabajos realizados en Uruguay como: Mapeo asociativo de arsénico en grano de arroz en germoplasma avanzado de INIA (Ale et al.,2020) y Regional variability of arsenic content in Uruguayan polished rice (Roel et al., 2021) coincidieron con Campos, 2022 en que, los cultivos sobre suelos originados a partir de material geológico ígneo reportaron menor concentración de As en grano de arroz que los suelos sedimentarios, así como las variedades Japónicas presentaron concentraciones de tAs e As inorgánico significativamente menores que las de la subespecie Indica.

2- Biota: otro enfoque para reducir la liberación del As en los suelos podría ser mediante el estudio de la biota, de la microbiología de suelos destinados a estos cultivos que podría aportar información relevante para este propósito.

Dada la importancia de los microorganismos en los procesos que se observan en las condiciones de estos cultivos, en ese sentido, existen algunos trabajos en Uruguay como: *Las comunidades de microorganismos asociados a suelos arroceros* por Martínez, et al., 2020, en el cual describen a los grupos Archaea y Cyanobacteria, el Chloroflexi en ciclos de arroz continuo y Verrucomicrobia en las rotaciones de arroz con otros cultivos como

los preponderantes detectados y que son afectados por un mayor tiempo en condiciones de inundación del cultivo (Martinez et al., 2020).

Bose et al., 2022 descubrieron que todos los importantes procesos biogeoquímicos del suelo en el cultivo de arroz son influenciados por la biota, catalizados por los miembros de la comunidad más abundante/central (Proteobacteria, Actinobacteria, Acidobacteria, Chloroflexi, Planctomycetes y Thaumarchaeota). Las comunidades microbianas estaban altamente limitadas por As, Fe K, N,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  y carbono orgánico (CO) (Bose et al., 2022). Los taxones que estaban vinculados positivamente con los parámetros del suelo que mantienen la salud y productividad (p. ej., N, K,  $\text{PO}_4^{3-}$  y Fe) se vieron afectados negativamente por el aumento de la concentración de As.

3- Modificación genética del arroz: utilizar especies de arroz genéticamente alteradas para la expresión de los transportadores implicados en la absorción, el transporte y el secuestro de As.

Los transportadores de la absorción de As (V) y As (III) (Wu Z. et al., 2011; Mosa et al., 2012) y el secuestro vacuolar (Song et al., 2014) han sido selectivos y lograron disminuir la acumulación de As en los brotes y granos de arroz. Sin embargo, la expresión alterada de los transportadores de As, que son también transportadores de elementos esenciales como el fosfato, la sílice, el boro y el agua entre otros compuestos, es cuestionable teniendo en cuenta las posibles influencias sobre la homeostasis de los elementos y compuestos esenciales (Tripathi et al., 2007). El aumento del secuestro vacuolar debe estudiarse a la luz de la influencia en la homeostasis de otros elementos esenciales como el Zn ( Tennstedt et al., 2009). Por lo tanto, los transgénicos deben analizarse en la búsqueda de sus composiciones totales.

Las variedades de arroz incluidas en los estudios de esta Tesis fueron Gurí, Merin y Olimar y en ninguna de ellas se encontraron niveles de As por encima de la normativa para consumo humano ( $0,15 \text{ mgkg}^{-1}$ ) a pesar de que el As se había acumulado en suelo como se discutió previamente.

4- Quelantes: Otra estrategia podría centrarse en la movilidad del As mediante la mejora de la síntesis de quelantes y cambios en su especiación, mejorando la síntesis de glutatión (GSH) y fitoquelatinas (PC) (Tripathi et al., 2007) y para mejorar la metilación y volatilización del As (Meng et al., 2011). Se ha encontrado que el aumento en la síntesis

de GSH y PCs produce resultados contrastantes debido al estrés ejercido por el metabolismo del azufre (Tripathi et al., 2007). La metilación y volatilización del As en la atmósfera para reducir el As en los granos de arroz es discutible, ya que puede ser tóxico para los agricultores que trabajan en el campo y la población local que reside en la zona (Meng et al., 2011).

En resumen, hay algunas estrategias potenciales disponibles que se pueden aplicar para lograr el objetivo de disminuir el As en los granos de arroz. Sin embargo, las respuestas contrastantes, los pros y los contras de estas estrategias exigen diseñar un "Enfoque Integrado" basado en una combinación de agronómico – transgénico para producir granos de alta calidad con niveles seguros y óptimos para varios elementos.

Los resultados obtenidos en esta tesis de As total en suelo son una alerta para los cultivadores surgiendo la necesidad de conocer este dato previo a la siembra del cultivo y de esta manera poder implementar estrategias tendientes a mantener la inocuidad alimentaria para sus productos de ser necesario.

## BIBLIOGRAFÍA

Ale, Lucas., Verger, Melissa., Raab, Andrea., Feldmann, Jörg., Vida, Fernando., Rosas, Juan. (2020). MAPEO ASOCIATIVO DE ARSÉNICO EN GRANO DE ARROZ EN GERMOPLASMA AVANZADO DE INIA. 10.35676/INIA/ST.257.

Álvarez-Benedi. J., Bolado. S., Cancillo. I., Calvo. C., Garcia-Sinovas. D., 2005. Adsorption Desorption of arsenate in three Spanish soils. *Vadose Zone J.* 4. 282-290.

Atiaga, A. (2019). *Dinámica de nutrientes y condiciones redox en suelos inundados de arroz. Revista de Ciencia y Tecnología Agrícola*, 15(2), 125-136.

Atiaga, E. (2019). Redox processes in flooded rice soils and their implications for nutrient availability. *Soil Science Society of America Journal*, 83(4), 1234-1245. <https://doi.org/10.2136/sssaj2019.01.0023>

Aubriot LE, Delbene L, Haakonsson S, Somma A, Hirsch F, Bonilla S. 2017. Evolución de la eutrofización en el Río Santa Lucía: influencia de la intensificación productiva y perspectivas. *INNOTECH*. 14: 7 – 16. [DOI 10.26461/14.04](https://doi.org/10.26461/14.04)

Awasthi, S., Chauhan, R., Srivastava, S., & Tripathi, R. D. (2017). The journey of arsenic from soil to grain in rice. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1007.

Babaeivelni, K., Khodadoust, A.P., Bogdan, D., 2014. Adsorption and removal of arsenic (V) using crystalline manganese (II, III) oxide: kinetics, equilibrium, effect of pH and ionic strength. *J. Environ. Sci. Health - Part A* 49, 1462-1473.

Beretta, A., 2019. Impacto de la erosión en el contenido de fósforo total en agua del Río Negro. URL. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.18397.36324/1>

Bose, H., Sahu, R. P., & Sar, P. (2022). Impact of arsenic on microbial community structure and their metabolic potential from rice soils of West Bengal, India. *Science of the Total Environment*, 841, 156486.

Bouman, B. A. M., & Hengsdijk, H. (2001). *Rice and water management in the 21st century: Constraints and opportunities*. *Field Crops Research*, 69(1), 49-63. [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(00\)00159-X](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(00)00159-X)

Brady, N. C., & Weil, R. R. (2010). *The nature and properties of soils* (14th ed.). Pearson Education.

Bremner, J. M., & Blackmer, A. M. (1978). *Nitrogen and sulfur transformations in flooded soils*. In *Agriculture and the environment* (pp. 117-134). Springer.

Bucher, M. (2007). *Functional biology of plant phosphate uptake at root and mycorrhizal interfaces*. *New Phytologist*, 173(1), 11-26. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01944.x>

Cai, Z., Xu, H., & Zhang, S. (2010). Effect of rice cultivation on soil pH and greenhouse gas emissions in paddy fields. *Environmental Science and Pollution Research*, 17(6), 1323-1331. <https://doi.org/10.1007/s11356-010-0303-3>

Campos, Federico.,2022. Evaluación del contenido de arsénico del arroz uruguayo y las variables para minimizar su contenido en grano.

Carey, A. M., Scheckel, K. G., Lombi, E., Newville, M., Choi, Y., Norton, G. J., et al. (2010). Descarga de grano de especies de arsénico en el arroz. *Fisiología vegetal*. 152, 309–319. [doi: 10.1104/pp.109.146126](https://doi.org/10.1104/pp.109.146126)

Carracelas G, Hornbuckle J, Verger M, Huertas R, Riccetto S, Campos F, Roel A. 2019. Irrigation management and variety effects on rice grain arsenic levels in Uruguay. *Journal of Agriculture and Food Research*. 1, 100008. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2019.100008>

Carrasco-Letelier L. 2015. Calidad de aguas en cuencas de uso agropecuario. [DOI: 10.13140/RG.2.2.30336.12800](https://doi.org/10.13140/RG.2.2.30336.12800)

Catala, MM., 2011. Guía práctica de la fertilización racional de los Cultivos en España. El abonado del Arroz. Capítulo 18, 151-161.

CCME, Canadian council of ministers of the environment, Canadian environmental quality guidelines. 2019.

Counce, P.A., Gealy, D.R., Sun, S-J. 2003. Rice physiology. p. 129-151. In Smith, C.W., Dilday, R.H. (eds.) Rice: Origin, history, technology, and production. John Willey & Sons, Hoboken, New Jersey, USA.

Chao, Y., Wei, Y., & Chien, S. (2005). *Arsenate uptake and reduction in rice plants*. *Environmental Science & Technology*, 39(2), 550-556. <https://doi.org/10.1021/es048563w>

Chao, D. Y., Chen, Y., Chen, J., Shi, S., Chen, Z., Wang, C., et al. (2014). El mapeo de asociación de todo el genoma identifica una nueva enzima arseniato reductasa crítica para limitar la acumulación de arsénico en las plantas. *PLoS Biol.* 12: E1002009. [doi: 10.1371/journal.pbio.1002009](https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002009)

Charter RA, Tabatabai MA, Schafer JW. 1995. Arsenic, molybdenum, selenium, and tungsten contents of distinct fertilizers and phosphate rocks. *Communications in Soil Science and Plant Analysis. Plant Anal*, 26: 3051–3062. <https://doi.org/10.1080/00103629509369508>

Chebotaev, I. I. (1955). Metamorphism of natural waters in the crust of weathering—1. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 8(1-2), 22-48.

Datta, R., Sarkar, D., Sharma, S., & Sand, K. (2006). Arsenic biogeochemistry and human health risk assessment in organo-arsenical pesticide-applied acidic and alkaline soils: An incubation study. *Science of the Total Environment*, 372(1), 39-48.

De Datta, S. K. (1981). *Principles and practices of rice production*. Wiley-Interscience.

Defarge, N., De Vendômois, J. S., & Séralini, G. E. (2018). Toxicity of formulants and heavy metals in glyphosate-based herbicides and other pesticides. *Toxicology reports*, 5, 156-163.

DIEA. MGAP, Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca, 2020. Anuario Estadístico 2000-2020. Consultado en: 2021. [https://descargas.mgap.gub.uy/DIEA/Anuario s/Anuario2020/ANUARIO2020.pdf](https://descargas.mgap.gub.uy/DIEA/Anuario%202020/ANUARIO2020.pdf).

Doran, D. C. (1999). Guía para la evaluación de calidad y salud del suelo. *EUA: USDA*.

Drew, M., He, C-J., Morgan, O. 2000. Program med cell death and aerenchyma formation roots. *Trends Plant Sci. Rev.* 5:123-127.

Dwivedi, S., Tripathi, R. D., Srivastava, S., Singh, R., Kumar, A., Tripathi, P., et al. (2010). Arsenic effects mineral nutrients in grains of various Indian rice (*Oryza sativa* L.) genotypes grown on arsenic-contaminated soils of West Bengal. *Protoplasma* 245, 113–124. [doi: 10.1007/s00709-010-0151-7](https://doi.org/10.1007/s00709-010-0151-7).

Ethan, S. (2015). Effect of flooding on chemistry of paddy soils: a review. *International Journal of Innovative Science, Engineering & Technology*, 2(4), 414-420.

EU, European Union, 2021. COMMISSION REGULATION (EU) 2015/1006 of 25 June 2015 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels of inorganic arsenic in foodstuffs. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32015R1006&from=EN>.

Fageria, N. K., & Baligar, V. C. (2001). *Growth and nutrient uptake by rice under low and high fertility conditions*. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 32(9-10), 1299-1310. <https://doi.org/10.1081/CSS-100106447>

Fageria, N. K., Baligar, V. C., & Li, Y. C. (2009). *The role of nutrients in crop production*. CRC Press.

Falchi Castell, L. del P., Pizzorno, P., Iaquina, F., & Cousillas, A. (2018). Relevamiento de la concentración de arsénico total en agua proveniente de varias fuentes en una zona arrocería del Uruguay. *INNOTECH*, (17 ene-jun), 10–17. <https://doi.org/10.26461/17.07>

FAO y OMS, CODEX ALIMENTARIUS: normas alimentarias internacionales, 2019. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Organización Mundial de la Salud (OMS), Norma general para contaminantes y toxinas en alimentos y piensos. CXS, págs. 193–1995. Consultado en: 2021. [http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCXS%2B193-1995%252FCXS\\_193e.pdf](http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCXS%2B193-1995%252FCXS_193e.pdf)

Fitz, W.J., Wenzel, W.W., 2002. Arsenic transformations in the soil-rhizosphere-plant system: fundamentals and potential application to phytoremediation. *J. Biotechnol.* 99, 259e278.

