

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO

Colegio de Ciencias e Ingeniería, El Politécnico

**Determinación de la presencia de arsénico en balanceados, gallinazas y
vísceras de pollos**

María Gabriela Naula Naula

Carlos Fabara, M.Sc., Director de Tesis

Tesis de grado presentada como requisito
para la obtención del título de Ingeniera Química

Quito, diciembre de 2012

Universidad San Francisco de Quito
Colegio de Ciencias e Ingeniería, El Politécnico
HOJA DE APROBACIÓN DE TESIS

**Determinación de la presencia de arsénico en balanceados, gallinazas y
vísceras de pollos**

María Gabriela Naula Naula

Carlos Fabara, M.Sc.

Director de Tesis y

Miembro del Comité de Tesis

Lourdes Magdalena Orejuela, M.Sc.

Miembro del Comité de Tesis

Diego Gangotena, M.Sc

Miembro del Comité de Tesis

Santiago Gangotena, Ph.D.

Decano de Colegio de Ciencias e Ingeniería

Quito, diciembre 2012

© DERECHOS DE AUTOR

Por medio del presente documento certifico que he leído la Política de Propiedad Intelectual de la Universidad San Francisco de Quito y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo de investigación quedan sujetos a lo dispuesto en la Política.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo de investigación en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Firma:

Nombre: María Gabriela Naula Naula

C. I.: 171086835-5

Fecha: 21 de diciembre de 2012

Dedicatoria

A quien conoce mi mundo de misterios

A quién más le debo y le deberé

A quien más esfuerzo puso en mi tesis

A ti Dios te dedico todo esto, sólo a ti,

mi hacedor de sueños.

Agradecimientos

Quiero agradecer a mi madre, Mercedes Naula, por tu inmenso apoyo y comprensión, por tu consuelo en momentos de tristeza, y por tu insistencia para culminar esta tesis. Gracias por enseñarme a ser una mujer de bien en todo aspecto. Eres muy sabia mami.

A Francisco Naula, mi padre, por tu apoyo e insistencia para que dé inicio a mi trabajo de Tesis. Gracias por siempre, a tu manera, demostrar tu interés para que termine mis estudios y tenga una buena vida. Gracias por todo tu esfuerzo para mi bien.

A mis inigualables, incomparables y únicos hermanos, José, Paúl y Danny, por sus abrazos y palabras de aliento. Muchas gracias por sus oraciones y por insistirme tanto. Los amo demasiado, a cada uno, disfruto de tener los a los tres, disfruto de la autenticidad de cada uno. Son mis amigos y maestros.

A mis amigos Deisy, Roxy, Katy y Peter. Deisy gracias por todas tus palabras y por ayudarme a creer en algo que me cuesta. Eres muy especial para mí y agradezco mucho a Dios por tu vida. Roxy, gracias por siempre mostrarme apoyo, despertarme y por estar ahí cuando la tristeza o desanimo quería inundar mis ojos. Eres una gran amiga. Gracias. Katy, gracias porque de una forma u otra tú me has demostrado apoyo, acompañándome y viendo que no me desenfoque por mi sueño. Gracias Katy. Peter, gracias por ayudarme, por tu compañía y por ser un sincero amigo, muchas gracias Peter Puente.

A Jady, Tanita, Ily, Suli, Fer y Abi, por sus oraciones, por ser amigas auténticas y por animarme cuando lo necesitaba. Son muy importantes para mí. Gracias

A Carlos Fabara, mi Director de Tesis, de quien es la idea original de mi tesis. Gracias Carlos por su apoyo y el tiempo que me dio para resolver mis inquietudes. Gracias por su dirección.

A Lourdes Orejuela porque sus palabras y confianza me animaban mucho cuando tenía que quedarme hasta tarde en el laboratorio. A Diego Gangotena por sus palabras de ánimo.

A Nancy, muchas gracias por siempre ayudarme con lo que necesitaba en el laboratorio, y por siempre animarme a terminar mi tesis lo más pronto posible. Gracias por sus conversaciones, que me hicieron sentir más cómoda en el laboratorio. Gracias Nancy.

A quien más le debo, a quién deseo plasmar mi agradecimiento más profundo en este papel, a ti Dios, muchas gracias por todo. No encuentro palabras para poder describir con toda claridad todo lo que tú has hecho por mí. Todos tus milagros y ayuda entregada. Sólo quiero que las personas sepan que todo este trabajo, sea grande o pequeño, fue una gran lucha para mí, y que tú Dios me ayudaste a salir adelante en toda lucha personal o académica que enfrente durante la realización de la tesis. Sólo tú conoces todo mi mundo de misterios. Esta es mi victoria pero tuya también. Muchas gracias Dios, de verdad, gracias.

Resumen

Este trabajo se enfocó en realizar un análisis para determinar cuantitativamente la presencia de arsénico en diferentes balanceados, gallinazas y vísceras de pollo. Para esto, primero se buscó y determinó el método más óptimo para digerir la materia orgánica de las muestras y asegurar así, un mejor análisis del arsénico presente en las mismas. Una vez realizada la digestión de materia orgánica, se procedió a la determinación de arsénico con el método de Espectrofotometría de Absorción Atómica. Este método demostró ser suficiente para el análisis de arsénico en las muestras de estudio pues las cantidades encontradas de este elemento se encontraban en el rango de detección del instrumento de Absorción Atómica utilizado. Luego de cuantificar la presencia de arsénico, se procedió a comparar estos valores con los valores máximos de ingesta en alimentos, establecidos por Organizaciones de Salud alrededor del mundo. Los resultados obtenidos del análisis de las muestras reflejan que el contenido de arsénico de las mismas sobrepasa a los límites aprobados por Organizaciones de Salud. Finalmente, los resultados obtenidos dan lugar a nuevas preguntas que para ser respondidas requieren de la realización de estudios más profundos y de largo plazo.

Abstract

This thesis project focuses on the quantitative determination of arsenic in different samples of chicken feed, poultry and chicken offal. In order to do this, first, it was necessary to research and choose the most optimal method to digest the organic matter of the samples, and in this way, ensure a better analysis of arsenic. Once the digestion of organic matter was done, the determination of arsenic was realized using the method of Atomic Absorption Spectroscopy. This method was sufficient to analyze the arsenic in the samples since the quantities found of this element in the samples were within the measurement range of the instrument of Atomic Absorption Spectroscopy that was used. After determining the quantity of arsenic, the values found were compared with the maximum intake of arsenic in food, established by health organizations around the world. The results reflect that the content of arsenic in the samples exceed the approved limits of health organizations. Finally, these results lead to new questions that require of new, deeper and long term investigations.

Tabla de Contenidos

1	Introducción	1
1.1	Antecedentes	1
1.2	Justificación del Proyecto	3
1.3	Objetivos	5
1.3.1	Objetivos Generales.....	5
1.3.2	Objetivos Específicos	5
2	Marco Teórico	6
2.1	Arsénico	6
2.1.1	Generalidades y usos	6
2.1.2	Características químicas del arsénico	6
2.1.3	Fuentes y ciclo del arsénico en el ambiente	8
2.1.4	Arsénico y suelo	11
2.1.5	Contaminación por arsénico	14
2.1.6	Toxicidad	15
2.2	Alimentación de pollos de engorde.....	24
2.3	Roxarsone	26
2.3.1	Toxicidad de Roxarsone	26
2.4	Técnicas de análisis de arsénico	28
2.4.1	Digestión de Materia Orgánica (DMO).....	28
2.4.2	Métodos de análisis de arsénico	32
3	Métodos Experimentales	41
3.1	Recolección de muestras	41
3.2	Preparación de las muestras para DMO.....	42
3.2.1	Preparación de balanceados.....	42
3.2.2	Preparación de gallinazas	42
3.2.3	Preparación de vísceras (hígado y molleja).....	42
3.3	Determinación de humedad	43
3.4	Digestión de materia orgánica	43
3.5	Espectroscopía de absorción atómica	46
4	Resultados y Discusión	48

4.1	Determinación de humedad en gallinaza y vísceras de pollo	48
4.2	Determinación de arsénico.....	51
4.2.1	Determinación de As en balanceados de pollo	52
4.2.2	Determinación de As en gallinazas	55
4.2.3	Determinación de As en vísceras.....	57
5	Conclusiones y Recomendaciones	63
6	Referencias Bibliográficas	65
7	Anexos.....	70
7.1	Normas para arsénico inorgánico.....	70
7.2	Anexo 2: Procedimientos para análisis de As con Generador de Hidruros de Buck Scientific	71
7.3	Anexo 3: Curva de calibración para determinación de As	73

Lista de Figuras

Figura No 2.1 Arsénico elemental.....	7
Figura No 2.2 Fuentes de As	9
Figura No 2.3 Ciclo del As en el ambiente	11
Figura No 2.4 Ciclo biogeoquímico de compuestos orgánicos de As	13
Figura No 2.5. Ácido Monometilarsónico(MMA)(V)	17
Figura No 2.6 Ácido Dimetil-arsínico(DMA)	18
Figura No 2.7 Fórmula estructural de S-adenosil metionina	18
Figura No 2.8 Glutati6n reducido (GSH)	18
Figura No 2.9 Metilaci6n de As	19
Figura No 2.10. Metabolismo del As en el cuerpo humano	20
Figura No 2.11 Hiperqueratosis palmo-plantar causada por As	23
Figura No 2.12 Efecto del As en las manos	23
Figura No 2.13 Alimentaci6n para cada etapa	25
Figura No 2.14: Mol6cula de Roxarsone	27
Figura No 2.15 Contaminaci6n por Roxarsone	28
Figura No 2.16 Absorci6n y emisi6n de luz de un electr6n	33
Figura No 2.17. Elementos de espectrofotometría de absorci6n at6mica	34
Figura No 2.18: Lámpara de cátodo hueco.....	35
Figura No 2.19: Variaci6n de la absorbancia en funci6n de la concentraci6n del analito	36
Figura No 2.20. Generador de hidruros	39
Figura No 2.21. Tap6n de generador de hidruros	40
Figura No 3.1 Aparici6n de humos de 6xidos de nitr6geno.....	44
Figura No 3.2 Carbonizaci6n de muestra	45
Figura No 3.3 Muestras ya digeridas.....	46
Figura No 3.4 Filtraci6n y almacenamiento de muestras digeridas	46
Figura No 4.1: Presencia de As en balanceados.....	54
Figura No 4.2 Concentraci6n de As en gallinazas.....	56
Figura No 4.3: Presencia de As en vísceras de pollo.....	59
Figura No 4.4: Balance de masa de ingesta de As. *Valor supuesto	60
Figura No 4.5 Plato típico de molleja asada.....	61

Figura No 7.1 Curva de Calibración de As73

Lista de Tablas

Tabla No 2.1 Control semanal de peso/consumo	25
Tabla No 2.2: Recuperación de As por DMO de vía seca	30
Tabla No 2.3: Recuperación de As por DMO de vía húmeda	30
Tabla No 3.1: Muestras de balanceado.....	41
Tabla No 3.2: Muestras de gallinaza	42
Tabla No 3.3: Muestras de vísceras.....	42
Tabla No 4.1: Determinación de humedad de muestras de gallinaza.....	48
Tabla No 4.2: Determinación de humedad de muestras de vísceras de pollo	50
Tabla No 4.3 Humedad promedio de vísceras.....	51
Tabla No 4.4: Determinación de arsénico en balanceados de pollo.....	52
Tabla No 4.5 Posible concentración de Roxarsone empleada en formulación de balanceados.....	54
Tabla No 4.6: Determinación de As en muestras de gallinaza.....	55
Tabla No 4.7 Determinación de As en base seca	55
Tabla No 4.8: Determinación de As en vísceras de pollo	57
Tabla No 4.9: Promedio mg As/kg de víscera de pollo.....	58
Tabla No 4.10 Concentración de As en vísceras de pollo en base seca	58
Tabla No 4.11 Promedio de As encontrado en vísceras de pollo en base seca	58
Tabla No 7.1 Normas y regulaciones para arsénico inorgánico	70
Tabla No 7.2 Datos obtenidos para curva de calibración	73

1 Introducción

1.1 Antecedentes

En los últimos años se ha visto un incremento en la preocupación del manejo de sustancias tóxicas alrededor del mundo. El saber cómo desecharlas y evitarlas es muy importante para impedir posibles enfermedades difíciles de tratar y con severas consecuencias para los seres vivos. Por este motivo, hoy en día existen instituciones encargadas de organizar y dar un fin adecuado a las sustancias tóxicas que resultan de la elaboración de diferentes productos para distintas industrias.

Es así que, en Estados Unidos, la Agencia de Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (ATSDR), ha realizado una base de datos de contaminantes y sus efectos sobre el ser humano (1). Entre estos contaminantes se pueden encontrar diferentes metales pesados tóxicos, por lo general, metales de transición (2); así como metaloides, entre los que se encuentra al arsénico. Este elemento puede causar un grave envenenamiento al ser humano por inhalación, ingestión o exposición crónica del mismo. Al arsénico, se lo puede encontrar en la naturaleza formando compuestos con otros elementos como el oxígeno, cloro y azufre. Al combinarse con dichos elementos se lo conoce como arsénico inorgánico, mientras que al unirse con carbono e hidrógeno se conoce como arsénico orgánico (1).

En su forma inorgánica, el arsénico es venenoso para el ser humano. Entre sus efectos en el cuerpo humano se encuentran: irritación del estómago y los intestinos, acompañado de dolor de estómago, náusea, vómitos y diarrea. Otros efectos también incluyen: reducción de la producción de glóbulos rojos y blancos (causante de fatiga), ritmo cardíaco anormal, daño de los vasos sanguíneos (lo que produce contusiones) y alteraciones de la función de los nervios (lo que provoca una sensación de hormigueo en las manos y los pies). Además,

se puede desarrollar cáncer de la piel por exposición prolongada al arsénico, también cáncer del hígado, la vejiga y a los pulmones. Por este hecho, se considera que el arsénico inorgánico es cancerígeno (1). Por otra parte, con respecto al arsénico orgánico, recientes estudios muestran que en su forma orgánica el arsénico puede dar lugar a la formación de arsénico inorgánico en el organismo (3).

El 8 de junio de 2011 se publicó un artículo en el New York Times exponiendo que la Administración de Drogas y Alimentos de Estados Unidos (FDA) encontró niveles bajos de arsénico en la carne de pollos que fueron alimentados con una droga del laboratorio Pfizer conocida como Roxarsone o 3-Nitro (3). Este tipo de droga es un aditivo que se coloca en los balanceados de pollos para eliminar parásitos intestinales, estimular el crecimiento de las aves y dar color rosa a su carne. La droga Roxarsone contiene arsénico orgánico (de baja toxicidad), pero que en el tracto digestivo del animal puede transformarse en arsénico inorgánico (altamente tóxico) (4). Este tipo de arsénico a su vez, puede ser desechado en las heces del animal, conocidas comercialmente con el nombre de gallinaza. La gallinaza se utiliza como abono en distintos cultivos de nuestro país, por lo que si existiere arsénico en la misma, su uso podría provocar la contaminación de suelos y plantas, y por ende, del ser humano.

En su estudio, la FDA determinó que las aves tratadas con Roxarsone tenían 800 veces más arsénico total (orgánico e inorgánico) en sus hígados y 14 veces más arsénico total en su carne que las aves no tratadas con Roxarsone. Se dice que sólo una pequeña porción de este arsénico correspondería a la forma cancerígena. Sin embargo, los estudios realizados sugieren la siguiente pregunta: ¿El proceso de digestión en un pollo puede producir compuestos potencialmente más tóxicos que el compuesto original? De cualquier forma, el Laboratorio Pfizer declaró que la FDA no encontró ningún riesgo inminente para la salud si

se come la carne de pollo tratado con Roxarsone, sin embargo, suspendió voluntariamente la venta de esta droga (4) (5).

Las consecuencias por intoxicación de arsénico no sólo cubren a la salud humana sino también al medio ambiente donde se desenvuelve la vida diaria, ya que es en este medio donde se desarrollan la mayoría de los productos que se consumen como alimento. Por lo tanto, si hay un posible contaminante que se esté exponiendo o acumulando en el medio ambiente, se debe tratar con este asunto. De hacerlo, se podría impedir al mismo tiempo consecuencias graves para seres humanos y el medio ambiente.

Distintos métodos se han desarrollado para analizar diferentes contaminantes. En el caso del arsénico, uno de los métodos más comunes es la Espectrofotometría de Absorción Atómica, que permite la detección de arsénico en un rango de ppm. Si fuese necesario, a este instrumento se lo puede utilizar implementando Generación de Hidruros, que permite un análisis de arsénico en un orden de ppb. Al emplear este tipo de métodos se puede advertir de la presencia peligrosa de contaminantes y evitar una intoxicación por los mismos.

1.2 Justificación del Proyecto

Para justificar este proyecto se han tomado en cuenta dos hechos importantes. Primero, el Ecuador ha demostrado su interés en velar por la salud de sus habitantes, al incrementar la inversión en esta área significativamente (6). Cabe notar, como se explicó anteriormente, que velar por la salud humana implica también velar por el medio ambiente que nos rodea, puesto que del mismo obtenemos los recursos necesarios para sobrevivir. Así pues, al aumentar el interés del gobierno central en preservar la salud de sus habitantes, es de mucha importancia observar si la salud humana y el medio ambiente podrían estar siendo afectados por un contaminante casi imperceptible, pero letal, como es el arsénico.

Segundo, al considerar que el hallazgo de la FDA, expuesto en la sección 1.1, se llevó a cabo en un país donde existe un control más rígido de los alimentos que en Ecuador, se debería preguntar si situaciones similares están ocurriendo en nuestro país. Si llegara a existir arsénico en balanceados y gallinazas de pollos éstos podrían ser fuente indirecta de contaminación para los seres humanos que trabajan a diario en distintos criaderos de pollos. Además de esto, si se emplea la gallinaza como abono para cultivos, ésta podría estar contaminando de una manera lenta pero crónica a los suelos y aguas subterráneas. Dependiendo de la concentración del metaloide en los suelos, también podría estar envenenando a los cultivos.

