



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

DISEÑO DE UN PROTOCOLO DE CUANTIFICACIÓN DE NIVELES DE
ARSÉNICO EN MUESTRAS DE UÑAS EN QUÍMICA FORENSE.

TINOCO RIOFRIO KAREN ESTEFANIA
BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

MACHALA
2020



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

DISEÑO DE UN PROTOCOLO DE CUANTIFICACIÓN DE
NIVELES DE ARSÉNICO EN MUESTRAS DE UÑAS EN QUÍMICA
FORENSE.

TINOCO RIOFRIO KAREN ESTEFANIA
BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

MACHALA
2020



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

EXAMEN COMPLEXIVO

DISEÑO DE UN PROTOCOLO DE CUANTIFICACIÓN DE NIVELES DE ARSÉNICO
EN MUESTRAS DE UÑAS EN QUÍMICA FORENSE.

TINOCO RIOFRIO KAREN ESTEFANIA
BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

SEGURA OSORIO MARISELA BRIGITTE

MACHALA, 10 DE DICIEMBRE DE 2020

MACHALA
10 de diciembre de 2020

trabajo de revisión

por Karen Tinoco Riofrio

Fecha de entrega: 15-nov-2020 09:50p.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 1443055913

Nombre del archivo: proyecto_para_subir_a_turnitin.docx (91.72K)

Total de palabras: 3102

Total de caracteres: 15938

CLÁUSULA DE CESIÓN DE DERECHO DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL

La que suscribe, TINOCO RIOFRIO KAREN ESTEFANIA, en calidad de autora del siguiente trabajo escrito titulado Diseño de un protocolo de cuantificación de niveles de arsénico en muestras de uñas en química forense., otorga a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tiene potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

La autora declara que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las disposiciones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

Se autoriza a transformar la obra, únicamente cuando sea necesario, y a realizar las adaptaciones pertinentes para permitir su preservación, distribución y publicación en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad Técnica de Machala.

La autora como garante de la autoría de la obra y en relación a la misma, declara que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asume la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

Aceptando esta licencia, se cede a la Universidad Técnica de Machala el derecho exclusivo de archivar; reproducir, convertir, comunicar y/o distribuir la obra mundialmente en formato electrónico y digital a través de su Repositorio Digital Institucional, siempre y cuando no se lo haga para obtener beneficio económico.

Machala, 10 de diciembre de 2020



TINOCO RIOFRIO KAREN ESTEFANIA
0707002838

DEDICATORIA

El presente trabajo investigativo de titulación lo dedico primeramente a Dios quien me dio la fuerza en cada día para continuar adelante él nunca nos abandona en cada paso que demos

A mis padres quien con su esfuerzo diario me ayudó a llegar hasta donde estoy con sus consejos y apoyo incondicional a ellos les debo todo,

A mi familia que ellos estuvieron en cada momento apoyándome para seguir adelante en mi carrera

A todas las personas que me brindaron sus consejos me ayudaron a lo largo de la carrera

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por darme la vida y permitirme estar siempre en sus manos en cada paso que dé.

A mis padres que estuvieron en cada momento difícil por darme su apoyo y consejos para seguir adelante.

A mi familia por confiar siempre en mí y brindarme su ayuda en cada momento que la necesite.

A la Universidad Técnica de Machala por permitirme instruirme dentro de sus aulas con sus excelentes docentes que nos ayudan a adquirir conocimiento

A la Dra. Marisela Segura por su apoyo y por avernos guiado mediante este proceso de titulación

RESUMEN

El arsénico se va a encontrar en agua, suelos y alimentos esto va afectar alrededor de 4.5 millones de personas alrededor de todo el mundo causando afecciones notables en el organismo hasta causar la muerte, por ende hemos elaborado un protocolo en base a las técnicas de cuantificación de arsénico en muestras de uñas mediante recopilación de fuentes de datos bibliográficos en base a datos científicos, ya que esta investigación fue de tipo descriptiva sobre la temática en estudio y quiere representar tanto para la química forense y peritos forenses que es la ciencia que se encarga de la detección de la presencia de algún químico como en este caso del arsénico que es un metaloide, entre otras sustancias como drogas que causan envenenamiento, el arsénico en concentraciones mayores a 50 ug/L es letal en la persona, lo cual va afectar al sistema cardíaco, pulmonar, daño hepático y cáncer. Entre las técnicas investigadas destacan las siguientes: técnica de voltametría cíclica, técnica de fluorescencia de rayos x, espectrofotometría de absorción atómica, mediante las técnicas antes mencionadas obtenemos el protocolo de cuantificación que en detalle sería: recolección, lavado, digestión, transporte y conservación de la muestra de uñas para un estudio científico completo.

Palabras clave: Arsénico, intoxicación, métodos, toxicocinética, uñas.

ABSTRACT

Arsenic is going to be found in water, soil and food, this will affect around 4.5 million people around the world, causing notable affections in the organism until death, therefore we have developed a protocol based on quantification techniques of arsenic in nail samples through the compilation of bibliographic data sources based on scientific data, since this investigation was descriptive on the subject under study and wants to represent both forensic chemistry and forensic experts, which is the science in charge From the detection of the presence of a chemical such as arsenic which is a metalloid, among other substances such as drugs that cause poisoning, arsenic in concentrations greater than 50 ug / L is lethal in the person, which will affect the heart system, lungs, liver damage and cancer. Among the investigated techniques, the following stand out: cyclic voltammetry technique, x-ray fluorescence technique, atomic absorption spectrophotometer, through the aforementioned techniques we obtain the quantification protocol that in detail would be: collection, washing, digestion, transport and conservation of the nail sample for a full scientific study.

Keywords: arsenic, intoxication, methods toxicokinetics, nails.