Frommer, J., Voegelín, A., Dittmar, J., Marcus, M. A., and Kretzschmar, R. (2011). Biogeochemical processes and arsenic enrichment around rice roots in paddy soil: results from micro-focused X-ray spectroscopy. *Eur. J. Soil Sci.* 62, 305–317. doi: 10.1111/j.1365-2389.2010.01328

García, C. (2016). *Embalse del Guajaro. Diagnóstico Ambiental y Estrategias de Rehabilitación.*

Goyenola G, Kruk C, Mazzeo N, Nario A, Perdomo C, Piccini C, Meerhoff M. 2021. Producción, nutrientes, eutrofización y cianobacterias en Uruguay. armando el rompecabezas. Núm. INNOTECH. <https://doi.org/10.26461/22.02>

Haque, M. M., Rahman, M. M., & Karim, M. R. (2015). *Rice root exudates and their role in soil acidification.* *Agronomy Journal*, 107(2), 442-448. <https://doi.org/10.2134/agronj2014.0334>

Heikens. A., Panaullah. G.M., Meharg. A.A., 2007. Arsenic behaviour from groundwater and soil to crops: impacts on agriculture and food safety. In: Whitacre. D.M. (Ed.). *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology.* Springer. New York. pp. 43-87.

Honma, T., Ohba, H., Kaneko-Kadokura, A., Makino, T., Nakamura, K., Katou, H., 2016. Optimal Soil Eh, pH, and Water Management for Simultaneously Minimizing Arsenic and Cadmium Concentrations in Rice Grains. *Environ. Sci. Technol.* 50, 4178–4185. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b05424>

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

Hudson, B. D. (1994). *Soil organic matter and available water capacity*. Journal of Soil and Water Conservation, 49(3), 189-194.

Hou, Q., Zhang, Y., Li, L., Song, S., 2017. Effects of particle size and redox potential on arsenic fractionation in soils irrigated with arsenate-rich water, soil and sediment contamination. Int. J. 26 (4), 391–403.

Indra, S., Das, S., & Sen, T. K. (2015). Manganese oxides in environmental remediation: A review of their formation, properties, and applications. Environmental Science and Pollution Research, 22(15), 11234-11252. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4328-9>

Ishii, S., Ikeda, S., Minamisawa, K. & Senoo, K. Nitrogen cycling in rice paddy environments: past achievements and future challenges. Microbes Environ. 26, 282–292 (2011).

Jarvie, H.P., Johnson, L.T., Sharpley, A.N., Smith, D.R., Baker, D.B., Bruulsema, T.W. and Confesor, R. (2017), Increased Soluble Phosphorus Loads to Lake Erie: Unintended Consequences of Conservation Practices?. J. Environ. Qual., 46: 123-132. <https://doi.org/10.2134/jeq2016.07.0248>

Kang, S., Zhang, L., & Wang, Y. (2004). *Effect of water management on the redox potential in rice paddy soils*. Agriculture, Ecosystems & Environment, 103(3), 659-666. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2003.12.016>

Kirk, J. T. O. (1994). *Light and photosynthesis in aquatic ecosystems* (2nd ed.). Cambridge University Press.

Kirk, J. L., Beaudette, L. A., Hart, M., Moutoglis, P., Klironomos, J. N., Lee, H.y Trevors, J. T. 2004. Methods of studying soil microbial diversity. J. Microbiol. Meth. 58: 169-188.

Kirk, G. J. D. (2004). The biogeochemistry of submerged soils. Journal of Experimental Botany, 55(405), 1687-1694. <https://doi.org/10.1093/jxb/erh192>

Kirkham, D. (2005). *Principles of soil and plant water relations*. Elsevier Academic Press.

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

Koljonen T, Gustavsson N, Noras P, Tanskanen H. 1989. Geochemical Atlas of Finland: preliminary aspects. *Journal of Geochemical Exploration*, 32(1-3): 231–242. [https://doi.org/10.1016/0375-6742\(89\)90059-9](https://doi.org/10.1016/0375-6742(89)90059-9)

Kumarathilaka, P., Seneweera, S., Ok, Y. S., Meharg, A. A., & Bundschuh, J. (2019). Mitigation of arsenic accumulation in rice: An agronomical, physico-chemical, and biological approach – A critical review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 50(1), 31–71. <https://doi.org/10.1080/10643389.2019.1618691>

Kuypers, M., Marchant, H. & Kartal, B. The microbial nitrogen-cycling network. *Nat Rev Microbiol* **16**, 263–276 (2018). <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2018.9>

Lakshmanan, V., Cottone, J., and Bais, H. P. (2016). Killing two birds with one stone: natural rice rhizospheric microbes reduce arsenic uptake and blast infections in rice. *Front. Plant Sci.* 7:1514. doi: 10.3389/fpls.2016.01514

Lalith D.B. Suriyagoda, Klaus Dittert, Hans Lambers, 2018. Mechanism of arsenic uptake, translocation and plant resistance to accumulate arsenic in rice grains, *Agriculture, Ecosystems & Environment*, Volume 253, 2018, Pages 23-37, ISSN 0167-8809, <https://doi.org/10.1016/j.agee.2017.10.017>.

Lavecchia, A., 2010. Efecto del momento de inundación en la concentración de hierro en raíces y parte aérea en cultivo de arroz regado. INIA Tacuarembó- Presentación resultados experimentales arroz -2009 – 2010

Liu, W. J., Zhu, Y. G., Hu, Y., Williams, P. N., Gault, A. G., Meharg, A. A., et al. (2006). Arsenic sequestration in iron plaque, its accumulation and speciation in mature rice plants (*Oryza sativa* L.). *Environ. Sci. Technol.* 40, 5730–5736. doi: [10.1021/es060800](https://doi.org/10.1021/es060800).

Charlotte Lomax, Wen-Ju Liu, Liyou Wu, Kai Xue, Jinbo Xiong, Jizhong Zhou, Steve P.

McGrath, Andrew A. Meharg, Anthony J. Miller, Fang-Jie Zhao (2012). Methylated arsenic species in plants originate from soil microorganisms.

<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.03956.x>

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

Marinho, Belisa., Cristóvão, Raquel., Boaventura, Rui., Vilar, Vítor. (2019). As (III) and Cr (VI) oxyanion removal from water by advanced oxidation/reduction processes—a review. *Environmental Science and Pollution Research.* 26. 10.1007/s11356-018-3595-5.

Marschner, H. (2011). *Marschner's mineral nutrition of higher plants* (3rd ed.). Elsevier.

Masscheleyn PH, Delaune RD, Patrick WH. 1991. Effect of Redox Potential and pH on Arsenic Speciation and Solubility in a Contaminated Soil. *Environmental Science and Technology*, 25: 1414–1419. <https://doi.org/10.1021/es00020a008>

Martinez, S., Escalante, F., 2020. Las comunidades de microorganismos asociados a suelos arroceros *Revista-INIA-63-Diciembre-2020-p-58-62.pdf*.

Meharg, A. A., & Hartley-Whitaker, J. (2002). *Arsenic uptake and metabolism in arsenic-resistant and non-resistant plant species*. *New Phytologist*, 154(1), 29-43. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2002.00396.x>

Meharg, A. A., & Rahman, M. M. (2009). Arsenic contamination of Bangladesh paddy fields: A review of the problem and its mitigation strategies. *Environmental Science & Technology*, 43(13), 3845-3851. <https://doi.org/10.1021/es803730d>

Meharg, A.A., Zhao, FJ. (2012). Biogeochemistry of Arsenic in Paddy Environments. In: *Arsenic & Rice*. Springer, Dordrecht. [https://doi.org/10.1007/978-94-007-2947-6\\_5](https://doi.org/10.1007/978-94-007-2947-6_5)

Meng, X. Y., Qin, J., Wang, L. H., Duan, G. L., Sun, G. X., and Wu, H. L. (2011). Arsenic biotransformation and volatilization in transgenic rice. *New Phytol.* 191, 49–56. doi: 10.1111/j.1469-8137.2011.03743

MERCOSUR, MERCOSUR/GMC/RES, 2011. N° 12/11. Reglamento Técnico Mercosur sobre límites máximos de contaminantes inorgánicos en alimentos. Accessed on: 2021. [www.puntofocal.gov.ar/doc/r\\_gmc\\_12-11.pdf](http://www.puntofocal.gov.ar/doc/r_gmc_12-11.pdf).

Ministerio de Medio Ambiente. 2020. Informe del Estado del Ambiente 2020 (período 2016-2019). Versión preliminar. Disponible en [https://www.gub.uy/ministerio-ambiente/sites/ministerioambiente/files/documentos/publicaciones/DCAInforme del Estado del Ambiente 2019 29122020 digital.pdf](https://www.gub.uy/ministerio-ambiente/sites/ministerioambiente/files/documentos/publicaciones/DCAInforme_del_Estado_del_Ambiente_2019_29122020_digital.pdf). Verificado el 10/01/2022.

Moreno-Jiménez, E., Meharg, A. A., Smolders, E., Manzano, R., Becerra, D., Sanchez-Llerena, J., et al. (2014). Sprinkler irrigation of rice fields reduces grain arsenic but enhances cadmium. *Sci. Total Environ.* 485, 468–473. doi: 10.1016/j.scitotenv.2014.03.106

Mosa, K. A., Kumar, K., Chhikara, S., Mcdermott, J., Liu, Z., Musante, C., et al. (2012). Members of rice plasma membrane intrinsic proteins subfamily are involved in arsenite permeability and tolerance in plants. *Trans. Res.* 21, 1265–1277. doi: 10.1007/s11248-012-9600-8

Moss, B., Johnes, P. and Phillips, G. (1996) *The monitoring of ecological quality and the classification of standing waters in temperate regions: a review and proposal based on a worked scheme for British waters*. *Biological Reviews*, 71 (2). pp. 310-339. ISSN 1464-7931. DOI: [10.1111/j.1469-185X.1996.tb00750.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.1996.tb00750.x)

Munns, D. N., Drever, J. I., & Muir, J. D. (2013). *Biogeochemical processes in flooded rice soils and their effect on rice cultivation*. *Plant and Soil*, 361(1-2), 137-150. <https://doi.org/10.1007/s11104-012-1513-6>

Olivera, M., De Souza, N. (2018) <https://pdfslide.tips/documents/establecimiento-el-junco-colonia-itapebagua-universidad-de-la-repblica.html>

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

Otero, X. L., Ferreira, T. O., Huerta-Díaz, M. A., & De Souza, J. R. (2016). Geochemistry of redox-sensitive elements in tropical soils under rice cultivation. *Geoderma*, 265, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2015.11.001>

- Poonam, Srivastava, S., Pathare, V., and Suprasanna, P. (2017). Physiological and molecular insights into rice-arbuscular mycorrhizal interactions under arsenic stress. *Plant Gene*. doi: 10.1016/j.plgene.2017.03.004
- Ponnamperuma, F.N. 1972. The chemistry of submerged soils. *Adv. Agron.* 24, 29–96. 1981. Some Aspects of the Physical Chemistry of Paddy Soils. In: *Proceedings of Symposium on Paddy Soils*. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Ponnamperuma, F. N. (1972). *The chemistry of submerged soils*. In *Soil Science and the Environment* (pp. 235-248). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-94-010-1984-2\\_23](https://doi.org/10.1007/978-94-010-1984-2_23)
- Raghothama, K. G. (1999). *Phosphate acquisition*. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 50, 665-693. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.50.1.665>
- Rauf, M. A., Hakim, M. A., Hanafi, M. M., Islam, M. M., Rahman, G. K. M. M., & Panauallah, G. M. (2011). Bioaccumulation of arsenic (As) and phosphorus by transplanting Aman rice in arsenic-contaminated clay soils. *Australian Journal of Crop Science*, 5(12), 1678–1684. <https://search.informit.org/doi/10.3316/informit.006175755691474>.
- Reddy, K. R., & DeLaune, R. D. (2008). *Biogeochemistry of wetlands: Science and application*. CRC Press.
- Roel, A., Campos, F., Verger, M., Huertas, R., Carracelas, G., 2021. Variabilidad regional del contenido de arsénico en arroz pulido uruguayo.
- Rosen, B. P. (2002). *Arsenic toxicity and treatment: The influence of cellular redox balance*. *Environmental Health Perspectives*, 110(Suppl 5), 745-748. <https://doi.org/10.1289/ehp.02110s5745>
- Sahoo. P.K., Kim. K., 2013. A review of the arsenic concentration in paddy rice from the perspective of geoscience. *Geosci. J.* 17. 107-122.
- Sahrawat, K.L. 2015. Redox potential and pH as major drivers of fertility in submerged rice soils: a conceptual framework for management. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 46, 1597–1606.

