



**Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud  
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica**

**TESIS:**  
**“IMPLEMENTACIÓN DE UNA METODOLOGÍA  
ANALÍTICA PARA DETERMINAR DE ARSÉNICO EN  
ORINA”**

**PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:  
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

**BACHILLER:**  
**VALENCIA COCHACHI, Abigail**

**ASESOR:**  
**Q.F. MIRANDA PAREDES, Jean Paul**

**LIMA – PERÚ  
2016**

## **DEDICATORIA**

Este trabajo quiero dedicarle a Dios que me ha dado la vida y fortaleza y a mi madre que me dio su amor y apoyo incondicional.

## **AGRADECIMIENTOS**

Primeramente a Dios, mi familia, Q.F. Miranda Jean Paul y Q.F. Chávez Manuel, mis asesores de tesis quien con su dedicación paciencia profesionalismo y esmero me dirigieron durante todo este trayecto de la elaboración de mi investigación.

## RESUMEN

El arsénico es conocido desde la antigüedad, el primero en mencionarlo fue Aristóteles. Es un metaloide presente en minerales complejos que contienen cobre, plomo y otros; en el trabajador causa arsenicismo ocupacional y la principal exposición ocurre en metalurgia del cobre. Las sustancias arsenicales se utilizan en la industria, en la agricultura y ganadería y en medicina. Por ello, las fuentes de exposición del hombre a este metal son diversas destacando la laboral, la alimentaria y la medicamentosa.

Según la OMS, el arsénico es una de las 10 sustancias químicas más preocupantes para la salud pública.

Sus compuestos trivalentes tienen tendencia acumulativa e ingresan por las vías respiratoria, digestiva o cutánea y se transforman en los ácidos dimetilarsínico y metilarsónico. Se excretan por la orina, heces y piel.

Para medir una exposición actual o reciente el mejor indicador que se puede usar es el arsénico urinario.

En este trabajo se implementó una metodología analítica para determinar arsénico total e inorgánico, a su vez correlacionando ambos resultados se obtuvo las concentraciones de arsénico orgánico. El método de laboratorio utilizado permite determinar las concentraciones de arsénico con el equipo de espectrofotometría de absorción atómica con formación de hidruros.

**PALABRAS CLAVE:** Arsénico; metodología ; analítica; determinación; orina.

## **ABSTRACT**

The arsenic is known from the antiquity; Aristotle was the first one in mentioning it. It is a present metalloid in complex minerals that contain copper, lead and others; in the worker it causes arsenicismo occupationally and the principal exhibition happens in metallurgy of the copper. The substances arsenicals are in use in the industry, in the agriculture and ranching and in medicine. For it, the sources of exhibition of the man to this metal are diverse emphasizing the labor one, the food one and the medicaments.

According to the WHO, the arsenic is one of 10 more worrying chemical substances for the public health.

His trivalent compounds have accumulative trend and enter for the respiratory, digestive tracts or cutaneous and transform in the acids dimetilarsínico and metilarsónico. They are excreted by the urine, dregs and skin.

To measure a current or recent exposure the best indicator that can be used is urinary arsenic.

In this work an analytical methodology is going to be implemented to determine total and inorganic arsenic in turn correlating both results we will obtain the concentrations of organic arsenic. The method of used laboratory allows determining the concentrations of arsenic with the equipment of atomic absorption spectrometry hydride generation.

**KEY WORDS:** Arsenic; methodology; analytical; determination; urine.

## ÍNDICE

CARÁTULA .....	i
DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTO.....	iii
RESUMEN.....	iv
ABSTRACT.....	v
ÍNDICE DE TABLAS.....	ix
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	x
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
INTRODUCCIÓN.....	xii

### **CAPÍTULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN**

1.1 Descripción de la Realidad Problemática .....	13
1.2 Formulación del Problema.....	14
1.3 Objetivos de la Investigación.....	14
1.3.1 Objetivo General.....	14
1.3.2 Objetivos Específicos.....	14
1.4 Hipótesis de la Investigación.....	14
1.4.1 Hipótesis General.....	14
1.4.2 Hipótesis Secundarias .....	14
1.5 Justificación e Importancia de la Investigación.....	15
1.5.1 Justificación.....	15
1.5.2 Importancia.....	15

### **CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO**

2.1 Antecedentes de la Investigación.....	17
2.1.1 Antecedentes Nacionales.....	17
2.1.2 Antecedentes Internacionales .....	18
2.2 Bases Teóricas.....	19
2.2.1 Arsénico.....	19
2.2.2 Arsénico y sus compuestos.....	22
2.2.3 Toxicidad.....	25

2.2.3.1	Exposición al arsénico.....	30
2.2.3.2	Toxicocinética.....	31
2.2.3.3	Toxicodinamia.....	32
2.2.4	Cuadro clínico.....	35
2.2.4.1	Cáncer.....	36
2.2.4.2	Mutagenesis.....	37
2.2.4.3	Hidroarsenicismo crónico regional endémico.....	37
2.2.4.4	Blackfoot.....	38
2.2.5	Control biológico al trabajador expuesto.....	38
2.2.6	Métodos analíticos.....	38
2.2.7	Espectrofotometría de absorción atómica.....	41
2.2.7.1	Generación de hidruros.....	42
2.2.7.2	Mineralización.....	43
2.2.8	Tratamiento de las intoxicaciones arsenicales.....	44
2.3	Definición de Términos Básicos.....	45

### **CAPÍTULO III: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN**

3.1	Tipo de Investigación.....	47
3.1.1	Método.....	47
3.1.2	Técnica.....	47
3.1.3	Diseño.....	48
3.2	Población y Muestreo de la Investigación.....	48
3.2.1	Población.....	48
3.2.2	Muestra.....	48
3.3	Variables e Indicadores.....	49
3.4	Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos.....	49
3.4.1	Técnicas.....	49
3.4.1.1	Determinación de arsénico total en orina.....	49
3.4.1.2	Determinación de arsénico inorgánico en orina.....	57
3.4.2	Instrumentos.....	60

## **CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACION DE RESULTADOS**

4.1	Resultados.....	61
	4.1.1 Determinación de arsénico total en orina.....	62
	4.1.2 Determinación de arsénico inorgánico en orina.....	63
	4.1.3 Arsénico orgánico en orina.....	64
4.2	Análisis e Interpretación de resultados.....	65
	<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>66</b>
	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>68</b>
	<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>69</b>
	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>70</b>
	<b>ANEXOS: .....</b>	<b>73</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>TABLA N° 01</b>	Valores límite de Arsénico Total en orina.....	27
<b>TABLA N° 02</b>	Normas y regulaciones para el Arsénico Inorgánico.....	28
<b>TABLA N° 03</b>	Parámetros de digestión por microondas.....	55
<b>TABLA N° 04</b>	Preparación de la curva de calibración.....	56
<b>TABLA N° 05</b>	Valores estándar.....	61
<b>TABLA N° 06</b>	Determinación de Arsénico Total.....	62
<b>TABLA N° 07</b>	Determinación de Arsénico Inorgánico.....	63
<b>TABLA N° 08</b>	Concentración de Arsénico orgánico.....	64

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>GRÁFICO N° 01</b>	Curva de calibración.....	61
<b>GRÁFICO N° 02</b>	Concentración de arsénico total.....	62
<b>GRÁFICO N° 03</b>	Concentración de arsénico inorgánico.....	63
<b>GRÁFICO N° 04</b>	Concentración de arsénico total, inorgánico y orgánico....	64

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>FIGURA N° 01</b> Ciclo de Arsénico.....	22
<b>FIGURA N° 02</b> Estructura de las formas inorgánicas y orgánicas del arsénico.....	24
<b>FIGURA N° 03</b> Biotransformación del Arsénico inorgánico.....	34
<b>FIGURA N° 04</b> Variación de absorbancia en función de la concentración de analito.....	42
<b>FIGURA N° 05</b> Muestras de orina.....	73
<b>FIGURA N° 06</b> Equipo de digestión por microondas.....	73
<b>FIGURA N° 07</b> Equipo de espectrofotometría de absorción atómica.....	73

## INTRODUCCIÓN

El arsénico es un sólido metálico quebradizo e inodoro, de color blanco o gris plata. Se utiliza como agente de aleación para metales pesados y en soldaduras, medicamentos y herbicidas. El arsénico figura en la lista de sustancias extremadamente peligrosas para la salud, citado por varios organismos como son la EPA, OSHA, NIOSH, OMS entre otros. Su mayor amenaza para la salud pública reside en la utilización de agua contaminada para beber, preparar alimentos y regar cultivos alimentarios. Los peces y mariscos contienen arsénico orgánico y su consumo puede incrementar los niveles de arsénico.

Los valores de arsénico total en orina proporcionan a menudo una información errónea sobre la exposición, pues una sola comida a base de pescado u otros organismos marinos, que contienen cantidades considerables de compuestos arsenicales no tóxicos, puede producir concentraciones muy elevadas de arsénico en la orina hasta por 2 días.

La medición de los niveles de arsénico en orina es generalmente aceptado como el más confiable indicador de exposición reciente al arsénico. Los niveles normales de arsénico en individuos no expuestos en orina es <100 ug/l.

La determinación de arsénico en orina permite calcular la dosis total de arsénico inorgánico captado por diferentes vías de exposición, siendo el límite de exposición al arsénico inorgánico 35ug/l en orina.

En el presente estudio se empleó una metodología analítica para determinar la concentración de arsénico total y arsénico inorgánico utilizando espectrofotometría de absorción atómica por generadores de hidruros. Se desarrolló un método simple, rápido y confiable para la separación y cuantificación de arsénico en muestras de orina humana con preparación de la muestra mínima.

Esta metodología puede utilizarse para evaluar con seguridad los niveles reales de toxicidad del arsénico en la población ocupacional y medio ambiente expuesta.

# CAPÍTULO I

## PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

### 1.1 Descripción de la Realidad Problemática

El arsénico es un elemento natural de la corteza terrestre; ampliamente distribuido en todo el medio ambiente, está presente en el aire, el agua y la tierra. El arsénico existe tanto en forma orgánica como inorgánica.

La OMS considera que el arsénico es una de las 10 sustancias químicas más preocupantes para la salud pública. <sup>(1)</sup>

Los compuestos de arsénico inorgánico se pueden encontrar en el agua, son extremadamente tóxicos, en tanto que los compuestos de arsénico orgánico como los que se encuentran en pescados y mariscos son menos perjudiciales para la salud.

La exposición al arsénico inorgánico (AsIn), el síntoma inicial es irritación de piel y mucosas. Si la inflamación se hace crónica puede generar en cáncer y puede producir deterioro, funcional o maligno, en otros órganos. La exposición a altos niveles de arsénico inorgánico puede deberse a diversas causas, como el consumo de agua contaminada o su uso para la preparación de comidas, para el riego de cultivos alimentarios y para procesos industriales.

La concentración de As total (AsTot) en orina constituye un biomarcador que refleja la exposición reciente, dado que ésta es la principal ruta de excreción de las distintas especies del As. La concentración de AsTot no da información respecto a la forma de As incorporado al organismo, una mejor determinación es la medición de los niveles de AsIn y sus metabolitos ácido monometilarsínico (MMA) y ácido dimetilarsónico (DMA).

Para medir una exposición actual o reciente el mejor indicador que podemos usar es el arsénico urinario.

La espectroscopia de absorción atómica, es el método más usado para investigar elementos minerales debido a su gran precisión y sensibilidad.

## **1.2 Formulación del Problema**

¿Se podrá implementar una metodología analítica para determinar arsénico en orina?

## **1.3 Objetivos de la Investigación**

### **1.3.1 Objetivo General**

Implementar una metodología analítica para determinar arsénico en orina.

### **1.3.2 Objetivos Específicos**

O.E.1.: Determinar arsénico total en orina con la metodología analítica implementada.

O.E.2.: Determinar arsénico inorgánico en orina con la metodología analítica implementada.

O.E.3.: Relacionar la concentración de arsénico total con el arsénico inorgánico en orina.

## **1.4 Hipótesis de la Investigación**

### **1.4.1 Hipótesis General**

Se podría implementar una metodología analítica para determinar arsénico en orina.

### **1.4.2 Hipótesis Secundarias**

H.S.1.: Se podría determinar arsénico total en orina con la metodología analítica implementada.

H.S.2.: Se podría determinar arsénico inorgánico en orina con la metodología analítica implementada.

H.S.3.: Se podría relacionar la concentración de arsénico total con arsénico inorgánico en orina.

## **1.5 Justificación e Importancia de la Investigación**

### **1.5.1 Justificación**

El arsénico, si bien es un elemento presente en la corteza terrestre, décimo segundo en el agua del mar y décimo cuarto en el cuerpo humano es uno de los contaminantes con más alta toxicidad, reconocido como cancerígeno por el Instituto Nacional de Ciencias de Salud Ambiental de los Estados Unidos y una de las prioridades de investigación de la Organización Mundial de la Salud.

