

R.11904

T.933-2

UNIVERSIDAD DE SEVILLA  
FACULTAD DE CIENCIAS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
ANÁLISIS QUÍMICO  
35 2  
22 JUL 1996  
El Director de la Biblioteca  
*Claudia Herce Pagliai*

**ESTIMACIÓN TOXICOLÓGICA DEL ARSÉNICO Y  
SUS ESPECIES EN AGUAS Y BEBIDAS DE  
CONSUMO EN ANDALUCÍA.**

**CLAUDIA HERCE PAGLIAI**  
**Sevilla, 1996.**

UBS 796815

# **P A R T E E X P E R I M E N T A L**

## **HIPOTESIS DE TRABAJO**

Teniendo en cuenta diversos factores, mencionados anteriormente, como son: la ubicuidad del As (elemento traza ampliamente distribuido en el ambiente), la gran diferencia de toxicidad entre sus especies, las incertidumbres aún existentes entre la ingestión de arsénico inorgánico en el agua de bebida y un aumento de la prevalencia de cáncer de piel y de otros órganos internos, así como las recomendaciones de diversas organizaciones supranacionales como la EPA (Environmental Protection Agency), CEPA (Canadian Environmental Protection Act), WHO, de insistir en las investigaciones del elemento, al ser considerado como un caso especial en cuanto a valoración del riesgo, planteamos nuestra hipótesis de trabajo.

El primero de los objetivos es estimar la situación de exposición de la población en general, de nuestra comunidad, al As total, tomando como fuentes del mismo, el consumo de agua y otras bebidas. Para ello valoraremos el contenido en arsénico, de forma exhaustiva, en aguas de consumo público que abastecen fundamentalmente a Andalucía Occidental, y en otras bebidas y alimentos.

El segundo objetivo ha sido optimizar un método, rápido y sensible para la especiación del elemento en este tipo de muestras líquidas. Así, podremos estudiar la distribución de las especies arsenicales en algunas muestras de agua de consumo público, aguas residuales y de manantial, vinos, cervezas, caldos, tal y como llegan al consumidor habitual, ya que no se conocen datos al respecto en nuestra comunidad.

El tercer objetivo es conocer, teniendo en cuenta los datos de consumo oficiales, qué tipo de muestras ofrecen mayor aporte del elemento y de cada una de sus especies, sobre todo de las especies inorgánicas, con cuya información se pudiera reducir la exposición a las mismas. Es conveniente conocer realmente cuál es la exposición media a cada especie arsenical, más que la exposición total al elemento.

Para ello elaboramos el siguiente plan de trabajo:

## **PLAN DE TRABAJO**

**I. Determinación de los niveles de arsénico total en:**

- Aguas de la red de consumo público, de diferentes orígenes: embalses, pozos, manantiales, ríos.
- Zumos de naranja, zumos de melocotón y uva.
- Leches.
- Cervezas.
- Vinos blancos de mesa, vinos finos, y mostos.
- Caldos.

**II. Optimización del procedimiento de especiación de As, para la determinación de As(III), As(V), MMAA y DMAA mediante Cromatografía de intercambio iónico y Espectroscopía de absorción atómica, en su variedad de generación de hidruros.**

**III. Evaluación de la presencia de las principales especies arsenicales en:**

- Aguas de consumo procedentes de manantial.
- Aguas residuales, procedentes de la ría de Huelva, como ejemplo de aguas fuertemente contaminadas por el elemento.
- Cervezas con/sin alcohol.
- Otras bebidas alcohólicas de amplio consumo como vinos blancos de mesa, finos, mostos.
- Zumos de frutas.
- Caldos de ave, ternera, pescado.
- Muestras de orina, de sujetos no expuestos a arsénico.

*Estimación toxicológica del As y sus especies*

IV. Conocer la ingesta media de As total a través del consumo de estas bebidas, y compararla con la Ingesta Diaria Tolerable (TDI) dada por el Comité Mixto FAO/OMS. Simultáneamente conocer cuál es la contribución media de cada tipo de muestras a la exposición del elemento.

Conocer la ingesta media de As inorgánico/persona/día, compararla con la TDI recomendada, y conocer la contribución de cada tipo de muestras a la exposición de cada especie arsenical en nuestra población.

V. Conocer el patrón de distribución de las especies arsenicales en orina de sujetos sanos, no expuestos de forma ocupacional a As.

**DETERMINACIÓN DE ARSÉNICO TOTAL  
POR HG-AAS**

## **15.1.- MATERIAL**

### **15.1.1.- MUESTRAS A ANALIZAR**

#### **AGUAS**

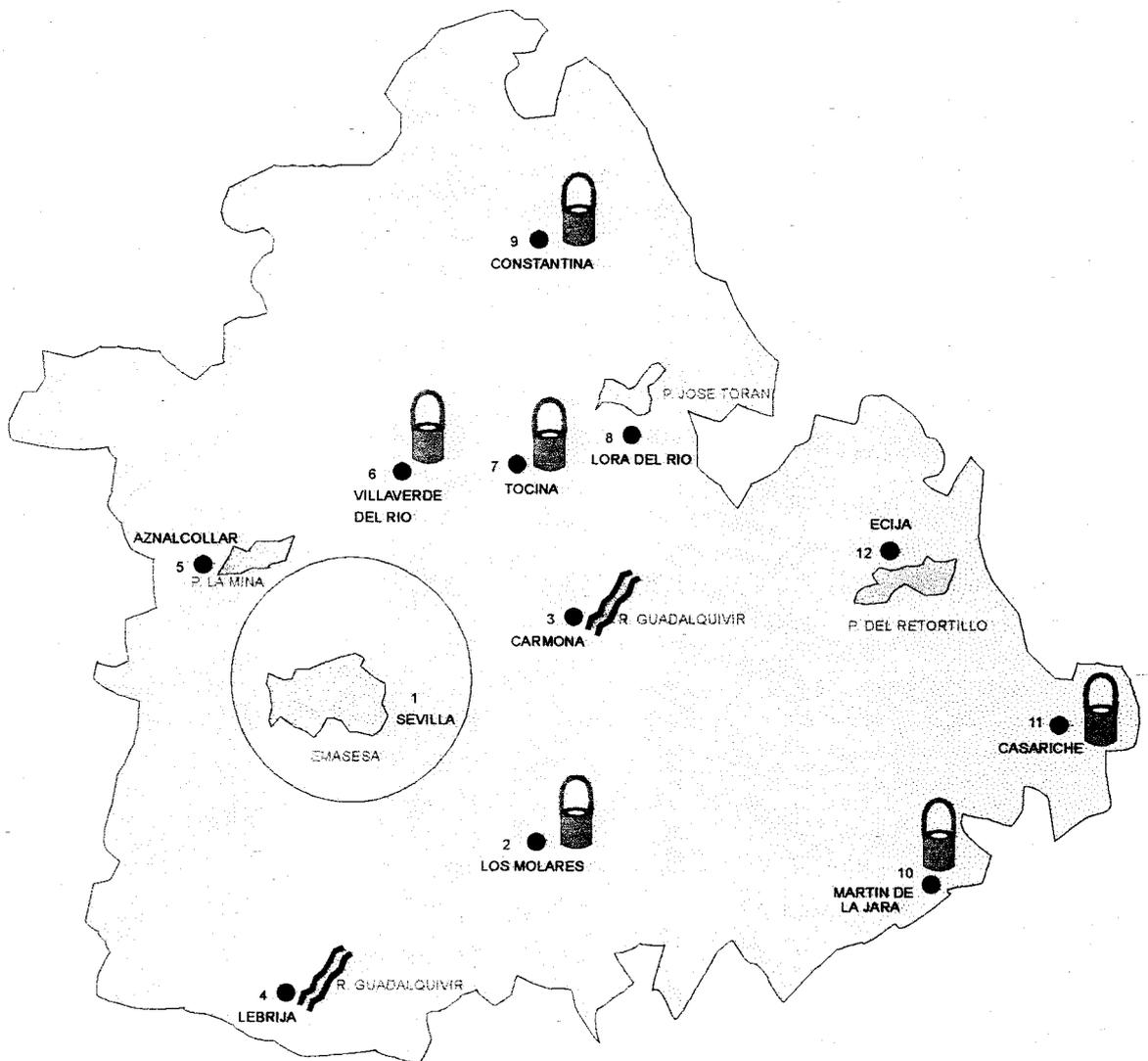
Aunque los niveles que esperamos encontrar de arsénico sean bajos, el agua constituye un medio necesario para la vida, que consumimos ampliamente (1,5-2 litros/día), por lo que bajas concentraciones de un xenobiótico pueden significar alta exposición al mismo, con importantes repercusiones sobre la salud.

Por ello se han analizado un total de 166 muestras de agua de consumo público procedentes de las provincias andaluzas de Sevilla, Huelva, Cádiz y Málaga, de las que 152 se han tomado directamente de las redes de abastecimiento y las 14 restantes han sido recolectadas en pozos y manantiales, empleados por la población.

Los criterios que se han seguido en la selección de las poblaciones de muestreo para el estudio del contenido de arsénico en aguas de la red, han sido:

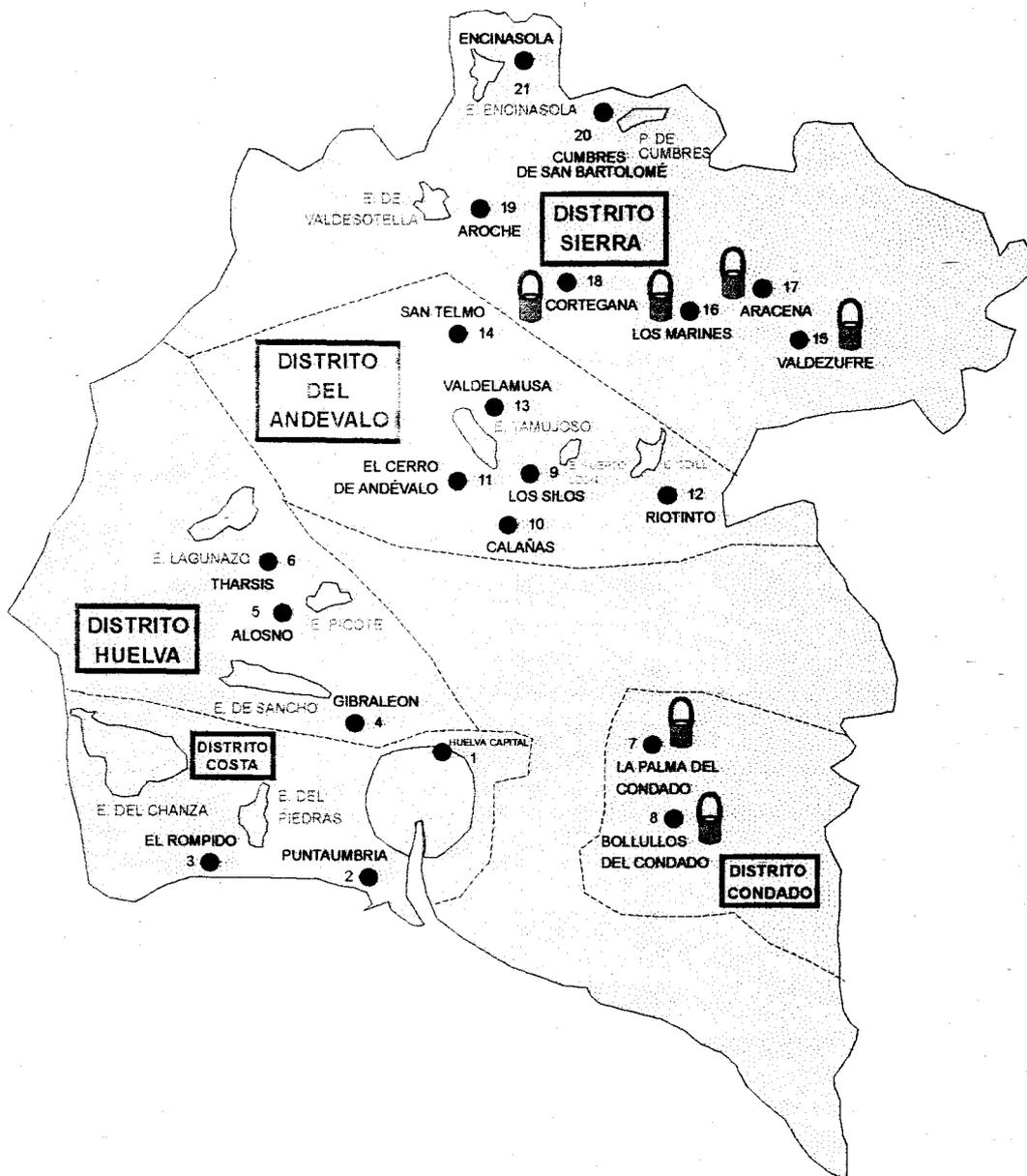
- Que fueran lo más representativas posible dentro de cada provincia (costa, montaña, zonas de actividad agrícola, minera, etc.).
- Que tuvieran abastecimientos naturales diferentes: embalses, aguas de pozo, ríos y manantiales.

En las Figuras 9, 10 y 11 se recogen los puntos de muestreo de las provincias de Sevilla, Huelva y Cádiz, que han sido estudiadas más exhaustivamente, sobre cuyas fuentes de abastecimiento de aguas de consumo público hemos tenido información a través de las Gerencias Provinciales respectivas del Servicio Andaluz de Salud.



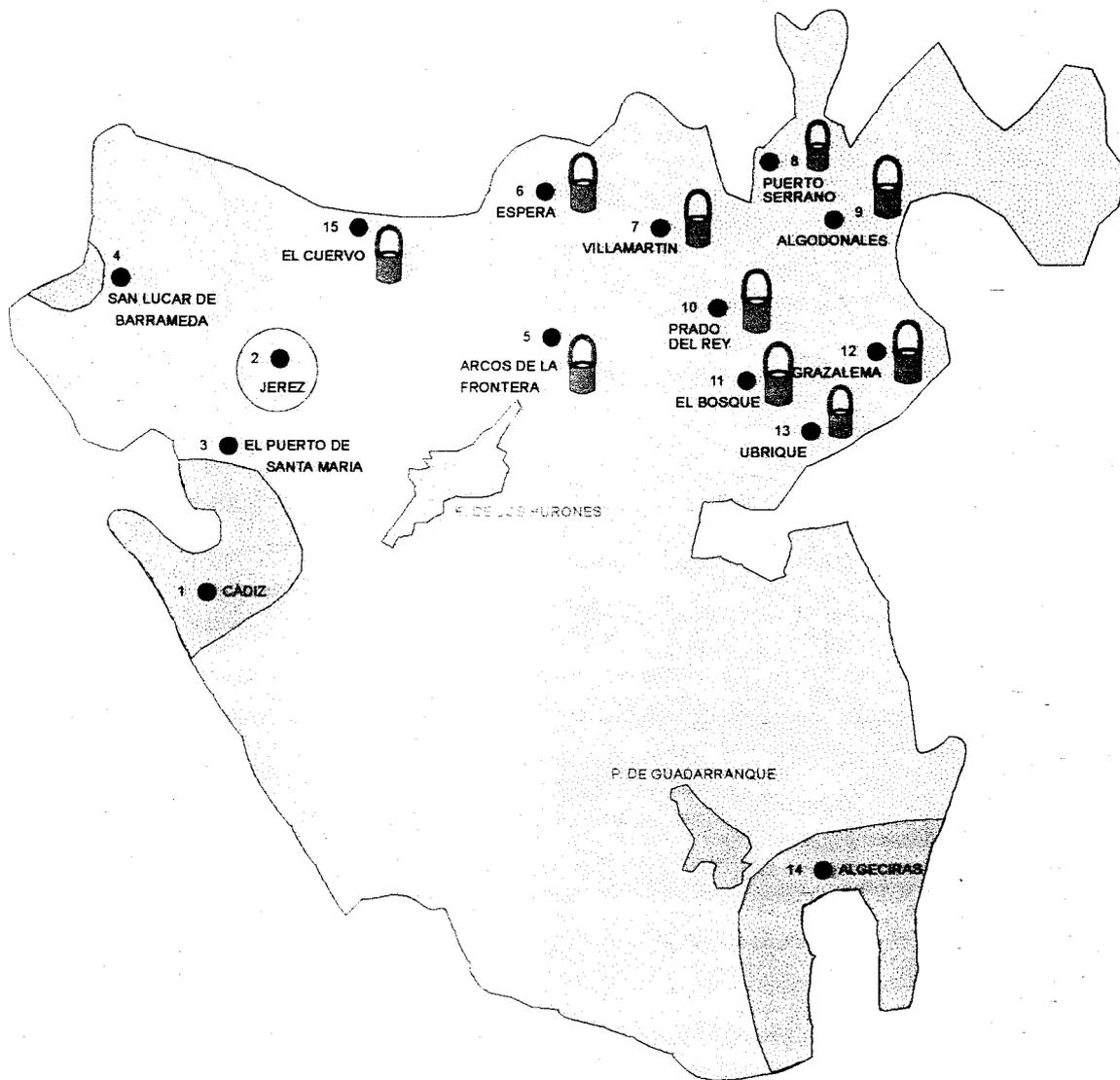
**FIGURA 9.-**

**TOMA DE MUESTRAS DE AGUA  
PROVINCIA DE SEVILLA**



**FIGURA 10.-**

**TOMA DE MUESTRAS DE AGUA  
PROVINCIA DE HUELVA**



**FIGURA 11.-**

**TOMA DE MUESTRAS DE AGUA  
PROVINCIA DE CADIZ**

### **Provincia de Sevilla**

- Emasesa: empresa municipal de abastecimiento de aguas a Sevilla capital, que cubre además las poblaciones siguientes: Valdeorras, La Rinconada, San José de la Rinconada, Mairena del Alcor, Alcalá de Guadaira, Dos Hermanas, Los Palacios, Villafranca, La Puebla del Río, Coria del Río, Gelves, San Juan de Aznalfarache y Camas. Las aguas proceden de 4 embalses: Aracena, Zufre, La Minilla y Gergal. De estos mismos embalses se surte la otra gran empresa que abastece a la zona del Aljarafe, Aljarafesa. Por tanto, al tomar agua directamente de los depósitos de Emasesa, esta muestra es representativa de un amplio número de municipios de la provincia de Sevilla y de Sevilla capital.

- Los Molares: agua de pozos.
- Carmona: agua de río, procedente del Bajo Guadalquivir. Es el mismo agua que surte a Utrera.
- Lebrija: agua de río, procedente del Bajo Guadalquivir, en la zona sur de la provincia.
- Aznalcóllar: agua de embalse, pantano de La Mina.
- Villaverde del Río: agua de pozos.
- Tocina: agua de pozos.
- Lora del Río: agua de embalse, presa José Torán.
- Constantina: agua de pozo y manantial. Es el mismo tipo de aguas que surte a las poblaciones de Cazalla y El Pedroso.
- Martín de la Jara: agua de pozo, igual que la de Los Corrales.
- Casariche: agua de pozo. Similar al agua de Badolatosa.
- Écija: agua de embalse, pantano del Retortillo. Este pantano surte además a las poblaciones de Paradas, Marchena, y El Arahal.

### **Provincia de Huelva**

Al ser heterogénea esta provincia, se ha dividido en cinco distritos, atendiendo a los diferentes embalses:

- Distrito Costa. Se surte de dos embalses, el del Chanza y del Piedras, que abastecen a numerosas poblaciones, Huelva capital, Aljaraque, Punta Umbría, El Rompido, Palos de la Frontera, Moguer, Valverde del Camino, etc.

- Distrito Huelva. Se escogen las localidades de Gibraleón (Embalse Sancho), Alosno (E. Picote) y Tharsis (E. Lagunazo).

- Distrito Condado. Las aguas proceden de pozos. La Palma del Condado posee pozos propios, y el agua de Bollullos del Condado es la misma que la de las localidades de Almonte y Rociana.

- Distrito del Andévalo. Los Silos de Calaña (o la Zarza) se surten del embalse de Puerto León; Calañas del embalse Olivargas; El Cerro del Andévalo de los embalses de Tamujoso y Las Umbrías; Río Tinto del dique Campofrío o pantano del Odiel.

- Distrito Sierra. Las poblaciones que se abastecen de aguas de embalse son: Valdelamusa (E. Valdelamusa), San Telmo (E. San Telmo), Aroche (E. Valdesotella), Encinasola (E. Encinasola), Cumbres de S. Bartolomé (pantano propio). El tipo de agua que surte a Aracena, Valdezufre, Los Marines, y Cortegana es de pozo y manantial, propios en cada caso.

### **Provincia de Cádiz**

- Las aguas que abastecen a Cádiz capital proceden de aguas superficiales, del Pantano de los Hurones de la Confederación Hidrográfica del Guadalquivir. Es el mismo agua de las localidades de Puerto Real, Chiclana, San Fernando, Conil, etc.

- En Jerez, aunque el agua tienen el mismo origen que en el caso anterior, Pantano de los Hurones, se trata en otra planta diferente, por lo que sus características generales pueden ser distintas y hemos creído conveniente su análisis. Este agua abastece asimismo a Sanlúcar de Barrameda, Rota, Puerto Santa María, Chipiona, Trebujena.

- En Algeciras (La Línea, San Roque, Los Barrios), las aguas son de origen superficial, del Pantano de Guadarranque, perteneciente a la Confederación Hidrográfica del Sur.

- En el resto de la provincia, las aguas son de pozos propios, por lo que hemos tomado diferentes puntos.

Además, se han analizado 13 muestras de aguas de abastecimiento de la red procedentes de la **provincia de Málaga**, de las poblaciones de Cortés de la Frontera, Benaoján, Ronda, Mijas, Torremolinos, de las que no tenemos información acerca del origen de las mismas (embalse, pozo, etc).

En cada localidad escogida se han tomado 3 muestras de agua de tres puntos diferentes, pero siempre directamente del agua suministrada por la red pública. Las muestras se recogen en envases de polietileno, que fueron previamente mantenidos durante 24 horas en una disolución de HNO<sub>3</sub> al 10% y enjuagados posteriormente con agua Milli-Q. En el momento de la toma se enjuagaron los recipientes tres veces con el agua a recoger.

Asimismo, se han analizado 14 muestras procedentes de diferentes **pozos y manantiales**, a los que recurre la población sobre todo en épocas de sequía aunque no están controlados por las autoridades sanitarias; en la mayoría de los casos sólo se ha tomado una muestra.

También se ha estudiado el contenido en As de 15 muestras de **aguas minerales**, correspondientes a cinco marcas comerciales diferentes, adquiridas en cinco puntos distintos de venta al público en el área urbana de Sevilla.

Por último se ha analizado el contenido de As de 18 muestras de **aguas residuales** procedentes de la ría de Huelva, la cual recoge numerosos vertidos industriales, de las que 10 se recogieron en periodo de marea alta y las restantes en marea baja.

Una vez en el laboratorio, se les añade a todas las muestras de agua 1mL de HNO<sub>3</sub> concentrado por 100 mL de muestra para su conservación, y se procede a su análisis inmediato.

### **ZUMOS.**

Se han analizado un total de 40 muestras de zumos de fruta adquiridos directamente en establecimientos de venta al público, entre los cuales se encuentran 15 zumos de naranja y 15 de melocotón-uva. De cada tipo de muestra se estudian marcas comerciales diferentes, adquiriéndose cada una de éstas por triplicado, en diferentes locales comerciales del área de Sevilla.

Además se han analizado 4 zumos de piña y 4 de piña-uva.

### **LECHE**

Se ha analizado un total de 15 muestras de leche, correspondientes a cinco marcas comerciales diferentes, adquiriéndose cada una de estas por triplicado (de tres lotes diferentes) en diversos puntos de venta al público en el área de Sevilla.

### **CERVEZA**

Se lleva a cabo el análisis de 15 muestras de cervezas de 5 marcas

comerciales diferentes, con un contenido alcohólico etiquetado que oscila entre 4.7-5.5 % v/v, adquiriéndose cada una de éstas en tres comercios diferentes.

### **VINO.**

Para el análisis del contenido de As en vinos, se recogen 20 muestras de vinos blancos, de los cuales 10 son vinos de mesa y el resto vinos finos. Todos ellos se adquieren en establecimientos comerciales de venta al público.

Además, debido a su amplio consumo en la provincia, se han analizado 8 muestras de mosto de uva adquiridas en diferentes poblaciones de Sevilla (Umbrete, Villanueva del Ariscal y Espartinas).

Un vez adquiridas las distintas muestras (zumos, leches, vinos..) en los establecimientos comerciales, se almacenan en frascos estériles y se conservan en congelador a -30°C, hasta el momento de su digestión para el análisis.

### **CALDOS**

Se ha estudiado, además, el contenido de arsénico de 11 muestras de pastillas de caldo, siendo 4 de caldo de ave, 3 de carne, 3 de pescado y 1 vegetal.

Para el análisis de los caldos, se procede a la disolución de las pastillas en agua Milli-Q a una temperatura de 85° C y una vez hecho esto se lleva a cabo la filtración de la disolución resultante por papel Whatman nº1.

#### **15.1.2. APARATOS**

- Espectrofotómetro de Absorción Atómica Perkin Elmer modelo 3100 equipado con sistema generador de hidruros MSH-10 e impresora Epson LX-400.

### *Estimación toxicológica del As y sus especies*

- Horno microondas modelo CEM, MDS-81D.
- Contenedores de teflón para digestiones con válvula de seguridad.
- Balanza analítica Mettler AJ100.
- Balanza semianalítica Mettler PJ400.
- Agitador magnético Agimatic, P-Selecta.
- Estufa P-Selecta modelo 296 B.
- Placa calefactora Plactronic, P-Selecta.
- Otros materiales de uso corriente en laboratorio: matraces aforados, pipetas, etc., que se mantienen en HNO<sub>3</sub> al 5% durante una noche, y posteriormente se lavan con agua desionizada.
- Ordenador Pentium PCI GMB-P54IPS e impresoras NEC Pinwriter P20 y EPSON Stylus Color IIs.

#### **15.1.3.- REACTIVOS.**

- Material de Referencia estándar 1577 A, de hígado bovino del National Bureau of Standards (NBS), USA, con un contenido certificado de arsénico de  $0,047 \pm 0,006 \mu\text{g/g}$  en peso seco.
- Material de Referencia MA-A-2 (TM) de homogeneizado de pescado del Organismo Internacional de Energía Atómica (IAEA), Viena, con contenido certificado de arsénico de  $2,6 \pm 0,1 \mu\text{g/g}$  en peso seco.
- Material de Referencia MA-B-3/TM, de homogeneizado de pescado del Organismo Internacional de Energía Atómica (IAEA), Viena, con contenido certificado de arsénico de 2,11 en peso seco con un intervalo de confianza entre 1,42 y 2,51  $\mu\text{g/g}$
- Disolución patrón de arsénico (III) de 1000  $\mu\text{g/L}$ . Se disuelven 1,3200 g

de Trióxido de Arsénico (Merck, 119) en 25 ml de disolución de hidróxido potásico (Merck, 5033) al 20% (v/v). Se neutraliza con disolución de ácido sulfúrico al 20% (v/v) usando fenolftaleína como indicador. Se diluye a 1 litro con ácido sulfúrico al 1% (v/v).

- Pentóxido de Arsénico (Titrisol) Merck (9939), con un contenido en arsénico de 1.000 g + 0,002 g. Se diluye a 1 litro.
- Borohidruro sódico, Merck (6371), al 1,4 % (p/v) en hidróxido sódico.
- Hidróxido sódico, Merck (6495). Se prepara una disolución 1 M.
- Acido sulfúrico 95-97%, Merck (731).
- Acido nítrico 65 %, Merck (456).
- Ioduro potásico, Merck (5043). Se prepara una disolución al 10% p/v.
- Acido clorhídrico fumante 37 %, Merck (317). Se prepara una disolución al 1,5 %.
- Peróxido de hidrógeno 30%, Merck (7210).
- Agua tratada Milli-Q (Millipore-Corporation) a  $18 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$ .

## **15.2.- METODO**

La determinación de As total en las muestras anteriormente mencionadas se realiza por Espectrofotometría de Absorción Atómica con generación de hidruros (HG-AAS).

Esta técnica está incluida en los métodos de análisis de la AOAC (1995) para la determinación de arsénico en alimentos; en las normativas tanto europea (Directiva 80/778/CEE, 1980) como española (RD. 1138/1990) es la referida para la determinación de arsénico en aguas destinadas al consumo humano.

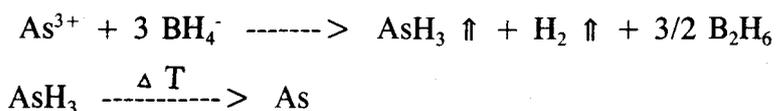
En la propuesta de Directiva que la CEE está preparando (95/C 131/03;

DOCE 30/05/95) para su aplicación a aguas de consumo públicos, no se especifica ningún método analítico de referencia para el elemento, aunque se establece que prodrá utilizarse cualquier método de análisis siempre que se cumplan los requisitos del anexo III: que el porcentaje de exactitud sea igual o inferior al 10% del valor del parámetro (1  $\mu\text{g/L}$ ), la precisión sea el 10% del valor del parámetro (coeficiente de variación del 10%), y el límite de detección igual o inferior al 10% del valor del parámetro (1  $\mu\text{g/L}$ ).

### 15.2.1. FUNDAMENTO

Una alicuota de la muestra, en medio ácido, se pone en contacto con disolución de borohidruro de sodio-hidróxido sódico. El hidrógeno producido reduce el arsénico presente a hidruro volátil, que es transportado por una corriente de nitrógeno hasta la celda de cuarzo calentada por la llama donde se descompone y se mide la absorción del elemento, proporcional a la concentración presente.

Las reacciones del proceso de reducción se esquematizan de la siguiente forma:



### 15.2.2. PARÁMETROS INSTRUMENTALES

Se utilizaron los siguientes parámetros para el Espectrofotómetro antes indicado, provisto de lámpara de cátodo hueco de arsénico (Perkin-Elmer) y celda de tubo de cuarzo:

- Longitud de onda: 193,7 nm
- Rendija: 0,7 nm

- Lectura: Altura de pico.
- Calentamiento de la celda: llama aire/acetileno, azul, oxidante.
- Presión de gas (N<sub>2</sub>): 2,5 Kg/cm<sup>2</sup>
- Sensibilidad de chequeo: 10 ml de un patrón de 0.005 µg/mL de As.

### 15.2.3. PROCEDIMIENTO

#### 15.2.3.1. AGUAS:

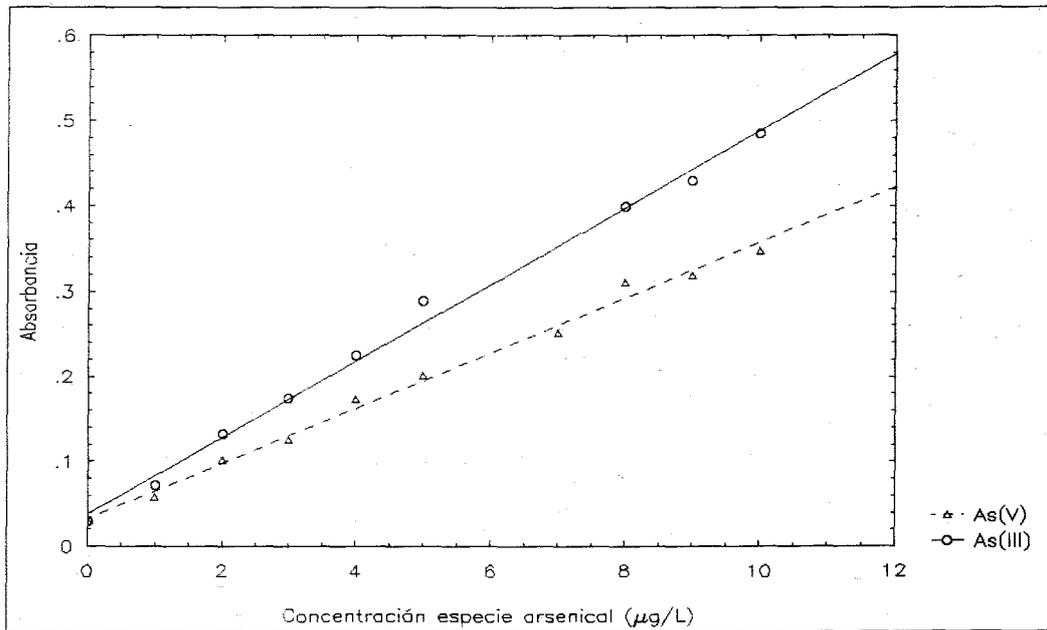
El análisis de las aguas se ha llevado a cabo de forma directa sobre las mismas, excepto en el caso de las aguas residuales las cuales se diluyeron debido a su alto contenido de arsénico.

El cálculo del contenido de As total se ha realizado por el **método de calibración externa**.

A partir de las "disoluciones madres" de As(III) y As(V) de 1000 mg/L se preparan disoluciones de trabajo de 1 mg/L. Se toman diferentes alícuotas de éstas disoluciones de As(III) y As(V) en frascos de reacción de polietileno a los que se agregó previamente 10 ml de agua desionizada, 1 ml de HNO<sub>3</sub> 1:1 (v/v) y 1ml de IK 10%, de forma que la concentración final de As oscile entre 1-15 µg/L. Se registra la lectura de cada disolución patrón triplicado.

En la Figura 12 se representan las rectas de calibrado obtenidas para As(III) y As(V).

El límite de detección (LOD) para cada especie, se define como la concentración del elemento igual a la señal del blanco más tres veces la desviación estándar del mismo (Currie, 1988). De acuerdo con Miller y Miller (1995) la desviación estándar de la regresión es igual a la desviación estándar de la señal del blanco, y la ordenada en el origen se toma como una medida de la señal del blanco. Por tanto,  $LOD = 3 \cdot S_{y/x} / m$ , donde  $S_{y/x}$  es la desviación estándar de la regresión y  $m$  la pendiente de la misma.



**Figura 12.- Rectas de calibrado para As(III) y As(V)**

Los límites de detección en unidades de concentración ( $\mu\text{g/L}$ ) de cada especie son:

- As (III):  $0,38 \mu\text{g/L}$

- As (V):  $0,41 \mu\text{g/L}$

Como se puede observar, el método permite detectar de forma ligeramente más fácil As(III) que As(V).

De acuerdo con la definición clásica de *sensibilidad*, que tiene en cuenta la pendiente de la recta de calibrado, el método propuesto es más sensible para la determinación de As(III) que para As(V).

La *precisión* del método se estima por análisis repetido de dos series de 5 alicuotas de una muestra de agua, adicionadas con 2 y 4  $\mu\text{g/L}$  de As(III), lo cual se corresponde con concentraciones aproximadas de 5 y 10 veces el límite de detección del elemento, respectivamente. Se realizan las determinaciones en el mismo día.

Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

As(III)	Abs. media $\pm$ ds	CV (%)
2 $\mu\text{g/L}$	0,177 $\pm$ 0,012	6,8
4 $\mu\text{g/L}$	0,289 $\pm$ 0,018	6,2

Los coeficientes de variación fueron totalmente similares, e inferiores al límite aceptable del 15%.

Para el estudio de la *exactitud* del método, se prepara una disolución patrón de 2  $\mu\text{g/L}$  de As(III), y se analiza 6 veces. Los valores obtenidos fueron: 2,1, 2,0,

### Estimación toxicológica del As y sus especies

1,8, 2,3, 1,9 y 1,8. La media estos valores fué de 1,98  $\mu\text{g/L}$ , por tanto:

$$\text{Error absoluto} = \text{valor estipulado} - \text{media} = 0,02 \mu\text{g/L}$$

$$\text{Error relativo} = (\text{Error absoluto} / \text{valor estipulado}) \times 100 = 1\%$$

Teniendo en cuenta los datos experimentales anteriormente expuestos, para la cuantificación del As total en las muestras se realiza una reducción previa de las especies al estado de oxidación trivalente con IK al 10 %. Comprobamos que el tiempo de espera necesario para dicha reducción es de 30', lo cual está de acuerdo con lo publicado por Corns y cols. (1993).

Se sigue el procedimiento expuesto en la siguiente Tabla (Tabla 19).

**Tabla 19.- Procedimiento experimental para la determinación de arsénico total en aguas.**

	Blanco	Puntos recta calibrado	Muestra
H <sub>2</sub> O Milli-Q	10mL	10mL	-
H <sub>2</sub> O Problema	-	-	10mL
Patrón As(III) 1mg/L	-	10 -150 $\mu\text{L}$	-
HNO <sub>3</sub> 1:1	1mL	1mL	1mL
IK 10%	1mL	1mL	1mL

#### 15.2.3.2 OTRAS MUESTRAS:

##### Digestión ácida:

Para la determinación del contenido de arsénico total de las muestras de zumo, cerveza, vino, caldos y leche, ha sido necesaria la digestión ácida previa, usando horno microondas y contenedores de teflón (PTFE) con válvulas de presión,

hasta la obtención de una disolución acuosa transparente, para eliminar así las posibles interferencias debidas a la matriz orgánica de éstas.

El procedimiento empleado para la digestión de las muestras en horno microondas es el seguido por el Instituto Nacional de Toxicología, Departamento de Sevilla\*, y que emplea programas de baja potencia y larga duración para evitar pérdidas de As. Dicho programa que se esquematiza en las Figuras 13 y 14, es el siguiente:

Se toman 10 ml de la muestra homogeneizada y se llevan a sequedad en estufa a 80°C. Al residuo seco se añaden 4ml de HNO<sub>3</sub> concentrado (37% p/p) en frascos de teflón (PTFE) con válvulas a presión y se calientan en horno microondas (modelo MDS-81D, CEM Corporation) empleando un programa del 30% de potencia durante algunas horas (larga duración) para evitar pérdidas del elemento. Para completar la digestión se repite el tratamiento añadiendo 2 mL de peróxido de hidrógeno al 30% v/v, hasta la obtención de una disolución incolora.

El material digerido una vez enfriado a temperatura ambiente, se recoge y se lleva al volumen inicial de 10 ml, en matraces aforados con agua Milli-Q.

Paralelamente fueron digeridos materiales de referencia con valores certificados de As y un blanco en condiciones similares.

#### **Método analítico:**

##### **a).- Calibración externa.**

Se prepara un recta de calibrado con disoluciones patron de As(V), de forma que tengan igual proporción de ácido que los digeridos de las muestras.

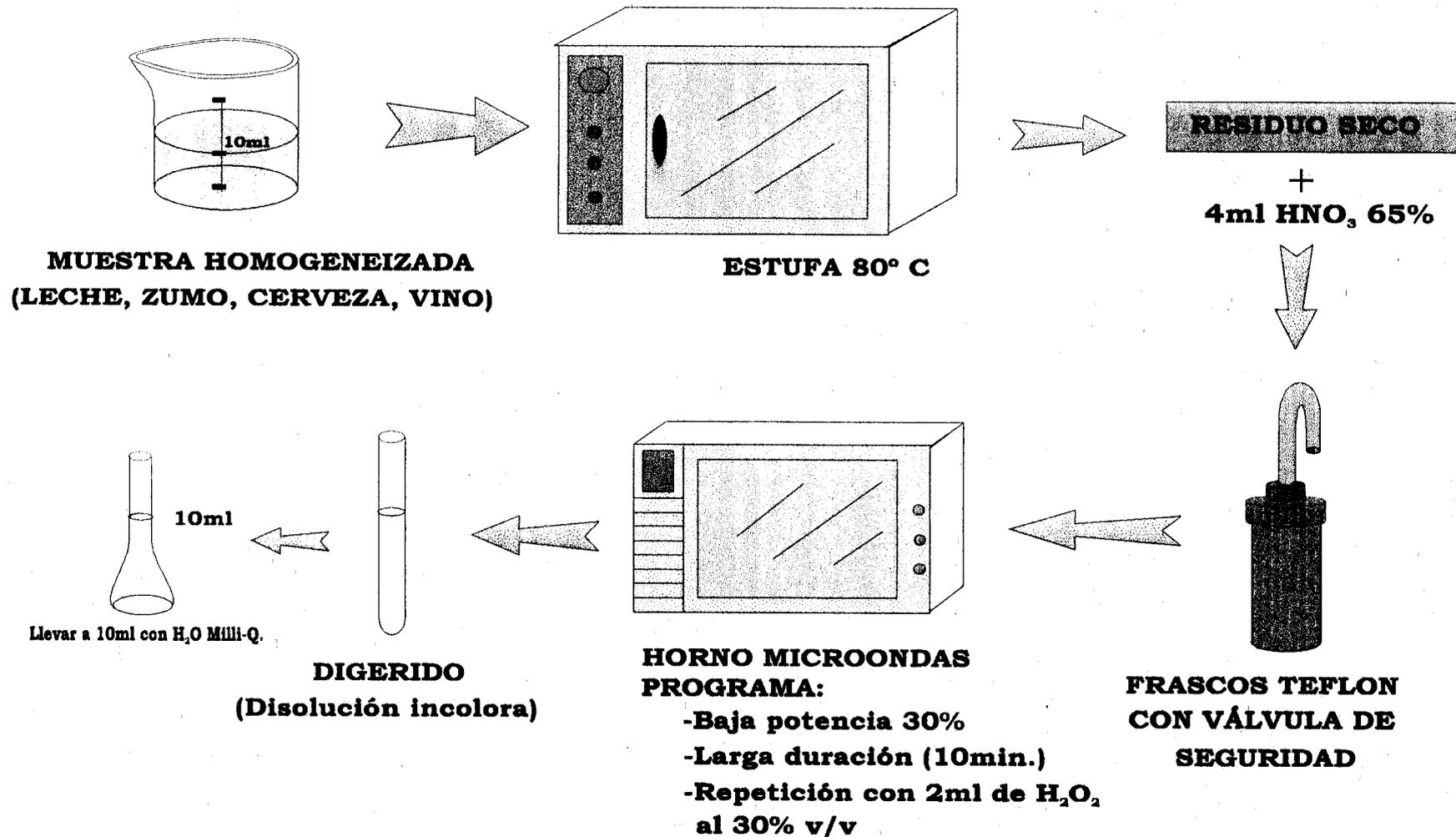
\* Agradecemos al Dr. Miguel López-Artíguez y a D. Francisco Repetto su colaboración, que ha posibilitado llevar a cabo la digestión de las muestras.

*Estimación toxicológica del As y sus especies*

A partir de la disolución madre de As(V) de 1000 mg/L se prepara una disolución de trabajo de 1 mg/L. En frascos de reacción de polietileno se toman diferentes alicuotas de la disolución anterior y se añade 1 ml de un blanco ácido preparado con igual proporción de ácido que los digeridos (HNO<sub>3</sub>-H<sub>2</sub>O 2:3). Por último se añaden 10ml de HCl al 1,5% de forma que la concentración de As, referida al mL de blanco ácido, oscile entre 3-60 µg/L. Se leen las absorbancias realizándose cada medida por triplicado, obteniéndose la siguiente recta de calibrado:

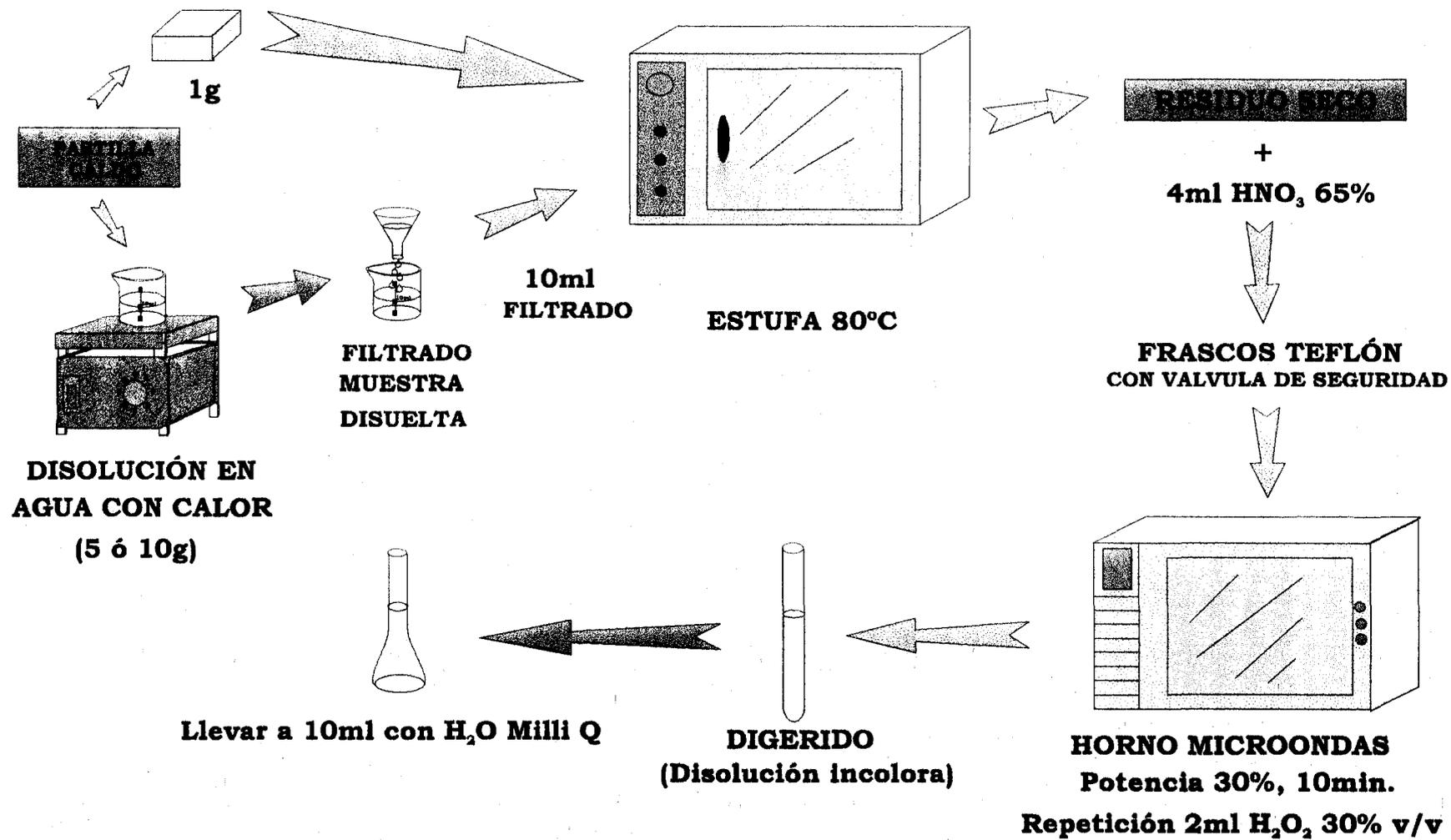
$$y = 0,047 + 0,004 x \quad r = 0,999$$

El LOD de As por este procedimiento, teniendo en cuenta la pendiente y la desviación estándar de la ordenada en el origen de la recta de calibrado es de 1,5 µg/L.



**FIGURA 13.-**

**DIGESTIÓN DE LA MUESTRA**



**FIGURA 14.-**

**DIGESTIÓN MUESTRA DE CALDO**

b).- Precisión y exactitud.

En la determinación de As total, disponemos de tres materiales de referencia con valores certificados de As, cedidos por el Instituto Nacional de Toxicología, Departamento de Sevilla, cuyas concentraciones en  $\mu\text{g/g}$  de peso seco vienen especificadas en el apartado de Reactivos (15.1.3).

En la Tabla 20 se muestra la precisión obtenida en la determinación de los materiales de referencia. La Tabla 21 recoge los valores de recuperación logrados después de adicionar cantidades conocidas de As a cada estándar, antes de proceder a su digestión en el horno de microondas y posterior análisis por HG-AAS. Los valores corresponden a 5 determinaciones de cada material de referencia con adiciones por duplicado.

**Tabla 20.- Precisión**

MATERIAL	Media $\pm$ ds	CV (%)
Higado bovino 1577A	0,045 $\pm$ 0,005	11,1
MA-A-2 (TM) (IAEA)	2,5 $\pm$ 0,1	4,0
MA-B3/TM (IAEA)	2,2 $\pm$ 0,2	9,1

**Tabla 21.- Recuperación.**

MATERIAL	Adicionado	Encontrado	Recuperación (%)
Higado bovino 1577A	0,025	0,065	92,8
MA-A-2 (TM) (IAEA)	1,0	3,3	94,3
MA-B3/TM (IAEA)	1,0	3,1	96,8

C).- Método de adiciones estándar.

Una vez comprobado en el apartado anterior que no existen pérdidas de As durante el proceso de digestión ácida, en las muestras reales se ha seguido el método de adiciones estándar (Bader, 1980), en razón de la dificultad de preparar disoluciones patrones con matrices semejantes a las de las muestras y materiales de referencia.