- Sahrawat, K. L. (2015). Iron toxicity in wetland rice and the role of other nutrients. *Journal of Plant Nutrition*, 38(12), 1831-1842. <https://doi.org/10.1080/01904167.2015.1048873>
- Saifullah, Dahlawi, S., Naeem, A., Iqbal, M., Farooq, M. A., Bibi, S., & Rengel, Z. (2018). Opportunities and challenges in the use of mineral nutrition for minimizing arsenic toxicity and accumulation in rice: A critical review. *Chemosphere*, 194, 171–188.
- Sasamoto, K., Fujita, K., & Takahashi, S. (2019). *Effects of paddy water management on the redox status and greenhouse gas emissions in rice paddies*. *Science of the Total Environment*, 695, 133803. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.133803>
- Satti, A., & Schlesinger, W. H. (2007). *The role of CO<sub>2</sub> and carbonates in soil alkalinity in rice ecosystems*. *Soil Biology and Biochemistry*, 39(9), 2141-2150. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.03.011>
- Seyfferth, A. L., Webb, S. M., Andrews, J. C. y Fendorf, S. (2010). Localización, especiación y co-ocurrencia de arsénico con hierro en raíces de arroz (*Oryza sativa* L.) con recubrimientos de Fe variables. *Medio Ambiente. Sci. Technol.* 44, 8108–8113. [doi: 10.1021/es101139](https://doi.org/10.1021/es101139)
- Seyfferth, A. L., Morris, A. H., Gill, R., Kearns, K. A., Mann, J. N., Paukett, M., et al. (2016). Soil incorporation of silica-rich rice husk decreases inorganic arsenic in rice grain. *J. Agric. Food Chem.* 64, 3760–3766. doi: 10.1021/acs.jafc.6b01201
- Singh, M., & Tiwari, R. K. (2009). *Soil and water characteristics in rice cultivation*. *International Journal of Soil Science*, 4(1), 19-25. <https://doi.org/10.3923/ijss.2009.19.25>
- Smedley, P. L., Kinniburgh, D. G. (2002). A review of the source, behavior and distribution of arsenic in natural waters. *Applied Geochemistry*, 17(5), 517-568. [https://doi.org/10.1016/S0883-2927\(02\)00018-5](https://doi.org/10.1016/S0883-2927(02)00018-5)
- Solis, P., De Datta, S. K., & Rajendran, S. (2009). *Effects of manganese on rice nutrition and growth in flooded soils*. *Field Crops Research*, 113(3), 254-265. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2009.06.001>
- Song, W. Y., Park, J., Mendoza-Cózatl, D. G., Suter-Grotemeyer, M., Shim, D., Hörtensteiner, S., et al. (2010). La tolerancia al arsénico en *Arabidopsis* está mediada por

- dos transportadores de fitoquelanas de tipo ABCC. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 107, 21187–21192. [doi: 10.1073/pnas.1013964107](https://doi.org/10.1073/pnas.1013964107)
- Song, W. Y., Yamaki, T., Yamaji, N., Ko, D., Jung, K. H., Fujii-Kashino, M., et al. (2014). A rice ABC transporter, OsABCC1, reduces arsenic accumulation in the grain. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 111, 15699–15704. doi: 10.1073/pnas.1414968111
- Soto, G., Gómez, G., & Salazar, D. (2017). *The role of microbial activity in soil pH dynamics in flooded rice fields*. *Applied Soil Ecology*, 112, 19-25. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2016.09.014>
- Spanu, A., Daga, L., Orlandoni, A. M., and Sanna, G. (2012). The role of irrigation techniques in arsenic bioaccumulation in rice (*Oryza sativa* L.). *Environ. Sci. Technol.* 46, 8333–8340. doi: 10.1021/es300636
- Sposito, G. (2008). *The chemistry of soils* (2nd ed.). Oxford University Press.
- Tarlera, S., Capurro, M.C., Irisarri, P., Fernández Scavino, A., Cantou, G., Roel, A., 2016. Yield-scaled Global Potential of Two Irrigation Management Systems in a Highly Productive Rice Systems *Scientia Agricola*, 2016. v. 73, no. 1. pp. 43– 50. <https://doi.org/10.1590/0103-9016-2015-0050>.
- Tennstedt, P., Peisker, D., Böttcher, C., Trampczynska, A., and Clemens, S. (2009). Phytochelatin synthesis is essential for the detoxification of excess zinc and contributes significantly to the accumulation of zinc. *Plant Physiol.* 149, 938–948. doi: 10.1104/pp.108.127472
- Thurman, E. M., & Chao, Y. (2008). *Competition of arsenate and phosphate for transport in plants*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27(8), 1811-1816. <https://doi.org/10.1897/08-036.1>
- Tisdale, S. L., Nelson, W. L., & Beaton, J. D. (1993). *Soil fertility and fertilizers* (5th ed.). Macmillan Publishing Company.
- Tripathi, R. D., Srivastava, S., Mishra, S., Singh, N., Tuli, R., Gupta, D. K., et al. (2007). Arsenic hazards: strategies for tolerance and remediation by plants. *Trends Biotechnol.* 25, 158–165. doi: 10.1016/j.tibtech.2007.02.003
- Verger, M., 2015. Estudio de la ocurrencia de metales pesados en el ambiente arrocerero uruguayo. Laboratorio Tecnológico del Uruguay (LATU), 2015.

World Health Organization (WHO). (2011). *Guidelines for drinking-water quality* (4th ed.). World Health Organization.

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

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

Wu, Z., Ren, H., McGrath, S. P., Wu, P., and Zhao, F. J. (2011). Investigating the contribution of the phosphate transport pathway to arsenic accumulation in rice. *Plant Physiol.* 157, 498–508. doi: 10.1104/pp.111.178921

Ye, W. L., Wood, B. A., Stroud, J. L., Andralojc, P. J., Raab, A., McGrath, S. P., et al. (2010). Especiación de arsénico en exudados de floema y xilema de ricino. *Fisiología vegetal.* 154, 1505–1513. doi: 10.1104/pp.110.163261

Zhao FJ, McGrath SP, Meharg AA. 2010. Arsenic as a food chain contaminant: Mechanisms of plant uptake and metabolism and Mitigation strategies. *Annual Review of Plant Biology.* 61: 535–559. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant042809-11215>

Zhao, F. J., & McGrath, S. P. (2010). Bioavailability and crop uptake of arsenic in contaminated soils. *Environmental Pollution,* 158(8), 2356-2362. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.03.001>

Zhao, F. J., Stroud, J. L., Khan, M. A. y McGrath, S. P. (2012). Se investiga la translocación de arsénico en arroz utilizando un trazador radiactivo de <sup>73</sup>As. *Suelo vegetal* 350, 413–420. doi: 10.1007/s11104-011-0926-4

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

Zhao, F.J., Wang, P., 2020. Arsenic and cadmium accumulation in rice and mitigation strategies. *Plant Soil* 446. <https://doi.org/10.1007/s11104-019-04374-6>

## **CAPITULO V**

**Conclusiones**

**y**

**Perspectivas**

## 5.1 Conclusiones

El objetivo principal de este estudio fue determinar los niveles de arsénico (As) en arroz y conocer su posible origen, con el fin de plantear estrategias que permitan disminuir la bioacumulación de este en los cultivos de arroz producidos en el norte de nuestro país.

Se contribuyó a ampliar las capacidades analíticas del Laboratorio de Aguas y Suelo del Centro Universitario Regional del Litoral Norte (CENUR LN), y del Laboratorio de Fisiología de INIA Salto Grande optimizando y validando las metodologías para la determinación de As en arroz blanco pulido y en muestras de suelo mediante HG AAS, Fe total en agua, suelo y raíz mediante FAAS.

Se validaron metodologías analíticas que aseguran la fiabilidad de resultados, otorgan confianza ante terceros y promueven colaboraciones en futuras investigaciones a productores interesados en conocer los niveles de arsénico en sus cultivos, promoviendo prácticas agrícolas más seguras y alineadas con los estándares de calidad y normativas vigentes.

Los resultados permitieron brindar información relevante y variada no solo metodológicamente sino también en campo y en tiempo real (*in situ*) durante todo el proceso de preparación del suelo, siembra y cultivo del arroz. Se cumplieron los objetivos específicos planteados lo que permitirá continuar estudiando los procesos que hacen a la distribución del As durante los procesos del cultivo de arroz, ampliar las metodologías de análisis y estudio de estos sistemas (agua-suelo-planta-grano) proponiendo diversos estudios a futuro plasmados como perspectivas.

En cuanto a los niveles de tAs encontrados en el agua de riego, estos fueron inferiores al valor máximo permitido según la normativa uruguaya (Decreto 253/79, Clases 2a y 3), lo que indica que el uso de estas aguas no representa una fuente significativa de As para los cultivos.

En cuanto a las muestras de la solución del suelo, las concentraciones de hierro (tFe) encontradas fueron inferiores a  $0,08 \text{ mgL}^{-1}$ , y las concentraciones de tAs presenta sus valores entre  $< 1,8$  y  $2,9 \text{ }\mu\text{gL}^{-1}$ , manteniéndose por debajo del valor máximo permitido por la OMS para el agua potable  $10 \text{ }\mu\text{gL}^{-1}$ .

Los niveles de tAs en el suelo variaron entre 2 y  $14 \text{ mgkg}^{-1}$ , con un promedio de  $8 \text{ mgkg}^{-1}$

superior a lo reportado para la región norte del país según Roel et al., 2021 y Verger

2015, aunque sin alcanzar el umbral crítico de  $20 \text{ mgkg}^{-1}$  recomendado por la Unión Europea (UE) en los suelos para fines agrícolas. Este hallazgo pone de manifiesto un riesgo latente de originar cultivos con mayor contenido de As y, por lo tanto, la necesidad de mantener una vigilancia del contenido de As en grano de arroz y en suelo en la zona. Si bien se necesitan más estudios, a priori el As presente en el arroz podría provenir principalmente del suelo. Por ello, se resalta la necesidad de implementar estrategias de manejo de suelo que reduzcan la disponibilidad de As para las plantas, tales como prácticas sustentables con el medioambiente que favorezcan la fijación del arsénico al suelo o que lo mantengan en formas no asimilables por las raíces de las plantas de arroz.

Al comparar los tres sitios (J1, J2 y SM), cada una con su variedad de arroz, el test de Tukey no reveló diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones de tAs en los tres sitios estudiados, lo que sugiere una homogeneidad en la distribución del arsénico en los suelos de los predios.

En cuanto a los niveles de tAs detectados en el grano de arroz pulido, los resultados obtenidos fueron menores al límite máximo permitido de  $0,15 \text{ mgkg}^{-1}$  para el arroz en general e incluso, inferiores al límite máximo permitido de  $0,10 \text{ mgkg}^{-1}$  para el arroz destinado a lactantes, según lo estipulado por la Unión Europea (2021). Esto confirma que el consumo de arroz cultivado en estas áreas no representa un riesgo para la salud humana.

En resumen, aunque los niveles de arsénico en el arroz no representan un riesgo para la salud humana, los resultados de esta investigación destacan la importancia de un monitoreo constante de los niveles de arsénico en el suelo. Los productores deben vigilar estos niveles para garantizar el cumplimiento de las normativas ambientales y de seguridad alimentaria, y así poder comercializar sus productos sin exceder los límites establecidos. La implementación de prácticas de manejo adecuadas será fundamental para mitigar los riesgos asociados al As y para asegurar la calidad y seguridad del cultivo de arroz en el futuro.

En cuanto a los parámetros químicos que podrían influir en la biodisponibilidad del As, si bien las concentraciones detectadas son muy bajas, a priori se encontró una correlación negativa entre el contenido de tAs determinado en el agua del suelo y la C.E.

Las transformaciones químicas que ocurren en suelos anegados (Hemati Matin and Jalali 2017; Fageria et al., 2011; Lu et al., 2004) dependen mucho del tipo y propiedades del

suelo (Lu et al., 2004). Los aumentos de CE y de niveles solubles de Na, K, Ca y Mg se atribuyeron al aumento de la solubilidad de las sales insolubles.

Esta observación resalta la importancia de profundizar en el conocimiento sobre las propiedades del suelo que podrían disminuir la disponibilidad de As para disminuir su ingreso en las plantas.

De acuerdo con el diagrama de Pourbaix, al inicio del anegamiento del cultivo, las especies que predominaron fueron las de As (V):  $\text{H}_2\text{AsO}_4^-$  y  $\text{HAsO}_4^{2-}$ , cuando el ambiente se volvió más reductor predominaron las especies de As (III):  $\text{H}_3\text{AsO}_3$  y hacia el final del ciclo, cuando los pH se acercaron a la neutralidad nuevamente predominaron las especies de As (V):  $\text{HAsO}_4^{2-}$ . Con lo cual, durante las condiciones más reductoras se estarían dando condiciones favorables para la absorción del As por la planta. En este estudio, esto ocurre en unos 60 días de inundación coincidiendo con la fecha diciembre 2021, en la etapa de macollamiento del cultivo.