Para medir una exposición actual o reciente el mejor indicador que podemos usar es el As urinario, aunque hay que tener en cuenta que los pescados y moluscos incrementan mucho la concentración de As en la orina, Teniendo en cuenta esto y estudiando de manera más detallada el As inorgánico y no el total, para no dar una sobreestimación por la elevada presencia de compuestos organoarsenicales en orina, se podría decir que los valores normales de As en orina serían de alrededor de 20 µg/l; más de 200 µg/l indicarían una exposición elevada y más de 500 mg/l serían concentraciones tóxicas.<sup>(2)</sup>

### **1.5.2 Importancia**

El National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH), indica el índice biológico de exposición para la vigilancia de la salud de los trabajadores es de: <100ug/L.

En la guía práctica clínica peruana para el diagnóstico y tratamiento de la intoxicación por arsénico indica valores referenciales, expuestos no ocupacionalmente de 10 a 50 ug/L. en orina y expuestos ocupacionalmente hasta 100ug/L concentraciones mayores deben ser investigadas.<sup>(3)</sup>

La necesidad del análisis y especiación de arsénico es crucial para conocer de manera certera los niveles de

arsénico que afectan a las personas expuestas a aguas, suelos, sedimentos y alimentos contaminados con arsénicos. La espectrofotometría de absorción atómica con generación de hidruros, es una metodología sencilla que requiere instrumentación relativamente económica y muy versátil, con excelente poder de detección para arsénico total e inorgánico.

A través de esta investigación científica, me propongo a implementar un método simple, efectivo y eficiente que ayudara determinar arsénico total, arsénico inorgánico y arsénico orgánico en orina. Además el método implementado es de fácil manejo y utiliza menos reactivo, ahorrando mucho más tiempo y siendo más económico.

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1 Antecedentes de la Investigación

##### 2.1.1 Antecedentes Nacionales

La investigación realizada por Paúl Alfonso, titulado **“EVALUACIÓN DE ARSÉNICO EN ORINA DE POBLADORES ADULTOS DEL DISTRITO DE ITE. TACNA”**, (2012) Perú. Estableció para su investigación se tomarían 141 muestras y el método utilizado, para determinar la concentración de Arsénico total (AsTot) en las muestras de orina, fue el de Espectrofotometría de Absorción Atómica con Generación de Hidruros (EAAGH).

En el Perú, la dirección General de Salud de las Personas del Ministerio de Salud (DGSP/MINSA), para la evaluación de Arsénico en orina de pobladores expuestos no ocupacionalmente; ha establecido un Límite de Tolerancia Biológica (LTB) de 20 µg As/g de creatinina.

El promedio de la concentración de arsénico obtenido, en orina de pobladores del Distrito de Ite es de 36,4918 µg/g de creatinina. Concluyó que la concentración promedio de arsénico por ug de creatinina excretada, excede el Límite de Tolerancia Biológica establecido para dicho elemento.

La investigación realizada por Edwin Flores Espinoza, Robert Pérez Bobadilla, Javier Eduardo, titulado **“DETERMINACIÓN DE ARSÉNICO, POR ABSORCIÓN ATÓMICA, EN AGUA DE CONSUMO HUMANO PROVENIENTE DE SEDAPAL, DE CISTERNA Y DE POZO DEL DISTRITO DE PUENTE PIEDRA”**, (2009) Lima. En este estudio se tomaron 38 muestras de agua de consumo

humano, 13 provenían de SEDAPAL, 13 de agua de cisterna y 12 de agua de pozo. Se encontró que la concentración promedio de arsénico del total de muestras provenientes de SEDAPAL fue de 9.13  $\mu\text{g As/L}$  y el total de muestras provenientes de cisterna fue de 5.04  $\mu\text{g As/L}$ , los cuales no exceden la concentración máxima permisible dada por la Norma Técnica Peruana 214.003.87 (50  $\mu\text{g As/L}$ ) y la Organización Mundial de la Salud (10  $\mu\text{g As/L}$ ). También se halló que la concentración promedio de arsénico en el agua de consumo humano proveniente de pozo fue de 22,40  $\mu\text{g As/L}$ , la cual está por encima del límite permisible establecido por la Organización Mundial de la Salud y por debajo del límite permisible dado por la Norma Técnica Peruana. <sup>(5)</sup>

### 2.1.2 Antecedentes Internacionales

La investigación realizada por Carmen Lovey y María Giménez, titulado **“ARSÉNICO TOTAL EN ORINA: EVALUACION DE POBLACION EXPUESTA EN LA PROVINCIA DE CHACO”**, (2008) Argentina. Estableció en este estudio validación de un método para la determinación de arsénico total en orina y analizar la correlación existente entre los niveles de arsénico hallados en población expuesta y los encontrados en las aguas subterráneas utilizadas para el consumo. Se utilizó el procedimiento normalizado de espectroscopia de absorción atómica acoplada a generación de hidruros con inyección en flujo (FI-HG-AAS) para la determinación de As total en ambas muestras. Las concentraciones de arsénico en las muestras de orina están en el rango entre 46,7– 2431  $\mu\text{g L}^{-1}$ , mientras que las de agua entre 30 – 1443  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Esto nos señala el peligro al que está expuesta la población. <sup>(6)</sup>

La investigación realizada por Alexandra Galetovic, titulado **“ARSÉNICO EN EL AGUA DE BEBIDA: UN PROBLEMA DE SALUD PÚBLICA”**, (2003) Brasil. Concluyó que la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda un valor orientador para agua de bebida de 10 mg As/L. Por su parte la Environmental Protection Agency (EPA), considerando estimativas de riesgo realizadas utilizando modelos estadísticos basados en observaciones en humanos y extrapolando los datos para concentraciones inferiores a 50 µg/L, reducirá el valor guía para arsénico en el agua de bebida de 50 µg/L para 10 µg/L.

## **2.2 Bases Teóricas**

### **2.2.1 Arsénico**

El arsénico tiene el número atómico 33. El símbolo químico del arsénico es As, es un elemento de color gris plateado brillante, quebradizo, amorfo. Sus compuestos tienen conductividad baja; por eso se comporta como metal o como no metal y de ahí su denominación de metaloide.

En el ambiente el arsénico generalmente se encuentra combinado con otros elementos como por ejemplo oxígeno, cloro y azufre. El arsénico combinado con estos elementos se conoce como arsénico inorgánico. El arsénico combinado con carbono e hidrogeno se conoce como arsénico orgánico. Se oxida fácilmente en contacto con el aire húmedo y produce trióxido. Siempre se le descubre como impureza de otros metales, cobre, plomo, zinc, oro y raramente es hallado en la naturaleza. Es muy tóxico, algunas de sus formas orgánicas intervienen en procesos metabólicos de varias especies.

Los compuestos inorgánicos y orgánicos en su mayoría son polvos de color blanco que no se evaporan. No tienen olor y la mayoría no tiene ningún sabor esencial. Por eso

generalmente no se puede saber si están presentes en los alimentos, el aire o el agua.

- **Historia del arsénico**

Se le conoce desde la antigüedad, Aristóteles fue el primero en mencionarlo. Mil años después, Olympiodorus de Tebas aísla el trióxido de arsénico. Agrícola, en su tratado de Re Metallica, 1556, escribió sobre lo dañino del entonces llamado cobalto arsenical, reconociendo ya relación entre la enfermedad y la manipulación del As por los fundidores. En el siglo XIX y hasta 1940, el arsénico fue prescrito como amebicida, antisorriásico (licor de Fowler) y tónico.

En 1888, Hutchinson detalla el riesgo carcinógeno para la piel. En 1901, Erlich descubre el compuesto 606 (Salvarsán o Arsfenammina) y luego el Neosalvarsán ('compuesto 914') para el tratamiento de la sífilis. Napoleón Bonaparte parece que al morir estaba siendo tratado o envenenado por arsénico.

Cerca de la primera Guerra Mundial se introduce la lewisita (2 clorovinil dicloroarsina) como potente gas vesicante e incapacitante para uso bélico, pero no se le emplea en la Gran Guerra porque la humedad del ambiente europeo lo neutraliza. Sin embargo, ya se había desarrollado el antídoto British Anti-Lewisita (BAL), 2, 3-dimercaptopropanol. <sup>(8)</sup>

- **Características del arsénico**

Número atómico: 33

Grupo: 15

Periodo: 4

Aspecto: gris plateado

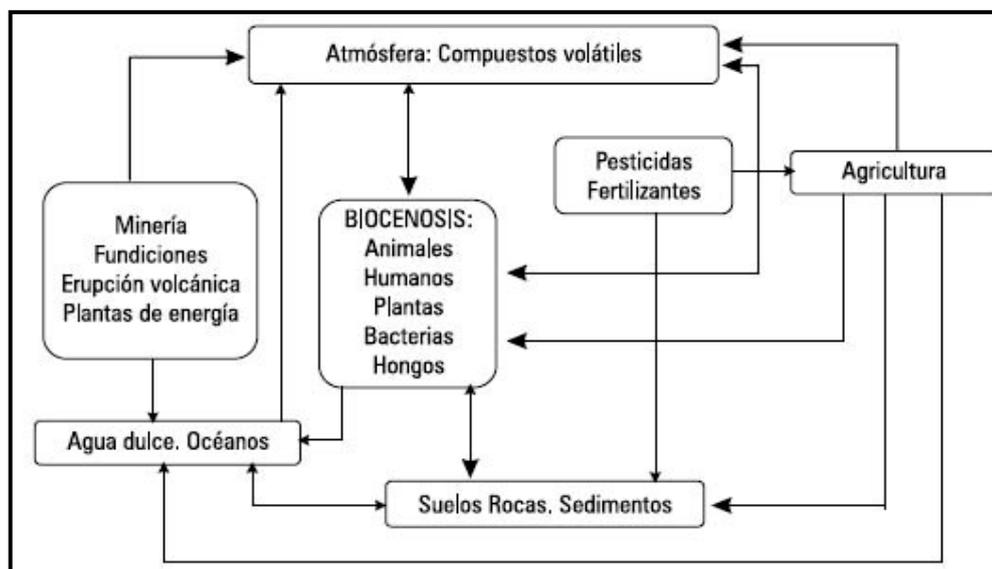
Densidad: 5727 kg/m<sup>3</sup>  
Masa atómica: 74.92160 u  
Radio medio: 115 pm  
Radio atómico: 114  
Radio covalente: 119 pm  
Radio de van der Waals: 185 pm  
Configuración electrónica: [Ar] 4s<sup>2</sup> 3d<sup>10</sup> 4p<sup>3</sup>  
Electrones por capa: 2, 8, 18, 5  
Estados de oxidación: +-3,5  
Óxido: levemente ácido  
Estructura cristalina: romboédrica  
Estado: Sólido  
Punto de fusión: 887 K  
Punto de ebullición: 1090 K  
Calor de fusión: 34.76 kJ/mol  
Electronegatividad: 2,18  
Calor específico: 330 J/ (K·kg)  
Conductividad eléctrica: 3,45 × 10<sup>6</sup>S/m  
Conductividad térmica: 50 W/ (K·m)

- **Ciclo del arsénico**

El arsénico se encuentra en el medio ambiente como contaminante ambiental a nivel de trazas, su concentración depende de factores geológicos y meteorológicos. Su movilidad en la naturaleza es relativamente elevada, puede ser transportado en estado gaseoso, disuelto o sólido a través del suelo, aire y agua. Las especies emitidas originalmente el transporte y la distribución del arsénico dependen fundamentalmente de la forma química bajo la que se encuentre. De esta forma, la solubilidad de As (III) y As (V) es relativamente alta, por lo que estas especies se distribuyen fácilmente en medios acuosos. La absorción o complejación del arsénico en

suelos y sedimentos suele ocurrir predominantemente, pudiendo transferirse a cultivos y plantas, y entrando así en la cadena alimentaria. El arsénico es lanzado a la atmósfera en cantidades significativas desde plantas generadoras de energía por quemado de carbón; siendo estas emisiones en estado gaseoso debidas a los bajos puntos de ebullición que presenta el arsénico y sus derivados, también se producirá este tipo de fenómeno en procesos de carácter vulcanístico y en el quemado de vegetación. A temperatura ambiente el arsénico se libera a la atmósfera como compuestos volátiles, producto de la metilación biológica. <sup>(9)</sup>

**Figura N° 01 Ciclo del arsénico**



Fuente: Revista Scielo

Imagen tomada de Scielo disponible en web:[http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S102555832013000300014&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S102555832013000300014&script=sci_arttext).

### 2.2.2 Arsénico y sus compuestos

Los compuestos de arsénico pueden clasificarse en 3 grandes grupos:

Inorgánicos

Orgánicos

Gas arsina

Las valencias más comunes del Arsénico son:

As (0) Arsénico metaloide, estado de oxidación 0.

As (III) Trivalente, estado de oxidación 3, como en los arsenitos.

As (V) pentavalente, estado de oxidación 5, como en los arseniatos.

Gas Arsina estado de oxidación -3.