Al prestar atención a estos argumentos se considera necesario realizar un análisis para determinar la presencia de arsénico en balanceados, gallinazas y vísceras de pollos tal como se ofrecen para la comercialización. De esta forma, si se encuentra arsénico en dichos objetos de estudio, se podría alertar o concientizar a los productores para que no causen daño a la salud comunitaria de manera indirecta y a largo plazo.

Para comprobar la presencia de arsénico en balanceados, gallinazas y vísceras, se planea utilizar el método de Espectrofotometría de Absorción Atómica y si fuese necesario, emplear Generación de Hidruros. Para esto, se escogerá el método más apropiado de digestión de materia orgánica utilizando la teoría y distintos estudios realizados en determinación de arsénico. Este último paso es de fundamental importancia, ya que se podría perder un porcentaje de arsénico por volatilización durante el proceso de digestión (7). Todo experimento se llevó a cabo en el Laboratorio de Química e Ingeniería Química de la Universidad San Francisco de Quito.

Una vez obtenidos los resultados, se comprobará si el nivel de arsénico presente, si existiera, está dentro de los rangos permitidos por organizaciones de salud internacionales.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivos Generales

El objetivo general de este proyecto es realizar análisis de distintos balanceados, gallinazas y vísceras de pollo para determinar una posible contaminación con arsénico.

1.3.2 Objetivos Específicos

Los objetivos específicos del proyecto se enumeran a continuación:

- Encontrar una digestión de materia orgánica que sea adecuada para balanceados, gallinazas y vísceras.
- Comprobar si la concentración de As presente en las muestras de estudio pueden ser estudiadas por Espectrofotometría de Absorción Atómica.
- Si las concentraciones de As fueran muy bajas, utilizar el método de Generación de Hidruros para un análisis más sensible del arsénico.
- Determinar la cantidad de arsénico existente en balanceados de pollos, gallinazas y vísceras posiblemente contaminados.
- Determinar si la cantidad existente de arsénico en las muestras de estudio podría ser crítica para la salud humana según la Organización Mundial para la Salud y FDA.

2 Marco Teórico

2.1 Arsénico

2.1.1 Generalidades y usos

El arsénico (As) se encuentra dentro de la Familia VA de la tabla periódica, junto con el nitrógeno y fósforo. En su estado elemental, es un material sólido de color gris acero. Este elemento tiene propiedades de metal y no metal, por lo que químicamente se lo identifica como metaloide aunque frecuentemente se lo refiere como metal (1). Se lo encuentra distribuido ampliamente en la corteza terrestre. Su uso se remonta a épocas antiguas, donde se lo empleaba como veneno. Sin embargo, hoy en día, los compuestos de arsénico se usan en la industria como agentes de aleación en la fabricación de transistores, láseres y semiconductores (8). Además de la industria electrónica, también se ha empleado el arsénico en la industria textil, curtiembre, preservación de madera, manufactura de cosméticos, pigmentos, papeles, adhesivos de metal, municiones, industria de la cerámica, procesos de bronceado (9) (10). También se utilizaban sales de arsénico para la elaboración de insecticidas, herbicidas, fungicidas y rodenticidas. Por otro lado, cabe resaltar que el arsénico se utilizaba en el campo medicinal para el tratamiento de dermatosis, sífilis y como antiparasitario (9).

2.1.2 Características químicas del arsénico

El arsénico tiene dos estados de oxidación: +3 As (III) y +5 As (V). Las sales formadas con As(III) se conocen como arsenitos, y las formadas con As (V) son arsenatos. Los compuestos de As(III) poseen un par de electrones no compartidos, lo que les brinda la posibilidad de formar complejos con ácidos de Lewis y distintos metales de transición. Por otra parte, los compuestos de As(V) no tienen electrones libres, lo que explicaría su estabilidad en la naturaleza (11).

El arsénico está distribuido en toda la corteza terrestre, suelo, rocas, plantas y animales. Se lo puede encontrar combinado con elementos como el oxígeno, cloro y azufre, formando sulfuro de arsénico, sales de arsenitos, arsenatos y arseniuros metálicos. Cuando al arsénico se lo encuentra unido con carbono e hidrógeno, se lo conoce como arsénico orgánico. Caso contrario, se lo llama arsénico inorgánico (1) (8).

El arsénico inorgánico se puede encontrar en el suelo, en minerales que contienen cobre o plomo y en diferentes tipos de rocas, como se puede ver en la Figura No 2.1. Aunque en el pasado, se empleó mucho al arsénico inorgánico como plaguicida, hoy no se lo puede utilizar en la agricultura debido a su toxicidad. Por otra parte, el arsénico orgánico, al ser menos tóxico, aun se emplea en la industria de la agricultura.



Figura No 2.1 Arsénico elemental

En su mayor parte, los compuestos orgánicos e inorgánicos de arsénico son polvos blancos, sin olor, y sin un sabor específico. Por esto, es difícil detectar su presencia en alimentos, agua o aire. El arsénico no puede ser destruido en el ambiente, pero sí cambia de forma al adherirse o separarse de partículas (1). El arsénico cambia de forma al reaccionar con oxígeno o con otras moléculas presentes en el aire, el agua, el suelo o por la acción de bacterias que viven en este último (1).

2.1.3 Fuentes y ciclo del arsénico en el ambiente

El contenido de arsénico en la corteza terrestre está entre 1.5 y 2 mg/kg, y es el número veinte entre los elementos más abundantes en la Tierra (12). Debido a que el arsénico está presente de forma natural en el suelo y minerales, puede entrar al agua, aire y suelo por el polvo que levanta el viento (1). Además de esto, el arsénico se distribuye en la atmósfera por diversas fuentes como: emanaciones volcánicas, erosión de depósitos minerales y distintas actividades humanas que se mencionarán más adelante (12).

Muchos compuestos de este elemento son solubles en agua, por lo que al estar presente de forma natural en suelos y rocas, puede ser trasladado a lagos, ríos o aguas subterráneas al disolverse en el agua de lluvias o desagües industriales. Parte de este arsénico permanecerá en el agua, otra parte se quedará en el sedimento del fondo de lagos o ríos, y una última parte será arrastrada por el agua a otros lugares. En fin, gran parte del arsénico se localizará en el sedimento o suelo (1).

Por otro lado, algunas de las actividades humanas que liberan arsénico al ambiente incluyen: el uso de combustibles fósiles en plantas termoeléctricas, el uso para protección de maderas con el método cobre-cromo-arsénico, fundición de minerales, combustión de carbón, pesticidas y un almacenamiento inadecuado de desechos industriales con arsénico (11). Todo lo antes expuesto se observa en la Figura No 2.2

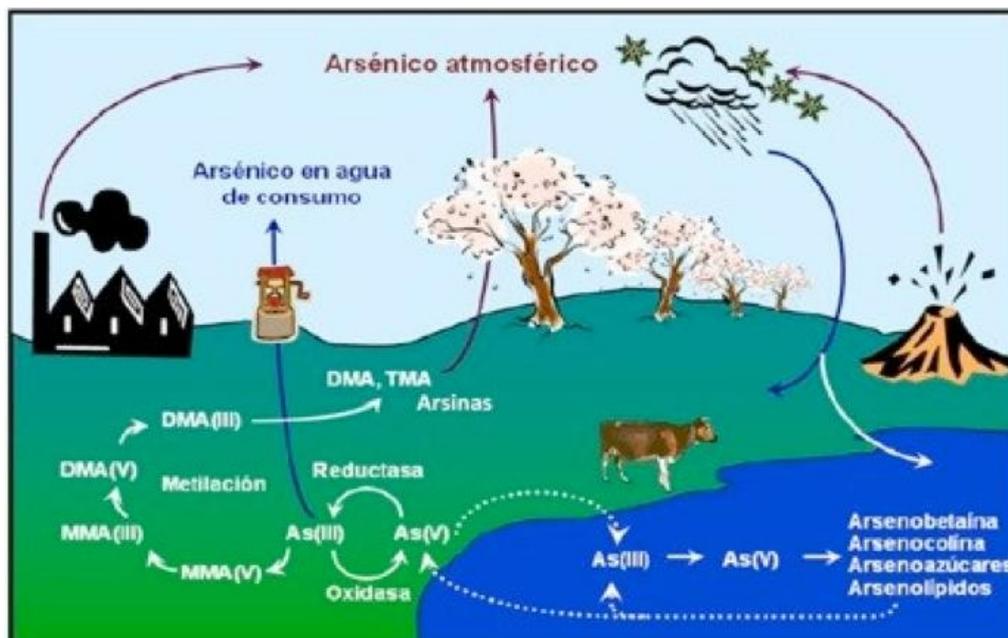


Figura No 2.2 Fuentes de As (13)

En el caso de la fundición de minerales, el arsénico se encuentra en minerales con zinc-plomo, de cobre y oro (12). Al calentar los minerales en hornos, la mayor parte de arsénico es eliminado por la chimenea como polvo fino y así entra en la atmósfera. El polvo y gases que contienen arsénico pueden ser transportados por el viento hasta descender sobre suelos, plantas y distintas fuentes de agua. La lluvia también contribuye a remover del aire las partículas de polvo con arsénico (1).

En el carbón, el arsénico se encuentra como arsenopirita y al darse la combustión se transforma a trióxido de diarsénico (As_2O_3). Las partículas de polvo aerotransportadas pueden llegar a contener más de 1700 ppm de arsénico. De nuevo, estas partículas se depositan en los suelos, y al llover, pueden ser arrastradas a distintas fuentes de agua (12).

Con respecto al uso de compuestos arsenicales en pesticidas y herbicidas, se puede notar, según estudios, que el arsénico se ha ido depositando de manera lenta en los suelos, a tal grado de convertirse en suelos fitotóxicos para varios cultivos (12).

Los animales y seres humanos también cumplen un papel en el ciclo del arsénico. Ambos pueden ingerir alimentos con arsénico y expulsarlo por sus vías de excreción o acumularlo en sus tejidos. El principal aporte de As a la dieta humana pueden ser los alimentos de origen marino, ya que los crustáceos y peces tienen altas concentraciones de As, de 0.1 a 90 $\mu\text{g/g}$ (11).

En sitios alejados de actividades humanas, la concentración de As en el aire puede variar de 1 a 3 ng/m^3 . En áreas industriales, emisoras de As, puede haber 100 a 300 ng/m^3 . En el caso del agua, el As se encuentra en valores menores a 10 $\mu\text{g/L}$, pero en lugares cercanos a minas o lugares con contaminación con minerales arsenicales, la concentración puede ir de 200 y 1000 $\mu\text{g/L}$. En el suelo, la concentración de As varía entre 1 a 40 mg/kg , pero en áreas agrícolas, la concentración de este elemento puede ser mayor debido a la presencia de residuos plaguicidas arsenicales (11).

En la Figura No 2.3 se presenta de manera resumida el ciclo del arsénico en el ambiente.

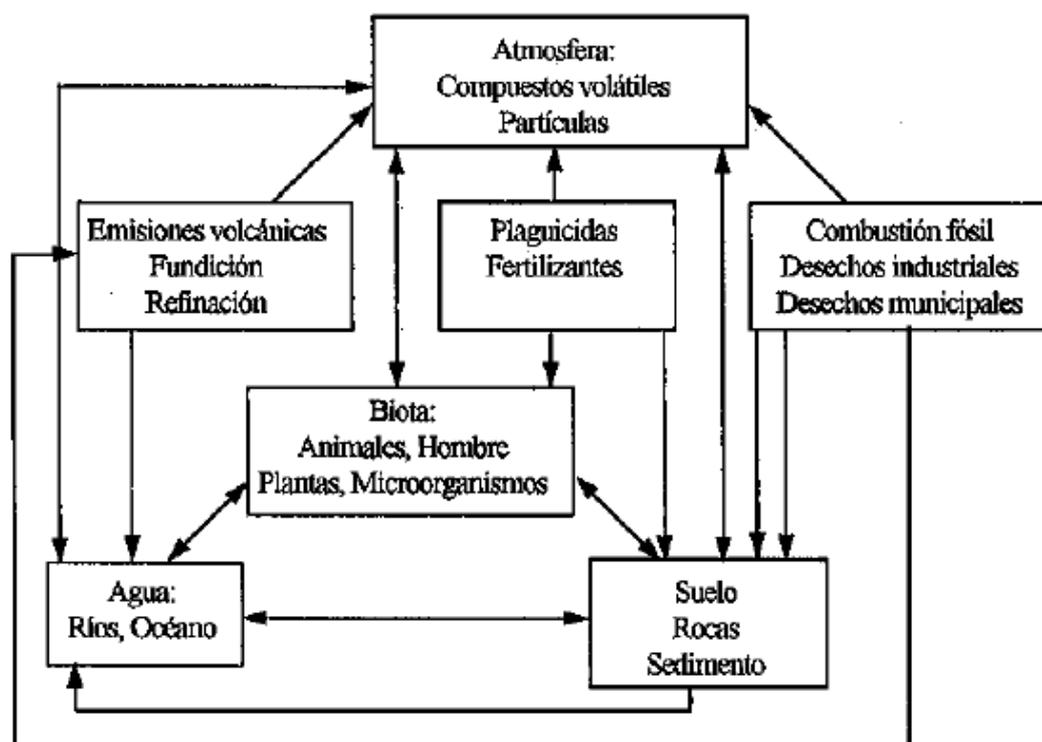


Figura No 2.3 Ciclo del As en el ambiente (11)

2.1.4 Arsénico y suelo

Debido a que el suelo podría contaminarse por el uso de gallinaza como abono, se hará una revisión breve de generalidades de arsénico en el suelo.

Existe una gran cantidad de compuestos de arsénico que pueden ser absorbidos por las plantas y provocar un efecto tóxico en las mismas. La contaminación del suelo de la planta depende de las transformaciones que se generan en el suelo y la disponibilidad de estos compuestos tóxicos.

En la disolución de suelos se encuentra arsénico inorgánico (tóxico) en forma de arseniato o arsenito. Sin embargo, el arseniato es más abundante, puesto que en condiciones ácidas se encuentra el H_2AsO_4^- y en condiciones básicas está el $(\text{HAsO}_4)^{2-}$. Por otro lado, en

medios reductores, se puede encontrar arsénico elemental y arsina (AsH_3 , altamente tóxica) (12).

En algunas investigaciones se ha encontrado ciertos compuestos de arsénico presentes en el suelo como: ácido cacodílico, arseniatos y trimetilarsina (12).

2.1.4.1 Transformaciones microbiológicas

En el suelo se dan varias transformaciones microbianas y por ende es necesario el estudio de los diferentes compuestos de arsénico, inorgánicos y orgánicos. En el suelo, los metanoarsoniatos y el ácido cacodílico sufren de reacciones oxidativas y reductoras (12).

En condiciones aeróbicas se produce la oxidación del ácido metanoarsónico disódico (DSMA) a dióxido de carbono, la misma que depende de la materia orgánica disponible en la actividad microbiana. De igual manera, el ácido cacodílico es desmetilado por la actividad microbiana. Por otro lado, el arseniato es reducido a arsenito y posteriormente se transforma en arsina, contaminando así a la atmósfera. Este proceso representa un pequeño porcentaje de arsénico total (12).

Estudios de arsénico gaseoso en suelos muestran que existen volatilizaciones altas (60%) de arsénico en suelos tratados con ácido cacodílico en condiciones anaeróbicas, pero hay pérdidas pequeñas (35%) en condiciones aeróbicas. Adicionalmente, se encuentran en mayor abundancia arsinas alcalinas en suelos aeróbicos (12).

2.1.4.2 Química del suelo

El arsenito, que es de carácter inorgánico es oxidado en suelos agrícolas a arseniato. Es decir que un herbicida derivado de los ácidos metanoarsénicos o del cacodílico puede oxidarse a arseniatos inorgánicos y dióxido de carbono con o sin microorganismos. Además, éstos pueden volatilizarse y perderse en los suelos. Por lo tanto, un porcentaje

elevado de arsénico añadido se puede perder en forma de gas en el lavado o lixiviación o volatilización. El hierro, aluminio, fósforo y otros cationes son importantes en el proceso de adsorción del arsénico en el suelo. De hecho, existen grandes cantidades de enlaces hierro- arsénico en suelos con un nivel elevado de hierro. Además, la adsorción de arsénico es dependiente del tiempo (12).