En esta tesis, en donde se encontraron niveles de As total en suelo superiores a  $5,5 \text{ mgkg}^{-1}$  y según Suriyagoda et al., 2018 tienen riesgo de acumular As en grano por encima del límite permitido por la OMS. En esta tesis, se encontraron niveles relativamente altos de As en suelo, no obstante, este no se refleja en el contenido de As del grano de arroz por el momento.

## **5.2 Perspectivas.**

### **5.2.1. Perspectivas para Futuras Investigaciones**

El presente estudio sobre la concentración de As en arroz y su origen, realizado en el norte del país, ha proporcionado una base para comprender los procesos que influyen en la bioacumulación de As en los cultivos de arroz.

Aunque los resultados obtenidos han mostrado que los niveles de tAs en los granos de arroz pulido no superan los límites establecidos por las normativas internacionales, la investigación ha evidenciado que los suelos presentan concentraciones elevadas de tAs que podrían tener un impacto futuro en la calidad del cultivo. Esto subraya la necesidad

de continuar con el monitoreo y la eventual implementación de estrategias agronómicas que reduzcan la disponibilidad de arsénico para las plantas de arroz y, por ende, en el grano.

Una de las principales perspectivas para futuras investigaciones es profundizar en el **mapeo y monitoreo de arsénico en los suelos agrícolas** antes y durante el ciclo de cultivo. El estudio realizado ha destacado la importancia de realizar un seguimiento continuo de las concentraciones de As en los suelos, particularmente en aquellas áreas que presentan mayores concentraciones iniciales. Esto permitirá a los productores de arroz adoptar medidas preventivas antes de la siembra y ajustar sus prácticas de manejo para reducir la acumulación de As en el grano.

En términos de **estrategias de manejo agronómico**, se debe continuar evaluando las prácticas de manejo del agua, como los drenajes de baja severidad, que han mostrado resultados prometedores en la reducción de arsénico en el arroz, pero que requieren validación a mayor escala y en condiciones de campo. A su vez, se recomienda realizar investigaciones adicionales sobre el uso de fertilizantes y enmiendas al suelo, especialmente en lo relacionado con su impacto sobre la movilidad del As, ya que algunos estudios han reportado efectos contradictorios en la concentración de As y otros elementos tóxicos.

La **investigación microbiológica** también ofrece un campo de gran potencial. En Uruguay se ha encontrado muy poca bibliografía disponible de estudios relacionados a las características de la biota y la biodisponibilidad de nutrientes, y la liberación o acumulación de elementos tóxicos en los suelos.

Comprender el papel de los microorganismos en los suelos arroceros, tal como se ha sugerido en estudios previos en Uruguay, puede abrir nuevas estrategias para mitigar la acumulación de As. Serán útiles investigaciones futuras para caracterizar y manipular las comunidades microbianas del suelo que interactúan con el As, con el fin de desarrollar enfoques más eficientes para su mitigación.

Otro enfoque prometedor se centra en la **biotecnología**, especialmente en la modificación de los transportadores de As en las plantas de arroz. Sin embargo, esta estrategia debe ser manejada con cautela, ya que la alteración de la expresión de estos transportadores podría afectar la homeostasis de otros elementos esenciales para la planta. En este sentido, investigaciones adicionales deben abordar los posibles efectos secundarios y la viabilidad

a largo plazo de los cultivos genéticamente modificados para reducir la acumulación de As sin comprometer la salud y el rendimiento de la planta.

El enfoque en la **identificación de especies de arsénico en el grano** también representa una prioridad para los estudios futuros. Si bien esta tesis ha evaluado el tAs en los granos, el análisis de las especies de As presentes, diferenciando entre las formas orgánicas y las inorgánicas, proporcionará una evaluación más precisa de la seguridad alimentaria. Es fundamental avanzar en la identificación de As inorgánico (iAs), la forma más tóxica, que es la principal preocupación para la salud humana.

Finalmente, la **mejora de las metodologías analíticas** del laboratorio, como la espectrometría de absorción atómica, es otro aspecto crucial. La validación y estandarización de los métodos de análisis de As y otros elementos en suelos y cultivos arroceros serán herramientas valiosas para apoyar a los productores, proporcionándoles un sistema de monitoreo preciso y confiable para la implementación de prácticas agrícolas más seguras.

En conclusión, aunque los resultados actuales no indican riesgos inmediatos para la salud humana por el consumo de arroz cultivado en las zonas estudiadas, las investigaciones futuras deben seguir explorando nuevas estrategias y enfoques, tanto agronómicos como biotecnológicos, para garantizar la inocuidad alimentaria y la sostenibilidad de la producción de arroz en el contexto del cambio climático y las presiones ambientales crecientes. La implementación de un **enfoque integrado** que combine las prácticas agronómicas, la biotecnología y las tecnologías de monitoreo avanzadas será clave para reducir de manera efectiva la concentración de arsénico en el arroz y asegurar la calidad y seguridad del producto final.

Finalmente, es importante generar vínculos entre Instituciones de Investigación, para ofrecer una visión multidisciplinaria que nos permita conocer en profundidad el tema e interpretar los numerosos factores que influyen en la bioacumulación de As en dicho cultivo enriqueciendo la información generada.

## BIBLIOGRAFÍA

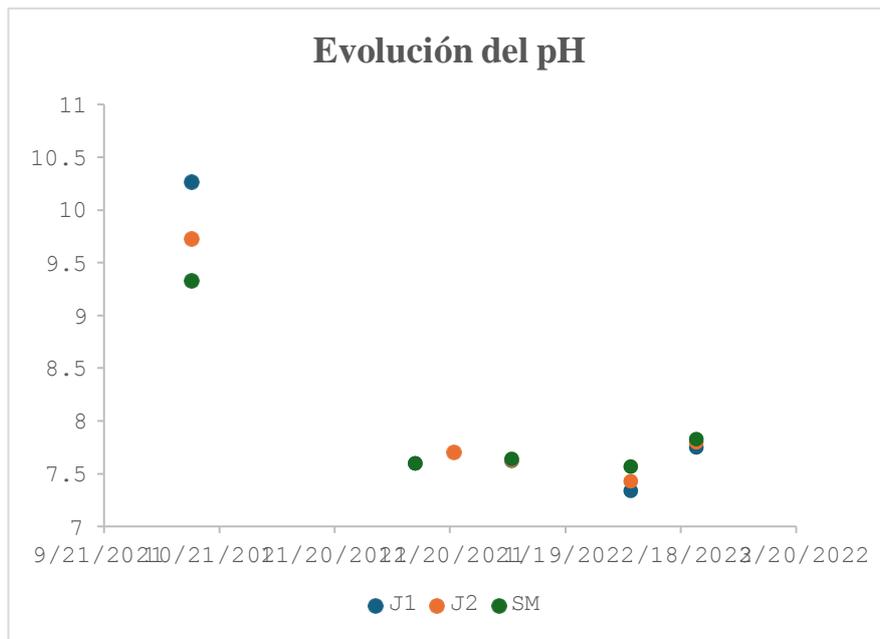
Hemati Matin, N., & Jalali, M. (2017). The effect of waterlogging on electrochemical properties and soluble nutrients in paddy soils. *Paddy and Water Environment*, 15, 443-455.

Fageria, N. K., Carvalho, G. D., Santos, A. B., Ferreira, E. P. B., & Knupp, A. M. (2011). Chemistry of lowland rice soils and nutrient availability. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 42(16), 1913-1933.

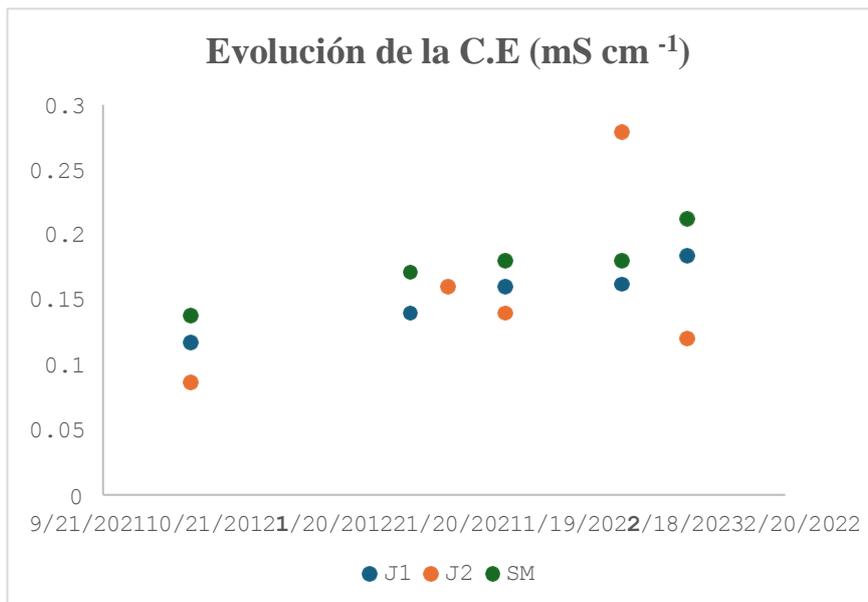
Lu, S. G., Tang, C., & Rengel, Z. (2004). Combined effects of waterlogging and salinity on electrochemistry, water-soluble cations and water dispersible clay in soils with various salinity levels. *Plant and Soil*, 264, 231-245.

# ANEXO I

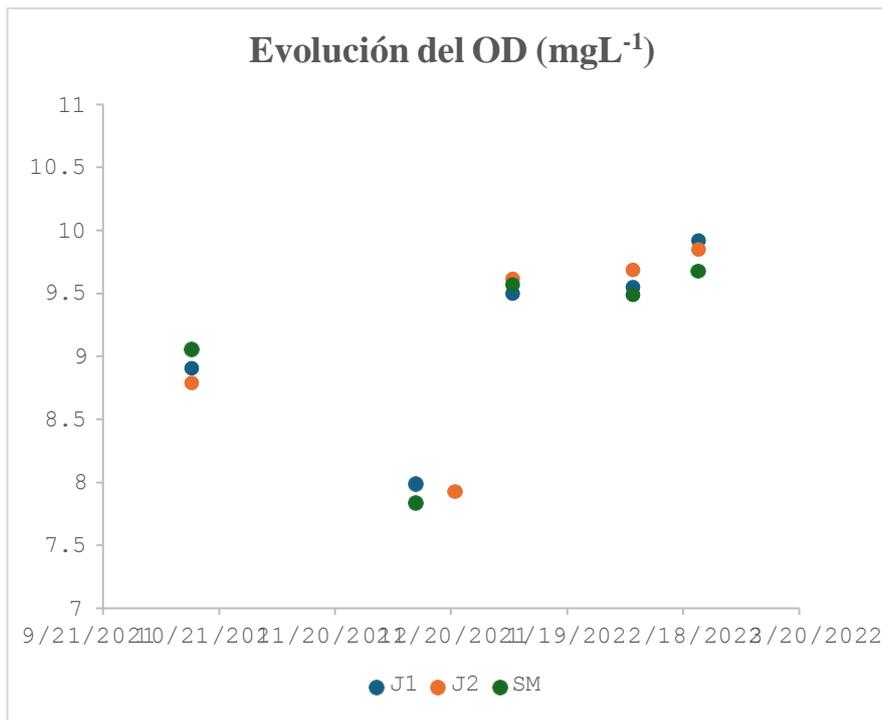
Aquí se presentan los gráficos de la evolución en el tiempo de los parámetros estudiados según las matrices: agua de riego, agua de inundación, agua del suelo y suelo.



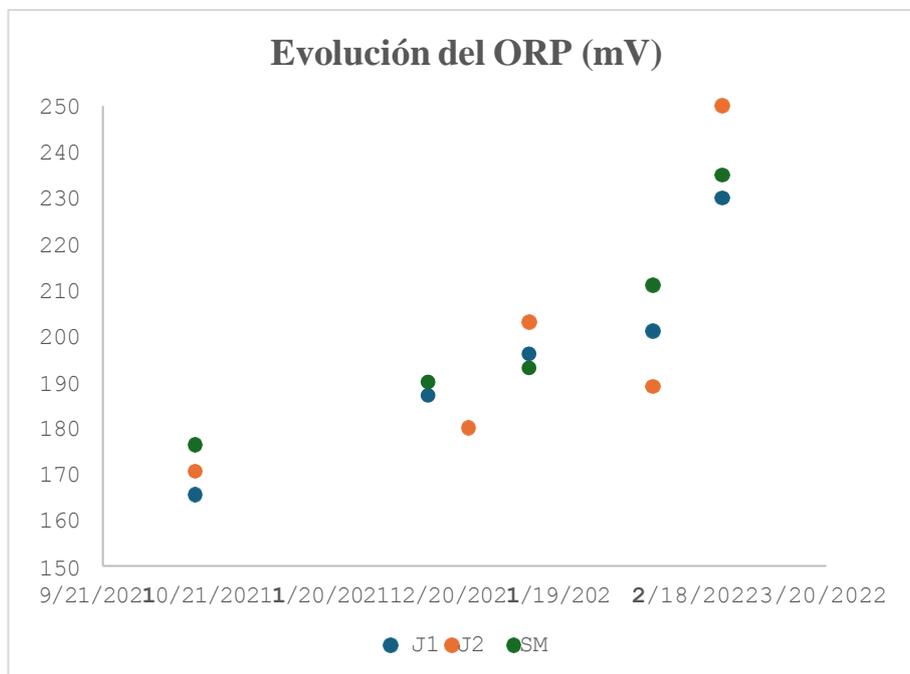
**Figura 1.1.** Evolución en el tiempo del pH del agua para riego para cada sitio de muestreo. J1: Junco 1, J2: Junco 2, SM: Santa Margarita.