ÍNDICE

RESUMEN.....	3
INTRODUCCIÓN.....	7
OBJETIVOS.....	9
OBJETIVO GENERAL.....	9
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	9
DESARROLLO.....	10
1 Arsénico.....	10
2 Propiedades fisicoquímicas del arsénico.....	10
3 Arsénico y su interés forense.....	10
4 Valores normales.....	11
4.1 Norma ecuatoriana de Calidad Ambiental y de descarga de efluentes: Recurso Agua Libro VI. Anexo I.....	11
5 Dosis tóxica del arsénico.....	12
6 Mecanismo de acción.....	13
7 Toxicocinética del arsénico.....	13
8 PROTOCOLO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE ARSÉNICO EN MUESTRAS DE UÑAS.....	14
9 DESCRIPCIÓN DE TÉCNICAS PARA CUANTIFICACIÓN DE ARSÉNICO EN MUESTRAS DE UÑAS.....	15
9.1 Técnica de voltametría cíclica (cv):.....	15
9.1.1 Preparación de la muestra.....	15
9.2 Técnica de espectrofotometría de absorción atómica (AAS).....	15
9.2.1 Preparación de la muestra.....	15
9.2.2 Equipo.....	16
9.3 Técnica fluorescencia de rayos x (XRF):.....	16
9.3.1 Preparación de muestra.....	16
9.3.2 Equipo.....	16
9.4 Análisis instrumental de activación de neutrones (INAA):.....	16
9.4.1 Preparación de muestra.....	16
9.4.2 Equipo.....	17
9.5 Estimación del arsénico en la uña mediante el método de dietilditiocarbamato de plata.....	17

9.5.1	Preparación de la muestra.....	17
9.6	Técnica de gutzeit	18
9.6.1	Preparación de la muestra.....	18
10	TABLA MÉTODOS CLASIFICADOS DE MAYOR (A) A MENOR (C) PARA EL ANÁLISIS DE ARSÉNICO EN MUESTRAS DE UÑAS	19
11	CONCLUSIÓN	20
	ANEXOS	23
	BIBLIOGRAFÍA	21

INTRODUCCIÓN

El arsénico es un metaloide que se encuentra presente en la corteza terrestre siendo uno de los contaminantes más tóxicos presente en aguas subterráneas debido a su liberación que se da por procesos volcánicos y la desintegración de rocas, siendo esto detectable en todo el mundo^{1,2}.

El arsénico lo descubrió Alberto Magno en el siglo XIII pudiéndose extraer de los depósitos naturales de azufre y desde la antigüedad se lo ha utilizado como un potente veneno, tiene una coloración grisácea y un aspecto metálico blando, puede ser disuelto fácilmente en las bebidas y como es insaboro pasa desapercibido en las comidas¹³.

Cuando hay una exposición prolongada del arsénico inorgánico y sus derivados que se da a través del consumo de agua y alimentos contaminados causan intoxicación a las personas, esto va aumentar los índices de la problemática ^{4,5}.

Este metaloide no va a ser destruido en el ambiente pero si cambiara de forma, se disolverá en el agua con facilidad y este a su vez va a terminar en el suelo y en los alimentos, se han realizado investigaciones por la Agencia Internacional para la Investigación sobre el cáncer (IARC) que van a clasificar los compuestos inorgánicos de arsénico causantes de afecciones de cáncer de pulmón y cutáneo. Presentándose una incidencia de angiosarcoma hepático y cáncer de estómago causando teratogénesis en dosis elevadas. Sean reportado muertes neonatales por exposiciones de la madre al arsénico en una cantidad mayor a 50 ug/L causando que bebes nazcan prematuros y aborto espontáneo ^{6,7}.

El crecimiento de las uñas es un proceso continuo de larga duración de vida por lo que los minerales se conservaran, las pruebas en uñas son más factibles ya que en estas siempre hay acumulación de metaloides, contiene queratina que van a incorporar oligoelementos de acuerdo a la exposición e ingesta de estos los mismos además la recolección de muestras de uñas, es muy factible y es menos invasiva. Este tipo de análisis en muestras de uñas es muy utilizado en países en desarrollo^{8,9}.

Por medio de la técnica de voltametría cíclica (CV), técnica de fluorescencia de rayos x (XRF) y espectrofotometría de absorción atómica (AAS) siendo estos métodos los más apropiados para el análisis de arsénico en muestras de uñas por su precisión al momento de dar el resultado ^{10, 11}.

El arsénico afecta alrededor de 13 millones de personas en EEUU y a 70 millones de personas en Bangladesh⁶.

La problemática causante de la contaminación en Ecuador se da por la minería en especial la minería ilegal. En Zaruma, Portovelo hay una amplia explotación minera lo cual es el causante de la contaminación de aguas, afectando a toda la comunidad ya que los niveles de arsénico detectados son de 396.0 ug/L a 8800.0 ug/L¹².

Esta investigación tiene como objetivo diseñar un protocolo que nos ayude para la cuantificación de niveles de arsénico en muestras de uñas mediante investigación bibliográfica sobre los métodos aplicados para el análisis de arsénico.

¿Son útiles las técnicas de técnica de voltametría cíclica (CV), técnica de fluorescencia de rayos x portátil (XRF) y espectrofotómetro de absorción atómica (AAS) en este estudio de análisis de arsénico en muestras de uñas?

Las técnicas más factibles para el análisis de arsénico en muestras de uñas son las técnica de voltametría cíclica (CV), la técnica de fluorescencia de rayos x (XRF) y la técnica de espectrofotometría de absorción atómica (AAS) por lo que no llevan mucho tiempo en su aplicación y son efectivas.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Diseñar un protocolo que nos ayude para la cuantificación de niveles de arsénico en muestras de uñas mediante investigación bibliográfica sobre los métodos aplicados para el análisis de arsénico.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Mencionar las generalidades del arsénico y su interés forense dentro del análisis en matrices biológicas de uñas.
- Establecer el procedimiento empleado que se tendrán que hacer en las muestras de uñas antes del análisis de cuantificación.
- Indicar los métodos más empleados para el análisis de los niveles de arsénico en uñas.

DESARROLLO

1 **Arsénico**

El arsénico es un metaloide que forma una serie de compuestos venenosos y se encuentra distribuido en la naturaleza, formando compuestos con oxígeno, cloro, azufre y raramente en forma sólida, en la actualidad este metal y sus derivados son ampliamente utilizados en industrias en el desarrollo de productos destinados a la fumigación¹³.

El arsénico es el causante de la contaminación del agua potable, los alimentos, el aire y las bebidas siendo una problemática mundial afectando alrededor de 4.5 millones de personas⁶.

El arsénico va a causar daños como lo son: enfermedad vascular periférica, diabetes mellitus, leucopenia, hipertensión arterial, infarto cerebral, y aterosclerosis, también va a causar tipos de cáncer, los cuales son: cáncer al pulmón ,riñón, hígado ¹⁴.