El principal problema en la determinación por generación de hidruros es la interferencia de matriz, pero debido a la sensibilidad de la técnica es posible usar un proceso de dilución que elimina la mayoría de interferencias. En el caso de los alimentos y muestras con bajo contenido de As, debido a la imposibilidad de diluir la muestra, es necesario usar el método de adiciones estándar, para eliminar la interferencia de la matriz (Cervera y Montoro, 1994)

El procedimiento puede esquematizarse como sigue:

- Blanco: 10 mL de HCl al 1,5% + 1 mL de blanco.
- Muestra: 10 mL de HCl al 1,5% + 1 mL de muestra.
- Primera adición: 10 mL de HCL al 1,5% + 1 mL de muestra + volumen de patrón As (V) de 1 mg/L.
- Segunda adición: 10 mL de HCL al 1,5% + 1 mL de muestra + volumen de patrón As (V) de 1 mg/L (doble del anterior).

Las cantidades de patrón adicionadas deben de encontrarse dentro del rango lineal de detección del aparato. Por tanto, si  $X_L$  es el límite superior del rango lineal de calibración (Perkin Elmer, 1982) y  $X_m$  la concentración aproximada del metal en la muestra analizada, la máxima adición debe cumplir:

$$X_m + (V/V_m).C \leq X_L$$

donde V es el volumen de patrón adicionado de concentración C y  $V_m$  el volumen

final de la disolución de la muestra.

En nuestro caso, tras ensayos previos y teniendo en cuenta lo anteriormente expuesto, las cantidades adicionadas de arsénico a los digeridos de cervezas, vinos, leches y zumos, son de 50 y 100  $\mu\text{l}$  de un patrón de 1mg/L de As(V). Para los caldos y mostos de uva, las adiciones fueron de 20 y 50  $\mu\text{L}$ .

Representando las absorbancias de cada disolución frente a la concentración añadida del patrón y extrapolando la recta resultante a absorbancia cero se obtiene la concentración del elemento que será la correspondiente al punto de intersección de ésta con el eje de abscisas.

Se debe de tener en cuenta que la muestra se encontrará diluida en HCl y no en agua, por tanto la lectura de absorbancia perteneciente a este reactivo (blanco instrumental) influirá sobre el valor de concentración que se obtenga para la muestra sin adición. Por tanto, si la señal obtenida para el blanco fuese  $A_0$ , siendo  $y = A + Bx$  la ecuación de la recta obtenida por el método de adiciones ( $y =$  señal obtenida,  $x =$  concentración adicionada), la concentración del elemento en la muestra será:

$$X_{\text{muestra}} = (A - A_0) / B$$

Realmente hemos comprobado que en la determinación de As total en este tipo de muestras el valor de  $A_0$  es significativo y en los cálculos hay que tener en cuenta dicha señal.

## **ESPECIACIÓN DE ARSÉNICO**

En nuestro caso, la especiación de Arsénico se lleva a cabo empleando como técnica separativa la Cromatografía de Intercambio Iónico (IEC), y se determina posteriormente cada especie por separado por Espectrofotometría de Absorción Atómica (AAS), sistema de hidruros.

## **16.1.- MATERIAL.**

### **16.1.1.- MUESTRAS A ANALIZAR**

Se ha analizado un número total de 116 muestras, correspondientes a:

#### ***AGUAS***

Debido a que la concentración de arsénico total en las aguas estudiadas es mínima, lo cual dificulta enormemente el proceso de especiación, sólo se ha llevado a cabo la especiación de 8 muestras de agua procedentes de un manantial localizado en el poblado del Pintado (Sevilla). Además se han analizado 16 muestras de aguas residuales tomadas de la ría de Huelva, 10 de las cuales se recogieron en periodo de marea alta y las 6 restantes en marea baja.

#### ***ZUMOS***

Se han analizado 23 muestras adquiridas en locales comerciales, entre las cuales se encuentran 10 muestras de zumo de naranja, 5 muestras de zumo de melocotón-uva, 4 muestras de zumo de piña y 4 muestras de piña-uva.

#### ***CERVEZA***

Se ha determinado el contenido de las distintas especies de As en un total de 21 muestras de cerveza, adquiridas en distintos locales de venta al público en

el área de Sevilla. De éstas, 11 tenían un contenido alcohólico etiquetado que oscila entre 4,7-5,5 % v/v, mientras que las 10 restantes tienen un contenido menor del 0,5 % v/v.

### **VINO**

Hemos estudiado 20 muestras de vinos blancos, de los que 10 son vinos de mesa y el resto vinos finos. Además se estudiaron 11 muestras de mosto de vino. No se llevó a cabo la especiación de vinos tintos por presentarse problemas por acumulación de antocianinas tanto en la resina catiónica como catiónica.

### **CALDOS**

Se ha determinado, además, el contenido de las diferentes especies de arsénico de 11 muestras de pastillas de caldo, entre ellas 4 de caldo de ave, 3 de caldo de carne, 3 de caldo de pescado y 1 de caldo vegetal.

En el caso de los caldos, previamente a la introducción de la muestra en la resina catiónica para su separación, se lleva a cabo la filtración de las mismas por papel Whatman nº1 y posteriormente se ajusta el pH de las mismas a las condiciones idóneas del método, pH= 4,6-4,7.

### **ORINA**

Asimismo, se determinan las especies arsenicales de 10 muestras de orina humana, procedentes de individuos sanos, no expuestos ocupacionalmente al elemento. Estas se recogen a primera hora de la mañana en envases estériles, y una vez en el laboratorio se acidifican ligeramente por adición de 250  $\mu$ L de HCl 1M y se procede a su congelación a - 30 ° hasta el momento de su análisis.

#### **16.1.2.- APARATOS:**

Además de los ya indicados en el apartado 15.1.2, se utilizaron:

- pHmetro Orion modelo SA 720.
- Columnas de vidrio de 35 x 2 cm y de 15 x 2 cm.

### **16.1.3.- REACTIVOS**

- Resina de intercambio aniónica Dowex 1X8 (100-200 mallas), Fluka (44335).
- Resina de intercambio catiónica Dowex 50WX8 (100-200 mallas), Fluka (44515).
- Disolución madre de arsénico (III) de 1000 mg/L. Se disuelven 1,3200 g de Trióxido de Arsénico (Merck, 119) en 25 ml de disolución de hidróxido potásico (Merck, 5033) al 20% (v/v). Se neutraliza con disolución de ácido sulfúrico al 20% (v/v) usando fenolftaleína como indicador. Se diluye a 1 litro con ácido sulfúrico al 1% (v/v).
- Pentóxido de Arsénico (Titrisol) Merck (9939), con un contenido en arsénico de 1.000 g + 0,002 g. Se diluye a 1 litro.
- Acido cacodílico 98 %, Aldrich (27, 183-7). Para preparar la disolución madre de 1000 mg/L de As, se disuelven 1,8775 g del producto en 1000 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 0,2 % v/v.
- Metilarsinato sódico puro, Carlo Erba (371205). Se prepara la disolución patrón de 1000 mg/L de As pesando 3,8943 g del producto y diluyendo a un litro con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 0,2 % v/v.
- Disolución de HCl (Merck) 0,2 M, 0,5 M y 1 M.
- Disolución de NaOH (Merck) 0,5 M.
- Disolución de KCl (Merck) 0,5 M.
- Ácido tricloroacético (TCA) 0,006 M.
- Agua tratada Milli-Q (Millipore-Corporation) a 18 MΩ cm<sup>-1</sup>.

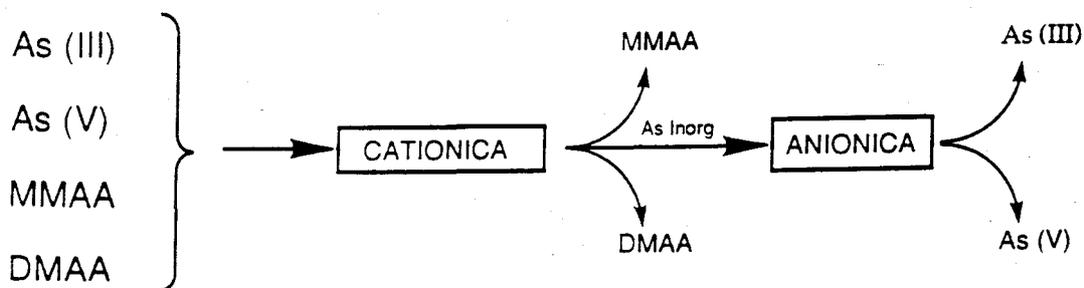
## 16.2.- MÉTODO

### 16.2.1.- FUNDAMENTO

El método propuesto por nosotros es intermedio entre el método de Grabinski (1981), modificado por Aguilar y cols. (1987), y el método de Buratti y cols. (1984).

Las distintas especies del elemento As(III), As(V), MMAA y DMAA se separan en función de sus diferentes afinidades por resinas de cromatografía de intercambio iónico (IEC). La separación de las fracciones de arsénico inorgánico, MMAA y DMAA se realiza a través de una resina catiónica Dowex 50W-X8 (forma protonada, fuertemente ácida, con grupos sulfónicos, R-SO<sub>3</sub><sup>-</sup>). Posteriormente, las especies inorgánicas se separan gracias a una resina aniónica Dowex 1-X8 fuertemente básica (forma Cl<sup>-</sup>, cuyo grupo activo es trimetilbenzilamonio).

El esquema general del proceso de separación es el siguiente:



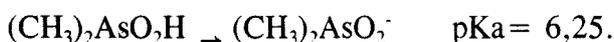
Las razones que justifican el diferente comportamiento de las especies con respecto a las resinas son:

#### - Las constantes de acidez:

Según el pH del eluyente en cuestión, las diferentes especies arsenicales se pueden encontrar en forma neutra (libre) o ionizada (unida a la resina).

A continuación se exponen las constantes de disociación de las distintas

especies de As:



**- Formación de aductos:**

El ácido DMAA, que en medio ácido ( $\text{pH} < 6,25$ ) se encuentra como especie neutra, sin embargo no se recoge en el eluido de la resina catiónica. Parece ser que existen interacciones significativas de esta especie con la matriz orgánica de la resina (Nixon y Moyer, 1992), como la formación de aductos con los grupos  $\text{R-SO}_3^-$ , siendo necesario para liberarlo el empleo de una base como eluyente.

**- Impedimento estérico:**

Cuando el medio tiene un valor de pH inferior a 2,2, tanto las especies inorgánicas, As(III) y As(V), como el MMAA se encuentran en su formas neutras, y por tanto presentes el en eluido. Sin embargo, estas especies no tienen por qué recogerse todas juntas, sino que pueden separarse por el hecho de que para la elución de MMAA, al ser una molécula de mayor tamaño que los ácidos arseniosos y arsénico, es necesario un volumen mayor del eluyente.

Una vez llevado a cabo el proceso de separación, el As de cada fracción eluida se mide directamente por AAS, tras la reducción de cada especie a arsina. El As inorgánico se mide frente a As(III) por los motivos expuestos anteriormente.

Diferentes autores miden MMAA y DMAA por AAS tras su reducción a As(III), puesto que al igual que ocurre con As(V) las señales de absorbancia obtenidas no son equivalentes (Webb y Carter, 1984).

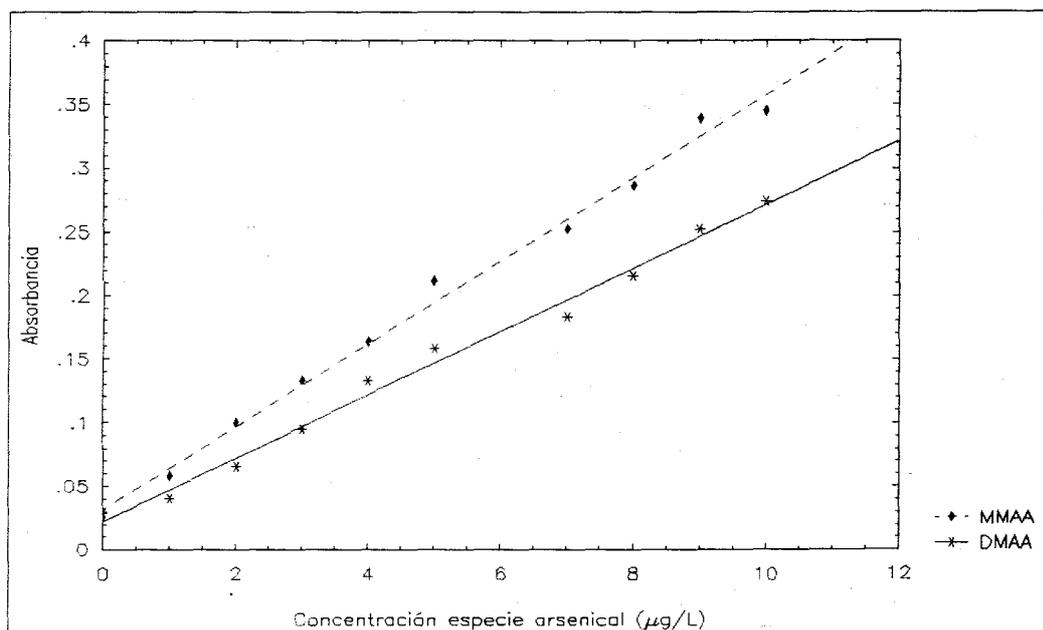
### *Estimación toxicológica del As y sus especies*

Experimentalmente, se determinan las rectas de calibrado de MMAA y DMAA, a partir de disoluciones patrón de concentraciones comprendidas entre 1-10  $\mu\text{g/L}$  de cada especie (Figura 15), realizándose las medidas por triplicado.

Se comprueba la linealidad del método para ambas especies, siendo éste más sensible para MMAA que para DMAA.

Por lo tanto, As(V), MMAA y DMAA se medirán frente a sus patrones respectivos, pues así las medidas son más exactas y precisas, aunque el método sea más laborioso. De todas formas, se puede reducir notablemente el tiempo de análisis ya que no es preciso esperar los 30 minutos necesarios para que se lleve a cabo la reducción completa a As(III).

Las curvas de calibrado externo se prepararon diariamente y sus puntos correspondían a la media de dos determinaciones.



**Figura 15.- Rectas de calibrado de MMAA y DMAA.**

## **16.2.2. PUESTA A PUNTO DEL MÉTODO.**

### **16.2.2.1. PREPARACIÓN DE LAS COLUMNAS.**

Se disponen las resinas catiónica y aniónica en distintas columnas de vidrio, para un mejor manejo de las mismas. Teniendo en cuenta el diámetro interno de las columnas (1,7 cm) se empaqueta la columna de mayor tamaño con resina catiónica Dowex 50WX8 hasta unos 9 cm (unos 12 gramos de resina aproximadamente) y la columna más pequeña con resina aniónica Dowex 1X8 hasta unos 3,5 cm (6 gramos de resina aproximadamente).

Por la posible presencia de impurezas y de grupos extraños en las resinas comerciales, se lavan abundantemente las mismas con agua desionizada Milli-Q. El acondicionamiento depende de la naturaleza de la resina. La resina catiónica se trata alternativamente con una disolución de HCl 0,5 M y de NaOH de la misma concentración, a un flujo de 5-10 mL/min. La resina aniónica se acondiciona con KCl 0,5 M y ácido tricloroacético 0,006 M.

Las soluciones utilizadas para el acondicionamiento de las resinas han sido igualmente empleadas para su regeneración.

### **16.2.2.2. OBTENCIÓN DE PERFILES CROMATOGRÁFICOS.**

Se ha optimizado el proceso de separación de las especies de arsénico en función de la naturaleza y composición de los eluyentes, cantidad de resina empleada, volumen de muestra, y velocidad de flujo de los eluyentes.

#### **- Naturaleza y composición de los eluyentes**

Para la separación de **Arsénico inorgánico**:

Tras consultar la bibliografía, se evalúa la eficacia de HCl 0,5 M a un flujo de 2 mL/minuto, como agente eluyente. El reactivo es asequible en cualquier laboratorio y muy adecuado para la propia regeneración del sistema.

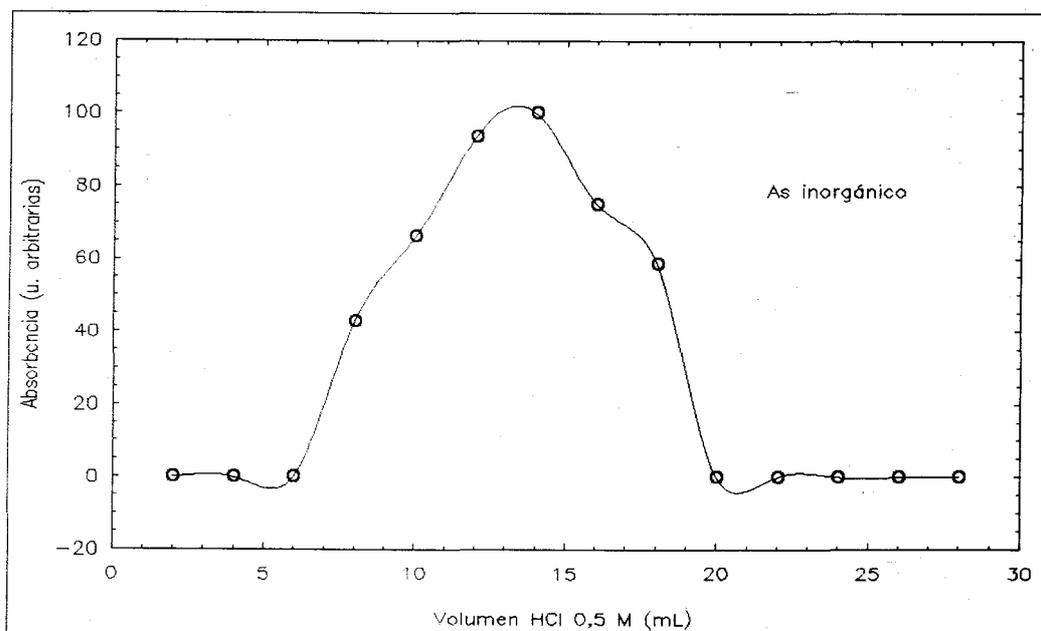
### *Estimación toxicológica del As y sus especies*

Se toman 2 mL de una disolución patrón de 12  $\mu\text{g/L}$  de As(III) y As(V), de pH comprendido entre 2,5-7,0 y se dejan pasar a través de la resina catiónica. Para la obtención del perfil de elución se pasan 40-50 mL del eluyente, y se van coleccionando alicuotas de 2 mL del mismo, que posteriormente se miden por AAS, sistema de hidruros.

Ya que la respuesta de las dos especies inorgánicas no es equivalente, se añade 1 mL de KI 10% en los tubos de reacción de polietileno del sistema de hidruros, para la reducción del As(V) a As(III).

En la Figura 16 se registra el perfil cromatográfico obtenido para las especies de As(III) y As(V). Se puede observar que con 20 mL de HCl 0,5 M, hay total seguridad de que todo el As inorgánico se ha eluído de la columna.

Las recuperaciones de las dos especies en estas disoluciones patrones de especies aisladas, y de mezclas sintéticas posteriormente, se calculan por balance de materia, comparando las absorbancias de las alicuotas con las de disoluciones patrones (2 mL) en las que se omite el proceso cromatográfico.



**Figura 16.- Perfil cromatográfico para el As inorgánico (HCL 0,5 M).**

Posteriormente, para comprobar la repetitividad del perfil obtenido, se pasan por triplicado 2 mL de disolución patrón de 12  $\mu\text{g/L}$  de las dos especies (48 ng de As total), y se recogen 22 mL totales de eluyente, comprobándose que la recuperación de As inorgánico oscila entre 97-112 %.

#### Para la elución del **Ácido monometilarsónico**:

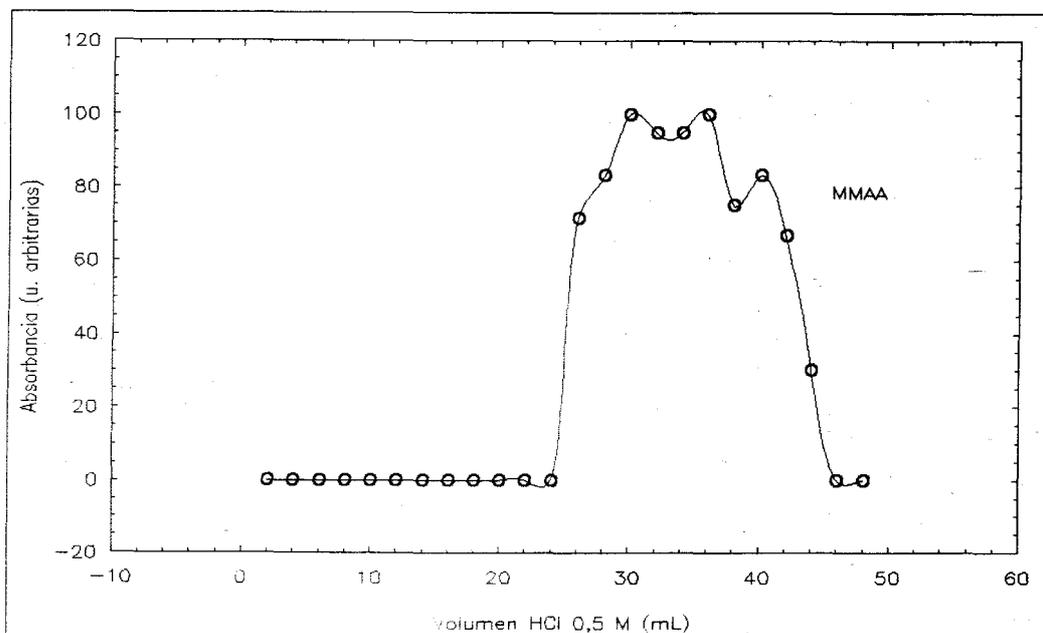
Se ha estudiado el perfil cromatográfico con dos posibles eluyentes, HCl 0,5 M y agua Milli-Q. De forma similar al proceso anterior, se toman 2 alícuotas de 2 mL de una disolución patrón acuosa de 12  $\mu\text{g/L}$  de MMAA (24 ng de As), y se pasan por las columnas que contienen resina catiónica. Seguidamente se eluye con 22 ml de HCl 0,5 M (necesarios para la elución de la fracción de As inorgánico), y más tarde con 30 mL de HCl 0,5 M en una caso y de agua milli-Q en el otro, a un flujo de 2 mL/minuto.

Se coleccionan alícuotas de 2 mL de cada eluyente a la salida de las columnas, y se registra la absorbancia de cada una de ellas frente a disoluciones patrones de MMAA en las que se omite la separación cromatográfica.

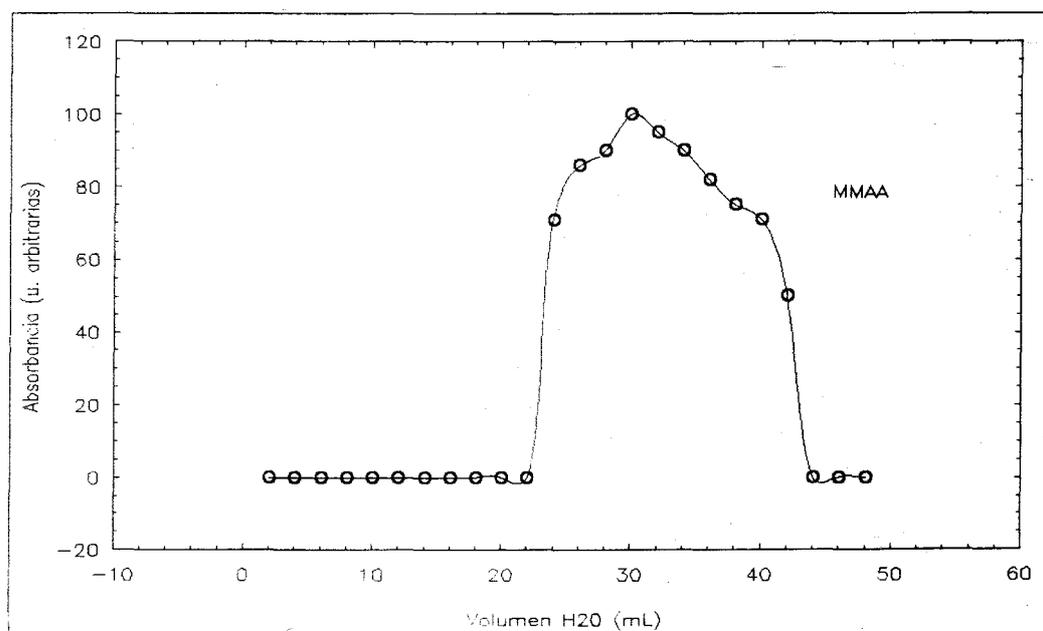
Al observar los perfiles cromatográficos de MMAA obtenidos con ambos eluyentes, Figuras 17 y 18, se elige la utilización de H<sub>2</sub>O Milli-Q, puesto que la señal producida es mayor, tarda menos en salir dicha especie, y con 24 mL se obtiene una recuperación del 95%. Contrastando con esto, el empleo de HCl 0,5 M trae consigo un retraso en el pico, y una disminución de la recuperación (84 %).

#### **Ácido dimetilarsínico**:

Para eluir el DMAA, que se encuentra fuertemente retenido en la resina catiónica, la mayoría de los estudios consultados emplean NH<sub>4</sub>OH 1,5 M o al 20 % v/v, que si bien no presenta problemas cuando la medida final se hace por GF-AAS (Grabinski, 1981), en el caso de la determinación por HG-AAS



**Figura 17.- Perfil cromatográfico para el MMAA (HCl 0,5 M).**



**Figura 18.- Perfil cromatográfico para el MMAA (H<sub>2</sub>O).**

es necesario calentar la fracción amoniaca a 90°C para su eliminación, y la posterior redisolución del residuo en tampón acetato pH=4, pues da lugar a interferencias en el sistema de detección por formación de NH<sub>3</sub> (Aguilar y cols. 1987; Buratti y cols. 1984).

Se toman diferentes alícuotas de 2 mL de 12 µg/L (24 ng) de DMAA, y tras haber limpiado la resina con 22 mL de HCL 0,5 M y 24 mL de H<sub>2</sub>O Milli-Q se eluye con 20, 30, 40, 70, y 85 mL de NH<sub>4</sub>OH al 20 % v/v. Una vez llevada a sequedad cada muestra eluída, y disuelto el residuo en tampón acetato, se registran sus absorbancias, a la vez que la absorbancia de una solución blanco de NH<sub>4</sub>OH pasada por la resina y sometida también al proceso de calentamiento.

Para el cálculo de las recuperaciones, se emplea una recta de calibrado de diferentes patrones de DMAA en solución acetato pH = 4. Las recuperaciones obtenidas con este eluyente fueron:

- 20 mL: 0 %
- 30 mL: 0 %
- 40 mL: 0 %
- 70 mL: 71 %
- 85 mL: 86 %

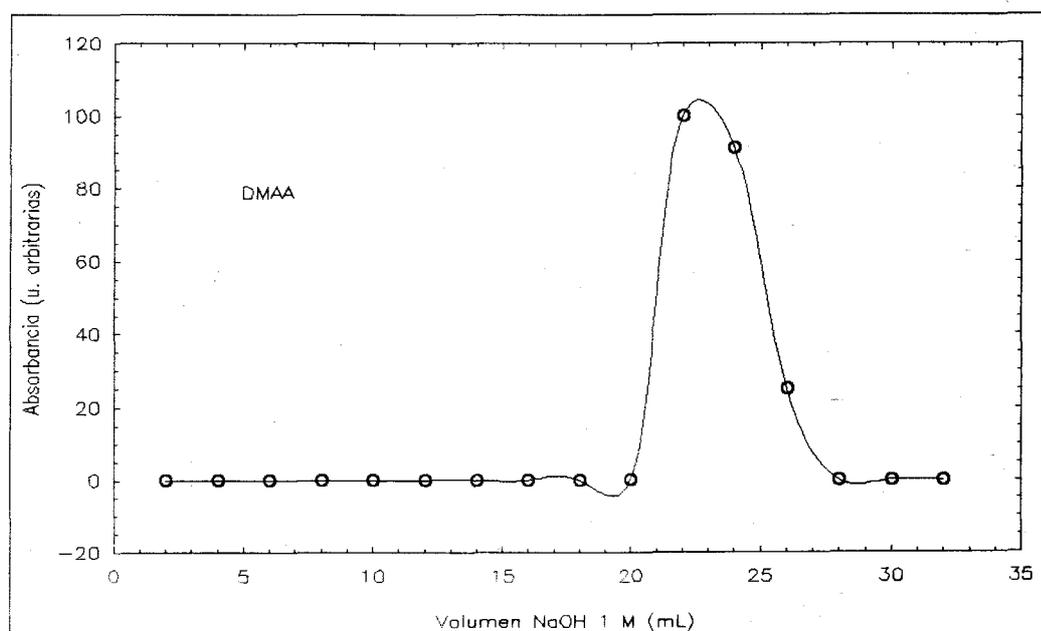
Experimentalmente encontramos una serie de inconvenientes en el uso de NH<sub>4</sub>OH como eluyente:

- el proceso de llevar a sequedad la fracción eluida es tedioso, y no reproducible. Cualquier traza del eluyente, da señales anómalas.
- el manejo de disoluciones concentradas de NH<sub>4</sub>OH (20 % v/v) es desagradable e incómodo.

Por ello, se sustituyó por NaOH 1 M, eluyente utilizado por Henry y Thorpe (1980). De forma similar, tomamos 2 mL de patrón de 12 µg/L de DMAA,

eluímos con HCl 0,5 M (22 mL), H<sub>2</sub>O Milli-Q (24 mL) y por último con 90 mL de NaOH 1 M, recogiendo esta fracción en forma de alícuotas de 5 mL. Se registraron las señales de absorbancia de las diferentes alícuotas, previa neutralización de cada una de ellas con 0,5 mL de HCl concentrado, pues es necesario un medio ácido para la formación de la arsina correspondiente.

En la Figura 19 se registra el perfil cromatográfico obtenido para DMAA utilizando NaOH como eluyente:



**Figura 19.- Perfil cromatográfico para el DMAA (NaOH 1 M).**

Se puede observar que en los primeros 20 mL aún no aparece el compuesto, pudiendo ser desechado este volumen. Sin embargo se ha producido un aumento en el pH en la columna (lo cual se observa a simple vista por un cambio de color en la resina, que pasa de un naranja claro a un naranja más intenso), que permite que el DMAA se encuentre libre y sea eluido en los 30 mL siguientes.

La recuperación media de la especie DMAA obtenida tras análisis por quintuplicado de la elución de una disolución de 12  $\mu\text{g/L}$  de dicha especie fue del

92%. El coeficiente de variación obtenido en estas condiciones fué del 4,2%.

Proponemos por tanto como disolución eluyente de DMAA, NaOH 1 M, por motivos de:

- sencillez del método, que supone la eliminación de la fase de evaporación.
- aumento de la recuperación.
- mayor reproducibilidad.

#### Separación de As(III) y As(V):

La fracción de 22 mL de HCl 0,5 M procedente de la resina catiónica que contiene las especies de As inorgánico, As(III) y As(V), se pasa por la columna empaquetada con la resina aniónica Dowex 1X8. Previamente se ajusta el pH de esta primera fracción a un valor aproximado de 5,2, valor que se encuentra dentro del margen de estabilidad de la columna.

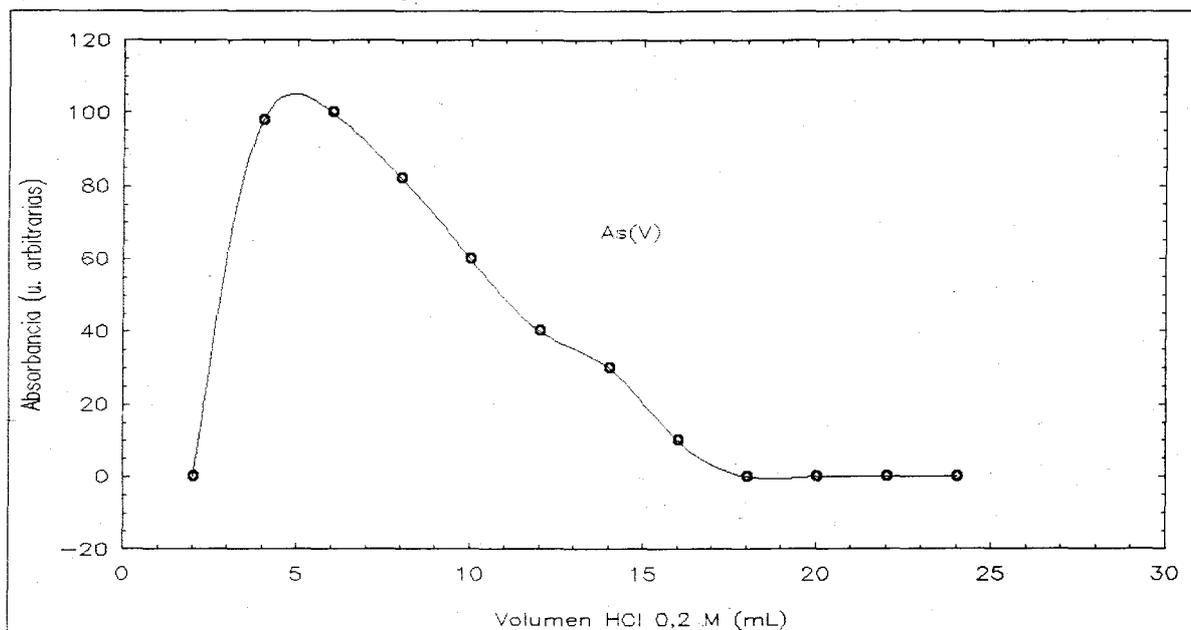
Se determina el contenido de arsénico total del eluido obtenido al pasar la fracción que contenía el arsénico inorgánico, comprobándose, al dar una señal de absorbancia totalmente similar al de una disolución de 12  $\mu\text{g/L}$  de As(III) sin especiar por la columna, que el arsénico trivalente no quedaba retenido en la resina, pasando directamente con la muestra.

Sin embargo, el As(V) queda retenido en la resina siendo necesaria su elución con disolventes. Tras probar posibles eluyentes, ácido tricloroacético 0,006 M, ácido tricloroacético 0,2 M, HCl 0,5 M y HCl 0,2 M, elegimos éste último por motivos de estabilidad de la resina.

Para la obtención del perfil de elución de As(V), se pasan 30-40 mL de HCl 0,2 M a un flujo de 2 mL/minuto, y vamos coleccionando alícuotas de 2 mL del mismo, que posteriormente medimos según el procedimiento general por HG-EAA, registrando la señal de Absorbancia frente al volumen.

### *Estimación toxicológica del As y sus especies*

En la Figura 20 se expone el perfil cromatográfico obtenido, observándose claramente la aparición de un único pico. La especie eluída es As(V), siendo necesarios 16 mL de HCl 0,2 M para una recuperación cuantitativa de la misma.



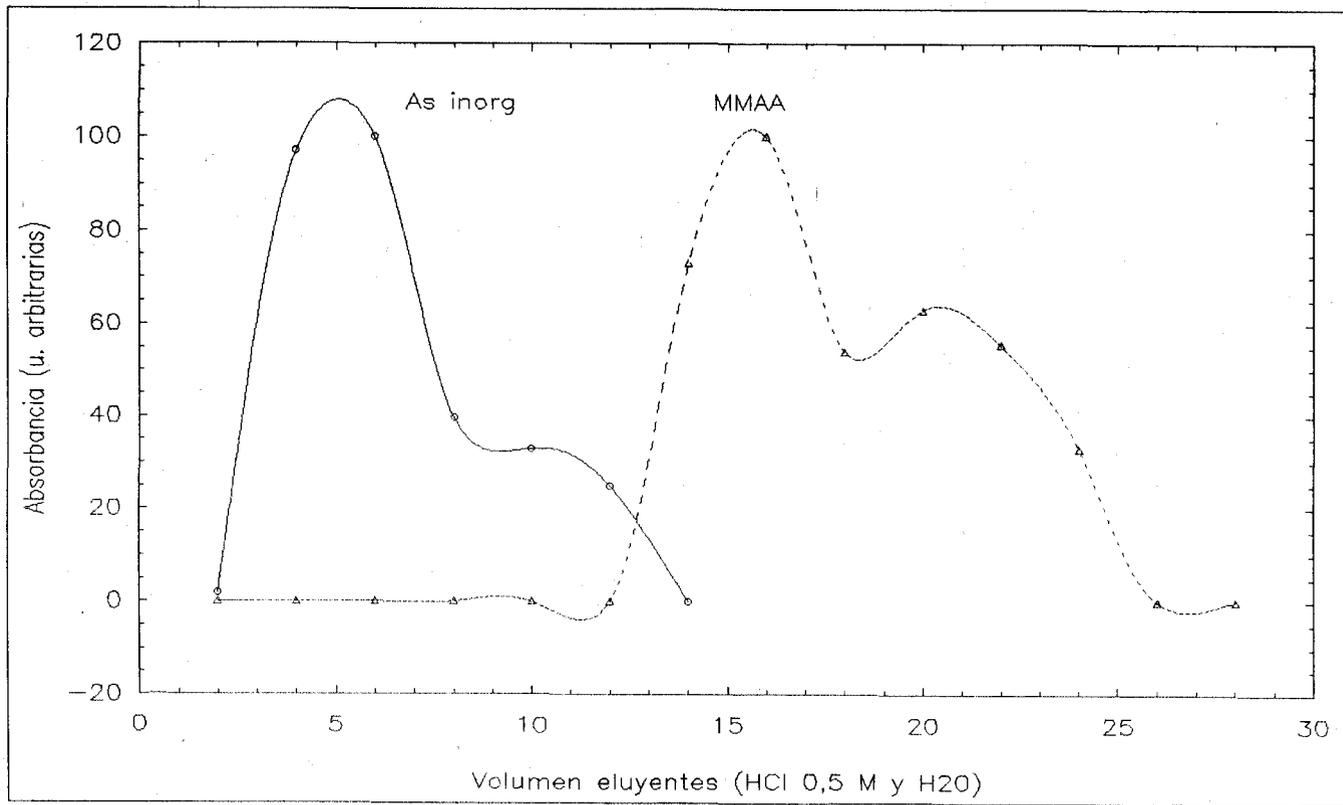
**Figura 20.- Perfil cromatográfico para el As(V) (HCl 0,2 M).**

#### **- Influencia cantidad de resina catiónica empleada**

Dado los volúmenes elevados de algunos eluyentes (85 mL de NaOH 0,5 M) decidimos intentar la separación de las especies de As empleando menor cantidad de resina, concretamente 6 gramos de resina catiónica.

Los perfiles cromatográficos, obtenidos con ésta cantidad de resina, para cada especie se recogen en la Figura 21.

Se observa que la disminución de la cantidad de resina catiónica trae consigo un solapamiento de los picos de As inorgánico y MMAA.



**Figura 21.- Perfiles cromatográficos para As inorgánico y MMAA (6 g de resina).**

Las recuperaciones obtenidas con los volúmenes óptimos de cada eluyente son:

- As inorgánico: 12 mL de HCl 0,5 M, recuperación 73-85 %.
- MMAA: 14 mL de H<sub>2</sub>O, recuperación 66-85 %
- DMAA: 60 mL de NaOH 1 M, recuperación 71-75 %.

Se produce además una disminución de las recuperaciones de todas la especies al disminuir la cantidad de resina. En el caso de MMAA como hemos comentado, la separación no es completa y pequeñas variaciones en el flujo de elución, etc. hacen que el proceso no sea tan reproducible.

#### **- Influencia del volumen de muestra**

Para estudiar la influencia del volumen de muestra pasada a través de la resina catiónica sobre el proceso de separación, se emplean 50 mL de disoluciones patrones acuosas que contienen las 4 especies, cuyas concentraciones son de: 0,3, 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 3,0, 4,0, y 5,0 µg/L.

Las conclusiones son las siguientes:

- El perfil de elución de As inorgánico es dependiente del volumen de muestra. Sólo se retiene en la resina el 50 % de las especies, aproximadamente. Al registrar las absorbancias de los diferentes patrones eluidos, se obtiene la siguiente curva de calibrado:  $y = 0,058 + 0,035 x$ , con un coeficiente de regresión de 0,991.

- Asimismo el perfil de elución de MMAA es dependiente del volumen de muestra, pues se observa que de forma aleatoria sale conjuntamente con As inorgánico.

- DMAA al quedar más fuertemente retenido en la columna, es la especie menos dependiente del volumen de muestra. Se obtiene la siguiente curva de calibrado:  $y = 0,035 + 0,061 x$ , con un coeficiente de regresión de 0,991.

Adicionalmente, se realizó un último estudio empleando 4 mL de disoluciones acuosas patrones de concentraciones 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 3,0, 4,0, y 6,0  $\mu\text{g/L}$  de cada especie de As. Se observaron altos rendimientos de As inorgánico (incluso del 150 %) y bajos rendimientos en MMAA debido a problemas de solapamiento de estas especies.

De hecho, investigamos de nuevo el cromatograma obtenido con 4 mL de una solución patrón que contenía sólo As inorgánico, y con 4 mL que contenía sólo la especie MMAA, existiendo en la alícuota de 14-16 mL solapamiento de ambas especies.

De nuevo, incluso un aumento tan sólo de 2 mL de muestra, es suficiente para producir cambios en las eluciones de estas especies, requiriéndose en todo caso, el empleo de mayor cantidad de resina que permita un proceso separativo más lento, más eficaz.

En la Figura 22 se resumen los perfiles cromatográficos de las especies arsenicales separados a través de la resina catiónica, con los eluyentes elegidos.

### **16.2.3. PROCEDIMIENTO**

A la vista de los resultados obtenidos, se propone el siguiente procedimiento:

En el caso de muestras con mayores contenido de As, se pasan por triplicado 2 mL de muestra (pH 2,5-7,0) a través de la resina catiónica. La columna se eluye con 22 mL de HCl 0,5 M (Fracción I: As inorgánico), seguido de 24 mL de H<sub>2</sub>O Milli-Q (Fracción II: MMAA). En ambos casos la velocidad de flujo es de 2 mL/minuto. Posteriormente, se pasan 80 mL de NaOH 1 M, a un flujo de 3-5 mL/minuto, desechándose los primeros 50 mL y recogiendo los 30 mL restantes (Fracción III: DMAA) (Figura 23).

En el caso de muestras con bajas concentraciones de arsénico total, para la determinación de DMAA se someten al proceso de separación volúmenes superiores

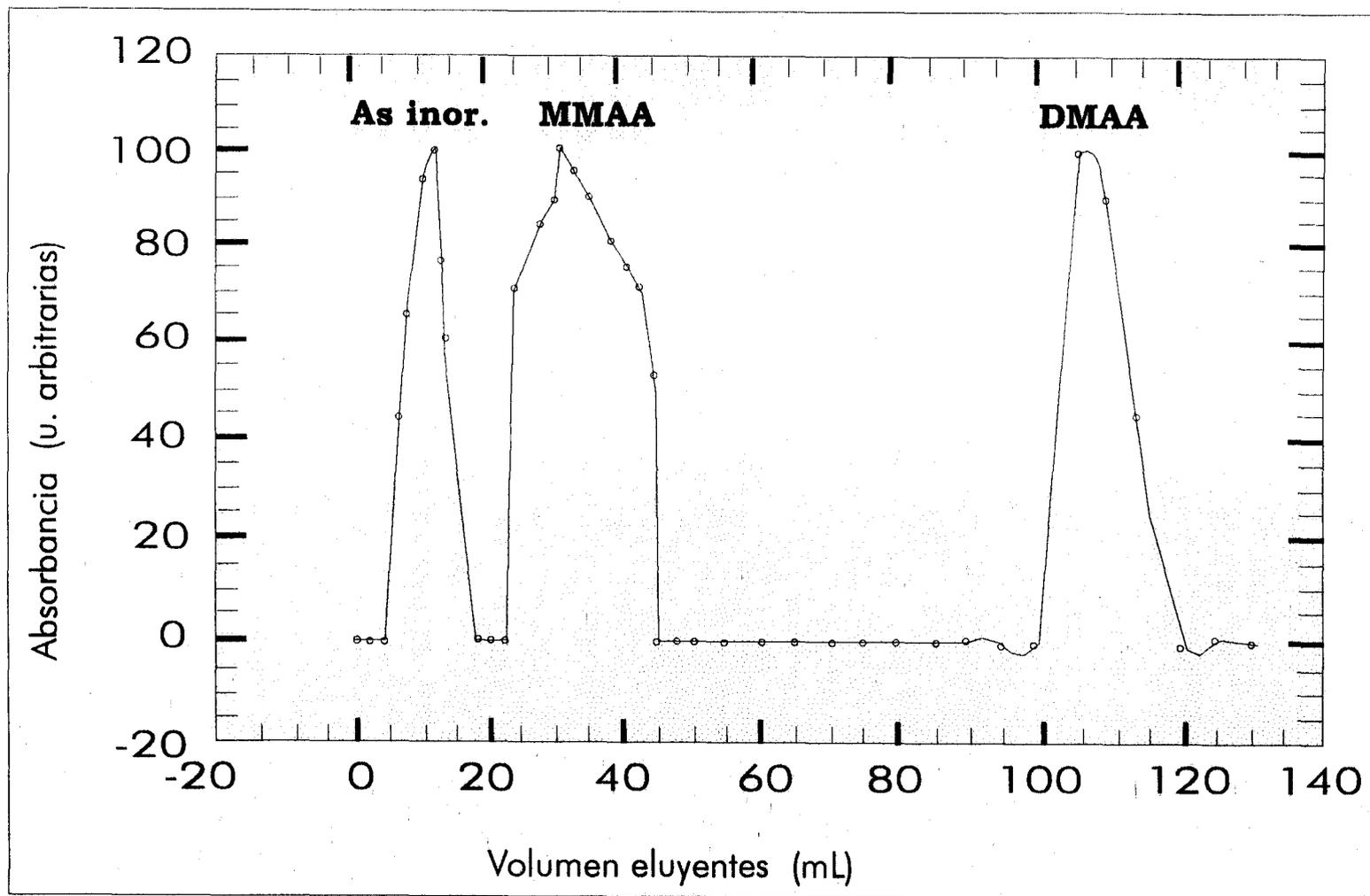
de muestra, entre 10-25 mL (Figura 24).

Las fracciones recogidas se analizan por EAA sistema de hidruros, frente a patrones de As(III), MMAA y DMAA.

La fracción I que contiene el As inorgánico se utiliza para la separación de As(III) y As(V) mediante intercambio aniónico fuerte. El As(III) no queda retenido en la resina, y el As(V) se eluye con 16 mL de HCl 0,2 M el As(V) (Figura 25).

Las fracciones eluidas I, II y III se determinan por HG-AAS, cuantificando frente a disoluciones patrón de As(III), MMAA y DMAA.