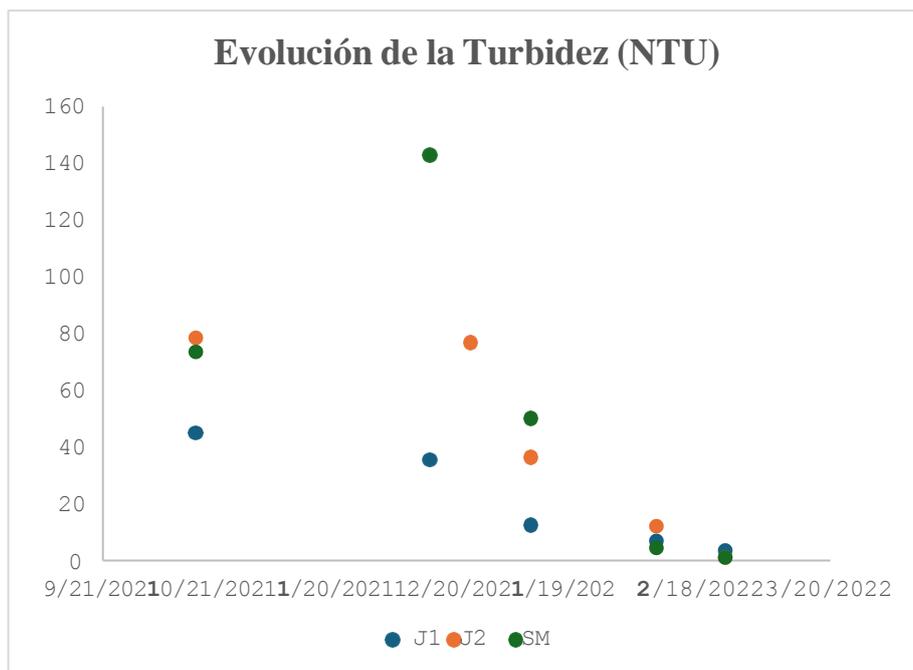
**Figura 1.2.** Evolución en el tiempo de la C.E. ( $\text{mS cm}^{-1}$ ) del agua para riego para cada sitio de muestreo. J1: Junco 1, J2: Junco 2, SM: Santa Margarita.



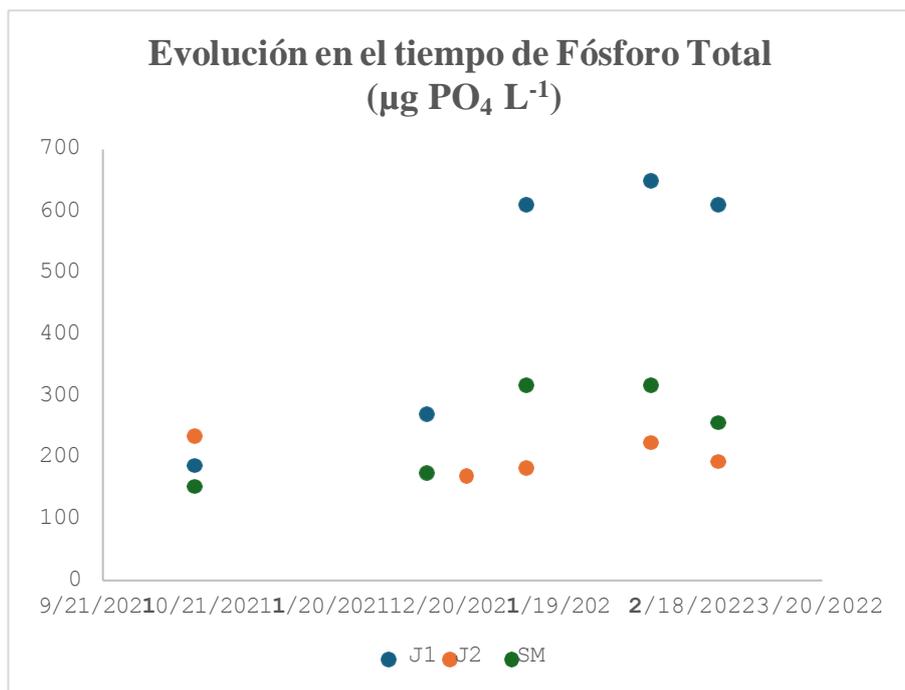
**Figura 1.3.** Evolución en el tiempo del OD (mgL<sup>-1</sup>) del agua para riego para cada sitio de muestreo. J1: Junco 1, J2: Junco 2, SM: Santa Margarita.



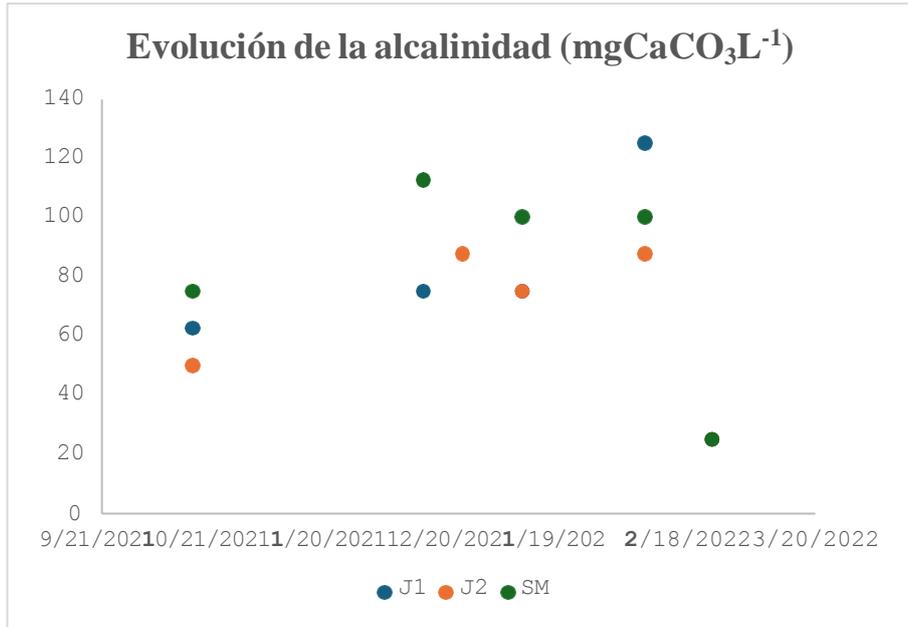
**Figura 1.4.** Evolución en el tiempo del ORP (mV) del agua para riego para cada sitio de muestreo. J1: Junco 1, J2: Junco 2, SM: Santa Margarita.



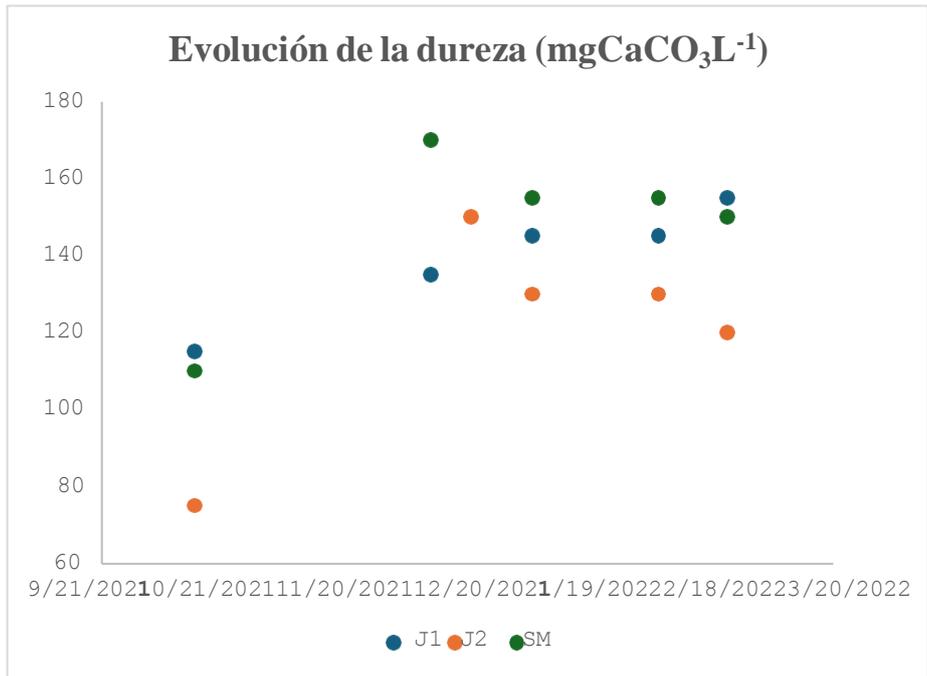
**Figura 1.5.** Evolución en el tiempo de la turbidez (NTU) del agua para riego para cada sitio de muestreo. J1: Junco 1, J2: Junco 2, SM: Santa Margarita.



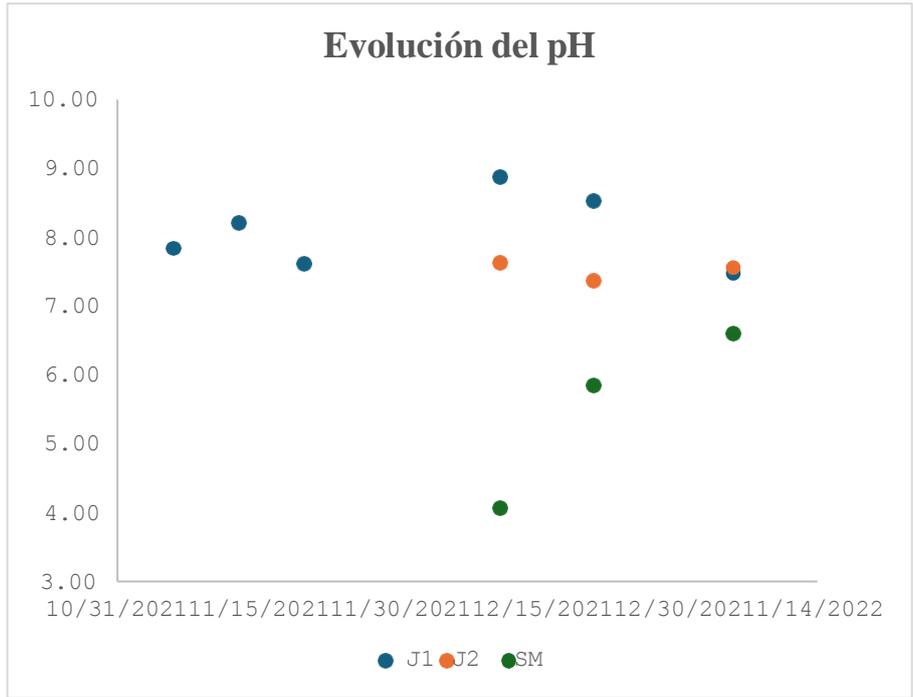
**Figura 1.6.** Evolución en el tiempo del P total ( $\mu\text{g PO}_4^{3-} \text{L}^{-1}$ ) del agua para riego para cada sitio de muestreo. J1: Junco 1, J2: Junco 2, SM: Santa Margarita.