- **Arsénico inorgánico**

El arsénico inorgánico está presente en el minero metalurgia de varios elementos. Los usos más frecuentes se hallan la fabricación de semiconductores, diodos láser y LED; la fabricación de municiones; en ganadería como baño para ovejas y en agricultura como deforestador, herbicida o pesticida; también, en medicina homeopática y en otras actividades humanas. <sup>(8)</sup>

En el pasado, los compuestos inorgánicos de arsénico se usaron predominantemente como plaguicidas, principalmente en la cosecha de algodón y huertos frutales. Actualmente, los compuestos inorgánicos no se pueden usar en la agricultura. <sup>(11)</sup>

Por sus propiedades letales se recurre a él con fines homicidas u suicidas. En el humano se ha descrito cierto mecanismo de tolerancia, quizá porque a pesar de ser muy toxico es esencial para la fisiología, a niveles de 0,00001% es necesario para el crecimiento y para mantener la salud del sistema nervioso. <sup>(8)</sup>

El arsénico inorgánico ocurre naturalmente en el suelo y en muchos tipos de rocas, esencialmente en minerales que contienen cobre o plomo. Cuando estos minerales se

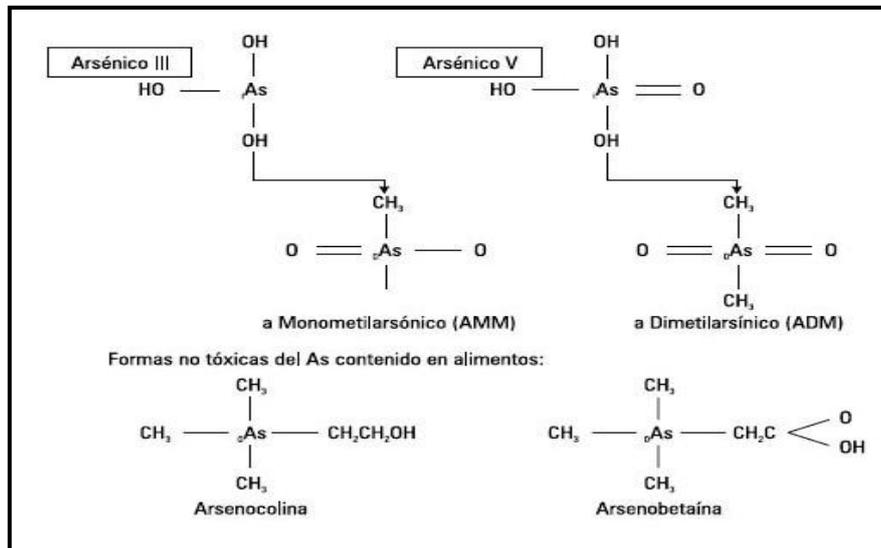
calientan en hornos, la mayor parte del arsénico se elimina a través de la chimenea en forma de un polvo fino que entra en la atmósfera. <sup>(11)</sup>

- **Arsénico orgánico**

Los compuestos orgánicos de arsénico, específicamente el ácido cacodílico, el arsenato de metilo bisódico (DSMA) y el arsenato de metilo monosódico (MSMA), aun se usan como plaguicidas, principalmente en algodón. Algunos compuestos orgánicos de arsénico se usan como suplementos en alimentos para animales. <sup>(11)</sup>

Las formas orgánicas de arsénico que se encuentran en la comida de mar (principalmente la arsenobetaina y la arsenocolina, también conocidas como “arsénico de los peces”) generalmente se consideran no tóxicas, y se excretan en la orina 48 horas después de haber sido ingeridas <sup>(11)</sup>

**Figura N° 02 Estructuras de las formas inorgánicas y orgánicas del arsénico.**



Fuente: Artículo de revisión Fac med.

Imagen tomada del sitio web publicación de artículos científicos Scielo:  
[http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S102555832013000300014&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S102555832013000300014&script=sci_arttext)

- **Arsina**

La arsina es un compuesto arsenical gaseoso sin color, de suave olor aliáceo no irritante, 2.5 veces, más densa que el aire. Tiene un mecanismo acción diferente a los demás arsenicales, actúa como veneno hemolítico donde se produce un taponamiento e insuficiencia renal por obstrucción de los túbulo con los moldes de hemoglobina formados en la hemólisis y por lo general se salda con la muerte. El sustrato de la acción bioquímica de la arsina es su afinidad por el glutatión, un péptido compuesto por ácido glutámico y cistina, que hace posible el mecanismo de bomba de potasio del hematíe para mantener la integridad de la membrana; cuando se daña este mecanismo, hay fuga de electrolitos y el eritrocito se edematiza y rompe, condicionando la hemólisis. <sup>(8)</sup>

### **2.2.3 Toxicidad**

La toxicidad relativa de los compuestos de arsénico depende principalmente de su forma, ya sea orgánica o inorgánica, de su valencia, solubilidad, estado físico y pureza y de sus tasas de absorción y de eliminación. <sup>(11)</sup>

La toxicidad del arsénico depende de la forma química; así, del arsénico inorgánico (iAs) la forma trivalente (iAs<sup>3+</sup>) es más tóxica que la pentavalente (iAs<sup>5+</sup>) y ambas más que sus compuestos metilados: el ácido monometilarsónico (MMA) y el ácido dimetilarsínico (DMA). Los arsenicales orgánicos arsenobetaina, arsenocolina y arsenoazúcares son considerados no tóxicos. <sup>(8)</sup>

La toxicidad de los compuestos de arsénico puede variar considerablemente. De manera general, podemos ubicar a los compuestos de arsénico, de mayor a menor toxicidad, de la siguiente forma:

Compuestos inorgánicos trivalentes,  
Compuestos orgánicos trivalentes,  
Compuestos inorgánicos pentavalentes,  
Compuestos orgánicos pentavalentes y  
Arsénico elemental. <sup>(12)</sup>

En general, el Arsénico inorgánico es más tóxico que el orgánico. Por otra parte, las formas de Arsénico que se absorben más rápido, son más tóxicas, y las que se eliminan con facilidad tienden a ser menos tóxicas. Los arsenitos y los arseniatos son altamente solubles en agua.

Aunque los compuestos orgánicos de Arsénico se consideran menos tóxicos que los inorgánicos, algunos derivados del Arsénico que contienen grupos metilo o fenilo, muy usados en agricultura, causan preocupación por los efectos sobre la salud de animales de experimentación. Entre estos compuestos se encuentran el ácido monometilarsónico (MMA) y sus sales, así como el ácido dimetilarsónico (DMA) y sus sales, y el Roxarsone (ácido 4 hidroxilo 3 nitrobencenoarsónico).

El gas arsina es un compuesto de arsénico más tóxico (exposición aguda). <sup>(12)</sup>

- **Límites de exposición**

En la guía toxicológica de ATSDR establece niveles normales en individuos no expuestos:

<1ug/L en sangre

<100ug/L en la orina

≤1ppm en las uñas

≤1ppm en el cabello

El Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT) de España menciona los valores límite biológicos de Arsénico inorgánico elemental más metabolitos

metilados en orina son 35ug/L en el momento de muestreo de fin de semana laboral. <sup>(16)</sup>

**Tabla N° 01 Valores Limites de Arsénico Total en orina**

<b>Arsénico total en orina</b>	<b>Interpretación</b>	<b>Referencia</b>
Mayor o igual a 50 µg/L ó 100 µg / g de creatinina ó 100 µg / 24 hs	Cualquiera de estos es Diagnóstico.	Goldfrank, L.Toxicologic Emergencies. 7 <sup>th</sup> Edition. Ed McGraw. New York, 2002
Mayor o igual a 50 µg / g creatinina	Valor límite para intervención en población general	OMS, 2000.
Mayor de 50 µg / L ó 50 µg / 24 hs 25 µg / 24 hs 30 µg / L	Criterio para definición de caso	CDC, 2005.
5 a 40 µg / día	Normal	ATSDR, 2007.
Menor de 44,6 µg / L Menor de 29,6 µg / g creatinina	Valores Límites en individuos NO expuestos	CENATOXA Laboratorio de Asesoramiento Toxicológico Analítico UBA

Fuente: Precotox

Imagen tomada de precotox disponible en web : [http://www.msal.gob.ar/images/stories/bes/graficos/0000000332cnt-03-Capacit\\_hidroarsenicismo.pdf](http://www.msal.gob.ar/images/stories/bes/graficos/0000000332cnt-03-Capacit_hidroarsenicismo.pdf).

El Instituto Nacional para la Seguridad y la Salud Ocupacional (NIOSH) estableció el limite recomendado de exposición es de 2 microgramos por metro cúbico de aire por un periodo de no más de 15 minutos. Este valor estableció tomando en cuenta que el arsénico está clasificado como un carcinógeno potencial para el ser

humano, además recomienda que el nivel de arsénico en orina no exceda 100 microgramos por litro de orina <sup>(12)</sup>

La Administración de Drogas y Alimentos (FDA) ha La Oficina de Programas de Pesticidas (OPP) de la EPA ha restringido el uso del arsénico inorgánico en la madera tratada bajo presión. <sup>(12)</sup>

**Tabla N° 02 Normas y regulaciones para el arsénico inorgánico**

Organismo	Énfasis	Nivel	Comentarios
ACGIH	Aire – lugar de trabajo	10 microgramos/m <sup>3</sup>	Advertencia; TLV/TWA+
NIOSH	Aire- lugar de trabajo	2 microgramos/m <sup>3</sup>	Advertencia; limite tope de 15 minutos
OSHA	Aire- lugar de trabajo	10 microgramos/m <sup>3</sup>	Norma; PEL en una jornada laboral de 8 horas
EPA	Aire Ambiente	NA	NA
	Agua – agua de bebida	10 partes por billón	Norma; nivel máximo de contaminante en los suministros públicos de agua potable
FDA	Alimentos	0.5-2 partes por millón	Norma; aplicable a los animales tratados con medicamentos veterinarios.

Fuente: ATSDR

Imagen tomada de la página de ATSDR disponible en web:  
[http://www.atsdr.cdc.gov/es/csem/arsenic/docs/arsenic\\_csem\\_spanish.pdf](http://www.atsdr.cdc.gov/es/csem/arsenic/docs/arsenic_csem_spanish.pdf)

ACGIH = Conferencia Americana de Higienistas Industriales Gubernamentales

EPA = Agencia de Protección del Medicamentos de EE.UU.

FDA= Administración de Alimentos y Drogas de EE.UU.

NIOSH= Instituto Nacional para la Seguridad y la salud Ocupacional

OSHA= Administración de Seguridad y Salud Ocupacional de EE.UU.

TLV/TWA (valor umbral límite/tiempo promedio ponderado)= concentración de un tiempo promedio ponderado, para una jornada laboral normal de 8 horas, o una semana laboral de 40 horas. Casi todos los trabajadores pueden estar expuestos a estas concentraciones.

PEL (límite de Exposición Permisible) = nivel más alto que puede estar expuesto un trabajador durante una jornada laboral de 8 horas.

- **Dosis toxica**

La dosis toxica de As inorgánico en el adulto es 0.5 mg/kg y la potencialmente mortal de 2 a 3 mg /kg, aunque existe una gran variabilidad individual.

La dosis letal en humanos varía entre 1.5 mg/kg de peso corporal (trióxido de diarsénico) y 500mg/kg de peso corporal (ácido dimetilarsínico).<sup>(2)</sup>

- **Fuentes de contaminación**

El arsénico es liberado al ambiente por los volcanes, por la erosión de los depósitos minerales que contienen arsénico y por diversos minerales metales como el cobalto, níquel, oro, plomo, zinc.

En el siglo XIX, se usaba arsénico en pinturas y colorantes para papel, ropa y papel tapiz.

El arsénico se usa ampliamente en la industria electrónica como arseniuro de galio y como gas arsina en los componentes de los semiconductores.

El trióxido de arsénico en el año 2003 se utilizó para la fabricación del compuesto arseniato cromado de cobre (CCA), esencial para los conservadores de la madera. Muchas estructuras exteriores de madera, como las que se encuentran en los juegos infantiles han sido tratadas con conservadores CCA.<sup>(12)</sup>

El arsénico se ha usado y se usa actualmente en productos medicinales, se utiliza en la quimioterapia y para tratar la leucemia y la estomatitis.

La solución de Fowler contiene un 1% de trióxido de arsénico, en épocas pasadas fue utilizado para tratar enfermedades cutáneas como la psoriasis y el eczema.

La arsfenamina (salvarsán) fue la primera cura efectiva para la sífilis, hasta que fue reemplazada por los antibióticos.

El arsénico puede encontrarse en alimentos como la comida de mar especialmente almejas, ostras, ostiones, crustáceos y en ciertos peces de aguas frías que se alimentan en el fondo marino, así como en algas marinas. Hay referencias sobre la presencia de muy altos niveles de arsénico inorgánico (MMA) en algas hijiki.

### **2.2.3.1 Exposición al arsénico**

El índice biológico de exposición para la vigilancia de la salud de los trabajadores es de: orina de 24 horas < 100ug/L según NIOSH. <sup>(3)</sup>

Las fuentes ambientales de exposición al arsénico son: alimentos, agua, suelo y aire. <sup>(12)</sup>

Los grupos poblacionales en riesgo de una sobre exposición al arsénico incluyen:

Trabajadores industriales.

Personas que trabajan con madera tratada con arsenato cromado de cobre.