**FIGURA 22.-** Perfiles cromatográficos de As inorgánico, MMAA y DMAA



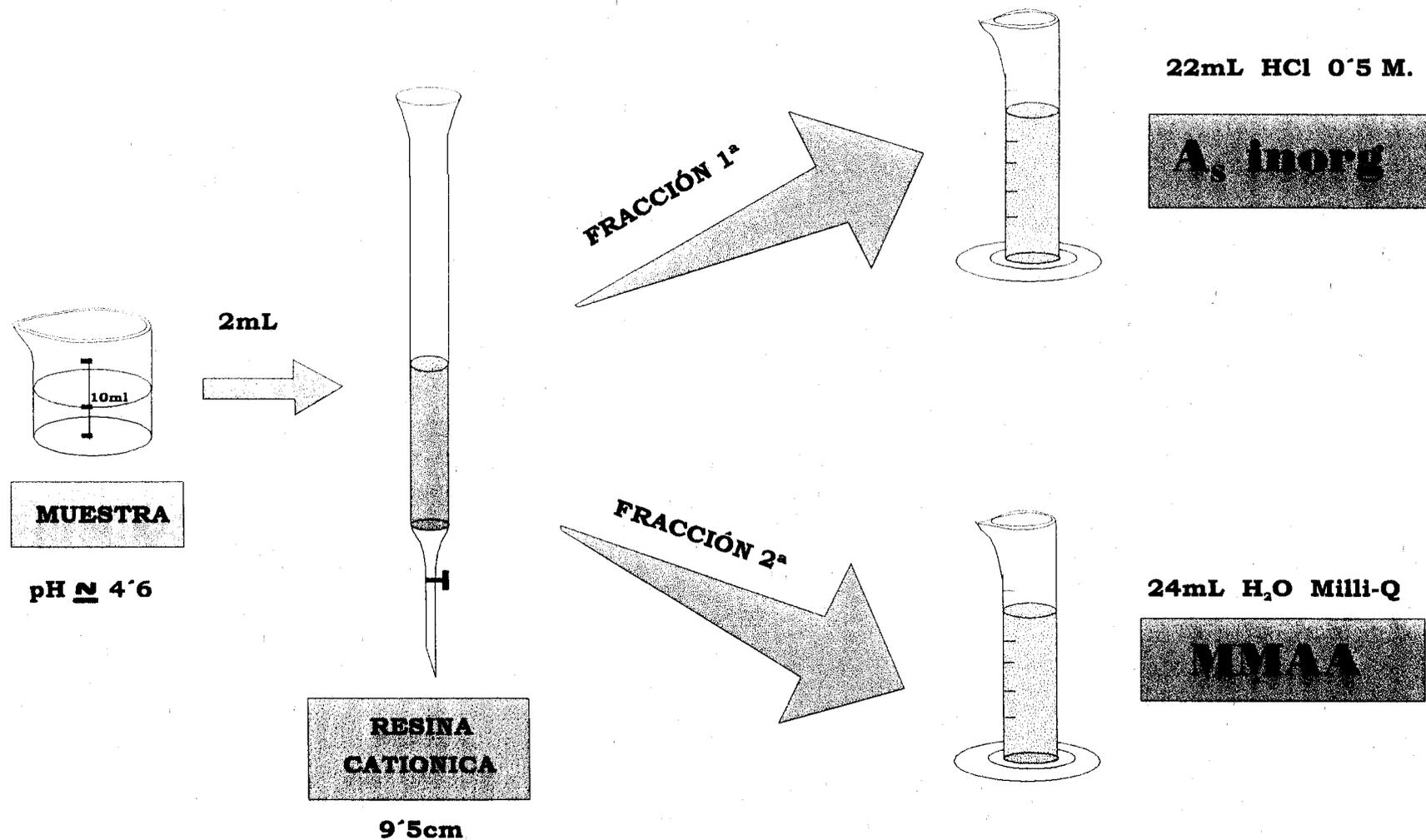
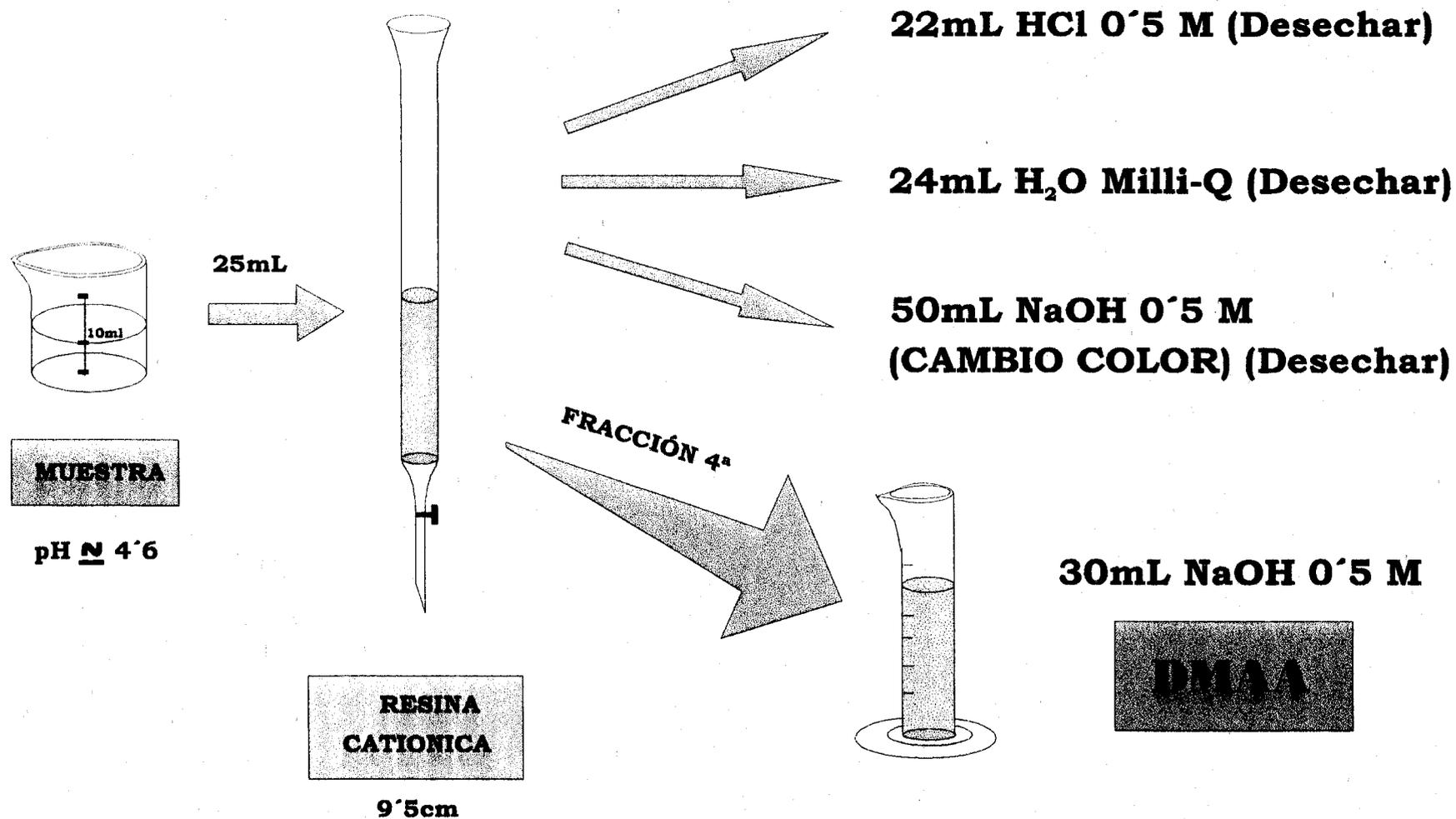


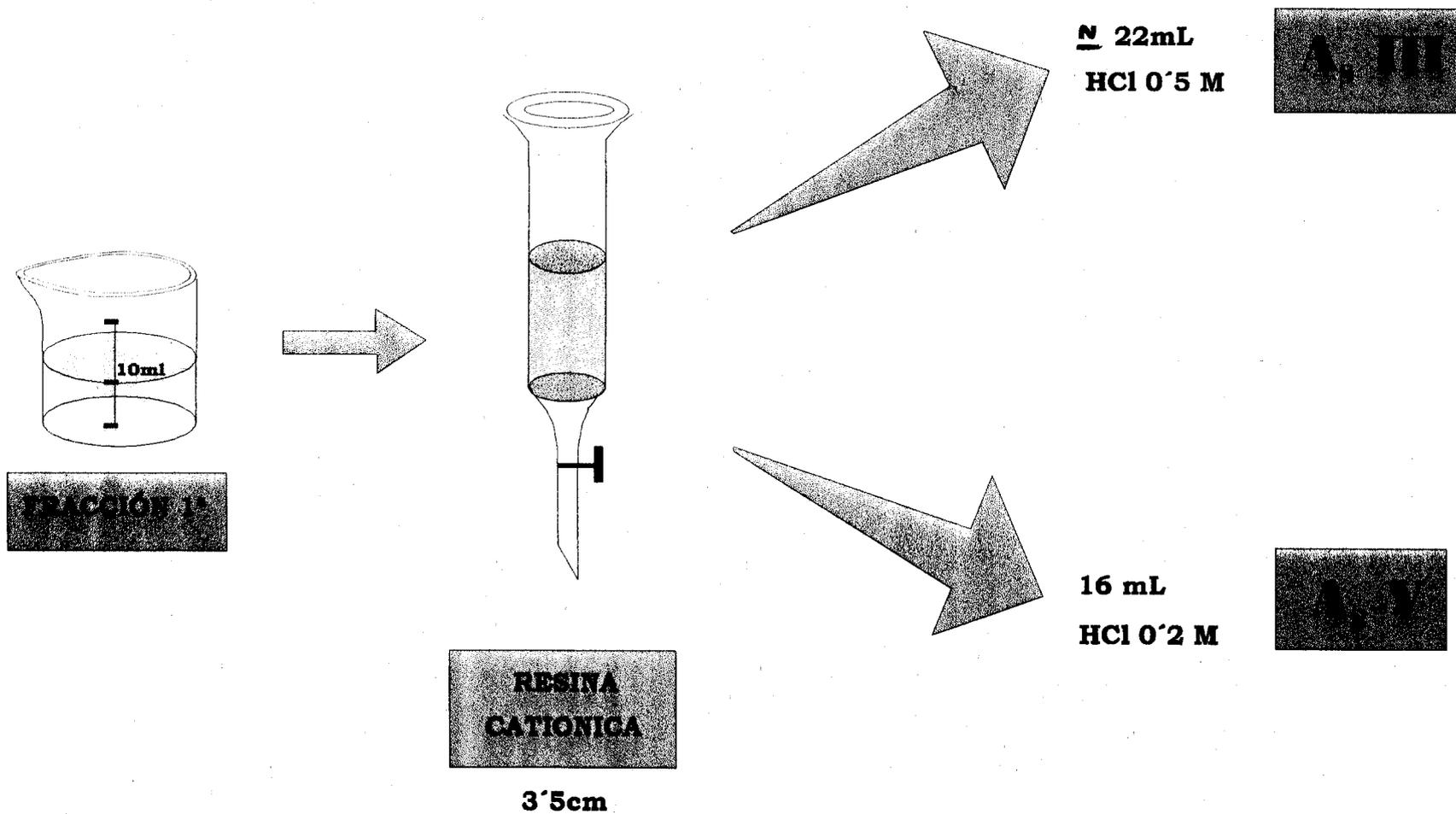
FIGURA 23.-

SEPARACIÓN ESPECIES ARSENICALES (I)



**FIGURA 24.-**

**SEPARACIÓN ESPECIES ARSENICALES (II)**



**FIGURA 25.- SEPARACIÓN ESPECIES As INORGANICO**

#### 16.2.4. CALIBRACION GENERAL DEL METODO

##### - Linealidad de la respuesta

Para optimizar el procedimiento de calibración, teniendo en cuenta las etapas de separación de las cuatro especies por ambas resinas, se preparan por triplicado disoluciones patrones (pH 4,5-4,7) de As inorgánico y MMAA a diferentes concentraciones: 2, 4, 8, 12, 16, 20, 24 y 30  $\mu\text{g/L}$ .

Se toman 2 mL de cada una de estas disoluciones a las que se aplica el procedimiento general de especiación, de acuerdo con los perfiles cromatográficos, y se compara la absorbancia obtenida para cada especie con la de disoluciones en las que se omite el procedimiento cromatográfico.

Para la calibración de la especie DMAA hemos empleado volúmenes de 25 mL de disoluciones patrones de concentraciones: 0,6, 1,0, 3,0, 5,0, 7,0, 9,0 y 12,0  $\mu\text{g/L}$ .

En las Figuras 26, 27 y 28 se exponen los resultados obtenidos, observándose en todos los casos un comportamiento lineal de la absorbancia frente a la concentración de cada especie del elemento.

Las ecuaciones de las diferentes rectas de regresión obtenidas a partir de las disoluciones patrones sin especiar (a), y habiendo sido sometidas al proceso cromatográfico (b) son las siguientes:

##### As inorgánico

$$- (a): Y = 0,0038 X + 0,041 \quad r = 0,996$$

$$- (b): Y = 0,0037 X + 0,037 \quad r = 0,992$$

##### MMAA

$$- (a): Y = 0,0024 X + 0,017 \quad r = 0,995$$

$$- (b): Y = 0,0020 X + 0,022 \quad r = 0,991$$

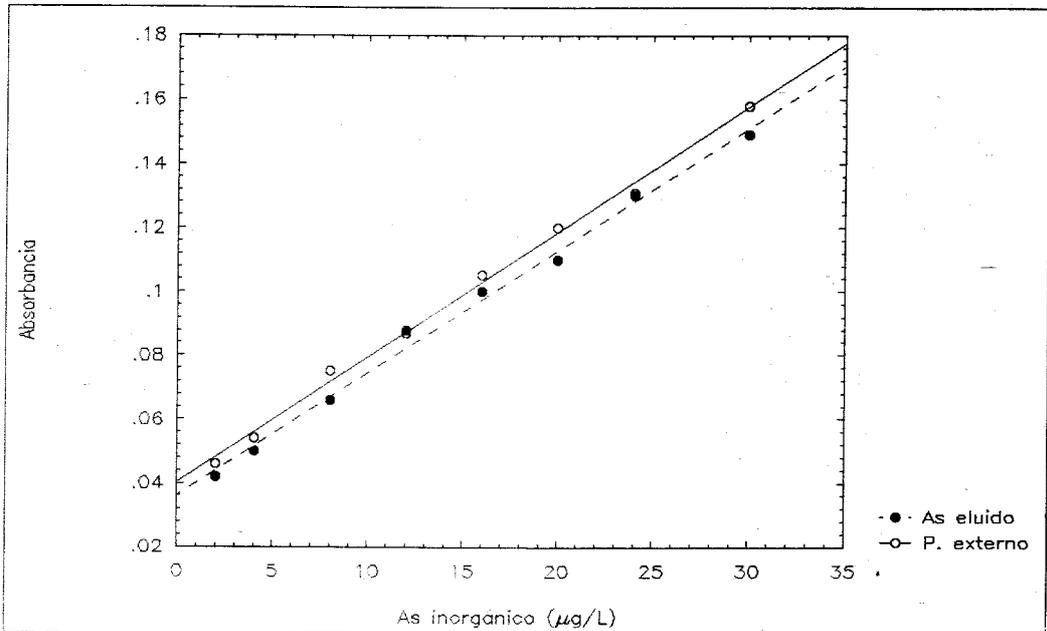


Figura 26.- Rectas de calibrado para As inorgánico.

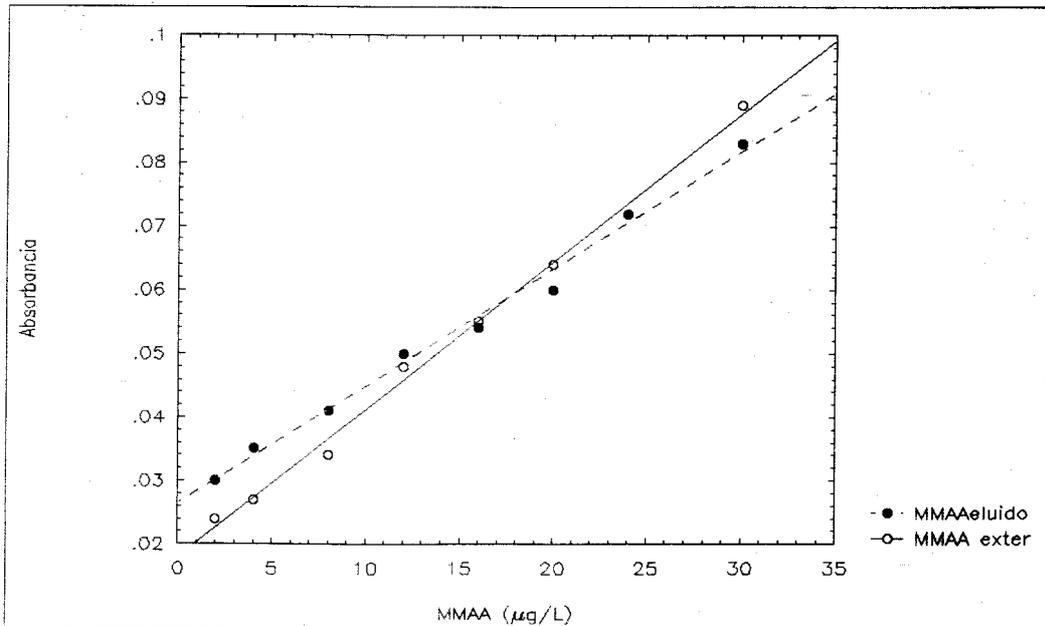


Figura 27.- Rectas de calibrado para MMAA.

DMAA

- (a):  $Y = 0,0084 X + 0,039$      $r = 0,998$

- (b):  $Y = 0,0078 X + 0,045$      $r = 0,998$

De igual forma, para ver la linealidad del método de separación de As(III) y As(V), empleamos disoluciones patrones de ambas especies de concentraciones entre 2 y 30  $\mu\text{g/L}$  en 22 mL de HCl 0,5 M, con un pH ajustado de 5,3-5,5, que se hacen pasar por la resina aniónica. Se representa la señal obtenida para cada especie frente a concentración, haciendo lo mismo a partir de disoluciones patrones en las que se omite el proceso cromatográfico (Figuras 29 y 30)

Se obtienen las siguientes rectas de calibrado:

As (III)

- (a):  $Y = 0,0019 X + 0,041$      $r = 0,990$

- (b):  $Y = 0,0022 X + 0,029$      $r = 0,996$

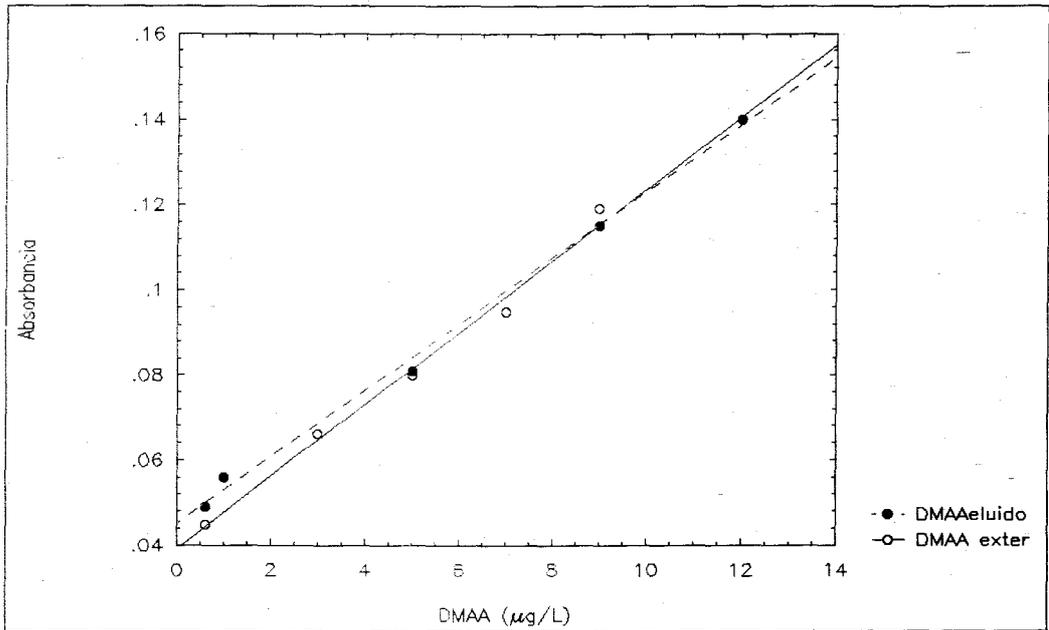
As (V)

- (a):  $Y = 0,0028 X + 0,015$      $r = 0,996$

- (b):  $Y = 0,0023 X + 0,027$      $r = 0,993$

**- Validación de la recuperación del método**

Para determinar la recuperación absoluta de las diferentes especies en el rango de concentraciones esperado en muestras ambientales, se ha empleado el método de Peng y cols. (1990). Consiste en calcular el cociente de la pendiente de la recta de calibrado externo y la correspondiente a los patrones de las diferentes especies eluidas por el procedimiento descrito.



**Figura 28.- Rectas de calibrado para DMAA.**

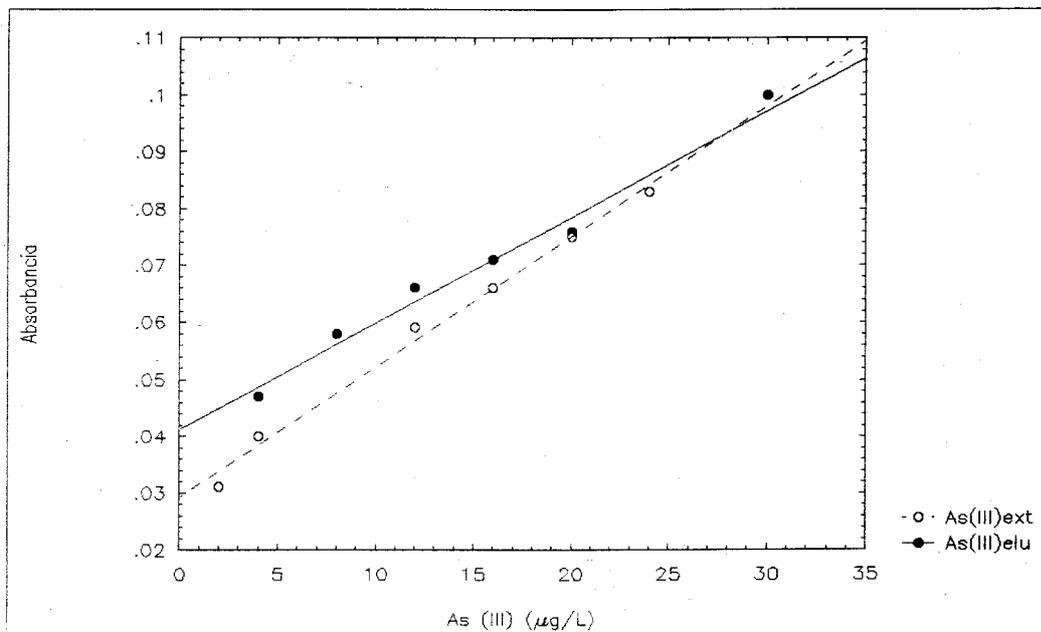


Figura 29.- Rectas de calibrado para As(III).

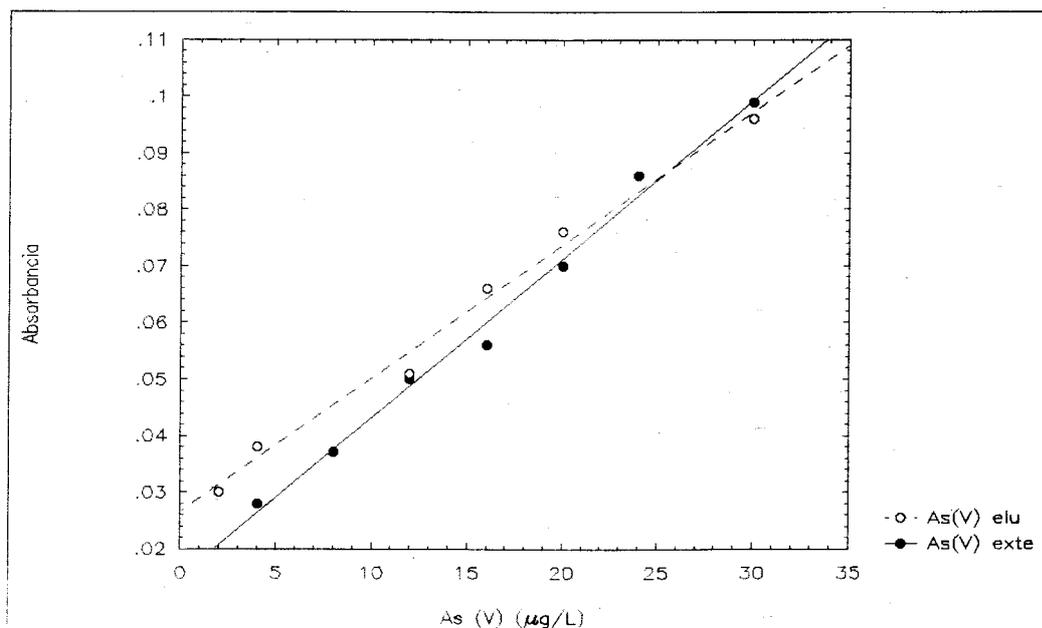


Figura 30.- Rectas de calibrado para As(V).

De acuerdo con esto, las recuperaciones globales de cada especie, en el rango de concentraciones estudiado, son las siguientes:

- As inorgánico: 99,5 %
- As (III): 110,0 %
- As (V): 82,5 %
- MMAA: 86,0 %
- DMAA: 92,5 %

En todos los casos las recuperaciones exceden el valor mínimo establecido del 75 % para la validación de un método.

Podemos observar que los cocientes de ambos gráficos están próximos a la unidad, por lo que no existen diferencias significativas entre ambos tipos de representaciones y que en posteriores determinaciones, la simple interpolación en la calibración externa convencional puede ser suficiente para obtener estimaciones exactas y seguras de las especies.

#### **- Sensibilidad**

De acuerdo con la definición clásica de sensibilidad, que tiene en cuenta la pendiente de la recta de regresión, el método global propuesto es más sensible para As inorgánico. Para cada una de las restantes especies, la sensibilidad del método es similar.

#### **- Límites de detección**

Los LOD en unidades de concentración ( $\mu\text{g/L}$ ) para cada especie son los siguientes:

- As inorgánico: 0,6
- As (III): 2,1
- As (V): 3,7
- MMAA: 2,0
- DMAA: 0,7

Los límites de detección obtenidos para de las cuatro especies son similares a los reportados por otros autores que emplean técnicas acopladas, mucho más rápidas y precisas, pero menos asequibles y disponibles para un laboratorio medio.

- **Precisión**

La repetitividad se evalúa por análisis por quintuplicado de una muestra real de agua de la red adicionada con 12  $\mu\text{g/L}$  de cada especie en el mismo día. La Tabla 22 muestra los resultados obtenidos.

Los coeficientes de variación oscilan entre 5,2% para MMAA y 13 % para DMAA.

La reproducibilidad se determinó por análisis por quintuplicado de la misma muestra, adicionada con 12  $\mu\text{g/L}$  de cada especie, pero en tres días diferentes. Se observa un ligero aumento de la variabilidad de los resultados, pero los valores de los coeficientes de variación nunca sobrepasaron el límite del 15% considerado como aceptable.

Dado que para la especie As(V) los diferentes parámetros analíticos del método (recuperación, límite de detección, precisión) son un poco más bajos que para As(III) o As inorgánico, decidimos calcular los contenidos de esta especie en las muestras estudiadas, por diferencia entre las concentraciones de As inorgánico y As(III).

**Tabla 22.- Repetitividad y reproducibilidad del método de especiación (12 µg/L de cada especie).**

ESPECIE	REPETITIVIDAD <sup>a</sup>		REPRODUCIBILIDAD <sup>b</sup>	
	Abs. media ± ds	CV (%)	Abs. media ± ds	CV (%)
As inorg.	0,083 ± 0,005	6,5	0,090 ± 0,006	6,7
As(III)	0,062 ± 0,005	8,0	0,060 ± 0,006	10,0
As(V)	0,054 ± 0,007	13,0	0,050 ± 0,006	12,0
MMAA	0,049 ± 0,003	5,2	0,048 ± 0,004	8,5
DMAA	0,054 ± 0,006	11,0	0,047 ± 0,005	10,6

<sup>a</sup> Media de 5 réplicas.

<sup>b</sup> Media de 5 réplicas.

En los casos en que sólo se requiere obtener información sobre la concentración de As inorgánico, y especies metiladas, se puede prescindir de la separación por resina aniónica, acortándose el tiempo de análisis.

## **RESULTADOS**

Según el procedimiento expuesto en el apartado 15.2.3, se ha determinado el contenido de As total de muestras reales de agua de consumo, cervezas, vinos, zumos, leches, caldos y muestras de orina procedentes de sujetos sanos.

Una vez validado el método de especiación de As, se aplica el procedimiento explicado en el apartado 16.2.3 para la determinación de As inorgánico, As(III), As(V), MMAA y DMAA en las muestras anteriormente expuestas, con excepción de las muestras de leche, dado su bajo contenido en As total. También se han especiado muestras de aguas residuales tomadas de la ría de Huelva.

El análisis estadístico de los datos obtenidos se realizó con un paquete estadístico CSS Statistica™ de Statsoft™, en ordenador Pentium PCI GMB-P541PS (75 MH).

### **Contenido de As total**

Para cada conjunto de muestras por separado, se indican los **contenidos** encontrados de As total en  $\mu\text{g/L}$ . En las Tablas 23, 24, 25 y 26 se muestran los valores medios y las desviaciones estándar de los resultados obtenidos para las muestras de agua de consumo tomadas de 3 puntos diferentes de la red de las 4 provincias estudiadas. En la Tabla 27 se presentan los contenidos medios de As total en aguas minerales.

En la Tabla 28 se ofrece el contenido de As (análisis de la misma muestra por triplicado), en aguas de pozo, manantial y en 2 muestras de agua de mar. Sólo se ha tomado una única muestra, por localidad o manantial.

En las Tablas 29, 30, 31 y 32 se exponen los datos obtenidos para el resto de las muestras. En el caso de los caldos, los contenidos de As se expresan como  $\mu\text{g/g}$  peso húmedo de muestra.

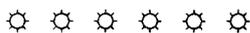
De cada tipo de muestra se calcula, como **estadística básica**, la media y la desviación estándar de los valores, la mediana y el rango en el cual oscilan (Tablas 33 y 34).

### **Contenido de las especies arsenicales**

Posteriormente, se indican los **resultados** obtenidos para cada especie arsenical ( $\mu\text{g/L}$ ), por muestra analizada, en aguas no aptas para el consumo procedentes de la ría de Huelva (Tablas 35 y 36), en aguas procedentes de un manantial del Poblado del Pintado (Tabla 37), Zumos (Tablas 38, 39, 40 y 41), cervezas (Tablas 42 y 43), vinos (Tablas 44, 45, 46), caldos (Tablas 47, 48, 49 y 50) y orina (Tabla 51).

En las mismas se consigna la concentración total de arsénico calculada por suma de las concentraciones de las diferentes especies obtenidas por el método propuesto, As total (suma), y los valores de As total obtenidos por medición directa, por el método de adiciones estándar, As total (directo).

De forma paralela a la variable As total; como **estadística básica**, se calcula la media, desviación estándar, mediana y rangos, por tipo de muestra especiada, para las variables As inorgánico, As(III), As(V), MMAA y DMAA (Tablas 52-71).



Para facilitar la exposición de estos resultados, se ha calculado el **porcentaje de muestras que presentan unos determinados niveles** de las variables consideradas.

En el caso de As total, la distribución de los contenidos en el conjunto de las muestras de agua procedentes de la red se muestra en la Figura 31, en función de la provincia en concreto en la que se hayan tomado. No se han considerado las muestras recolectadas en la provincia de Málaga por ser un número muy reducido. Al ser las aguas de la red las muestras de menor contenido de As total, los intervalos de concentraciones considerados han sido: desde no detectado hasta 0,50  $\mu\text{g/L}$ , de 0,51 a 1,00, de 1,01 a 2,00 y de 2,01 a 3,00  $\mu\text{g/L}$ .

La distribución porcentual de los contenidos de As total se considera también para el resto de las muestras (Figura 32), siendo los intervalos de concentración superiores. No se consideran las muestras de caldo por estar expresados sus contenidos en diferentes unidades de magnitud ( $\mu\text{g/g}$ ). Tampoco se consideran las aguas residuales ni aguas de manantial por proceder las mismas de un único sitio determinado de muestreo; por razones similares no se tienen en cuenta las muestras de orina, ya que el origen de las mismas también es común, sujetos sanos no expuestos al elemento.

Para las especies arsenicales, se representa la distribución del porcentaje de muestras que poseen un contenido dentro de determinados rangos de concentración en función del tipo de muestra especiada (Figuras 33-39).

A continuación se observa cual es la **distribución de frecuencias** de las variables en cada tipo de muestra. Para ello se supuso que la distribución era normal, gamma, lognormal, exponencial, etc, y luego se contrastó la bondad del ajuste de los datos a su distribución usando el criterio Chi-cuadrado (Akhazarova y Kafarov, 1982).

El resultado fué el siguiente:

- Los contenidos de As total en vinos se distribuyen normalmente, en zumos lo hacen de modo lognormal, en cervezas de forma gamma, y en el resto de las muestras no se ajustan a ninguna distribución continua típica.

### *Estimación toxicológica del As y sus especies*

- Los contenidos de As inorgánico siguen una distribución normal en el caso de las cervezas, lognormal para los zumos, y no se ajusta a ninguna distribución continua típica en el resto de las muestras.

- Los niveles de As(III) y As(V) no se ajustan a ninguna distribución continua típica en todos los grupos de muestras.

- La distribución de los contenidos de MMAA en los vinos es normal, en las aguas residuales es lognormal, y en el resto de las muestras no se ajusta a ninguna distribución continua típica.

- Por último, los contenidos de DMAA en cervezas se distribuyen de forma gamma, y para el resto de las muestras no siguen ninguna distribución continua típica.

Por ello, los criterios que se aplican para establecer **diferencias** entre los tipos de muestra para una variable se basaron, por cuestiones de uniformidad, en métodos estadísticos no-paramétricos, como son los ensayos Mann-Whitney y Kolmogorov-Smirnov.

También se ha considerado la posible influencia de algunos factores sobre los niveles de las distintas variables, en algunos tipos de muestra. Estos factores son:

- 1- Para aguas de la red: provincia de muestreo.
- 2- Aguas de consumo: fuente (red, manantial, pozo, mineral).
- 3- Aguas residuales: marea (alta, baja).
- 4- Zumos: materia prima empleada para su elaboración (naranja, piña, piña y uva, melocotón y uva).
- 5- Cervezas: contenido en alcohol (con/sin alcohol).

6- Vinos: grado de fermentación (mostos, vinos de mayor grado de fermentación).

7- Caldos: materia prima empleada (ave, carne, pescado).

Los datos correspondientes a cada variable se agrupan en series: conjuntos asociados a los niveles de los factores considerados.

Por tanto cuando las variables sigan una distribución normal (ej: As total para vinos), se aplica el ensayo t-Student, mientras que en el resto de los casos se aplican los ensayos antes mencionados no-paramétricos de Mann-Whitney y Kolmogorov-Smirnof.

Veamos sucintamente el fundamento de estos ensayos no paramétricos:

Los métodos estadísticos no-paramétricos son aquellos que no requieren la especificación de una distribución modelo para la variable en observación.

La hipótesis nula que se establece es que no hay diferencia significativa en los contenidos de las variables en dos tipos de muestra (por ejemplo entre cervezas y vinos), es decir que los valores observados pertenecen a una única población.

Se estudian dos contrastes no paramétricos para la hipótesis nula de igualdad de dos poblaciones independientes, expresada ésta, bien mediante las funciones de distribución,  $H_0: F(X) = G(X)$ , siendo F y G las funciones de distribución de la variable aleatoria en cada una de las poblaciones a comparar, o bien mediante la igualdad de las medianas poblacionales,  $H_0: m_x = m_y$ , siendo  $m_x$  y  $m_y$  las medianas de la variable aleatoria en cada una de las dos poblaciones.

El ensayo de Mann-Whitney requiere que la distribución F y G sean continuas, y se basa en la igualdad de las medianas,  $H_0: m_x = m_y$ . Así pues, para un nivel de significación fijado, en nuestro caso  $\alpha=0,05$  (5%), la hipótesis nula se acepta si el nivel de significación encontrado es mayor de 0,05 ( $p > 0,05$ ).

El método de Kolmogorov-Smirnov se aplica para comparar dos tipos de muestras aleatorias con diferente número de datos, y siendo  $F(x)$  y  $G(x)$  las funciones de distribución empíricas. Se basa en que para un nivel de significación de 0,05, la hipótesis nula,  $H_0: F(X) = G(X)$ , se acepta si el nivel de significación es mayor del 5% ( $\alpha$ ), ( $p > 0,05$ ).

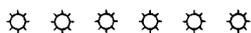
En general, en estos ensayos no paramétricos, el "poder", definido éste como la probabilidad de que una hipótesis nula falsa sea rechazada, puede ser inferior al ensayo paramétrico correspondiente, pero la diferencia sólo se presenta en casos muy excepcionales (Miller y Miller, 1995).

Los contrastes de distribución de contenidos de la variable As total se realizan primero en un mismo tipo de muestra, según los factores anteriormente mencionados (Tablas 72-75).

Una vez determinada si los datos pertenecen a una misma población, se determina si existen o no diferencias significativas en los contenidos para muestras de diferente naturaleza (Tabla 76).

Este mismo proceder se sigue para el resto de las variables: As inorgánico (Tabla 77 y 78), As(III) (Tablas 79 y 80), As(V) (Tabla 81), MMAA (Tablas 82 y 83) y DMAA (Tabla 84).

Los resultados de estos mismos ensayos no paramétricos, para las muestras de caldo y aguas residuales, se exponen de forma separada (Tablas 85 y 86).



Por último, y teniendo en cuenta la mediana ( $\mu\text{g/L}$ ) como medida representativa del contenido de las diferentes especies arsenicales, se calcula cuál es el porcentaje de contribución de cada especie (%) al contenido total de As (Figuras 40-45). Ello nos da una idea más clara de la especie predominante, por tipo de muestra considerada.

### Cálculo de la ingesta diaria

Una vez conocidos los niveles de As total y de cada una de sus especies en las muestras estudiadas, se calcula la ingesta diaria por persona. Para ello, se ha hecho uso de los datos de consumo de alimentos y bebidas en Andalucía del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (1990).

Los consumos medios de los grupos de alimentos analizados son los siguientes:

- **Aguas minerales:** este grupo comprende las aguas mineralo-medicinales, aguas minerales naturales, las de manantial y las preparadas. El consumo estimado en Andalucía es de 6,46 L/año, mientras que el total nacional es considerablemente mayor, 20,73 L/año.

Con respecto al consumo de **aguas de la red**, muy difundido en nuestra comunidad, no aparecen datos, por lo que nosotros hemos considerado un valor de 2 L/día.

- **Leche:** el consumo medio por persona en Andalucía es de 90,98 L/año, muy similar al establecido para el país en su totalidad, 99,99 L/año.

- **Bebidas analcohólicas:** incluye los **zumos de uva-mosto** (zumos y néctares procedentes de la uva que no hayan fermentado. No se incluyen en este apartado los vinos jóvenes), y los **zumos de otras frutas y hortalizas**. Para los primeros se establece un consumo en Andalucía de 1,40 L/año, algo superior a los 0,77 L/año para el total de la nación. Para los zumos de otras frutas y hortalizas, en nuestro caso zumos de naranja, piña, piña-uva y melocotón-uva, el valor es de 12,81 L/año para Andalucía y 8,34 L/año para el país en su totalidad.

- **Cerveza:** el consumo por persona establecido para Andalucía es de 21,49 L/año, el cual es notablemente superior al total nacional, 12,11 L/año.

- **Vinos:** Para los **vinos de mesa** (vinos de uso común, principalmente en la comida; en nuestro caso, vinos blancos de mesa y mostos como ejemplo de vino joven), el consumo por persona es de 9,8 L/año en Andalucía, algo menor que el de la totalidad del país, 14,33 L/año.

Con respecto a los **vinos finos**, clasificados como parte del grupo de "otros vinos", el valor es de 1,11 L/año para nuestra región, mientras que el total de la nación es inferior, 0,62 L/año.

- **Caldos:** se incluyen dentro del grupo de alimentos considerado como platos preparados, en concreto como sopas y cremas preparadas. El consumo medio por persona/año para Andalucía es de 3,02 Kg/año, valor muy similar al establecido para el país, 3,37 kg/año.

Las Tablas 87 y 88 muestran los valores estimados de la ingesta diaria de As total y de cada una de sus especies por persona, a partir del consumo de las muestras analizadas, utilizando para los cálculos la mediana como la mejor medida de la tendencia central de los resultados.

La ingesta total de As (directo), a partir del consumo medio de bebidas por la población andaluza es de 2,9  $\mu\text{g}/\text{persona}/\text{día}$ , valor exactamente igual a la ingesta obtenida a partir de los datos de As total, como la suma de las especies individuales.

La ingesta de As inorgánico, sin tener en cuenta el aporte del consumo de agua de manantial, es de 0,44  $\mu\text{g}/\text{persona}/\text{día}$ . En un caso, hipotético y extremo, de consumo de agua de manantial (muestras de agua con mayor contenido en As total, siendo el agua una fuente importante del elemento, por su alto consumo) se llegaría a una ingesta de As inorgánico de 31,8  $\mu\text{g}/\text{persona}/\text{día}$ .

A la vista de los valores obtenidos, en las Figuras 46 y 47 se representa la contribución de cada tipo de muestra (%) a la ingesta calculada de As total y de As inorgánico, respectivamente.

Posteriormente y debido a que el consumo de los diferentes grupos de alimentos y bebidas considerados varía enormemente de forma interindividual, en un intento de acercarnos a la realidad, consideramos distintos grados de exposición en base a la magnitud del consumo. Así, para cervezas consideramos tres tipos de consumidores (Repetto, 1995a; Srikanth y cols., 1995):

- aquellos que consumen al menos 0,2 L (1 caña) al día.
- aquellos que toman hasta 0,6 L (3 cañas) al día.
- los grandes consumidores, aquellos que consumen al menos 10L/semana.

En los casos de los mostos y vinos de mesa, se considera la posible ingesta de 2 copas/día (0,14 L/día) y 1 L/día.

Por último, para los vinos finos se toman los valores de consumo de 0,05 L (1 copa)/día y 0,1 L (dos copas)/día.

Los resultados obtenidos se exponen en las Tablas 89 y 90.

Con estos datos, en el caso de consumidores de cerveza, la ingesta de As total alcanzaría los 4,01, 7,17 y 14,28  $\mu\text{g}/\text{persona}/\text{día}$ , respectivamente; y la ingesta de As inorgánico sería de 0,76, 1,68 y 3,75  $\mu\text{g}/\text{persona}/\text{día}$ .

Para consumidores de vinos la ingesta de As total y As inorgánico sería:

- consumidores de mosto: 3,66 ó 9,42  $\mu\text{g}/\text{persona}/\text{día}$  de As total, y de 0,62 y 2,00  $\mu\text{g}/\text{persona}/\text{día}$  de As inorgánico.
- consumidores de vino blanco de mesa: 3,87 y 11,00  $\mu\text{g}/\text{persona}/\text{día}$  de As total, y 0,50 y 0,93  $\mu\text{g}/\text{persona}/\text{día}$  de As inorgánico.
- consumidores de fino: 3,37 y 3,97  $\mu\text{g}/\text{persona}/\text{día}$  de As total. La ingesta de As inorgánico no se vería modificada.

**Tabla 23.- Contenido de arsénico total en aguas de la red de la provincia de Sevilla ( $\mu\text{g/L}$ ).**

LOCALIDAD	PUNTO RED			MEDIA	DESVIACIÓN ESTANDAR
	1	2	3		
EMASESA	0,72	0,68	0,61	0,67	0,06
LOS MOLARES	0,48	0,43	0,38	0,43	0,05
CARMONA	ND	ND	ND	ND	-
LEBRIJA	0,95	1,09	0,97	1,00	0,07
AZNALCOLLAR	ND	ND	ND	ND	-
VILLAVERDE DEL RÍO	0,54	0,49	0,71	0,58	0,11
TOCINA	ND	0,53	0,48	ND	-
LORA DEL RÍO	0,42	0,51	0,62	0,52	0,10
CONSTANTINA	0,49	0,50	0,52	0,50	0,01
MARTÍN DE LA JARA	ND	0,40	0,38	ND	-
CASARICHE	ND	ND	ND	ND	-
ÉCIJA	0,50	0,45	0,43	0,46	0,04

ND: < 0,37.

Nota: A efectos de referencia se dan los límites establecidos por la Reglamentación Técnico-Sanitaria para el Abastecimiento y Control de la Calidad de Aguas Potables de Consumo Público (BOE 20 Septiembre 1990).

Nivel Máximo Permitido =  $50\mu\text{g/L}$ .