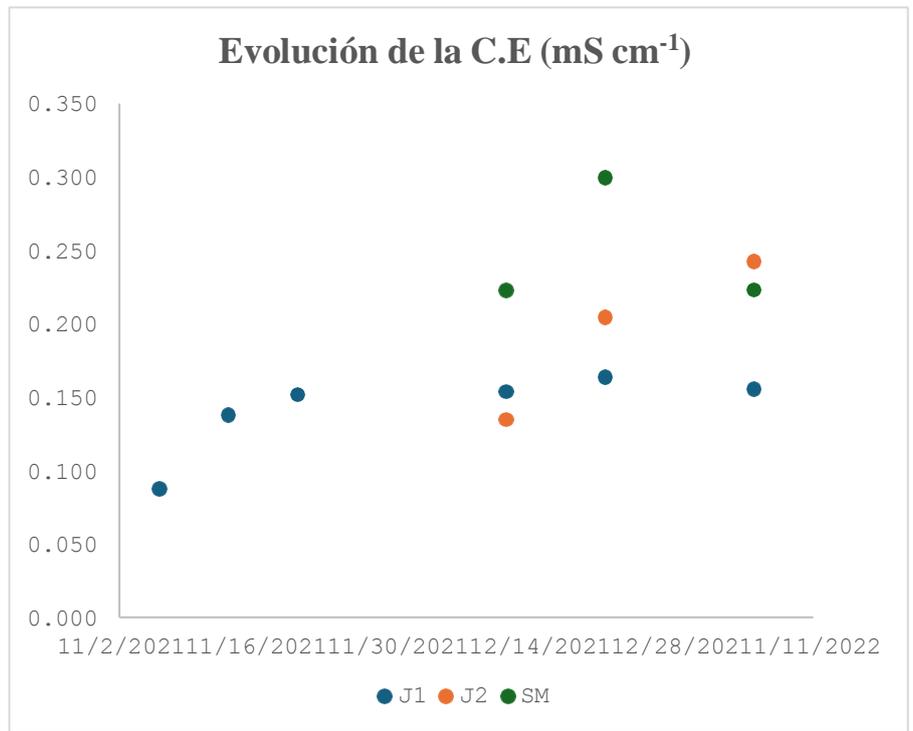
**Figura 1.7.** Evolución en el tiempo de la alcalinidad (mgCaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>) del agua para riego para cada sitio de muestreo. J1: Junco 1, J2: Junco 2, SM: Santa Margarita.



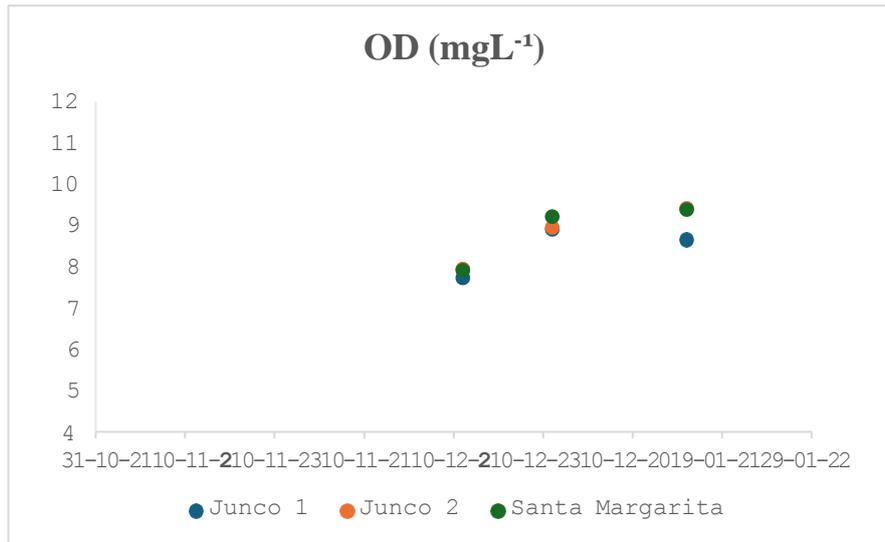
**Figura 1.8.** Evolución en el tiempo de la dureza total (mg CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>) del agua para riego para cada sitio de muestreo. J1: Junco 1, J2: Junco 2, SM: Santa Margarita.



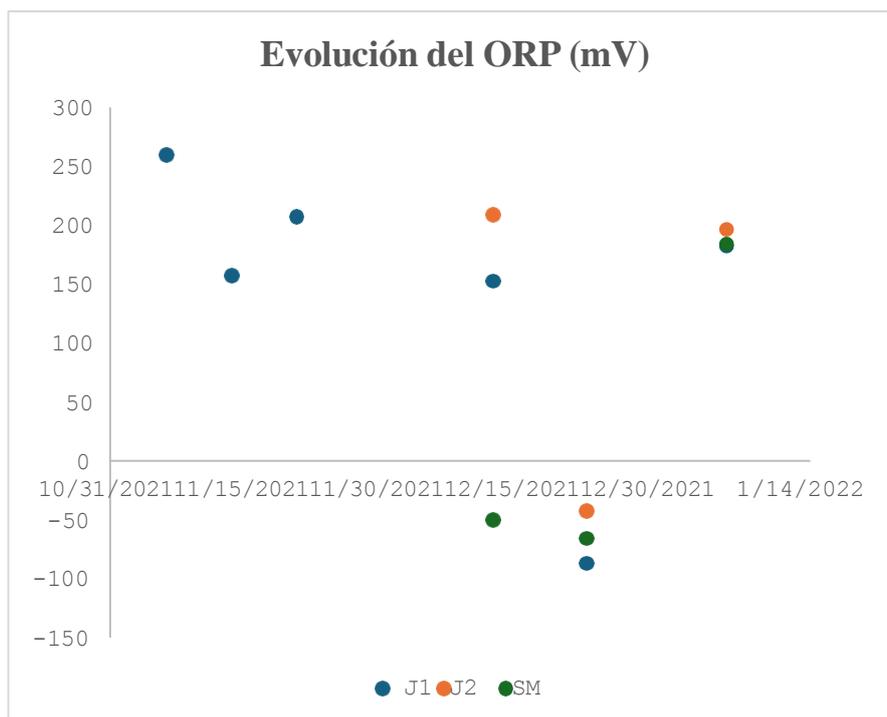
**Figura 1.9.** Evolución en el tiempo del pH en el agua de inundación para cada sitio de muestreo. J1: Junco 1, J2: Junco 2, SM: Santa Margarita.



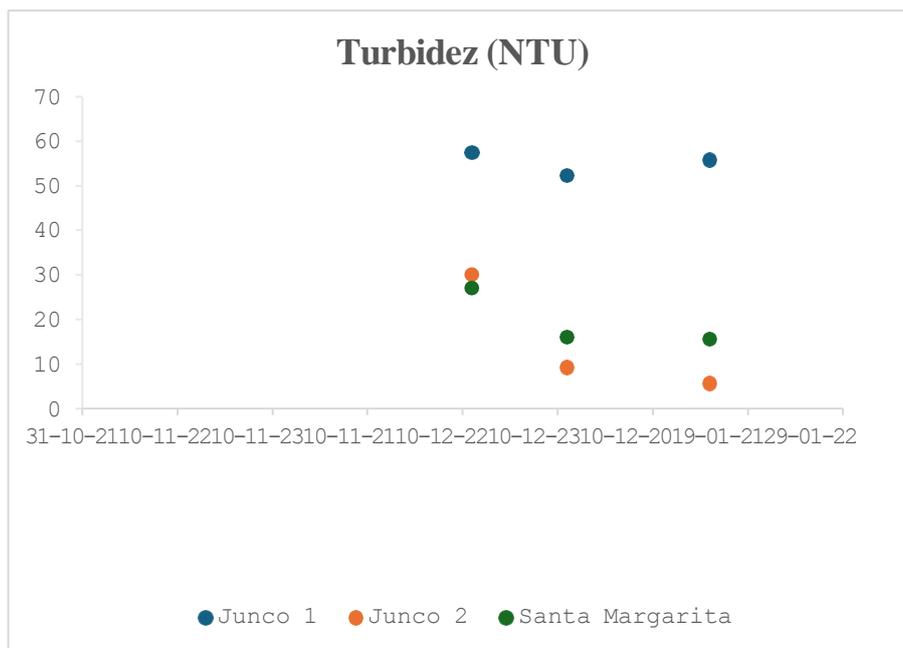
**Figura 1.10.** Evolución en el tiempo de la C.E (mS cm<sup>-1</sup>) en el agua de inundación para cada sitio de muestreo. J1: Junco 1, J2: Junco 2, SM: Santa Margarita.



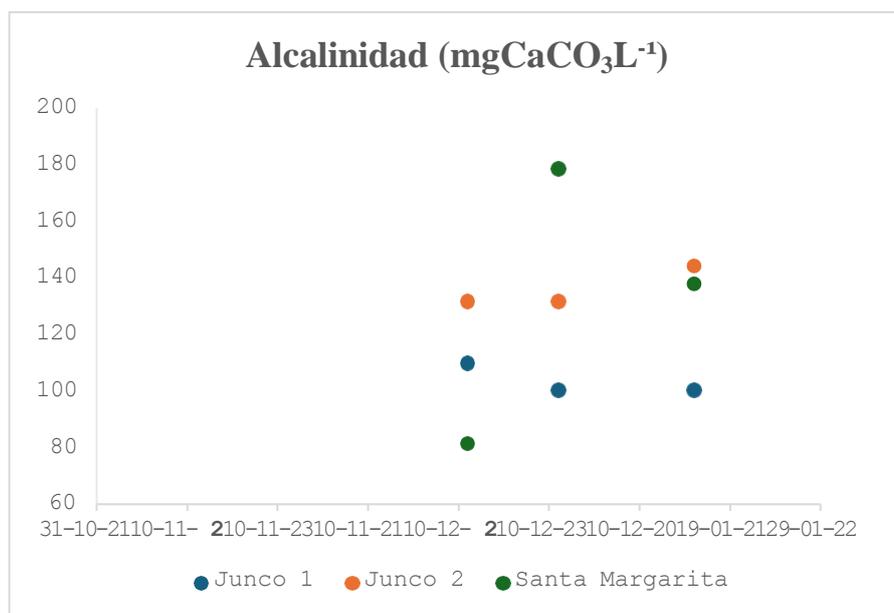
**Figura 1.11.** Evolución en el tiempo del OD (mgL<sup>-1</sup>) en el agua de inundación para cada sitio de muestreo. J1: Junco 1, J2: Junco 2, SM: Santa Margarita.



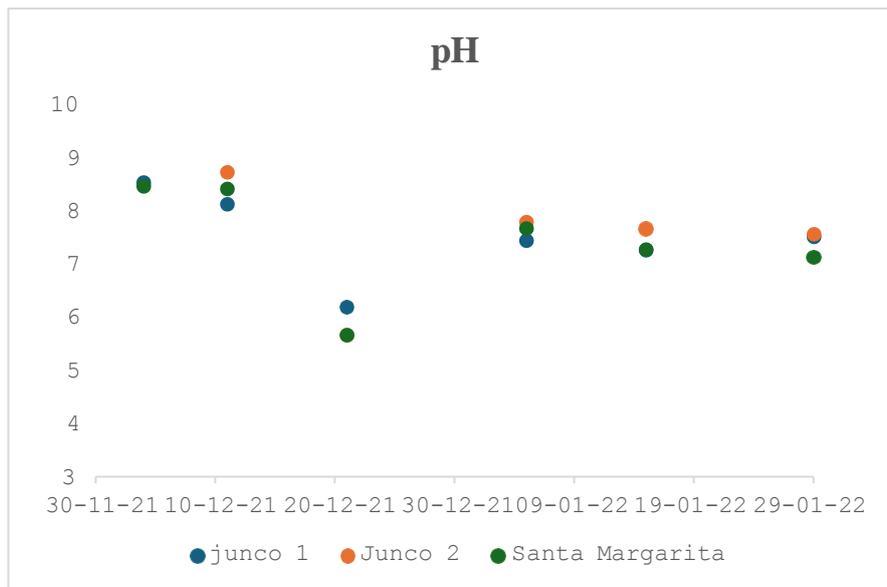
**Figura 1.12.** Evolución en el tiempo de la ORP (mV) en el agua de inundación para cada sitio de muestreo. J1: Junco 1, J2: Junco 2, SM: Santa Margarita.