Personas que consumen agua de pozos privados que tienen altos niveles de arsénico, en determinadas áreas geográficas.

El feto de una madre que ha estado expuesta al arsénico.

Los efectos tóxicos del arsénico dependen de la naturaleza, extensión de la exposición (dosis), y particularmente de la concentración de arsénico en el momento de la exposición, frecuencia de la exposición, duración de la exposición y el tipo de arsénico presente durante la exposición. <sup>(12)</sup>

### 2.2.3.2 Toxicocinética

- **Absorción**

La inhalación es la vía de ingreso más importante del As y sus compuestos en una exposición ocupacional. Esta vía es condicionada por el tamaño de partículas, por su solubilidad y por la forma química del compuesto.

En el aire del ambiente laboral metalúrgico predomina  $iAs^{+3}$  en forma de partículas y su inhalación sigue las pautas de los aerodispersoides: las partículas más grandes se depositan en el tracto respiratorio superior y desde allí pueden ser removidas por las vibrisas o por el moco hacia el exterior o al tubo digestivo y en este, dependiendo de su solubilidad, se absorben bien.

En el pulmón las partículas menores de 7  $\mu m$  se absorben entre 75y 85%

El  $iAs^{3+}$  es más soluble en lípidos; el  $iAs^{5+}$  se absorbe mejor por el intestino y la absorción de ambos a lo largo de la vía digestiva, disueltos en agua, llega a 95%.

Por piel, los arsenicales húmedos se absorben bien; secos, su absorción solo alcanza 2%.

- **Distribución**

Después de ser absorbido el arsénico llega a la sangre y se une a globulinas. Su pos distribución dentro de las primeras 24 horas lo lleva, entre otros órganos, a hígado, pulmón, riñón, bazo, donde al acoplarse a los grupos sulfidrilo de las proteínas se acumula. En el tejido óseo compite con el fósforo, lo desplaza y puede permanecer allí durante años. Una pequeña cantidad atraviesa las barreras placentarias y hematoencefálicas. Dentro de las siguientes 30 horas, se deposita en el cabello y uñas.

Los niveles de As en secciones del pelo indican el tiempo transcurrido desde el inicio de la exposición. <sup>(8)</sup>

- **Excreción**

El arsénico inorgánico circulante tiene una vida media de 6 horas. La de sus metabolitos es 7,4 para el MMA y 5,6 para DMA. Los porcentajes de excreción renal son para el DMA de 50 a 70%, para el MMA de 15 a 20% y alrededor del 20% se excreta sin metilar. <sup>(8)</sup>

### **2.2.3.3 Toxicodinamia**

La toxicidad de los compuestos arsenicales es compleja y depende de la vía de ingreso, de su valencia y de su forma química. El iAs es el responsable de la intoxicación en el humano y la arsina es el compuesto más tóxico

- Mecanismo bioquímico de acción

El arsénico actúa formando enlaces covalentes con el átomo de azufre de los grupos sulfidrilol, reacción importante porque condiciona que el iAs ingrese a las reacciones bioquímicas solamente en presencia de agua; de esta manera sus compuestos sólidos inorgánicos no podrán actuar en el organismo hasta no ser reducidos. El iAs<sup>3+</sup> ingresa al sistema piruvato-oxidasa ligándose a los grupos sulfidrilo de la proteína, de lo que resulta un complejo anular muy estable. El mecanismo de acción tóxica del iAs<sup>5+</sup> no está plenamente dilucidado; se acepta que previamente es reducido a formas trivalentes.

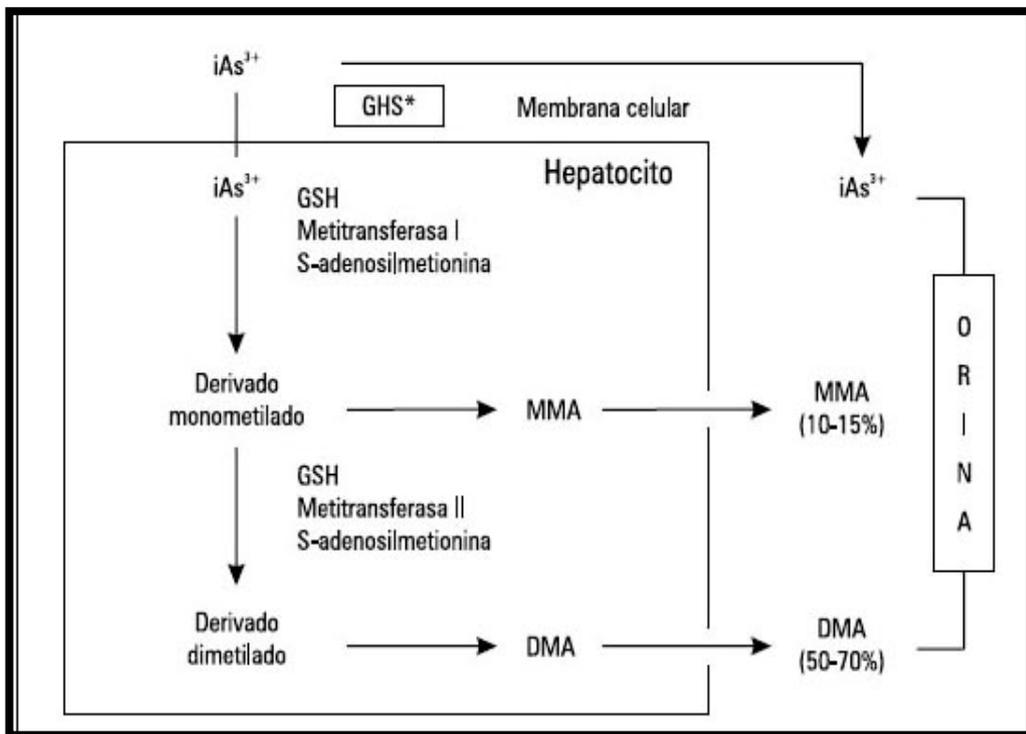
Además, el iAs compite con el fosfato inorgánico en las reacciones de fosforilación, produciendo ésteres inestables. Otros estudios muestran que desacopla la fosforilación oxidativa compitiendo con el fósforo en uno de los pasos de conservación de energía de la reacción. Se ha sugerido también su acción inhibitoria no hidrolítica en la mitocondria ligada a funciones energéticas.<sup>(8)</sup>

- Biotransformación

La investigación actual demuestra que la biotransformación del arsénico y su capacidad de metilación varía y depende de su forma química, de la dosis, del tiempo de exposición, de una dieta rica en metionina y proteínas y de la especie expuesta. Aún no está bien establecida toda la vía metabólica, pero se sabe que su metabolismo

ocurre en el hígado con intervención de procesos secuenciales de metilación oxidativa. Así, la biotransformación del  $iAs^{+3}$  requiere de un primer paso de metilación para obtener ácido monometilarsónico, MMA, y luego en una segunda metilación se alcanza el ácido dimetilarsónico, DMA. La S-adenosinmetionina actuaría como donador de los grupos metilo y el glutatión, un tripéptido no proteínico, como principal agente reductor y detoxificador al donar electrones y transportar al As. <sup>(8)</sup>

**Figura N° 03 Biotransformación del arsénico inorgánico. GHS (Glutatión Sulfhidrilotiol)**



Fuente: revista Scielo

La imagen tomada fue tomada del sitio web Scielo disponible:[http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1025-55832013000300014&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1025-55832013000300014&script=sci_arttext).

#### 2.2.4 Cuadro clínico

Dependiendo del tipo de compuesto, del tiempo e intensidad de la exposición entre los principales signos y síntomas del arsenicismo ocupacional se describe:

- En mucosas, piel y faneras: irritación, edema facial acompañado de melanosis y descamación, líneas de Mees en uñas; hiperpigmentación de pezones, cicatrices de cuello y axilas o leucomelanodermias, que progresan a hiperqueratosis palmo plantar o a enfermedad de Bowen y pueden terminar en carcinoma de piel.
- En el sistema nervioso: neuritis periférica simétrica, neuropatía dolorosa en los segmentos distales de las extremidades, con parestesias e hipofunción motora, encefalopatía, temblor y degeneración axonal.
- En el sistema gastrointestinal: anorexia, dispepsia, náuseas, vómitos y diarreas. Ictericia, hepatomegalia, cirrosis, incremento de las transaminasas, hemangioendotelioma.
- En el riñón: nefritis, cáncer.
- En sangre y sistema cardiovascular: disminución en las tres series, punteado basófilo, cariorrexis. Compromiso miocárdico: ondas T anormales y prolongación del intervalo QT. Acrocianosis, acrodermatitis atrofiante.
- En pulmón: signos bronquíticos, patrón obstructivo en la espirometría; cáncer.
- En el sistema muscular: miopatía, rabdomiólisis.

Las manifestaciones clínicas producidas por los diversos compuestos de este metaloide se pueden clasificar en agudas y crónicas.

a) Intoxicación aguda

La intoxicación aguda es generalmente accidental, debido a:

Ingestión: frecuentemente por anhídrido arsenioso o al plomo.

Contacto local: mucocutáneos puede generarse irritación, aparición de vesículas desprendimientos de piel. Si la distribución es sistémica puede observarse exantema.

Inhalación: el polvo y vapores que contengan arsénico pueden producir irritación de las vías respiratorias, disnea, tos, etc. La inhalación de arsina o hidruro de arsénico ( $\text{AsH}_3$ ) se manifiesta clínicamente tras un periodo de latencia de unas 24 horas.

b) Intoxicación crónica semeja a muchas enfermedades, inclusive a una intoxicación por plomo, se observa frecuentemente en la población ocupacional y no ocupacional expuesta al arsénico. Los signos y síntomas son: lesiones dérmicas, lesiones de mucosas, trastornos del aparato digestivo, alteraciones cardiovasculares, trastornos del sistema nervioso, trastornos hematológicos, trastornos del sistema nervioso y efecto cancerígeno.<sup>(3)</sup>

2.2.4.1 Cáncer

La Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) considera al arsénico dentro del grupo I, un elemento de comprobado efecto cancerígeno para el ser humano, la investigación ha demostrado muy fuerte asociación con cáncer de pulmón y que la intensidad de exposición ocupacional se incrementa la mortalidad por otros

cánceres en los sistemas linfáticos y hematopoyéticos. <sup>(8)</sup>

#### 2.2.4.2 Mutagenesis

En animales se reconoce efectos teratógenos. En trabajadoras expuestas al iAs se describe ruptura cromosómica en los linfocitos y en mujeres con terapia arsenical presencia de micronúcleos, aneuploidía, aumento en la frecuencia de aberraciones cromosómicas y en los intercambios de cromátides, explicados por hipersensibilidad de la tubulina una proteína de los cromátides y del huso mitótico al arsénico. <sup>(8)</sup>

#### 2.2.4.3 Hidroarsenicismo crónico regional endémico (HACRE)

Es una enfermedad ambiental presente en ciertas regiones de los Andes australes de Sudamérica.

La enfermedad es causada por ingesta de agua que ha atravesado formaciones geológicas con alto tenor de sales arsenicales inorgánicas.

Los síntomas del HACRE se caracterizan por una secuencia de trastornos dermatológicos que incluyen hiperhidrosis, hiperqueratosis palmo plantar y leucomelanodermia. Con el tiempo las lesiones se agrietan y se tornan dolorosas hasta la incapacidad y llegan a malignarse.

En algunas zonas del Perú, como cuenca alta del río Mantaro y otras, también existe este riesgo por la presencia de arsénico en las aguas de ríos, riachuelos o puquiales contaminados por la

industria minero metalúrgica.

#### 2.2.4.4 Blackfoot

Es una severa enfermedad vascular periférica de las pequeñas arterias de miembros inferiores, cuyo resultado es gangrena progresiva. Su causa es insuficiencia arterial subclínica con hipercoagulabilidad en la microcirculación que lesiona el endotelio arterial por proliferación de células musculares lisas. <sup>(8)</sup>

### 2.2.5 Control biológico en el trabajador expuesto

El As en orina y en sangre son considerados como biomarcadores de exposición. El arsénico en orina es el procedimiento más fiable para manejar exposición ocupacional, el análisis de As en cabello, o en uñas, es utilizado como indicador de exposición no reciente porque sus métodos analíticos de cuantificación, técnicamente, son muy complejos como para aplicarlos rutinariamente y tampoco diferencian al arsénico proveniente del organismo del adherido a la superficie externa del pelo en su contacto con el ambiente. El arsénico en cabello solo es un buen indicador de exposición antigua.

### 2.2.6 Métodos analíticos

Las pruebas de laboratorio que se usan para la determinación de compuestos arsenicales son las siguientes:

- Métodos colorimétricos: determinan cuantitativamente niveles de As. Para ello usamos papeles reactivos y medimos la intensidad de la coloración producida.
- Espectroscopia de absorción atómica (EAA): es el

método más usado para investigar elementos minerales debido a su gran precisión y sensibilidad. El haz radiante específico para el As se corresponde con las longitudes de onda a 193,7 197,2 nm. No obstante este método no es capaz de distinguir entre especies pentavalentes, trivalentes u organometálicas.