**Tabla 24.- Contenido de arsénico total en aguas de la red de la provincia de Huelva ( $\mu\text{g/L}$ ).**

POBLACIÓN	PUNTO RED			MEDIA	DESVIACIÓN ESTANDAR
	1	2	3		
HUELVA CAPITAL	0,38	ND	ND	ND	-
PUNTA UMBRÍA	ND	ND	ND	ND	-
EL ROMPIDO	0,85	0,78	0,86	0,81	0,05
GIBRALEÓN	0,79	0,74	0,80	0,80	0,03
THARSIS (Dique)	1,09	-	-	1,09	-
LA PALMA DEL CONDADO	1,62	1,86	1,56	1,68	0,16
BOLLULLOS DEL CONDADO	ND	ND	ND	ND	-
LOS SILOS (LA ZARZA)	0,81	0,65	0,73	0,76	0,08
CALAÑAS	ND	0,50	0,43	ND	-
EL CERRO DEL ANDÉVALO	1,49	1,27	1,33	1,36	0,12
RÍO TINTO	0,63	0,65	0,61	0,63	0,02
VALDELAMUSA	0,55	0,58	0,56	0,56	0,01
SAN TELMO	0,72	0,85	0,75	0,77	0,07
VALDEZUFRE	1,34	0,75	1,01	1,03	0,30
LOS MARINES	0,43	0,48	0,48	0,46	0,03
ARACENA	0,40	0,45	0,42	0,42	0,02
CORTEGANA	ND	0,47	0,63	ND	-
AROCHE	1,13	1,15	6,02	2,77	2,82
CUMBRE DE SAN BARTOLOMÉ	ND	ND	ND	ND	-
LEPE	1,02	1,03	0,94	1,00	0,05
ENCINASOLA	0,49	0,45	0,41	0,45	0,03

**Tabla 25.- Contenido de arsénico total en aguas de la red de la provincia de Cádiz (µg/L).**

POBLACIÓN	PUNTO RED			MEDIA	DESVIACIÓN ESTANDAR
	1	2	3		
CÁDIZ CAPITAL	0,99	0,96	0,91	0,95	0,04
JEREZ	ND	ND	ND	ND	-
PUERTO DE S <sup>a</sup> MARÍA	ND	ND	ND	ND	-
SANLUCAR DE BARRAMEDA	0,46	0,46	0,41	0,44	0,03
ARCOS DE LA FRONTERA	ND	ND	ND	ND	-
ESPERA	0,59	0,60	0,58	0,59	0,01
VILLAMARTIN	ND	ND	ND	ND	-
PUERTO SERRANO	0,44	0,43	0,41	0,43	0,01
ALGODONALES	ND	ND	ND	ND	-
PRADO DEL REY	ND	ND	ND	ND	-
EL BOSQUE	ND	ND	ND	ND	-
GRAZALEMA	0,39	0,47	0,40	0,42	0,01
UBRIQUE	ND	ND	ND	ND	-
ALGECIRAS	0,85	0,84	0,90	0,86	0,03
EL CUERVO	0,70	0,68	0,67	0,69	0,01

**Tabla 26.- Contenido de arsénico total en aguas de la red de la provincia de Málaga ( $\mu\text{g/L}$ ).**

PROVINCIA DE MÁLAGA	PUNTO RED			MEDIA	DESVIACIÓN ESTANDAR
	1	2	3		
CORTÉS DE LA FRONTERA	0,46	0,67	0,60	0,57	0,11
BENAOJAN	ND	ND	ND	ND	-
RONDA	ND	ND	ND	ND	-
MIJAS	0,55	0,55	0,51	0,54	0,03
TORREMOLINOS	0,41	ND	0,57	ND	-

**Tabla 27.- Contenido de arsénico total en aguas minerales ( $\mu\text{g/L}$ ).**

AGUA MINERAL	MUESTRA			MEDIA	DESVIACIÓN ESTANDAR
	1	2	3		
LANJARÓN	1,05	0,95	1,01	1,00	0,05
BEZOYA	0,59	0,50	0,54	0,54	0,05
FONTBELLA	ND	ND	ND	ND	-
VILADRAU	ND	ND	ND	ND	-
FONTOIRA	0,45	0,43	0,49	0,46	0,03
AGUA MINERAL MIJAS	0,48	-	-	0,482	-

**Tabla 28.- Contenido de arsénico total en aguas de pozo y manantial ( $\mu\text{g/L}$ ).**

<b>AGUAS DE POZO</b>	<b>Contenido</b>
Pozo Villaverde del Río (Sevilla)	1,63
Pozo Mairena del Alcor (Sevilla)	0,54
Pozo Utrera (Sevilla)	0,42
Pozo Coria del Río (Sevilla)	0,76
Tharsis (Pozo)	1,33
Pozo Puerto St <sup>a</sup> María (Cádiz)	ND
<b>AGUAS DE MANANTIAL</b>	<b>Contenido</b>
Manantial Villaverde del Río (Sevilla)	0,40
Manantial Carmona (Sevilla)	0,66
Manantial Carmona (Sevilla)	0,82
Manantial San Telmo (Huelva)	0,44
Manantial Grazalema (Cádiz)	0,40
Manantial Mijas (Málaga)	0,51
Manantial Torremolinos (Málaga)	0,67
Manantial Poblado El Pintado. (Sevilla)	28,00
<b>AGUAS DE MAR</b>	<b>Contenido</b>
Sanlúcar de Barrameda (Cádiz)	3,60
Torremolinos (Málaga)	1,08

**Tabla 29.- Contenido de arsénico total en muestras de zumos ( $\mu\text{g/L}$ ).**

MUESTRA				MEDIA $\pm$ DS
	1	2	3	
<b>ZUMOS NARANJA</b>				
Zumo 1	3,2	4,1	4,8	4,0 $\pm$ 0,8
Zumo 2	2,4	3,4	4,4	3,4 $\pm$ 1,0
Zumo 3	8,1	4,8	2,8	5,3 $\pm$ 2,7
Zumo 4	3,0	3,6	4,3	3,6 $\pm$ 0,7
Zumo 5	4,4	5,9	2,6	4,3 $\pm$ 1,7
<b>ZUMOS MELOCOTÓN UVA</b>				
Zumo 1	3,7	6,7	3,9	4,8 $\pm$ 1,7
Zumo 2	6,9	5,3	3,6	5,3 $\pm$ 1,7
Zumo 3	4,1	8,7	4,0	5,6 $\pm$ 2,7
Zumo 4	4,3	4,7	4,1	4,4 $\pm$ 0,3
<b>ZUMOS PIÑA</b>				
Zumo 1	5,1	-	-	-
Zumo 2	4,6	-	-	-
Zumo 3	3,6	-	-	-
Zumo 4	2,5	-	-	-
<b>ZUMOS PIÑA UVA</b>				
Zumo 1	11,2	-	-	-
Zumo 2	2,3	-	-	-
Zumo 3	11,6	-	-	-
Zumo 4	4,7	-	-	-

**Tabla 30.- Contenido de arsénico total en muestras cerveza y leche ( $\mu\text{g/L}$ ).**

MUESTRA				MEDIA $\pm$ DS
	1	2	3	
<b>CERVEZA</b>				
Cerveza 1	5,0	9,2	7,9	7,3 $\pm$ 2,1
Cerveza 2	5,3	7,4	5,4	6,0 $\pm$ 1,2
Cerveza 3	7,6	4,8	4,9	5,7 $\pm$ 1,6
Cerveza 4	2,2	3,6	1,7	2,5 $\pm$ 1,0
Cerveza 5	8,9	6,9	8,1	8,0 $\pm$ 1,0
<b>LECHE</b>				
Leche 1	ND	3,1	4,5	2,5 $\pm$ 2,3
Leche 2	5,4	ND	1,8	2,4 $\pm$ 2,7
Leche 3	2,5	ND	1,9	1,5 $\pm$ 1,3
Leche 4	5,7	2,7	2,9	3,8 $\pm$ 1,7
Leche 5	1,9	3,1	3,0	2,7 $\pm$ 0,7

**Tabla 31.- Contenido de arsénico total en muestras de mostos, vinos blancos de mesa y finos ( $\mu\text{g/L}$ ).**

	<b>MOSTOS</b>	<b>VINOS DE MESA</b>	<b>FINOS</b>
1	5,1	8,0	7,1
2	2,4	5,5	11,1
3	6,2	8,6	12,4
4	3,9	8,0	8,6
5	9,4	4,9	10,1
6	10,0	11,2	10,0
7	9,5	14,6	14,4
8	7,2	10,4	5,5
9	-	4,5	12,8
10	-	8,9	2,1

**Tabla 32.- Contenido de arsénico total en muestras de caldos ( $\mu\text{g/g}$ ).**

	<b>PESCADO</b>	<b>CARNE</b>	<b>AVE</b>	<b>VEGETAL</b>
1	0,140	0,017	0,015	0,074
2	0,084	0,037	0,031	-
3	0,094	0,032	0,034	-
4	-	-	0,029	-

**Tabla 33.- Estadística descriptiva básica de la concentración de arsénico total en aguas de consumo ( $\mu\text{g/L}$ ).**

<b>Muestra</b>	<b>n</b>	<b>Media <math>\pm</math> ds</b>	<b>Mediana</b>	<b>Rango</b>
<b>AGUA DE LA RED</b>	53	0,46 $\pm$ 0,53	0,44	0,00 - 2,77
Sevilla	12	0,35 $\pm$ 0,34	0,45	0,00 - 1,00
Huelva	21	0,69 $\pm$ 0,68	0,63	0,00 - 2,77
Cádiz	15	0,29 $\pm$ 0,35	0,00	0,00 - 0,95
Málaga	5	0,22 $\pm$ 0,31	0,00	0,00 - 0,58
<b>AGUA MINERAL</b>	6	0,41 $\pm$ 0,38	0,47	0,00 - 1,00
<b>AGUA DE MANANTIAL</b>	8	3,99 $\pm$ 9,71	0,59	0,40 - 28,01
<b>AGUA DE POZO</b>	6	0,78 $\pm$ 0,60	0,65	0,00 - 1,63

**Tabla 34.- Estadística descriptiva básica de la concentración de arsénico total ( $\mu\text{g/L}$ ).**

Muestra	n	Media $\pm$ ds	Mediana	Rango
ZUMOS	32	5,63 $\pm$ 3,23	4,80	0,90 - 15,60
Naranja	15	4,31 $\pm$ 1,87	4,00	0,90 - 8,10
Melocotón-uva	9	7,79 $\pm$ 3,75	6,70	4,40 - 15,60
Piña	4	3,95 $\pm$ 1,15	4,10	2,50 - 5,10
Piña-uva	4	7,45 $\pm$ 4,67	7,95	2,30 - 11,60
LECHE	5	2,58 $\pm$ 0,89	2,50	1,50 - 3,80
CERVEZA	26	7,82 $\pm$ 4,91	7,50	1,50 - 28,40
Con alcohol	16	6,56 $\pm$ 2,71	7,15	1,50 - 12,40
Sin alcohol	10	9,84 $\pm$ 6,88	8,85	4,40 - 28,40
VINOS	28	8,30 $\pm$ 3,33	8,60	2,10 - 14,60
Mostos	8	6,71 $\pm$ 2,81	6,70	2,40 - 10,00
Mesa	10	8,46 $\pm$ 3,10	8,30	4,50 - 14,60
Finos	10	9,41 $\pm$ 3,71	10,05	2,10 - 14,40
CALDOS*	11	0,053 $\pm$ 0,039	0,034	0,015 - 0,140
Pescado	3	0,106 $\pm$ 0,030	0,094	0,084 - 0,140
Carne	3	0,029 $\pm$ 0,010	0,032	0,017 - 0,037
Ave	4	0,027 $\pm$ 0,008	0,030	0,015 - 0,034

\*  $\mu\text{g/g}$ .

Tabla 35.- Concentración de las especies de arsénico en aguas residuales (marea alta) ( $\mu\text{g/L}$ ).

MUESTRA	As inorg	As (III)	As (V)	MMAA	DMAA	As total (suma)	As total (directo)
n° 1	99,0	66,5	32,5	5,0	7,5	111,5	106,2
n° 2	71,5	61,7	9,8	19,5	7,5	98,5	113,6
n° 3	96,8	57,2	29,0	30,0	12,5	139,3	124,7
n° 4	55,2	30,0	25,2	30,5	256,0	341,7	335,7
n° 5	92,7	74,0	18,7	42,0	40,2	174,9	217,2
n° 6	94,3	66,3	28,0	110,0	115,6	319,9	294,1
n° 7	50,1	27,2	22,9	4,4	11,9	66,4	62,4
n° 8	54,2	32,7	21,5	14,9	ND	69,1	67,4
n° 9	48,6	36,5	12,1	9,3	6,0	63,9	69,3
n° 10	57,7	33,3	24,4	12,6	9,3	79,6	81,4

**Tabla 36.- Concentración de las especies de arsénico en aguas residuales (marea baja) ( $\mu\text{g/L}$ ).**

MUESTRA	As inorg	As (III)	As (V)	MMAA	DMAA	As total (suma)	As total (directo)
n° 1	329,0	245,1	83,9	120,0	154,0	603,0	643,4
n° 2	314,9	209,3	105,6	89,0	212,9	615,9	614,0
n° 3	304,5	201,7	102,8	220,3	229,0	753,8	815,9
n° 4	716,2	408,3	307,9	335,0	531,9	1583,1	1827,0
n° 5	307,0	125,0	182,0	161,5	34,7	503,2	532,7
n° 6	71,3	31,9	39,4	70,0	75,0	216,3	220,0

Tabla 37.- Concentración de las especies de arsénico en aguas de manantial ( $\mu\text{g/L}$ )

MUESTRA	As inorg	As (III)	As (V)	MMAA	DMAA	As total (suma)	As total (directo)
n° 1	16,2	9,1	7,1	5,2	0,7	22,1	24,7
n° 2	13,2	6,8	6,4	7,7	3,2	22,8	24,9
n° 3	18,2	6,4	11,8	5,6	ND	23,8	23,9
n° 4	15,6	5,4	10,2	9,2	0,7	25,5	25,1
n° 5	14,2	6,7	7,5	7,4	1,3	22,9	24,1
n° 6	15,8	1,7	14,1	4,5	ND	20,3	26,6
n° 7	30,7	13,6	17,7	6,5	8,7	45,3	37,1
n° 8	12,5	14,5	ND	13,0	11,0	36,6	37,9

Tabla 38.- Concentración de las especies de arsénico en zumos de naranja ( $\mu\text{g/L}$ ).

MUESTRA	As inorg	As (III)	As (V)	MMAA	DMAA	As total (suma)	As total (directo)
n° 1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,9
n° 2	1,1	ND	ND	2,0	ND	3,1	2,7
n° 3	ND	ND	ND	ND	3,4	3,4	2,4
n° 4	ND	ND	ND	2,0	ND	2,0	3,6
n° 5	ND	ND	ND	3,3	ND	3,3	3,2
n° 6	ND	ND	ND	2,3	3,6	5,9	5,1
n° 7	2,0	2,1	ND	4,9	ND	6,9	7,3
n° 8	1,1	2,4	ND	ND	4,6	5,7	5,9
n° 9	2,4	ND	ND	3,1	ND	5,5	4,8
n° 10	1,4	ND	ND	ND	6,1	7,5	8,1

**Tabla 39.- Concentración de las especies de arsénico en zumos de piña ( $\mu\text{g/L}$ ).**

MUESTRA	As inorg	As (III)	As (V)	MMAA	DMAA	As total (suma)	As total (directo)
n° 1	0,8	ND	ND	2,0	2,1	4,9	5,1
n° 2	5,3	ND	5,3	ND	0,7	6,2	4,6
n° 3	4,1	ND	4,3	ND	ND	4,1	3,6
n° 4	ND	ND	ND	ND	1,5	1,5	2,5

**Tabla 40.- Concentración de las especies de arsénico en zumos de piña-uva ( $\mu\text{g/L}$ ).**

MUESTRA	As inorg	As (III)	As (V)	MMAA	DMAA	As total (suma)	As total (directo)
n° 1	7,5	ND	7,5	ND	5,1	12,6	11,2
n° 2	2,9	ND	ND	ND	ND	2,9	2,3
n° 3	6,0	4,5	ND	ND	7,7	13,7	11,6
n° 4	2,0	3,0	ND	ND	3,6	5,6	4,7

**Tabla 41.- Concentración de las especies de arsénico en zumos de melocotón-uva ( $\mu\text{g/L}$ ).**

MUESTRA	As inorg	As (III)	As (V)	MMAA	DMAA	As total (suma)	As total (directo)
n° 1	2,0	3,3	ND	ND	4,1	6,1	7,0
n° 2	2,2	2,2	ND	3,7	0,8	6,7	8,7
n° 3	2,1	3,2	ND	3,3	ND	5,4	6,7
n° 4	5,6	5,0	ND	2,0	6,7	14,4	15,6
n° 5	0,9	2,5	ND	2,0	9,5	12,4	12,0

**Tabla 42.- Concentración de las especies de arsénico en muestras de cerveza con alcohol ( $\mu\text{g/L}$ ).**

<b>MUESTRA</b>	<b>As inorg</b>	<b>As(III)</b>	<b>As(V)</b>	<b>MMAA</b>	<b>DMAA</b>	<b>As Total (suma)</b>	<b>As Total (Directo)</b>
1	ND	ND	ND	5,3	1,0	6,3	7,6
2	ND	ND	ND	2,6	1,3	3,9	3,6
3	1,6	2,1	ND	7,3	ND	8,9	9,2
4	4,3	2,6	ND	4,6	2,9	11,8	12,4
5	ND	ND	ND	2,7	ND	2,7	1,5
6	2,6	2,6	ND	5,4	ND	8,0	7,9
7	ND	ND	ND	4,3	5,2	9,5	9,0
8	ND	ND	ND	5,8	2,6	8,4	7,4
9	ND	ND	ND	3,7	1,6	5,3	4,8
10	3,3	4,0	ND	2,0	ND	5,3	5,1
11	2,0	2,1	ND	2,9	1,6	6,5	7,0

Tabla 43.- Concentración de las especies de arsénico en muestras de cerveza sin alcohol ( $\mu\text{g/L}$ ).

MUESTRA	As inorg	As(III)	As(V)	MMAA	DMAA	As total (suma)	As total (directo)
1	5,2	6,5	ND	2,6	19,1	26,1	28,4
2	2,9	2,5	ND	ND	0,7	3,6	4,4
3	2,3	3,5	ND	2,0	ND	4,3	4,4
4	4,9	6,5	ND	3,0	1,0	8,9	10,7
5	5,7	6,9	ND	3,0	0,7	9,4	8,6
6	5,6	4,5	ND	3,2	ND	8,8	9,1
7	2,0	3,5	ND	2,4	0,9	5,3	5,8
8	4,9	4,5	ND	2,9	1,0	8,8	9,1
9	3,9	5,5	ND	5,1	ND	9,0	9,5
10	0,6	ND	ND	5,5	1,0	7,1	8,4

Tabla 44.- Concentración de las especies de arsénico en vinos de mesa blancos ( $\mu\text{g/L}$ ).

MUESTRA	As inorg	As (III)	As (V)	MMAA	DMAA	As total (suma)	As total (adiciones)
n° 1	1,0	ND	ND	6,9	ND	7,9	8,0
n° 2	1,0	ND	ND	ND	5,7	6,7	5,5
n° 3	ND	ND	ND	ND	8,7	8,7	8,6
n° 4	ND	ND	ND	8,1	ND	8,1	8,0
n° 5	2,8	3,1	ND	2,0	0,7	5,5	4,9
n° 6	1,8	2,1	ND	ND	10,4	12,2	11,2
n° 7	ND	ND	ND	5,1	8,9	14,0	14,6
n° 8	ND	3,8	ND	2,0	8,6	10,6	10,4
n° 9	ND	ND	ND	2,0	2,6	4,6	4,5
n° 10	1,2	2,1	ND	4,7	2,7	8,6	8,9

Tabla 45.- Concentración de las especies de arsénico en vinos finos ( $\mu\text{g/L}$ ).

MUESTRA	As inorg	As (III)	As (V)	MMAA	DMAA	As total (suma)	As total (adiciones)
n° 1	ND	ND	ND	7,4	ND	7,4	7,1
n° 2	ND	2,1	ND	9,6	ND	9,6	11,1
n° 3	ND	ND	ND	7,1	6,7	13,8	12,4
n° 4	ND	2,1	ND	4,5	3,6	8,1	8,6
n° 5	1,2	3,3	ND	6,7	ND	7,9	10,1
n° 6	ND	2,6	ND	4,1	6,4	10,5	10,0
n° 7	ND	ND	ND	4,2	9,0	13,2	14,4
n° 8	ND	ND	ND	3,6	2,7	6,3	5,5
n° 9	ND	ND	ND	ND	15,1	15,1	12,8
n° 10	ND	ND	ND	2,0	ND	2,0	2,1

Tabla 46.- Concentración de las especies de arsénico en mostos de uva ( $\mu\text{g/L}$ ).

MUESTRA	As inorg	As (III)	As (V)	MMAA	DMAA	As total (suma)	As total (adiciones)
n° 1	1,4	ND	ND	2,0	1,4	4,8	5,1
n° 2	1,8	ND	ND	ND	2,2	4,0	2,4
n° 3	2,9	ND	ND	ND	3,6	6,5	6,2
n° 4	ND	ND	ND	2,0	2,7	4,7	3,9
n° 5	1,0	2,1	ND	2,0	8,3	11,3	9,4
n° 6	ND	ND	ND	2,5	7,4	9,9	10,0
n° 7	6,7	ND	6,7	2,0	1,3	10,0	9,5
n° 8	2,9	ND	ND	2,5	2,2	7,6	7,2

**Tabla 47.- Concentración de las especies de arsénico en caldos de pescado ( $\mu\text{g/g}$ ).**

MUESTRA	As inorg	As (III)	As (V)	MMAA	DMAA	As total (suma)	As total (adiciones)
n° 1	0,062	0,076	ND	ND	0,088	0,150	0,140
n° 2	0,024	0,058	ND	ND	0,056	0,080	0,084
n° 3	0,066	0,058	ND	ND	0,014	0,080	0,094

**Tabla 48.- Concentración de las especies de arsénico en caldos de carne ( $\mu\text{g/g}$ ).**

MUESTRA	As inorg	As (III)	As (V)	MMAA	DMAA	As total (suma)	As total (adiciones)
n° 1	0,017	0,025	ND	ND	ND	0,017	0,017
n° 2	0,021	0,019	ND	ND	0,013	0,034	0,037
n° 3	0,034	0,041	ND	ND	ND	0,034	0,032

**Tabla 49.- Concentración de las especies de arsénico en caldos de ave ( $\mu\text{g/g}$ ).**

MUESTRA	As inorg	As (III)	As (V)	MMAA	DMAA	As total (suma)	As total (adiciones)
n° 1	0,013	0,017	ND	ND	ND	0,013	0,015
n° 2	0.015	ND	ND	0.009	0,010	0,034	0,031
n° 3	0,029	ND	ND	ND	ND	0,029	0,034
N° 4	0,013	0,019	ND	0,020	ND	0,033	0,029

**Tabla 50.- Concentración de las especies de arsénico en caldo de origen vegetal ( $\mu\text{g/g}$ ).**

MUESTRA	As inorg	As (III)	As (V)	MMAA	DMAA	As total (suma)	As total (directo)
1	0,020	0,017	ND	0,029	0,017	0,066	0,074

Tabla 51.- Concentración de las especies de arsénico en orina ( $\mu\text{g/L}$ ).

MUESTRA	As inorg	As (III)	As (V)	MMAA	DMAA	As total (suma)	As total (adiciones)
n° 1	ND	ND	ND	ND	4,5	4,5	5,6
n° 2	ND	ND	ND	ND	3,6	3,6	4,7
n° 3	ND	ND	ND	ND	2,6	2,6	2,0
n° 4	ND	ND	ND	2,2	4,5	6,7	8,9
n° 5	ND	ND	ND	ND	2,2	2,2	7,1
n° 6	2,1	ND	ND	ND	7,2	9,3	7,3
n° 7	ND	ND	ND	2,0	2,2	4,2	3,9
n° 8	ND	ND	ND	ND	4,2	4,2	6,1
n° 9	ND	ND	ND	5,9	ND	5,9	5,7
n° 10	ND	ND	ND	ND	0,7	0,7	1,0

**Tabla 52.- Estadística descriptiva básica de las especies arsenicales ( $\mu\text{g/L}$ ) del total de las muestras de agua residual (n= 16).**

<b>Variable</b>	<b>Media <math>\pm</math> ds</b>	<b>Mediana</b>	<b>Rango</b>
As inorg	172,69 $\pm$ 180,96	93,50	248,60 - 716,20
As (III)	106,67 $\pm$ 107,20	64,00	27,20 - 408,30
As(V)	65,36 $\pm$ 79,74	28,50	9,80 - 307,90
MMAA	79,63 $\pm$ 92,80	36,25	4,40 - 335,00
DMAA	106,50 $\pm$ 143,95	37,45	0,00 - 531,90
As total (Suma)	358,76 $\pm$ 396,40	195,60	63,90 - 1583,10
As total (Directo)	382,81 $\pm$ 453,72	218,60	62,40 - 1827,00

**Tabla 53.- Estadística descriptiva básica de las especies arsenicales ( $\mu\text{g/L}$ ) de las muestras de agua residual, marea alta (n= 10).**

<b>Variable</b>	<b>Media <math>\pm</math> ds</b>	<b>Mediana</b>	<b>Rango</b>
As inorg	72,01 $\pm$ 21,35	64,60	48,60 - 99,00
As (III)	48,54 $\pm$ 18,14	46,85	27,20 - 74,00
As(V)	22,41 $\pm$ 7,21	23,65	9,80 - 32,50
MMAA	27,82 $\pm$ 31,35	17,20	4,40 - 110,00
DMAA	46,65 $\pm$ 81,16	10,60	0,00 - 256,00
As total (Suma)	146,48 $\pm$ 103,42	105,00	63,90 - 341,70
As total (Directo)	147,20 $\pm$ 99,60	109,90	62,40 - 335,70

**Tabla 54.- Estadística descriptiva básica de las especies arsenicales ( $\mu\text{g/L}$ ) de las muestras de agua residual, marea baja (n= 6).**

<b>Variable</b>	<b>Media <math>\pm</math> ds</b>	<b>Mediana</b>	<b>Rango</b>
As inorg	340,48 $\pm$ 208,24	310,95	71,30 - 716,20
As (III)	203,55 $\pm$ 125,95	205,50	31,90 - 408,30
As(V)	136,93 $\pm$ 95,64	104,20	39,40 - 307,90
MMAA	165,97 $\pm$ 98,78	140,75	70,00 - 335,00
DMAA	206,25 $\pm$ 176,63	183,45	34,70 - 531,90
As total (Suma)	712,55 $\pm$ 462,81	609,45	216,30 - 1583,10
As total (Directo)	775,50 $\pm$ 551,06	628,70	220,00 - 1827,00

**Tabla 55.- Estadística descriptiva básica de las especies arsenicales ( $\mu\text{g/L}$ ) de las muestras de agua de manantial (n= 8).**

<b>Variable</b>	<b>Media <math>\pm</math> ds</b>	<b>Mediana</b>	<b>Rango</b>
As inorg	17,05 $\pm$ 5,80	15,70	12,50 - 30,70
As (III)	8,03 $\pm$ 4,26	6,75	1,70 - 14,50
As(V)	9,35 $\pm$ 5,39	8,85	0,00 - 17,70
MMAA	7,39 $\pm$ 2,73	6,95	4,50 - 13,00
DMAA	3,21 $\pm$ 4,29	1,00	0,00 - 11,00
As total (Suma)	27,41 $\pm$ 8,79	23,35	20,30 - 45,30
As total (Directo)	28,04 $\pm$ 5,90	25,00	23,90 - 37,90

**Tabla 56.- Estadística descriptiva básica de las especies arsenicales ( $\mu\text{g/L}$ ) del total de las muestras de zumo (n= 23).**

<b>Variable</b>	<b>Media <math>\pm</math> ds</b>	<b>Mediana</b>	<b>Rango</b>
As inorg	2,19 $\pm$ 2,25	2,00	0,00 - 7,50
As (III)	1,23 $\pm$ 1,68	0,00	0,00 - 5,00
As(V)	0,88 $\pm$ 2,07	0,00	0,00 - 7,50
MMAA	1,33 $\pm$ 1,56	0,00	0,00 - 4,90
DMAA	2,59 $\pm$ 2,91	1,50	0,00 - 9,50
As total (Suma)	6,08 $\pm$ 3,86	5,60	0,00 - 14,40
As total (Directo)	6,07 $\pm$ 3,71	5,10	0,90 - 15,60

**Tabla 57.- Estadística descriptiva básica de las especies arsenicales ( $\mu\text{g/L}$ ) de las muestras de zumo de naranja (n= 10).**

<b>Variable</b>	<b>Media <math>\pm</math> ds</b>	<b>Mediana</b>	<b>Rango</b>
As inorg	0,80 $\pm$ 0,93	0,55	0,00 - 2,40
As (III)	0,45 $\pm$ 0,95	0,00	0,00 - 2,40
As(V)	0,00	0,00	0,00 - 0,00
MMAA	1,76 $\pm$ 1,73	2,00	0,00 - 4,90
DMAA	1,77 $\pm$ 2,39	0,00	0,00 - 6,10
As total (Suma)	4,33 $\pm$ 2,36	4,45	0,00 - 7,50
As total (Directo)	4,40 $\pm$ 2,27	4,20	0,90 - 8,10

**Tabla 58.- Estadística descriptiva básica de las especies arsenicales ( $\mu\text{g/L}$ ) de las muestras de zumo de piña y piña-uva (n= 8).**

<b>Variable</b>	<b>Media <math>\pm</math> ds</b>	<b>Mediana</b>	<b>Rango</b>
As inorg	3,58 $\pm$ 2,62	3,50	0,00 - 7,50
As (III)	0,94 $\pm$ 1,78	0,00	0,00 - 4,50
As(V)	2,14 $\pm$ 3,10	0,00	0,00 - 7,50
MMAA	0,25 $\pm$ 0,71	0,00	0,00 - 2,00
DMAA	2,59 $\pm$ 2,72	1,80	0,00 - 7,70
As total (Suma)	6,44 $\pm$ 4,41	5,25	1,50 - 13,70
As total (Directo)	5,70 $\pm$ 3,66	4,65	2,30 - 11,60

**Tabla 59.- Estadística descriptiva básica de las especies arsenicales ( $\mu\text{g/L}$ ) de las muestras de zumo de melocotón-uva (n= 5).**

<b>Variable</b>	<b>Media <math>\pm</math> ds</b>	<b>Mediana</b>	<b>Rango</b>
As inorg	2,56 $\pm$ 1,78	2,10	0,90 - 5,60
As (III)	3,24 $\pm$ 1,09	3,20	2,20 - 5,00
As(V)	0,00	0,00	0,00 - 0,00
MMAA	2,20 $\pm$ 1,45	2,00	0,00 - 3,70
DMAA	4,22 $\pm$ 3,99	4,10	0,00 - 9,50
As total (Suma)	9,00 $\pm$ 4,10	6,70	5,40 - 14,40
As total (Directo)	10,00 $\pm$ 3,77	8,70	6,70 - 15,60

**Tabla 60.- Estadística descriptiva básica de las especies arsenicales ( $\mu\text{g/L}$ ) del total de las muestras de cerveza (n= 21).**

<b>Variable</b>	<b>Media <math>\pm</math> ds</b>	<b>Mediana</b>	<b>Rango</b>
As inorg	2,47 $\pm$ 2,09	2,30	0,00 - 5,70
As (III)	2,73 $\pm$ 2,40	2,60	0,00 - 6,90
As(V)	0,00	0,00	0,00 - 0,00
MMAA	3,63 $\pm$ 1,67	3,00	0,00 - 7,30
DMAA	1,93 $\pm$ 4,13	1,00	0,00 - 19,10
As total (Suma)	7,99 $\pm$ 4,77	8,00	2,70 - 26,10
As total (Directo)	8,28 $\pm$ 3,00	7,90	1,50 - 28,40

**Tabla 61.- Estadística descriptiva básica de las especies arsenicales ( $\mu\text{g/L}$ ) de las muestras de cerveza con alcohol (n= 11).**

<b>Variable</b>	<b>Media <math>\pm</math> ds</b>	<b>Mediana</b>	<b>Rango</b>
As inorg	1,25 $\pm$ 1,59	0,00	0,00 - 4,30
As (III)	1,22 $\pm$ 1,48	0,00	0,00 - 4,00
As(V)	0,00	0,00	0,00 - 0,00
MMAA	4,24 $\pm$ 1,63	4,30	2,00 - 7,30
DMAA	1,47 $\pm$ 1,62	1,30	0,00 - 5,20
As total (Suma)	6,96 $\pm$ 2,65	6,50	2,70 - 11,80
As total (Directo)	6,86 $\pm$ 2,99	7,40	1,50 - 12,40

**Tabla 62.- Estadística descriptiva básica de las especies arsenicales ( $\mu\text{g/L}$ ) de las muestras de cerveza sin alcohol (n= 10).**

<b>Variable</b>	<b>Media <math>\pm</math> ds</b>	<b>Mediana</b>	<b>Rango</b>
As inorg	3,80 $\pm$ 1,76	4,40	0,60 - 5,70
As (III)	4,39 $\pm$ 2,13	4,50	0,00 - 6,90
As(V)	0,00	0,00	0,00 - 0,00
MMAA	2,97 $\pm$ 1,53	2,95	0,00 - 5,50
DMAA	2,44 $\pm$ 5,87	0,80	0,00 - 19,10
As total (Suma)	9,13 $\pm$ 6,33	8,80	3,60 - 26,10
As total (Directo)	9,84 $\pm$ 6,88	8,85	4,40 - 28,40

**Tabla 63.- Estadística descriptiva básica de las especies arsenicales ( $\mu\text{g/L}$ ) del total de las muestras de vino (n= 28).**

<b>Variable</b>	<b>Media <math>\pm</math> ds</b>	<b>Mediana</b>	<b>Rango</b>
As inorg	0,92 $\pm$ 1,49	0,00	0,00 - 6,70
As (III)	0,83 $\pm$ 1,28	0,00	0,00 - 3,80
As(V)	0,24 $\pm$ 1,27	0,00	0,00 - 6,70
MMAA	3,32 $\pm$ 2,77	2,25	0,00 - 9,60
DMAA	4,32 $\pm$ 4,01	2,70	0,00 - 15,10
As total (Suma)	8,56 $\pm$ 3,27	8,10	2,00 - 15,10
As total (Directo)	8,30 $\pm$ 3,33	8,60	2,10 - 14,60

**Tabla 64.- Estadística descriptiva básica de las especies arsenicales ( $\mu\text{g/L}$ ) de las muestras de vino de mesa blanco (n= 10).**

<b>Variable</b>	<b>Media <math>\pm</math> ds</b>	<b>Mediana</b>	<b>Rango</b>
As inorg	0,78 $\pm$ 0,97	0,50	0,00 - 2,80
As (III)	1,11 $\pm$ 1,51	0,00	0,00 - 3,80
As(V)	0,00	0,00	0,00 - 0,00
MMAA	3,08 $\pm$ 2,95	2,00	0,00 - 8,10
DMAA	4,82 $\pm$ 4,09	4,20	0,00 - 10,4
As total (Suma)	8,69 $\pm$ 2,91	8,35	4,60 - 14,00
As total (Directo)	8,46 $\pm$ 3,10	8,30	4,50 - 14,60

**Tabla 65.- Estadística descriptiva básica de las especies arsenicales ( $\mu\text{g/L}$ ) de las muestras de fino (n= 10).**

<b>Variable</b>	<b>Media <math>\pm</math> ds</b>	<b>Mediana</b>	<b>Rango</b>
As inorg	0,12 $\pm$ 0,38	0,00	0,00 - 1,20
As (III)	1,01 $\pm$ 1,34	0,00	0,00 - 3,30
As(V)	0,00	0,00	0,00 - 0,00
MMAA	4,92 $\pm$ 2,84	4,35	0,00 - 9,60
DMAA	4,35 $\pm$ 5,01	3,15	0,00 - 15,10
As total (Suma)	9,39 $\pm$ 3,94	8,85	2,00 - 15,10
As total (Directo)	9,41 $\pm$ 3,71	10,05	2,10 - 14,4

**Tabla 66.- Estadística descriptiva básica de las especies arsenicales ( $\mu\text{g/L}$ ) de las muestras de mosto de uva (n= 8).**

<b>Variable</b>	<b>Media <math>\pm</math> ds</b>	<b>Mediana</b>	<b>Rango</b>
As inorg	2,09 $\pm$ 2,17	1,60	0,00 - 6,70
As (III)	0,26 $\pm$ 0,74	0,00	0,00 - 2,10
As(V)	0,84 $\pm$ 2,37	0,00	0,00 - 6,70
MMAA	1,63 $\pm$ 1,03	2,00	0,00 - 2,50
DMAA	3,64 $\pm$ 2,71	2,45	1,30 - 8,30
As total (Suma)	7,35 $\pm$ 2,79	7,05	4,00 - 11,30
As total (Directo)	6,71 $\pm$ 2,81	6,70	2,40 - 10,00

**Tabla 67.- Estadística descriptiva básica de las especies arsenicales ( $\mu\text{g/g}$ ) del total de las muestras de caldo ( $n= 11$ ).**

<b>Variable</b>	<b>Media <math>\pm</math> ds</b>	<b>Mediana</b>	<b>Rango</b>
As inorg	0,029 $\pm$ 0,019	0,021	0,013 - 0,066
As (III)	0,030 $\pm$ 0,025	0,019	0,000 - 0,076
As(V)	0,00	0,000	0,000 - 0,000
MMAA	0,005 $\pm$ 0,101	0,000	0,000 - 0,029
DMAA	0,018 $\pm$ 0,024	0,010	0,000 - 0,088
As total (Suma)	0,052 $\pm$ 0,040	0,034	0,013 - 0,150
As total (Directo)	0,053 $\pm$ 0,039	0,034	0,015 - 0,140

**Tabla 68.- Estadística descriptiva básica de las especies arsenicales ( $\mu\text{g/g}$ ) de las muestras de caldo de pescado ( $n= 3$ ).**

<b>Variable</b>	<b>Media <math>\pm</math> ds</b>	<b>Mediana</b>	<b>Rango</b>
As inorg	0,051 $\pm$ 0,023	0,062	0,024 - 0,066
As (III)	0,064 $\pm$ 0,010	0,058	0,058 - 0,076
As(V)	0,000	0,000	0,000 - 0,000
MMAA	0,000	0,000	0,000 - 0,000
DMAA	0,053 $\pm$ 0,037	0,056	0,014 - 0,088
As total (Suma)	0,103 $\pm$ 0,040	0,080	0,080 - 0,150
As total (Directo)	0,106 $\pm$ 0,030	0,094	0,084 - 0,140

**Tabla 69.- Estadística descriptiva básica de las especies arsenicales ( $\mu\text{g/g}$ ) de las muestras de caldo de carne (n= 3).**

<b>Variable</b>	<b>Media <math>\pm</math> ds</b>	<b>Mediana</b>	<b>Rango</b>
As inorg	0,024 $\pm$ 0,009	0,021	0,017 - 0,034
As (III)	0,028 $\pm$ 0,011	0,025	0,019 - 0,041
As(V)	0,000	0,000	0,000 - 0,000
MMAA	0,000	0,000	0,000 - 0,000
DMAA	0,004 $\pm$ 0,007	0,000	0,000 - 0,013
As total (Suma)	0,028 $\pm$ 0,010	0,034	0,017 - 0,034
As total (Directo)	0,029 $\pm$ 0,010	0,032	0,017 - 0,037

**Tabla 70.- Estadística descriptiva básica de las especies arsenicales ( $\mu\text{g/g}$ ) de las muestras de caldos de ave (n= 4).**

<b>Variable</b>	<b>Media <math>\pm</math> ds</b>	<b>Mediana</b>	<b>Rango</b>
As inorg	0,017 $\pm$ 0,008	0,014	0,013 - 0,029
As (III)	0,009 $\pm$ 0,010	0,009	0,000 - 0,019
As(V)	0,000	0,000	0,000 - 0,000
MMAA	0,007 $\pm$ 0,009	0,005	0,00 - 0,020
DMAA	0,003 $\pm$ 0,005	0,000	0,000 - 0,010
As total (Suma)	0,027 $\pm$ 0,010	0,031	0,013 - 0,034
As total (Directo)	0,027 $\pm$ 0,008	0,030	0,015 - 0,034

**Tabla 71.- Estadística descriptiva básica de las especies arsenicales ( $\mu\text{g/L}$ ) de las muestras de orina (n= 10).**

<b>Variable</b>	<b>Media <math>\pm</math> ds</b>	<b>Mediana</b>	<b>Rango</b>
As inorg	0,21 $\pm$ 0,66	0,00	0,00 - 2,10
As (III)	0,00	0,00	0,00 - 0,00
As(V)	0,00	0,00	0,00 - 0,00
MMAA	1,01 $\pm$ 1,93	0,00	0,00 - 5,90
DMAA	3,17 $\pm$ 2,09	3,10	0,00 - 7,20
As total (Suma)	4,39 $\pm$ 2,45	4,20	0,70 - 9,30
As total (Directo)	5,23 $\pm$ 2,63	5,65	1,00 - 8,90

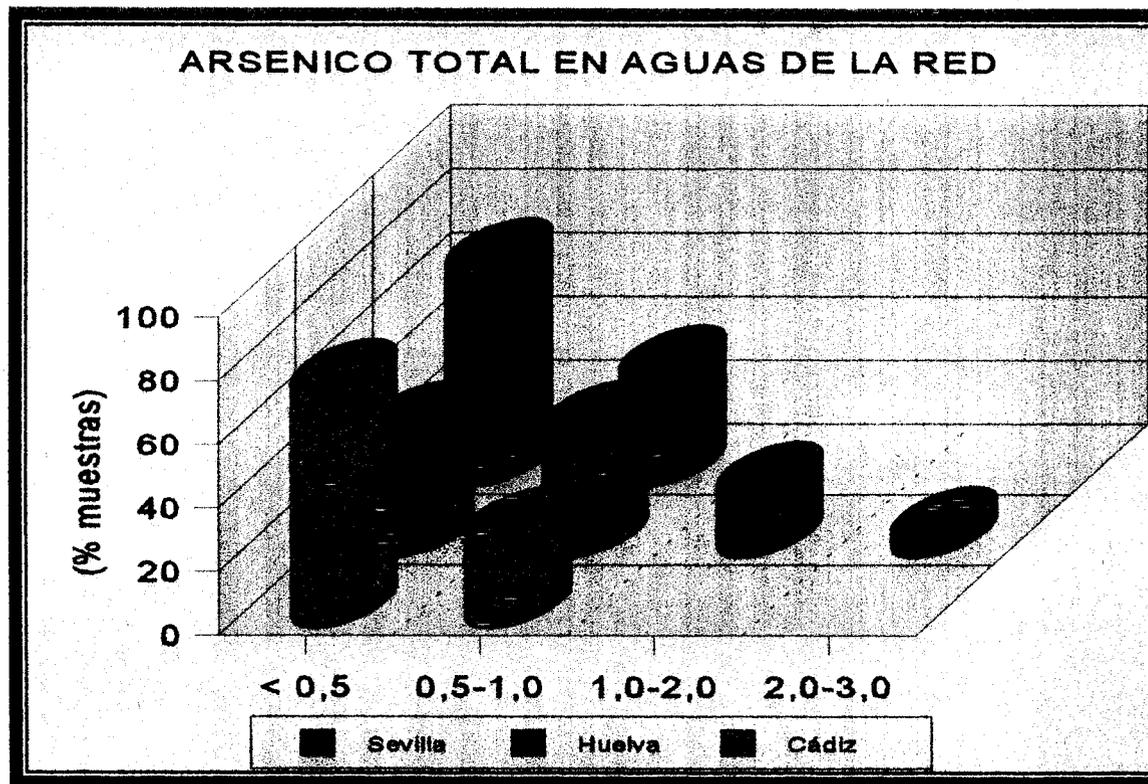


Figura 31.- Distribución porcentual de las muestras de agua de la red según los contenidos de As total.

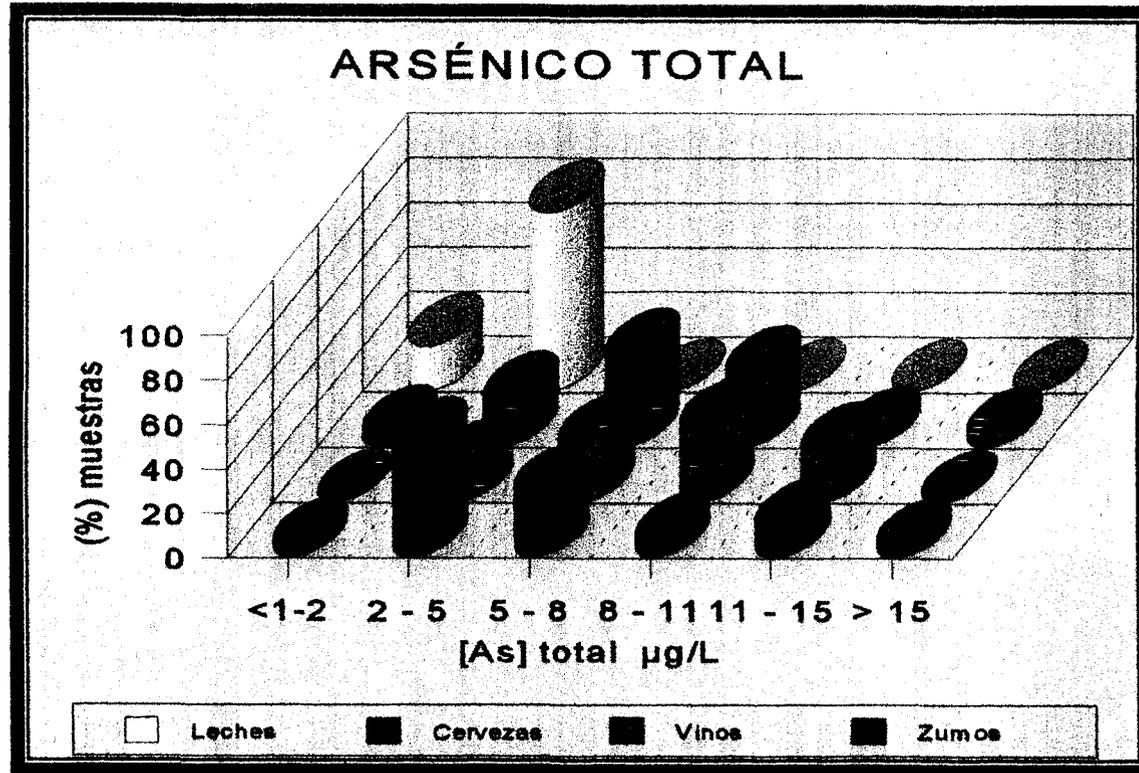


Figura 32.- Distribución porcentual según los contenidos de As total para los diferentes tipos de muestras.

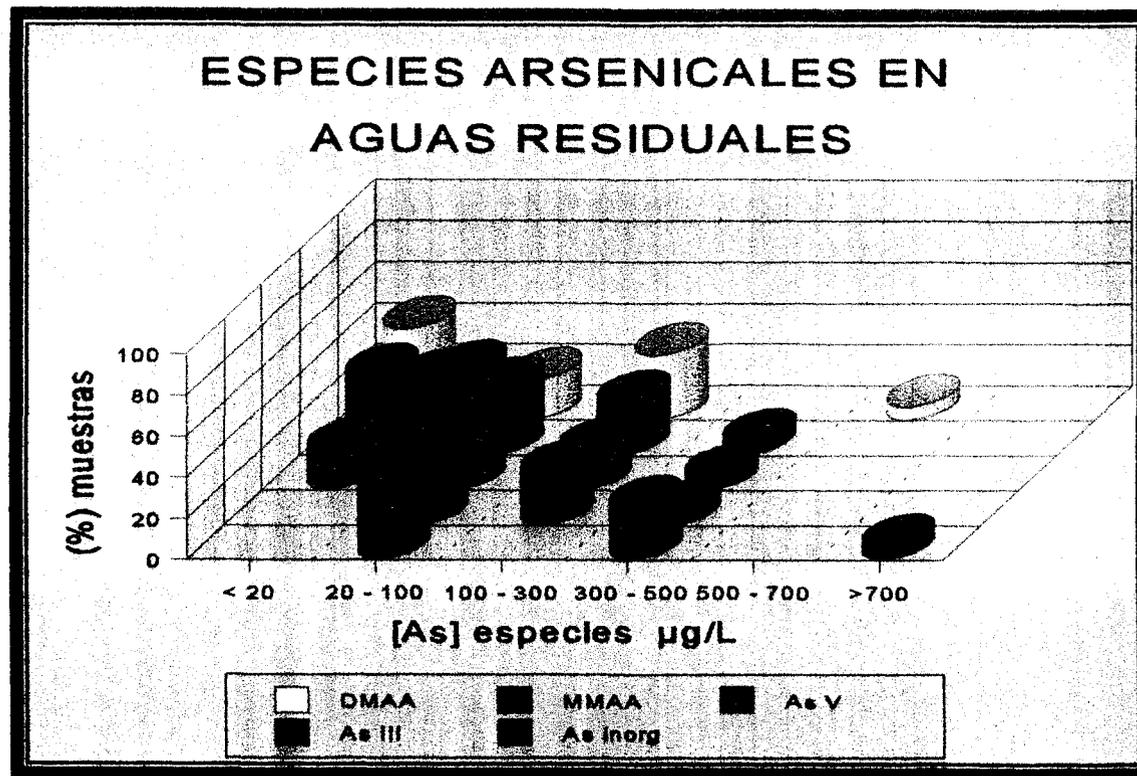


Figura 33.- Distribución porcentual de las muestras de aguas residuales de la ría de Huelva, según los contenidos de las especies arsenicales.

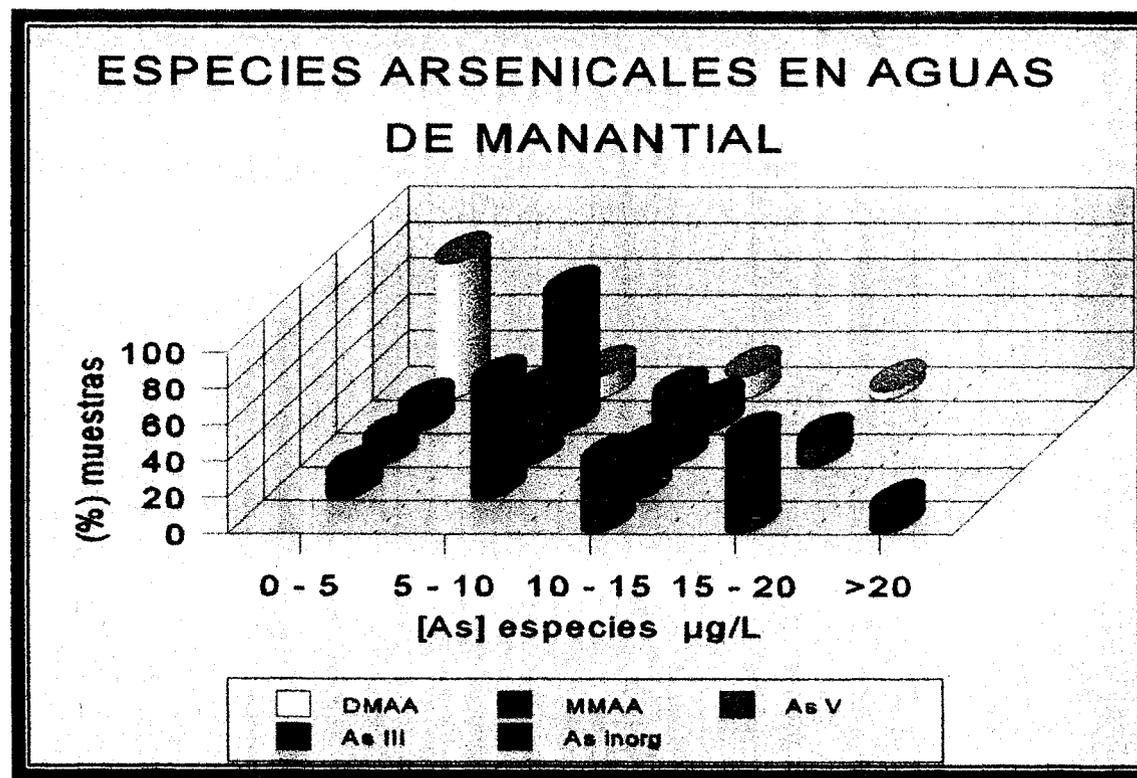


Figura 34.- Distribución porcentual de las muestras de agua del manantial del Pintado según los contenidos de las especies arsenicales.