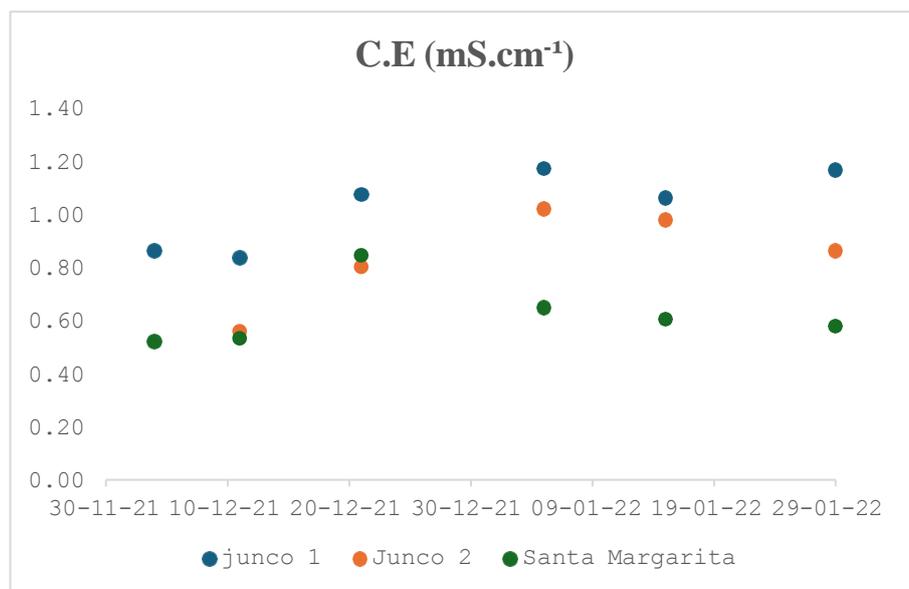
**Figura 1.13.** Evolución en el tiempo de la turbidez (NTU) en el agua de inundación para cada sitio de muestreo. J1: Junco 1, J2: Junco 2, SM: Santa Margarita,



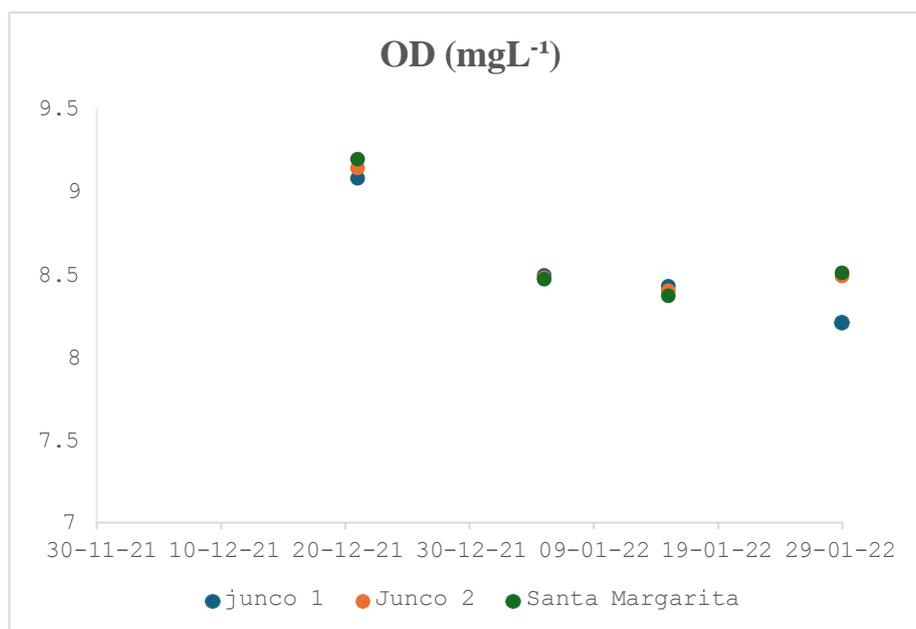
**Figura 1.14.** Evolución en el tiempo de la alcalinidad (mgCaCO<sub>3</sub>L<sup>-1</sup>) en el agua de inundación para cada sitio de muestreo. J1: Junco 1, J2: Junco 2, SM: Santa Margarita.



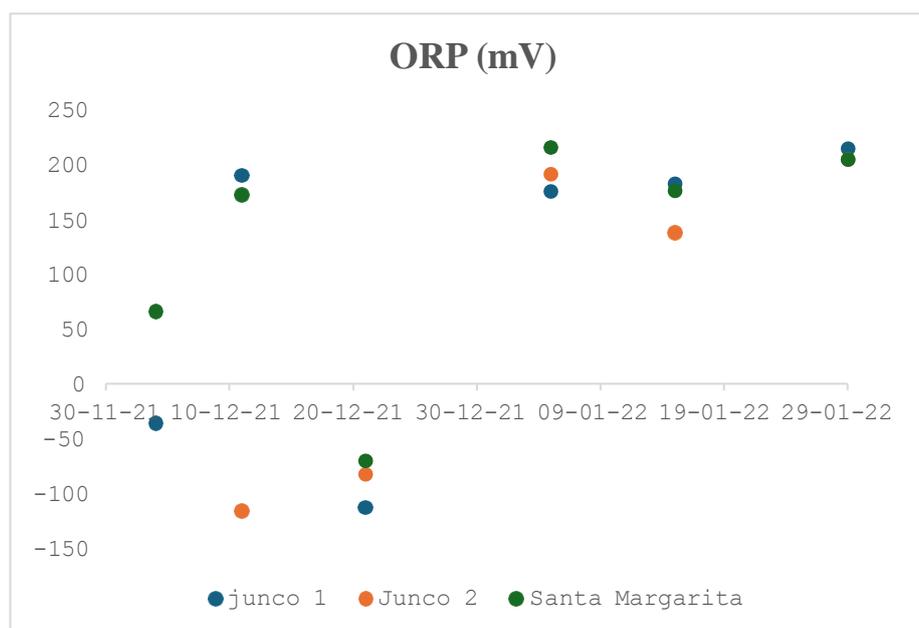
**Figura 1.15.** Evolución en el tiempo del pH en el agua del suelo para cada sitio de muestreo. J1: Junco 1, J2: Junco 2, SM: Santa Margarita.



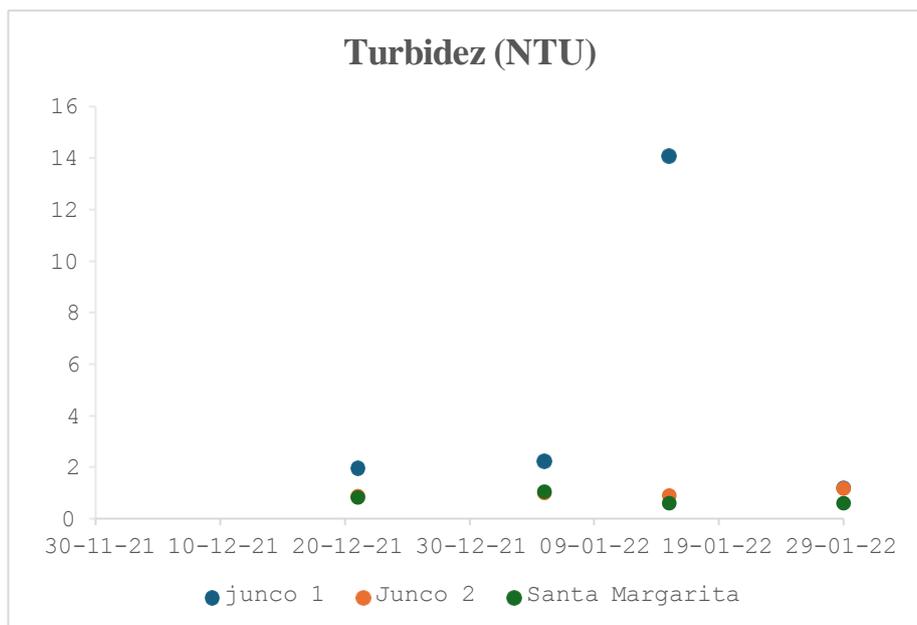
**Figura 1.16.** Evolución en el tiempo de la C.E (mS $\text{cm}^{-1}$ ) en el agua del suelo para cada sitio de muestreo. J1: Junco 1, J2: Junco 2, SM: Santa Margarita.



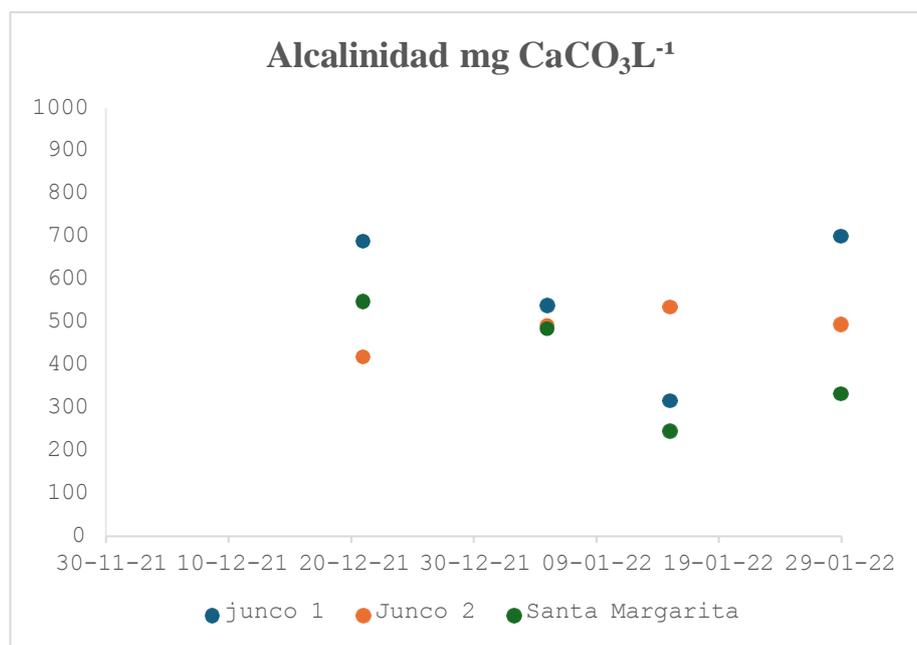
**Figura 1.17.** Evolución en el tiempo del OD (mgL<sup>-1</sup>) en el agua del suelo para cada sitio de muestreo. J1: Junco 1, J2: Junco 2, SM: Santa Margarita.



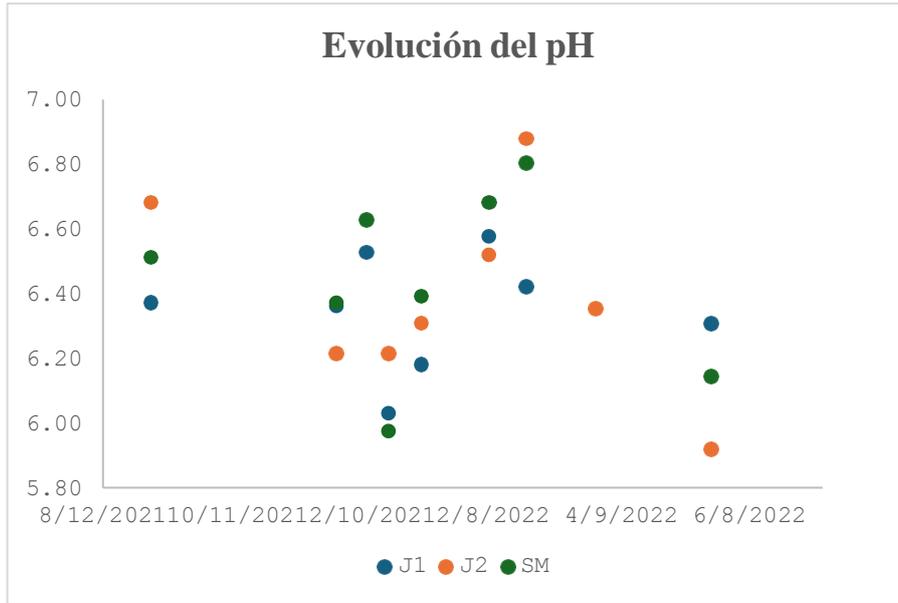
**Figura 1.18.** Evolución en el tiempo del ORP (mV) en el agua del suelo para cada sitio de muestreo. J1: Junco 1, J2: Junco 2, SM: Santa Margarita.



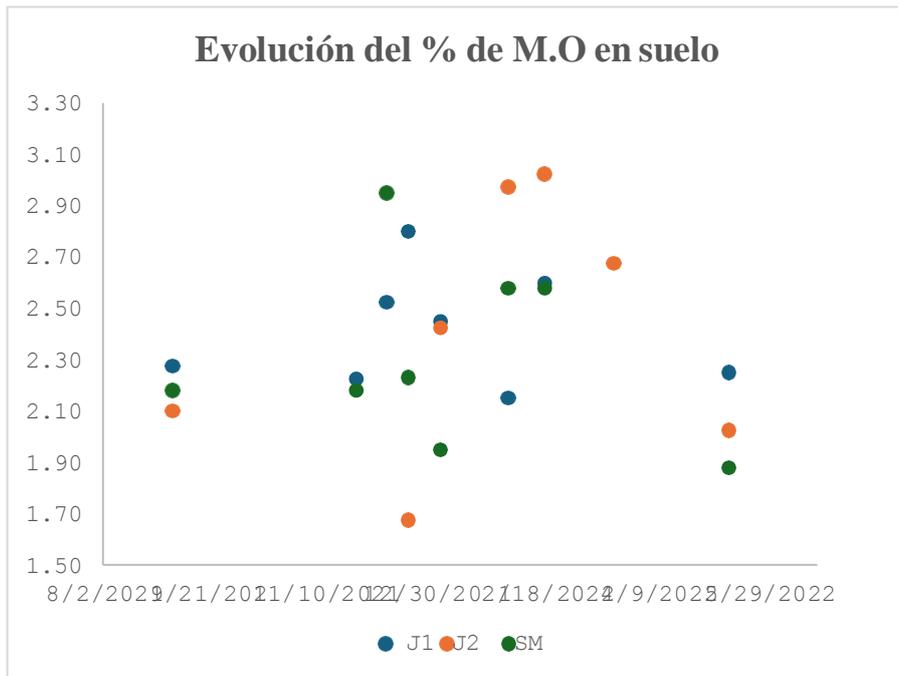
**Figura 1.19.** Evolución en el tiempo de la turbidez (NTU) en el agua del suelo para cada sitio de muestreo. J1: Junco 1, J2: Junco 2, SM: Santa Margarita.