Los mejores indicadores biológicos para la cuantificación de Arsénico son sangre, pelo y orina.

- Arsénico en sangre

La determinación mediante concentraciones sanguíneas de Arsénico solo es útil a los pocos días de una exposición aguda y no para la valoración de una exposición crónica. Esto se debe a la poca vida media que tiene el As en sangre.

Niveles sanguíneos menores de 7 µg/dl, se consideran normales. Los niveles de As en sangre solo son detectables durante las primeras 2 a 4 horas después de la ingestión, después ninguna forma de As es detectable en sangre o suero. No obstante es importante para detectar un incremento de As por exposición laboral, ya que un aumento de As en sangre indica exposición reciente a elevadas concentraciones del tóxico.

- Arsénico en cabello.

Para la valoración de exposiciones pasadas el mejor indicador es el As en el pelo, o incluso en las uñas, aunque la interpretación de los datos se podría complicar dándonos resultados erróneos debido a posibles contaminaciones externas de la muestra. En el cabello valores menores de 0,1 mg As/100g. Son

considerados normales. Antes de la realización de ninguna prueba para el análisis de la muestra, es necesaria la preparación de la misma. Para ello, adicionamos a la muestra HNO<sub>3</sub> concentrado evaporando hasta sequedad para después llevar a un horno mufla con objeto de incinerar la muestra. La temperatura que se debe alcanzar es de aproximadamente 425°C, la cual mantenemos 12 h. Tras este periodo de tiempo se deberían obtener unas cenizas blancas que humedecemos con agua para posteriormente añadir HCl o HNO<sub>3</sub>. Con ello se pretende disolver totalmente las cenizas, agitando si fuera necesario. Si las cenizas no fueran totalmente blancas adicionamos HNO<sub>3</sub> al 10%, evaporamos nuevamente y repetimos el proceso de calcinación en el horno mufla. Cuando tenemos las cenizas blancas y disueltas aforamos las muestras a 25 ml de una disolución de 6M HCl, quedando de esta manera listas para su análisis. <sup>(2)</sup>

- Arsénico en orina

Para medir una exposición actual o reciente el mejor indicador que podemos usar es el Arsénico urinario, debemos tener en cuenta que los pescados y moluscos incrementan mucho la concentración de As en la orina, por lo que al hacer una analítica sería importante no ingerir este tipo de alimentos durante al menos 48 h. antes de su realización. Teniendo en cuenta y estudiando de manera más detallada el As inorgánico y no el total, para no dar una sobreestimación por la elevada presencia de compuestos organoarsenicales en orina, se podría decir que los valores normales de As en orina serían de alrededor de 20 µg/l; más de 200 µg/l

indicarían una exposición elevada y más de 500 µg/l serían concentraciones tóxicas. <sup>(2)</sup>

Los valores referenciales de las concentraciones de arsénico en orina de 24 horas son:

Expuestos no ocupacionalmente: 10 a 50 ug/L de orina.

Expuestos ocupacionalmente: hasta 100 ug/L, concentraciones mayores deben ser investigadas.

Se debe tener en cuenta que el As desaparece a los pocos días de la exposición y que la ingesta de pescados, mariscos y moluscos incrementan de manera notable la concentración de As en orina de 200 hasta 1700 ug/L por lo que debe evitarse su ingestión por lo menos 48 horas antes de hacerse el examen. <sup>(3)</sup>

Según ATSDR (2007) considera anormal que los valores de arsénico total sobrepasen los 100ug/L.

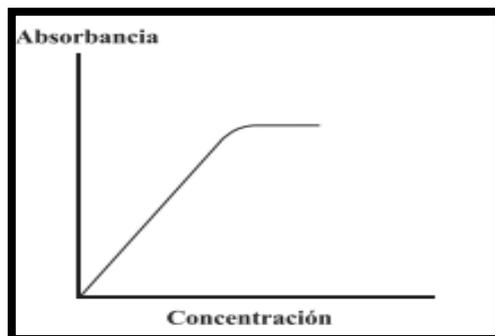
La literatura internacional establece un límite de tolerancia biológica que no debe superar los 35ug/L de Arsénico inorgánico.

### **2.2.7 Espectrofotometría de absorción atómica**

La espectroscopia de absorción atómica mide la cantidad de luz que es absorbida por los átomos del analito a la longitud de onda resonante.

El arsénico forma hidruros covalentes volátiles por reacción con el Borohidruro de sodio en solución ácida, y su generación como gas permite que sean transferidos a una celda de cuarzo calentada a 900 °C donde se produce la disociación y atomización de los mismos. De esta forma, se realiza la determinación de arsénico por la generación de sus hidruros mediante el sistema de inyección de flujo FIAS.

**Figura N° 04 Variación de la absorbancia en función de la concentración de analito.**



Fuente: IBEROARSEN

Disponible en web:

[http://paginas.fe.up.pt/~cigar/html/documents/Monografia2\\_000.pdf](http://paginas.fe.up.pt/~cigar/html/documents/Monografia2_000.pdf)

La luz que se absorbe sigue la ley de Lambert Beer de acuerdo con las siguientes ecuaciones simplificadas:

$$T = I/I_0$$

$$\%A = 100 - \%T$$

$$A = \log (I_0/I)$$

$$A = \epsilon c l d$$

T = transmitancia, I = intensidad de la luz después de atravesar la solución conteniendo el analito, I<sub>0</sub> = intensidad de luz incidente, A = absorbancia, l = longitud de paso óptico (cm), c = concentración del analito (mol L<sup>-1</sup>),  $\epsilon$  = coeficiente de absorción molar (L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>).<sup>(15)</sup>

#### 2.2.7.1 Generación de hidruros

La técnica de absorción atómica con generación de hidruros permite cuantificar en el orden de ppb o ultra trazas elementos como As, Se, Hg, Sn, Sb, Ge, Bi y Te, que tienen la propiedad de formar el hidruro correspondiente. La muestra disuelta en ácido

diluido se mezcla con un agente reductor, tal como una solución de cinc y ácido clorhídrico, cloruro de estaño ( $\text{SnCl}_2$ ) o Borohidruro de sodio ( $\text{NaBH}_4$ ). Esta reacción produce H atómico que reacciona con el As, Se, Hg, Sn, Pb, Sb, Ge, Bi y Te en la solución para formar hidruros volátiles. El Borohidruro de sodio es el reductor más utilizado.

Los hidruros volátiles como la arsina ( $\text{AsH}_3$ ) son arrastrados por un gas portador como nitrógeno a una celda de cuarzo, que es calentada por una llama de aire-acetileno a una temperatura optimizada para producir la atomización del analito. Cuando los gases pasan a través de este tubo calentado, ocurre una descomposición térmica, y se liberan los átomos del elemento:



Al pasar la luz emitida por la lámpara a través del conjunto de átomos, la absorción crece a medida que éstos se producen, llega a un máximo y cae al consumirse el analito y agotarse los átomos de la celda de absorción. Se puede registrar el máximo de absorción, que corresponde a la altura de pico, o el área bajo la curva, para relacionarlas con la concentración del analito. <sup>(15)</sup>

#### 2.2.7.2 Mineralización

Previamente a la generación de la arsina, la muestra, en caso de contener materia orgánica, debe ser sometida a un proceso de digestión para destruir los compuestos orgánicos del As y oxidarlo a

As (V). El As(V) presente en el mineralizado es luego reducido a As(III) por reacción con yoduro de potasio o cloruro de estaño, el que posteriormente es convertido a arsina con Borohidruro de sodio.

Una molécula proteica, por ejemplo, por un mecanismo de neutralización de cargas eléctricas o por fenómenos de absorción o adsorción, forma con los compuestos metálicos y no metálicos combinaciones de elevado peso molecular en las cuales desaparecen todas las características propias de los iones en solución. En esas condiciones, resulta improbable reconocer un elemento metálico ya que no puede ionizarse suficientemente como para producir una concentración adecuada de iones. Por ello es que se hace necesario destruir, disgregar o mineralizar la materia orgánica.

La mineralización de la materia orgánica es un proceso de combustión en el cual todo el carbono se transforma en CO<sub>2</sub>.<sup>(15)</sup>

### **2.2.8 Tratamiento de intoxicaciones arsenicales**

La terapéutica en la intoxicación oral aguda se fundamenta en la aspiración y lavado gástrico con volumen controlado, tratamiento del shock, del edema pulmonar y del daño del miocardio o hepático.

El tratamiento de elección eficaz en el tratamiento es el BAL® (Dimercaprol) que libera el arsénico de las combinaciones enzimáticas reanudando la actividad bioquímica y favoreciendo su eliminación al aumentar su solubilidad al unirse con el BAL®, reduciendo su toxicidad.

Se utiliza a dosis de 1.5 a 3 mg/kg/dosis, según severidad puede resultar beneficiosa. En general el primer día una

dosis cada 4 horas distanciando las dosis en los días siguientes hasta la desaparición de los síntomas.

El BAL® debe administrarse tanto a pacientes sintomáticos como asintomáticos que hayan tomado una dosis tóxica o cuando cuantificamos arsenurias superiores a 200 mg/l. También se puede administrar ácido dimercaptosuccinico que es análogo al BAL® ya que es también eficaz y además menos tóxico.

En intoxicaciones crónicas se debe administrar penicilamina (Cupripen®), 250 mg cada 6 horas.

Para intoxicaciones por arsenamina ninguno de los tratamientos anteriores es eficaz ya que en estos casos debe realizarse una transfusión de sangre para evitar la hemólisis o hacer exanguinotransfusión.

Para el resto de los casos el tratamiento es sintomático prestando especial atención al shock, hipotensión y arritmias (no es aconsejable administrar quinidina o procainamida pues el As prolonga el intervalo QT), al coma, etc.<sup>(2)</sup>

### **2.3 Definición de Términos Básicos**

- **Arsénico**  
Elemento químico cuyo símbolo es As, de color gris y brillo metálico, se presenta raramente sólido, principalmente en forma de sulfuros.
- **Implementar**  
Poner en funcionamiento o aplicar métodos, medidas, etc., para llevar algo a cabo.
- **Arsina**  
Es un compuesto inorgánico gaseoso a temperatura ambiente, es inflamable y altamente tóxico, constituido de hidrógeno y arsénico.
- **Espectrofotometría de Absorción Atómica (EAA)**

Es el método más usado para investigar elementos minerales debido a su gran precisión y sensibilidad.

- **Determinación**  
Acción de determinar o determinarse. La determinación de los objetivos constituye el paso previo para poder hablar de eficacia en el ámbito publicitario; la determinación de la filiación que por naturaleza corresponda al adoptado no afecta a la adopción.
- **Metaloide**  
Son elementos que se encuentran en la región intermedia de la tabla periódica de elementos, entre los metales y no metales.
- **Intoxicación**  
Reacción fisiológica causada por un veneno, o por la acción de una sustancia tóxica o en mal estado; el tóxico puede introducirse oralmente o a través de los pulmones o la piel.
- **Contaminación**  
Es la introducción de sustancias en un medio que provocan que este sea inseguro o no apto para su uso. El medio puede ser un ecosistema, un medio físico o un ser vivo.
- **Analito**  
Especie química, componente (elemento, compuesto o ión) de interés analítico de una muestra.
- **Orina puntual**  
Orina que se colecta durante el momento del muestreo.

## **CAPÍTULO III**

### **METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN**

#### **3.1 Tipo de Investigación**

Esta investigación es aplicada, ya que se siguieron los procedimientos para la determinación de arsénico en orina.

De campo porque se trabajó en el laboratorio químico toxicológico CENSOPAS Instituto Nacional de Salud.

Correlacional ya que con la diferencia de los resultados de arsénico total con el arsénico inorgánico se pudo hallar el arsénico orgánico.

##### **3.1.1 Método**

El presente estudio se rigió por el método científico para la determinación de arsénico en orina.

Inductivo; ya que se trabajó con 4 muestras y los datos que se obtuvieron permitieron elaborar las conclusiones.

##### **3.1.2 Técnica**

a) Implementación de la metodología analítica para la determinación de arsénico total en muestras de orina.

Se implementó una metodología analítica para determinar el contenido de arsénico total, para ello se realizó la digestión de la muestra empleando reactivos que puedan destruir la materia orgánica de la muestra, una vez destruida la materia orgánica se procedió con el análisis, se realizó la pre reducción del arsénico V hacia arsénico III para luego reducir ambas formas a arsénico en forma de hidruros, el cual se determinará en el equipo de absorción atómica.

b) Implementación de la metodología analítica para la determinación de arsénico inorgánico en muestras de orina.

Se implementará una metodología analítica para determinar el contenido de arsénico inorgánico, para ello se realizará la pre reducción del arsénico V hacia arsénico III para luego reducir ambas formas a arsénico en forma de hidruros, el cual se determinará en el equipo de absorción atómica.

### **3.1.3 Diseño**

No experimental; porque no se alteraron las variables de estudio.

Se trabajó el método transversal, porque la información recogida se realizó en el mes de julio a octubre.

Descriptivo; porque este trabajo presentó los pasos seguidos de las técnicas y procedimientos que se realizaron para la cuantificación de resultados.