2 **Propiedades fisicoquímicas del arsénico**

Existe 4 tipos estado de oxidación de este metal: -3, 0, +3 y +5. El arsénico y sus derivados en estado de oxidación 3 y 5 son los más relevantes en las investigaciones ambientales estos se clasifican en: arsina, compuestos arsenicales inorgánicos, compuestos arsenicales orgánicos^{15,13}.

3 **Arsénico y su interés forense**

A la medicina forense, se la conoce también como medicina legal forense, jurisprudencia médica o medicina judicial que va orientar a los jueces para la administración de la justicia determinado las causas de muerte. Cabe decir que el arsénico no es utilizado en la actualidad como veneno por los homicidas. Al existir variedad de elementos químicos que se encuentran presentes en la naturaleza, es importante saber el efecto que éstos son capaces de producir en el ser humano. Así por ejemplo los efectos inducidos por arsénico, uno de los metales más abundantes¹⁶.

Para una detección más eficaz de este metaloide se realiza un análisis en muestra de orina; pero de ser necesario analizar una exposición a largo plazo se realiza el análisis en uñas y pelo, ya que en éstas se mantiene por meses el metal. De esta manera en un supuesto caso de muerte por arsénico, al encontrar una cantidad considerable de dicho metaloide se confirmará que la muerte fue causada por dicho metal, por este motivo en un caso de muerte por intoxicación el perito forense y químico forense jugará un papel importante al determinar la causa del deceso en el resultado del análisis, confirmando o no la presencia del metal ³.

4 Valores normales

Las concentraciones de arsénico son encontradas en la parte anterior de las uñas, se deposita en la raíz, pasa por el torrente sanguíneo y migra a medida que la uña va creciendo, en un tamaño de 0,12 mm por día, se puede detectar el As con un tiempo de 100 días de exposición. Se ha considerado que los niveles de arsénico están incrementados en uñas y pelos de personas que beben agua infectada, pese a esto no hay ninguna relación entre las interacciones clínicas de HACER, el tiempo de exposición y las concentraciones de las uñas y el pelo. Los valores normales de As oscilan de 0,02 a 0,5 mg/l¹⁷.

El arsénico inorgánico en concentraciones mayores a 50 ug/L causará un riesgo elevado de padecer cáncer, anemia en el embarazo y afección cardiovascular. Las concentraciones normales de arsénico establecidas por la OMS es de 10 ug/L a 50 ug/L en agua, en sangre 10ug/L, en orina 10 ug/ L y en uñas de 20 ug/L ⁶.

4.1 Norma ecuatoriana de Calidad Ambiental y de descarga de efluentes: Recurso Agua Libro VI. Anexo I

La normativa nos indica que el valor límite permitido es de 0,05 mg/L en ríos¹⁸.

5 Dosis tóxica del arsénico

El arsénico en su forma orgánica es menos toxica que en sus forma inorgánica. Ya que el arsénico, arkanos y arsenatos orgánicos van a tener efecto menos tóxicos que los compuestos inorgánicos solubles. Pero la forma más toxica es la arsina

El arsénico va a equivaler a una dosis de:

DM= 40-60 mg/kg.

Dosis tóxica 50 (DT50): Ocasiona efectos tóxicos en el 50% de los pacientes y la dosis del arsénico es de 61-119 mg/kg⁴.

Dosis Letal 50 (DL50): Va ser en la que la cantidad del fármaco va a producir la muerte de la persona y la dosis del arsénico va a ser: 120-200mg/kg⁴.

Una concentración de la arsina en el aire es de 15 ppm va a causar la muerte de manera directa⁴.

Los efectos que se producirán por el consumo de arsénico son:

Sistema cardiovascular: Se va a presentar con una vasodilatación inicial, que por la trasudación de líquido conducirá a una vasoconstricción refleja. Disminución cardiaca por contracción disminuida⁴.

Sistema digestivo: Se presenta con la dilatación de vasos esplácnicos y va a causar la formación de vesículas en la submucosa, que cuando se rompe va a ver heces líquida y sangrado⁴.

Riñón: Causa necrosis tubular aguda.

Sistema nervioso: Va a haber resorción de la mielina y va a ver destrucción de cilindroejes⁴.

Hígado: Se va a observar esteatosis, necrosis perilobulilar y cirrosis.

Uñas: Forman líneas de mee que se presentan como líneas blancas horizontales.

Intoxicación aguda: Aquí los síntomas va a aparecer entre 30 min a 24 horas y entre los síntomas que van a presentarse son: Vómito abundante, diarrea líquida y a veces sanguinolenta, dolor abdominal severo, sensación de quemadura en el esófago, olor aliáceo en aliento y saliva, cefalea, debilidad y vértigo⁴.