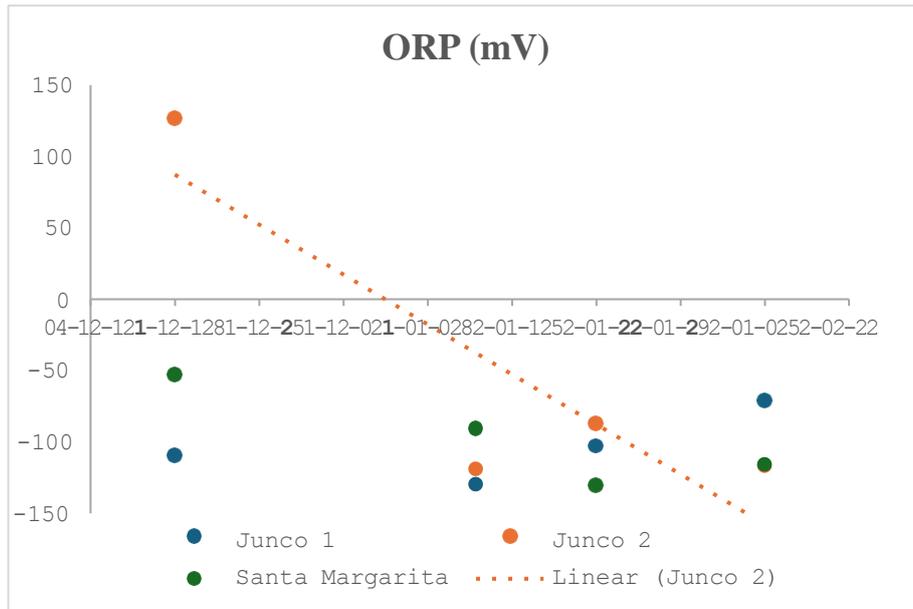
**Figura 1.20.** Evolución en el tiempo de la alcalinidad (mgCaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>) en el agua del suelo para cada sitio de muestreo. J1: Junco 1, J2: Junco 2, SM: Santa Margarita.



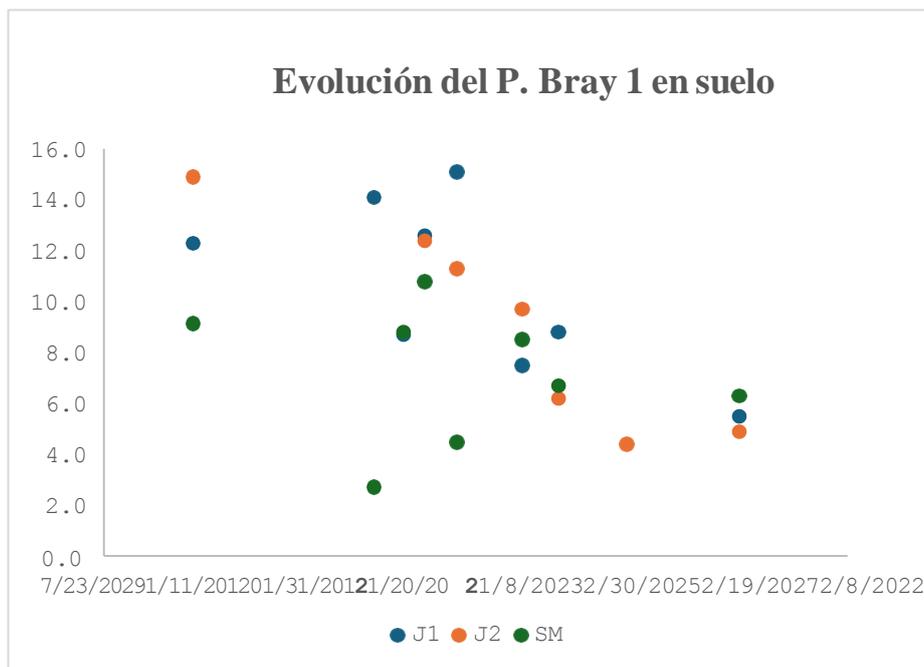
**Figura 1.21.** Evolución en el tiempo del pH en suelo para cada sitio de muestreo. J1: Junco 1, J2: Junco 2, SM: Santa Margarita.



**Figura 1.22.** Evolución en el tiempo del porcentaje de materia orgánica (%MO) en suelo para cada sitio de muestreo. J1: Junco 1, J2: Junco 2, SM: Santa Margarita.



**Figura 1.23.** Evolución en el tiempo del ORP (mV) en suelo para cada sitio de muestreo. J1: Junco 1, J2: Junco 2, SM: Santa Margarita.



**Figura 1.24.** Evolución en el tiempo del P. Bray 1 (mgkg<sup>-1</sup>) en suelo para cada sitio de muestreo. J1: Junco 1, J2: Junco 2, SM: Santa Margarita.



## ANEXO II

### Análisis y resultados para As total en suelo

#### Análisis de diferencia de medias:

Para observar la diferencia entre las medias de los 3 sitios se verificó en primera medida los supuestos de normalidad y homogeneidad en las muestras obtenidas.

Para realizar la prueba de normalidad se utilizó la prueba de Shapiro-Wilk, con un valor de significancia de 5% arrojando los siguientes resultados:

Shapiro-Wilk Test			
	<i>J1</i>	<i>SM</i>	<i>J2</i>
W-stat	0,87084852	0,97579788	0,96555681
p-value	0,1536344	0,93921544	0,86474544
alpha	0,05	0,05	0,05
<u>normal</u>	<u>yes</u>	<u>yes</u>	<u>yes</u>

De esta tabla obtenemos que, con un p-valor  $> 0,05$ , se acepta la hipótesis nula,  $H_0$ = los datos tienen una distribución normal. Cuanto más se asemejen los datos a una normal, más alineados están los puntos a una recta.

Para realizar la prueba de Homogeneidad se utilizó la prueba de Bartlett. Esta prueba es una modificación del test de Neyman y Pearson para corregir el sesgo. A varianzas iguales a través de las muestras se llama homocedasticidad u homogeneidad de varianzas. En esta prueba se realiza un análisis de cada grupo, con un valor de significancia de 5% arrojando los siguientes resultados:

valor crítico superior: 5,991464547 para un 95% con 3-1 grados de libertad.

Se verificaron los supuestos y hubo normalidad de los datos y se aplica ANOVA.

Los p-valor son mayores a 0,05 para las muestras de As en suelo, lo que los datos se ajustan a una distribución normal.

### Promedio As ( $\text{mgkg}^{-1}$ ):

	<b>J1</b>	<b>SM</b>	<b>J2</b>
promedio	9,0	7,7	6,4

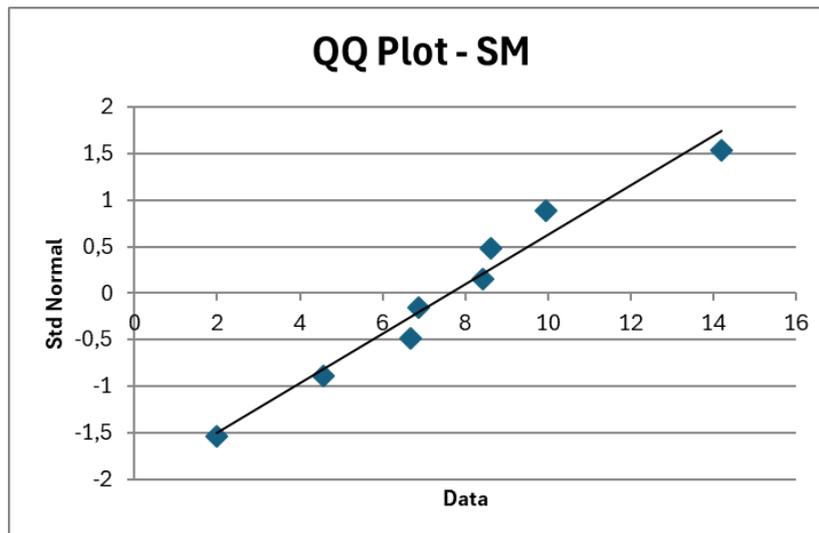
De los resultados obtenidos en la tabla anterior tenemos que la mayor concentración de As total en suelo se encuentra en J1 con un valor promedio de  $9,0 \text{ mgkg}^{-1}$  y el menor lo presentó el sitio J2 con  $6,4 \text{ mgkg}^{-1}$ .

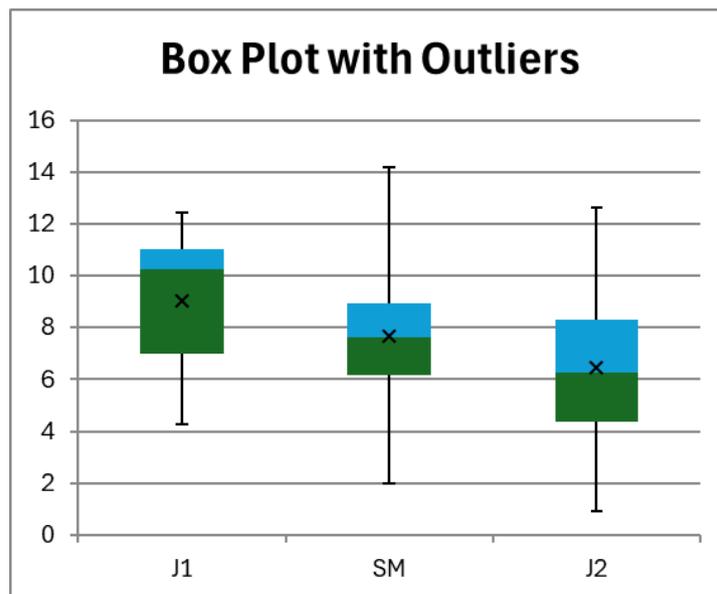
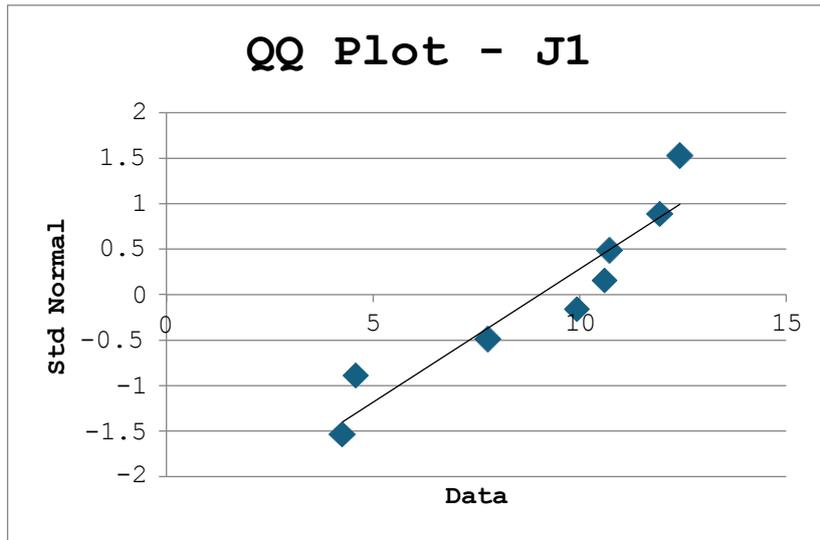
### Desviación Estándar:

La desviación estándar es la medida de dispersión más común, que indica que tan dispersos están los datos con respecto a la media. Mientras mayor sea la desviación estándar mayor será la dispersión de los datos.

	<b>J1</b>	<b>SM</b>	<b>J2</b>
desviación estándar	3,1706	3,6431	3,9678

Se observa que los datos presentan una dispersión similar para las muestras de los 3 sitios. Observándose la mayor dispersión para J2 3,97 y la menor para J1 3,17 entre las muestras analizadas.





## **ANEXO III**

### **Trabajos presentados en Congresos y Publicaciones**

**“Estudios de arsénico y sus especies en agua para riego y arroz”.**

Machado, D.; Alvareda, E. Exposición oral.

Seminario del departamento del agua: Salto, Uruguay, 24 de agosto del 2021.

**Factores que afectan el contenido de arsénico total presente en la solución del suelo aumentando su biodisponibilidad para el cultivo de arroz.**

Machado, D.; Alvareda, E.; Facchin, G.; Otero, A.

8vo Encuentro Nacional de Química: Montevideo, Uruguay, del 18 al 21 de octubre del 2023.

**“Avances de Tesis: Determinación de arsénico (As) total y sus especies en grano de arroz: Estudios de su relación con el contenido de As en suelos y agua de inundación”.**

Machado, D. Exposición oral.

Seminario interno INIA SG: Salto, Uruguay, 4 de diciembre del 2024.

**Artículo científico en proceso de elaboración.**