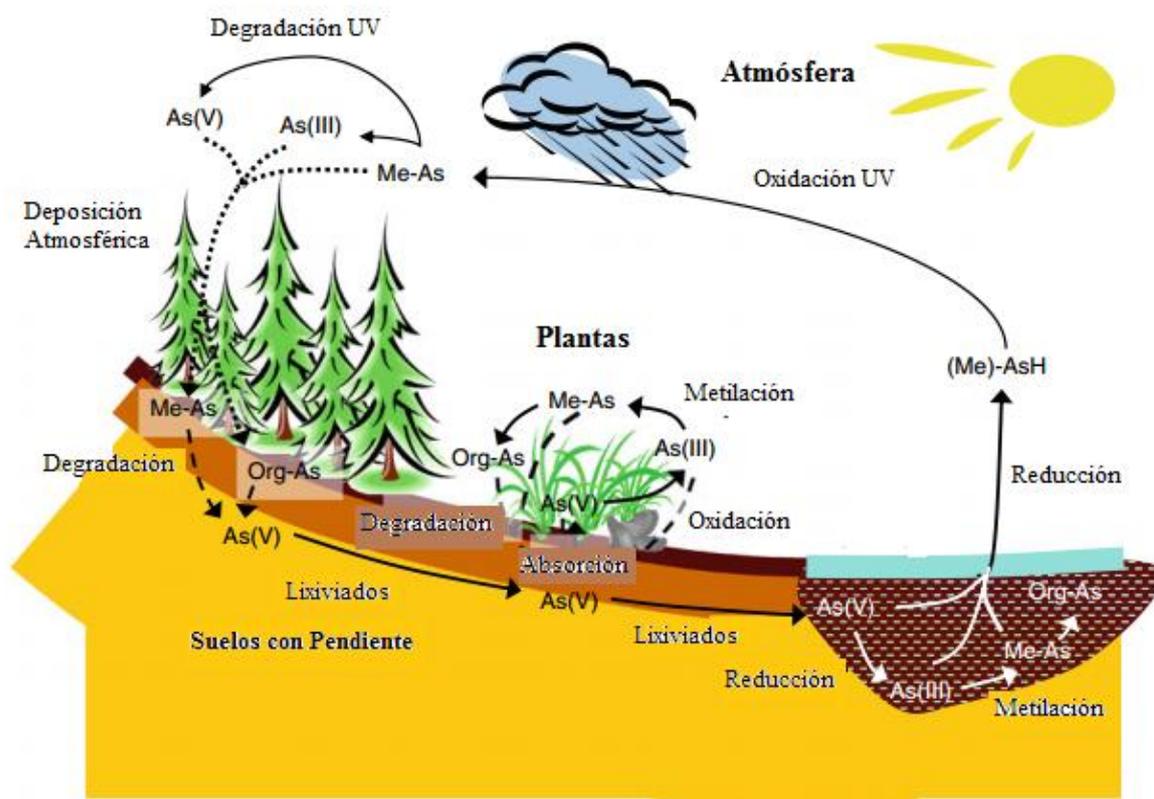


Figura No 2.4 Ciclo biogeoquímico de compuestos orgánicos de As (14)

En la Figura No 2.4 se observa un esquema del ciclo biogeoquímico de los compuestos orgánicos de As en el suelo. Microorganismos del suelo transforman el $As(V)$ a metil-As. Este compuesto orgánico puede biotransformarse a metilarsinas o biodegradarse a una forma inorgánica. Las metilarsinas que se volatilicen irán a la atmósfera y una vez allí, con

acción de la luz UV puede dimetilarse a As(V). Luego, el arsénico puede volver al suelo por deposiciones atmosféricas y luego ser absorbido por plantas (14).

Todo lo anteriormente estudiado, muestra la estabilidad del arsénico en los suelos y ambiente. Esto a su vez demuestra que si se estuviera contaminando los suelos con arsénico, éste sería muy estable en el suelo, permanecería durante mucho tiempo allí y podría provocar una contaminación a la planta.

2.1.5 Contaminación por arsénico

Miles de toneladas de contaminantes metálicos son arrojadas al aire y agua cada año como resultado de diferentes actividades industriales, que fueron detalladas anteriormente en la sección 2.1.1. La contaminación por metales tóxicos no afecta solamente a las personas laboralmente expuestas sino que es un problema a nivel mundial que concierne a todos. Varios iones metálicos pueden formar complejos orgánicos que pueden concentrarse en cadenas alimenticias y luego actuar como tóxicos acumulativos, como es el caso del arsénico (15).

Los procesos industriales no son los únicos responsables de la contaminación con arsénico. Existen procesos naturales que contribuyen a la misma e incluyen: áreas geotermales, regiones volcánicas, acuíferos con óxido de hierro y manganeso con fuerte afinidad con el arsénico. De hecho, se estima que alrededor de la mitad del flujo atmosférico del arsénico es de origen natural (16).

La contaminación de agua con arsénico ha sido un tópico muy analizado en los últimos años pues el agua es de vital importancia para la salud y vida de los seres vivos. Algunos ejemplos de contaminación de agua con arsénico se observan en Ecuador, Argentina, Bangladesh y Chile (10). Sin embargo, hoy en día también se piensa en la contaminación

de arsénico en suelos de cultivo y lodos pues podría estar afectando de manera indirecta a cultivos, animales y seres humanos. Dicho tipo de contaminación se puede observar en Holanda, Estados Unidos y Canadá (12). Además, no se puede dejar de mencionar la contaminación de arsénico en aire, que afecta de manera lenta a las personas expuestas por sus actividades laborales, como es el caso de los trabajadores en el área de fundición de metales (15).

Después de algunos estudios, la EPA (Environmental Protection Agency) ha establecido límites para la cantidad de arsénico liberado al medio ambiente por diferentes industrias. Es así que, se establece un límite de 0.01 ppm de As en agua potable (16). En el caso del suelo, los niveles fitotóxicos de arsénico dependen del cultivo y tipo de arsénico. Por ejemplo, los arsenitos son más fitotóxicos que los arsenatos; y éstos a su vez son mucho más fitotóxicos que compuestos arsenicales orgánicos (12). Con respecto al aire, la Administración de Salud y Seguridad Ocupacional (OSHA) ha establecido límites de $10\mu\text{gAs}/\text{m}^3\text{aire}$ (16). Algunos límites de arsénico inorgánico establecidos por diferentes organizaciones se pueden observar en el Anexo 1.

2.1.6 Toxicidad

Debido a que el arsénico se encuentra en el medio ambiente, las personas están implícitamente expuestas al mismo por medio de alimentos, agua potable o aire (1). La toxicidad de este elemento es compleja y depende de ciertos aspectos como: vía de exposición, estado de valencia y forma del compuesto (orgánica o inorgánica). El arsénico inorgánico es más tóxico que el orgánico y es el responsable de la mayoría de intoxicaciones en seres humanos. El compuesto gaseoso arsina (AsH_3) es considerado la forma más tóxica del As, por su actividad como un gran agente hemolítico, es decir, destructor de glóbulos rojos. Por otro lado, las especies oxidadas como sales inorgánicas de

As(III) son más tóxicas que las sales de As(V). Es así que, el arsénico inorgánico ha sido declarado como un carcinógeno humano por la Agencia Internacional para la Investigación del cáncer (IARC) (17). La dosis letal de arsénico en adultos es de 70-180mg. (11)

Las principales vías de entrada de arsénico al cuerpo son: ingesta e inhalación. La absorción por la piel es baja, y alcanza el 2% (11) (18).

Absorción:

En seres humanos y animales, alrededor del 95% de una dosis ingerida de compuestos de As(III) se absorbe en el tracto digestivo. Por otra parte, la absorción por inhalación depende de ciertos factores como el tamaño de las partículas inhaladas, forma química del compuesto y su solubilidad. El As(III) es la principal forma química presente en el aire en centros laborales. Las partículas grandes se quedan en las vías superiores, pero luego son removidas por movimiento ciliar, para finalmente ser transportadas al tracto gastrointestinal. Partículas menores de 7 μm son absorbidas entre 75-85% (11) (18).

Como se dijo anteriormente, la absorción por la piel es muy baja. Sin embargo, la FDA presenta reportes de efectos tóxicos en accidentes laborales donde el tricloruro de arsénico o el ácido de arsénico cayeron sobre la piel de trabajadores (18).

Distribución:

Una vez absorbido en pulmones o tracto gastrointestinal, el arsénico es transportado por el cuerpo vía sangre (18). Los compuestos arsenicales suelen acumularse en hígado, riñón, pulmón y bazo. Los compuestos con As(III) se unen a grupos sulfhidrilos de proteínas como la queratina (11). Es por esta razón, que dos o cuatro semanas después de la exposición al arsénico, éste se puede encontrar en cabello, huesos, dientes, piel y uñas, que son ricos en queratina (18).

Biotransformación:

Una vez que el arsénico ya se encuentra en la sangre, éste se incorpora a los glóbulos blancos, rojos y otras células que reducen los arsenatos a arsenitos (18). El hígado es donde principalmente se da el metabolismo de As.

Hay dos procesos que se proponen para explicar la metabolización del arsénico (11):

- Reducción de As(V) a As(III)
- Metilación oxidativa que transforma el As(III) en especies metiladas.

Para que exista la metilación, debe ocurrir primero la reducción de As(V) a As(III). Luego, se dará la adición del primer grupo metilo para formar ácido monometilarsónico (MMA), dicho ácido se puede observar en la Figura No 2.5. Después, se da una segunda reducción de MMA(V) a MMA(III) para luego dar lugar a la segunda metilación que producirá ácido dimetil-arsínico (DMA) (Figura No 2.6). La S-adenosilmetionina (Figura No 2.7) se propone como donador de los grupos metilo, y como agente reductor y transportador de As, se ha planteado al glutatión reducido (GSH), que se puede observar en la Figura No 2.8 (11).

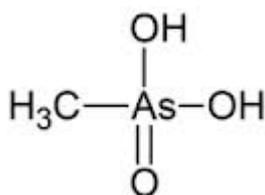


Figura No 2.5. Ácido Monometilarsónico(MMA)(V) (19)

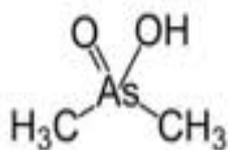


Figura No 2.6 Ácido Dimetil-arsínico(DMA) (20)

Hay ciertos factores que pueden influir en la capacidad de metilación del As como son: dosis, tiempo de exposición, una dieta alta en metionina y proteínas, y un probable polimorfismo genético de las enzimas metilantes (11).

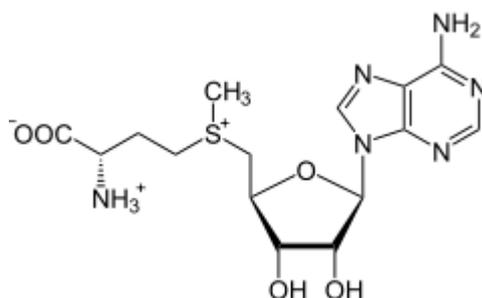


Figura No 2.7 Fórmula estructural de S-adenosil metionina (21)

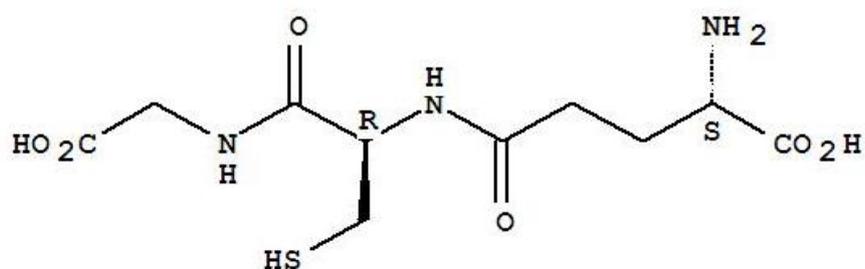


Figura No 2.8 Glutati3n reducido (GSH) (22)

Los procesos de metilación se observan en

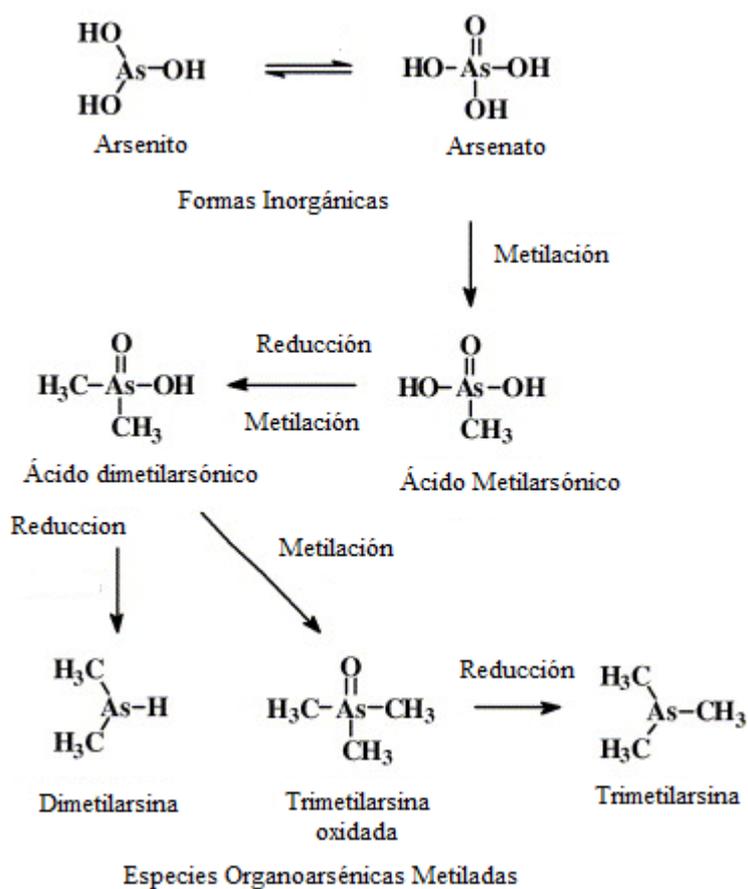


Figura No 2.9 Metilación de As (23)

El metabolismo de As se resume en la Figura No 2.10.

Biotransformación del Arsénico Inorgánico

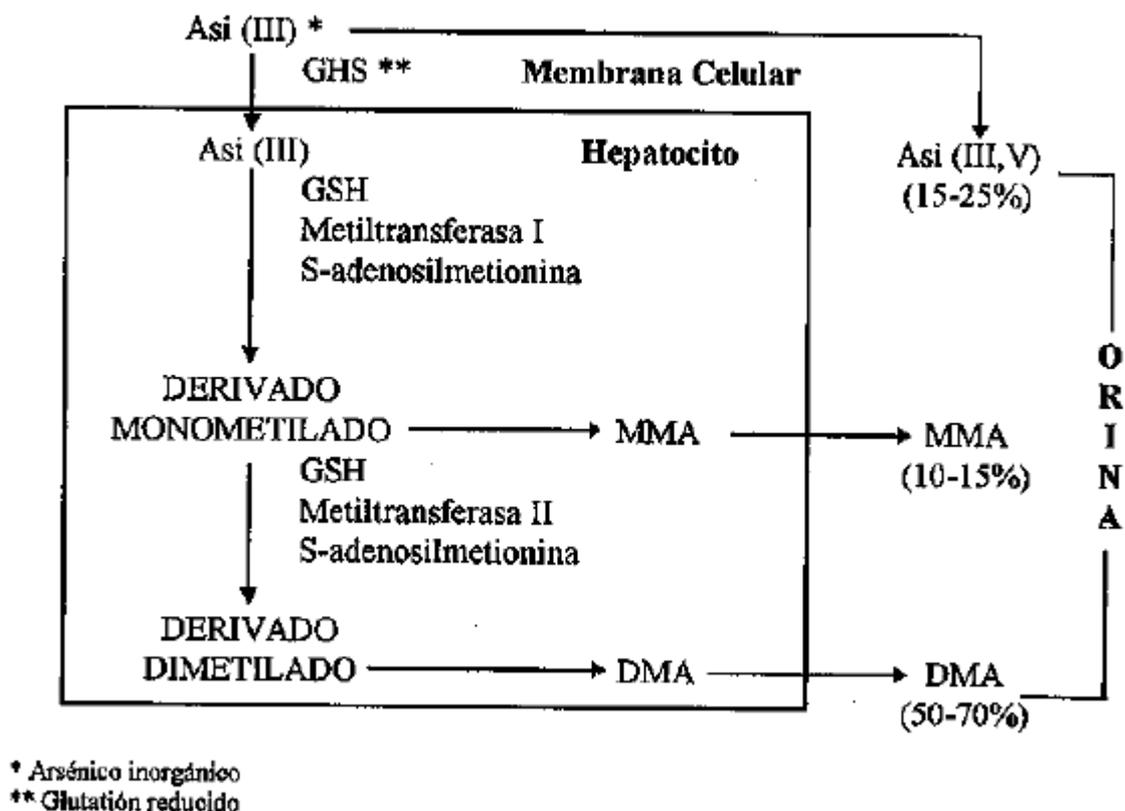


Figura No 2.10. Metabolismo del As en el cuerpo humano (11)

La metilación del arsénico es una forma natural de desintoxicación, aunque no la única. Existen algunos animales que no tienen mecanismos de metilación, pero excretan arsénico inorgánico (18).

En un artículo de la FDA se sugiere que la metilación del arsénico inorgánico puede ser una vía de intoxicación en lugar de desintoxicación. También sugieren que los metabolitos metilados de As(III) como MMA(III) no son muy capaces de interactuar con proteínas y ADN (18).

Si una persona sobrepasa la capacidad de metilación de su hígado y sigue siendo expuesta a altos niveles de arsénico inorgánico, se podrá observar un incremento en la retención de As en tejidos blandos (18).

La toxicidad de los arsenicales trivalentes se puede explicar por la afinidad de estos compuestos por los grupos sulfhidrilo de las proteínas. Por otro lado, las enzimas son afectadas cuando el grupo $-SH$ se encuentra localizado en un sitio crítico para su actividad. Además, el $As(V)$ puede llegar a sustituir al grupo fosfato en reacciones catalizadas enzimáticamente, lo que podría afectar ciertos procesos como la producción de ATP y síntesis de ADN. No obstante, la contribución tóxica de $As(V)$ es difícil de evaluar pues éste se reduce a $As(III)$ en el organismo (11).

Algunas especies orgánicas de As también presentan efectos tóxicos, como es el caso del DMA. Éste ha demostrado ser un agente teratogénico (causante de defectos congénitos) en ratas, provocando daño pulmonar, degeneración de la corteza renal y necrosis de los túbulos proximales. Algunos datos han sugerido que durante el proceso de metilación de As, se forman metabolitos reactivos que podrían afectar ciertas macromoléculas (como proteínas), por esto es necesario hacer estudios sobre su toxicidad (11).

Excreción:

La principal vía de eliminación de As son los riñones, que lo expulsan por medio de la orina. Los seres humanos excretan arsénico inorgánico, arsénico monometilado y dimetilado. Aproximadamente el 50% de arsénico eliminado por la orina es arsénico dimetilado; 25% corresponde a arsénico monometilado, y el restante es As inorgánico. Claro está, que pueden existir variaciones individuales de los porcentajes presentados. Por ejemplo, si aumentan los niveles de arsénico total en la orina, el porcentaje de las formas metiladas también aumentará. Mientras que a niveles menores de arsénico total en la orina, predominará la forma inorgánica del As. La descamación de la piel, incorporación en cabello, uñas heces y sudor, son otras formas de eliminación de As inorgánico del cuerpo (18).