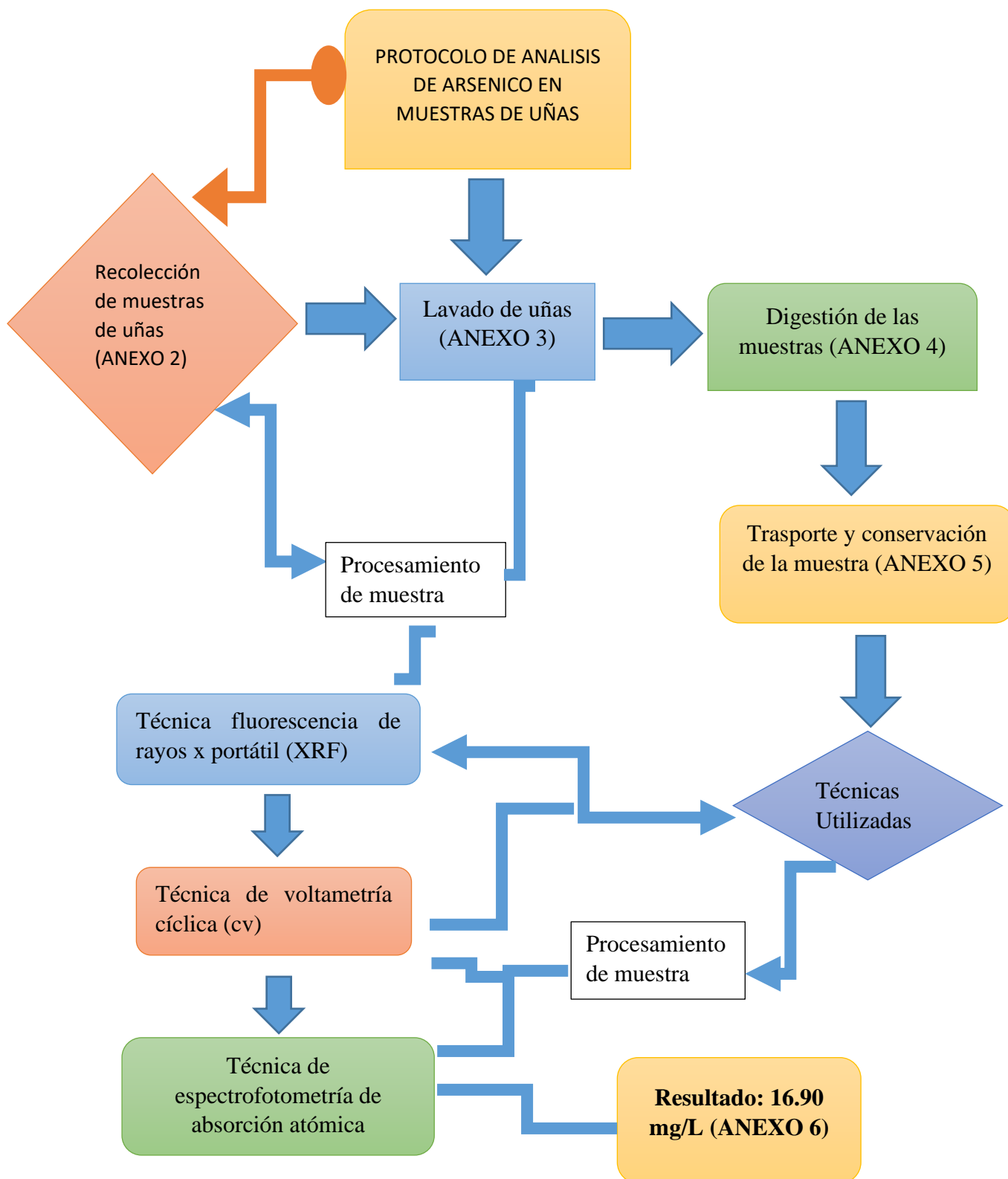
6 Mecanismo de acción.

En la intoxicación aguda encontraremos signos de irritación del tracto digestivo, como enrojecimiento de la mucosa gástrica (“terciopelo rojo”), y a veces, una espesa capa de moco y gránulos del tóxico. Los intestinos usualmente son de aspecto normal. Una anomalía frecuente en el corazón es la hemorragia subendocárdica en el lado izquierdo del septum intraventricular⁴.

7 Toxicocinética del arsénico

El arsénico es detectable en el cerebro, en el corazón, en el útero, en los pulmones, en el pelo, en los dientes, en las uñas, en la piel, en los huesos, en los músculos e, incluso atraviesa la placenta afectando al feto. Pero a largo plazo es en las uñas, en el pelo, en los huesos y en los músculos donde sigue siendo detectable. Tiene una vida media de diez horas en su forma orgánica y 30 en su forma inorgánica. Se absorben de mejor manera los compuestos orgánicos del arsénico que los compuestos inorgánicos y así como compuestos pentavalentes más que los trivalentes^{3, 4}.

8 PROTOCOLO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE ARSÉNICO EN MUESTRAS DE UÑAS.



9 DESCRIPCIÓN DE TÉCNICAS PARA CUANTIFICACIÓN DE ARSÉNICO EN MUESTRAS DE UÑAS

9.1 Técnica de voltametría cíclica (cv): Este método va a permitir cuantificar el arsénico mediante disolución, el cual mide la transferencia de electrones en la reacción electroquímica. Aplicando tensión eléctrica entre dos electrodos que va a cambiar la magnitud en un rango definido, que se va a aumentar y disminuir de manera cíclica. Midiendo la corriente eléctrica entre dos electrodos. Al producirse el proceso de oxidación o reducción de la muestra bajo estudio, va a producir un pico de corriente que se va a detectar y cuantificar¹¹.

9.1.1 Preparación de la muestra

- Recolección de muestras de uñas (ANEXO 2).
- Lavado de muestras de uñas (ANEXO 3).
- Digestión de muestras de uñas (ANEXO 4).
- Transporte y conservación de la muestra (ANEXO 5).
- Se procede a colocar la muestra en el equipo.

9.2 Técnica de espectrofotometría de absorción atómica (AAS)

La técnica de absorción atómica se utiliza para la detección de metales en fertilizante, y fungicidas así como la detección de arsénico, cadmio, manganeso en los trabajadores mineros se basa en el espectro de línea de los elementos químicos ya que cada elemento tiene un espectro característico y único el cual se va a cuantificar ¹⁹.

9.2.1 Preparación de la muestra

- Recolección de muestras de uñas (ANEXO 2).
- Lavado de muestras de uñas (ANEXO 3).
- Digestión de muestras de uñas (ANEXO 4).
- Transporte y conservación de la muestra de uñas (ANEXO 5).
- Se procede a colocar la muestra en el equipo.

9.2.2 Equipo

Potenciostato/Galvanostato modular de alto rendimiento equipada con un software dropviewusta.¹¹.

9.3 Técnica fluorescencia de rayos x (XRF): Esta técnica de espectroscopia de rayos x es muy aceptable y precisa para este análisis .Se utilizó un software estadístico spss para la identificación de la variable del elemento⁸.

9.3.1 Preparación de muestra

- Recolección de muestras de uñas (ANEXO 2).
- Lavado de muestras de uñas (ANEXO 3).
- Se las trituraron con triturador eléctrico con un rango de 60 um-25 um para obtener la cantidad homogénea de partículas del polvo obtenido en la trituración.
- Las muestras se secaron a 200 °C en un tiempo de 30 min en el horno.
- Su peso fue de 3 a 4 g.
- Luego en una prensa hidráulica se va a presionar en 100 mg/ cm² con diámetro de 32 mm⁸.

9.3.2 Equipo

Spectro Xepos XRF con detector de litio que se deriva de silicio⁸.

9.4 Análisis instrumental de activación de neutrones (INAA):

Este método se emplea para el análisis de recortes de uñas, esta técnica analítica es sensible, muy precisa y es adecuada para analizar los tejidos de las uñas ya que es un método muy aplicado para este tipo de análisis en varios estudios para la determinación de oligoelementos debido a que presentan pequeña masa la forma más adecuada en casos de recortes de uñas es un método muy empleado por la cantidad de muestra que no es mucha⁹.

9.4.1 Preparación de muestra

- Lavado de uñas (Anexo 2).