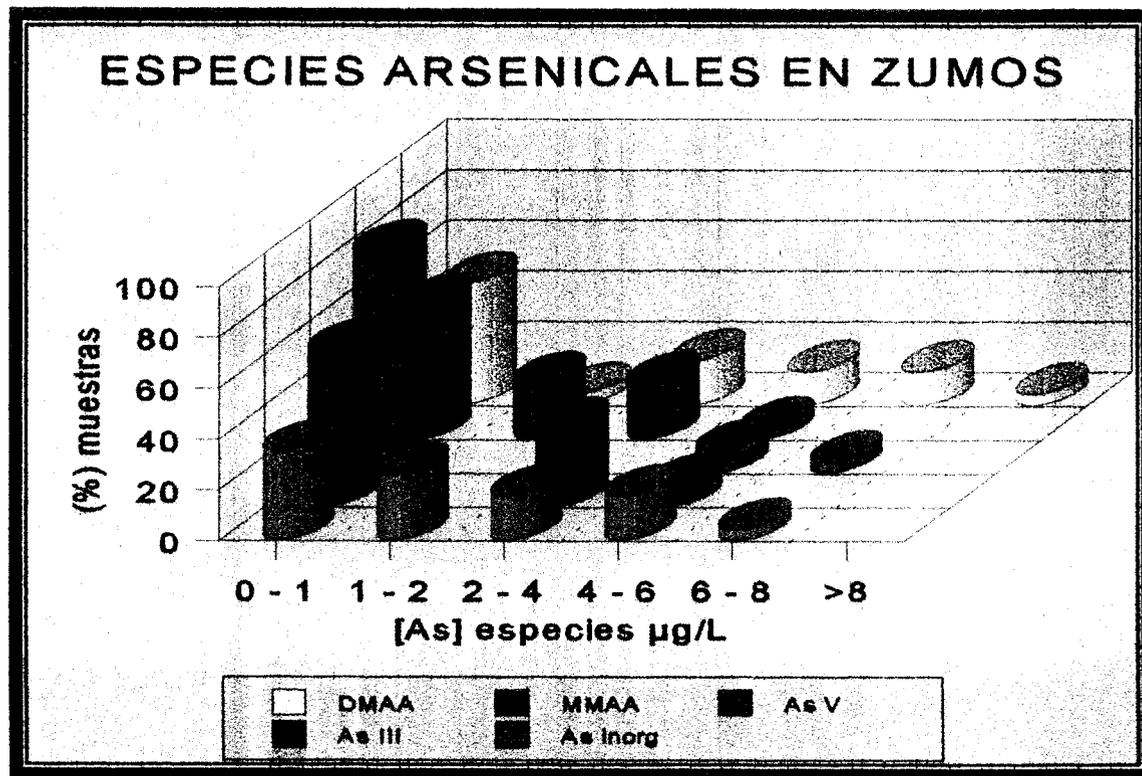


Figura 35.- Distribución porcentual de las muestras de zumos según los contenidos de las especies arsenicales.

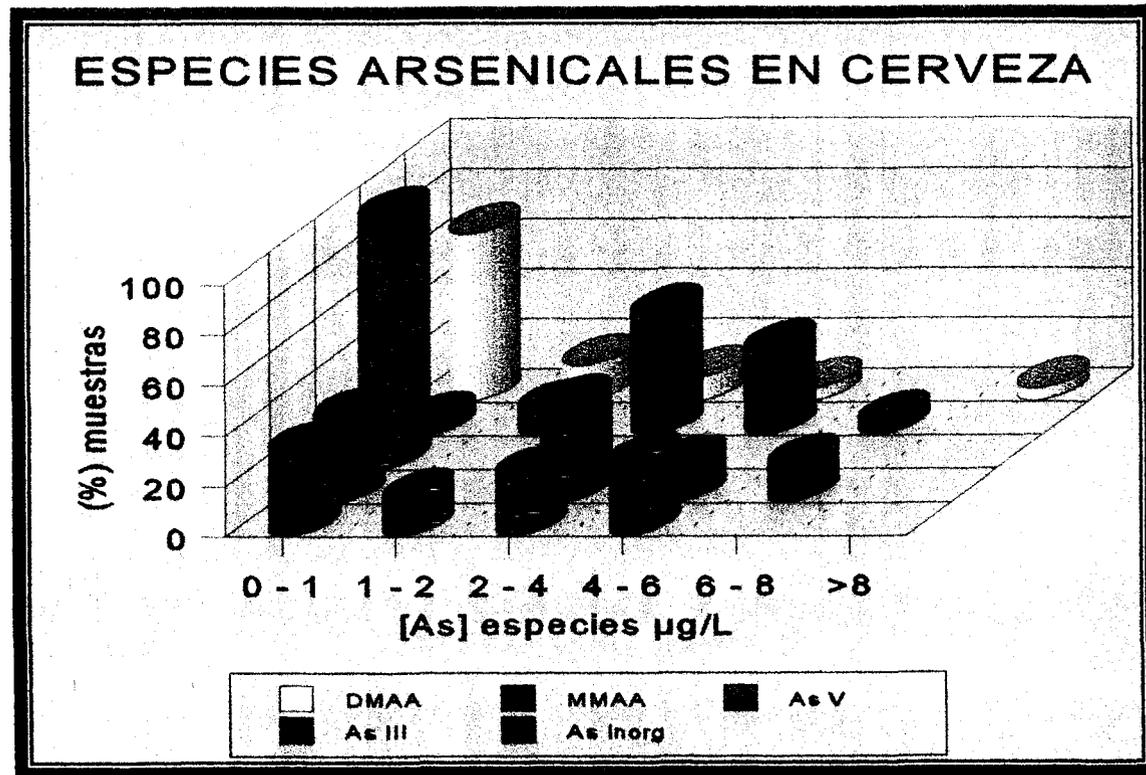


Figura 36.- Distribución porcentual de las muestras de cerveza según los contenidos de las especies arsenicales.

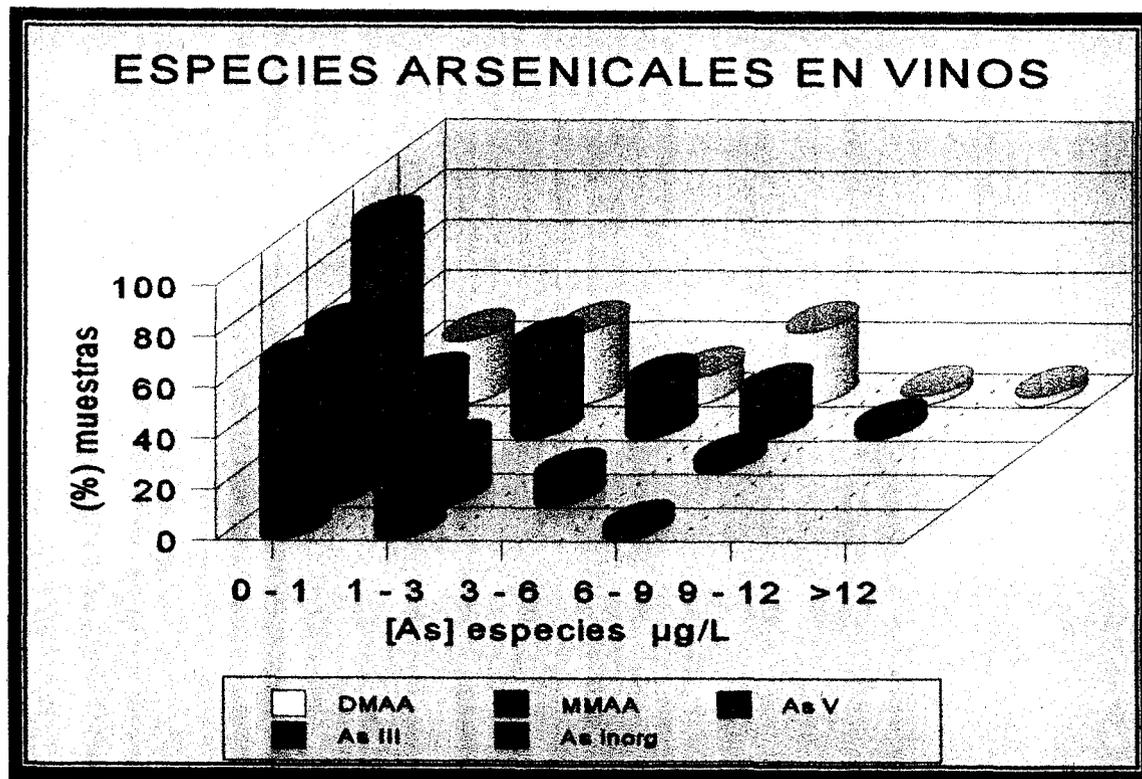


Figura 37.- Distribución porcentual de las muestras de vino blanco según los contenidos de las especies arsenicales.

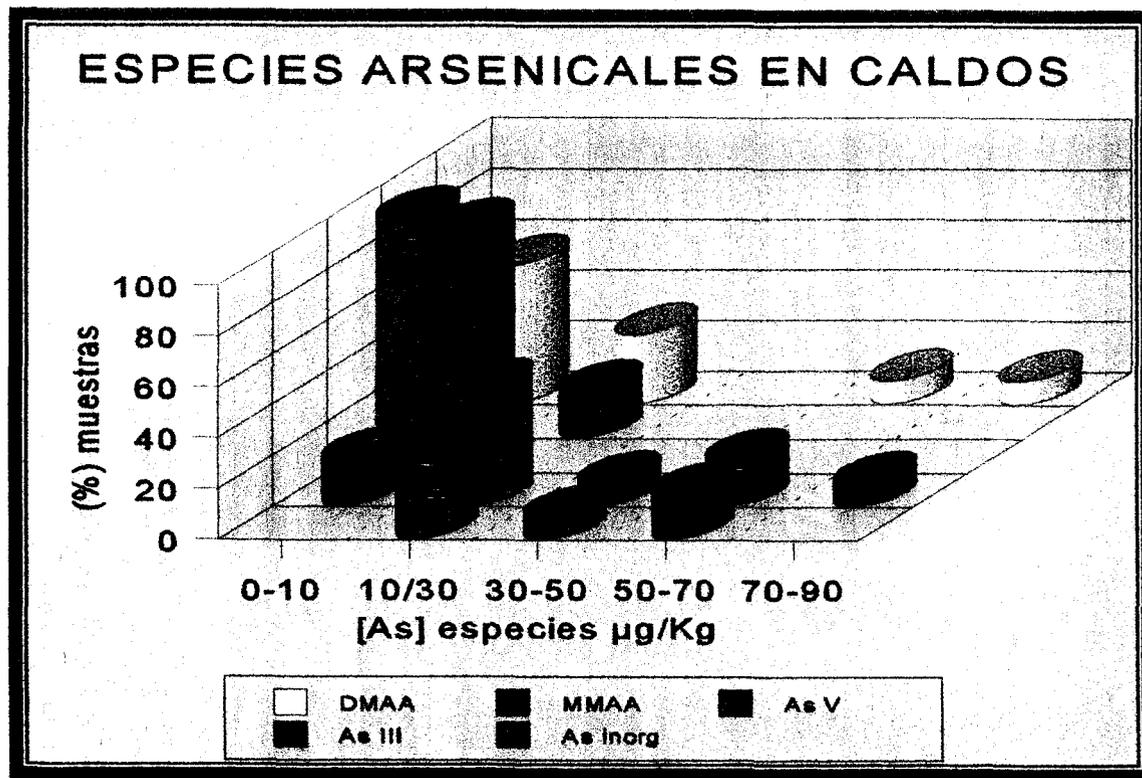


Figura 38.- Distribución porcentual de las muestras de pastillas de caldo según los contenidos de las especies arsenicales.

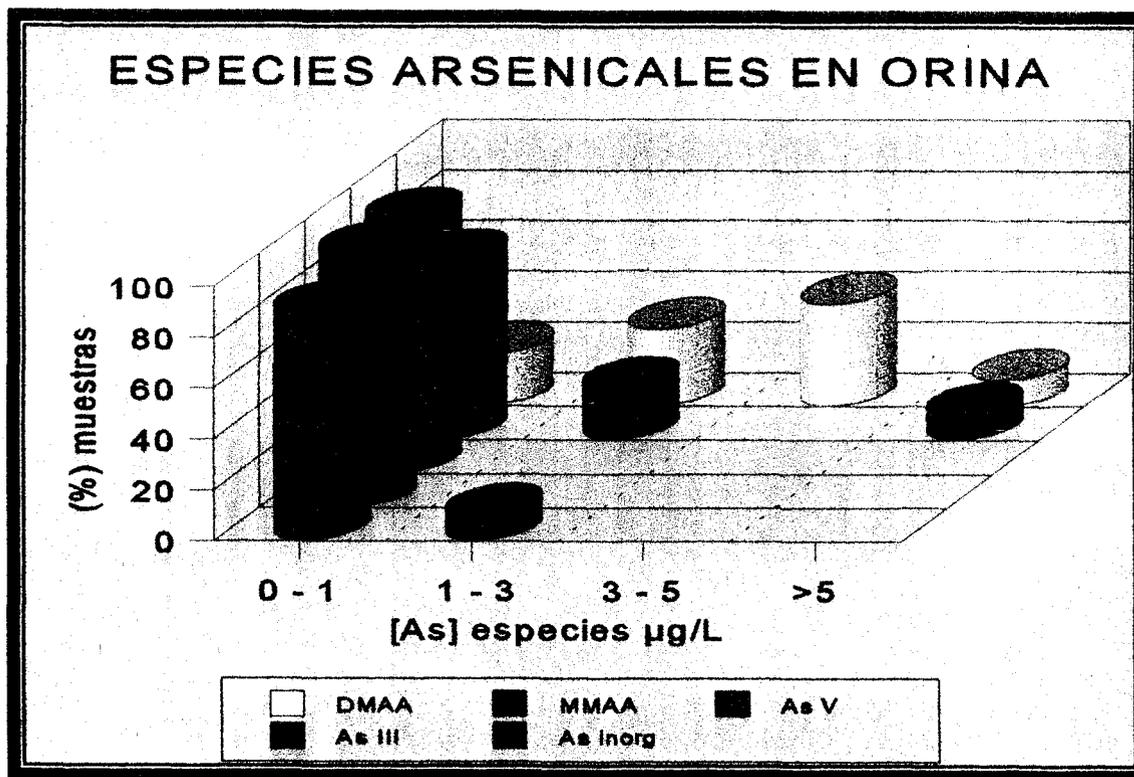


Figura 39.- Distribución porcentual de las muestras de orina según los contenidos de las especies arsenicales.

**Tabla 72.- Ensayos no-paramétricos de distribución de los contenidos de As total en aguas de la red.**

MUESTRA		TEST (nivel de significación)	
		Mann-Whitney	Kolmogorov-Smirnof
Sevilla (n=12)	Huelva (n=21)	0,125	n.s
	Cádiz (n=15)	0,608	n.s
	Málaga (n=5)	0,673	n.s
Huelva	Cádiz	0,050	n.s
	Málaga	0,111	n.s
Cádiz	Málaga	0,760	n.s

**Tabla 73.- Ensayos no-paramétricos de distribución de los contenidos de As total en aguas de consumo de diversos orígenes.**

MUESTRA		TEST (nivel de significación)	
		Mann-Whitney	Kolmogorov-Smirnof
Red (n=53)	Mineral (n=6)	0,969	n.s
	Manantial (n=8)	0,178	n.s
	Pozo (n=6)	0,243	n.s
Mineral	Manantial	0,366	n.s
	Pozo	0,298	n.s
Manantial	Pozo	0,796	n.s

**Tabla 74.- Ensayos no-paramétricos de distribución de los contenidos de As total en bebidas alcoholicas.**

MUESTRA		TEST (nivel de significación)		
		t-student	Mann-Whitney	Kolmogorov-Smirnof
Cervezas con alcohol (n=16)	Cervezas sin alcohol (n=10)	-	0,092	n.s
Mostos (n=8)	Finos (n=10)	0,109	-	-
	Mesa (n=10)	0,234	-	-
Finos	Mesa	0,542	-	-

**Tabla 75.- Ensayos no-paramétricos de distribución de los contenidos de As total en zumos.**

MUESTRA		TEST (nivel de significación)	
		Mann-Whitney	Kolmogorov-Smirnof
Z. Piña (n=4)	Z. Piña-uva (n=4)	0,386	n.s
Z. Piña total (n=8)	Z. melocotón (n=9)	0,083	n.s
	Z. naranja (n=15)	0,628	n.s
Z. melocotón	Z. naranja	0,007	p < 0,05

**Tabla 76.- Ensayos no-paramétricos de distribución de los contenidos de As total en muestras de diferente naturaleza.**

MUESTRA		TEST (nivel de significación)		
		Mann-Whitney	Kolmogorov-Smirnof	
Aguas de consumo (n=73)	Leche (n=5)	0,001	p < 0,001	
	Cerveza total (n=26)	0,000	p < 0,001	
	Vinos total (n=28)	0,000	p < 0,001	
	Zumos			
	Naranja (n=15)	0,000	p < 0,001	
	Melocotón (n=9)	0,000	p < 0,001	
	Piña total (n=8)	0,000	p < 0,001	
Leche (n=5)	Cerveza total	0,002	p < 0,01	
	Vinos total	0,002	p < 0,01	
	Zumos			
		Naranja	0,050	n.s
		Melocotón	0,003	p < 0,01
	Piña total	0,067	n.s	
Cerveza total	Vinos total	0,209	n.s	
	Zumos			
		Naranja	0,001	p < 0,01
		Melocotón	0,821	n.s
	Piña total	0,161	n.s	
Vinos total	Zumos			
		Naranja	0,000	p < 0,01
		Melocotón	0,479	n.s
	Piña total	0,080	n.s	

**Tabla 77.- Ensayos no-paramétricos de distribución de los contenidos de As inorgánico para los distintos tipos de muestras.**

MUESTRA		TEST (nivel de significación)		
		t-Student	Mann-Whitney	Kolmogorov-Smirnof
Cervezas con alcohol (n=11)	Cervezas sin alcohol (n=10)	0,002	-	-
Mostos (n=8)	Finos (n=10)	-	0,013	p < 0,05
	Mesa (n=10)	-	0,120	n.s
Finos	Mesa	-	0,131	n.s
Piña (n=4)	Piña-uva (n=4)	-	0,248	n.s
Piña total (n=8)	Naranja (n=10)	-	0,021	n.s
	Melocotón (n=5)	-	0,608	n.s
Naranja	Melocotón	-	0,043	n.s

**Tabla 78.- Ensayos no-paramétricos de distribución de los contenidos de As inorgánico en muestras de diferente naturaleza.**

MUESTRA			TEST (nivel de significación)		
			Mann-Whitney	Kolmogorov-Smirnof	
Cervezas con alcohol (n=11)	Vinos	Mostos (n=8)	0,409	n.s	
		Finos (n=10)	0,121	n.s	
		Mesa (n=10)	0,673	n.s	
	Zumos	Piña total (n=8)	0,043	n.s	
		Naranja (n=10)	0,647	n.s	
		Melocotón (n=5)	0,141	n.s	
	Cervezas sin alcohol (n=10)	Vinos	Mostos	0,076	n.s
			Finos	0,000	p < 0,001
			Mesa	0,001	p < 0,01
Zumos		Piña total	0,929	n.s	
		Naranja	0,001	p < 0,05	
		Melocotón	0,221	n.s	
Mostos	Zumos	Piña total	0,248	n.s	
		Naranja	0,168	n.s	
		Melocotón	0,558	n.s	
Finos	Zumos	Piña total	0,003	p < 0,01	
		Naranja	0,121	n.s	
		Melocotón	0,003	p < 0,01	
Mesa	Zumos	Piña total	0,019	p < 0,05	
		Naranja	0,850	n.s	
		Melocotón	0,037	n.s	

**Tabla 79.- Ensayos no-paramétricos de distribución de los contenidos de As(III) para los distintos tipos de muestra.**

MUESTRA		TEST (nivel de significación)	
		Mann-Whitney	Kolmogorov-Smirnof
Cervezas con alcohol (n=11)	Cervezas sin alcohol (n=10)	0,003	p < 0,05
Mostos (n=8)	Finos (n=10)	0,286	n.s
	Mesa (n=10)	0,286	n.s
Finos	Mesa	0,940	n.s
Piña (n=4)	Piña-uva (n=4)	0,248	n.s
Piña total (n=8)	Naranja (n=10)	0,722	n.s
	Melocotón (n=5)	0,040	n.s
Naranja	Melocotón	0,003	p < 0,01

**Tabla 80.- Ensayos no-paramétricos de distribución de los contenidos de As(III) en muestras de diferente naturaleza.**

MUESTRA		TEST (nivel de significación)		
		Mann-Whitney	Kolmogorov-Smirnof	
Cervezas con alcohol (n=11)	Vinos (n=28)	0,473	n.s	
	Zumos	Piña total (n=8)	0,680	n.s
		Naranja (n=10)	0,260	n.s
		Melocotón (n=5)	0,027	n.s
Cervezas sin alcohol (n=10)	Vinos	0,000	p < 0,001	
	Zumos	Piña total	0,008	p < 0,05
		Naranja	0,009	p < 0,001
		Melocotón	0,126	n.s

**Tabla 81.- Ensayos no-paramétricos de distribución de los contenidos de As(V).**

MUESTRA		TEST (nivel de significación)	
		Mann-Whitney	Kolmogorov-Smirnof
Cervezas con alcohol (n=11)	Cervezas sin alcohol (n=10)	1,00	n.s
Mostos (n=8)	Finos (n=10)	0,657	n.s
	Mesa (n=10)	0,657	n.s
Finos	Mesa	1,000	n.s
Piña (n=4)	Piña-uva (n=4)	0,773	n.s
Piña total (n=8)	Naranja (n=10)	0,183	n.s
	Melocotón (n=5)	0,272	n.s
Naranja	Melocotón	1,000	n.s
Cervezas total (n=21)	Vinos total (n=28)	0,832	n.s
	Zumos total (n=23)	0,459	n.s
Vinos total	Zumos total	0,570	n.s

**Tabla 82.- Ensayos no-paramétricos de distribución de los contenidos de MMAA para los distintos tipos de muestra.**

MUESTRA		TEST (nivel de significación)		
		t-Student	Mann-Whitney	Kolmogorov-Smirnof
Cervezas con alcohol (n=11)	Cervezas sin alcohol (n=10)	-	0,149	n.s
Mostos (n=8)	Finos (n=10)	0,007	-	-
	Mesa (n=10)	0,204	-	-
Finos	Mesa	0,172	-	-
Piña (n=4)	Piña-uva (n=4)	-	0,564	n.s
Piña total (n=8)	Naranja (n=10)	-	0,062	n.s
	Melocotón (n=5)	-	0,338	n.s
Naranja	Melocotón	-	0,581	n.s

**Tabla 83.- Ensayos no-paramétricos de distribución de los contenidos de MMAA en muestras de diferente naturaleza.**

MUESTRA			TEST (nivel de significación)	
			Mann-Whitney	Kolmogorov-Smirnof
Cervezas Total (n=21)	Zumos total (n=23)		0,000	p < 0,001
	Vinos	Mostos (n=8)	0,001	p < 0,01
		Finos (n=10)	0,183	n.s
		Mesa (n=10)	0,272	n.s
Zumos total	Vinos	Mostos	0,527	n.s
		Finos	0,001	p < 0,01
		Mesa	0,142	n.s

**Tabla 84.- Ensayos no-paramétricos de distribución de los contenidos de DMAA en muestras de diferente naturaleza.**

MUESTRA		TEST (nivel de significación)	
		Mann-Whitney	Kolmogorov-Smirnof
Cervezas con alcohol (n=11)	Cervezas sin alcohol (n=10)	0,378	n.s
Mostos (n=8)	Finos (n=10)	0,859	n.s
	Mesa (n=10)	0,564	n.s
Finos	Mesa	0,678	n.s
Piña (n=4)	Piña-uva (n=4)	0,194	n.s
Piña total (n=8)	Naranja (n=10)	0,350	n.s
	Melocotón (n=5)	0,464	n.s
Naranja	Melocotón	0,142	n.s
Cervezas total (n=21)	Vinos total (n=28)	0,010	p < 0,01
	Zumos total (n=23)	0,438	n.s
Vinos total	Zumos total	0,125	n.s

**Tabla 85.- Ensayos no-paramétricos de distribución de los contenidos de las diferentes especies arsenicales en muestras de caldos.**

ESPECIE	MUESTRA		TEST (nivel de significación)	
			Mann-Whitney	Kolmogorov-Smirnof
<b>As total</b>	C. Pescado (n=3)	C. Ave (n=4)	0,034	n.s
		C. Carne (n=3)	0,050	n.s
	C. Ave	C. Carne	0,480	n.s
<b>As inorg</b>	C. Pescado	C. Ave	0,077	n.s
		C. Carne	0,127	n.s
	C. Ave	C. Carne	0,157	n.s
<b>As (III)</b>	C. Pescado	C. Ave	0,034	n.s
		C. Carne	0,050	n.s
	C. Ave	C. Carne	0,052	n.s
<b>As (V)</b>	C. Pescado	C. Ave	1,000	n.s
		C. Carne	1,000	n.s
	C. Ave	C. Carne	1,000	n.s
<b>MMAA</b>	C. Pescado	C. Ave	0,289	n.s
		C. Carne	1,000	n.s
	C. Ave	C. Carne	0,289	n.s
<b>DMAA</b>	C. Pescado	C. Ave	0,339	n.s
		C. Carne	0,050	n.s
	C. Ave	C. Carne	0,723	n.s

**Tabla 86.- Ensayos no-paramétricos de distribución de los contenidos de las distintas especies arsenicales en muestras de agua de la ría de Huelva. Marea alta (n=10), baja (n=6).**

ESPECIE	TEST (nivel de significación)	
	Mann-Whitney	Kolmogorov-Smirnof
As Total	0,007	p < 0,05
As inorg	0,007	p < 0,05
As (III)	0,017	p < 0,05
As (V)	0,001	p < 0,01
MMAA	0,002	p < 0,01
DMAA	0,017	n.s

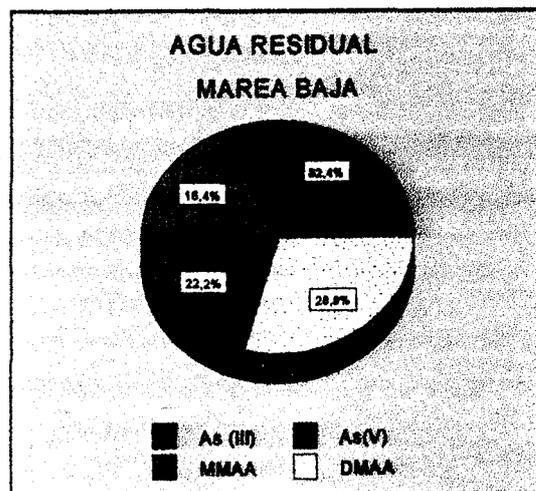
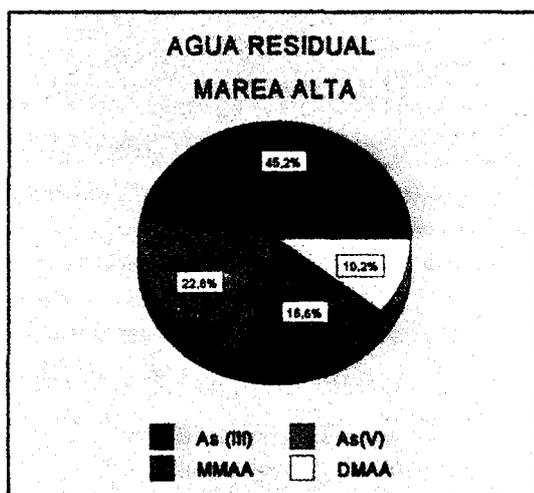
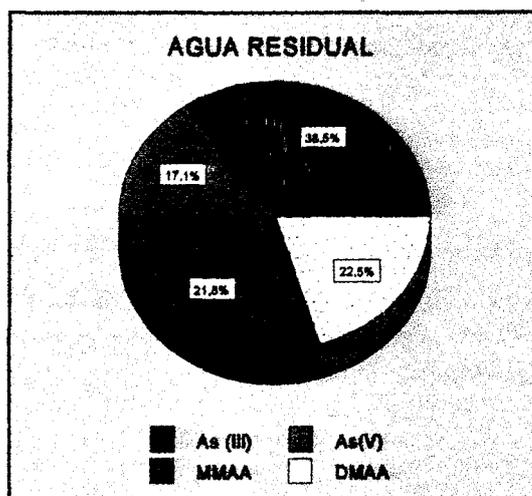


Figura 40.- Contribución (%) de las especies arsenicales al contenido de As total en aguas residuales.

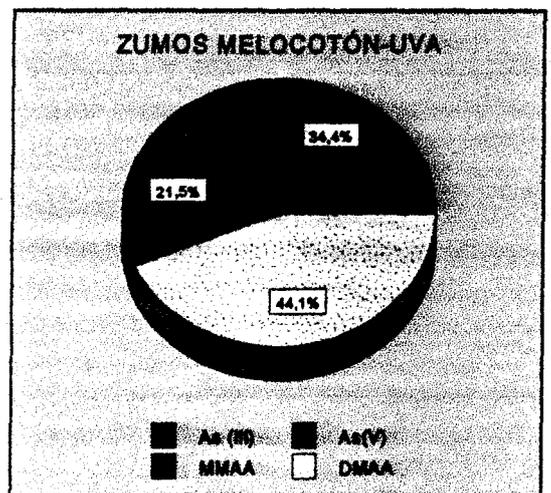
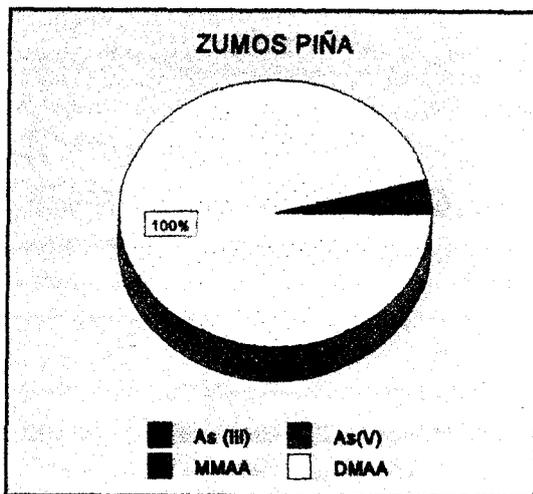
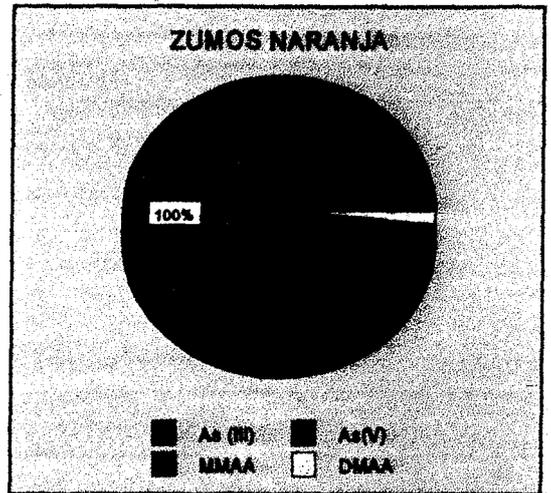
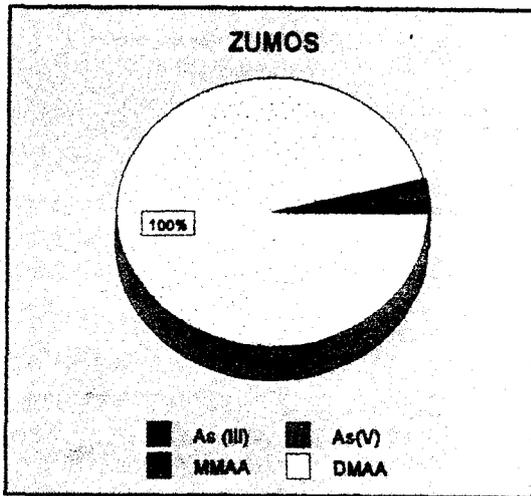


Figura 41.- Contribución (%) de las especies arsenicales al contenido de As total en zumos.

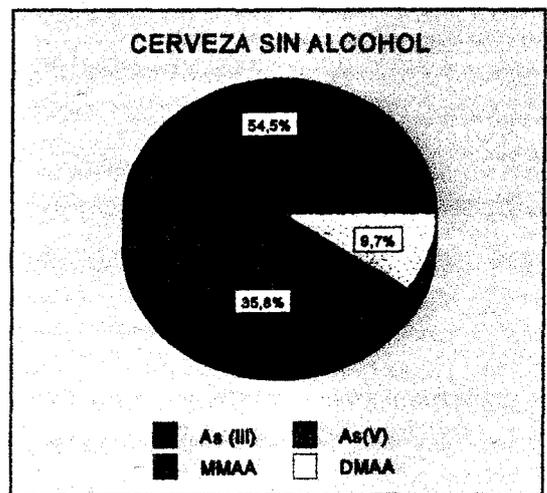
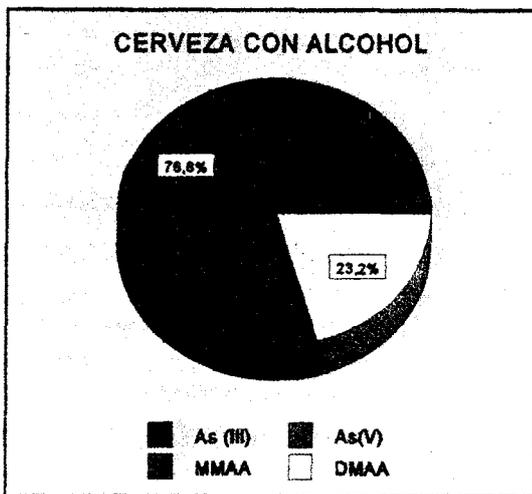
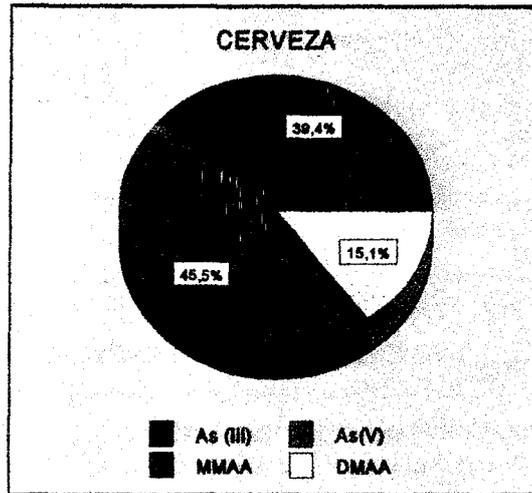


Figura 42.- Contribución (%) de las especies arsenicales al contenido de As total en cervezas.

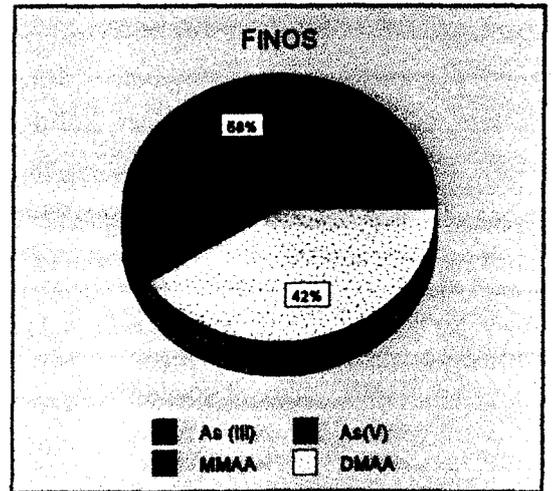
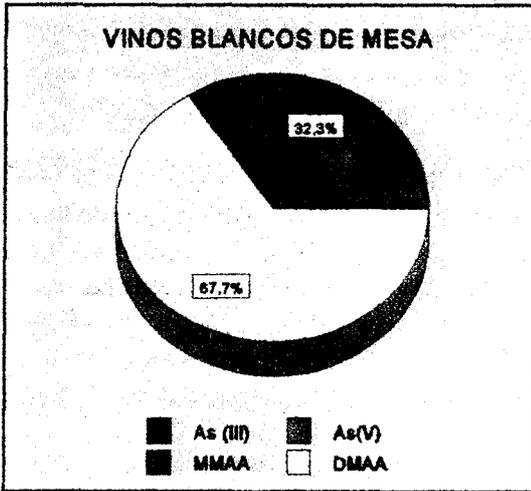
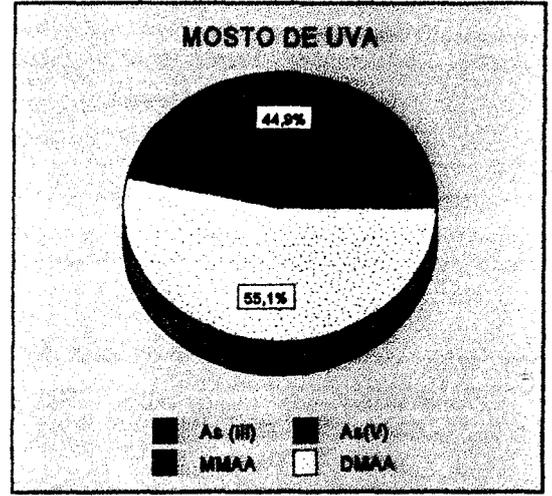
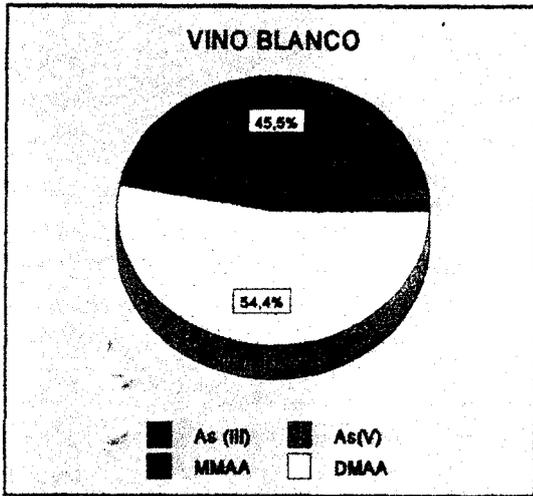


Figura 43.- Contribución (%) de las especies arsenicales al contenido de As total en vinos.

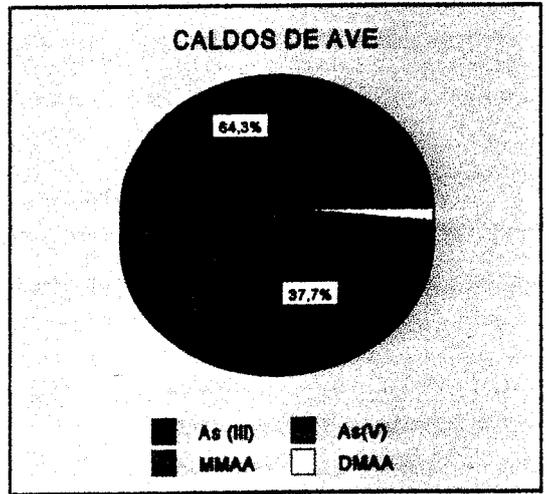
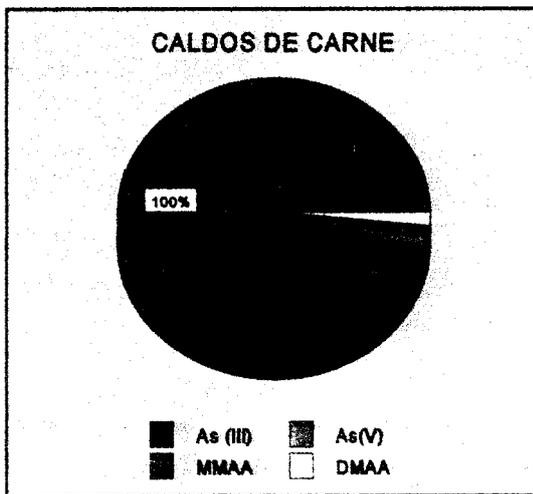
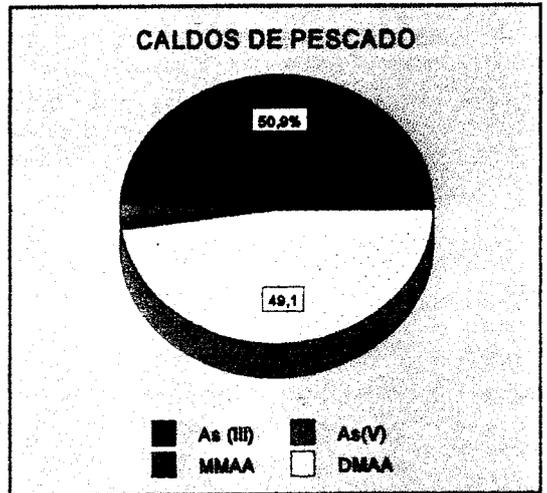
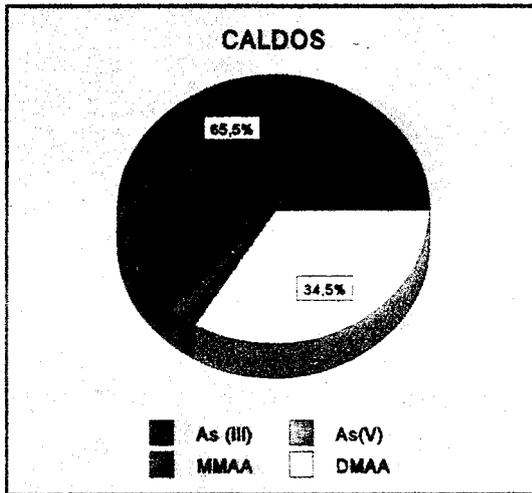


Figura 44.- Contribución (%) de las especies arsenicales al contenido de As total en caldos.

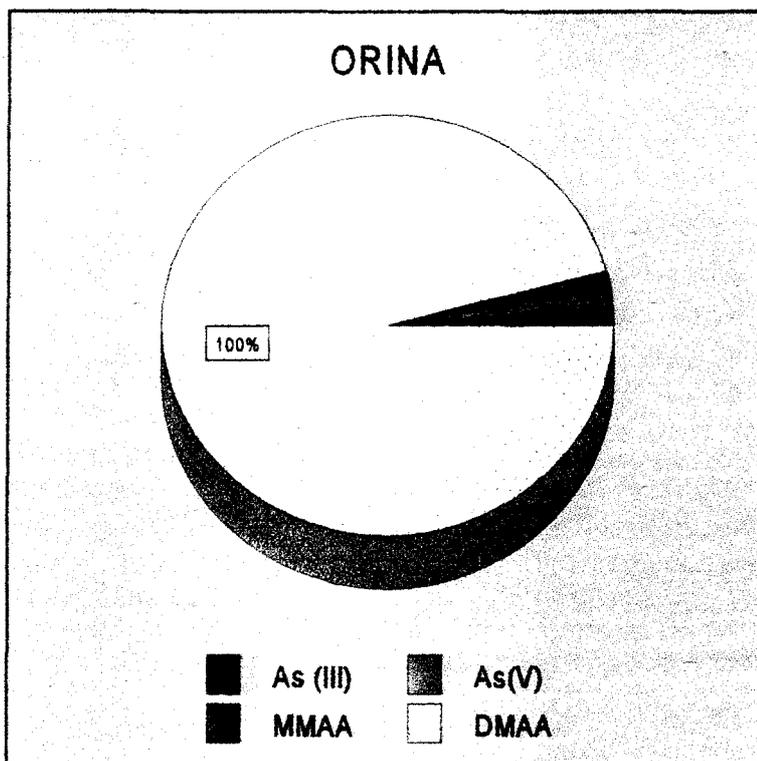


Figura 45.- Contribución (%) de las especies arsenicales al contenido de As total en muestras de orina.

**Tabla 87.- Consumo diario de As total y de las especies arsenicales a través de distintas fuentes ( $\mu\text{g}/\text{persona}/\text{día}$ ).**

<b>ESPECIE</b>	<b>CERVEZA</b>	<b>VINO DE MESA</b>	<b>FINOS</b>	<b>MOSTOS</b>	<b>CALDOS</b>	<b>ZUMOS</b>
As inorgánico	0,136	0,014	0,000	0,043	0,174	0,070
As(III)	0,153	0,000	0,000	0,000	0,158	0,000
As(V)	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
MMAA	0,177	0,054	0,013	0,054	0,000	0,000
DMAA	0,059	0,113	0,010	0,066	0,083	0,053
As total (suma)	0,472	0,224	0,027	0,189	0,282	0,156
As total(Directo)	0,467	0,224	0,030	0,180	0,282	0,179

**Tabla 88.- Consumo diario de As total a través de distintas fuentes ( $\mu\text{g}/\text{persona}/\text{día}$ ).**

<b>ESPECIE</b>	<b>LECHE</b>	<b>AGUA DE LA RED</b>	<b>AGUA MINERAL</b>	<b>AGUA DE MANATIAL</b>
As total	0,623	0,880	0,0003	0,0003

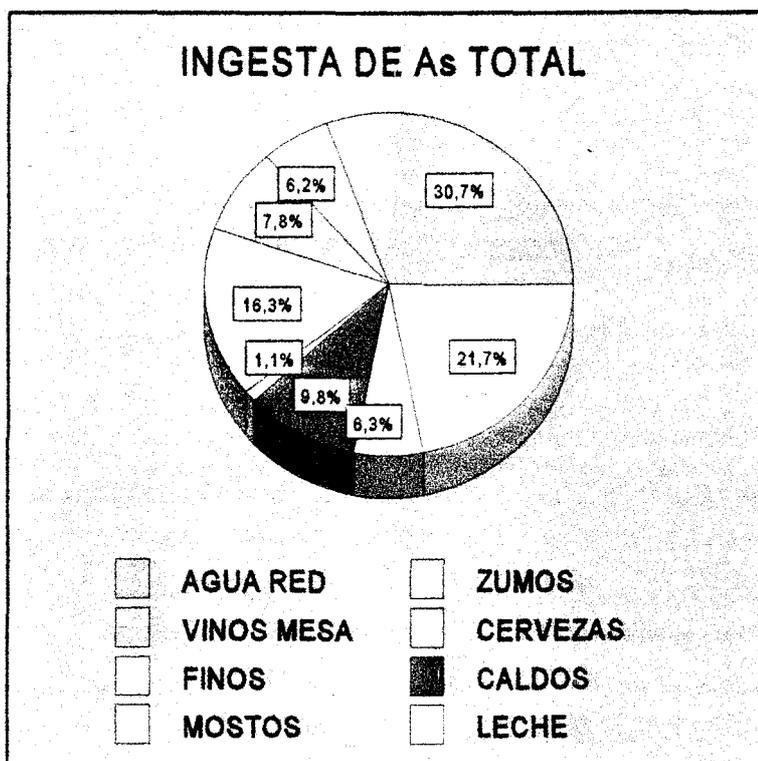


Figura 46.- Contribución de cada tipo de muestra (%) a la ingesta de As Total.

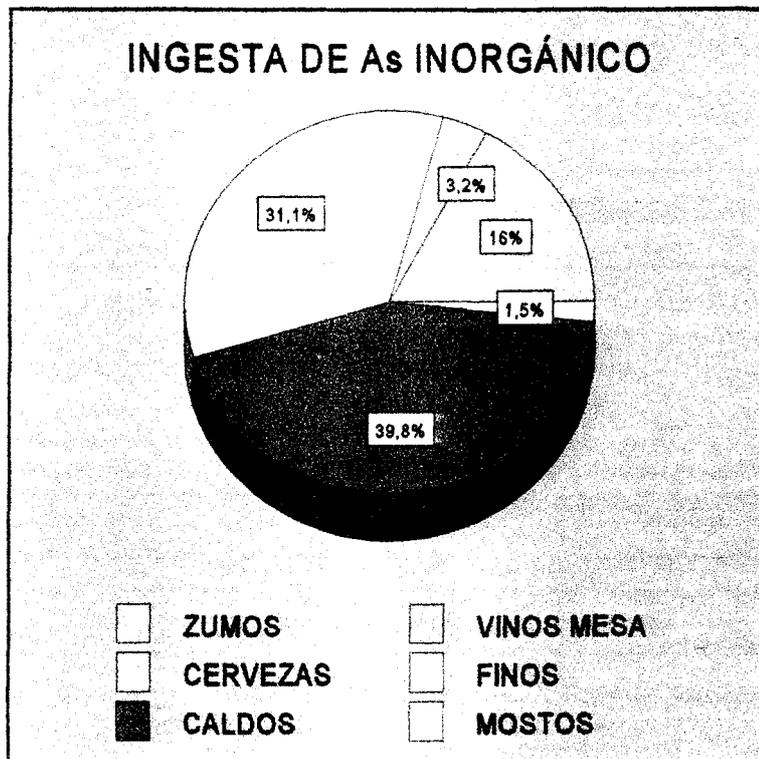


Figura 47.- Contribución de cada tipo de muestra (%) a la ingesta de As Inorgánico.

**Tabla 89.- Ingesta de As total y de las especies arsenicales a través del consumo de cerveza ( $\mu\text{g}/\text{persona}/\text{día}$ ).**

ESPECIE	Consumo de cerveza		
	0,2 L/día (1 caña)	0,6 L/día (3 cañas)	1,5 L/día
As inorgánico	0,46	1,38	3,45
As(III)	0,52	1,56	3,90
As(V)	-	-	-
MMAA	0,60	1,80	4,50
DMAA	0,20	0,60	1,50
As total	1,58	4,74	11,85

Tabla 90.- Ingesta de As total y de las especies arsenicales a través del consumo de vinos blancos ( $\mu\text{g}/\text{persona}/\text{día}$ ).