En la mayoría de los animales, en comparación con el hombre, la excreción de MMA es baja (menor al 4%) (11), lo que podría ser muestra de la acumulación de arsénico en el organismo.

Efectos sobre la salud:

El arsénico puede afectar varios sistemas del cuerpo humano, debido a su intervención en reacciones enzimáticas. Estos sistemas incluyen el sistema neurológico, respiratorio, hematológico, cardiovascular, gastrointestinal, entre otros (17).

Los efectos gastrointestinales se observan un tiempo después de una ingesta de este elemento. El principal daño consiste en el aumento de la permeabilidad de los vasos sanguíneos pequeños, que conlleva una pérdida de fluidos e hipotensión. También puede darse una perforación de la pared del intestino por una necrosis de su mucosa. Además, se puede presentar una gastroenteritis hemorrágica que provoca diarrea sanguinolenta (17).

Una intoxicación por arsénico puede dar lugar a una hepatitis tóxica, con altos niveles de enzimas hepáticas. También, existen estudios que relacionan la exposición crónica a altos niveles de arsénico con el cáncer angiosarcoma hepático (17).

El arsénico también puede afectar a los riñones. Al tener una intoxicación aguda puede haber necrosis tubular y necrosis cortical. El riñón no es tan susceptible a una intoxicación crónica. En el caso del corazón, la exposición aguda y crónica a altos niveles de arsénico pueden provocar enfermedad vascular periférica o hipertensión (17). La exposición crónica puede provocar cianosis (coloración azulada de la piel) y pérdida de circulación sanguínea en las extremidades, lo que podría conducir a gangrena seca, conocida como la enfermedad de piel negra (11).

En exposiciones agudas y crónicas, se observa encefalopatías. A exposiciones agudas se presentan neuropatías periféricas por destrucción de cilindros neuronales. Una exposición crónica a arsénico provoca cambios en la pigmentación de la piel e hiperqueratosis palmo-plantares como se observan en la Figura No 2.11. Además, en ciertos casos podría presentarse cáncer de piel como se muestra en la Figura No 2.12. Los cambios de pigmentación han sido observados en poblaciones donde se consumió de forma crónica agua con ppb o más de As (17).



Figura No 2.11 Hiperqueratosis palmo-plantar causada por As (24)



Figura No 2.12 Efecto del As en las manos (17)

Al inhalar altas concentraciones de As se puede presentar una irritación de la mucosa respiratoria. En trabajadores de fundidoras se ha observado que una exposición prolongada crónica puede provocar lesiones inflamatorias que podrían llegar a perforaciones del tabique. También podría causar cáncer de pulmón. La anemia y leucopenia también son efectos de intoxicaciones crónicas con As (17).

Una ingestión crónica de As inorgánico puede conducir a un cáncer de hígado, piel, pulmón, próstata, riñón o vejiga (17) (25).

A todo esto cabe añadir que las personas con un bajo nivel nutricional pueden aumentar la absorción de As en el hígado, lo que pone a prueba la metilación, mecanismo propuesto de desintoxicación (17).

2.2 Alimentación de pollos de engorde

Para la producción de pollos de engorde, la alimentación es un aspecto muy importante. De hecho, es algo a tomar en cuenta desde el nacimiento hasta la salida del ave (del día 1 a 49) (26).

Inmediatamente al nacimiento del ave, se debe iniciar con la alimentación, pues esto contribuye al desarrollo de las vellosidades del tracto intestinal, que permitirán una buena absorción de nutrientes que luego se convertirán en carne (26).

La alimentación suministrada al ave se debe ir ajustando conforme al crecimiento del pollo. Existen programas de alimentación que toman en cuenta cada etapa del desarrollo del ave, como se muestra en la Tabla No 2.1 y Figura No 2.13 Alimentación para cada etapa

Tabla No 2.1 Control semanal de peso/consumo (26)

Semana	Peso gramos	Consumo semana gramos	Consumo acumulado gramos
1	182	161	161
2	455	363	523
3	874	626	1149
4	1412	916	2065
5	2021	1183	3248
6	2652	1396	4644
7	3264	1541	6185

Edad	1 a 14 días	15 a 28 días	29 a 35 días	36 días en adelante
Balanceado	ENGORDE1 INICIADOR	ENGORDE2 CRECIMIENTO	ENGORDE3 ENGORDE	ENGORDE4 FINALIZADOR
Beneficios	Arranque óptimo del pollo bebé, sanidad y vigor en el lote	Eficiente crecimiento de las aves	Máximo rendimiento en ganancia de peso	No contiene anticoccidial para asegurar un máximo crecimiento en la etapa final

Figura No 2.13 Alimentación para cada etapa (26)

Se considera que el alimento granulado es mejor que en polvo debido a que permite una mejor digestión de almidones y fibras y una calidad sanitaria más alta. El alimento debe contener fuentes de energía, proteína, aminoácidos esenciales, calcio, fósforo, vitaminas y minerales. Se debe prevenir enfermedades como la coccidiosis que ataca comúnmente a las aves en temprana edad. Tomando en cuenta este hecho y otros, el alimento del ave debe contener antioxidantes, un programa anticoccidial (para combatir parásitos de coccidiosis que puede terminar con la vida del ave) para cada temporada del año, antifúngicos y adsorbentes de micotoxinas. Con respecto a líquidos, la cantidad de agua que se debe dar a los pollos con relación al alimento es dos a uno, es decir, el doble (26).

Uno de los anticoccidiales más empleados se conoce como Roxarsone, un compuesto orgánico arsenical, del cual se detalla a continuación.

2.3 Roxarsone

Como se dijo anteriormente, el arsénico ha sido utilizado ampliamente en la industria, y una de sus principales aplicaciones se ha dado en el campo de la agricultura. Diferentes compuestos de arsénico se han utilizado tanto como herbicidas así como suplementos alimenticios para animales. Particularmente, el compuesto Roxarsone (ácido 3-nitro-4-hidroxifenilarsónico) es muy empleado en la producción de aves, para mejorar la pigmentación de la carne del ave y mantener un control de parásitos intestinales coccidiales y de esta manera asegurar el crecimiento de las aves (27) (28) y evitar su muerte. Estos parásitos pueden provocar una diarrea sanguinolenta en el animal y provocar su muerte.

Existen otros compuestos arsenicales empleados en la agroindustria, pero en esta investigación se tomará en cuenta al Roxarsone debido a la prohibición específica de su uso como aditivo en los balanceados de pollo por contener arsénico (29). Para comparación, se tomará en cuenta la concentración recomendada de Roxarsone para alimento de pollos en Estados Unidos. Este valor oscila entre 25 a 50 mg/kg (30) (31).

2.3.1 Toxicidad de Roxarsone

En el 2007, el Roxarsone era uno de los suplementos alimenticios más usados en la alimentación de pollos. Se calcula que era empleado en la dieta de casi el 70% de los 9 billones de pollos producidos anualmente en Estados Unidos (28). Este compuesto, como se puede observar en la Figura No 2.14 es orgánico, lo que de acuerdo a lo explicado en la sección 2.1.6, sería muestra de ser un compuesto de baja toxicidad. La mayor parte del Roxarsone es excretado por los pollos sin alteración alguna, y es acumulado en las camas de los mismos (32)

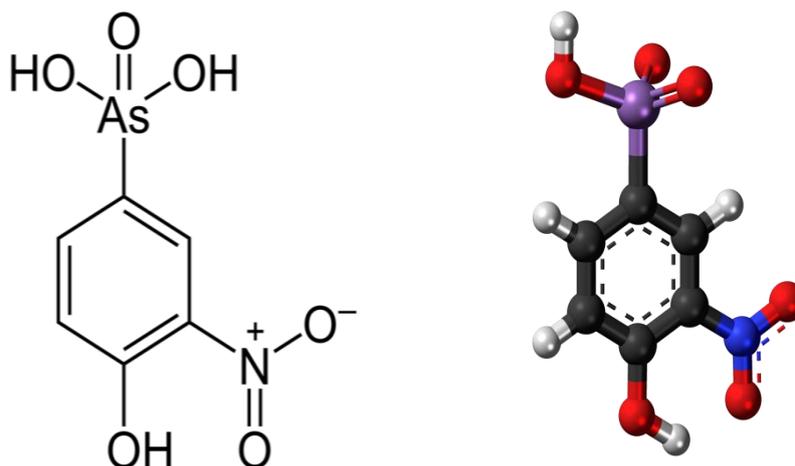


Figura No 2.14: Molécula de Roxarsone (33)

Sin embargo, existen ciertos estudios que indican que parte del Roxarsone mezclado en los balanceados de pollo se convierte en arsénico inorgánico durante su estancia en el interior del organismo del ave, y el resto es transformado a su forma inorgánica después que el ave excreta el Roxarsone (28). Estos estudios indican que cada pollo excreta alrededor de 150 mg de Roxarsone en el día 42 de su crecimiento. A partir de este día, los excrementos recolectados de las camas muestran entre 30-50 mg de arsénico total /kg (32).

Por lo general, el excremento del pollo se conoce como gallinaza y es empleado como un fertilizante en distintos cultivos. De esta forma el arsénico podría estar acumulándose en el suelo y llegar a ser un contaminante tanto para suelos como para cultivos. La contaminación con As podría también afectar a fuentes de agua al ser arrastrado desde escorrentías de granjas (34). Este tipo de contaminación por Roxarsone y otras más se resume en la Figura No 2.15.

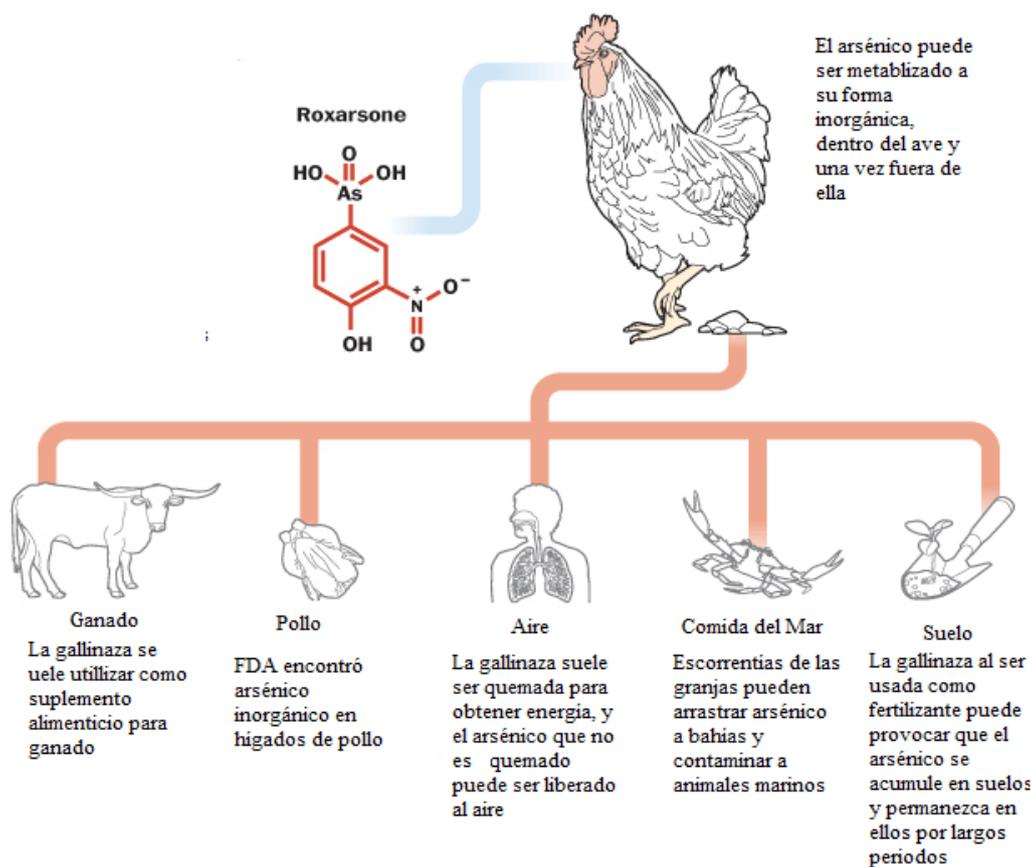


Figura No 2.15 Contaminación por Roxarsone (34).

Existen estudios realizados por entidades Americanas como FDA que indican que los pollos que consumen alimentos con Roxarsone, llegan a acumular arsénico en sus hígados. Es por este motivo, que algunos países como Estados Unidos han decidido suspender el uso de este compuesto químico (5).

2.4 Técnicas de análisis de arsénico

2.4.1 Digestión de Materia Orgánica (DMO)

La digestión de la materia orgánica es necesaria para poder destruir los compuestos orgánicos del As. Por ejemplo, una molécula proteica, por mecanismos de neutralización de cargas eléctricas, fenómenos de absorción o adsorción, forma con los compuestos metálicos y no metálicos combinaciones en las que desaparecen las características propias

de los iones en solución. En tales condiciones, es difícil reconocer un elemento metálico, pues no se ioniza suficientemente para producir una concentración adecuada de iones. Por esta razón se debe destruir la materia orgánica de una muestra. (35)

La digestión de materia orgánica es un proceso de combustión, donde el carbono es transformado en CO_2 . Los métodos de DMO para muestras que contienen arsénico cubren un amplio rango, desde reflujos con bicarbonato de sodio acuoso hasta fusión con magnesio (35)

Hoy en día se identifican principalmente dos métodos: DMO por vía seca y DMO por vía húmeda. Los métodos de vía seca, por lo general, se emplean en sistemas cerrados. Este tipo de métodos incluyen el uso de cenizas, he allí de donde se deriva “vía seca”. Algunos de los métodos más conocidos en esta categoría son DMO con cenizas de nitrato de magnesio, fusión con peróxido de sodio y fusión con magnesio para formar arseniuro (7).

Sin embargo, para la determinación del arsénico se usa más comúnmente métodos de vía húmeda. De hecho, existen estudios que muestran que si el arsénico está presente en un compuesto anillado, como es el caso de Roxarsone, el tratamiento con ácido sulfúrico y ácido nítrico fumante es exitoso (7).

Los métodos por vía húmeda emplean combinaciones de ácido sulfúrico, nítrico y perclórico para destruir la materia orgánica, pero los procedimientos que incluyen ácido perclórico son catalogados como peligrosos y por ende no muy recomendados (7).

A continuación se pueden observar tablas con porcentajes de recuperación de arsénico con DMO por vía seca y por vía húmeda.

Tabla No 2.2: Recuperación de As por DMO de vía seca (7).

Nivel de Arsénico(ppm)	Ceniza	Matriz orgánica	Porcentaje de Recuperación (%)
1	Mg(NO ₃) ₂	Hígado	78
1	Mg(NO ₃) ₂	Papa	68-116
1	Mg(NO ₃) ₂	Cocoa	99

Tabla No 2.3: Recuperación de As por DMO de vía húmeda (7).

Nivel de Arsénico(ppm)	Mezcla de oxidación*	Matriz orgánica	Porcentaje de Recuperación (%)
1	N+P	Cocoa	99
1	N+P+S	Cocoa	99
1	N+S	Cocoa	98
1	S+H ₂ O ₂	Polietileno	98
1	S+H ₂ O ₂	Cocoa+NaCl	60
1	S+H ₂ O ₂	PVC	3

*N+P: ácido nítrico y ácido perclórico

N+P+S: ácido nítrico, ácido perclórico y ácido sulfúrico

N+S: ácido nítrico y ácido sulfúrico

S+H₂O₂: ácido sulfúrico y peróxido de hidrógeno al 50%

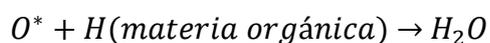
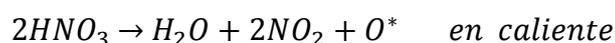
Al observar los datos de la

Tabla No 2.2 y Tabla No 2.3, en los métodos por vía húmeda se obtienen relativamente, un mayor porcentaje de recuperación de As. Las pérdidas observadas en DMO por vía seca se suelen dar principalmente por falta de regulación de la temperatura en el proceso. Temperaturas entre 450-550°C producen pérdidas de As, Se, Hg, Sb y halógenos. Por otro lado, algunas desventajas de DMO por vía húmeda son el gran volumen final y alta acidez (36).

En la Tabla No 2.3, las combinaciones de ácido nítrico/perclórico y ácido nítrico/perclórico/sulfúrico son las que presentan una mayor recuperación de As (7). Una de las desventajas de la combinación de ácido nítrico/perclórico/sulfúrico es que es peligrosa por los vapores tóxicos e irritantes que se generan y porque pueden producir

explosiones (37). Si no se desea trabajar con ácido perclórico, la combinación de ácido sulfúrico y nítrico, también es una buena opción según lo observado en la misma Tabla.

La combinación de H_2SO_4 y HNO_3 se basa en la acción de una mezcla oxidante que actúa sobre la muestra y rompe la unión entre metales y materia orgánica llevándolos a su estado máximo de oxidación. El ácido nítrico es un agente oxidante, que actuará en la materia orgánica de la siguiente manera:



El ácido sulfúrico es un indicador de la destrucción de la materia orgánica. Al consumirse el ácido nítrico en la muestra, el ácido sulfúrico ataca a la materia orgánica aún presente produciendo carbono de color negro. En este punto, se debe detener el calentamiento por falta de medio oxidante. Después de agregar más ácido nítrico, se continuará con el calentamiento. Se debe tener cuidado con la carbonización de la muestra, puesto que el carbono es un reductor y puede reducir el As a AsH_3 , arsina, provocando la pérdida de As por volatilización. Cuando la materia orgánica ha sido destruida completamente, no aparece color negro y se observan humos blancos de SO_3 (37).