- En este método se recolectaron 170 mg de muestra de uñas homogenizadas y fragmentadas en bolsas de polietileno.
- Se irradiará con un reactor investigación nuclear IEA-R1 con los patrones sintéticos de cada elemento.
- Se dan irradiaciones de 16 horas con el flujo de neutrones térmicos de aproximadamente $4.5 \times 10^{12} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ usándose para la determinación de arsénico.
- Luego del tiempo de descomposición adecuado se midieron con las muestras irradiadas y los estándares con el detector de Ge hiperpuro modelo GEM20190-P que está acoplado a espectrómetro de rayos gamma.
- Midiendo la muestra al menos dos veces.
- Utilizando un recuento de 5.400 a 50.000 seg. Considerando la vida media o la actividad de los radioisótopos considerados⁹.

9.4.2 Equipo

Modelo GEM20190-P acoplado a un espectrómetro de rayos gamma⁹.

9.5 Estimación del arsénico en la uña mediante el método de dietilditiocarbamato de plata

Este método es muy eficaz y ampliamente utilizado pero va a requerir de mucho tiempo y tener mucho cuidado con la preparación de los ácidos que son: Solución de acetato de plomo (10%), Solución de yoduro de potasio (15%) y Solución SDDC (0,5%)²⁰.

9.5.1 Preparación de la muestra

- Se utiliza solución de trióxido de arsénico (1 mg / ml) 130 ml.
- El arsénico no se va a disolver en agua, para disolverlo se necesita de pH alcalino o agua caliente.
- Se procede añadir gota a gota de NaOH₅N hasta ver que el trióxido de arsénico se disuelva completamente.

- Se procede a agregar agua destilada desionizada 100 ml.
- Siendo la solución preparada de 1 mg/ ml.
- Se va a conservar en una botella que sea de color ámbar para su conservación, debe estar a temperatura de 0-4°C.
- Pudiéndose administrar nitrógeno gaseoso cada vez que abramos la botella.
- Teniendo la solución madre, para la solución de trabajo se debe preparar diariamente con disolución (Bhuiyan & Tshering, 2015).
- La solución de plomo al 10 % disolver 10 g de acetato de plomo en una probeta de 100 ml se lo coloca agua destilada desionizada manteniendo a temperatura ambiente hasta su uso.
- La solución de yoduro de potasio al 15% se colocan 15 g de yoduro de potasio en una probeta de 100 ml con agua desionizada manteniendo a temperatura ambiente hasta su uso.
- La solución de cloruro estannoso al 40 % disolver 40 g de la solución de coluro estannoso en 50 ml de agua caliente luego filtrar la solución en un cilindro medidor de 100 ml después de haber dejado enfriar proceder agregar el ácido clorhídrico manteniendo a temperatura ambiente hasta su uso.
- La solución de SDDC al 5 % se coloca 500 mg de SDDC y 3 g de hexametilentetramina en una probeta de 100 ml y agregar cloroformo y se mezcla adecuadamente, filtrar en una botella de color ámbar y conservar en refrigeración a una temperatura de 0-4°C antes de su uso este reactivo nos servirá como un absorbente de arsénico²⁰.

9.6 Técnica de gutzeit

Es un método económico que se lo puede realizar con facilidad pero puede producir subproductos tóxicos. Además se va a basar en la formación de arsenomolibdato y azul de heteropoli y después de esta reducción, se realizara la detección colorimétrica del compuesto arsenito o arseniato²¹.

9.6.1 Preparación de la muestra

- Recolección de muestras de uñas (ANEXO 2).

- Lavado de muestras de uñas (ANEXO 3).
- Digestión de muestras de uñas (ANEXO 4).
- Se procede a colocar la muestra digerida que utiliza un reductor para reducir los compuestos de arsénico a gas arsina y seguido de la reacción de con bromuro de mercurio para generar productos colorados²¹.

10 TABLA MÉTODOS CLASIFICADOS DE MAYOR (A) A MENOR (C) PARA EL ANÁLISIS DE ARSÉNICO EN MUESTRAS DE UÑAS

CATEGORIA A	CATEGORIA B	CATEGORIA C
<ul style="list-style-type: none"> • Espectrometría de absorción atómica (AAS) • Técnica de voltametría cíclica (CV) • fluorescencia de rayos x(XRF) 	<ul style="list-style-type: none"> • Análisis instrumental de activación de neutrones (INAA) 	<ul style="list-style-type: none"> • Técnica de gutzeit • Técnica de dietilditiocarbamato de plata

Fuente: Marlene, E. M.; Enrique, B.; Carmen, A. V.; De Miguelsanz José Manuel, M.¹⁹

Fuente: Brenes, H. P.; Pérez, R. S.; Rica, T. D. C.¹¹ Al-saedi, J. K.; Hasan, N. M.**Fuente:**

Al-saedi, J. K.; Hasan, N. M.⁸**Fuente:** Sanches, T. P.; Genezini, F.A.; Saiki, M. ⁹**Fuente:**

Zhang, L.; Chen, X. R.; Wen, S. H.; Liang, R. P.; Qiu, J. D. **Fuente:** Bhuiyan, H. A.;

Tshering, K.; Misbahuddin, M. ²⁰

11 CONCLUSIÓN

El análisis de arsénico en química forense es fundamental ya que mediante el análisis en muestras de uñas podremos detectar las concentraciones de arsénico a largo plazo siendo más efectivo el resultado obtenido y en caso de muerte por arsénico se confirma que fue causada por dicho metaloide.

Las técnicas que hemos considerado como las más óptimas y eficaces según las investigaciones para el análisis de arsénico en las muestras de uñas son las siguientes: técnicas de voltametría cíclica, de fluorescencia de rayos x de espectrofotometría de absorción atómica, aunque también existen otras técnicas empleadas para este análisis como lo son el análisis instrumental de activación de neutrones, las técnicas colorimétricas de dietilditiocarbamato de plata y la técnica de gutzeit.

Hemos empleado el esquema del protocolo que consiste en la recolección, lavado, digestión, transporte y conservación de muestras de uñas, para su posterior análisis del analito de estudio, dejando a libre elección de la metodología según el material disponible del analista químico forense en su área de trabajo.