ESPECIE	Mosto		Vino de mesa		Vino Fino	
	0,14 L/día (2 copas)	1 L/día	0,14 L/día (2 copas)	1 L/día	0,05 L/día (1 copa)	0,1 L/día (2 copas)
As inorgánico	0,22	1,60	0,07	0,50	-	-
As(III)	-	-	-	-	-	-
As(V)	-	-	-	-	-	-
MMAA	0,28	2,00	0,28	2,00	0,22	0,43
DMAA	0,34	2,45	0,59	4,20	0,16	0,31
As total	0,94	6,70	1,20	8,30	0,50	1,01

## **DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS**

### **MÉTODO ANALÍTICO PARA LA DETERMINACIÓN DE AS TOTAL**

Una vez ajustadas las condiciones del método analítico para la determinación de As total en las muestras de agua, el límite de detección ( $0,38 \mu\text{g/L}$ ), la exactitud (10%) y la precisión (coeficiente de variación de 6,2-6,8%) que se obtienen cumplen los requisitos necesarios que establece la propuesta de Directiva del Consejo de la CEE para su aplicación a aguas de consumo público (95/C 131/03; DOCE 30/05/95).

El límite de detección obtenido por nosotros, es similar al conseguido por otros autores que analizaron el contenido de As en aguas de río utilizando generación de hidruros acoplada a AAS mediante un sistema de inyección de flujo (Narasaki y Ikeda, 1984); así como el obtenido por Hudnik y Gomiseck (1984),  $0,2 \mu\text{g/L}$ , utilizando AAS con horno de grafito, para el análisis de aguas minerales.

De la misma forma, el método analítico aplicado a la determinación de As total en los restantes grupos de muestras, proporciona un límite de detección satisfactorio ( $1,5 \mu\text{g/L}$ ).

Respecto a la precisión, los coeficientes de variación están dentro de los intervalos permisibles para los rangos de concentración, y el porcentaje de recuperación es alto.

Aplicando el método de determinación de As total a las muestras elegidas, se ha pretendido conocer si éstas cumplen lo establecido por la legislación vigente, comparar los resultados obtenidos con los encontrados en la bibliografía existente

y estimar los niveles de exposición de la población de nuestra región a través de su consumo.

### **PRESENCIA DE AS TOTAL**

#### **1).- Aguas de consumo:**

El valor medio del contenido de As total obtenido para la totalidad de las **aguas de la red**, recolectadas fundamentalmente en Andalucía occidental, fué de 0,46  $\mu\text{g/L}$  (Tabla 33). Este nivel es notablemente inferior al máximo admisible en aguas potables de consumo público, de 50  $\mu\text{g/L}$ , establecido por la legislación vigente (RD 1138/20 septiembre 1990; directiva 80/778/CEE). De igual forma, este valor es inferior al límite recomendado (10  $\mu\text{g/L}$ ) en la propuesta de directiva del Consejo relativa a la calidad de las aguas destinadas al consumo humano (95/C 131/03; DOCE 30/05/95).

Además los datos obtenidos son similares a los observados por otros autores para aguas naturales (lagos y ríos) no contaminadas de USA; 1  $\mu\text{g/L}$  (Mann y Knobel, 1988) y 0,5  $\mu\text{g/L}$  (Andreade, 1983, 1984); e inferiores a los encontrados para este tipo de aguas en Europa: 2,5  $\mu\text{g/L}$  (Lenvik y cols., 1978), 3  $\mu\text{g/L}$  (Quentin y Winkler, 1974), 3,2  $\mu\text{g/L}$  (Freitas y cols., 1988), 3,67  $\mu\text{g/L}$  (Navarro y cols., 1993), 9,58  $\mu\text{g/L}$  (Stein y cols., 1980)

El rango de concentraciones obtenido con las aguas de la red tomadas de la provincia de Huelva es más amplio que para las otras provincias, desde ND a 2,77  $\mu\text{g/L}$ . Como se observa en la Figura 31, el 38% de las muestras tenían < 0,5  $\mu\text{g/L}$ , otro 38% se encontraba en el rango de 0,5-1  $\mu\text{g/L}$ , e incluso un 24% superó 1  $\mu\text{g/L}$ .

Esto contrasta con lo observado en las aguas de Sevilla y Cádiz, para las que el contenido de As total fué inferior a 0,5  $\mu\text{g/L}$  en el 67% y 73% de las muestras, respectivamente, no existiendo además ninguna muestra por encima de 1  $\mu\text{g/L}$ .

Si se tienen en cuenta las diferentes provincias de muestreo, podemos decir, tanto si tomamos como parámetro estadístico el valor medio o la mediana de los resultados, que las muestras de mayor contenido de As son las pertenecientes a la provincia de Huelva, seguidas en orden decreciente por las de Sevilla, Cádiz y Málaga, aunque del contraste estadístico se deduce que no existen diferencias significativas, atendiendo al origen de las muestras (Tabla 72).

Teniendo en cuenta la mediana, como medida más representativa de la dispersión de los datos (Tabla 33), se podría establecer el siguiente orden en cuanto al contenido de As total para los distintos tipos de aguas de consumo analizadas (mineral, pozo y manantial):

agua de pozo  $\approx$  agua de manantial  $>$  agua mineral  $\approx$  agua de la red.

Sin embargo, los ensayos no-paramétricos de distribución demuestran que no difieren de forma significativa (Tabla 73).

En cuanto a las aguas de pozo, los niveles recogidos en la literatura varían de unas zonas a otras, existiendo regiones en las que han sido muy elevados (incluso de varios miles de  $\mu\text{g/L}$ ), dando lugar a intoxicaciones crónicas de la población expuesta (Tabla 9). Los niveles obtenidos por nosotros están muy por debajo de las concentraciones observadas en estos casos.

Se han encontrado en la bibliografía estudios referentes al contenido de As total en aguas minerales, en los que los rangos de concentración son mucho más amplios que el observado por nosotros ( $0,0-1,0 \mu\text{g/L}$ ):  $0,02-55 \mu\text{g/L}$  para aguas embotelladas de Slovenia (Hudnik y Gomiscek, 1984);  $< 0,3-35,1 \mu\text{g/L}$  para 50 muestras de Alemania, Suecia, Yugoslavia y Francia (Meiner y cols., 1990);  $1-190 \mu\text{g/L}$ , para aguas minerales comercializadas en la CEE, siendo el valor medio de  $21 \mu\text{g/L}$  (Zoeteman y Brinknan, 1976).

## **2).- Zumos:**

En el caso de los zumos, el contenido medio de As total fué de  $5,63 \mu\text{g/L}$ , nivel que se encuentra por debajo del límite permitido para zumos o jugos por la

Legislación Alimentaria Española (LAE), de 300  $\mu\text{g}/\text{l}$ . El rango de concentraciones fué de 0,90 a 15,60  $\mu\text{g}/\text{L}$  (Tabla 34).

Si se tienen en cuenta los datos de As total obtenidos, y utilizando la mediana como medida más representativa de los mismos, para los diferentes tipos de zumos se podría establecer el siguiente orden decreciente:

Z. melocotón > Z. piña (piña y piña-uva) > Z. naranja.

El estudio estadístico comparativo indica la existencia de diferencias significativas en cuanto al contenido de As entre los zumos de melocotón y naranja (Tabla 75).

En cuanto a los zumos de piña y piña-uva, observando tanto los valores medios, las medianas y así como los rangos, se deduce que los niveles de As total son superiores para los de piña-uva. Esto podría explicarse por el uso de pesticidas arsenicales en el cultivo de la vid. Sin embargo los ensayos estadísticos de comparación muestran que las diferencias no son significativas.

Contreras y cols. (1987) estudian el contenido de As en 40 zumos de manzana usados para la elaboración de sidra, encontrando igual que en nuestro caso que no superaban lo establecido por la LAE, ya que siempre era inferior a 50  $\mu\text{g}/\text{L}$ . Otros autores también han estudiado el contenido de As total en zumos, pero expresan los resultados en  $\mu\text{g}/\text{Kg}$ , lo cual impide hacer comparaciones (Arnold 1988, Dabeka y Lacroix, 1987).

### 3).- Leche:

El valor medio de As total encontrado en las muestras de leche estudiadas es de 2,58  $\mu\text{g}/\text{L}$ , siendo el rango de 1,5 a 3,8  $\mu\text{g}/\text{L}$  (Tabla 34). La dispersión de los valores es escasa, y en el 80% de las muestras la concentración de As oscila entre 2-5  $\mu\text{g}/\text{L}$  (Figura 32).

De la misma forma que para el caso de los zumos, los datos existentes en la bibliografía acerca de los niveles de As encontrados por otros autores en este tipo

de muestra se dan en  $\mu\text{g}/\text{Kg}$ .

#### **4).- Cerveza:**

Con respecto a nuestras muestras de cerveza la concentración media fué de  $7,82 \mu\text{g}/\text{L}$ , y el rango de  $1,50-28,40 \mu\text{g}/\text{L}$  (Tabla 34).

Al igual que para los otros grupos de muestras, todas las cervezas estudiadas poseen un contenido de As total inferior al máximo establecido por la LAE, de  $100 \mu\text{g}/\text{L}$ .

Según Binns y cols. (1987), el contenido de As total en cervezas es inferior a  $20 \mu\text{g}/\text{L}$ , hecho que se cumple en nuestro caso para todas las muestras con excepción de una cerveza sin alcohol cuyo contenido fué de  $28,4 \mu\text{g}/\text{L}$ .

Si se tiene en cuenta la riqueza alcohólica, las cervezas con alcohol presentaron una concentración media de As menor ( $6,56 \mu\text{g}/\text{L}$ ) que las cervezas sin alcohol ( $9,84 \mu\text{g}/\text{L}$ ), aunque de nuevo, según el estudio estadístico no existen diferencias significativas entre ambos grupos con respecto a esta variable (Tabla 74).

#### **5).- Vinos:**

En las muestras de vino, el nivel medio de As para la totalidad de ellas fué de  $8,3 \mu\text{g}/\text{L}$  (Tabla 34), valor muy por debajo del máximo establecido por la LAE ( $500 \mu\text{g}/\text{L}$ ).

Aunque tampoco en este caso existan diferencias significativas en cuanto al contenido de As total entre los diferentes tipos de vinos (Tabla 74), se puede establecer el siguiente orden según la presencia del elemento (ya sea según tomando la media o la mediana como parámetro estadístico):

Finos > vinos de mesa > mostos.

Garrido y cols. (1974) estudian el contenido de As total de mostos y vinos, obteniendo un rango de concentración de  $0-30 \mu\text{g}/\text{L}$ , algo más amplio que

el obtenido por nosotros (2,1-14,6  $\mu\text{g/L}$ ). Estos autores además observan que el 57% de las muestras contienen  $< 10 \mu\text{g/L}$  As; en nuestro caso aproximadamente el 67% de las muestras cumplen esta condición.

Esto concuerda con el estudio de Hadson (1984), el cual encuentra, para vinos blancos y tintos no tratados con plaguicidas arsenicales niveles  $< 10 \mu\text{g/L}$ , mientras que para vinos tratados con arseniato de plomo las concentraciones están en el rango de 10-300  $\mu\text{g/L}$ .

En nuestro caso, el rango de concentración encontrado para los mostos es de 2,4-10,0  $\mu\text{g/L}$ , algo más estrecho que el publicado por Aguilar y cols.(1988), de 3,5 a 23,1  $\mu\text{g/L}$ .

#### **6).- Caldos:**

Por último, las pastillas de caldo analizadas presentaron un valor medio de As de 0,053  $\mu\text{g/g}$ .

Para los caldos de pescado el valor medio del contenido de As total fué de 0,106  $\mu\text{g/g}$ , mientras que los de los caldos de carne y ave fueron inferiores, 0,029 y 0,027  $\mu\text{g/g}$ , respectivamente (Tabla 34).

Se podría establecer el siguiente orden según el contenido de As total (tomando tanto la media como la mediana como parámetro estadístico):

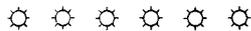
C. pescado  $>$  C. carne  $\approx$  C. ave.

Esto se explica debido a que, como es conocido, el pescado y los moluscos presentan una gran capacidad de acumular arsénico en sus tejidos aún cuando las concentraciones del elemento en el agua son bajas (Naqvi y cols., 1990). De hecho, estos conforman el grupo de alimentos que contribuye principalmente a la ingesta de arsénico (Ishinishi y cols., 1986; Dabeka y cols., 1993), seguido de las carnes y aves.

Según los ensayos estadísticos de comparación realizados, únicamente existen

diferencias significativas entre los contenidos de As total de los caldos de pescado y ave (Tabla 85).

No hemos encontrado en la bibliografía consultada datos sobre el contenido de As total en este tipo de muestras.



Si se consideran los diferentes grupos de muestras analizadas, (excepto los caldos), se puede establecer, utilizando los valores de las medianas, el siguiente orden decreciente de presencia del elemento:

Vinos > cervezas > Z. melocotón > Z. piña total > Z. naranja > leche > aguas de consumo.

Este mismo orden decreciente para las muestras estudiadas se establece atendiendo al valor medio de As total, empleado anteriormente, para poder comparar los resultados con los encontrados en la bibliografía.

No se tienen en cuenta, en vinos y cervezas las diferentes modalidades por separado, por no existir diferencias significativas entre éstas.

En cuanto a los resultados obtenidos tras la aplicación de los ensayos no-paramétricos de distribución, se puede decir que los contenidos de As de las aguas de consumo estudiadas son significativamente inferiores ( $p < 0,001$ ) a los observados para el resto de las muestras. Lo mismo ocurre con las leches, cuyos contenidos únicamente son similares (no hay diferencias significativas) a los de los zumos de naranja y piña (total de las muestras) (Tabla 76).

Respecto a la presencia del elemento en muestras de cerveza y vinos, sólo difiere significativamente de la existente en zumos de naranja.

Ahora bien, se pueden observar algunas diferencias en la distribución porcentual de las muestras que poseen unos determinados niveles de As, en función de la naturaleza de las mismas (Figura 32):

- Así, en los vinos, la distribución porcentual de las muestras es la más amplia de todas, encontrándose que hasta un 53,5% de las mismas posee niveles superiores a 8  $\mu\text{g/L}$ .

- En cervezas, un 38,5% de las muestras tienen una concentración comprendida en el rango de 5 a 8  $\mu\text{g/L}$ , y un porcentaje igual (38,4%) tiene contenidos de más de 8  $\mu\text{g/L}$ .

- En zumos, aproximadamente el 50% de las muestras totales (48,55%) posee una concentración comprendida en el rango de 2-5  $\mu\text{g/L}$ , un 27,3% entre 5-8  $\mu\text{g/L}$  y un 21% de más de 8  $\mu\text{g/L}$ .

### **MÉTODO ANALÍTICO DE ESPECIACIÓN**

El método de especiación propuesto proporciona una recuperación satisfactoria para las cuatro especies consideradas, superando en cada una de ellas el valor límite establecido del 75% para la validación del método.

Los límites de detección obtenidos de 0,6, 2,1, 3,7, 2,0 y 0,7  $\mu\text{g/L}$  para As inorgánico, As(III), As(V), MMAA y DMAA, respectivamente, son inferiores a los obtenidos por Grabinski y cols. (1981) utilizando cromatografía de intercambio iónico y posterior determinación por GF-AAS (10  $\mu\text{g/L}$ , para As inorgánico, MMAA y DMAA). Más tarde, Buratti y cols. (1983) aplican un procedimiento similar logrando límites de detección muy inferiores (0,5  $\mu\text{g/L}$ , para As inorgánico, MMAA y DMAA), que excepto en el caso del MMAA son muy parecidos a los nuestros.

De igual forma, estos límites de detección son similares a los publicados por

otros autores que emplean técnicas acopladas (Rauret y cols., 1991; Rubio y cols., 1992, 1993b), mucho más rápidas y precisas, pero menos asequibles para un laboratorio medio (Tabla 18).

Además, en cuanto a la precisión del método de especiación, los coeficientes de variación obtenidos para cada una de las especies son inferiores al máximo permisible (15%), lo que confirma la repetitividad y reproducibilidad de la técnica.

En resumen, la calidad de los parámetros analíticos, hace que el método propuesto pueda aplicarse convenientemente para el análisis de las cuatro especies consideradas en los niveles de concentración usuales en la mayor parte de las muestras ambientales, biológicas y de alimentos, de forma que la concentración de As total sea igual o superior al LOD de As total, 1,5  $\mu\text{g/L}$ .

Si se comparan los valores de As total como la suma de las concentraciones de las diferentes especies (As total suma) para cada una de las muestras analizadas, con los obtenidos por análisis directo de las mismas, se observa que ambos valores son muy similares, lo cual evidencia la validez del método para su aplicación a este tipo de muestras reales, en las que sólo cabe esperar la existencia de estas especies arsenicales (Tablas 35-51).

## ***PRESENCIA DE LAS ESPECIES ARSENICALES***

### **1).- Aguas:**

Una vez puesto a punto y validado el procedimiento de especiación, lo aplicamos a aquellas muestras de agua de consumo cuyo contenido de As total fué superior a 1,5  $\mu\text{g/L}$ . Dentro de estas últimas están las tomadas de un manantial del poblado del Pintado (Sevilla).

Precisamente, por los bajos contenidos en As total de las aguas de la red, la mayoría de los autores aplican los métodos de especiación a aguas medioambien

tales. Por ello también se han analizado muestras de aguas tomadas de la ría de Huelva, donde es sabido que diferentes industrias vierten sus residuos.

Efectivamente, en el caso de las **aguas de la ría de Huelva**, se obtienen valores muy altos de As (contenido medio de 382,81  $\mu\text{g/L}$ ), que unido a los encontrados de otros elementos (Ni, Cu, Pb, Zn, Cr, Cd, Mn) por otros autores (Bello y cols., 1994), indican la alta contaminación de origen antropogénico de la que es objeto dicha ría. Anteriormente, López-Artiguez y cols. (1989) encontraron niveles elevados de diversos elementos (As, Cd, Cu, Zn, Sn, Hg, Pb) en moluscos de la zona mencionada. Incluso, recientemente (ABC, 9-6-96) la Consejería de Medio Ambiente ha obligado a ciertas empresas a reducir en un 89%, antes de final de año, sus emisiones contaminantes de As, fluoruros y fosfatos a la ría de Huelva.

Estos niveles son muy superiores a los encontrados en nuestro país por Navarro y cols. (1993), en aguas de río de Motril, área de gran actividad agrícola con empleo intensivo de plaguicidas arsenicales, en los que la concentración media del elemento fué de 3,67  $\mu\text{g/L}$ .

Faust y cols. (1983) encuentran niveles de 2320 a 2780  $\mu\text{g/L}$  en muestras de agua tomadas en las cercanías de un desagüe de residuos industriales del río Maurice (New York). La media de los valores para diferentes muestras corriente abajo fué de 204  $\mu\text{g/L}$ , similar a la encontrada por nosotros.

Teniendo en cuenta los resultados del análisis estadístico de los datos, las aguas de marea alta presentan niveles mucho menores del elemento ( $147,2 \pm 99,6$   $\mu\text{g/L}$ ; mediana: 109,9  $\mu\text{g/L}$ ), que las de marea baja ( $775,5 \pm 551,1$   $\mu\text{g/L}$ ; mediana: 628,7  $\mu\text{g/L}$ ) (Tablas 53 y 54). De hecho, los ensayos de comparación no-paramétricos indican que existen diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) según se hayan tomado con marea alta o baja ( $p < 0,05$ ).

Se podría establecer el siguiente orden, en cuanto al predominio de las especies, para el total de las muestras de aguas residuales, tomando la mediana como medida representativa:

As(III) > DMAA  $\approx$  MMAA  $\approx$  As(V).

Si se considera el total de las muestras (Figura 40), se puede deducir que la especie más abundante es el As(III), el cual representa el 38,5% del total; mientras que DMAA, MMAA y As(V) constituyen el 22,5%, 21,8% y 17,1%, respectivamente. Sin embargo, los contrastes estadísticos muestran que sólo existen diferencias significativas entre los niveles de As(III) y As(V) ( $p < 0,05$ ), ya que las diferencias en los contenidos entre las especies son mayores.

Con respecto a los contenidos de las especies arsenicales en este tipo de muestras, se observa que (Figura 33):

- en ninguna muestra el contenido de As(III) fué inferior o igual a 20  $\mu\text{g/L}$ ; el 68,8% de las muestras posee concentraciones en el rango de 20-100  $\mu\text{g/L}$ , un 25,0% entre 100-300  $\mu\text{g/L}$  y un 6,3% entre 300 y 500  $\mu\text{g/L}$ .

- para el As(V), un 18% de las muestras presentó niveles inferiores a 20  $\mu\text{g/L}$ , un 56,3% de 20 a 100  $\mu\text{g/L}$ , un 18,8% de 100-300  $\mu\text{g/L}$  y el 6,3% de 300 a 500  $\mu\text{g/L}$ .

- en el caso del MMAA, el porcentaje de muestras que tuvo menos de 20  $\mu\text{g/L}$  fué mayor, concretamente un 37,5%; el 31,3% tuvo concentraciones de 20-100  $\mu\text{g/L}$ , el 25% de 100 a 300  $\mu\text{g/L}$ , y el 6,3% de 300-500  $\mu\text{g/L}$ .

- para el DMAA, el 43,8% de las muestras presenta concentraciones inferiores a 20  $\mu\text{g/L}$ , un 18,8% de 20-100  $\mu\text{g/L}$ , un 31,3% de 100 a 300  $\mu\text{g/L}$  y un 6,3% hasta mayores de 500  $\mu\text{g/L}$ .

Si bien hay un porcentaje de muestras constante (6,3%) con niveles elevados de cada especie arsenical, se puede deducir que la especie con mayor dispersión de contenidos es DMAA; es la especie en la que existe un porcentaje superior de muestras con niveles inferiores a 20  $\mu\text{g/L}$ , y en la que el porcentaje de muestras con valores comprendidos entre 100-300  $\mu\text{g/L}$  también es más alto.

La especie cuyos contenidos oscilan en un rango menos variable, es As(III), ya que en el 94% de las muestras la concentración oscila entre 20-300  $\mu\text{g/L}$ .

Al realizar el estudio comparativo entre los contenidos de todas las especies arsenicales atendiendo a que las muestras estuviesen tomadas en periodo de marea alta o de marea baja, destaca que en estas últimas, los niveles son significativamente superiores (Tabla 86).

Ciertamente habría un posible efecto de dilución de los contenidos de las aguas cuando la marea es alta. Al bajar la marea la materia en suspensión en las aguas es mayor, puesto que la columna de agua es menor y más próxima a los sedimentos, donde se produce la acumulación de As. Al subir la marea, la propia renovación del agua cercana a los desagües de las industrias, explicaría el proceso de dilución tanto de As total, como de las especies arsenicales.

Con respecto a los niveles encontrados de las diferentes especies, se pueden establecer los siguientes órdenes (tomamos la mediana como medida representativa), con las matizaciones que más abajo realizamos:

Marea alta:  $\text{As(III)} > \text{As(V)} > \text{MMAA} > \text{DMAA}$ .

Marea baja:  $\text{As(III)} \approx \text{DMAA} > \text{MMAA} > \text{As(V)}$ .

En la marea alta, las especies inorgánicas están en mayor proporción que las especies metiladas. Concretamente, el As(III) representa el 45,2% del As total, mientras que el As(V), MMAA y DMAA son el 22,8%, 16,6% y 10,2%, respectivamente (Figura 40). Los ensayos no paramétricos revelan que existen diferencias significativas entre los contenidos de As(III) y el resto de las especies; entre As(V), MMAA y DMAA no hay diferencias significativas.

Sin embargo, para el grupo de aguas de marea baja, la proporción de As(III) (32,4%) es muy similar a la de DMAA (28,9%), no existiendo diferencias significativas entre las especies.

La predominancia de la especie trivalente, más acentuada en el caso de las muestras de marea alta, se podría explicar por la fuente de contaminación, industrial, y por las condiciones redox del agua.

La distribución de las especies también estará en función del propio ciclo biológico de las especies arsenicales (Figura 2): ya que las reacciones de metilación a partir de As inorgánico ocurren en los sedimentos; en los casos de marea baja, donde el agua está más tiempo en contacto con los sedimentos, es posible que la transferencia de las especies dimetiladas y metiladas a la columna de agua, sea mayor.

Todo esto, concuerda con lo observado por Faust y cols. (1987) en el río Maurice, donde las fluctuaciones en los contenidos de las distintas especies varió según la época del año, siendo el As(III) la especie predominante durante los periodos de verano y otoño (época en las que fueron recogidas nuestras muestras). Según dichos autores, As(V) fué la especie mayoritaria en invierno y primavera, mientras que MMAA y DMAA no mostraron comportamientos característicos. Ésto último, concuerda también con nuestros resultados, ya que estas últimas especies no siguen un perfil de distribución particular, en función de la época de muestreo ó de la marea.

Del análisis realizado sobre las **aguas del manantial** del Poblado del Pintado se deduce el siguiente orden en cuanto al predominio de las especies:

$As(V) > MMAA \approx As(III) > DMAA.$

Como se observa en la Figura 34, las formas inorgánicas predominan sobre las metiladas:

Un 37,5% de las muestras presentan concentraciones de As inorgánico comprendidas entre los 10-15  $\mu\text{g/L}$ , un 50% entre 15 y 20  $\mu\text{g/L}$ , y un 12,5% más de 20  $\mu\text{g/L}$ .

En concreto, el 12,5% de las muestras tiene menos de 5  $\mu\text{g/L}$  de As(III), un 62,5% está entre 5-10  $\mu\text{g/L}$  y un 25% entre 10-15  $\mu\text{g/L}$ ; para el As(V) la proporción de muestras con concentraciones inferiores a 5  $\mu\text{g/L}$  es la misma que para el As(III), un 37,5% está entre 5-10  $\mu\text{g/L}$ , otro 37,5% entre 10-15  $\mu\text{g/L}$  y un 12% entre 15-20  $\mu\text{g/L}$  (Figura 34). Existe por tanto, una mayor variabilidad en los

contenidos de la especie As(V); la especie con menor variabilidad sería DMAA.

Respecto a las especies metiladas, un 12,5% de las muestras tienen concentraciones de MMAA inferiores a 5 µg/L, un 75% de 5-10 µg/L y un 12,5% de 10-15 µg/L.

Por último, el 75% de las muestras posee concentraciones de DMAA inferiores a 5 µg/L, y el resto de las muestras se reparten equitativamente entre los rangos de 5-10 y 10-15 µg/L.

Los resultados obtenidos concuerdan con lo publicado por Cullen y Reimer (1989). Según estos autores, en aguas naturales, las formas metiladas se encuentran generalmente en concentraciones inferiores a las inorgánicas, siendo generalmente arseniato la especie predominante, en equilibrio con la forma reducida, arsenito; de forma que el hecho de que As(V) esté en mayor concentración que As(III) en este tipo de aguas, quiere decir que se trata de aguas oxigenadas.

Según estos autores, aunque en aguas no contaminadas la especie predominante sea As(V) (como arseniato), se han encontrado cantidades significativas, del orden del 10%, de As(III), como arsenito. En aguas subterráneas, el porcentaje de As(III) oscila entre 26-50% (WHO, 1981). En nuestro caso, el porcentaje de As(III) encontrado fué del 28%, algo superior al correspondiente a aguas naturales más superficiales, y similar al rango más bajo estipulado para aguas subterráneas.

## **2).- Zumos:**

Para los zumos, se podría establecer el siguiente orden en cuanto a la presencia de las especies arsenicales (Tabla 56):

DMAA > MMAA = As(III) = As(V) = no detectable.

Esto hace que al representarse los % de contribución de las especies arsenicales (As trivalente, pentavalente, MMAA y DMAA) al contenido de As total, la especie mayoritaria sea el DMAA (Figura 41).

Dado que en este caso, las medianas de tres especies son iguales a cero, es mejor comparar los niveles de As inorgánico y las especies metiladas, por lo que:  
 $\text{As inorgánico} \approx \text{DMAA} > \text{MMAA}$

Además, si tenemos en cuenta la media aritmética, en orden decreciente de contenido, se establece que:

$\text{DMAA} \approx \text{As inorgánico} > \text{MMAA}$ , lo que es totalmente similar a lo expuesto anteriormente.

Es decir, realmente, las especies inorgánicas, sin especificar el estado de oxidación, están aproximadamente en la misma proporción que el DMAA.

Si se observa la Figura 35, el 60,9% de las muestras presentan niveles inferiores a 2  $\mu\text{g/L}$  de As(III) (por debajo del límite de detección para la especie); un 87,0% tiene menos de 4  $\mu\text{g/L}$  de As(V); y para el MMAA un 76,9% de las muestras presenta niveles inferiores o iguales a 2  $\mu\text{g/L}$  (límite de detección de la especie). Si atendemos a As inorgánico, la distribución porcentual de las muestras en los distintos rangos es similar a la de la especie DMAA, siendo éstas las especies con mayor variabilidad de contenidos en las muestras estudiadas.

Respecto a los distintos grupos de zumos, en este tipo de muestras, hacemos la salvedad de tener en cuenta otros parámetros estadísticos o considerar el As inorgánico, porque el hecho de que DMAA contribuya al 100% del contenido de As total no se cumple si tenemos en cuenta la materia prima de la muestra (Figura 41). Así, en orden decreciente de contenidos, se observa (Tablas 57, 58, 59):

- En los **zumos de naranja** la especie predominante es MMAA:

$\text{MMAA} > \text{As inorgánico} > \text{DMAA} = \text{no detectado}$ .

- En **zumos de piña** DMAA es la especie predominante:

$\text{DMAA} > \text{As(III)} = \text{As(V)} = \text{MMAA} = \text{no detectado}$ .

Si se tienen en cuenta los niveles de las formas inorgánicas:

As inorgánico > DMAA > MMAA = no detectado.

- En los **zumos de melocotón-uva**, DMAA es la especie predominante:

DMAA > As(III) > MMAA > As(V) = no detectado.

DMAA > As inorgánico  $\approx$  MMAA.

Por tanto, como resumen, en los zumos las especies predominantes son DMAA y MMAA, frente a As(III) y As(V). Ahora bien, ya que a veces es sólo interesante distinguir entre As inorgánico y especies metiladas, sobre todo desde un punto de vista toxicológico, la fracción de As inorgánico es aproximadamente similar a la contribución de las especies orgánicas.

No hemos encontrado trabajos similares en la bibliografía, por lo que no hemos podido comparar nuestros resultados con los de otros autores.

Los ensayos no-paramétricos de comparación (Tablas 81, 82 y 84), muestran cómo no existen diferencias significativas en cuanto a los contenidos de As(V), MMAA y DMAA entre los diferentes tipos de zumos. Sin embargo, los zumos de naranja son los que tienen menos As inorgánico, existiendo diferencias estadísticamente significativas con el resto de los zumos. De igual forma, los zumos de melocotón son los que poseen mayor concentración de As(III) (Tablas 79).

### 3).- Cervezas:

Si se considera el total de las muestras de cerveza analizadas, se encuentra que las especies metiladas, sobre todo MMAA, son predominantes sobre las inorgánicas. Se podría decir que siguen el orden (Tabla 60):

MMAA > As(III) > DMAA > As(V) = no detectable.

De hecho, puede observarse cómo para las especies MMAA y As(III), un porcentaje relativamente alto de las muestras (85,7% y 66,7%, respectivamente)

tiene concentraciones superiores a  $2 \mu\text{g/L}$ ; mientras que para el As(V) no existe ninguna muestra con estos niveles, y para el DMAA sólo un 19,1% lo posee (Figura 36).

La contribución de la especie MMAA al contenido de As total es del 45,5% y el 15,1% corresponde a DMAA; es decir, aproximadamente el 60% del As está en forma metilada, menos tóxica. El 39,4% está como As(III) y la forma pentavalente es prácticamente inexistente (Figura 42).

Si hacemos distinción en función de la riqueza alcohólica, en las **cervezas con alcohol** se cumple el hecho de que las especies metiladas sean más abundantes que las inorgánicas:

$\text{MMAA} > \text{DMAA} > \text{As(III)} = \text{As(V)} = \text{no detectable}$ .

El predominio de MMAA y DMAA es absoluto, con una contribución del 100%, correspondiendo el 76,8% a la forma MMAA (Figura 42).

En las **cervezas sin alcohol** se ve como la proporción de As inorgánico es similar a la de las especies metiladas. Incluso, de acuerdo con las medianas, la presencia en orden decreciente de las especies es:

$\text{As(III)} > \text{MMAA} > \text{DMAA} > \text{As(V)} = \text{no detectable}$ .

De hecho, la contribución de las cuatro especies al contenido de As total para este tipo de muestras es: un 54,5% para el As(III), un 35,8% para el MMAA, un 9,7% para DMAA y un % insignificante para As(V).

No pudiendo comparar con otros estudios bibliográficos sobre la presencia de las distintas formas del elemento en muestras de cervezas, lo más llamativo es un predominio de la especie metiladas, sobre las formas inorgánicas, no detectándose prácticamente As(V) en la mayoría de las muestras.

La contribución de las especies metiladas, fundamentalmente de MMAA, es más significativa en el caso de muestras con mayor graduación alcohólica; la

presencia de As(III) es más significativa en las cervezas de menor contenido alcohólico.

Se demuestra que los niveles de As inorgánico y As(III) difieren significativamente ( $p < 0,002$  y  $p < 0,005$ , respectivamente) respecto al factor grado alcohólico (Tablas 77 y 79), no existiendo diferencias significativas para el resto de las especies (Tablas 81, 82, 84).

Estas diferencias de contenido de las especies arsenicales, podría deberse al diferente procedimiento usado para la elaboración de estos tipos de cerveza.

Los procedimientos principalmente usados para la producción de cerveza sin alcohol son dos (Russel y Stewart, 1995). Uno de ellos consiste en la manipulación del proceso de fermentación, y el otro en la separación del alcohol después de la fermentación.

En el primer caso, se puede actuar de varias formas: (1) empleo de mosto de cerveza de baja densidad, (2) interrupción de la fermentación, (3) procesos de inmovilización de la levadura, (4) reducción de la producción de alcohol por empleo de levaduras especiales con capacidad de fermentación restringida.

En el segundo tipo de procedimiento, los métodos de separación de alcohol empleados son: (1) evaporación, (2) empleo de membranas (diálisis, ósmosis reversa), (3) adsorción, (4) extracción con fluidos supercríticos.

Nuestros resultados se podrían explicar en cuanto a los procedimientos del primer tipo, en los que por ejemplo se empleen levaduras especiales o se interrumpa la fermentación, de forma que la metilación de As inorgánico (como mecanismo de protección de las levaduras), se interrumpa o se dé en menor grado; así los niveles de las formas inorgánicas se mantienen y son superiores en el caso de las cervezas con menor graduación alcohólica.

#### 4).- Vinos:

En los **vinos** blancos (mostos, finos y de mesa), vemos que las especies predominantes son las metiladas, MMAA y DMAA. Se podría establecer el siguiente orden teniendo en cuenta las proporciones de las especies arsenicales (Tabla 63):

$DMAA \approx MMAA > As(III) \approx As(V) \approx$  no detectado.

Al representar los porcentajes de distribución de las muestras según el contenido de cada una de las especies se observa que, para As(III) y As(V) un porcentaje elevado de las muestras (67,9% y 96,4%, respectivamente), posee concentraciones no detectables ( $< 1\mu\text{g/L}$ ). Sin embargo, el número de muestras que poseen estos niveles de las especies metiladas, es mucho menor (21,4% y 25,0%, respectivamente); se observó además, para ambas especies, una distribución de las muestras homogénea en los restantes rangos de concentración considerados (Figura 37).

Respecto a la contribución de las especies al contenido de As total en este tipo de muestras, tenemos que DMAA representa un 54,4%, MMAA un 45,5%, mientras que las especies inorgánicas lo hacen de forma insignificante (Figura 43).

Si se hace distinción en cuanto al grado de fermentación de las muestras analizadas, los **vinos más fermentados** presentan un predominio de las especies metiladas, mientras que el contenido de las formas inorgánicas es muy pequeño. Se podrían establecer los siguientes órdenes (Tablas 64 y 65):

Vinos de mesa:  $DMAA > MMAA > As(III) = As(V) =$  no detectado.

Vinos finos:  $MMAA \approx DMAA > As(III) = As(V) =$  no detectado.

En los vinos de mesa, el 67,7% del contenido de As total se debe a la forma dimetilada y el 32,3% restante a MMAA; sin embargo en el caso de los finos, MMAA predomina ligeramente sobre DMAA (58% y 42% del total, respectivamente).

En las muestras de mosto (vino joven), la predominancia de las especies es similar a la observada para el total de las muestras (Tabla 66):

$DMAA \approx MMAA > As(III) = As(V) = \text{no detectado}$ .

Al representar los porcentajes de contribución de cada una de las especies arsenicales al contenido de As total, el 55,1% corresponde a DMAA y el 44,9% restante a MMAA.

Por tanto, DMAA predomina sobre el resto de las especies, más en los vinos de mesa que en los vinos jóvenes, mientras que MMAA es la especie predominante en vinos finos.

Sin embargo, a diferencia de los vinos fermentados, para los mostos la fracción de As inorgánico, como conjunto de As(III) y As(V), es considerable ya que incluso contribuyen con un 26% al contenido de As total; por tanto, se podría establecer el siguiente orden:

$DMAA \approx MMAA \approx \text{As inorgánico}$ .

Por tanto, en los mostos, la concentración de As inorgánico es mayor que para los vinos de mayor contenido alcohólico. Ésto coincide con el trabajo de Aguilar y cols. (1987), donde se encuentra que durante el proceso de fermentación el As inorgánico es metilado por las levaduras, como un mecanismo de detoxificación, para originar MMAA y DMAA, siendo éstas las especies más abundantes en los vinos fermentados; y según nuestros resultados los niveles de compuestos metilados, DMAA y MMAA, se corresponden, en éste orden, a graduación alcohólica creciente.

#### **5).- Caldos:**

Para el total de las muestras analizadas, puede establecerse el siguiente orden según la abundancia de las especies arsenicales (Tabla 67):

$As(III) > DMAA > MMAA = As(V) = \text{no detectable}$ .

### *Discusión de los resultados*

El 45,5% de las muestras tuvo concentraciones de As(III) en el rango 0,010-0,030  $\mu\text{g/g}$ , e incluso un 18,2% entre 0,050-0,070  $\mu\text{g/g}$ ; para DMAA el 54,5% de las muestras presentó concentraciones inferiores a 0,010  $\mu\text{g/g}$  y el 27,3% entre 0,010-0,030  $\mu\text{g/g}$ . Sin embargo, para As(V) y MMAA, el 100% y 81,8%, respectivamente, de las muestras, tuvo concentraciones inferiores a 0,010  $\mu\text{g/g}$  (Figura 38). Por tanto, la especie con mayor variabilidad fué As(III).

Cuando se representa la contribución de las especies arsenicales al contenido de As total, se observa cómo el As(III) respresenta el 65,5% y el DMAA el 34,5%.

Si hacemos distinción, en función de la naturaleza de la materia prima a partir de la cual se han elaborado:

- Para los **caldos de pescado** se obtiene (Tabla 68):

$\text{DMAA} \approx \text{As(III)} > \text{MMAA} = \text{As(V)} = \text{no detectable}$ .

De hecho DMAA y As(III) representan el 50,9% y 49,1%, respectivamente, del contenido de As total.

- En el caso de los **caldos de carne** (Tabla 69):

$\text{As(III)} > \text{DMAA} = \text{MMAA} = \text{As(V)} = \text{no detectable}$ .

El As(III) representa el 100% del contenido de As total (Figura 44)

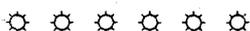
- Para los **caldos de ave** el orden sería (Tabla 70):

$\text{As(III)} > \text{MMAA} > \text{As(V)} = \text{DMAA} = \text{no detectable}$ .

De nuevo, el As(III) es la especie predominante, representando un 64,3% del contenido de As total; pero le sigue el MMAA que constiuye el 37,7% del total.

Por tanto, la especie predominante para este tipo de muestras es As(III), siendo la especie que contribuye de forma absoluta al contenido de As total en los caldos de carne; en caldos de pescado, As(III) y DMAA, participan de forma

equitativa del contenido de As total, y sólo en los caldos de ave el porcentaje de MMAA es significativo.



Como resumen, podemos indicar que existe una variabilidad en el predominio de las especies, según la muestra estudiada:

La especie As(III) predomina sobre el resto de las especies en : muestras de aguas residuales, aguas de manantial y caldos. MMAA es la especie mayoritaria en el conjunto de las muestras de cerveza. DMAA predomina en las muestras de zumo (total); y en vinos hay un ligero predominio del DMAA sobre MMAA, siendo éstas las especies mayoritarias.

#### ***VARIABILIDAD DE LA PRESENCIA DE LAS ESPECIES ARSENICALES EN FUNCIÓN DEL TIPO DE MUESTRA***

Una vez vistos los contenidos y la distribución de cada una de las especies dentro de cada tipo de muestra, es interesante interrelacionar estos datos entre muestras de diferente naturaleza, a través de los resultados obtenidos en los contrastes de distribución de concentraciones por especie arsenical.

El criterio seguido para elaborar esta secuencia de muestras por especie, es tener en cuenta las medianas y sólo hacer mención de la influencia de algún factor por tipo de muestra (ejemplo: graduación alcohólica) cuando existan diferencias significativas demostradas en los contrastes no-paramétricos (Tablas 77-84).

Teniendo en cuenta los niveles de cada una de las especies, y haciendo la salvedad de considerar los datos de muestras de agua procedentes del manantial del poblado del Pintado, con un contenido de As superior al observado para otras aguas de consumo (como son aguas de la red o pozo), la presencia en orden decreciente

para cada especie en las muestras estudiadas, es la siguiente:

As inorgánico:

Aguas de manantial (Pintado) > Cerveza sin alcohol  $\approx$  Zumos de piña  $\approx$  Z. de melocotón  $\approx$  Mostos  $\approx$  Z. de naranja  $\approx$  Vinos de mesa  $\approx$  C. con alcohol  $\approx$  Finos.

As(III):

A. manantial (Pintado) > C. sin alcohol  $\approx$  Z. de melocotón > Z. naranja = Z. piña = C. con alcohol = Vinos.

As(V):

A. manantial (Pintado) > Zumos = Vinos = Cerveza = no detectado.

MMAA:

A. manantial (Pintado)  $\approx$  Finos  $\approx$  Cervezas  $\approx$  V. mesa = mostos  $\approx$  Zumos.

DMAA:

Vinos  $\approx$  Zumos  $\approx$  Cervezas = A. manantial (Pintado).

De forma general, se podría decir que el As inorgánico, concretamente As(III), especie más tóxica, es más abundante en las aguas y muestras con menor contenido alcohólico. MMAA se encuentra en mayor proporción en bebidas con mayor grado de fermentación como son, vinos y cervezas con mayor contenido alcohólico; y la presencia de DMAA no parece ligada al grado de fermentación o grado alcohólico de las muestras.

El As(V) es la especie menos detectada en todos los tipos de muestras, sólo en aguas de manantial su presencia es más notable.

## **INGESTA DE As Y SUS ESPECIES**

Debido a que los alimentos y bebidas son la principal fuente de exposición a arsénico, el conocimiento del grado de exposición humana a través de éstos se considera una parte integral de los programas supranacionales de salud (FAO/WHO, 1989).

Existen datos epidemiológicos que claramente evidencian que la ingestión de As inorgánico está ligada al cáncer de piel, así como podría también estarlo a otros cánceres internos fatales, como son el cáncer de pulmón, de vejiga, riñón e hígado (Bates y cols., 1992; Chiouh y cols., 1995).

Por ello, en 1983, el Comité de Expertos FAO/WHO sobre Aditivos Alimentarios estableció una ingesta diaria tolerable (TDI) de As de 50  $\mu\text{g}/\text{Kg}$  peso corporal/día. Posteriormente, en 1989, se especificó que la ingesta de As inorgánico no debe sobrepasar los 2  $\mu\text{g}$  de arsénico inorgánico/Kg peso corporal/día. Ello equivale, asumiendo un peso corporal de 60 Kg (Repetto y cols., 1995b), a una ingesta de 3000  $\mu\text{g}/\text{persona}/\text{día}$  de As total y de 120  $\mu\text{g}/\text{persona}/\text{día}$  de As inorgánico.

El metabolismo de As inorgánico, por el cual éste es metilado, se considera un proceso de destoxicación que puede saturarse. Por encima de este nivel de saturación, el aumento de la ingesta de As inorgánico puede llevar a grandes incrementos de las dosis de As inorgánico que llegan a los tejidos diana.

De hecho, la ingesta de 200-250  $\mu\text{g}/\text{día}$ , parece que es suficiente para llegar a la saturación del proceso. Sólo por encima de estos niveles se ha producido cáncer de piel y otros efectos tóxicos, y por tanto podría considerarse como un umbral; sin embargo al no ser la capacidad de metilación homogénea dentro de la población, se puede considerar que existe un grupo, que por diversos factores genéticos o dietéticos, puede tener un alto riesgo por debajo de 200  $\mu\text{g}/\text{día}$  (North, 1992).

Por encima de estos niveles, el arsénico inorgánico excretado en orina se incrementa marcadamente, y por encima de 100  $\mu\text{g}/\text{día}$  puede detectarse en sangre.

Diversos estudios se han centrado en la determinación de arsénico, sin especificar su forma química, en dieta total y alimentos.

Así, la ingesta media diaria estimada de As total en el Reino Unido es de 89  $\mu\text{g}/\text{día}$  (Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, 1982). Para la población canadiense, este valor es de 38,1  $\mu\text{g}/\text{día}$ , variando entre 14,9  $\mu\text{g}/\text{día}$  en el caso de niños (1-4 años) y 59,2  $\mu\text{g}/\text{día}$  para adultos (20-39 años) (Dabeka y cols. 1993).

Ingestas más elevadas se observan en la población japonesa (Ikebe, 1992), con medias incluso de 345,0  $\mu\text{g}/\text{día}$ , hecho quizás motivado por un mayor consumo de pescado.

En cuanto a la ingesta de As inorgánico, Hughes y cols. (1994) estiman para la población de Canadá, que es de 0,2-0,8  $\mu\text{g}/\text{Kg}$  peso corporal/día, siendo el grado de exposición mayor en el caso de los niños. En concreto, encuentra que la ingesta de As inorgánico en niños de 0,5 a 4 años es de 7,8-9,1  $\mu\text{g}/\text{día}$ , y para adultos de 14  $\mu\text{g}/\text{día}$ . La ingesta de As inorgánico a través del agua de bebida (tomando como valor medio 5  $\mu\text{g}/\text{L}$ ) fué de 3,9  $\mu\text{g}/\text{persona}/\text{día}$  para niños de 0,5 a 4 años y de 7  $\mu\text{g}/\text{día}$  para los adultos, lo que representa aproximadamente un 50% del total.

Una vez conocidos los datos de los contenidos de As y sus especies, se calculó la ingesta diaria por persona a partir del consumo de las muestras analizadas.

Ya que el único dato de ingesta estimado en la población española encontrado en la bibliografía es de 19,0  $\mu\text{g}/\text{persona}/\text{día}$  (Moreiras y Cuadrado, 1992), podemos decir que, suponiendo estable dicha ingesta, el consumo del tipo de muestras estudiadas por nosotros apuntaría al 15% del total de As.

La **ingesta de arsénico total** a partir de los datos de As total obtenidos por análisis directo de las muestras, y de los consumos medios de los grupos de alimentos y bebidas en nuestra comunidad proporcionados por el Ministerio de

Agricultura, Pesca y Alimentación (1990), fué de 2,9  $\mu\text{g}/\text{persona}/\text{día}$ , valor que está muy por debajo de la TDI dada por el Comité FAO/WHO.

Los grandes bebedores de cerveza (10L/semana), el consumo de las muestras estudiadas supone el 73% de la ingesta total de 19  $\mu\text{g}/\text{persona}/\text{día}$  establecida por Moreiras y Cuadrado (1992), y para bebedores fuertes de mosto y vinos de mesa blanco (1L/día), la ingesta de As supondría el 50% y 58% de la ingesta de As persona/día. Por tanto, es lógico pensar que en estos casos e incluso en consumidores medios de cerveza (3 cañas/día) la ingesta de As total se eleve y sea superior al último valor publicado en la bibliografía, para nuestra población, lo cual debería ser objeto de estudios posteriores.

Se podría decir que la contribución de cada uno de los tipos de muestra analizados a la ingesta de As total sigue el siguiente orden (Tablas 87 y 88):

Agua de la red > Leche > Cerveza > Caldos > Vinos de mesa > Mostos = Zumos > Vinos finos > Agua mineral = Agua de manantial.

El agua de la red y la leche son las bebidas que contribuyen en mayor proporción a la ingesta total del elemento, con un 30,7% y un 21,7%, respectivamente. Les sigue la cerveza, que supone un 16,3% del total, los caldos con un 9,8% y los vinos de mesa, mostos, zumos y finos, que suponen el 7,8%, 6,3%, 6,2%, 1,1%, respectivamente. La contribución de las aguas minerales y de manantial es insignificante (Figura 46).