## **3.2 Población y Muestreo de la Investigación**

### **3.2.1 Población**

Constituida por cualquier persona propensa a estar expuesta a la contaminación por arsénico.

### **3.2.2 Muestra**

Se usó 4 muestras de orina humana para la determinación de arsénico.

La muestra seleccionada estuvo conformada por 4 personas elegidas aleatoria, que serán utilizadas para delimitar el método.

### 3.3 Variables e Indicadores

#### Variable Independiente (X)

VARIABLE	INDICADORES
Determinación de arsénico total y arsénico inorgánico	<ul style="list-style-type: none"><li>• Control estándar (5ppb <math>\pm</math> 15%)</li><li>• Control muestra Biorad Rango (53.4 a 80.2 ug/L).</li></ul>

#### Variable Dependiente (Y)

VARIABLE	INDICADORES
Presencia de arsénico en la orina de la población	<ul style="list-style-type: none"><li>• Concentración de arsénico total en la orina (valores máximos permisibles 10 a 50 ug/L).</li><li>• Concentración de arsénico inorgánico en la orina (valor máximo permisible 35ug/L).</li><li>• Concentración de arsénico orgánico</li></ul>

### 3.4 Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos

#### 3.4.1 Técnicas

##### 3.4.1.1 Determinación de arsénico total en orina

Este método tiene por objetivo estandarizar el procedimiento, los materiales y equipos necesarios para la determinación de arsénico total en muestras de orina con la técnica de digestión asistida por microondas, Generación de hidruros, Inyección de flujo y Absorción atómica.

- **Principio del método**

Las muestras de orina fueron previamente digestadas por microondas con persulfato de potasio para convertir químicamente cada especie de arsénico a una forma química común antes del análisis para el arsénico total.

Luego de la digestión, las muestras fueron pre-reducidas con una solución de reducción conteniendo 5%(w/v) de Ioduro de Potasio (KI) y 5%(w/v) de ácido ascórbico (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>) y se dejó que las muestras tratadas reposen a temperatura ambiente 30 minutos antes del análisis. Los hidruros de los metales volátiles fueron generados en medio ácido por adición de boro hidruro de sodio, el hidruro volátil fue arrastrado por una corriente de gas inerte y atomizado en una cámara de cuarzo previamente calentada y colocada en el camino óptico de la radiación que absorbió el arsénico a 193,7 nm. La cuantificación se efectuó por interpolación en una curva de calibración.

- **Preparación de la muestra**

Para homogenizar la muestra de orina se agitó manualmente, y se invirtió el frasco varias veces durante un minuto evitando la formación de espuma, luego se dejó en reposo de 30 minutos.

Después de homogenizar la muestra se preservó con HNO<sub>3</sub> concentrado.

- **Rango de trabajo**

Para una muestra de orina de 1 ML, el rango óptimo de trabajo se encuentra en el rango de 1

$\mu\text{g/L}$  a  $20 \mu\text{g/L}$  de arsénico. Para muestras más concentradas se harán diluciones.

- **Precisión del método**

Menor al 20% respecto a la reproducibilidad.

- **Límite de detección del método**

El límite de detección del método será de  $5.00 \mu\text{g/L}$

- **Interferencias**

La presencia de algunos metales en altas concentraciones puede reducir significativamente la eficiencia de la generación de hidruros para el arsénico.

- **Lectura de las muestras en el SISTEMA FIAS-AA**

Se colocaron en tubos cónicos de polipropileno de 50 ml los blancos y la curva de calibración, y en tubos de 15 ML las muestras y controles, luego se colocaron todos los tubos en el automuestreador del sistema para su análisis.

Las condiciones del sistema FIAS-AA fueron las siguientes:

Temperatura de la celda:  $900 \text{ }^\circ\text{C}$

Flujo de gas de arrastre (Argón): 70 – 100 L/min

Flujo de la solución de HCl 10%: 9 -11 ML/min

Flujo de la solución de  $\text{NaBH}_4$ : 4 -7 ML/min

Verificación de sensibilidad: Una solución de  $10 \mu\text{gAs/L}$  debe dar una absorbancia de  $0.200 \pm 20\%$ .

La lámpara de Descarga sin Electrodo EDL debe ser encendida unos 30 minutos antes para que se caliente y se estabilice.

Probar el sistema de inyección de flujo.

Encender la celda de cuarzo.

Ingresar la información de las muestras, estándares y controles en el software del equipo, probar la sensibilidad del sistema y comenzar con el análisis.

- **Cálculos**

El resultado se obtuvo directamente en microgramos por litro de orina, debido a que se ingresó la alícuota de la muestra tomada (1 ML) y el volumen de enrase (10 ML) en el software del equipo.

Si el blanco reactivo (BK-R) daba un valor considerable (Mayor al límite de detección) se debió sustraer dicho valor al resultado de todas las muestras analizadas.

Si una muestra daba un resultado mayor al punto más alto de la curva de calibración, se deberá tomar una alícuota menor a 1 ML de las muestras

- **Control de calidad**

Control de la Precisión

Todas las muestras fueron digeridas por duplicado, queda establecido que la desviación estándar relativa (DER) debe ser menor del 20%.

## Control de la contaminación

Se ensayó un blanco de reactivos por cada grupo de muestras, estos valores resultaron cercanos a cero o menores al límite de detección del método.

- **Informe de resultados**

Las muestras con un contenido menor a 7.5 µg As/L, se reportan como menor al límite de detección.

- **Materiales**

Fiolas de 25, 50 y 100 ML.

Frascos de polietileno de 125 ML.

Probeta graduada de 50 ML.

Dispensadores de volumen fijo de 5 y 10 ML.

Micropipetas de volumen variable de 100, 1000 µL. y de 0.5 ,5.0 ML.

Puntas de pipetas de 1 y 5 ML.

Pipetas volumétricas de 1, 2, 3, 4, 5, 10 y 25 ML de capacidad.

- **Reactivos**

H<sub>2</sub>O libre de arsénico.

HNO<sub>3</sub> concentrado (71%)

HCL concentrado (37%)

Solución de pre reducción (KI 5% y Ácido ascórbico 5%)

Solución para digestión (persulfato de potasio 3%)

Solución de Borohidruro de sodio 0.2% en NAOH 0.05%.

Solución estándar de arsénico de 1000 µg/ML

*Disolución de trabajo de arsénico de 10 µg/ML,*  
Pipetear 1,00 ML de la solución patrón de 1000 µg/ML en una fiola de 100 ML y aforar con ácido nítrico 0.5%.

*Disolución de trabajo de arsénico de 0.1 µg/ML,*  
Pipetear 1,00 ML de la disolución de 10 µg/ML en una fiola de 100 ML y se diluye hasta dicho volumen con ácido nítrico 0.5%.

- **Desarrollo del método de ensayo**

- a) Toma de muestras

La muestra de orina puntual fue colectada en un frasco polietileno de 125 ml.

Se añadió como preservante ácido nítrico.

La muestra de orina permaneció refrigerada entre 4° a 8°C durante su transporte y almacenamiento.

- b) Tratamiento de la muestra

Se preparó una solución de persulfato de potasio 3%, esta solución tuvo solo 1 día de vigencia.

Se tomó 1 ML de la muestra de orina y se colocó en el tubo de teflón del equipo microondas, adicionando 9 ML persulfato de potasio ( $K_2S_2O_8$ ).

Se realizó la digestión asistida por microondas de esta solución, según los parámetros de la tabla 03.

Se trasvasó las muestras digestadas a tubos de 50 ml, enjuagando el envase de teflón con ácido nítrico al 10% y vertiendo el contenido al tubo

para la recuperación total de la muestra, cuidando de que el volumen no llegue a más de 15 ML.

**Tabla N° 03 Parámetros de digestión por microondas**

Parámetros de digestión por microondas		
#	T (min)	T (°C)
1	10:00	140°C
2	05:00	200°C
3	15:00	200°C
4	Ventilación por 10 min	-

Fuente: CENSOPAS

c) Blanco de reactivos

Se tomó 1 ML de agua destilada, y todos los reactivos y soluciones utilizados en el procesamiento de las muestras y queda lista para ser analizada en el equipo.

d) Muestras de controles de orina

Se consideró que el volumen de la alícuota a tomar sea el adecuado para que al momento de leerlo en el equipo quede dentro del rango de trabajo, el tratamiento es el mismo que para las muestras, considerar según tabla 03.

Se considera como control de proceso (Biorad lote 69171 rango 53.4 a 80.2).

- e) Control estándar 5 ppb, considerado como control de calibración no se realiza dilución y se acepta un error  $\pm 15\%$ .
- f) Preparación de la curva de calibración  
Se colocan en fioas de 50 ML las alícuotas de la solución stock 100  $\mu\text{g/L}$  de arsénico como se indica en la tabla 4.

**Tabla N°04. Preparación de la curva de calibración**

Solución Stock $\mu\text{g/L}$	Alícuota ml	Volumen de Enrase, ml	Estándar As $\mu\text{g/L}$ (ppb) [ ] final
0	0.0	50	0.0
100	0.5	50	1.0
100	1.0	50	2.0
100	2.5	50	5.0
100	5.0	50	10.0
100	10.0	50	20.0

Fuente: CENSOPAS

- g) Pre-reducción del arsénico

Todas las muestras, estándares y controles pasaron por pre reducción antes de ser analizadas por absorción atómica.

- Pre-reducción del arsénico en las muestras, blancos y controles

Se tomó alícuota de 5 ML para las muestras y el blanco en tubos de ensayo de 15 ML; para el

caso de los controles se tomó un volumen tal que el resultado esperado este dentro de la curva de calibración.

Se les agregó 2 ML de la solución de pre-reducción (Solución de ácido ascórbico 5% e Yoduro de potasio 5%), y 3 ML de ácido clorhídrico concentrado.

Se dejó en reposo toda la mezcla al menos 30 minutos a temperatura ambiente.

Luego se enrasó los tubos con agua desionizada, la muestra estaba lista para ser analizada por el sistema de Inyección de flujo-Absorción atómica.

- **Pre-reducción del arsénico en los estándares**

En este caso las alícuotas se tomaron a partir de una solución stock de arsénico de 100 ug/L indicadas en la tabla 4, en fiolas de 50 ML.

Se les agregó 5 ML de la solución de pre-reducción (Solución de ácido ascórbico 5% - Yoduro de potasio 5%), y 5 ML de ácido clorhídrico concentrado.

Se dejó en reposo toda la mezcla al menos por 45 minutos a temperatura ambiente.

Luego se enrasó las fiolas con agua, la muestra estaba lista para ser analizada por el sistema de Inyección de flujo-Absorción atómica.

### **3.4.1.2 Determinación de Arsénico Inorgánico en Orina**

Este método tiene por objetivo estandarizar el procedimiento, los materiales y equipos necesarios para la determinación de arsénico inorgánicos en

muestras de orina con la técnica de Generación de hidruros, Inyección de flujo, Absorción atómica.

- **Principio del método**

Las muestras de orina fueron pre-reducidas con una solución de reducción conteniendo 5%(w/v) de Ioduro de Potasio (KI) y 5%(w/v) de ácido ascórbico (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>) y se dejó que las muestras tratadas reposen a temperatura ambiente 30 minutos antes del análisis. Los hidruros de los metales volátiles fueron generados en medio ácido por adición de Borohidruro de sodio, el hidruro volátil fue arrastrado por una corriente de gas inerte y atomizado en una cámara de cuarzo previamente calentada y colocada en el camino óptico de la radiación que absorberá el arsénico a 193,7 nm. La cuantificación se efectuó por interpolación en una curva de calibración.

- **Límite de detección del método**

El límite de detección del método será de 1.67 ug/L.

- **Materiales**

Tubos de ensayo de polipropileno

Fiolas de 25 ML

Fiolas de 100 ML

Fascos de polietileno de 125 ML

Pipetas volumétricas de 1, 2, 3, 4, 5 y 10 ML de capacidad.

- **Reactivos**

El agua debe estar libre de arsénico.

Ácido nítrico concentrado (71%)

Ácido clorhídrico concentrado (37%),  
Solución de pre reducción (Yoduro de potasio  
5% - Ácido ascórbico 5%)

Solución de Borohidruro de sodio 0.5% en  
hidróxido de sodio 0.125 %.

Solución estándar de arsénico de 1000 µg/ML

*Disolución de trabajo de arsénico de 10 µg/ML,*  
Pipetear 1,00 ML de la solución patrón de 1000  
µg/ML en una fiola de 100 ML y aforar con ácido  
nítrico 0.5%.

*Disolución de trabajo de arsénico de 10 µg/ML,*  
Pipetear 1,00 ML de la solución patrón de 1000  
µg/ML en una fiola de 100 ML y aforar con ácido  
clorhídrico 0.5%.

- **Desarrollo del método de ensayo**

- a) Toma de muestras

La muestra de orina puntual es colectada en un  
frasco de polietileno de 125 ML.

Se añadió como preservante 1 ML de ácido  
nítrico.

La muestra de orina permaneció refrigerada  
entre 4° a 8°C durante su transporte y  
almacenamiento.