Finalmente cabe señalar que hemos logrado presenciar un alto nivel de arsénico de 16.90 mg/L aplicando la técnica de espectrofotometría de absorción atómica en muestras de uñas presente en una persona que está constantemente expuesto a dicho metaloide, como lo es el arsénico, como parte del proyecto final de asignatura de química forense en el año 2019-2020.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) Liu, T.; Guo, H.; Xiu, W.; Wei, C.; Li, X.; Di, Z.; Song, W. Biomarkers of arsenic exposure in arsenic-affected areas of the Hetao Basin, Inner Mongolia. *Sci. Total Environ.* **2017**, *609*, 524-534. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.07.120>.
- (2) Litter, M. I.; Ingallinella, A. M.; Olmos, V.; Savio, M.; Difeo, G.; Botto, L.; Farfán Torres, E. M.; Taylor, S.; Frangie, S.; Herkovits, J.; Schalamuk, I.; González, M. J.; Berardozi, E.; García Einschlag, F. S.; Bhattacharya, P.; Ahmad, A. Arsenic in Argentina: Occurrence, human health, legislation and determination. *Sci. Total Environ.* **2019**, *676*, 756-766. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.262>.
- (3) Ibáñez Macarena Esteban, A. M. L. V. Mejora del Rendimiento en Fútbol a través del Entrenamiento Concurrente. *Rev. Ciencias la Univ. Pablo Olavide* **2017**, *25* (acciones que llevarán a cabo estudiantes para mejorar el entorno que les rodea), 14, 17.
- (4) Monserral, P. Efectos Toxicológicos : Arsenico. *Col. Libr. Estud. Univ. Campus León* **2018**.
- (5) Medina, M.; Robles, P.; Mendoza, M.; Torres, C. Artículo de Revisión Arsenic Intake : Impact in Human Nutrition and Health. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* **2018**, *35* (1), 93-102. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2018.351.3604.93>.
- (6) Quansah, R.; Armah, F. A.; Essumang, D. K.; Luginaah, I.; Clarke, E.; Marfoh, K.; Cobbina, S. J.; Edward, N.-A.; Namujju, P. B.; Obiri, S.; Dzodzomenyo, M. Association of Arsenic with Adverse Pregnancy Outcomes / Infant Mortality. *Enviromental Heal. Perspect.* **2015**, *123* (5), 412-422.
- (7) Coral Carrillo, K. V.; Oviedo, J. E.; Carrillo, D.; Martínez Fressneda, M. Arsénico en aguas, suelos y sedimentos de la Reserva Biológica de Limoncocha - Ecuador con fines de conservación. *INNOVA Res. J.* **2019**, *4* (3), 158-169. <https://doi.org/10.33890/innova.v4.n3.2019.944>.
- (8) Al-saedi, J. K.; Hasan, N. M. Determined the Concentration Elements to Human Nail Using X- Ray Fluorescence Technique. **2020**, *33* (3), 19-26. <https://doi.org/10.30526/33.3.2470>.
- (9) Sanches, T. P.; Genezini, F. A.; Saiki, M. A study on trace elements in fingernails and toenails from adult individuals by instrumental neutron activation analysis. *Brazilian J. Radiat. Sci.* **2020**, *8* (3), 1-12. <https://doi.org/10.15392/bjrs.v8i3.1281>.
- (10) Fleming, D. E. B.; Nader, M. N.; Foran, K. A.; Groskopf, C.; Reno, M. C.; Ware, C. S.; Tehrani, M.; Guimarães, D.; Parsons, P. J. Assessing arsenic and selenium in a single nail clipping using portable X-ray fluorescence. *Appl. Radiat. Isot.* **2017**, *120*, 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2016.11.015>.
- (11) Brenes, H. P.; Pérez, R. S.; Rica, T. D. C.; Rica, C. Electrodo metálico recubierto de PEDOT para detectar Arsénico . Caso de medios acuosos PEDOT

- coated metallic electrodes to detect Arsenic . Case of aqueous media Introducción En Costa Rica , el agua para uso humano y. **2018**, 57-69.
- (12) Rodrigo Oviedo, -Anchundia; Moína-Quimí, E.; Naranjo-Morán, J.; Barcos-Arias, M. Contaminación por metales pesados en el sur del Ecuador asociada a la actividad minera. *Bionatura* **2017**, 2 (4), 437-441. <https://doi.org/10.21931/rb/2017.02.04.5>.
- (13) Medina-Pizzali, M. L.; Robles, P.; Mendoza, M.; Torres, C. Arsenic intake: Impact in human nutrition and health. *Rev. Peru. Med. Exp. Salud Publica* **2018**, 35 (1), 93-102. <https://doi.org/10.17843/rpmpesp.2018.351.3604>.
- (14) Ceseña Quiñonez, J. I.; Ramos Ramírez, E.; Serafín Muñoz, A. H.; Moreno Palmerin, J.; Zanol, G. A.; Gutiérrez Ortega, N. L. Remoción de arsénico del agua para consumo humano empleando un hidróxido doble laminar Mg/Fe. *Acta Univ.* **2019**, 29, 1-12. <https://doi.org/10.15174/au.2019.2499>.
- (15) Herrera, V.; Carrasco, C.; Araneda, P.; Varas, V.; Rojo, C. Ecological potential risk by arsenic in the loas's river mouth, north of Chile. *Rev. Int. Contam. Ambient.* **2019**, 35 (3), 609-622. <https://doi.org/10.20937/RICA.2019.35.03.08>.
- (16) Guillermina, S. M. La medicina legal en la investigación criminalística. *Visión Criminológica Crim.* **2017**, 1, 14.
- (17) Olmos, V.; Ridolfi, ;; Adriana S. Revisión Hidroarsenicismo: mecanismos de acción asociados a la toxicidad del arsénico Hydroarsenicism: Mechanisms of action related to arsenic toxicity. **2018**, 26 (1), 32-44.
- (18) Texto Unificado de Legislación Secundaria de Medio Ambiente. Libro VI, Anexo 1, Norma de Calidad Ambiental y de Descarga de Efluentes: Recurso Agua. *Regist. Of. Edición Espec. 2 31-mar.-2003* **2017**.
- (19) Marlene, E. M.; Enrique, B.; Carmen, A. V.; De Miguelsanz José Manuel, M. Comparison study between colorimetric method and flame atomic absorption spectrophotometry in serum zinc status. *Nutr. Clin. y Diet. Hosp.* **2018**, 38 (2), 128-133. <https://doi.org/10.12873/382escobedo>.
- (20) Bhuiyan, H. A.; Tshering, K.; Misbahuddin, M. Estimation of arsenic in nail using silver diethyldithiocarbamate method. *Bangladesh J. Pharmacol.* **2015**, 10 (3), 513-517. <https://doi.org/10.3329/bjp.v10i3.23644>.
- (21) Zhang, L.; Chen, X. R.; Wen, S. H.; Liang, R. P.; Qiu, J. D. Optical sensors for inorganic arsenic detection. *TrAC - Trends Anal. Chem.* **2019**, 118, 869-879. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.07.013>.
- (22) Precetox. *Guía para la obtención, conservación y transporte de muestras para análisis toxicológicos*; 2016.