El uso de ácido sulfúrico es ventajoso al tener una muestra con proteínas, grasas y glúcidos, ya que rompe sus cadenas formando moléculas más pequeñas que son atacadas más fácilmente por el ácido nítrico (37).

La recuperación de arsénico también dependerá del tipo de muestra que es digerida, ya que matrices orgánicas que contienen cloruro, tienden a presentar pérdida de As por la

volatilización del mismo en forma de cloruro de arsénico (7). Para evitar esto, se recomienda calentar la muestra en un inicio con exceso de ácido nítrico, y así asegurar que el ion cloruro sea removido como cloruro de nitrosilo. Si la muestra es digerida sólo en presencia de ácido sulfúrico, el cloruro puede causar pérdidas de As (7).

La volatilidad del arsénico es un aspecto que se debe tomar en cuenta en el momento de escoger el método de digestión de la muestra. El método de DMO por vía húmeda con combinación de H_2SO_4 y HNO_3 es uno de los más empleados. Esta evidencia se observa en las Normas de Determinación de arsénico de España (38), Venezuela (39) y México (40).

2.4.2 Métodos de análisis de arsénico

Existe una amplia bibliografía con respecto a las técnicas de análisis de arsénico en aguas. Sin embargo, para análisis de arsénico en tejidos y suelos, la bibliografía es un poco más reducida.

La técnica a ser empleada para el análisis, dependerá del tipo de muestra y cantidad presente de arsénico. Si el arsénico se encuentra en orden de ppb, se necesitará de técnicas más sensibles.

Algunos de los métodos que se emplean para la determinación de arsénico son:

- **Métodos espectrofotométricos UV-Vis:** Es una metodología simple y económica, que está basada en reacciones colorimétricas que involucran selectivamente As(III) o As(V).
- **Absorción Atómica – Generación de Hidruros:** Es una metodología sencilla que necesita instrumentación relativamente económica y presenta una buena detección de arsénico total e inorgánico (previa separación) (35).

- **Absorción atómica con horno de grafito (AAS-GF):** tiene límites de detección mayores a la anterior técnica (35).
- **Florescencia atómica-generación de hidruros (AFS-HG):** parecida a la absorción atómica con generación de hidruros, pero con mejores límites de detección, aunque requiere de volúmenes mayores de muestra para cada análisis (35).

Debido a la disposición de instrumentos y tiempo en la Universidad San Francisco de Quito, en este proyecto se escogió trabajar con el método de absorción atómica. Por esta razón, a continuación se presenta el fundamento teórico de esta técnica.

2.4.2.1 Absorción atómica-generación de hidruros (AAS-HG):

La espectroscopía de absorción atómica cuantifica la cantidad de luz absorbida por los átomos del analito a su respectiva longitud de onda (35). Esta técnica, al igual que otros métodos espectrométricos, se fundamenta en la Teoría Cuántica que indica que los átomos, moléculas e iones existen en determinados estados discretos con una cantidad de energía definida. Cuando una especie cambia de estado, absorbe o emite una cantidad de energía igual a la diferencia de energía entre los dos estados (41). Este cambio de energía se puede visualizar en la Figura No 2.16

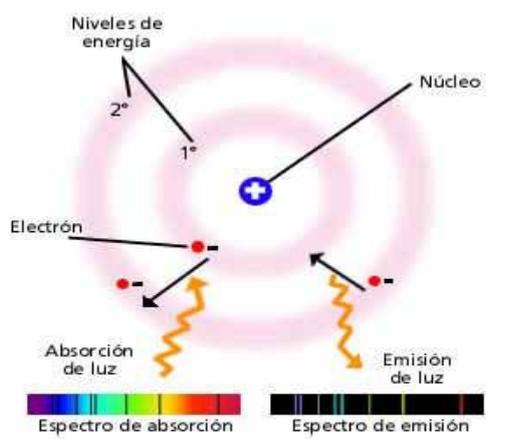


Figura No 2.16 Absorción y emisión de luz de un electrón (42)

Al pasar la radiación a través de un gas, algunas frecuencias son eliminadas por absorción mediante la transferencia de energía electromagnética a átomos, moléculas o iones presentes en una muestra (41).

En la espectroscopía de absorción atómica, los átomos absorben esta energía en forma de radiación. La radiación absorbida cambia el estado de los electrones de fundamental a excitado. La cantidad de energía necesaria para esta transición es característica de cada elemento, lo que permite utilizar este fundamento teórico para caracterizar componentes de una muestra (41).

Funcionamiento del método:

La Figura No 2.17 muestra un esquema del funcionamiento de esta técnica:

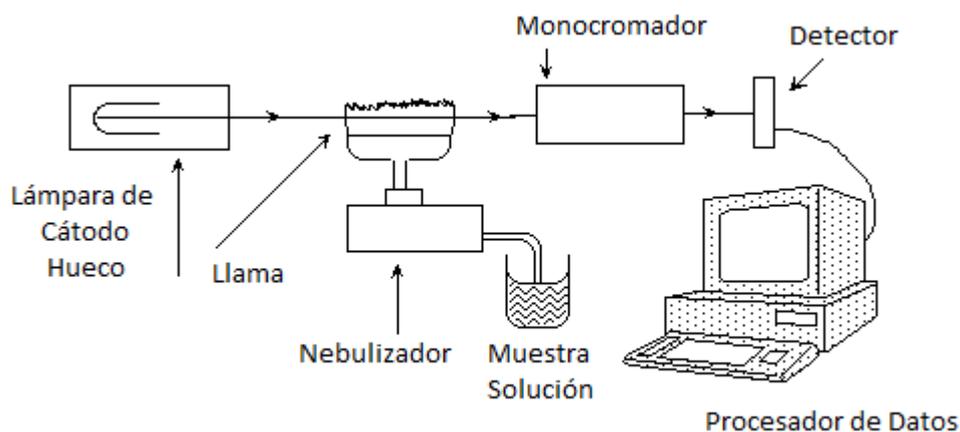


Figura No 2.17. Elementos de espectrofotometría de absorción atómica (43)

La luz incidente, de longitud de onda específica, es emitida por una lámpara de cátodo hueco o de descarga sin electrodo y es absorbida por la solución que intercepta la luz (35).

El interior de la lámpara de cátodo hueco, como se observa en la Figura No 2.18, contiene un gas inerte (Ne o Ar) a una baja presión, 10-15 torr, que luego es ionizado en el ánodo. Este cátodo está formado por el elemento de interés. Los iones de Ne o Ar cargados positivamente son atraídos por las cargas negativas del cátodo, y al chocar con el elemento de interés contenido en el cátodo, expulsan a los átomos y los excitan. Cuando los átomos regresan a su estado basal, producen el espectro de emisión del elemento a analizar. (35)

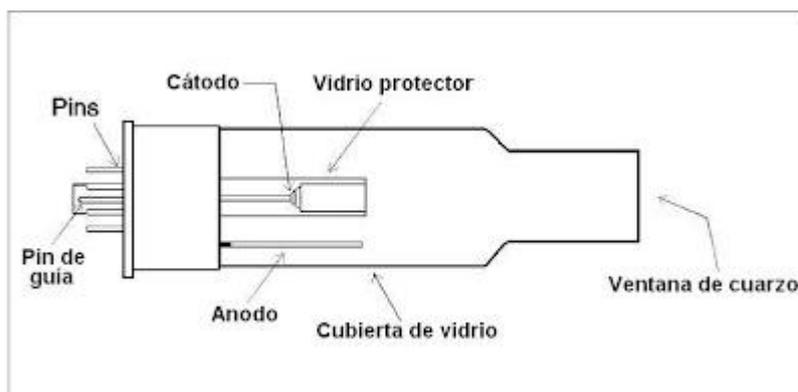


Figura No 2.18: Lámpara de cátodo hueco

En el caso de la lámpara de descarga sin electrodo, ésta produce las líneas espectrales por excitación de radiofrecuencia del gas inerte que ioniza al metal. La intensidad de la luz emitida es menos estable que la lámpara de cátodo hueco. El uso de estas lámparas para análisis de As no es recomendado porque disminuye los límites de detección del arsénico (35).

Para analizar una muestra por absorción atómica, el metal debe encontrarse en estado atómico. Para esto, se emplea un atomizador con llama o nebulizador, el cual nebuliza la disolución de la muestra usando un flujo de un gas oxidante (41).

Una vez que el analito se está atomizando en la llama, la luz emitida por la lámpara pasa por el conjunto de átomos y se mide la fracción de luz absorbida por la muestra. La absorción crece a medida que la atomización del analito se lleva a cabo, llega a un máximo y decae una vez consumido el analito. El valor máximo de absorción se puede relacionar con la concentración del analito (41) (35) , como se observa en la Figura No 2.19



Figura No 2.19: Variación de la absorbancia en función de la concentración del analito

El monocromador ayuda a disipar las longitudes de onda de luz que son emitidas desde la lámpara de cátodo hueco, para así aislar una línea de interés en particular. El detector, por su parte, produce una corriente eléctrica que es amplificada y procesada por el instrumento para dar lugar a una señal que es una medida de la atenuación de la luz producida (43).

Determinación de la concentración de un elemento:

Para analizar los datos obtenidos (luz absorbida), se emplean las siguientes ecuaciones:

$$T = I/I_0 \quad (\text{Ecuación 2.1})$$

Donde T se define como la transmitancia; I es intensidad de la luz después de atravesar la solución conteniendo el analito, I_0 es la intensidad de luz incidente.

A partir de esta Ecuación 2.1 se puede definir la absorbancia:

$$A = \log\left(\frac{I}{I_0}\right) \quad (\text{Ecuación 2.2})$$

que es una medida de la cantidad de luz absorbida.

Con ayuda de la Ley de Beer, se relaciona la absorbancia y concentración del analito:

$$A = \epsilon cl \quad (\text{Ecuación 2.3})$$

donde A es absorbancia, l es longitud de paso óptico(cm), c es la concentración del analito (mol/L), ϵ representa el coeficiente de absorción molar (L/mol·cm) o absortividad (41) (35).

Como se observa en la Ecuación 2.3, existe una relación lineal entre absorbancia y concentración del analito. Así que, para determinar la concentración del analito presente en la muestra, se necesita encontrar el coeficiente de absorción molar ϵ . Para esto, es necesaria la construcción de una curva de calibración (41). Esta curva se construye utilizando soluciones sintéticas de concentraciones crecientes del analito que se encuentren dentro del rango de detección del instrumento utilizado (44).

Una vez construida la curva de calibración del elemento a analizar, el instrumento calculará automáticamente la concentración del analito a partir de la absorbancia de cada muestra analizada.

Interferencias:

Pueden existir interferencias de tipo físico y químico que impidan una lectura exacta de la concentración de cierto analito en la muestra. A continuación se indican un par de ellas:

- Puede existir interferencia por superposición de la medida de radiación seleccionada y una línea secundaria de otro elemento (44).

- Durante la digestión de la muestra, se debe asegurar la ausencia de ácido nítrico, pues representa interferencia para la determinación del arsénico.

Límite de detección:

El límite de detección dependerá de cada instrumento. En el caso del Espectrofotómetro de Absorción Atómica de Buck Scientific de la Universidad San Francisco de Quito, se encuentra que su límite de detección es de 30 ppm (45).

Absorción atómica por generación de hidruros:

Los fundamentos teóricos de esta técnica son los mismos de absorción atómica. La generación de hidruros acoplada a la espectrometría de absorción atómica es un método estandarizado mundialmente para determinar elementos que forman hidruros volátiles (46).

La generación de hidruros se basa en una reacción generadora de hidrógeno en la disolución donde se halla el analito. Para esto se puede utilizar la reacción de Marsh en la que se adiciona de Zn a un medio ácido diluido. Esta reacción sirve únicamente para generar arsina, AsH_3 , y estibina, SbH_3 (46).

El borohidruro de sodio (NaBH_4), es otro compuesto que puede ser empleado para generar hidrógeno. Este compuesto es muy utilizado para la determinación de As ya que a la vez que genera hidrógeno para la formación de arsina, también reduce el As(V) a As(III), para tener una mejor lectura de arsénico total presente en la muestra.

Funcionamiento:

El generador de hidruros consiste en un sistema acoplado al espectrofotómetro. En la Figura No 2.20 se observa el generador de hidruros de la Buck Scientific modelo 1018, acoplado al nebulizador del espectrofotómetro.

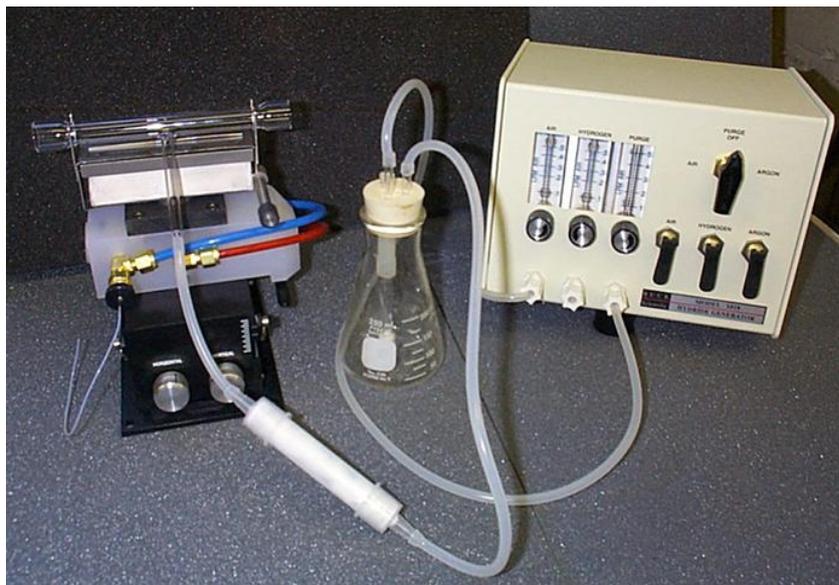


Figura No 2.20. Generador de hidruros (47)

Al matraz donde se encuentra la muestra, se coloca el tapón respectivo, Figura No 2.21, y se activa el flujo del gas de purga (argón, nitrógeno). Por el orificio correspondiente del tapón, se inyecta el agente reductor, que ayudará a reducir el As(V) presente a As(III). Si se emplea SnCl_2 como agente reductor, entonces también se inyectará Zn. En ese instante, por acción del Zn o NaBH_4 , hidrógeno comienza a ser producido y éste a su vez se une al As(III) presente, formando finalmente la arsina, AsH_3 . El gas de purga empujará a la arsina por un tubo y una manguera hacia el tubo T de cuarzo colocado sobre la llama del espectrofotómetro. Cuando la arsina llegue al tubo T, se descompondrá por acción de la llama en As^0 , y el espectrofotómetro medirá la absorbancia del mismo (35) (46) (47). En el Anexo 1 se adjunta el procedimiento de análisis de arsénico utilizando este método.

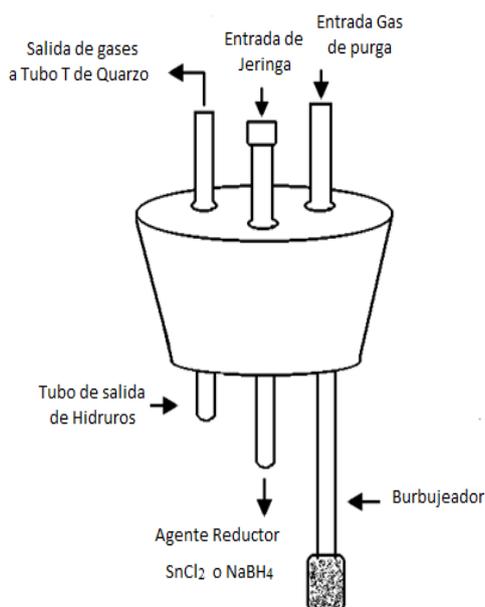


Figura No 2.21. Tapón de generador de hidruros (47).

Determinación de la concentración del analito:

Por cuanto el generador de hidruros es acoplado a un espectrofotómetro, la determinación de la concentración del analito se la da como se explicó anteriormente en el párrafo de determinación de la concentración de analito en espectrofotometría de absorción atómica.

Interferencias y límites de detección:

Al investigar elementos a nivel de ultratrazas, se debe tomar en cuenta la composición de la matriz que los contienen. En el caso del arsénico en concentraciones ultratrazas, puede existir interferencia por concentraciones de $100\mu\text{g/L}$ de Ag, Au, Pt y Pd; concentraciones mayores a 1mg/L de Cu, Pb, Ni; y altas concentraciones de ácidos que decaen la señal de absorción (35).

Al trabajar con arsénico en ultratrazas y con generación de hidruros, el límite de detección es de 30 ppb para este alimento (47).

3 Métodos Experimentales

3.1 Recolección de muestras

Para determinar la presencia de arsénico en pollos se decide analizar la posible fuente, esto es, el alimento balanceado. También, se analiza el excremento ó gallinaza para confirmar la expulsión de arsénico del cuerpo del ave, y vísceras, hígados y mollejas, que mostrarían la acumulación o no de arsénico en la carne del ave que es consumida por seres humanos.

Por esta razón, se decidió tomar: nueve muestras de diferentes tipos de balanceado para distintas etapas de crecimiento; cuatro muestras de gallinaza de pollos; tres muestras de hígados de pollo de diferentes marcas, y tres muestras de mollejas de pollo de distintas marcas. Cada muestra se analizará por triplicado para tener una mayor precisión en la determinación de arsénico. El origen de las muestras de gallinaza y balanceado se mantendrá en confidencialidad.

Las muestras de balanceados, gallinaza y vísceras fueron almacenadas en frascos esterilizados de polipropileno de 100 ml, y posteriormente, mantenidas en refrigeración.