Ahora bien, ya que en años pasados hemos sufrido una intensa sequía en nuestra comunidad, en la que la población sustituyó el agua de la red por agua mineral, y suponiendo entonces un consumo medio de 2L/día por persona de agua mineral, la contribución de este tipo de muestra a la ingesta de As total aumentaría de forma considerable, hasta suponer un 37,3%.

De igual forma, la **ingesta estimada de As inorgánico** a través de las muestras analizadas, de 0,44  $\mu\text{g}/\text{persona}/\text{día}$ , está muy por debajo de la TDI establecida por el Comité de Expertos FAO/WHO sobre Aditivos Alimentarios en

1989, de 120  $\mu\text{g}$  de arsénico inorgánico/persona/día.

Esta ingesta de As inorgánico, por consumo de las muestras analizadas es tan baja, porque no hemos podido especiar las aguas de la red y las aguas minerales, y al no tener datos de As inorgánico no se ha computado el aporte proporcionado por la ingesta del agua de bebida; es predecible que la exposición de nuestra población a As inorgánico sería más elevada, ya que Hughes y cols. (1994), consideran que el agua de bebida puede representar aproximadamente el 50% del aporte de As inorgánico total.

De hecho, en un caso hipotético y extremo, de consumo de agua del manantial del Pintado (muestras de agua con mayor contenido de As total) se llegaría a una ingesta de As inorgánico de 31,8  $\mu\text{g}$ /persona/día, que aunque es aún muy inferior a la TDI de As inorgánico, supera con creces los 7  $\mu\text{g}$ /persona adulta/día dados para la población canadiense. Ello concuerda con los datos registrados por Hughes y cols. (1994), que ya admite que la ingestión de agua de bebida de algunas fuentes puede incrementar de forma extraordinaria la cantidad total de As inorgánico ingerido para todos los grupos de edades.

Igualmente, en los casos de los consumidores habituales de grandes cantidades de cerveza, mosto y vino de mesa, aunque la ingesta de As inorgánico, se elevaría a 3,75, 2,00 y 0,93  $\mu\text{g}$ /persona/día, respectivamente, serían inferiores a la TDI establecida, pero supondría ya un porcentaje apreciable de la ingesta de As inorgánico estimado para otras poblaciones.

Para el As inorgánico, se podría establecer el siguiente orden en cuanto a la contribución de cada uno de los tipos de muestra analizados a la ingesta de esta especie (Tablas 89 y 90):

Caldos > Cervezas > Zumos > Mostos > Vinos de mesa > Finos.

De hecho, los caldos y las cervezas contribuyen a la ingesta total de As inorgánico en un 39,8% y 31,1%, respectivamente. Les siguen los zumos, mostos

y vinos de mesa, que constituyen el 16,0%, 9,8% y 3,2%, respectivamente. La contribución de los vinos finos es insignificante (Figura 47).

No incluimos la ingesta de cada especie, procedente del consumo de aguas del manantial del Pintado, porque sus concentraciones pueden considerarse como excepcionales.

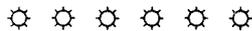
Se podrían ordenar los diferentes grupos de muestras analizadas, en función de su aporte a la ingesta de cada una de las especies arsenicales:

As(III): Caldos  $\approx$  Cerveza > V. de mesa = V. finos = Mostos = Zumos.

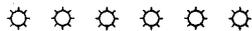
MMAA: Cerveza > V. de mesa = Mostos > V. finos > Caldos = Zumos.

DMAA: V. de Mesa > Caldos > Mostos > Cervezas  $\approx$  Zumos > V. finos.

La ingesta de As(V), es insignificante a partir de la mayoría de las muestras estudiadas.



Como resumen, en la Figura 48, se expone cómo en función del tipo de muestra, varían los contenidos y la exposición a las diferentes especies arsenicales y a As total.



## CONTENIDOS

**As total:** Vinos  $\approx$  Cervezas  $\approx$  Z. melocotón  $\approx$  Z. piña  
 $\approx$  Z. naranja > Leche > aguas de consumo

**As inorg:** C. sin alcohol  $\approx$  Z. piña  $\approx$  Z. melocotón  
 $\approx$  Mostos  $\approx$  Z. naranja  $\approx$  V. mesa  
 $\approx$  C. alcohol  $\approx$  vinos.

**As(III):** C. sin alcohol  $\approx$  Z. melocotón >  
Z. naranja = Z. piña = C. con alcohol  
= Vinos.

**As(V):** Zumos > Vinos = Cerveza

**MMAA:** Finos  $\approx$  Cerveza  $\approx$  V. mesa = mostos  $\approx$   
Zumos.

**DMAA:** Vinos  $\approx$  Zumos  $\approx$  Cervezas.

## INGESTA

**As total:** Agua red > Leche > Cerveza > Caldos > V. mesa >  
Mostos = Zumos > V. finos > Agua mineral = Agua  
manantial.

**As inorg:** Caldos > Cervezas > Zumos > mostos > V. mesa >  
Finos.

**As(III):** Caldos  $\approx$  Cerveza > V. mesa = Finos = mostos =  
Zumos.

-----  
**MMAA:** Cerveza > V. mesa > Mostos > Finos > Caldos =  
Zumos.

**DMAA:** V. mesa > Caldos > Mostos > Cervezas  $\approx$  Zumos >  
Finos.

**Figura 48.- Contenidos e ingesta de As total y de las diferentes especies arsenicales en función del tipo de muestra.**

### **PRESENCIA DE LAS ESPECIES ARSENICALES EN MUESTRAS DE ORINA**

Con el análisis de las muestras de orina de sujetos no expuestos ocupacionalmente, hemos querido conocer los niveles del elemento excretados por esta vía, tanto de As total como de cada una de las especies, para compararlos con las previsible ingestas, antes calculadas.

El contenido medio de As total en estas muestras fué de 5,23  $\mu\text{g/L}$ , y encontrándose todos los valores en el rango de 1,0-8,9  $\mu\text{g/L}$  (Tabla 71). Este valor medio, así como el obtenido para cada una de las muestras de forma individual, está por debajo de 10  $\mu\text{g/L}$ , y por tanto, según Goyer (1996) corresponde a un nivel de exposición normal (no ocupacional).

El rango de concentración obtenido en nuestro caso es algo más amplio que el registrado por el Servicio de Información del Instituto Nacional de Toxicología para personas no expuestas, 2-5  $\mu\text{g/L}$ ; y más estrecho que el publicado por Alessio y cols. (1992), de 2,3-31,1  $\mu\text{g/L}$ .

En cuanto a la presencia de las especies arsenicales, se podría establecer el siguiente orden (teniendo en cuenta las medianas)(Tabla 71):

$\text{DMAA} > \text{MMAA} = \text{As(V)} = \text{As(III)} = \text{no detectable}$ .

De hecho, para las especies As(III), As(V) y MMAA el 100%, 100% y 70%, respectivamente, de las muestras tiene concentraciones no detectables (inferiores a 1  $\mu\text{g/L}$ ). Sin embargo, para DMAA sólo el 20% de las muestras presenta estos niveles, e incluso un 30% está en el rango 1-3  $\mu\text{g/L}$ , un 40% de 3-5  $\mu\text{g/L}$  y un 10% tuvo más de 5  $\mu\text{g/L}$ .

Por tanto, la presencia media (%) de las especies arsenicales en sujetos no expuestos son: 0% As(V), 0% As(III), 30% MMAA y 90% DMAA. En comparación con grupos expuestos, y de acuerdo con Farmer y Johnson (1990), las especies metiladas, tanto MMAA como DMAA, están presentes en mayor número de muestras de orina en sujetos no expuestos, no pudiéndose detectar As(III) ni As(V), prácticamente, en orina.

Luego, las especies metiladas, en concreto DMAA, representan el mayor porcentaje del contenido de As total (100%) (Figura 45). Si los porcentajes de contribución de cada especie se calculan teniendo en cuenta la media aritmética de los valores obtenidos, el MMAA contribuiría con un 24,2% y DMAA con un 75,8%.

Con respecto a los estudios existentes de especiación en este tipo de muestra biológica, se observa que los niveles medios obtenidos por nosotros para cada una de las especies fueron inferiores a los encontrados por Smith y cols. para sujetos no expuestos (1977). De la misma forma, los rangos de concentración de cada especie, fueron algo más estrechos que los obtenidos por Foa y cols. (1984), para sujetos sanos (ver tabla 12, capítulo 5).

En resumen, se podría decir que los niveles de As total y sus especies encontrados en individuos sanos no expuestos, concuerdan e incluso son inferiores a los encontrados en la bibliografía.

## **CONCLUSIONES**

**PRIMERA.-** El método analítico empleado para la determinación del contenido de arsénico total en muestras de aguas, cumple los requisitos establecidos en la propuesta de Directiva del Consejo de la CEE (95/C 131/03; DOCE 30/05/95). De igual forma, los parámetros analíticos obtenidos para el método de análisis del resto de las muestras, son satisfactorios.

**SEGUNDA.-** Se ha desarrollado un método analítico de especiación de arsénico fiable, sensible y reproducible que permite la diferenciación y cuantificación de las especies As(III), As(V), MMAA y DMAA, así como de la fracción de arsénico inorgánico.

Se ha comprobado que el método es lineal dentro de los intervalos de concentración estudiados (0,6-30,0  $\mu\text{g/L}$ ), las recuperaciones medias para las diferentes especies son cuantitativas (superiores al 80%), la precisión del método para cada especie es satisfactoria (coeficientes de variación: 5,2-13,0%) y los límites de detección obtenidos (0,6-3,7  $\mu\text{g/L}$ ) hacen que el procedimiento sea aplicable en la determinación de las cuatro especies arsenicales a los niveles de concentración usuales en muestras ambientales, biológicas y alimentos.

**TERCERA.-** En el momento en que se realizó el estudio, las aguas de la red de las provincias de Sevilla, Huelva, Cádiz y Málaga, se ajustaron a los requisitos legales vigentes en cuanto a los contenidos de arsénico, así como a lo estipulado en la propuesta de Directiva del Consejo de la CEE (1995). Los niveles de arsénico encontrados, algo superiores en la provincia de Huelva, fueron similares para las diferentes provincias andaluzas estudiadas, y análogos a los observados para aguas naturales no contaminadas.

Los contenidos de As encontrados para los otros tipos de aguas de consumo analizadas (mineral, pozo y manantial) fueron muy inferiores a los máximos establecidos por la legislación vigente, y similares a los de las aguas de la red ( $< 1\mu\text{g/L}$ ).

**CUARTA.-** Los contenidos medios de arsénico total encontrados para el resto de las bebidas analizadas (zumos, leche, cerveza, vinos, caldos) fueron inferiores a los niveles máximos permitidos por la Legislación Alimentaria Española, en los casos establecidos.

En función de la presencia del elemento, vinos y cervezas fueron las muestras de mayor contenido, y las aguas de consumo las que menores concentraciones presentaron. En el caso de los caldos, los niveles de As fueron superiores en los de pescado, lo que se debe a la capacidad de peces y moluscos de acumular arsénico en sus tejidos aunque las concentraciones del elemento en el agua sean bajas.

**QUINTA.-** Los niveles de arsénico total observados en las aguas de la ría de Huelva son muy elevados, lo que indica que efectivamente existe una alta contaminación de origen antropogénico. Se observa una influencia del estado de la marea sobre el contenido de As total, siendo los niveles mucho mayores cuando la marea es baja.

**SEXTA.-** En las aguas de la ría de Huelva la especie arsenical más abundante es As(III), siendo más pronunciado este predominio cuando la marea está alta; cuando la marea baja, las especies metiladas formadas en los sedimentos (sobre todo DMAA), probablemente son transferidas más fácilmente al agua, siendo en estos casos similares las proporciones de As(III) y DMAA.

En las aguas de manantial que se han podido especiar (manantial del Poblado del Pintado, Sevilla), las especies inorgánicas son más abundantes que las metiladas. En concreto, As(V) es la especie inorgánica que más contribuye al contenido de As total, lo cual denota que se trata de aguas oxigenadas.

**SEPTIMA.-** Existe variabilidad en el predominio de las especies en cada tipo de muestra estudiada: la especie As(III) predomina sobre el resto de las especies en muestras de caldos. MMAA es la especie mayoritaria en el conjunto de las muestras de cerveza, existiendo diferencias en la contribución de cada especie en función del contenido alcohólico. DMAA predomina en las muestras de zumo (total). En vinos blancos las especies predominantes son las metiladas, MMAA y DMAA, observándose que el grado de fermentación o contenido alcohólico es un factor influyente en la distribución de las especies arsenicales.

**OCTAVA.-** Al interrelacionar los resultados obtenidos en la especiación entre muestras de diferente naturaleza se manifiesta que el As inorgánico, concretamente As(III), es más abundante en las aguas y muestras con menor contenido alcohólico. MMAA se encuentra en mayor proporción en bebidas con mayor grado de fermentación o contenido alcohólico, mientras que la presencia de DMAA no parece ligada a este factor. El As(V) es la especie menos detectada en todos los tipos de muestras, y sólo en aguas de manantial su presencia es más notable.

**NOVENA.-** La exposición de la población andaluza a As total y As inorgánico a través del consumo de las bebidas analizadas, es muy inferior a la Ingesta Diaria Tolerable (TDI) dada por el Comité mixto FAO/OMS para el elemento y para As inorgánico, aún cuando se tratase de bebedores de grandes cantidades de cerveza o vino. De conformidad con lo anteriormente expuesto, estimamos que la situación de exposición de nuestra población a arsénico y a sus especies inorgánicas a través del consumo de agua y bebidas es baja, existiendo variabilidad en la exposición en función del tipo de muestra.

**DECIMA.-** Los niveles de arsénico total y de sus especies encontrados en muestras de orina de sujetos sanos no expuestos, concuerdan e incluso son inferiores a los

### *Estimación toxicológica del As y sus especies*

registrados en la bibliografía. Las especies metiladas, en especial DMAA son mayoritarias, mientras que la presencia de las especies inorgánicas es mínima.

Estos resultados son concordantes con los valores estimados de las ingestas de arsénico total e inorgánico calculadas en nuestro estudio.

## **BIBLIOGRAFÍA**

- ABERNATHY CH, OHANIAN EV (1992). "Non-carcinogenic effects of inorganic arsenic". *Environ. Geochem. and Health*, 14: 35-41.
- AGEMIAN H, THOMSOM R (1980). "Simple semi-automated atomic-absorption spectrometric method for the determination of arsenic and selenium in fish tissue". *Analyst*, 105: 902-907.
- AGUILAR MV, MARTINEZ PARA CM, MASWOUD TA (1987). " Effect of alcoholic fermentation on arsenic species content". *Am. J. Enol. Vitic.*, 38: 282-286.
- ALESSIO L, APOSTOLI P, MINOIA L, SABBIONI E (1992). *Sci. Total Environ.*, 120: 23.
- ANDREAE MO (1983). "Arsenic: industrial, Biomedical, Environmental Perspectives". Precedings of the arsenic symposium, 1981. Lederer WH, Fernsterheim JR (eds), Van Nostrand. New York. pp:378-391.
- ANDREAE MO (1978). "Distribution and speciation of arsenic in natural waters and some marine algae". *Deep-sea Res.* 25: 391-402.
- ANDREADE MO (1979). "Arsenic speciation in seawater and interstitial waters: the influence of biological-chemical interactions on the chemistry of trace element". *Limmol. Oceanogra.*, 24: 440-452.
- ANDREADE (1986). "Organoarsenic compounds in the environment". En: *Organometallic compounds in the environment*. Craig PJ (ed). John Wiley and sons, NY.
- ANKE M, GRÜN M, PARTSCHEFELD M (1976). "The essentiality of arsenic for animals". En: *Trace substances in environmental health*, Hemphill DD. Columbia. pp: 403-409.
- ANKE M (1986). "Arsenic". En: *Trace elements in human and animal nutrition*. Mertz W,( ed). Academic Press. Orlando. pp: 347-372.

*Estimación toxicológica del As y sus especies*

- AKNAZAROVA S, KAFAROV V (1982). "Experimental optimization in chemistry and chemical engineering". Editorial MIR, Moscú.
- AOAC (1995). Official methods of analysis. 16 ed. Patricia Cunnif (ed). Vol I, Cap. 9, pp: 1-3. AOAC International, USA.
- ARNOLD W (1988). "Arsenic". En: Handbook on toxicity of inorganic compounds. Seiler HG, Sigel H, Sigel A (eds). Marcel Dekker, Inc., New York, 1988.
- AXELSON O, DAHLGREN E, JANSSON CD, REHNLUND SO (1978). "Arsenic exposure and mortality: a case-referent study from a Swedish copper smelter". *Br. J. ind. Med.*, 35: 8-15.
- AZCUE JM (1995). "Environmental significance of elevated natural levels of arsenic". *Environ. Rev.*, 3: 212-221.
- AZCUE JM, NRIAGU JO (1995). "Impact of abandoned mine tailings on the arsenic concentrations in Moira Lake, Ontario". *J. of Geochemical Exploration*, 52: 81-89.
- BADER M (1980). "A systematic approach to standard addition method in instrumental analysis". *J. Chem. Educ.*, 57: 259-263.
- BARBERA C (1989). "Pesticidas agrícolas". 4ª ed. Ediciones Omega, S.A., Barcelona. pp. 40-41, 489-490, 494.
- BASELT RC, CRAVEY RH (1989). Disposition of toxic drugs and chemicals in man". 3ª ed. Wallace R (ed). Year book medical publishers, Chicago. pp: 65-69.
- BATES MN, SMITH AH, HOPENHAYN-RICH C (1992). "Arsenic ingestion and internal cancers: a review". *American J. of Epidemiology*, 135: 462-476.
- BELLO MA, CALLEJÓN M, JIMÉNEZ JC, PABLOS F, TERNERO M (1994). "Determination of heavy metals in estuarine sediments by acid digestion and atomic absorption spectrometry". *Toxicol. and Environ. Chem.*, 44: 203-210.
- BENKO V, SYMON K, CHLADEK V, PIHRT J (1977). "Health aspects of burning coal with a high arsenic content. II. Hearing changes in exposed children". *Environ. Res.*, 13: 386-395.
- BENKO V (1987) "Arsenic". En: Genotoxic and carcinogenic metals: environmental and occupational occurrence and exposure. Fishbein L, Furst A y Mehleman MA (eds). Columbia. pp: 1-30.
- BENKO V, WAGNER V, WAGNEROVA M, BATORA J (1988). "Immunotoxicological profiles

## **Bibliografia**

in workers of a power plant burning coal rich in arsenic content". *J Hyg. epidemiol. Microbiol. Immunol.*, 32: 137-146.

BERRY JP, GALLE P (1994). "Selenium-arsenic interaction in renal cells: role of lysosomes. Electron microprobe study". *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.*, 26: 203-210.

BERTOLERO F, MARAFANTE E, EDEL RADE J, PIETRA R, SABBIONI E (1981). "Biotransformation and intracellular binding of arsenic in tissues of rabbits after intraperitoneal administration of  $^{74}\text{As}$  labelled arsenite". *Toxicology*, 20: 35-44.

BERTOLERO F, POZZI G, SABBIONI E, SAFFIOTTI U (1987). "Cellular uptake and metabolic reduction of pentavalent to trivalent arsenic as determinants of cytotoxicity and morphological transformations". *Carcinogenesis*, 8: 803-808.

BINNS F, ENSOR RJ, MACPHERSON AL (1978). "Metal content of United Kingdom and overseas lager beers". *J. Sci. Food Agric.* 29: 71-74.

BLAIS JS, MOMPLAISIR GM, MARSHALL WD (1990). "Determination of arsenobetaine, arsenocholine, and tetramethylarsonium cations by liquid chromatography-thermochemical hydride generation-atomic absorption spectrometry". *Anal. Chem.*, 62: 1161-1166.

BLAIR PC, THOMPSON MB, BECHTOLD M, WILSON RE, MOORMAN MP, FOWLER BA (1990a). "Evidence for oxidative damage to red blood cells in mice induced by arsine gas". *Toxicology*, 63: 25-34.

BLAIR PC, THOMPSON MB, MORRISSEY RE, MOORMAN MP, SLOANE RA, FOWLER BA (1990b). "Comparative toxicity of arsine gas in B6C3F1 mice, Fischer 344 rats, and Syrian golden hamsters: system organ studies and comparison of clinical indices of exposure". *Fundam. Appl. Toxicol.*, 14: 776-787.

BLAKLEY BR, CLARK EG, FAIRLEY R (1990). "Roxarsone (3-nitro-4-hydroxyphenylarsonic acid) poisoning in pigs". *Can. Vet. J. Rev. Vet. Can.*, 31: 385-387.

BOAMPONG C, BRINDLE ID, LE X, PIDWERBESKY L, PONZONI MC (1988). "Interference reduction by L-cysteine in the determination of arsenic by hydride generation". *Anal. Chem.*, 60: 1185-1188.

BOGDAN GM, SAMPAYO-REYES A, APOSHIAN V (1994). "Arsenic in binding proteins of mammalian systems: I. Isolation of three arsenite-binding proteins of rabbit liver". *Toxicology*, 93: 175-193.

*Estimación toxicológica del As y sus especies*

BOLLINGER CT, VAN ZIJL P, LOUW JA (1992). "Multiple organ failure with the adult respiratory distress syndrome in homicidal arsenic poisoning". *Respiration*, 59: 57-61.

BOND U, ARGELL N, HAAS AL, REDMAN K, SCHLESINGER MJ (1988). "Ubiquitin in stressed chicken embryo fibroblasts". *J. Biol. Chem.*, 263: 2384-2388.

BORGOÑO JM, VINCENT P, VENTURINO M, INFANTE AA (1977). "Arsenic in drinking water of the city of Antofagasta: Epidemiological and clinical study before and after the installation of a treatment plant". *Environ. Health Perspect.* 19: 103-105.

BÖRZSÖNYI M, BEREEZKY A, RUDNAI P, CSANADY M, HORVATH A (1992). "Epidemiological studies on human subjects exposed to arsenic in drinking water in southeast Hungary". *Arch. Toxicol.*, 66: 77-78.

BOYD VL, HARBELL JW, O'CONNOR R, MCGOWN E (1989). "2,3-Dithioerythritol, a possible new arsenic antidote". *Chem. Res. Toxicol.* 2: 301-306.

BRAMAN RS, FOREBACK CC (1973). "Methylated forms of arsenic in the environment". *Science*, 182: 1247-1249.

BROOKE PJ, EVANS WH (1981). "Determination of total inorganic arsenic in fish, shellfish and fish products". *Analyst*, 106: 514-520.

BROWN RM, NEWTON D, PICKFORD CJ, SHERLOCK JC (1990). "Human metabolism of arsenobetaine ingested with fish". *Hum. Exp. Toxicol.*, 9: 41-46.

BRUMBAUGH WG, WALTHER MJ (1989). "Determination of arsenic and selenium in whole fish by continuous-flow hydride generation atomic absorption spectrometry". *J. Assoc. off Anal. Chem.*, 72: 484-486.

BUAT-MENARD PE (1984). "Fluxes of metals through the atmosphere and oceans". En: *Changing metal cycles and human health*. Nriagu JO (ed). Springer-Verlag, NY, pp: 43-69.

BUCHANAN WD (1962). "Toxicity of Arsenic compounds". Elsevier Monographs. Elsevier Pub, Amsterdam.

BUCHET JP, GEUBEL A, PAUWELS S, MAHIEU P, LAUWERYS R (1984). "The influence of liver disease on the methylation of arsenite in humans". *Arch. Toxicol.*, 55: 151-154.

BUCHET JP, LAUWERYS R (1985). "Study of inorganic arsenic methylation by rat liver in vitro: relevance for the interpretation of observations in man". *Arch. Toxicol.*, 57: 125-129.

## **Bibliografia**

- BUCHET JP, LAUWERYS R (1987). "Study of factors influencing the in vivo methylation of inorganic arsenic in the rat". *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 91: 65.
- BUCHET JP, LAUWERYS R (1988). "Role of thiols in the in-vitro methylation of inorganic arsenic by rat liver cytosol". *Biochem. Pharmacol.*, 37: 3149-3153.
- BUCHET JP, PAUWELS J, LAUWERYS R (1994). Assessment of exposure to inorganic arsenic following ingestion of marine organisms by volunteers. *Environ. Res.* 66:44-51.
- BUHL KJ, HAMILTON SJ (1991). "Relative sensitivity of early life stages of arctic grayling, coho salmon, and rainbow trout to nine inorganics". *Ecotoxicol. Environ.*, 22: 184-197.
- BURATTI M, CALZAFERRI G, CARAVELLI G, COLOMBI A, MARONI M, FOA V (1984). "Significance of arsenic metabolic forms in urine. Part I: chemical speciation". *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, 17: 25-34.
- BURNS LA, SIKORSKI EE, SAADY JJ, MUNSON AE (1991). "Evidence for arsenic as the immunosuppressive component of gallium arsenide". *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 110: 157-169.
- BYRON WR, BIERBOWER GW, BROUWER JB, HANSEN WH (1967). "Pathologic changes in rats and dogs from two-year feeding of sodium arsenate". *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 10: 132-147.
- CAMNER P, CLARKSON TW, NORDBERG GF (1986). "Routes of exposure, dose and metabolism of metals". En: Handbook on the toxicology of metals. Friberg L, Nordberg GF, Vouk VB (eds.). Vol. I. Elsevier Science Pub., Amsterdam. pp. 85-127.
- CANNON JR, EDMONDS JS, FRANCESCONI KA, LANGSFORD JB (1981). "Arsenic in marine fauna". En: International conference. Management and Control of Heavy Metals in the Environment, London, September, 1979. Edingborough, CEP Consultants Ltd.
- CARMIGNANI M, BOSCOLO P, IANNACCONE A (1983). "Effects of chronic exposure to arsenate on the cardiovascular function of rats". *Br. J. Indust. Med.*, 40: 280-284.
- CEE (1991). "Carcinogenicity". Vol III, The Toxicity of Chemicals- series one. Europe against cancer. Brussels-Luxembourg.
- CERVANTES C, JI G, RAMIREZ JL, SILVER S (1994). Resistance to arsenic compounds in microorganisms. *FEMS Microbiol. Rev.* 15: 355-367.
- CERVERA ML, MONTORO R (1994). "Critical review of the atomic spectrometric analysis of arsenic in foods". *Fresenius J. Anal. Chem.* 348: 331-340.

*Estimación toxicológica del As y sus especies*

- CHALLENGER F (1945). "Biological methylation". *Chem. Rev.* 36: 315-361.
- CHARBONNEAU SM, SPENCER K, BRYCE F, SANDI E (1978). "Arsenic excretion by monkeys dosed with arsenic-containing fish and with inorganic arsenic". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 20: 470-477.
- CHARLES JA (1980). "The coming copper and copper-base alloys and iron: a metallurgical sequence." En: The coming of the age of iron. Wertime TA and Muhley JD (eds). University press, New Haven CT, pp: 151-180.
- CHATT A, KATZ SA (1988). Hair analysis. Applications in the biomedical and environmental sciences. Chatt A, Katz SA (eds). VCH publishers, New York.
- CHEN CJ, CHUANG YC, LIN TM, WU HY (1985). "Malignant neoplasms among residents of a Blackfoot disease-endemic area in Taiwan: High arsenic artesian well water and cancers". *Cancer Research*, 45: 5895-5899.
- CHEN B, BURT CT, GOERING PL, FOWLER BA, LONDON RE (1986). "*In vivo* <sup>31</sup>P nuclear magnetic resonance studies of arsenite induced changes in hepatic phosphate levels". *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 139: 228-234.
- CHEN CJ, WU MM, LEE SS, WANG JD, CENG SH, WU HY (1988). "Atherogenicity and carcinogenicity of high-arsenic artesian well water: multiple risk factors and related malignant neoplasms of Blackfoot disease". *Arteriosclerosis*, 8: 452-460.
- CHEN GS, ASAI T, SUZUKI Y, NISHIOKA K, NISHIYAMA S (1990). "A possible pathogenesis for Blackfoot disease effects of trivalent arsenic (As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) on cultured human umbilical vein endothelial cells". *J. Dermatol.*, 17: 599-608.
- CHEN CJ, HSUEH YM, LAI MS, SHYU MP, CHEN SY, WU MM, KUO TL, TAI TY (1995). "Increased prevalence of hypertension and long-term arsenic exposure". *Hypertension*, 25: 53-60.
- CHILVERS DC, PETERSON PJ (1987). "Global cycling of As". En: Pb, Hg, and As in the environment. Hutchinson TC, Meema KM. John Wiley and Sons Inc, NY. pp: 279-301.
- CHIOUH Y, HSUEH YM, LIAW KF, HORNG SF, CHIANG MH, PU YS, LIN JS, HUANG CH, CHEN CJ (1995). Incidence of internal cancers and ingested inorganic arsenic: a seven-year follow-up study in Taiwan. *Cancer Res.* 55: 1296-1300.
- CLARK V, BRATER D, JOHNSON A (1993). "Quimioterapia". En: Farmacología médica. Goth (ed). Mosby, División de Times Mirror de España SA, Madrid, pp: 698

## Bibliografía

- CLEMENT WH, FAUST SD (1973). "A new convenient method for determining As(III) in natural waters". *Environ. Lett.*, 5: 155-164.
- CONCON JM (1988). Food Toxicology Part B: Contaminants and Additives. Marcel Dekker Inc, New York.
- CONNER EA, YAMAUCHI H, FOWLER BA (1995). Alterations in the heme biosynthetic pathway from the III-V semiconductor metal, indium arsenide (InAs). *Chem. Biol. Interact.* 96:273-285.
- CONTRERAS LÓPEZ A, LLANEZA COALLA H, SANTAMARÍA DÍEZ P (1987). "Contenido en metales de los zumos de manzana para sidra de Asturias". *Afinidad XLIV*, 412: 501-503.
- CORNATZER WE, UTHUS EO, HANING JA, NIELSEN FH. (1983) "Effect of arsenic deprivation on phosphatidylcholine biosynthesis on liver microsomes in the rat". *Nutr. Rep. Int.*, 27: 821-829.
- CORNS WT, STOCKWELL PB, EBDON L, HILL SJ (1993). "Development of an atomic fluorescence spectrometer for the hydride-forming elements". *J. of Anal. Spectrom.*, 8: 71-77.
- COX DP, ALEXANDER M (1973). "Production of trimethylarsine gas from various arsenic compounds by three sewage fungi". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 9: 84-88.
- CRECELIUS EA (1977). "Arsenite and arsenate levels in wine". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 18: 227-230.
- CULLEN WR, REIMER KJ (1989). "Arsenic speciation in the environment". *Chem. Rev.*, 89: 713-764.
- CULLEN WR, HERRING FG, NELSON JC (1994). "Employing permeability coefficients to understand the biomobility and bioaccumulation of compounds sensitive to the environment". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 52: 171-175.
- CURRIE LA (1988). "Detection in analytical chemistry, importance, theory and practice". ACS Symposium series 361, Washington, pp: 111.
- CUZICK J, SASIENI P, EVANS S (1992). "Ingested arsenic, keratoses, and bladder cancer". *Am. J. Epidemiol.*, 136: 417-421.
- DABEKA RW, LACROIX GMA (1987). "Total arsenic in foods after sequential wet digestion, dry ashing, coprecipitation with ammonium pyrrolidine dithiocarbamate, and graphite-furnace atomic absorption spectrometry". *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 70: 866-870.

*Estimación toxicológica del As y sus especies*

DABEKA RW, MCKENZIE AD, LACROIX G, CLEROUX C, BOWE S, GRAHAM RA, CONACHER BS, VERDIER P (1993) Survey of arsenic in total diet food composites and estimation of the dietary intake of arsenic by canadian adults and children. *Journal of AOAC* 76: 14-24.

DAKSHINAMURTI K (1982). "Neurobiology of piridine". En: *Advances in nutritional research*. Draper HH (ed). Vol 4. New York. pp: 143-179.

DAS D, CHATTERJEE A, MANDAL BK, SAMANTA G, CHAKRABORTI D, CHANDA B (1995). "Arsenic in ground water in six districts of West Bengal, India: the biggest arsenic calamity in the world. Part 2. Arsenic concentration in drinking water, hair, nails, urine, skin-scale and liver tissue (biopsy) of the affected people". *Analyst*, 120: 917-924.

DE LA ROSA ME, MAGNUSSON J, RAMEL C, NILSSON R (1994). "Modulating influence of inorganic arsenic on the recombinogenic and mutagenic action of ionizing radiation and alkylating agents in *Drosophila melanogaster*". *Mutat. Res.*, 318: 65-71.

DEATON MA, BOWMAN PD, JONES GP, POWANDA MC (1990). "Stress protein syntesis in human keratinocytes treated with sodium arsenite, phenyldichloroarsine, amd nitrogen mustard". *Fundam. Appl. Toxicol.*, 14: 471-476.

DESCOTES J (1986). "Immunotoxicity of heavy metals". En: *Immunotoxicology of drugs and chemicals*. Elsevier Sci. Publishers BV.

DESCOTES J, VERDIER F, BROULAND JP, PULCE C (1990). "Immunotoxicity of lead, cadmium and arsenic: experimental data and their relevance to man". En: *Immunotoxicity of metals and Immunotoxicology*. Dayan AD, Hertel RF, Heseltine E, Kazantzis G, Smith EM, Van der Venne MT (Eds). International Programme on Chemical Safety. Brussels.

DESROSIERS R, TANGUAY RM (1987). "Further characterization of the posttranslational modifications of core histones in response to heat and arsenite stress in *Drosophila*." *Biochem. Cell. Biol.*, 64: 750-757.

DICKINSON JO (1972). "Toxicity of the arsenical herbicide monosodium acid methanearsonate in cattle". *Am. J. Res.*, 33:1889-1892.

DOMINGO JL, BOSQUE MA, PIERA V (1991). "Meso-2,3-dimercaptosuccinic acid and prevention of arsenite embryotoxicity and teratogenicity in the mouse". *Fundam. Appl. Toxicol.* 17: 314-320.

## Bibliografía

DOMINGO JL, BOSQUE MA, LLOBET JM, CORBELLA J (1992). "Amelioration by BAL (2,3-dimercapto-1-propanol) and DMPS (sodium 2,3-dimercapto-1-propanesulfonic acid) or arsenite developmental toxicity in mice". *Ecotoxicol. Environ. Safety*. 23: 274-281.

DOMINGO JL (1995). "Efectos embriotóxicos y teratogénicos de agentes quelantes utilizados en la prevención y tratamiento de las intoxicaciones por metales". *Rev. Toxicol.*, 12: 56-64.

DONG J, LUO X (1994). "Effects of arsenic on DNA damage and repair in human fetal lung fibroblasts". *Mutat. Res.*, 315: 11-15.

DONG J, ZHOU C, LUO X (1995). "Induction of preneoplastic lesions by sodium arsenite in human fetal respiratory epithelia in organ culture". *Environ. Res.*, 68: 39-43.

DRIEHAUS W, JEKEL M (1992). "Determination of As(III) and total inorganic arsenic by on-line pretreatment in hydride generation atomic absorption spectrometry". *Fresenius J. Anal. Chem.*, 343: 352-356.

EATON DK, McCUTCHEON JR (1985). "Matrix modification for furnace atomic absorption spectrometric determination of arsenic in whole human blood". *J. of Anal. Toxicol.*, 9: 213-216.

EDWARDS MJ, MARKS R, DYKES PJ, MERRETT VR, MORGAN HE, O'DONOVAN MR (1991). "Heat shock proteins in cultured human keratinocytes and fibroblasts". *J. Invest. Dermatol.*, 96: 392-396.

ELLENHORN MJ, BARCELOUX DG (1988). "Medical Toxicology. Diagnosis and treatment of human poisoning". Elsevier Science Pub., New York.

ENDO G, KURODA K, OKAMOTO A, HORIGUCHI S (1992). "Dimethylarsenic acid induces tetraploids in chinese hamster cells". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 48: 131-137.

ENGEL RR, HOPENHAYN-RICH C, RECEVEUR O, SMITH AH (1994). "Vascular effects of chronic arsenic exposure: a review". *Epidemiologic reviews*, 16: 184-209.

EXON JH, HARR JR, CLAEYS RR (1976). "The effects of long term feeding of monosodium acid methanearsonate (MSMA) to rabbits". *Nutr. Rep. Int.*, 9: 351-357.

FARMER JG, JOHNSON LR (1990). "Assessment of occupational exposure to inorganic arsenic based on urinary concentrations and speciation of arsenic". *British Journal of Industrial Medicina*, 47: 342-348.

*Estimación toxicológica del As y sus especies*

FAUST SD, WINKA A, BELTON T, TUCKER R (1983). "Assessment of the chemical and biological significance of arsenical compounds in a heavily contaminated watershed Part II. Analysis and distribution of several arsenical species". *J. Environ. Sci. Health* 18: 389-411.

FERGUSON KF, GAVIS J (1972). "A review of the arsenic cycle in natural waters". *Water Res* 6: 1259-1274.

FERNÁNDEZ-SOLA J, NOGUE S, GRAU JM, CASADEMONT J, MUNNE P (1991). "Acute arsenical myopathy: morphological description". *J. Toxicol. Clin. Toxicol.*, 29: 131-136.

FISHER A, BUCHET JP, LAUWERYS RR (1985). "Arsenic uptake, cytotoxicity and detoxification studied in mammalian cells in cultura". *Arch. Toxicol.*, 57: 168-172.

FISHER GL, McNEILL KL, DEMOCKO CJ (1986). "Trace element interactions affecting pulmonary macrophage cytotoxicity". *Environ. Res.*, 1: 164-171.

FREITAS MC, VAZ CARREIRO MC, REIS MF, MARTINHO E (1988). "Determination of the level of some heavy metals in an aquatic ecosystem by instrumental neutron activation analysis". *Environ. Technol. Lett.*, 9: 969-976.

FRIBERG L (1988). "The GESAMP evaluation of potentially harmful substances in fish and other seafood with special reference to carcinogenic substances". *Aquat. Toxicol.*, 11: 379-393.

FOA V, COLOMBI A, MARONI M (1984). "The speciation of the chemical forms of arsenic in the biological monitoring of exposure to inorganic arsenic". *The Science of the Total Environment*, 34: 241-259.

FOWLER BA, MAHAFFEY KR (1978). "Interactions between lead, cadmium and arsenic in relation to porphyrin excretion patterns". *Environ. Health Perspect.*, 25: 87-90.

GARRIDO MD, GIL ML, LLAGUNO C (1974). "Determinación de arsénico en vinos y vinagres". *Anal. Bromatol.* XXVI-2: 167-176.

GEORIS B, CARDENAS A, BUCHET JP, LAUWERYS R (1990). "Inorganic arsenic methylation by rat tissue slices". *Toxicology*, 63: 73-84.

GEUBEL AP, MAILOT MC, BUCHET JP, DIVE C, LAUWERYS R. (1988). "Abnormal methylation capacity in human liver cirrhosis". *Int. J. Clin. Pharmacol. Res.*, 8: 117-122.

GHERARDI RK, CHARIOT P, VANDERSTIGEL M, MALAPERT D, VERROUST J, ASTIER A, BRUN-BUISSON C, SCHAEFFER A (1990). "Organic arsenic-induced Guillain-Barre-like syndrome due to melarsoprol: a clinical, electrophysiological, and pathological study". *Muscle*

*Nerve*, 13: 637-645.

GLASER U, HOCHRAINER D, OLDIGES D, TAKENAKA S (1986). "Long-term inhalation studies with NiO and As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> aerosols in Wistar rats". En: Health hazards and biological effects of welding fumes and gases. Stern RM, Berlin A, Fletcher AC, Jarvisalo J (eds). Amsterdam. pp: 325-328.

GOEBEL HH, SCHIMIDT PF, BOHL J, TETTENBORN B, KRAMER G, GUTMANN L (1990). "Polyneuropathy due to acute arsenic intoxication: biopsy studies". *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, 49: 137-149.

GOLDSTEIN SH, BABICH H (1989). "Differential effects of arsenite and arsenate to *Drosophila melanogaster* in a combined adult/developmental toxicity assay". *Bull. Environ. Toxicol.*, 42: 276-282.

GONSEBATT ME, VEGA L, HERRERA LA, MONTERO R, ROJAS E, CEBRIÁN ME, OSTROSKY-WEGMAN P (1992). "Inorganic arsenic effects on human lymphocyte stimulation and proliferation". *Mutation Research*, 23: 91-95.

GONZÁLEZ MJ, AGUILAR MV, MARTÍNEZ PARA MC (1995). Gastrointestinal absorption of inorganic arsenic(V): The effect of concentration and interactions with phosphate and dichromate. *Vet. Hum. Toxicol.*, 37: 131-136.

GOODMAN GILMAN A, RALL TW, NIES AS, TAYLOR P (1991). "Las bases farmacológicas de la terapéutica". Ed. Médica Panamericana, 8ª ed., Buenos Aires.

GOSSEL TA, BRICKER JD (1994). Principles of clinical toxicology. 3<sup>ed</sup>. Raven press, New York. pp:183-214.

GOYER RA (1996). "Toxic effects of metals". En: Casarett and Doull's Toxicology. The basic science of Poisons. Admur MO, Doull J and Klaassen CD (eds): Pergamon Press, New York. pp: 623-680.

GRABINSKI AA (1981). "Determination of arsenic (III), arsenic (V), monomethylarsonate y dimethylarsinate by ion-exchange chromatography with flameless atomic absorption spectrometric detection". *Anal. Chem.*, 53: 966-968.

GRAEF JW, LOVEJOY FH (1991). "Intoxicación por metales pesados: arsénico." En: Harrison. Principios de medicina interna. Wilson JD (ed). 12ª edición. Interamericana, México. pp: 2535.

- GRESCHONIG H, IRGOLIC KJ (1992). "Electrochemical methods for the determination of total arsenic and arsenic compounds". *Applied organometallic chemistry*, 6: 565-577.
- HAKALA E, PYY L (1995). Assessment of exposure to inorganic arsenic by determining the arsenic species excreted in urine. *Toxicol. Lett.* 77:249-258.
- HADSON PT (1984). "Lead and Arsenic levels in wines produced from vineyards where Lead Arsenate sprays are used for caterpillar control". *J. Sci. Food Agric.*, 35: 215-218.
- HAWKINS DR (1993). "A survey of the biotransformations of drugs and chemicals in animals". *The Royal Society of Chemistry*, Cambridge, Vol. 5: 161.
- HEINRICHS H, KEITSCH H (1982). "Determination of arsenic, bismuth, cadmium, selenium, and thallium by atomic absorption spectrometry with a volatilization technique". *Anal. Chem.*, 4: 1211-1214.
- HENRY FT, THORPE TM (1980). "Determination of arsenic(III), arsenic (V), monomethylarsonate, and dimethylarsinate by differential pulse polarography after separation by ion exchange chromatography". *Anal. Chem.*, 52: 80-83.
- HERTZ-PICCIOTTO I, SMITH AH, HOLTZMAN D, LIPSETT M, ALEXEEFF G (1992). "Synergism between occupational arsenic exposure and smoking in the induction of lung cancer". *Epidemiology*, 3: 23-31.
- HILMY AM, EL-DOMIATY NA, KAMAL MA, MOHAMED MA, ABOU SAMRA WE (1991). "Effect of some arsenic antagonists on the toxicity, distribution and excretion of arsenite and arsenate in rats". *Comp. Biochem. Physiol.* 99: 357-362.
- HINDMARSH JT, McLETCHE OR, HEFFERNAN LP, HAYNE OA, ELLENBERGER HA, McCURDY RF, THIEBAUX HJ (1977). "Electromyographic abnormalities in chronic environmental arsenicalism". *J. Anal. Toxicol.*, 1: 270-276.
- HIRATA M, TANAKA A, HISANAGA A, ISHINISHI N (1990). "Effects of glutathione depletion on the acute nephrotoxic potential of arsenite and on arsenic metabolism in hamsters". *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 106: 469-481.
- HOLM TR, ANDERSON MA, IVERSON DG, STANDFORTH RS (1979). En: *Chemical Modeling Aqueous Systems*. Jenne, EA (Ed). ACS Symposium Series 93; American Chemical Society, Washington. pp. 711-736.

## Bibliografia

- HOLMBERG RE, FERM VH (1969). "Interrelationships of selenium, cadmium and arsenic in mammalian teratogenesis". *Arch. Environ. Health*, 18: 873-877.
- HSUEH YM, CHENG GS, WU MM, YU HS, KUO TL, CHEN CJ (1995). "Multiple risk factors associated with arsenic-induced skin cancer: effects of chronic liver disease and malnutritional status". *Br. J. Cancer*, 71: 109-114.
- HUANG RN, HO IC, YIH LH, LEE TC (1995). "Sodium arsenite induces chromosome endoreduplication and inhibits protein phosphatase activity in human fibroblasts". *Environ. Mol. Mutagen.*, 25: 188-196.
- HUDNIK V, GOMISCEK S (1984). "The atomic absorption spectrometric determination of Arsenic and Selenium in mineral waters by electrothermal atomization". *Anal. Chim. Acta* 157: 135-142.
- HUGHES K, MEEK ME, BURNETT R (1994). "Inorganic arsenic: evaluation of risks to health from environment exposure in Canada". *Environ. Carcino. and Ecotox. Revs.*, 12: 145-159.
- HUGHES MF, MENACHE M, THOMPSON DJ (1994). Dose-dependent disposition of sodium arsenate in mice following acute oral exposure. *Fundam. Appl. Toxicol.* 22:80-89.
- HUGHES MF, MITCHELL CT, EDWARDS BC, RAHMAN MS (1995). In vitro percutaneous absorption of dimethylarsinic acid en mice. *J. Toxicol. Environ. Health*, 45: 279-290.
- HUNG TC, KUO CY, JENG WL (1994). "Characterization of dissolved organic carbon and humic substances in the well water of the Blackfoot disease area in Taiwan". *Toxicol. and Environ. Chem.*, 46: 127-134.
- IARC (1987). IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, supplement 7, pp: 100-106.
- IARC (1993). Monograph on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Suppl. 7. Lyon, France.
- IKEBE K (1992). "Daily intake of metals by females in Osaka, Japan". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 49: 509-513.
- INNS RH, RICE P, BRIGHT JE, MARRS TC (1990). "Evaluation of the efficacy of dimercapto chelating agents for the treatment of systemic organic arsenic poisoning in rabbits". *Hum. Exp. Toxicol.* 9: 215-220.

*Estimación toxicológica del As y sus especies*

IRGOLIC KJ, STOCKTON RA (1983). "Determination of arsenic compounds in water supplies". En: Arsenic: Industrial, Biomedical, Environmental perspectives. Lederer WH, Fensterheim RJ (eds). Van Nostrand, NY. pp: 282-305.

ISHIGURO S (1992). "Industries using arsenic and arsenic compounds". *Applied Organometallic Chemistry* 6: 323-331.

ISHIKAWA M, OKOSHI K, KUROSAWA M, KITAO K (1987). "Trace element analysis of seawater by PYXE". En: Sebe T, Yamamoto Y (eds). Application of ion beams in material science, proceedings of the 12th International Symposium of Hosei University Tokio, Japan, Sept. 2-4, Hosei University Press, pp: 445-456.

ISHINISHI N, TSUCHIYA K, VAHTER M, FOWLER BA (1986). "Arsenic". En: Handbook on the toxicology of metals. Friberg L, Nordberg GF, Vouk VB (eds). Vol. II, Elsevier Science Pub., Amsterdam. pp. 43-83.

JAGHBIR MT, ABDELGHANI AA, ANDERSON AC (1989). "Histopathological effects of monosodium methanoarsonate (MSMA) on New Zealand white rabbits (*Oryctolagus cuniculus*)". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 42: 289-293.

JÄNNE J, HÓLTTÁ E, KALLIO A, KÄPYAHO K (1983). "Role of polyamines and their antimetabolites in clinical medicine". *Spec. Top. Endocrinol. Metab.*, 5: 227-293.

JÄRUP L, PERSHAGEN G (1991). "Arsenic exposure, smoking, and lung cancer in smelter workers. A case-control study". *American Journal of Epidemiology*, 6:545-551.

JHA AN, NODITI M, NILSSON R, NATARAJAN AT (1992). "Genotoxic effects of sodium arsenite on human cells". *Mutat. Res.*, 284: 215-221.

JIMÉNEZ DE BLAS O, VICENTE S, SEISDEDOS R, HERNÁNDEZ J (1994). "Determination and speciation of arsenic in human urine by ion-exchange chromatography/flow injection analysis with hydride generation/atomic absorption spectroscopy". *Journal of the AOAC International*, 77. 441-445.

JOHNSON A, NORTON D, YAKE B, TWISS S (1990). "Transboundary metal pollution of the Columbia River (Franklin D. Roosevelt Lake)". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 45: 703-710.

JOHNSON LR, FARMER JG (1991). "Use of human metabolic studies and urinary arsenic speciation in assessing arsenic exposure". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 46: 53-61.