ANEXOS

ANEXO 1 Norma de calidad ambiental y de descarga de efluentes: recursos agua.



PRESIDENCIA DE LA REPUBLICA

Es el agua adyacente a la tierra firme, cuyas propiedades físicas están directamente influenciadas por las condiciones continentales.

2.2 Agua marina

Es el agua de los mares y se distingue por su elevada salinidad, también conocida como agua salada. Las aguas marinas corresponden a las aguas territoriales en la extensión y términos que fijen el derecho internacional, las aguas marinas interiores y las de lagunas y esteros que se comuniquen permanentemente.

2.3 Aguas residuales

Las aguas de composición variada provenientes de las descargas de usos municipales, industriales, comerciales, de servicios agrícolas, pecuarios, domésticos, incluyendo fraccionamientos y en general de cualquier otro uso, que hayan sufrido degradación en su calidad original.

2.4 Aguas pluviales

Aquellas que provienen de lluvias, se incluyen las que provienen de nieve y granizo.

2.5 Agua dulce

Agua con una salinidad igual o inferior a 0.5 UPS.

2.6 Agua salobre

Es aquella que posee una salinidad entre 0.5 y 30 UPS.

2.7 Agua salina

Es aquella que posee una salinidad igual o superior a 30 UPS.

2.8 Aguas de estuarios

Son las correspondientes a los tramos de ríos que se hallan bajo la influencia de las mareas y que están limitadas en extensión hasta la zona donde la concentración de cloruros es de 250 mg/l o mayor durante los caudales de estiaje.

2.9 Agua subterránea



PRESIDENCIA DE LA REPUBLICA

Es toda agua del subsuelo, que se encuentra en la zona de saturación (se sitúa debajo del nivel freático donde todos los espacios abiertos están llenos con agua, con una presión igual o mayor que la atmosférica).

2.10 Aguas superficiales

Toda aquella agua que fluye o almacena en la superficie del terreno.

2.11 Agua para uso público urbano

Es el agua nacional para centros de población o asentamientos humanos, destinada para el uso y consumo humano, previa potabilización.

2.12 Bioacumulación

Proceso mediante el cual circulan y se van acumulando a lo largo de la cadena trófica una serie de sustancias tóxicas, las cuales pueden alcanzar concentraciones muy elevadas en un determinado nivel.

2.13 Bioensayo acuático

Es el ensayo por el cual se usan las respuestas de organismos acuáticos, para detectar o medir la presencia o efectos de una o más sustancias, elementos, compuestos, desechos o factores ambientales solos o en combinación.

2.14 Capacidad de asimilación

Propiedad que tiene un cuerpo de agua para recibir y depurar contaminantes sin alterar sus patrones de calidad, referido a los usos para los que se destine.

2.15 Caracterización de un agua residual

Proceso destinado al conocimiento integral de las características estadísticamente confiables del agua residual, integrado por la toma de muestras, medición de caudal e identificación de los componentes físico, químico, biológico y microbiológico.

2.16 Carga promedio

Es el producto de la concentración promedio por el caudal promedio, determinados en el mismo sitio.

2.17 Carga máxima permisible



PRESIDENCIA DE LA REPUBLICA

- b) Que presente un riesgo para la salud humana o para el ambiente al ser tratados, almacenados, transportados o eliminados de forma inadecuada.
- c) Que presente un riesgo cuando un organismo vivo se expone o está en contacto con la sustancia tóxica.

2.41 Toxicidad en agua

Es la propiedad de una sustancia, elemento o compuesto, de causar efecto letal u otro efecto nocivo en 4 días a los organismos utilizados para el bioensayo acuático.

2.42 Toxicidad crónica

Es la habilidad de una sustancia o mezcla de sustancias de causar efectos dañinos en un periodo extenso, usualmente después de exposiciones continuas o repetidas.

2.43 Tratamiento convencional para potabilizar el agua

Son las siguientes operaciones y procesos: Coagulación, floculación, sedimentación, filtración y desinfección.

2.44 Tratamiento convencional para efluentes, previa a la descarga a un cuerpo receptor o al sistema de alcantarillado

Es aquel que está conformado por tratamiento primario y secundario, incluye desinfección.

Tratamiento primario. - Contempla el uso de operaciones físicas tales como: Desarenado, mezclado, floculación, flotación, sedimentación, filtración y el desbaste (principalmente rejillas, mallas, o cribas) para la eliminación de sólidos sedimentables y flotantes presentes en el agua residual.

Tratamiento secundario. - Contempla el empleo de procesos biológicos y químicos para remoción principalmente de compuestos orgánicos biodegradables y sólidos suspendidos.

El tratamiento secundario generalmente está precedido por procesos de depuración unitarios de tratamiento primario.

2.45 Tratamiento Avanzado para efluentes, previo a la descarga a un cuerpo receptor o al sistema de alcantarillado

Es el tratamiento adicional necesario para remover sustancias suspendidas y disueltas que permanecen después del tratamiento convencional para efluentes.

2.46 UPS



PRESIDENCIA DE LA REPUBLICA

7. Criterios de calidad para aguas de uso estético.
8. Criterios de calidad para aguas utilizadas para transporte.
9. Criterios de calidad para aguas de uso industrial.

3.2 Criterios generales de descarga de efluentes

1. Normas generales para descarga de efluentes, tanto al sistema de alcantarillado como a los cuerpos de agua.
2. Límites permisibles, disposiciones y prohibiciones para descarga de efluentes al sistema de alcantarillado.
3. Límites permisibles, disposiciones y prohibiciones para descarga de efluentes a un cuerpo de agua o receptor.
 - a) Descarga a un cuerpo de agua dulce.
 - b) Descarga a un cuerpo de agua marina.

4 DESARROLLO

4.1 Normas generales de criterios de calidad para los usos de las aguas superficiales, subterráneas, marítimas y de estuarios.