Las muestras tomadas se resumen en las siguientes tablas:

Tabla No 3.1: Muestras de balanceado

Identificación	Etapas de Crecimiento	Lugar de recolección
1	Crecimiento	Mercado Mayorista Sur
2	Crecimiento	Mercado Mayorista Sur
3	Crecimiento	Mercado Mayorista Sur
4	Engorde	Mercado Mayorista Sur
5	Engorde	Mercado Mayorista Sur
6	Engorde	Mercado Mayorista Sur
7	Ponedoras	Mercado Mayorista Sur
8	Crecimiento	Cumbayá
9	Sin denominación	Finca de Tumbaco

Tabla No 3.2: Muestras de gallinaza

Identificación	Lugar de Recolección	Edad del pollo
I	Tumbaco – Criadero de codornices	-----
II	Guayllabamba	41 días
III	Guayllabamba	7 semanas
IV	Guayllabamba	Gallinaza ya preparada para uso como fertilizante

Tabla No 3.3: Muestras de vísceras

Identificación	Lugar de Recolección
x	Sta. María - Tumbaco
y	Sta. María - Tumbaco
z	Quito

3.2 Preparación de las muestras para DMO

3.2.1 Preparación de balanceados:

Se molió las muestras de balanceados con el mini molino Wiley de Thomas Scientific, en el laboratorio de Química de la Universidad San Francisco de Quito. Se utilizó una malla de 40 μ m.

3.2.2 Preparación de gallinazas:

Se colocaron las muestras de gallinaza en un refrigerador, dentro de recipientes cerrados para poder mantener su frescura.

3.2.3 Preparación de vísceras (hígado y molleja):

Con la ayuda de un cuchillo se cortó las muestras de vísceras en pequeños pedazos.

Mientras más pequeño es el tamaño de la muestra, más rápida será la digestión.

3.3 Determinación de humedad

Se buscó determinar la humedad de las muestras para poder calcular en base seca el contenido de arsénico en las mismas. Para esto se pesó aproximadamente 1.000 g de cada muestra de gallinaza y vísceras, en crisoles de 30 mL, y se registró la masa de cada crisol empleado. Posteriormente, estos crisoles fueron llevados a la estufa a una temperatura de alrededor de 60°C durante 12 horas. Después, se retiraron los crisoles de la estufa y se los dejó enfriar. Una vez fríos, se los pesó y por diferencia de pesos se determinó el porcentaje de humedad de las muestras y sus réplicas. Los resultados de este procedimiento se observan en la sección 4.1.

3.4 Digestión de materia orgánica

Antes de poder medir el arsénico inorgánico presente en una muestra, se debe destruir todo enlace orgánico de arsénico presente (48). Luego de estudiar algunos métodos de digestión de Materia Orgánica (DMO) se decide utilizar el método recomendado por la Buck Scientific. Este método tiene mucho en común con Normas de otros países para analizar el As y además toma en cuenta los principales aspectos recomendados y estudiados en la sección 2.4.1 para digestión de materia orgánica que contiene arsénico. También, utiliza una combinación de ácidos, que no es peligrosa para digerir la materia orgánica y tiene cuidado en que el As no se pierda por volatilización.

El método empleado es el #206.5 de la Buck Scientific, aprobado para organizaciones como NPDES(National Pollutant Discharge Elimination System) y SDWA(Safe Drinking Water Act) en los Estados Unidos. Se pesó aproximadamente 1g de cada muestra (balanceado, gallinaza y vísceras) en un vaso de precipitación de 40 mL. A la muestra, se añadió 7 mL de una solución (1:1) H₂SO₄ y 5 mL de HNO₃ concentrado. Se colocó la muestra en un baño de arena de alrededor 120°C colocado sobre una plancha de

calentamiento marca NUOVA de Thermolyne. Se tapó parcialmente el vaso de precipitación con un vidrio reloj para ayudar a la salida no violenta de los gases que se generan en el ataque químico, como se observa en la Figura No 3.1.



Figura No 3.1 Aparición de humos de óxidos de nitrógeno

Estos gases corresponden a los óxidos de nitrógeno, que son de color café rojizo. Luego, se esperó hasta la aparición de humos blancos de SO_3 . Si la muestra comenzaba a carbonizarse, como se observa en la Figura No 3.2 se detenía la digestión y se la dejaba enfriar. Una vez fría, se añadía 2 mL de HNO_3 concentrado y se continuaba con la digestión hasta la aparición de humos blancos. Se recomienda hacer la digestión dentro de una sorbona para evitar una posible intoxicación por los gases que se forman.



Figura No 3.2 Carbonización de muestra

Una vez que los humos blancos aparecían, se retiraban las muestras del baño de arena y se las dejaba enfriar. Posteriormente, se añadía a la muestra 25 ml de agua destilada y se la llevaba de nuevo al baño de arena. Una vez más, se esperaba a la aparición de humos blancos. Si la muestra permanecía sin color o amarillo paja durante la aparición de humos blancos, como se observa en la Figura No 3.3, se daba por terminada la digestión de la muestra y se la dejaba enfriar. Aproximadamente, la digestión total de la muestra puede llegar a durar entre 4 o 10 horas, dependiendo del tipo de muestra. Terminada la digestión, la muestra digerida tenía un volumen aproximado de 35 mL.

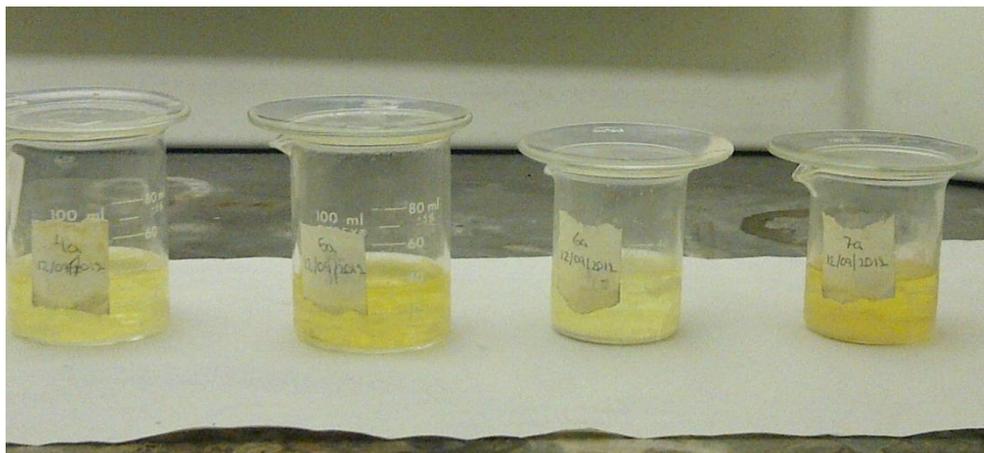


Figura No 3.3 Muestras ya digeridas

Luego de enfriar la muestra, se filtraba con papel filtro N°1 de y se almacenaba en frascos de plástico de 100mL, como se observa en la Figura No 3.4.



Figura No 3.4 Filtración y almacenamiento de muestras digeridas

Durante todo el proceso de digestión, siempre se cuidó de llevar una mascarilla y guantes de nitrilo para la manipulación de ácidos, con el fin de evitar cualquier accidente.

3.5 Espectroscopía de absorción atómica

Para determinar la presencia de arsénico en las muestras, se empleó el método de espectroscopía de absorción atómica. Antes de emplear el método de generación de

hidruros se hizo un análisis sin dicho generador, para observar si la cantidad de arsénico podía o no ser detectada sin el mismo.

Primero, se realizó la curva de calibración para As (III) utilizando una solución madre de 1000 ppm. La curva de calibración utilizada cubrió el rango de 0 a 10 ppm y se la puede observar en el Anexo 2.

Luego de hacer la curva de calibración, se midió cada muestra en el espectrofotómetro de absorción atómica de Buck Scientific. Según la absorbancia obtenida de cada muestra y sus réplicas, el equipo determinó la concentración de As (III) en ppm. Los resultados de las medidas se los puede apreciar en la sección 4.

Debido a que las muestras leídas presentaron valores dentro del rango de ppm, no fue necesario hacer análisis de arsénico con generación de hidruros.

4 Resultados y Discusión

A continuación se indican los resultados obtenidos de los análisis realizados.

4.1 Determinación de humedad en gallinaza y vísceras de pollo

Tabla No 4.1: Determinación de humedad de muestras de gallinaza

Origen	Identificación	Réplica	Masa crisol (g)	Muestra(g)	Masa Crisol + muestra húmeda (g)	Masa Crisol + muestra seca (g)	Masa húmeda (g)	Masa seca (g)	Porcentaje humedad (%)	Promedio %
<i>Codorniz</i>	I	A	23.936	1.001	24.937	24.111	0.826	0.175	82.517	
		B	20.033	1.002	21.035	20.207	0.828	0.174	82.635	82.790
		C	21.878	1.001	22.879	22.046	0.833	0.168	83.217	
<i>Pollo 41 días</i>	II	A	17.722	1.001	18.723	17.881	0.842	0.159	84.116	
		B	17.54	1.000	18.54	17.696	0.844	0.156	84.400	82.239
		C	18.713	1.000	19.713	18.931	0.782	0.218	78.200	
<i>Pollo 7 semanas</i>	III	A	21.164	1.000	22.164	21.31	0.854	0.146	85.400	
		B	23.958	1.001	24.959	24.101	0.858	0.143	85.714	84.411
		C	20.138	1.001	21.139	20.317	0.822	0.179	82.118	
<i>Gallinaza Abono preparado</i>	IV	A	19.208	1.004	20.212	19.647	0.565	0.439	56.275	
		B	18.532	1.002	19.534	18.962	0.572	0.430	57.086	56.454
		C	20.746	1.000	21.746	21.186	0.560	0.440	56.000	

Humedad promedio de pollos de 41 y 49 día (7 semanas): 83.3%

Como es de esperarse, las gallinazas presentan un alto contenido de humedad, siendo el más alto la gallinaza perteneciente a pollos de 7 semanas con 84.4% de humedad. Mientras que la humedad de la gallinaza como abono ya preparado, es la menor de todas con un 56% de humedad. Este hecho se puede explicar al tomar en cuenta que este abono no sólo contiene la gallinaza, sino otros elementos como viruta y un poco de tierra. También se puede observar, que entre pollos de edades similares, 41 días y 7 semanas(49 días), el porcentaje de humedad es parecido, lo que significaría que la cantidad de materia seca de las mismas también es similar. Pese a que la codorniz es otro tipo de ave estudiado, se puede observar que el porcentaje de humedad (82%), no está muy alejado del valor encontrado para los pollos (83.3% en promedio). Los cálculos de la humedad permitirán, si así se desea, calcular el porcentaje de As en la materia orgánica seca de la gallinaza.

Tabla No 4.2: Determinación de humedad de muestras de vísceras de pollo

Origen	Identificación	Réplica	Masa crisol (g)	Muestra(g)	Masa Crisol + muestra húmeda (g)	MasaCrisol + muestra seca (g)	Masa húmeda (g)	Masa seca (g)	Porcentaje humedad (%)	Promedio %
Hígado x	Hx	A	20.746	1.014	21.76	20.999	0.253	0.761	24.95	
	Hx	B	19.207	1.012	20.219	19.456	0.249	0.763	24.60	24.94
	Hx	C	17.721	1.009	18.73	17.976	0.255	0.754	25.27	
Hígado y	Hy	A	17.54	1.005	18.545	17.797	0.257	0.748	25.57	
	Hy	B	20.137	1.001	21.138	20.385	0.248	0.753	24.78	24.93
	Hy	C	23.957	1.007	24.964	24.203	0.246	0.761	24.43	
Hígado z	Hz	A	19.31	1.008	20.318	19.574	0.264	0.744	26.19	
	Hz	B	21.744	1.003	22.747	22.002	0.258	0.745	25.72	26.04
	Hz	C	16.444	1.003	17.447	16.707	0.263	0.74	26.22	
Molleja x	Mx	A	23.934	1.001	24.935	24.151	0.217	0.784	21.68	
	Mx	B	18.712	1.002	19.714	18.91	0.198	0.804	19.76	20.76
	Mx	C	21.163	1.017	22.18	21.375	0.212	0.805	20.85	
Molleja y	My	A	18.533	1.002	19.535	18.735	0.202	0.8	20.16	
	My	B	21.876	1.01	22.886	22.076	0.2	0.81	19.80	19.87
	My	C	20.033	1.003	21.036	20.23	0.197	0.806	19.64	
Molleja z	Mz	A	19.541	1.007	20.548	19.743	0.202	0.805	20.06	
	Mz	B	23.908	1.009	24.917	24.116	0.208	0.801	20.61	20.54
	Mz	C	19.259	1.008	20.267	19.47	0.211	0.797	20.93	

Tabla No 4.3 Humedad promedio de vísceras

Hígado	25.3%
Molleja	20.4%

En cuanto a las vísceras, se observa que entre las muestras de hígados, el mayor porcentaje de humedad pertenece a la muestra z. Lo mismo se observa en el caso de las mollejas, las muestras con mayor porcentaje de humedad son las muestras z. Las muestras z pertenecen al mismo productor.

En promedio, los hígados tienen una humedad de 25.3%. Por otra parte, las mollejas estudiadas presentan un valor promedio de humedad de 20.4%, siendo menor que la humedad presente en el hígado. Esto indica que la mayor cantidad de materia seca se encuentra en la molleja. Lo que podría indicar al mismo tiempo que de existir arsénico, podría encontrarse en mayor cantidad en la molleja.

4.2 Determinación de arsénico

A continuación se muestran los resultados de análisis de arsénico en las muestras. En estas tablas se observará el uso de unidades T.C.O, que indican que las muestras fueron analizadas tal como ofrecidas al público. Es decir, la gallinaza fue analizada sin antes ser secada, igual que el balanceado.

4.2.1 Determinación de As en balanceados de pollo

Tabla No 4.4: Determinación de arsénico en balanceados de pollo

Muestra	Identificación	Réplicas	Concentración de As (ppm)	Desviación Estándar	Promedio concentración ppm (mg/L)	mg As/g de balanceado T.C.O	mg As/ kg balanceado T.C.O
CRECIMIENTO 1	1	A	0.39				
		B	0.4	0.0265	0.41	0.0144	14.35
		C	0.44				
CRECIMIENTO 2	2	A	1.82				
		B	1.89	0.0436	1.87	0.0655	65.45
		C	1.9				
CRECIMIENTO 3	3	A	1.15				
		B	1.25	0.1102	1.26	0.0440	43.98
		C	1.37				
ENGORDE 1	4	A	1.43				
		B	1.59	0.0833	1.52	0.0533	53.32
		C	1.55				
ENGORDE 2	5	A	1.42				
		B	1.32	0.1206	1.31	0.0457	45.73
		C	1.18				
ENGORDE 3	6	A	1.16				
		B	1.33	0.4102	1.48	0.0517	51.68
		C	1.94				
PONEDORAS	7	A	1.03				
		B	1.02	0.0493	1.05	0.0369	36.87
		C	1.11				
CRECIMIENTO 4	8	A	0.84				
		B	0.73	0.0819	0.82	0.0287	28.70
		C	0.89				
CODORNIZ	9	A	0.74				
		B	0.74	0.0346	0.76	0.0266	26.60
		C	0.8				

Según la tabla anterior, entre las muestras de balanceado de crecimiento, se observa que, la que mayor arsénico posee es la muestra de crecimiento 2. Hacer un promedio entre estas muestras no valdría mucho la pena, ya que sus valores oscilan entre 14 ppm y 65ppm, lo cual se puede explicar al recordar que la formulación de los balanceados depende de cada productor. Además, no se cuenta con la formulación de los balanceados, debido a que es información protegida por cada productor, en especial la composición de suplementos alimentarios como el Roxarson. Pese a esto, los valores observados de arsénico son más elevados de lo esperado (1mg de As/kg balanceado).

Con respecto a los balanceados de engorde, donde según lo visto en la sección 2.2, se siguen añadiendo aditivos como Roxarson contra la coccidiosis, se observa una presencia de As entre 45 y 53 ppm. De nuevo, el cálculo de un promedio no sería tan factible pues la cantidad de As presente dependerá mucho de la formulación del balanceado de cada productor.

En la Figura No 4.1 se observa que las muestras de crecimiento 2 y engorde 1 son las muestras que presentan un mayor contenido de As.

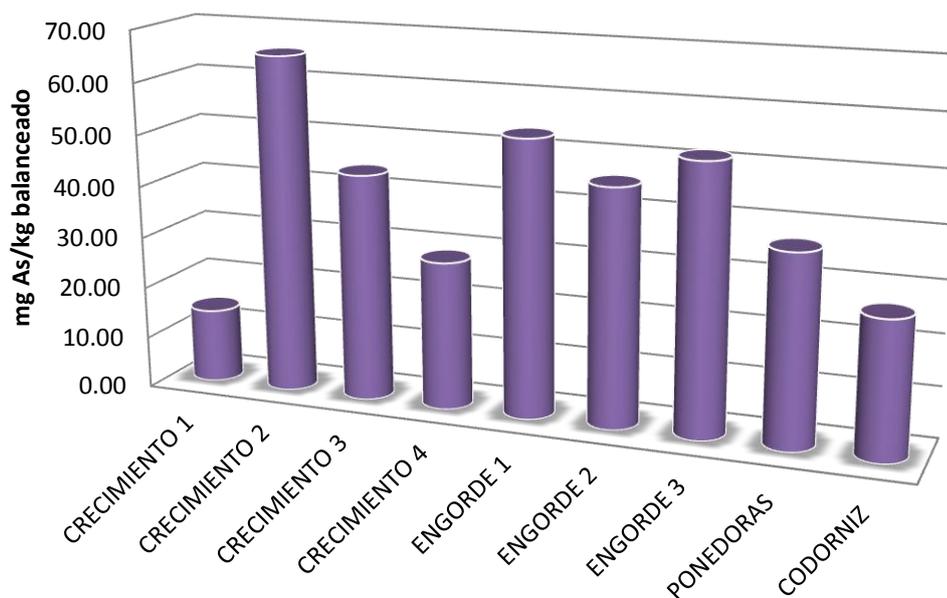


Figura No 4.1: Presencia de As en balanceados

Si la fuente del arsénico presente fuera el Roxarsone, en la Tabla No 4.5 se presenta las posibles cantidades utilizadas de Roxarsone en los balanceados.