- b) Tratamiento de la muestra

Se trasvasó una alícuota de 1 ML de muestra a  
un beaker de 25 ML de capacidad.

Todas las muestras, estándares y controles se  
pre reducir antes de ser analizadas por  
absorción atómica.

Se les agregó 2 ML de la solución de pre-reducción (Solución de ácido ascórbico 5% e Yoduro de potasio 5%), y 3 ML de ácido clorhídrico concentrado.

Se le agrego 4 ML de agua destilada, llegándose a un volumen final de 10 ML.

### **3.4.2 Instrumentos**

Equipo microonda Anton Paar con capacidad de operación máxima hasta 240°C

Equipo de absorción atómica con automuestreador y sistema de generación de hidruros sistema FIAS 100 -AA

Lámpara de descarga sin electrones EDL de arsénico.

Plancha de calentamiento con capacidad de operación de 140 a 250° C.

## CAPÍTULO IV

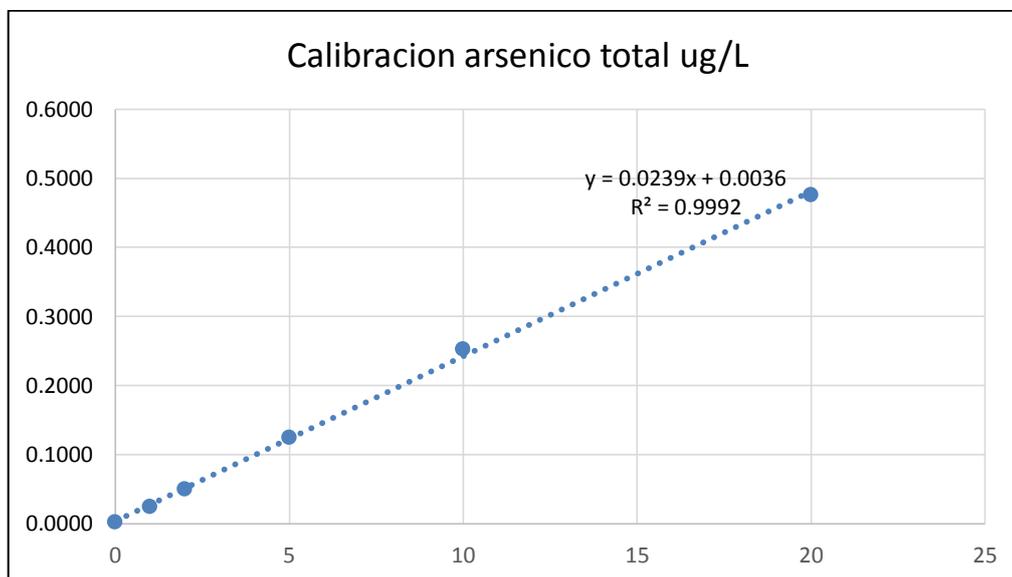
### PRESENTACIÓN, ANALISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

#### 4.1 Resultados

Tabla N° 05 Valores estándares

Muestra / estándar	Concentración estándar (ug/L)	Absorbancia (A)
Blanco	0	0.0020
Estándar 1 ug/L	1	0.0244
Estándar 2 ug/L	2	0.0500
Estándar 5 ug/L	5	0.1242
Estándar 10 ug/L	10	0.2523
Estándar 20 ug/L	20	0.4762

Grafica N° 01 Curva de Calibración



Fuente: Elaboración propia

Ecuación de la calibración, buena recta ya que  $R^2$  salió 0.9992

Ecuación de calibración

Abs. =  $0.0239 \times \text{Conc As tot} + 0.0036$

Coefficiente de correlación 0.9992

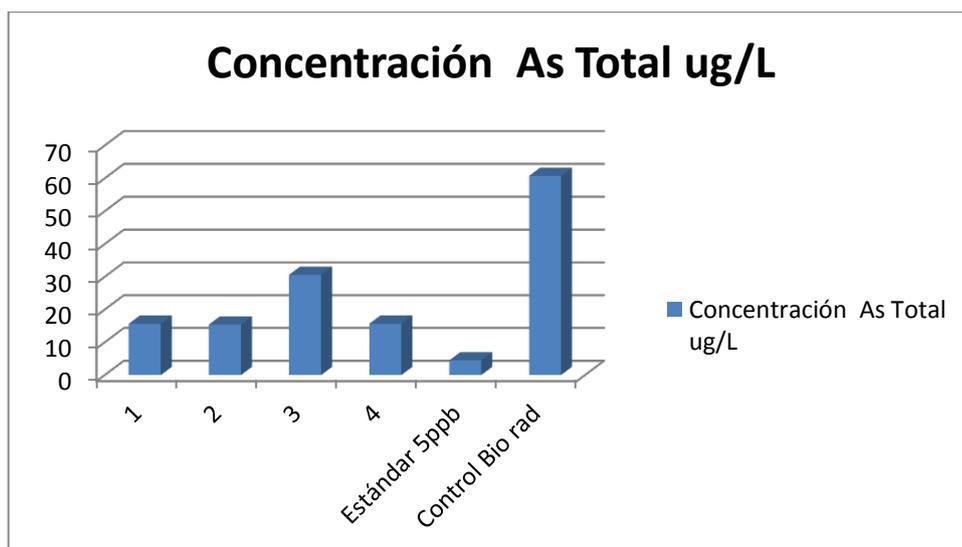
#### 4.1.1 Determinación de arsénico total en orina

Tabla N° 06 Determinación de arsénico total

Muestra	Alícuota ml	Dilución muestra	A de la muestra	Concentración As Total diluido	Concentración As Total ug/L
1	1	30	0.0161	0.5230	15.6903
2	1	30	0.0159	0.5146	15.4393
3	1	30	0.0280	1.0209	30.6276
4	1	30	0.0161	0.5230	15.6903
Estándar 5ppb	1	0	0.1117	4.5230	4.5230
Control Bio rad	1	30	0.0520	2.0251	60.7531

Fuente: Elaboración propia

Grafica N° 02 Concentración de As Total



Fuente: Elaboración propia

La muestra 3 tuvo una concentración de arsénico total mayor a las demás muestras.

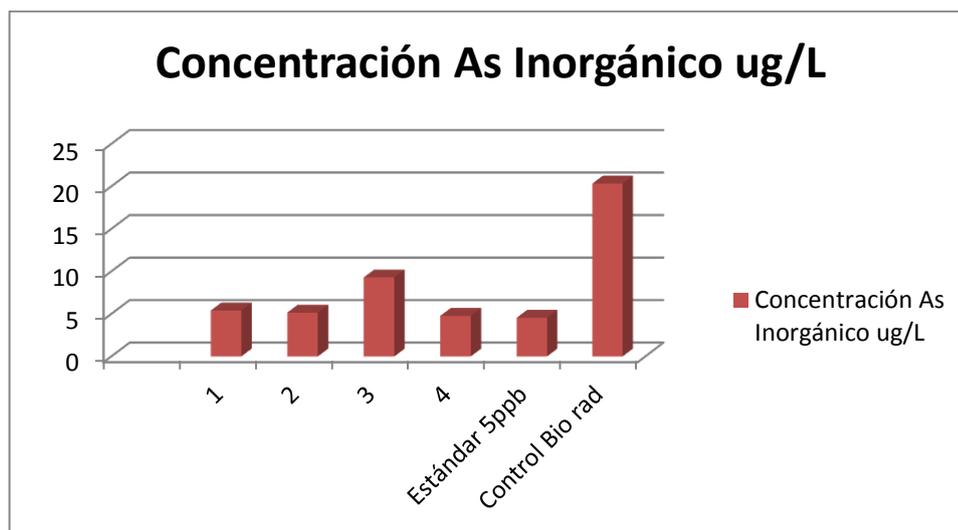
#### 4.1.2 Determinación de arsénico inorgánico en orina

Tabla N° 07 Determinación de arsénico inorgánico

Muestra	Alícuota ml	Dilución muestra	A de la muestra	Concentración As Inorgánico diluido	Concentración As Inorgánico ug/L
1	1	10	0.0165	0.5397	5.3974
2	1	10	0.0159	0.5146	5.1464
3	1	10	0.0258	0.9288	9.2887
4	1	10	0.0150	0.4769	4.7698
STD 5ppb	1	0	0.1125	4.5564	4.5564
Control Bio rad	1	10	0.0522	2.0334	20.3347

Fuente: Elaboración propia

Gráfica N° 03 Concentración de Arsénico inorgánico



Fuente: Elaboración propia

La muestra 3 tuvo una concentración de arsénico inorgánico mayor a las demás muestras.

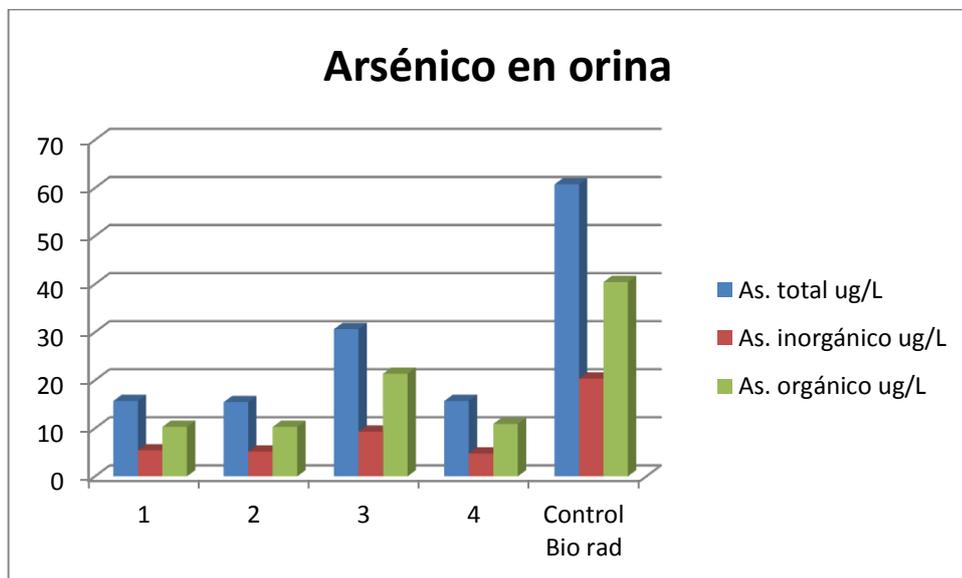
### 4.1.3 Arsénico orgánico en orina

**Tabla N° 08 Concentración de arsénico orgánico**

Muestras	As. total ug/L	As. inorgánico ug/L	As. orgánico ug/L
1	15.6903	5.3974	10.2929
2	15.4393	5.1464	10.2929
3	30.6276	9.2887	21.3389
4	15.6903	4.7698	10.9205
Control Bio rad	60.7531	20.3347	40.4184

Fuente: Elaboración propia

**Grafica N° 04 Concentración de As Total, inorgánico y orgánico**



Fuente: Elaboración propia

La diferencia de arsénico total y arsénico inorgánico nos dio como resultado la concentración de arsénico orgánico.

## 4.2 Análisis e Interpretación de resultados

- En grafico N°01 se aprecia que la curva de calibración realizada con los estándares de arsénico es válida tanto para el caso de arsénico total y para el arsénico inorgánico, debido a que en ambos casos la determinación final se realiza en el arsénico liberado de la muestra.
- Para el caso de la determinación del arsénico total, se observa que es necesario realizar la digestión de la muestra en un sistema de condiciones extremas de presión y temperatura como el horno de digestión microondas, debido a que la mayor cantidad de arsénico se encuentra unida a grupos orgánicos como por ejemplo el monometilarsénico (MMA) o el dimetilarsénico (DMA) los cuales tal como están no pueden ser analizados directamente en el sistema de generación de hidruros-absorción atómica.
- La diferencia del resultados de arsénico total y arsénico inorgánico nos dio como resultado de arsénico orgánico en ug/L
- Los valores encontrados de arsénico en orina en las muestras procesadas no representan un riesgo para la salud de las personas estudiadas, esto indicaría que las personas estudiadas no están expuestas a arsénico.
- La digestión por microondas permite la disolución total de las muestras de orina debido a que el arsénico forma muchas especies orgánicas las cuales son difíciles de extraer por otros métodos.
- La reducción directa con ácido ascórbico y yoduro de potasio sólo puede generar hidruros a partir del arsénico inorgánico, sin embargo las formas arsenicales no son analizadas por esta metodología.