La norma tendrá en cuenta los siguientes usos del agua:

- a) Consumo humano y uso doméstico.
- b) Preservación de Flora y Fauna.
- c) Agrícola.
- d) Pecuario.
- e) Recreativo.
- f) Industrial.
- g) Transporte.
- h) Estético.

En los casos en los que se concedan derechos de aprovechamiento de aguas con fines múltiples, los criterios de calidad para el uso de aguas, corresponderán a los valores más restrictivos para cada referencia.

4.1.20 Criterios de calidad para aguas de consumo humano y uso doméstico



PRESIDENCIA DE LA REPUBLICA

4.1.1.1 Se entiende por agua para consumo humano y uso doméstico aquella que se emplea en actividades como:

- a) Bebida y preparación de alimentos para consumo,
- b) Satisfacción de necesidades domésticas, individuales o colectivas, tales como higiene personal y limpieza de elementos, materiales o utensilios,
- c) Fabricación o procesamiento de alimentos en general.

4.1.1.2 Esta Norma se aplica durante la captación de la misma y se refiere a las aguas para consumo humano y uso doméstico, que únicamente requieran de tratamiento convencional, deberán cumplir con los siguientes criterios (ver tabla 1):

TABLA 1. Límites máximos permisibles para aguas de consumo humano y uso doméstico, que únicamente requieren tratamiento convencional.

Parámetros	Expresado Como	Unidad	Límite Máximo Permissible
Aceites y Grasas	Sustancias solubles en hexano	mg/l	0,3
Aluminio	Al	mg/l	0,2
Amoniaco	N-Amoniaco	mg/l	1,0
Amonio	NH ₄	mg/l	0,05
Arsénico (total)	As	mg/l	0,05
Bario	Ba	mg/l	1,0
Cadmio	Cd	mg/l	0,01
Cianuro (total)	CN ⁻	mg/l	0,1
Cloruro	Cl	mg/l	250
Cobre	Cu	mg/l	1,0
Coliformes Totales	nmp/100 ml		3 000
Coliformes Fecales	nmp/100 ml		600
Color	color real	unidades de color	100
Compuestos fenólicos	Fenol	mg/l	0,002
Cromo hexavalente	Cr ⁺⁶	mg/l	0,05
Demanda Bioquímica de Oxígeno (5 días)	DBO ₅	mg/l	2,0
Dureza	CaCO ₃	mg/l	500

Continua...

ANEXO 2 RECOLECCION DE MUESTRAS DE UÑAS

- Se procede a cortar uñas de las manos.
- Se va a necesitar al menos 0.2 g o 200 mg.
- Se procede a guardar en una funda herméticamente sellada²².

ANEXO 3 LAVADO DE UÑAS

1. Limpiar las uñas con agua destilada (3 ml) en un vaso pequeño (tamaño de 10 ml) durante 2 minutos. Repetir el proceso.
2. Transfiera las uñas a la placa de Petri (tamaño 4) que contenga acetona (3 ml) y mantenerla durante 1 minuto para eliminar la contaminación externa del arsénico.
3. Lave las uñas nuevamente con agua desionizada para eliminar la mínima cantidad de acetona.
4. Se ponen las muestras ya lavadas en un papel filtro.
5. Secar la muestra a temperatura ambiente dentro de una campana de flujo laminar este proceso dura de 1 a 2 horas ^{9,20}.

ANEXO 4 DIGESTIÓN DE LA MUESTRA

1. Se realizará la digestión de las muestras donde se pesa 1g de muestra utilizando un beacker de 50ml.
2. Luego se añade 2 ml de ácido nítrico concentrado y 2 ml de ácido sulfúrico concentrado.
3. Se procedió a cubrir con luna de reloj y se dejó hervir durante 25 minutos con intención de oxidar el material de estudio.
4. Luego se procedió a enfriar y se agregó 5ml de ácido nítrico concentrado y nuevamente se lleva a una temperatura alta hasta que la solución se torne oscura se retira, se enfría se adiciona peróxido de hidrógeno 2 ml. repitiendo la operación hasta que la solución se tome clara.


5. Luego se lleva a un balón volumétrico donde se agregó agua, se aforó obteniendo así la solución para su respectivo análisis ²⁰.

ANEXO 5 TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE LA MUESTRA

La muestra para envío de realización del análisis

1. La muestra debe estar en envases cerrados esterilizados.
2. Debe estar a 20 ° C no debe pasar de esa temperatura.
3. Debe estar bien sellado cada envase.
4. La hielera donde se conservarán las muestras debe estar bien cerrada.
5. Las muestras deberán acondicionarse de manera tal que se asegure su transporte y arribo al laboratorio en condiciones adecuadas. ^{22, 20}.

ANEXO 6 RESULTADO DE ESPEFOTOMETRO DE ABSORCION ATOMICA



LAB-METALOR

Laboratorio Metalúrgico Oscar Reyes
INGENIERÍA QUÍMICA

INFORME DE ANÁLISIS METALÚRGICOS

E-mail: revesosc@yahoo.es - Claro: 099 445 7753 - Movistar: 099 340 5725



Lugar:	Zaruma, sector El Pache a 150 metros de la Gasolinera "Pioneros TAC" en la vía Pache – Portovelo	
Fecha:	Viernes, 07 de Enero de 2020	No. Inf. 1782
Solicitado Por:	Srta. Karen Tinoco	
Empresa Investigadora:	Universidad Técnica de Machala (UTMACH)	

DATOS INFORMATIVOS:

Elemento Analizado: Arsénico	Longitud de onda de lámpara: 193,7
Método: Absorción Atómica	Energía de lámpara: 35
Equipo utilizado: Perkin Elmer 300	Absorbancia mínima: 0,028
Margen de error: ± 0,03 %	Absorbancia máxima: 0,071

REPORTE LAB-METALOR

DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA	As(Total) mg/lit.
MUESTRA # 02 Solución - No. 4	16,90

Ing. Oscar Reyes PgDip. MEng.
LABORATORISTA

DIPLOMA SUP. 1011-12-743464
ING. QUÍMICO 1011-10-979281
LAB-METALOR

Los Remanentes o Títulos de este informe por un periodo máximo de quince (15) días, plazo en el cual los dueños pueden solicitarlos.
LAB-METALOR

Página | 1

ANEXO 7 TRANSPORTE, ALMACENAMIENTO Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS SANGUÍNEAS MEDIANTE PROTOCOLOS ESTANDARIZADOS