Tabla No 4.5 Posible concentración de Roxarsone empleada en formulación de balanceados

Muestra	mg As/ kg balanceado	Posible concentración de Roxarsone (mg/kg balanceado)
CRECIMIENTO 1	14.35	50.3821
CRECIMIENTO 2	65.45	229.7914
CRECIMIENTO 3	43.98	154.4114
CRECIMIENTO 4	28.70	100.7641
ENGORDE 1	53.32	187.2036
ENGORDE 2	45.73	160.5555
ENGORDE 3	51.68	181.4456
PONEDORAS	36.87	129.4485
CODORNIZ	26.60	93.3911

Para hacer estos cálculos se tomó en cuenta que:

$$\frac{mg\ As}{Kg\ balanceado} \times \frac{1\ g\ As}{1000\ mg\ As} \times \frac{263.04\ g\ Roxarsone}{74.92gAs} \times \frac{1000g\ Roxarsone}{1\ g\ Roxarsone} = \frac{mg\ Roxarsone}{kg\ balanceado}$$

Según los cálculos realizados, se observa que si los productores estuvieran empleando Roxarsone en la formulación de sus balanceados, la concentración utilizada sobrepasa el valor recomendado en los Estados Unidos (30). El mayor valor de Roxarsone se encontraría en la muestra de balanceado de crecimiento 2.

4.2.2 Determinación de As en gallinazas

Tabla No 4.6: Determinación de As en muestras de gallinaza

Muestra	Identificación de Muestra	Réplicas	Concentración de As (ppm)	Desviación Estándar	Promedio concentración ppm (mg/L)	mg As/g de gallinaza T.C.O	mg As/ kg gallinaza
Codorniz	I	a	1.71	0.136	1.79	0.063	62.77
		b	1.95				
		c	1.72				
Pollo 41 días	II	a	1.3	0.050	1.35	0.047	47.13
		b	1.4				
		c	1.34				
Pollo 7 semanas	III	a	1.34	0.089	1.24	0.043	43.40
		b	1.21				
		c	1.17				
Abono preparado	IV	a	1.4	0.085	1.40	0.049	49.12
		b	1.49				
		c	1.32				

Tabla No 4.7 Determinación de As en base seca

Muestra	Masa Seca promedio(g)	mg As/ kg gallinaza (Base seca)
Codorniz	0.172	364.9
Pollo 41 días	0.177	266.3
Pollo 7 semanas	0.156	278.2
Abono preparado	0.436	112.7

En la Tabla No 4.6 se observa que en la gallinaza, también existe una alta concentración de arsénico que oscila entre 43 a 63 ppm de As. Los valores calculados de desviación estándar para cada muestra, reflejan la variabilidad de los resultados. Por ejemplo, en el caso de gallinaza de codorniz, se obtuvo que el valor promedio de 1.79 mg As/L solución, y para este valor se encontró una desviación de 0.136. Esto quiere decir que el valor de As encontrado en gallinaza de codorniz será 1.79 ± 0.136 mg As/L solución. Esto indica que las medidas tomadas son precisas pues no están muy alejadas entre sí. Este comportamiento se observa en todas las muestras.

En la Tabla No 4.7 se presenta el cálculo de As en base seca de las muestras. Ya que este valor está calculado en base seca, se espera que la cantidad de As expresada sea mayor. Esto es precisamente lo observado en la antes mencionada Tabla.

En la Figura No 4.2 se observa una comparación entre los valores de As encontrados en las diferentes muestras de gallinaza.

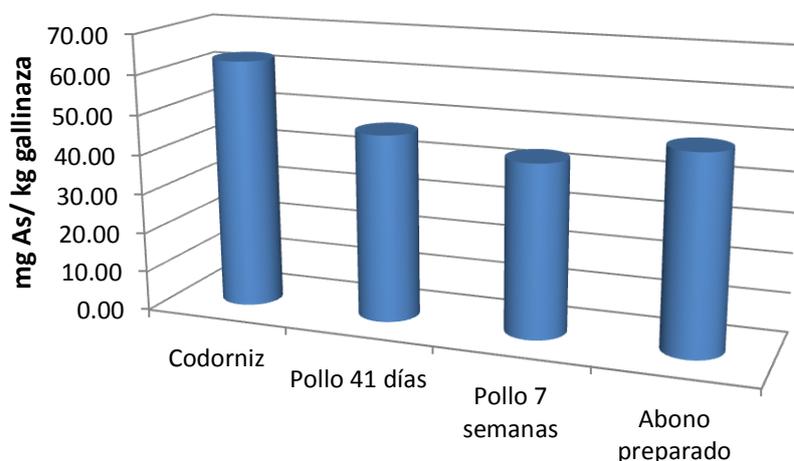


Figura No 4.2 Concentración de As en gallinazas

Se deduce del gráfico que la gallinaza de codorniz fue la que presentó una mayor concentración de As.

La cantidad de gallinaza sugerida como abono es 280-360 kg/ha (49). Los valores encontrados en el presente análisis oscilan entre 43 a 63 mg As/kg gallinaza, en promedio 50.6mg As/kg. Para la cantidad de gallinaza empleada de 280-360 kg/ha representaría un total de 14 a 18 g de As/ ha, sin tomar en cuenta pérdidas de As en la gallinaza por volatilización u otros factores. El valor de 14 a 18 g de As/ ha es muy grande y podría ser perjudicial para los suelos. Sin embargo, es necesario hacer análisis de suelos de cultivos donde se utiliza la gallinaza como abono para determinar la existencia de contaminación o no del suelo con arsénico. Los niveles fitotóxicos de arsénico en suelos dependen del cultivo y tipo de arsénico, como se explicó en la sección 2.1.5.

4.2.3 Determinación de As en vísceras

Tabla No 4.8: Determinación de As en vísceras de pollo

Muestra	Identificación de Muestra	Réplicas	Concentración de As (ppm)	Desviación Estándar	Promedio concentración ppm (mg/L)	mg As/g de víscera T.C.O	mg As/kg viscera T.C.O
Hígado x	Hx	A	1.1				
		B	1.33	0.169	1.29	0.045	45.03
		C	1.43				
Hígado y	Hy	A	1.65				
		B	1.38	0.183	1.44	0.051	50.52
		C	1.3				
Hígado z	Hz	A	1.65				
		B	1.59	0.153	1.71	0.060	59.73
		C	1.88				
Molleja x	Mx	A	1.21				
		B	1.28	0.035	1.24	0.044	43.52
		C	1.24				
Molleja y	My	A	1.38				
		B	1.4	0.047	1.42	0.050	49.58
		C	1.47				
Molleja z	Mz	A	1.54				
		B	2.02	0.277	1.70	0.060	59.50
		C	1.54				

Tabla No 4.9: Promedio mg As/kg de víscera de pollo

Hígado	51.7611
Molleja	50.8667

En el caso de las vísceras de pollo, se observa que la cantidad de As presente en hígado y Molleja, aparentemente es la misma, entre 51 y 52 ppm de As. Sin embargo, en la Tabla No 4.10, donde se muestran las concentraciones de As en las vísceras de pollo, calculadas en base seca, se observa que la mayor concentración de arsénico se encuentra en los hígados. El valor promedio de As en hígados es de 68.91 mg As/kg víscera en base seca, como se muestra en la Tabla No 4.11.

Tabla No 4.10 Concentración de As en vísceras de pollo en base seca

Muestra	Promedio de masa seca (g)	mg As/kg de víscera (base seca)
Hígado x	0.759	59.332
Hígado y	0.754	66.998
Hígado z	0.743	80.395
Molleja x	0.798	54.532
Molleja y	0.805	61.594
Molleja z	0.801	74.282

Tabla No 4.11 Promedio de As encontrado en vísceras de pollo en base seca

	mg As/kg de víscera (base seca)
Hígado	68.91
Molleja	63.47

Con ayuda de la Figura No 4.3 también se aprecia que el mayor contenido de As está presente en la muestra de hígado z y molleja z, ambos pertenecientes a la misma marca de comercialización, que no se nombrará para mantener confidencialidad de estos datos.

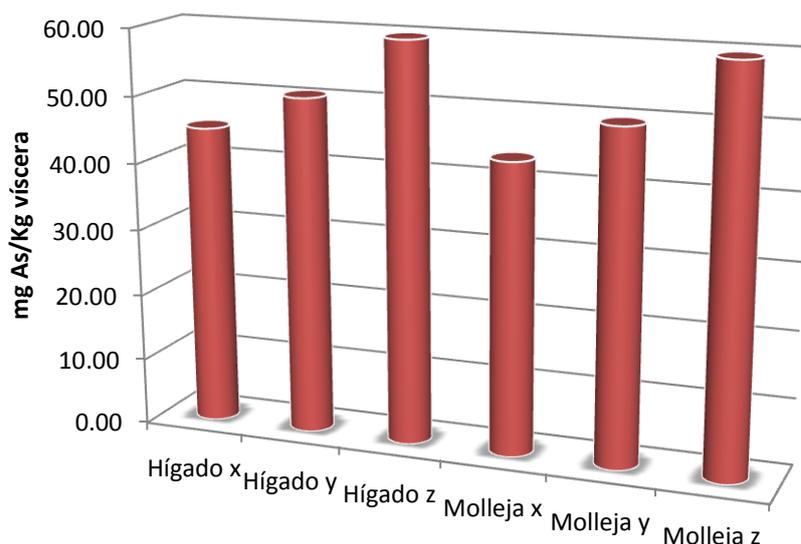


Figura No 4.3: Presencia de As en vísceras de pollo

Al tener en cuenta que la FDA de Estados Unidos indica una concentración máxima de 0.5ppm de As en huevos y tejidos de pollos y pavos (50), se puede decir que la concentración de As presente en las muestras de mollejas e hígados sobrepasa este límite y podría ser perjudicial para la salud. Además, la concentración de As de hígados y mollejas excede el límite máximo de As en alimentos que es de 0.1 mg/kg según el NTE INEN 269 (44).

En nuestro país sí se da la ingesta de vísceras de pollo como parte de nuestras comidas típicas, por lo que encontrar altos niveles de arsénico en vísceras sí podría ser alarmante. Para analizar si dichas concentraciones son peligrosas para el consumo humano, se deben tomar en cuenta muchos factores biológicos como capacidad del cuerpo para eliminar el arsénico del mismo. Pero en el presente estudio, se utilizarán los datos encontrados en ATSDR y otras normas que se enlistarán a continuación.

Según la ATSDR:

- El 95% de arsénico consumido ingresa al torrente sanguíneo.

- El 70% de arsénico consumido es excretado por la orina. De esto el 50% pertenece a la forma dimetilada, el 25% pertenece a la forma metilada y el resto a arsénico inorgánico.

Es decir, si una persona consume un plato de vísceras asadas de pollo como se observa en la Figura No 4.5, con 9 g de molleja se obtiene que, según los resultados de análisis de vísceras, el ser humano consumiría 0.457mg de As, y se tendría la siguiente distribución:

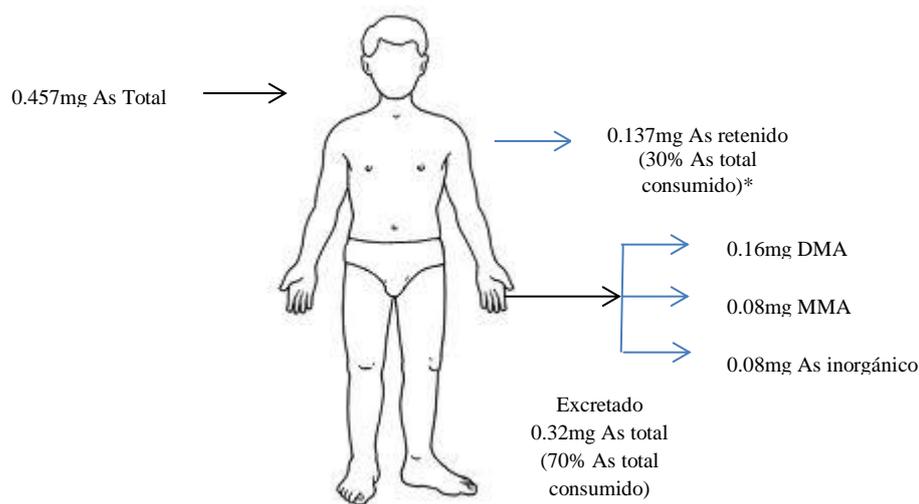


Figura No 4.4: Balance de masa de ingesta de As. *Valor supuesto

A esto cabe añadir, que se está suponiendo que el 30% del arsénico está siendo retenido en el cuerpo. Este 30%, no permanece acumulado, sino como se explicó anteriormente en la sección de marco teórico, el arsénico es eliminado del cuerpo humano gradualmente a través de tejidos ricos en proteína como el cabello. También, no se está considerando posibles pérdidas de As por volatilización.



Figura No 4.5 Plato típico de molleja asada

Al tomar en cuenta que:

- La Comisión Mixta FAO/WHO del Codex Alimentarius fija la máxima ingesta tolerable de $2\mu\text{g As/kg}$ de peso corporal (44).

Se encuentra que el límite máximo de ingesta de As para una persona de 60 kg es :

$$60\text{kg} \times \frac{2\mu\text{gAs}}{\text{kg peso}} \times \frac{1\text{gAs}}{1 \times 10^6\mu\text{gAs}} \times \frac{1000\text{mg}}{1\text{g}} = 0.120\text{mg As}$$

Al repetir estos cálculos para niños entre 1-6 años de edad, con un peso corporal de 16 kg (51), se tiene que:

$$16\text{kg} \times \frac{2\mu\text{gAs}}{\text{kg peso}} \times \frac{1\text{gAs}}{1 \times 10^6\mu\text{gAs}} \times \frac{1000\text{mg}}{1\text{g}} = 0.032\text{mg As}$$

Al comparar los cálculos anteriores, se observa que la cantidad máxima de ingesta de arsénico para un adulto de 60 kg debe ser 0.120 mg As. Este valor se encuentra por debajo de lo consumido en 9 g de molleja (0.457mg As). Lo mismo se repite en los cálculos

realizados para un niño entre 1 a 6 años de edad, y se encuentra que la ingesta de As al consumir un plato de molleja asada, es superior a lo recomendado para niños de esta edad (0.032mgAs).

Cabe resaltar que no se puede contabilizar con exactitud cuánto arsénico del consumido se acumula en el cuerpo humano, debido al mecanismo natural del cuerpo de eliminar el arsénico gradualmente por el tejido de cabello, uñas, etc. Para conocer la cantidad de arsénico acumulado y eliminado gradualmente se necesitaría hacer estudios a largo plazo con voluntarios que consuman arsénico de una manera crónica. Dichos estudios servirían para hacer una aproximación de cuánto As del consumido es acumulado en el cuerpo humano.

5 Conclusiones y Recomendaciones

- Como método de DMO para análisis de As, se escogió la Digestión por vía húmeda con combinación de H_2SO_4 y HNO_3 , tomando en cuenta las propiedades de ambos compuestos y observando que, según la literatura, evita la volatilización de As y tiene un porcentaje de recuperación de este elemento de alrededor del 99%. Con estos antecedentes, se confía que la recuperación de As de las muestras estudiadas también cumplen con el mismo porcentaje.
- Se realizó el análisis de As de las muestras por el método de Espectrofotometría de Absorción Atómica. Se comprobó que este método era adecuado para la lectura de este elemento debido a que la concentración del mismo en las muestras, se encontraba en el rango de detección de este instrumento. Por ende, no fue necesario un análisis más sensible con Generación de Hidruros.
- Se determinó que la cantidad de As presente en los balanceados de crecimiento de pollo oscila entre 15 y 65 ppm (mg As/kg balanceado T.C.O), característica que depende de la formulación de balanceado de cada productor. Estos valores, a su vez, representan el uso de Roxarsone (si existiera tal) de entre 50-230 mg/kg balanceado, valor que sobrepasa a lo recomendado por instituciones veterinarias de los Estados Unidos. Por todo esto, se puede concluir que sí hay una alta concentración de As en los balanceados.
- Con respecto a la gallinaza, se observa que la mayor concentración de As se encuentra en la gallinaza de codorniz (63 ppm) y la comercializada como abono para suelos (49 ppm). Esta concentración podría ser peligrosa como contaminante gradual del suelo, ya que según lo revisado en la sección 2.1.4, el arsénico es muy estable en el suelo. Además, se debe tomar en cuenta el tipo de suelo en el que se utiliza y de la absorción de este elemento por la planta.

- En cuanto a las vísceras, se observa que tanto hígados como mollejas superan el límite de concentración de As de la FDA (0.5ppm de As para huevos y tejidos de pollos y aves) (50), por lo que podría ser peligroso su consumo. Las concentraciones encontradas fueron de 51.76 ppm de As en hígados T. C. O y 50.86 ppm de As en mollejas T.C.O. Estos valores cambian e incrementan al ser calculados en base seca.
- El consumo de vísceras es común en nuestro país por lo que se recomienda determinar si su consumo es peligroso para la salud. Para esto se necesitaría hacer estudios a largo plazo, con diferentes tipos de poblaciones e ingesta de As, para observar la forma en que este elemento es eliminado y si la acumulación del mismo en el cuerpo es peligrosa.
- También se recomienda hacer un estudio de contaminación por arsénico en suelos de cultivos donde se emplea gallinaza como fertilizante para determinar si dichos cultivos estarían o no contaminados con arsénico.
- Además, al existir una alta concentración de As en gallinaza, ésta podría estar afectando de manera crónica a las personas que trabajan en criaderos de pollo. Por esto, un estudio de As en los trabajadores de estos criaderos ayudaría a determinar si éstos están siendo intoxicados crónicamente o no.