## DISCUSIÓN

- Según la investigación realizada por **Paul Alfonso**, en su estudio “Evaluación de arsénico en orina de pobladores adultos del distrito de Ite. Tacna”, (2012) Perú. concluyó que el promedio de la concentración de arsénico obtenido, en orina de pobladores adultos del distrito de Ite, es de 36,4918  $\mu\text{g/g}$  de creatinina. Excede el Límite de Tolerancia Biológica establecido por la Dirección General de Salud de las Personas del Ministerio de Salud (DGSP/MINSA). En el presente trabajo los resultados obtenidos de las muestras procesadas indican que las personas estudiadas no están expuestas a arsénico.
- En el estudio realizado por **Edwin Flores, Flores Espinoza, Robert Pérez Bobadilla, Javier Eduardo**, titulado “Determinación de arsénico, por absorción atómica, en agua de consumo humano proveniente de Sedapal, de cisterna y de pozo del distrito de puente piedra”, (2009) Lima. indica la concentración máxima permisible dada por la Norma Técnica Peruana (50  $\mu\text{g/L}$ ) y OMS (10  $\mu\text{g/L}$ ) hallándose la concentración promedio de arsénico en el agua de consumo humano proveniente de pozo fue de 22,40  $\mu\text{g As/L}$ , la cual está por encima del límite permisible establecido por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y por debajo del límite permisible dado por la Norma Técnica Peruana (NTP 214.003.87). En la investigación realizada el promedio de arsénico total de las muestras nos indica arsénico Total 19  $\mu\text{g/L}$ , se podría decir que los valores normales de As en orina serían de alrededor de 20  $\mu\text{g/L}$ ; más de 200  $\mu\text{g/L}$  indicarían una exposición elevada y más de 500  $\mu\text{g/L}$  serían concentraciones tóxicas.

- En la investigación realizada por **Carmen Lovey y María Giménez**, titulado “Arsénico Total en orina: Evaluación de población expuesta en la provincia de Chaco”, (2008) Argentina. indica que las concentraciones de arsénico en las muestras de orina están en el rango entre 46,7 a 2431 ug/L, mientras que las de agua entre 30 a 1443 ug/L. El análisis entre las mismas presenta una correlación positiva. Esto nos señala el peligro al que está expuesta la población. En el presente trabajo la determinación de orina total de las muestras analizadas nos dio como resultados un promedio dentro del límite permisible según la Norma Técnica Peruana.
- Según la investigación realizada por **Alexandra Galetovic** titulado “Arsénico en el agua de bebida: un problema de salud pública”, (2003) Brasil. concluye que la OMS recomienda un valor para agua de bebida es 10 mg As/L y la EPA reducirá el valor guía para arsénico en el agua de bebida de 50 µg/L para 10 µg/L. en el presente estudio siguiendo estos límites de concentración de arsénico nos indicaría que el promedio hallado de 19ug/L se encuentra concentraciones normales para personas no expuestas.

## CONCLUSIONES

- En el presente trabajo se aplicó una metodología analítica para la determinación de arsénico en orina utilizando la técnica de espectrofotometría de absorción de atómica con generación de hidruros.
- Con la metodología analítica se consiguió determinar las concentración de arsénico total en orina, donde todas las muestras se encuentran por debajo de los valores máximos permisibles, establecido por la guía técnica peruana con el criterio de expuestas no ocupacionalmente que tiene como rango 10 a 50 ug/L.
- Con la metodología analítica se consiguió determinar las concentraciones de arsénico inorgánico en orina, según la literatura internacional establece un límite de tolerancia biológica que no debe superar los 35ug/L de Arsénico inorgánico, estableciendo que todas las muestras se encuentran por debajo de los valores máximos permisibles.
- La presencia de arsénico en orina está conformada por los componentes de arsénico inorgánico y arsénico orgánico, ambos dan como resultado el arsénico total. Al relacionar la concentración del arsénico total con el arsénico inorgánico nos dará como resultado la concentración de arsénico orgánico. Encontrándose que todas las muestras se encuentran por debajo de los valores máximos permisibles.

## RECOMENDACIONES

- Es muy importante que las muestras, blancos y controles tengan el mismo tiempo de reposo durante la pre-reducción que los estándares de la curva de calibración.
- La curva de calibración para la determinación de arsénico es lineal solo hasta los 20 ug/L, debido a que a mayores valores de concentración de arsénico, la curva ya no es lineal, y se reportaría resultados no correctos, se recomendaría usar muestras más diluidas.
- Se recomienda probar otras técnicas de digestión con ácidos inorgánicos, en plancha de calentamiento sin el uso de horno microondas, debido a que este es un equipo de alto costo y que debería adoptarse otra alternativa más accesible ante la falta de este equipo.
- Se recomienda realizar otros estudios relacionado a la cantidad de arsénico inorgánico y de arsénico orgánico en las personas de una población expuesta a agua contaminada con arsénico.
- Se recomienda realizar un estudio sobre la presencia de arsénico inorgánico y su relación con el consumo de agua contaminada con arsénico debido a que en el agua la contaminación se da por presencia de arsénico inorgánico y no por arsénico orgánico.
- Se recomienda estimar la relación de arsénico inorgánico versus arsénico orgánico en la población no expuesta y compararlas con los mismos indicadores en una población expuesta para estudiar la variación de estos indicadores en ambas poblaciones.

## FUENTES DE INFORMACIÓN

1. Organización Mundial de la Salud; norma descriptiva N° 372 Diciembre 2012. Disponible en:  
[http://www.who.int/ipcs/assessment/public\\_health/arsenic/es/](http://www.who.int/ipcs/assessment/public_health/arsenic/es/).
2. M.L. Suárez. Análisis, diagnóstico y tratamiento de las intoxicaciones es arsenicales. Cuadernos de Medicina Forense N°35; 2004. Disponible en:  
<http://scielo.isciii.es/pdf/cmfn35/Art01.pdf>
3. Perú. Ministerio de Salud. Ley N°26842 Memorándum N°389 de 2011, Mayo 18, por aprueba el proyecto de Guía de práctica clínica para diagnóstico y tratamiento de la intoxicación por arsénico. Lima: El Ministerio; 2011.  
Disponible en:  
<http://www.minsa.gob.pe/dgsp/documentos/Guias/RM389-2011-MINSA%20Intox.%20Arsenico.pdf>.
4. Paul Alfonso. Evaluación de arsénico en orina de pobladores adultos del distrito de Ite. Tacna 2012 (tesis licenciatura). Tacna: Universidad Nacional Jorge Basadre Grohman; 2013.
5. Flores Espinoza, Edwin Robert, Pérez Bobadilla. Determinación de arsénico, por absorción atómica, en agua de consumo humano proveniente de SEDAPAL, de cisterna y de pozo del distrito de Puente Piedra. (tesis licenciatura). Lima. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2009.
6. Lovey, Carmen A. Arsénico total en orina: Evaluación de población expuesta en la Provincia del Chaco. (tesis doctoral). Argentina. Universidad Nacional del Nordeste; 2008.
7. Alexandra Galetovic. Arsénico en el agua de bebida: un

problema de salud pública. Rev. Bras. Cienc. Farm. vol.39 no.4 São Paulo Oct. /Dic. 2003.

8. Augusto V. Ramírez. Exposición ocupacional y ambiental al arsénico. Actualización bibliográfica para investigación científica. An Fac Med. 2013; 74 (3):237- 247. Disponible en:  
<http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/anales/article/viewFile/2642/2314>.
9. A. Carbonell Barrachina, F. M. Burló. Arsénico en el sistema suelo planta. Universidad de Alicante, España 1995.  
Disponible en:  
<http://publicaciones.ua.es/filespubli/pdf/LD8479081929819613.pdf>.
10. Naria Oyanedel G. Instituto de Salud Pública de Chile: Exposición laboral a Arsénico, Departamento de Salud Ocupacional. Nota Técnica N° 024, septiembre 2015.  
Disponible:  
<http://www.ispch.cl/sites/default/files/NotaT%C3%A9cnica%20N%C2%B0%20024%20Exposici%C3%B3n%20Laboral%20a%20Ars%C3%A9nico.pdf>
11. Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. Resumen de Salud Pública Arsénico, EE.UU. Agosto 2007.  
URL disponible en:  
[https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es\\_phs125.pdf](https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs125.pdf)
12. Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades, Estudio de Caso en Medicina Ambiental (CSEM). La toxicidad de Arsénico, EE.UU. 01 de octubre de 2009. Disponible en:

[http://www.atsdr.cdc.gov/es/csem/arsenic/docs/arsenic\\_csem\\_spanish.pdf](http://www.atsdr.cdc.gov/es/csem/arsenic/docs/arsenic_csem_spanish.pdf).

13. Seguridad y Salud Ocupacional. Evaluación de la exposición.

Disponible en:

<https://www.osha.gov/SLTC/arsenic/index.html>

Consultado: 15 de Octubre de 2016.

14. Agencia de protección ambiental de estados unidos, diagnóstico

y tratamiento por envenenamiento de plaguicidas. EE.UU.

Setiembre 2015. Disponible en:

[https://search.epa.gov/epasearch/epasearch?querytext=ars%C3%A9nico+en+orina&typeofsearch=epa&doctype=all&originalquerytext=limites+arsenico&areaname=&faq=true&filter=&fld=&sessionid=5B2000E38A755B2F639B2BEAE65D96AA&referer=https%3A%2F%2Fwww.epa.gov%2Flaws-regulations&prevtype=epa&result\\_template=2col.ftl&stylesheet=](https://search.epa.gov/epasearch/epasearch?querytext=ars%C3%A9nico+en+orina&typeofsearch=epa&doctype=all&originalquerytext=limites+arsenico&areaname=&faq=true&filter=&fld=&sessionid=5B2000E38A755B2F639B2BEAE65D96AA&referer=https%3A%2F%2Fwww.epa.gov%2Flaws-regulations&prevtype=epa&result_template=2col.ftl&stylesheet=)

15. M.I. Litter, M.A. Armienta, metodologías analíticas para la determinación y especiación de arsénico en aguas y suelos.

CYTED Argentina, Octubre 2009. Disponible en:

[http://paginas.fe.up.pt/~cigar/html/documents/Monografia2\\_000.pdf](http://paginas.fe.up.pt/~cigar/html/documents/Monografia2_000.pdf)

16. España. Ministerio De Empleo y Seguridad Social. Real Decreto

374 de 2001 que deroga los Límites de exposición profesional para agentes químicos en España. Madrid: Instituto Nacional de

Seguridad e Higiene en el Trabajo; 2014. Disponible:

[http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/LEP%20\\_VALORES%20LIMITE/Valores%20limite/Limites2014/FINAL%20-%20Web%20v5%20-%20LEP%202014%20-%2029-01-2014.pdf](http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/LEP%20_VALORES%20LIMITE/Valores%20limite/Limites2014/FINAL%20-%20Web%20v5%20-%20LEP%202014%20-%2029-01-2014.pdf)

## ANEXOS

**Figura N° 05 Muestras de orina**



Fuente: Elaboración propia

**Figura N° 06 Equipo de digestión por microondas**



Fuente: Elaboración propia

**Figura N° 07 Equipo de espectrofotometría de absorción atómica**



Fuente: Elaboración propia

ANEXO

Título del Proyecto de Tesis: IMPLEMENTACIÓN DE UNA METODOLOGÍA ANALÍTICA PARA DETERMINAR ARSÉNICO EN ORINA

MATRIZ DE CONSISTENCIA

Presentado por: Valencia Cochachi Abigail

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACION	METODO Y DISEÑO DE INVESTIGACION	VARIABLES	POBLACION Y MUESTRA
¿Se podrá implementar una metodología analítica para determinar arsénico en orina?	<p>Implementar una metodología analítica para determinar arsénico en orina.</p> <p><b>Objetivos Específicos</b></p> <p><b>O.E.1:</b> Determinar arsénico total en orina con la metodología implementada.</p> <p><b>O.E.2:</b> Determinar arsénico inorgánico en orina con la metodología implementada.</p> <p><b>O.E.3:</b> Relacionar la concentración de arsénico total con el arsénico inorgánico en orina.</p>	<p>Se podría implementar una metodología analítica para determinar arsénico en orina.</p> <p><b>Hipótesis Específicas</b></p> <p><b>H.E.1:</b> se podría determinar arsénico total en orina con la metodología implementada.</p> <p><b>H.E.2:</b> se podría determinar arsénico inorgánico en orina con la metodología implementada.</p> <p><b>H.E.3:</b> Se podría relacionar la concentración de arsénico total con el arsénico inorgánico en orina.</p>	<p><b>Tipo de Investigación</b></p> <p>Aplicada</p> <p>De campo</p> <p>Correlacional</p>	<p><b>Método de Investigación</b></p> <p>Científico</p> <p>Inductivo</p> <p><b>Diseño de Investigación</b></p> <p>No experimental</p> <p>Transversal</p> <p><b>Descriptivo</b></p>	<p><b>Variable Independiente (X)</b></p> <p>Determinación de arsénico total e inorgánico</p> <p><b>Indicadores:</b></p> <p>Control estándar</p> <p>Control BIORAD</p> <p><b>Variable Dependiente (Y)</b></p> <p>Presencia de arsénico en la orina de la población.</p> <p><b>Indicadores:</b></p> <p>Concentración de As Total.</p> <p>Concentración de As Inorgánico.</p> <p>Concentración de As orgánico.</p>	<p><b>Población:</b></p> <p>Constituido por cualquier persona propensa a estar expuesta a la contaminación por arsénico.</p> <p><b>Muestra:</b></p> <p>Se usó 4 muestras de orina humana para la determinación de arsénico.</p> <p>Persona seleccionadas aleatoriamente para delimitar el método</p>