## Bibliografía

- JOINT FAO/WHO EXPERT COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES (1983) 27th Report. Technical Report Series No. 696, World Health Organization, Geneva.
- JOINT FAO/WHO EXPERT COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES (1989) 33rd Report, pp: 27-38. Technical Report Series No. 776, World Health Organization, Geneva, Switzerland.
- JONES MM (1991). "New developments in therapeutic chelating agents as antidotes for metal poisoning". *Crit. Rev. Toxicol.* 21: 209-233.
- KAISE T, HORIGUCHI Y, FUKUI S, SHIOMI K, CHINO M, KIKUCHI T (1992). "Acute toxicity and metabolism of arsenocholine in mice". *Applied organometallic Chemistry*, 6: 369-373.
- KERR SJ (1972). "Competing methyltransferase systems". *J. Biol. Chem.*, 247: 4248-4252.
- KLAASEN CD (1990). " Heavy metals and Heavy-metals antagonists". In: Goodman AG, Rall TW, Nies AS and Taylor P (eds). Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 8th ed, pp: 1602-1605. New York.
- KLAASSEN CD 1991. "Metales pesados y antagonistas de los metales pesados". En: Las bases farmacológicas de la terapéutica. Goodman A, Rall TW, Nies AS, Taylor P (eds). Panamericana, Bogotá. pp: 1538-1558.
- KOE T, BEEK MA, HAARSMA MS, ERNST W (1991). "Heavy metals and arsenic in grasses and soils of mine spoils in north east Portugal, with particular reference to some portugese goldmines". *Environ. pollut.*, 1-ICEP.1. pp: 373-380.
- KREPPPEL H, REICH FX, SZINICZ L, FICHTL B, FORTH W (1990). "Efficacy of various dithiol compounds in acute As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> poisoning in mice". *Arch. Toxicol.* 64: 387-392.
- LACAYO ML, CRUZ A, CALERO S, LACAYO J, FORMSGAARD I (1992). "Total Arsenic in water, fish, and sediments from Lake Xolotlán, Managua, Nicaragua". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 49: 463-470.
- LAI MS, HSUEH YM, CHEN CJ, SHYU MP, CHEN SY, KUO TL, WU MM, TAI TY (1994). "Ingested inorganic arsenic and prevalence of diabetes mellitus". *Am. J. Epidemiol.*, 139: 484-492.
- LANTZ RC, PARLIMAN G, CHEN GJ, BARBER D, WINSKI S, CARTER DE (1994). "Effect of arsenic exposure on alveolar macrophage function. II. Effect of lightly soluble forms of As(III) and As(V)". *Environ. Res.*, 68: 59-67.

*Estimación toxicológica del As y sus especies*

- LAWRENCE JF, MICHALIKP, TAM G, CONAHER BS (1986). "Identification of arsenobetaine and arsenocholine in canadian fish and shellfish by high-performance liquid chromatography with atomic absorption detection and confirmation by fast atom bombardment mass spectrometry". *J. Agric. Food Chem.*, 34: 315-319.
- LEDET AE, DUNCAN JR, BUCK WB, RAMSEY FK (1973). "Clinical, toxicological and pathological aspects of arsenic acid poisoning in swine". *Clin. Toxicol.*, 6: 439-457.
- LEE SF, YU CT, JAN KY (1992). "Effect of arsenite on the DNA repair of UV-irradiated Chinese hamster ovary cells". *Mutagenesis*, 7: 51-55.
- LEE TC, KAO SL, YIH LH (1991). "Suppression of sodium arsenite-potentiased cytotoxicity of ultraviolet light by cicloheximide in Chinese hamster ovary cells". *Arch. Toxicol.*, 65: 640-645.
- LEE TC, HO IC (1994). "Differential cytotoxic effects of arsenic on human and animal cells". *Environ. Health Perspect.*, 102: 101-105.
- LE XC, CULLEN WR, REIMER KJ (1993). "Determination of urinary arsenic and impact of dietary arsenic intake". *Talanta*, 2: 183-193.
- LE XC, CULLEN WR, REIMER KJ (1994a). "Speciation of arsenic compounds in some marine organisms". *Environ. Sci. Technol.*, 28: 1598-1604.
- LE XC, CULLEN WR, REIMER KJ (1994b). Human urinary arsenic excretion after one-time ingestion of seaweed, crab, and shrimp. *Clin. Chem.* 40:617-624.
- LEIKIN JB, GOLDMAN-LEIKIN RE, EVANS MA, WIENER S, HRYHORCZUK DO (1991). "Immunotherapy in acute arsenic poisoning". *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* 29: 59-70.
- LEMMO NV, FAUST SD, BELTON T, TUCKER R (1983). "Assessment of the chemical and biological significance of arsenical compounds in a heavily contaminated watershed. Part I. The fate and speciation of arsenical compounds in aquatic environments.- A literature review. *J. Environ. Sci. Health* 18: 335-387.
- LENIHAN J (1988). "The crumbs of creation". Adam Hilger, Bristol and Philadelphia.
- LENVIK K, STEINERS E, PAPPAS AC (1978). "Contents of some heavy metals in Norwegian rivers". *Nord. Hydrol.* 9: 197-206.
- LEONARD A (1991). "Arsenic". En: *Metals and their compounds in the environment*. Merian E (Ed). VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, Germany.

## Bibliografía

- LERDA D (1994). "Sister-chromatid exchange (SCE) among individuals chronically exposed to arsenic in drinking water". *Mutat. Res.*, 312: 111-120.
- LI JH, ROSSMAN TG (1989a). "Mechanism of co-mutagenesis of sodium arsenite with N-methyl-N-nitrosourea". *Biol. Trace Element Res.*, 21: 373-381.
- LI JH, ROSSMAN TG (1989b). "Inhibition of DNA ligase activity by arsenite: a possible mechanism of its co-mutagenesis". *Mol. Toxicol.*, 2: 1-9.
- LI JH, ROSSMAN TG (1991). Comutagenesis of sodium arsenite with ultraviolet radiation in chinese hamster V79 cells". *Biol. Met.*, 4: 197-200.
- LIEBL B, MUCKTER H, DOKLEA E, FICHTL B, FORTH W (1995). "Influence of 2,3-dimercaptopropanol and other sulfur compounds on oxophenylarsine-mediated inhibition of glucose uptake in MDCK cells". *Analyst*, 120: 771-774.
- LILIENFELD DE (1988). "Arsenic, geographical isolates, environmental epidemiology, and arteriosclerosis". *Arteriosclerosis*, 8: 449-451.
- LIN TH, TSENG WC (1995). "Arsenic and lipid peroxidation in patients with blackfoot disease". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 54: 488-493.
- LIÑÁN C (1996). "Vademecum de productos fitosanitarios y nutricionales". Ed: Ediciones agrotécnicas, SL. Madrid.
- LO MC (1978). "The arsenic content of farm and fishis in areas where high arsenic well water was used for agriculture and pisciculture". *Blackfoot Disease Res. Rep.*, 6:28-46.
- LÓPEZ-ATÍGUEZ M, SORIA ML, REPETTO M (189). "Heavy metals in bivalve molluscs in the Huelva estuary". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 42: 634-642.
- LU FJ (1990a). "Arsenic as a promoter in the effect of humic substances on plasma prothrombin time in vitro". *Thromb. Res.*, 58: 537-541.
- LU FJ (1990b). "Blackfoot disease: arsenic or humic acid?". *Lancet*, 336: 115-116.
- LU FJ, HSIEH H, YAMAUCHI H, YAMAUCHY Y (1991). "Fluorescent humic substances-arsenic complex in well water in areas where Blackfoot disease is endemic in Taiwan". *Applied Organomet. Chem.*, 5: 507-512.
- LU FJ, LEE YS (1992). "Humic acid: inhibitor of plasmin". *Sci. total environ.*, 114: 135-139.

*Estimación toxicológica del As y sus especies*

- LU FJ, HUANG TS, LEE JH (1994). "Effect of synthetic humic acid-multimetal complex on human plasma prothrombin time". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 53: 577-582.
- LÜCHTRATH H (1983). "The consequences of chronic arsenic poisoning among Moselle wine growers". *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 105: 173-182.
- L'VOV BV (1961). "The analytical use of atomic spectra". *Spectrochim. Acta*, 17: 761-70.
- MACLEAN KS, LANGILLE WM (1981). "Arsenic in orchard and potato soils and plant tissue". *Plant and Soil*, 61: 413-418.
- MAHAFFEY KR, FOWLER BA (1977). "Effects of concurrent administration of lead, cadmium and arsenic in the rat". *Environ. Health Perspect.*, 19: 165-171.
- MAITANI T, UCHIYAMA S, SAITO Y (1987). "Hydride generation-flame atomic-absorption spectrometry as an arsenic detector for high-performance liquid chromatography". *J. of Chromatography*, 391: 161-168.
- MANSON-BAHR PEC, BELL DR (1987). "Manson's tropical disease". Ed. Bailliere Tindall, pp. 1197-1198.
- MANN LJ, KNOBEL LL (1988). "Concentrations of nine trace metals in groundwater at the Idaho National Engineering Laboratory, Idaho. U.S. Geological Survey Open-File Report 88-332. Idaho.
- MANZO L, BLUM K, SABBIONI E (1985). "Neurotoxicity of selected metals". En: Neurotoxicology. Blum K. y Manzo L. (Eds). New York. pp: 385-404.
- MAPPES R (1977). "Experiments on the excretion of arsenic in urine". *Int. Arch. occup. environ. Health*, 40: 267-272.
- MARAFANTE E, VAHTER M, DENCKER L (1984). "Metabolism of arsenocholine in mice, rats and rabbits". *Sci. Total Environ.*, 34: 223-240.
- MARAFANTE E, VAHTER M, NORIN H, ENVALL J, SANDSTRÖM, CHRISTAKOPOULOS A, RYHAGE R (1987). "Biotransformation of dimethylarsinic acid in mouse, hamster and man". *J. Appl. Toxicol.*, 7: 111.
- MARTIN I, LOPEZ-GONZALVEZ MA, GOMEZ M, CAMARA C, PALACIOS MA (1995). Evaluation of high-performance liquid chromatography for the separation and determination of arsenic species by on-line high-performance liquid chromatographic-hydride generation-atomic absorption spectrometry. *J. Chromatogr. B. Biomed. Appl.* 666:101-109.

## Bibliografía

- MARTIN DS, WILLIS SE, CLINE DM (1990). "N-acetylcysteine in the treatment of human arsenic poisoning". *J. Am. Board Fam. Pract.* 3: 293-296.
- MARTINDALE W (1993). "The Extra Pharmacopoeia". Reynolds JEF (ed.), The Pharmaceutical Press, 30 edición, London.
- MATHIEU D, MATHIEU-NOLF M, GERMAIN-ALONSO M, NEVIERE R, FURON D, WATTEL F (1992). "Massive arsenic poisoning-effect of hemodialysis and dimercaprol on arsenic kinetics". *Intensive Care Med.* 18: 47-50.
- MAZUMBER DN, CHAKRABORTY AK, GHOSE A, GUPTA JD, CHAKRABORTY DP, DEY SB, CHATTOPADHYAY N (1988). "Chronic arsenic toxicity from drinking tubewell water in rural West Bengal". *Bulletin WHO*, 66: 499-506.
- MCBRIDE BC, MERILEES H, CULLEN WR, PICKETT W (1978). "Anaerobic and aerobic alkylation of arsenic". En: *Organometals and organometalloids*. Brinckman FE, Bellama JM (eds). Washington, Am. Chem Society. pp.94-115.
- MCBRIDE BC, WOLFE RS (1971). "Biosynthesis of dimethylarsine by methanobacterium". *Biochem.*, 10: 4312-4317.
- McCABEY M, MAGUIRE D, NOWAK M (1983). "The effects of arsenic compounds on human and bovine lymphocyte mitogenesis in vitro". *Environ. Res.*, 31: 323-331.
- MCGEACHY SM, DIXON DG (1989). "The impact of temperature on the acute toxicity of arsenate and arsenite to rainbow trout (*salmo gairdneri*)". *Ecotoxicol. Environ.*, 17: 86-93.
- MICHEL P, AVERTHY B, COLANDINI V (1992). "Improvement in arsenic speciation, using hydride generation and atomic absorption spectrophotometry". *Mikrochim. Acta*, 35: 35-38.
- MINISTERIO DE AGRICULTURA PESCA Y ALIMENTACIÓN. Consumo Alimentario en España, 1990.
- MINISTRY OF AGRICULTURE, FISHERIES AND FOOD (1982). Survey of arsenic in food. Food surveillance paper n° 8. HMSO.
- MILLER JC, MILLER JN (1995). "Statistics for analytical chemistry". Mansson M, Tyson J, Stockwell P (eds). 12ª ed. Ellis Horwood PTR Prentice Hall, London.
- MOHELSKA H, BENCKO V, SMETANA K, HYNČICA V (1980). "Ultrastructural changes in hepatocytes exposed to arsenic in drinking water". *Exp. Pathol.*, 8: 275-281.

*Estimación toxicológica del As y sus especies*

MOK WM, WAI CM (1987). "Simultaneous extraction of trivalent and pentavalent antimony and arsenic species in natural waters for neutron activation analysis". *Anal. Chem.*, 59: 233-236.

MOORE GL (1989). "Introduction to inductively coupled plasma atomic emission spectrometry". Elsevier Science, Amsterdam.

MOREIRAS O, CUADRADO C (1992) Theoretical study of the intake of trace elements (nutrients and contaminants) via total diet in some geographical areas of Spain. *Biological Trace Element Research* 32: 93-103.

MOREL G, CLUET JL, TELOLAHY P, YANG HM, THIEFFRY N, DE CEAURRIZ J (1995). "Interindividual variability in the urinary excretion of inorganic arsenic metabolites by C57 BL/6J mice: possible involvement of a thiol/disulfide exchange mechanism". *Toxicol. Lett.*, 78: 111-117.

MORITA M, UEHIRO T, FUWA K (1981). "Determination of arsenic compounds in biological samples by liquid chromatography with inductively coupled argon plasma-atomic emission spectrometric detection". *Anal. Chem.*, 53: 1806-1808.

MORRISSEY RE, FOWLER BA, HARRIS MW, MOORMAN MP, JAMESON CW, SHWETZ BA (1990). "Arsine: absence of developmental toxicity in rats and mice". *Fundam. Appl. Toxicol.*, 15: 350-356.

MÜNZ H, LORENZEN W (1984). "Differenzierte bestimmung von anorganischen und organischen arsen in lebensmitteln mit hilfe der atomabsortions-spektroskopie". *Fresenius Z. Anal. Chem.*, 319: 395-398.

NAGARAJA TN, DESIRAJU T (1993). "Regional alterations in the levels of brain biogenic amines, glutamate, GABA and GAD activity due to chronic consumption of inorganic arsenic in developing and adult rats". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 50: 100-107.

NAGARAJA TN, DESIRAJU T (1994). "Effects on operant learning and brain acetylcholine esterase activity in rats following chronic inorganic arsenic intake". *Hum. Exp. Toxicol.*, 13: 353-356.

NAKAMURO K, SAYATO Y (1981). "Comparative studies of chromosome aberration induced by trivalent and pentavalent arsenic". *Mutat. Res.*, 88: 73-80.

NAKASHIMA S, STURRGEON RE, WILLIE SN, BERMAN SS (1988). "Acid digestion of marine samples for trace element analysis using microwave heating". *Analyst*, 113: 159-163.

- NAQVI SM, FLAGGE CT, HAWKINS RL (1990). "Arsenic uptake and depuration by Red Crayfish, *Procambarus clarkii*, exposed to various concentrations of monosodium methanearsonate (MMAA) herbicide". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 45: 94-100.
- NARASAKI H, IKEDA M (1984). "Automated determination of Arsenic and Selenium by atomic absorption spectrometry with hydride generation". *Anal. Chem.*, 56: 2059-2063.
- NAVARRO M, LÓPEZ H, LÓPEZ MC (1984). "Determination of arsenic in fish by hydride generation atomic absorption spectrometry". *Anal. Chem.*, 56: 1758-1760.
- NAVARRO M, SÁNCHEZ M, LÓPEZ H, LÓPEZ MC (1993). "Arsenic contamination levels in waters, soils, and sludges in Southeast Spain". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 50: 356-362.
- NARASAKI H, IKEDA M (1984). "Automated determination of Arsenic and Selenium by atomic absorption spectrometry with hydride generation". *Anal. Chem.* 56: 2059-2063.
- NEUMANN CH, DE VILLIERS EM, GRIMMEL M (1987). "Human Papillomaviruses in arsenical skin lesions". *J. Invest. Dermatol.*, 89: 448.
- NEVENS F, FEVERY J, VAN STEENBERGEN W, SCIOT R, DESMET V, DE GROOTE J (1990). "Arsenic and non-cirrhotic portal hypertension. A report of eight cases". *J. Hepatol.*, 11 (1): 80-85.
- NIELSEN FH, GIVAND SH, MYRON DR (1975). "Evidence for a possible requirement for arsenic by the rat". *Fed. Proc. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.*, 34:923.
- NIELSEN FH, SHULER TR (1978). "Arsenic deprivation studies in Chicks". *Fed. Proc., Fed. Am. Soc. Exp. Biol.*, 37: 893.
- NIELSEN FH (1990). "New essential trace elements for the life sciences". *Biological Trace Element Research*, pp: 599-611.
- NIELSEN FH (1991). "Nutritional requirements for boron, silicon, vanadium, nickel, and arsenic: current knowledge and speculation". *The FASEB Journal*, 5: 2661-2667.
- NILSSON R, JHA AN, ZAPRIANOV Z, NATARAJAN AT (1993). "Chromosomal aberrations in humans exposed to arsenic in the srednogorie area, Bulgaria". *Fresenius Envir. Bull.*, 2: 59-64.
- NIXON DE, MOYER TP (1992). "Arsenic analysis II: rapid separation and cuantification of inorganic arsenic plus metabolites and arsenobetaine from urine". *Clinical chemistry*, 38: 2479-2483.

NORDBERG GF, PERSHAGEN G (1984). "Metal interactions in carcinogenesis". *Toxicol. and Environ. Chem.*, 9: 63-78.

NORDBERG GF, PARIZEK J, PERSHAGEN G, GERHARDSSON L (1986). "Factors influencing effects and dose-response relationships of metals". En: Handbook on the toxicology of metals. Friberg L, Nordberg GF, Vouk V (eds). Elsevier Science, New York. pp: 175-205.

NORDERSON I, SWEINS A, BECKMAN L (1981). "Chromosome aberrations in cultured human lymphocytes exposed to trivalent and pentavalent arsenic". *Scand. J. Work Environ. Health*, 7: 277-281.

NORDERSON I, BECKMAN L (1991). "Is the genotoxic effect of arsenic mediated by oxygen free radicals?". *Hum. Hered.*, 41: 71-73.

NORDSTROM S, BECKMAN L, NORDERSON I (1979). "Occupational and environmental risks in and around a smelter in Northern Sweden". *Hereditas*, 90: 297-302.

NORRIS LA, CANUTT PR, NEUMAN JF (1983). "Arsenic in the forest environment after thinning with MSMA and cacodilic acid". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 30: 309-316.

NORTH WD (1992). "Risk assessment for ingested inorganic arsenic: a review and status report" *Environmental Geochemistry and Health*, 14: 59-62.

NRIAGU JO, AZCUE JM (1990). "Environmental sources of arsenic in food". *Adv. Environ. Sci. Technol.*, 23: 103-127.

OCHI T, KAISE T, OYA-AHTA Y (1994). "Glutathione plays different roles in the induction of the cytotoxicity effects of inorganic and organic arsenic compounds in cultured BALB/c3T3 cells". *Experientia* 50: 116-120.

OFFERGELT JA, ROELS H, BUCHET JP, BOECKX M, LAUWERYS R (1992). "Relation between airborne arsenic trioxide and urinary excretion of inorganic arsenic and its methylated metabolites". *British Journal of Industrial Medicine*, 49: 387-393.

OUKI T, FUJIWARA Y (1986). "Inhibition of human excision DNA repair by inorganic arsenic and the comutagenic effect in V79 Chinese hamster cells". *Mutation Res.*, 172: 69-76.

OLIVEIRA E, McLAREN JW, BERMAN SS (1983). "Simultaneous determination of arsenic, antimony and selenium in marine samples by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry". *Anal. Chem.*, 55: 2047-2050.

## Bibliografía

- OSTROSKY-WEGMAN P, GONSEBATT ME, MONTERO R, VEGA I, BARBA H, ESPINOSA J, PALAO A, CORTINAS C, GARCÍA-VARGAS G, DEL RAZO LM, CEBRIÁN M (1991). "Lymphocyte proliferation kinetics and genotoxic findings in a pilot study on individuals chronically exposed to arsenic in Mexico". *Mutat. Res.*, 250: 477-482.
- OTT MG, HOLDER BB, GORDON HL (1974). "Respiratory cancer and occupational exposure to arsenicals". *Ach. Environ. Health.*, 29: 250-255.
- PALDY A, FARKAS I, MARKUS V, GUNDY S (1991). "Chromosomal aberrations in children exposed to high concentration of arsenic in drinking water". 21st Annual Meeting of the European Mutagen Society (EEMS) on Environmental Mutagens-Carcinogens, Prague, August 25-30.
- PERKIN ELMER Co. (1982). Analytical Methods for Atomic Absorption Spectrophotometry. Perkin Elmer Norwalk, Connecticut, USA.
- PERSHAGEN G, NODBERG G, BJORKLUND NE (1984). "Experimental evidence on the pulmonary carcinogenicity of arsenic trioxide". *Arch. Toxicol.*, 7: 403-404.
- POMROY C, CHARBONNEAU SM, McCULLOUGH RS, TAM G (1980). "Human retention studies with <sup>74</sup>As". *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 53: 550-556.
- POWER HK, TOWN RM (1991). "Interaction of humic substances with hydrophobic metal complexes: A study by anodic stripping voltametry and spectrophotometry". *Anal. Chim. Acta.*, 248: 95-102.
- PRASAD GV, ROSSI NF (1995). "Arsenic intoxication associated with tubulointerstitial nephritis". *Am. J. Kidney Dis.* 26: 373-376.
- QUENTIN KE, WINKLER HA (1974). "Occurrence and determination of inorganic pollution agents". *Zentralbl. Bakteriol.*, 158: 514-523.
- QUEVAUVILLER PH, MAIER EA, GRIEPINK B (1993). "Projects for the improvement of the quality of chemical speciation analyses in environmental matrices". *Fresenius J. Anal. Chem.*, 345: 282-286.
- RAHTNAMAN MS, HALL LL, HUGHES MF (1994). "In vitro percutaneous absorption of sodium arsenate in B6C3F mice". *Toxic. in vitro*, 8:441-448.
- RAMOS-MORALES P, RODRIGUEZ-ARNAIZ R (1995). "Genotoxicity of two arsenic compounds in germ cells and somatic cells of *Drosophila melanogaster*". *Environ. Mol. Mutag.*, 25: 288-299.

*Estimación toxicológica del As y sus especies*

- RANKIN MG, DIXON DG (1994). "Acute and chronic Toxicity of waterborne arsenite to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)". *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 51: 372-380.
- RATMAN K, ESPY M, MULLER S, SMITH T, SU W (1992). "Clinopathologic study of arsenic-induced skin lesions: no definite association with human papillomavirus". *Journal of the American Academy of Dermatology*, 27: 120-122.
- RAURET G, RUBIO R, PADRÓ A (1991). "Arsenic speciation using HPLC-HG-ICP-AES with gas-liquid separator". *Fresenius J. Anal. Chem.*, 340: 157-160.
- RAWN D (1989). *Bioquímica*. McGraw Hill Interamericana. Madrid.
- REICHL FX, SZINICZ L, KREPPPEL H, FICHTL B, FORTH W (1990). "Effect of glucose in mice after acute experimental poisoning with arsenic trioxide ( $As_2O_3$ )". *Arch. Toxicol.* 64: 336-338.
- REICHL FX, KREPPPEL H, SZINICZ L, FICHTL B, FORTH W (1991). "Reduction of arsenic trioxide toxicity in mice by repeated treatment with glucose". *Arch. Toxicol.* 14: 225-228.
- REICHL FX, MUCKTER H, KREPPPEL H, FORTH W (1992). "Effect of various antidotes on biliary excretion of arsenic in isolated perfused livers of guinea pigs after acute experimental poisoning with  $As_2O_3$ ". *Pharmacol. Toxicol.* 70: 352-356.
- REPETTO M (1988). *Toxicología fundamental*. Editorial científico-médica. Madrid.
- REPETTO M (1991). "Aspectos toxicológicos de las armas químicas". *Rev. Toxicol.* 8:5-26.
- REPETTO M (1995a). "Toxicología del alcohol etílico". En: *Toxicología Avanzada*. Repetto M (ed). Diaz de Santos, Madrid. pp: 425-475.
- REPETTO M, SANNZ P (1995b). "Glosario de términos toxicológicos". IUPAC Versión española ampliada. Asociación Española de Toxicología. Sevilla.
- REZUKE WN, ANDERSON C, PASTUSZAK WT, CONWAY SR, FIRSHEIN SI (1991). "Arsenic intoxication presenting as myelodysplastic syndrome: a case report". *Am. J. Hematol.*, 36: 291-293.
- RICCI GR, SHEPARD LS, COLOVOS G, HESTER NE (1981). "Ion chromatography with atomic absorption spectrometric detection for determination of organic and inorganic arsenic species". *Anal. Chem.*, 53: 610-613.
- RIEDEL GF, SANDERS JG, OSMAN RW (1987). "The effect of biological and physical disturbances on the transport of arsenic from contaminated estuarine sediments". *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 25: 693-706.

## Bibliografía

- RITCHIE JA (1961). "Arsenic and antimony in some New Zeland thermal waters". *N.Z.J. Sci.*, 4: 218-229.
- ROSENBERG HG (1974). "Systemic arterial disease and chronic arsenicism in infants". *Arch. Pathol.*, 97: 360-365.
- ROSENTHAL GJ, FORT MM, GERMOLEC DR, ACKERMANN MF, BLAIR P, LAMM KR, LUSTER MI (1988). "Effects of subchronic exposure to arsine on immune function and host resistance". *Toxicologist*, 8: 74.
- RUBIO R, PADRÓ A, ALBERTÍ J, RAURET G (1992). "Speciation of organic and inorganic arsenic by HPLC-ICP". *Mikrochim. Acta*, 109: 39-45.
- RUBIO R, ALBERTÍ J, RAURET G (1993a). "Photooxidation of arsenobetaine and arsenocholine to generate arsines previous to ICP-OES measurement". *Inter. J. Environ. Anal. Chem.*, 52: 203-213.
- RUBIO R, PADRÓ A, ALBERTÍ J, RAURET G (1993b). "Determination of arsenic speciation by liquid chromatography-hidride generation inductively coupled plasma atomic emission spectrometry with on-line UV photooxidation". *Anal. Chim. Acta*, 283: 160-166.
- SABBIONI E, FISCHBACH M, POZZI G (1992). "Cellular retention, toxicity and carcinogenic potential of seafood arsenic. 1. Lack of cytotoxicity and transforming activity of arsenobetaine in the BALB/3t3 cell line". *Carcinogenesis*, 12: 1287-1291.
- SALGADO M, SANS M, FORNS X, BRUGUERA M, CASTELLS A, NAVASAM, RODES J (1995). "Angiosarcoma hepático: presentación de un caso asociado al tratamiento con sales de arsénico y revisión de la literatura". *Gastroenterol. Hepatol.*, 18: 132-135.
- SALISBURY C, CHAN W (1985). "Simple automated wet digestion of animal tissues for determination of seven elements by atomic absorption spectroscopy". *J. Assoc. off Anal. Chem.*, 68: 218-219
- SANCHEZ-URÍA JE (1994). "La especiación metálica en muestras medioambientales". *Química e industria*, Feb.: 25-34.
- SANDERS JG (1985). "Arsenic geochemistry in Chesapeake Bay: dependence upon anthropogenic inputs and phytoplankton species composition". *Mar. Chem.*, 17: 329-340.
- SANDERS JG, RIEDEL GF (1992). "Sources, cycling and fate of contaminants in Chesapeake Bay". *Wat. Sci. Tech.*, 26: 2645-2652.

*Estimación toxicológica del As y sus especies*

SANZ-GALLEN P, NOGUE S, LUBURICH P, MUNNE P, LACALLE H, REIG R (1993). "The radiological findings in poisonings". *Rev. Esp. Enferm. Dig.*, 81: 205-208.

SCHÄFER B, KREPPPEL H, REICHL FX, FICHTL B, FORTH W (1991). "Effect of oral treatment with BAL, DMPS or DMSA Arsenic in organs of mice injected with arsenic trioxide". *Arch. Toxicol.* 14: 228-230.

SCHRAMMEL P, XU L (1992). "On-line preconcentration of arsenic from water samples with an anion-exchanger column coupled to a hydride generation ICP system". *Fresenius J. Anal. Chem.*, 343: 373-377.

SCHRMOLKE G, ELSENHANS B, EHTECHAMI C, FORTH W (1993). "Arsenic-copper interaction in the kidney of the rat". *Hum. Exp. Toxicol.*; 11: 315-321.

SCOTT N, HATLELID KM, MacKENZIE NE, CARTER DE (1993). "Reactions of arsenic(III) and arsenic(V) species with glutathione". *Chem. Res. Toxicol.*, 6: 102-106.

Servicio de información toxicológica del Instituto Nacional de Toxicología, Departamento Regional de Sevilla.

SHAIKH AU, TALIMAN DE (1977). "Determination of sub-microgram per liter quantities of arsenic in water by arsine generation followed by graphite furnace atomic absorption spectrometry". *Anal. Chem.*, 49: 1093-1099.

SHANNON RL, STRAYER DS (1989). "Arsenic-induced skin toxicity". *Human Toxicol.*, 8: 99-104.

SHARIATPANAH M, ANDERSON AC (1984). "Uptake, distribution and elimination of monosodium methanearsonate following long term oral administration of the herbicide to sheep and goats". *J. Environ. Sci. Health. Part B.* 19: 555-564.

SHIBATA Y, MORITA M (1989). "Exchange of comments on identification and quantification of arsenic species in a dogfish reference material for trace elements". *Anal. Chem.*, 61: 2116-2118.

SHIOMI K, SHINAGAWA A, IGARASHI H, YAMANAKA H, KIKUCHI T (1984). "Evidence for the presence of arsenobetaine as major arsenic compound in the shrimp *Sergestes lucens*". *Experientia*, 40: 1247-1248.

SHIRACHI DY, JOHANSEN MG, MCGOWAN JP, TU SH (1983). "Tumorigenic effect of sodium arsenite in rat kidney". *Proc. West. Pharmacol. Soc.*, 26: 413-415.

## Bibliografía

SINA G, TRIOLO N, TROVA P, CLABAUT JM (1977). "L'encephalopathie arsenicale lors traitement de la trypanosomiase humaine africaine à T. Gambiense". *Ann. Soc. Belg. Med. Trop.*, 57: 67-74.

SINGH P, SHARMA R (1994). "Effect of orpiment ( $As_2S_3$ ) on cytochrome P-450, glutathione and lipid peroxide levels of rat liver". *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.*, 13: 199-203.

SKOOG DA, LEARY JJ (1994). "Análisis instrumental". 4ª ed. McGraw-Hill, Mexico.

SKURIHIN IM (1989). "Methods for toxic elements in foods products. 1. Mineralization methods to determine heavy metals and arsenic according to the USSR standard". *J. Assoc. off Anal. Chem.*, 72: 286-290.

SMITH AH, HOPENHAYN-RICH C, WARNER M, BIGGS ML, MOORE L, SMITH MT (1993). "Rationale for selecting exfoliated bladder cell micronuclei as potential biomarkers for arsenic genotoxicity". *J. of Toxicology and Environ. Health*, 40: 223-234.

SMITH TJ, CRECELIUS EA, READING JC (1977). "Airborne arsenic exposure and excretion of methylated arsenic compounds". *Environ. Health Perspect.*, 19: 89-93.

SNIDER TH, WIENTJES MG, JOINER RL, FISHER GL (1990). "Arsenic distribution in rabbits after Lewisite administration and treatment with British anti-Lewisite (BAL)". *Fundam. Appl. Toxicol.*, 14: 262-272.

SOLOMONS ET, WALLS HC (1983). "Analysis of arsenic forensic cases utilizing a rapid, non-ashing technique and furnace atomic absorption". *J. of Anal. Toxicology*, 7: 220-222).

SORIA ML, REPETTO G, REPETTO M (1995). "Revisión general de la toxicología de los metales". En: *Toxicología Avanzada*. Repetto M (Ed). Diaz de Santos, Madrid. pp: 293-358.

SRIKANTH R, RAMANA D, RAO V (1995). "Lead uptake from beer in India". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 54: 783-786.

STAIR EL, KIRKPATRICK JG, WHITENACK DL (1995). "Lead arsenate poisoning in a herd of beef cattle". *J. Am. Vet. Med.*, 207: 341-343.

STAUFFER RE, THOMPSON JM (1984). "Arsenic and antimony in geothermal waters of Yellowstone National Park, Wyoming, USA. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 48: 2547-2561.

STEIN VB, CANELLI E, RICHARDS AH (1980). "Determination of arsenic in potable, fresh and estuarine water by flameless atomic absorption". *At. Spectrosc.*, 1: 133-137.

STIPANNUK MH, KUO SM (1984). "Effect of vitamin B<sub>6</sub> deficiency on cysteinsulfinate decarboxylase activity and taurine concentrations in tissues of rat dams and their offspring". *Nutr. Rep. Int.*, 30: 667-680.

STOEPPLER M, BUROW M, BACKHAUS F, SCHRAMM W, NUERNBERG HW (1986). "Arsenic in seawater and brown algae of the Baltic and the North Sea". 8th International Symposium on the chemistry of the Mediterranean, Primosten, Yugoslavia, May 1984. Ed: Branica M. 18: 321-334.

STÖHRER G (1991). "Arsenic: opportunity for risk assessment". *Arch. Toxicol.*, 65: 525-531.

STROH A, VÖLLKOPF U (1993). "Optimization and use of flow injection vapour generation inductively coupled plasma mass spectrometry for the determination of arsenic, antimony and mercury in water and sea-water at ultratrace levels". *J. of Anal. Atomic. Spectrometry*, 8: 35-39

SZINICZ L, FORTH W (1988). "Effect of As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> on gluconeogenesis". *Arch. Toxicol.*, 61: 444-449.

TAKAHASHI K, YAMAUCHI H, MASHIKO M, YAMAMURA Y (1990). "Effect of S-adenosylmethionine on methylation of inorganic arsenic". *Nippon Eiseigaku Zasshi*, 45: 613-618.

TAM GKH, CHARBONNEAU SM, BRYCE F, POMROY C, SANDI E (1979). "Metabolism of inorganic arsenic (<sup>74</sup>As) in humans following oral ingestion". *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 50 : 319-322.

TAM GKH, CHARBONNEAU SM, BRYCE F, SANDI E (1982). "Excretion of a single oral dose of fish-arsenic in man". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 28: 669-673.

TAM LK, DUTRIZAC JE (1985). "Determination of arsenic(III) and arsenic(V) in ferric chloride-hydrochloric acid leaching media by ion chromatography". *Anal. Chem.*, 57: 1027-1032.

TAM LK, DUTRIZAC JE (1986). "Simultaneous determination of arsenic(III) and arsenic(V) in metallurgical processing media by ion chromatography with electrochemical and conductivity detectors". *Anal. Chem.*, 55: 1383-1389.

TAMAKI S, FRANKENBERGER WT (1992). "Environmental Biochemistry of Arsenic". En: *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. Ware GW (Ed). Vol. 124, Springer-Verlag, New York, pp. 79-110.

TANNER CC, CLAYTON JS (1990). "Persistence of arsenic 24 years after sodium arsenite herbicide application to Lake Rotoroa, Hamilton, New Zealand". *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 24: 173-179.

THACKER GT, PATTERSON BL, HOOD RD (1977). "Effects of administration route on arsenate teratogenesis in mice". *Teratology*, 15: 30-31.

TOSHIKAZU K, YOSHIYA H, SHOZO F, KAZUO S, MAKOTO C, TAKEAKI K (1992). "Acute toxicity and metabolism of arsenocholine in mice". *Appl. Organomet. Chem.* 6: 369-

373.

TRACY ML, LITTLEFIELD ES, MÖLLER G (1991). "Continuous flow vapor generation for inductively coupled argon plasma spectrometric analysis. Part 2. arsenic". *J. Assoc. off anal. chem.*, 74: 516-521.

TSUDA T, NIGIRA T, YAMAMOTO M (1990). "An epidemiological study on cancer in certified arsenic poisoning patients in Toroku". *Ind. Health*, 28: 53-62.

TSUDA T, BABAZONO A, YAMAMOTO E, KURUMATANI N, MINO Y, OGAWA T, KISHI Y, AOYAMA H (1995). "Ingested arsenic and internal cancer: a histotical cohort study followed for 33 years". *Am. J. Epidemiol.*, 141: 198-209.

UKI T, FUJIWARA Y (1986). "Inhibition of human excision DNA repair by inorganic arsenic and the comutagenic effect in V79 Chinese hamster cells". *Mutation Res.*, 172: 69-76.

URASA IT, FEREDÉ F (1987). "Use of direct current plasma as an element selective detector for simultaneous ion chromatographic determination of arsenic(III) and arsenic(V) in the presence of other common anions". *Anal. Chem.*, 59: 1563-1568.

US DEPARTMENT OF HUMAN AN HEALTH SERVICES, 1991. "Sixth Annual Report of Carcinogens". Public Health Service.

UTHUS EO, NIELSEN FH (1986). "Effects of dietary guanidoacetic acid on arsenic deprivation in chicks". *N.D. Acad. Sci.*, 40: 84.

UTHUS EO, NIELSEN FH (1987). "Methyl depletion affects the response of rats to arsenic deprivation". *Nutr. Res.*, 7: 1061-1072.

UTHUS EO, POELLOT R, BROSSART B, NIELSEN FH (1989a). "Effect of arsenic deprivation on polyamine content in rat liver". *FASEB J*, 3: A1072.

UTHUS EO, POELLOT R, NIELSEN FH (1989b). "The effect of arsenic deprivation on polyamine content and the activity of S-adenosilmethionine and ornithine decarboxylase in rat liver". En: Anke, Baumann, Braúnlich, Brückner, Groppe, Grün, 6th International Trace Element Symposium 1989, pp:1013-1017.

- UTHUS EO (1990). "Effects of arsenic deprivation in hamsters". *Magnesium & Trace Elements*, 9: 227-232.
- UTHUS EO (1992). "Evidence for arsenic essentiality". *Environ. Geochem. and Health*, 14: 55-58.
- UTHUS E, POELLOT R (1992). "Effects of methionine deficiency on arsenic deprivations in rats: growth, blood parameters, organ weight/body weight ratios, and tissue trace elements concentration". *The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine*, 5: 153-164.
- VAESSEN H, OOIK A (1989). "Speciation of arsenic in Dutch total diets: methodology and results". *Z. Lebensm Unters Forsch*, 189:232-235.
- VAHTER M, NORIN H (1980). "Metabolism of <sup>74</sup>As-labeled trivalent and pentavalent inorganic arsenic in mice". *Environ. Res.*, 21: 446-457.
- VAHTER M, ENVALL J (1983). "In vivo reduction of arsenate in mice of rabbits". *Environ. Res.*, 32: 14-24.
- VAHTER M, MARAFANTE E, DENCKER L (1984). "Tissue distribution and retention of <sup>74</sup>As-demethylarsinic acid in mice and rats". *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 13: 259-264.
- VAHTER M, MARAFANTE E (1985). "Reduction and binding of arsenate in marmoset monkeys". *Arch. Toxicol.*, 57: 119-124.
- VAHTER M, FRIBERG B, RAHNSTER A, NYGREN A, NOLINDER P (1986). "Airborne arsenic and urinary excretion of metabolites of inorganic arsenic among smelter workers". *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 57: 79-91.
- VAHTER M, MARAFANTE E (1987). "Effects of low dietary intake of methionine, choline on proteins on the biotransformations of arsenite in the rabbit". *Toxicol. Lett.*, 37: 41-46.
- VAHTER M, COUCH R, NERMELL B, NILSSON R (1995). "Lack of methylation of inorganic arsenic in the chimpanzee". *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 133: 262-268.
- VALENTINE JL, KANG HK, SPIVEY G (1979). "Arsenic levels in human blood, urine, and hair in response to exposure via drinking water". *Env. Res.*, 20: 24-32.
- VAN ELTEREN JT, DAS HA, DE LIGNY CL, AGTERDERBOS J (1989). "Determination of arsenic (III/V) in aqueous samples by neutron activation analysis after sequential coprecipitation with dibenzylthiocarbamate". *Anal. Chim. Acta*, 222: 159-167.

- VAN ELTEREN JT, DAS HA, DE LIGNY CL, AGTERDERBOS J (1994). "Arsenic speciation in aqueous samples using a selective As(III)/As(V) preconcentration in combination with an automatable cryotrapping hydride generation procedure for monomethylarsonic acid and dimethylarsinic acid". *J. of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 179: 211-219.
- VARCARCEL M, LUQUE DE CASTRO MD (1984). "Análisis por inyección de flujo". Publicaciones de la Universidad de Córdoba, Córdoba.
- VARSÁNYI I, FODRÉ Z, BARTHA A (1991). "Arsenic in drinking water and mortality in the southern great plain, Hungary". *Environ. Biochem. and Health*, 13: 14-21.
- VERCRUYSSSE A (1984). Hazardous metals in human toxicology. Techniques and instrumentation in analytical chemistry. Vol. 4, part B. Vercruyssse A (ed). Elsevier, Amsterdam. pp:63-68.
- VIG BK, FIGUEROA ML, CORNFORTH MN, JENKINS SH (1984). "Chromosome studies in human subjects chronically exposed to arsenic in drinking water". *Am. J. of Ind. Medicine*, 6: 325-338.
- VIRARAGHAVAN T, JIN YC, TONITA PM (1992). "Arsenic in water supplies". *Inter. J. Environmental Studies*, 41: 159-167.
- WAGNER C, BRIGGS WT, COOK RJ (1985). "Inhibition of glycine N-methyltransferase activity by folate derivatives: implications for regulation of methyl group metabolism". *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 127: 746-752.
- WAKAO N, KOYATSU H, KOMAI Y, SHIMOKAWARA H, SAKURAI Y, SHIOTA H (1988). "Microbial oxidation of arsenate and occurrence of arsenite-oxidizing bacteria in acid mine water from sulfur-pyrite mine". *Geomicrobiology*, 6: 11-24.
- WALSH PR, DUCE RA, FASCHING JL (1979). "Considerations of the enrichment, sources and flux of arsenic in the troposphere". *J. Geophys. Res.*, 84: 1719-1726.
- WANG CT, CHANG WT, HUANG CW, CHOU SS, LIN CT, LIAU SJ, WANG RT (1994). "Studies on the concentrations of arsenic, selenium, copper, zinc and iron in the hair of blackfoot disease patients in different clinical stages". *Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.*, 32: 107-111.
- WANG TS, HUANG H (1994). "Active oxygen species are involved in the induction of micronuclei by arsenite XRS-5 cells". *Mutagenesis*, 9: 253-257.
- WARNER ML, MOORE LE, SMITH MT, KALMAN DA, FANNING E, SMITH AH (1994). "Increased micronuclei in exfoliated bladder cells of individuals who chronically ingest arsenic-

contaminated water in Nevada". *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 3: 583-590.

WEAVER RW, MELTON JR, WANG D, DUBLE RL (1984). "Uptake of Arsenic and Mercury from soil by Bermudagrass *Cynodon dactylon*". *Environ. Pollut. Ser. A.*, 33: 133-142.

WEBB DR, CARTER DE (1984). "An improved wet digestion procedure for the analysis of total arsenic in biological samples by direct hydride atomic absorption spectrometry". *J. of Anal. Toxicol.*, 6: 118-123.

WELCH WJ, SUHAN JP (1986). "Cellular and biochemical events in mammalian cells during and after recovery from physiological stress". *J. Cell. Biol.*, 103: 2035-2052.

WELZ B, MELCHER M (1986). "Decomposition of marine biological tissues for determination of arsenic, selenium, and mercury using hydride-generation and cold-vapor atomic absorption spectrometry". *Anal. Chem.*, 57: 427-431.

WEN WN, LIEU LT, CHANG HJ, WU SW, YAU ML, JAN KY (1998). "Baseline and sodium arsenite-induced sister-chromatid exchanges in cultured lymphocytes from patients with blackfoot disease and healthy persons". *Hum. Genet.*, 59: 201-203.

WIENCKE JK, YAGER JW (1992). "Specificity of arsenite in potentiating cytogenic damage induced by the DNA crosslinking agent diepoxybutane". *Environ Mol. Mutagen.*, 19: 195-200.

WINGREN G, AXELSON O (1985). "Mortality pattern in a glass producing area in SE Sweden". *Br. J. ind. Med.*, 42: 411-414.

WITZEL DA, SMITH EL, BEERWINKLE KR, JOHNSON JH. (1976). "Arsenic acid-induced blindness in swine: electroretinographic and visually evoked responses". *Am. J. Vet. Res.*, 37: 521-524.

WOOLSON EA (1983). "Topics in environmental health: biological and environmental effects of arsenic". Fowler BA (ed). Elsevier, Amsterdam. Vol 6, pp 51.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (1981). "Arsenic". Environmental Health Criteria 18. Geneva.

YAMATO N (1988). "Concentrations and chemical species of arsenic in human urine and hair". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 40: 633-640.

YAMAMOTO M, YASUDA M, YAMAMOTO Y (1985). "Hydride-generation atomic absorption spectrometry coupled with flow injection analysis". *Anal. Chem.*, 57: 1382-1385.

- YAMAMOTO S, KONISHI Y, MATSUDA T, MURAI T, SHIBATA MA, MATSUI-YUASA I, OTANI S, KURODA K, ENDO G, FUKUSHIMA S (1995). "Cancer induction by an organic compound dimethylarsinic acid in F344/DuCrj rats after pretreatment with five carcinogens". *Cancer Res.* 55:1271-1276.
- YAMANAKA K, HASEGAWA A, SAWAMURA R, OKADA S (1991). "Cellular response to oxidative damage in lung induced by the administration of dimethylarsinic acid, a major metabolite of inorganic arsenic in mice". *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 108: 205-213.
- YAMAUCHI H, YAMAMURA Y (1983). "Concentration and chemical species of arsenic in human tissue". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 31: 267-277.
- YAMAUCHI H, YAMAMURA Y (1984). "Metabolism and excretion of orally ingested trimethylarsenic in man". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 32: 682-687.
- YAMAUCHI H Y YAMAMURA Y (1985). "Metabolism and excretion of orally administered arsenic trioxide in hamster". *Toxicology*, 34: 113-121.
- YAMAUCHI H, TAKAHASHI K, MASHIKO M, YAMAMURA Y (1989). "Biological monitoring of arsenic exposure of gallium arsenide and inorganic arsenic-exposed workers by determination of inorganic arsenic and its metabolites in urine and hair". *Am. Ind. Assoc. J.*, 50: 606-612.
- YAMASHITA N, DOI M, NISHIO M, HOJO H, TANAKA M (1972). "Current state of Kyoto children by arsenic tainted Morinaga dry milk". *JPN. J. Hyg.*, 27: 364-399.
- YANG HL, TU SC, LU FJ, CHIU HC (1994). "Plasma protein C activity is enhanced by arsenic but inhibited by fluorescent humic acid associated with blackfoot disease". *Am. J. Hematol.*, 46: 264-269.
- YÁÑEZ L, CARRIZALES L, ZANATTA MT, MEJIA JJ, BATRES L, DÍAZ-BARRIGA F (1991). "Arsenic-cadmium interaction in rats: toxic effects in the heart and tissue metal shifts". *Toxicology*, 67: 227-234.
- YU JJ, WAI CM (1991). "Chromatographic separation of arsenic species with sodium bis(trifluoroethyl)dithiocarbamate chelation". *Anal. Chem.*, 63: 842-845.
- ZELIKOVIC I, CHESNEY RW (1989). "Taurine". En: New protective roles for selected nutrients. Spiller GA y Scala J (eds). New York. pp: 253-294.
- ZHENG W, PERRY DF, NELSON DL, APOSHIAN HV (1991). "Choroid plexus protects cerebrospinal fluid against toxic metals". *Faseb J.*, 5: 2188-2193.

*Estimación toxicológica del As y sus especies*

ZINGARO RA (1993). "Arsenic. A classic example of chemophobia". *Environ. International*, 19: 167-178.

ZOETEMAN BCJ, BRINKMANN FJJ (1976). "Human intake of minerals from drinking water in the European Communities". En: Amavis R, Hunter WJ, Smeets JGPM (eds). *Hardness of drinking water and public health*, Oxford, Pergamon Press. pp. 173-202.