6 Referencias Bibliográficas

1. **ATSDR.** Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. *Resúmenes de Salud Pública-Arsénico*. [En línea] 2 de Marzo de 2010. [Citado el: 23 de Octubre de 2011.] http://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs2.html.
2. **Bautista, Francisco.** *Introducción al Estudio de la Contaminación del Suelo por Metales*. Yucatán : UADY, 1999, Vol. 1.
3. **Harris, Gardiner y Grady, Denise.** New York Times. *Pfizer Suspends Sales of Chicken Drug With Arsenic*. [En línea] 8 de Junio de 2011. http://www.nytimes.com/2011/06/09/business/09arsenic.html?_r=2.
4. **DeNoon, Daniel.** WebMd. *Carcinogen Is Found in Livers of Chickens Fed Arsenic Drug; FDA Says Chicken OK to Eat*. [En línea] 8 de Junio de 2011. <http://www.webmd.com/food-recipes/food-poisoning/news/20110608/fda-arsenic-drug-in-chicken-feed-suspended>.
5. **FDA, Food and Drugs Administration.** U. S. Department of Health & Human Services. [En línea] 8 de June de 2011. [Citado el: 12 de november de 2012.] <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm258342.htm>.
6. **Suramérica, Agencia Pública de Noticias del Ecuador y.** En 5 años Ecuador aumentó la inversión en salud de USD 437 millones a USD 3 433 millones. *andes*. [En línea] 1 de junio de 2011. <http://andes.info.ec/2009-2011.php/?p=65988>.
7. **Gorsuch, Thomas T.** Arsenic, Antimony and Bismuth. [aut. libro] T Gorsuch. *The Destruction of Organic Matter*. Great Britain : Pergamon Press, 1970.
8. **Salud, Organizacion Mundial de la.** Arsenic and arsenic compounds. *Programa Internacional de Seguridad de las Sustancias Químicas*. 2001, Vol. 224.
9. **Armienta, M. y R. Rodriguez.** Arsénico en el valle de Zimapán(México). Problemática ambiental. [En línea] 1996. http://www.mapfre.com/documentacion/publico/i18n/catalogo_imagenes/grupo.cmd?path=1018764.
10. *Reducción de Arsénico en agua. Uso de un Método Doméstico.* **Rodríguez, Roberto y Milena Echeverría.** Argentina : Editorial de la Universidad Tecnológica Nacional, 2008.
11. **Albores, Arnulfo y otros.** Arsénico. *Centro de investigación y estudios avanzados IPN*. [En línea] <http://www.bvsde.paho.org/bvstox/fulltext/toxico/toxico-03a15.pdf>.
12. **Carbonell, A. y otros.** *Arsénico en el Sistema Suelo-Planta*. España : Universidad de Alicante, 1995.

13. Proyecto: ArsActinoRedox. *Arsénico en la naturaleza*. [En línea] [Citado el: 20 de diciembre de 2012.] http://www3.unileon.es/personal/wwdegigs/arsenico/El_arsenico.html.
14. *Organic Arsenic in the Soil Environment: Speciation, Occurrence, Transformation, and Adsorption Behavior*. **Huang, Jen-How, Kan-Nian Hu y Berryinne Decker**. s.l. : Water Air Soil Pollut, 2011, Vol. 219.
15. *Eliminacion de Cadmio y cromo desde aguas utilizando macrofitos*. **Maine, M. y otros**. Santa Fe : CIT, 1999, Vol. 10.
16. *Estudio de la remoción de arsénico en agua en el Estado de Hidalgo a escala industrial y en pequeña escala para algunas comunidades*. **Rodríguez, Luis**. Cholula, México : Universidad de las Américas Puebla, 2004.
17. **ATSDR**. La toxicidad del arsénico ¿Cuáles son los efectos fisiológicos de la exposición al arsénico? *Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades*. [En línea] 1 de Octubre de 2009. [Citado el: 5 de Noviembre de 2012.] http://www.atsdr.cdc.gov/es/csem/arsenic/efectos_fisiologicos.html.
18. —. Estudios de Caso en Medicina Ambiental (CSEM). *ATSDR Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades*. [En línea] 1 de Octubre de 2009. [Citado el: 5 de Noviembre de 2012.] http://www.atsdr.cdc.gov/es/csem/arsenic/destino_biologico.html.
19. Acido Monometilarsonico. [En línea] [Citado el: 19 de diciembre de 2012.] http://it.wikipedia.org/wiki/Acido_monometilarsonico.
20. Acido dimetilarsinico. [En línea] [Citado el: 19 de diciembre de 2012.] http://it.wikipedia.org/wiki/Acido_dimetilarsinico.
21. Coenzima.com. [En línea] [Citado el: 19 de diciembre de 2012.] http://www.coenzima.com/s-adenosil_metionina_sam.
22. Made-in-China.com. [En línea] [Citado el: 19 de diciembre de 2012.] http://es.made-in-china.com/tag_search_product/Glutathione-Reduced_euiensn_1.html.
23. **Dembitsky, Valery y Dmitrii O. Levitsky**. Progress in Lipid Research. *Arsenolipids*. [En línea] Septiembre de 2004. [Citado el: 20 de diciembre de 2012.] <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0163782704000256>.
24. Indian and arab recipes and culture. *Contaminación India*. [En línea] 9 de noviembre de 2006. [Citado el: 19 de diciembre de 2012.] <http://meriyaar.wordpress.com/2006/11/09/contaminacion-india/>.
25. *Arsenic ingestion and internal cancers: a review*. **Bates, MN y otros**. s.l. : American Journal of Epidemiology, 1992, Vol. 135.

26. *Pollos de engorde: la clave de la alimentación*. **Procampo**. s.l. : PRONACA, Junio - Julio 2011.
27. *Photodegradation of roxarsone in poultry litter leachates*. **Bednar, A. y otros**. 1-3, s.l. : Science of The Total Environment, 2003, Vol. 302.
28. **Hileman, Bette**. Chemical & Engineering News. *Arsenic in Chicken Production*. <http://pubs.acs.org/cen/government/85/8515gov2.html> : s.n., Abril de 2007. Vol. 85, 15, págs. 34-35.
29. **FDA**. U.S. Department of Health & Human Services. *U.S. Food and Drug Administration*. [En línea] 8 de Agosto de 2011. [Citado el: 4 de Diciembre de 2012.] <http://www.fda.gov/AnimalVeterinary/SafetyHealth/ProductSafetyInformation/ucm257540.htm>.
30. **Fisher, Daniel y otros**. The Environmental concerns of Arsenic additives in Pultry litter: litterature Review. [En línea] Mayo de 2011. [Citado el: 20 de diciembre de 2012.] <http://www.agroecol.umd.edu/files/The%20Environmental%20Concerns%20of%20Arsenic%20Additives%20in%20Poultry%20Litter%202011.05.pdf>.
31. **Garbarino, J y otros**. Environmental Fate of Roxarsone in Poultry Litter. I. Degradation of Roxarsone during composting. *Environmental Scientific*. [En línea] 2003. <http://www.aseanenvironment.info/Abstract/41011521.pdf>.
32. **Garbarino, J., D.W. Rutherford, y R.L. Wershaw**. Degradation of Roxarsone in Poultry Litter. [En línea] http://www.brr.cr.usgs.gov/projects/GWC_chemtherm/FinalAbsPDF/garbarino.pdf.
33. Wikipedia. *4-Hydroxy-3-nitrobenzenearsonic acid*. [En línea] [Citado el: 19 de diciembre de 2012.] http://en.wikipedia.org/wiki/4-Hydroxy-3-nitrobenzenearsonic_acid.
34. **Hughes, Harry y otros**. Why Maryland is banning a chicken drug. *The Washington Post*. [En línea] 20 de Mayo de 2011. http://www.washingtonpost.com/national/health-science/why-maryland-is-banning-a-chicken-drug/2012/05/20/gIQALuqAeU_graphic.html.
35. **Armienta, María Aurora y otros**. Determinación de arsénico por el método: absorción atómica-generación de hidruros-FIAS. http://www.mapfre.com/documentacion/publico/i18n/catalogo_imagenes/grupo.cmd?path=1018764
36. Biblioteca Digital de la Universidad de Chile. *Nutrición Vegetal. Algunos Aspectos Químicos y Biológicos*. [En línea] 1985. http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias_quimicas_y_farmaceuticas/lachicam01/index.html.

37. **Rainoldi, Fernando, Leda Giannuzzi y Cristian Oliver.** Tóxicos Metálicos. *Manual de Técnicas Analíticas en el Laboratorio de Toxicología*. Universidad Nacional de La Plata : s.n.
38. **España, Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales.** Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. *Determinación de arsénico, de sus compuestos en forma particulada y vapores de trióxido de arsénico en aire- Método de generación de hidruros/Espectrofotometría de absorción atómica*. [En línea] [Citado el: 12 de febrero de 2012.]
http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/FichasTecnicas/MetodosAnalisis/Ficheros/MA/MA_035_A96.pdf.
39. **COVENIN.** Norma Venezolana. *Aguas Naturales, Industriales y Residuales. Determinación de Arsénico*. [En línea] [Citado el: 9 de noviembre de 2012.]
<http://www.sencamer.gov.ve/sencamer/normas/2802-91.pdf>.
40. **NOM-015-ZOO-1994, Norma Oficial Mexicana.** Análisis de arsénico, en hígado, músculo y riñón de bovinos, quinos, porcinos, ovinos y aves por espectrometría de absorción atómica. [En línea]
<http://www.ordenjuridico.gob.mx/Publicaciones/CDs2007/CDAgropecuaria/pdf/15NOM.pdf>.
41. Análisis Instrumental. *Determinación de Hierro en vinos mediante Espectrofotometría de Absorción Atómica con llama*. [En línea] [Citado el: 13 de diciembre de 2012.]
[http://perso.wanadoo.es/e/daseri/ing_quimica/3ingquim/6c%20AI%20Determinacion%20Fe%20vinos%20\(AAS\).pdf](http://perso.wanadoo.es/e/daseri/ing_quimica/3ingquim/6c%20AI%20Determinacion%20Fe%20vinos%20(AAS).pdf).
42. La Química de las Estrellas. *Escritorio del docente*. [En línea] [Citado el: 12 de diciembre de 2012.] <http://escritoriocentros.educ.ar/datos/856.html>.
43. New Mexico State University.College of Arts and Sciences. Department of Chemistry and Biochemistry. *Atomic Absorption Spectroscopy (AAS)*. [En línea] [Citado el: 13 de Diciembre de 2012.] <http://www.chemistry.nmsu.edu/Instrumentation/AAS1.html>.
44. **Polo, María Paulina.** *análisis de la concentración de arsénico en tres alimentos: Papas(solanum tuberosum), Zanahoria(Daucus carota) y Leche cruda producidos en las zonas afectadas por el volcán Tungurahua (Mocha-Quero)*. Riobamba : Escuela Politécnica de Chimborazo, 2009.
45. **Scientific, Buck.** Espectrofotómetro de Absorción Atómica.
46. **Gallarta, F. , J. Sanz, J. Galbán.** *Generación de hidruros-Espectrometría de Absorción Molecular UV-VIS en fase Gas. Determinación de Arsénico, Antimonio y Selenio*. 1992.
47. **Scientific, Buck.** Combination Hydride/Cold Vapor Generator for low-level determination of Arsenic, Selenium and Antimonium. 2004.

48. —. Arsénico (Prior digestión de la muestra para análisis de arsénico total con Dietilditiocarbonato de plata o Procedimientos de Hidruros). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* . [En línea]
49. **Corrales, Ignacio**. Bibliociencias. *Tecnología para la fertilización con Gallinaza y Fertilizante mineral en el Guayabo(Psidium guajaba L.)*. [En línea] 2000. [Citado el: 20 de diciembre de 2012.]
<http://www.bibliociencias.cu/gsd/collect/tesis/index/assoc/HASH2143.dir/doc.pdf>.
50. **Enfermedades, Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de**. ATSDR. *Estudios de caso en medicina ambiental*. [En línea] 1 de octubre de 2009. [Citado el: 11 de diciembre de 2012.]
http://www.atsdr.cdc.gov/es/csem/arsenic/docs/Arsenic_CSEM_Spanish.pdf.
51. **ATSDR**. Agencia para Sustancias Toxicas y Registro de Enfermedades. *Exposición Total al arsénico: estudio de caso práctico*. [En línea] 8 de septiembre de 2003. [Citado el: 11 de diciembre de 2012.]
http://www.atsdr.cdc.gov/es/training/arsenico/factores_exposicion.html.

7 Anexos

7.1 Normas para arsénico inorgánico

Tabla No 7.1 Normas y regulaciones para arsénico inorgánico (50)

Organismo	Énfasis	Nivel	Comentarios
ACGIH	Aire – lugar de trabajo	10 microgramos/m ³	Advertencia; TLV/TWA ⁺
NIOSH	Aire – lugar de trabajo	2 microgramos/m ³	Advertencia; límite tope de 15 minutos
OSHA	Aire - lugar de trabajo	10 microgramos/m ³	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

• ACGIH = Conferencia Americana de Higienistas Industriales Gubernamentales
 • EPA = Agencia de Protección del Medioambiente 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.

o TLV/TWA (Valor Umbral Límite/Tiempo promedio ponderado) = concentración en 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.

o PEL (Límite de Exposición Permisible) = Nivel más alto al que puede estar expuesto un trabajador durante una jornada laboral de 8 horas.

7.2 Anexo 2: Procedimientos para análisis de As con Generador de Hidruros de Buck Scientific.

Preparación de Patrones a partir de la solución madre

Preparación de solución de As de 10ppm:

1. Tomar 1ml de solución de 1000ppm de As y colocar en un matraz de 100 ml.
2. Diluir con HCl al 50% (V/V) hasta los 100ml.
3. Almacenar en frasco de propileno.

Preparación de solución de As de 1ppm:

1. Tomar 10ml de solución de 10ppm de As y colocar en un matraz de 100 ml.
2. Diluir con HCl al 50% (V/V) hasta los 100 ml.
3. Almacenar en frasco de propileno.

Preparación de Soluciones Patrón:

1. Añadir alrededor de 10 ml de agua destilada en un matraz de 100 ml.
2. Añadir la cantidad apropiada de la solución de 1 ppm de As para preparar el patrón.
3. Añadir 25 ml de mezcla ácida H₂SO₄ y HCl.
4. Colocar 5-50ml de solución Estándar (EDTA 1%) en el matraz de medida.
5. Añadir 2.5 ml de solución de ioduro de potasio.
6. Aforar hasta los 100 ml con agua destilada.

Preparación de blanco y muestras digeridas para la medida de As:

Preparación del blanco:

1. Añadir alrededor de 10 ml de agua destilada en un matraz de 100 ml.
2. Añadir 25 ml de mezcla ácida H₂SO₄ y HCl.
3. Colocar 5-50ml de solución Estándar(EDTA 1%) en el matraz de medida.
4. Añadir 2.5 ml de solución de ioduro de potasio.
5. Aforar hasta los 100 ml con agua destilada.

Preparación de disoluciones de medida:

1. Tomar 5ml de la muestra y colocar en el matraz de reacción.
2. Añadir 2.5 ml de solución de KI 100g/L
3. Añadir 25ml de la mezcla ácida (H₂SO₄ y HCl)
4. Colocar 5-50ml de solución Estándar(EDTA 1%) en el matraz de medida.
5. Diluir con agua destilada hasta 100 – 150 ml.
6. Esperar 15 min para la pre reducción.

Medición con Generador de Hidruros:

1. Tapar el matraz.
2. Iniciar el flujo de Ar al burbujeador.
3. Cerar la energía.
4. Lentamente inyectar 5 ml de SnCl_2 (1ml/s).
5. También Inyectar 2ml de suspensión de Zn.
6. Presionar READ.
7. Esperar.
8. Apagar el Argón y Remover el tapón.
9. Enjuagar el matraz con sol. HCl al 5%.
10. Enjuagar el burbujeador con HCl al 5% y H_2O_2 al 3%.
11. Volver a ensamblar el tapón y continuar con la siguiente medida.

7.3 Anexo 3: Curva de calibración para determinación de As

Tabla No 7.2 Datos obtenidos para curva de calibración

Concentración (ppm)	Absorbancia
0	0
6	0.01372
8	0.023187
10	0.032548

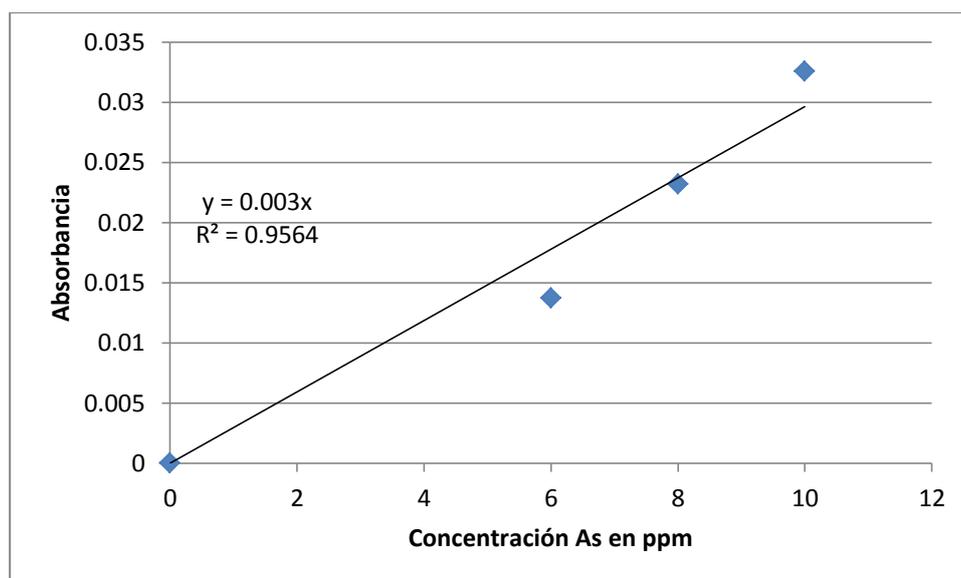


Figura No 7.1 Curva de Calibración de As